

(Aus der II. Medizinischen Universitäts-Klinik der Charité Berlin
[Direktor: Prof. Dr. G. v. Bergmann].)

Experimentelle Studien am Modell der Meerschweinchen-Diphtherie-Intoxikation.

Von

Harald Lotze und Sigismund Thaddeus.

Mit 21 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 14. Mai 1937.)

Die Forschungen über das Diphtherieproblem von den Anfängen der Medizin bis zur Jetztzeit sind vor allem verknüpft mit den Namen von *Hippokrates*, *Sydenham*, *Bretonneau*, *Trousseau*, *Virchow*, *C. Gerhardt*, *Löffler*, *Klebs*, *Roux* und *Yersin* sowie *Ehrlich*.

Die Erfolge der Serumtherapie, wie sie *v. Behring* — fußend auf den Ergebnissen dieser Forscher — eingeführt hat, entsprechen zweifellos nicht den hochgespannten Erwartungen, die man auf Grund der experimentellen Forschungen auf sie gesetzt hatte, denn es kann nicht geleugnet werden, daß es zahlreiche Diphtheriefälle — besonders im Verlauf schwerer Epidemien — gibt, bei denen das Serum trotz rechtzeitiger und ausreichender Anwendung absolut versagt, ohne daß eine befriedigende Erklärung dafür gefunden werden könnte.

Alle experimentellen Untersuchungen über die Diphtherie wären nicht möglich gewesen, wenn man nicht in dem Meerschweinchen ein Versuchstier gehabt hätte, das auch heute noch als das Diphtherie-Versuchstier *nat'ξεοχίρ* angesehen werden muß.

Die Wirkung des Diphtheriegiftes beim Meerschweinchen ist von vornherein verschieden, je nachdem ob das Toxin oder das Toxon für die Krankheitserscheinungen verantwortlich zu machen ist: Das Toxin bewirkt ein akutes Zugrundegehen der Tiere innerhalb von 2—4 Tagen; bei der Obduktion findet man an der Injektionsstelle starke Infiltratbildung mit Ödem und Blutung, Hautnekrosen sowie reichlich Exudat in der Pleura, im Perikard und in der Bauchhöhle; besonders eindrucksvoll ist eine starke Vergrößerung (Ödem) und Rötung der Nebennieren mit capillaren Blutergüssen, wie sie schon *Roux* und *Yersin* sowie *Römer* sahen; auf diesen pathologischen Befund ist ein großer Teil der schweren Allgemeinerscheinungen bei der Meerschweinchen-Diphtherie-Intoxikation zurückzuführen. Im Gegensatz dazu hat das Toxon selbst in hohen Dosen niemals eine akute tödliche Wirkung; die oben beschriebenen entzündlichen Veränderungen fehlen in der Regel; charakteristisch sind dagegen die Lähmungserscheinungen, die je nach der Dosis zwischen der 2. und 3. Woche eintreten, denen die Tiere dann in wenigen Tagen erliegen können.

Gerade auf Grund der Nebennierenveränderungen nicht nur bei der experimentellen Diphtherie-Intoxikation der Meerschweinchen, sondern auch bei der menschlichen Diphtherie-Erkrankung hat man dem reticuloendothelialen System besondere Beachtung geschenkt. *Aschoff* rechnet zum reticuloendothelialen

System im engeren Sinne die Reticulumzellen der Milzpulpa, der Rindenknötchen und der Markstränge der Lymphknoten und schließlich des sonstigen lymphatischen Gewebes sowie die Reticuloendothelien der Lymphsinus der Lymphknoten, der Blutsinus der Milz, der Capillaren der Leberläppchen (*Kupffersche Sternzellen*), der Capillaren des Knochenmarks, der Nebennierenrinde und der Hypophyse. Das intakte reticuloendotheliale System gilt in morphologischer und funktioneller Beziehung gemeinhin als Abwehrvorrichtung des Organismus Infektionen gegenüber (*Aschoff, Freund*). Allerdings hat *Ricker* „die Lehre vom sogenannten reticuloendothelialen System“ einer scharfen Kritik unterzogen und gefordert, daß an deren Stelle der Begriff der „innervierten Strombahn in den Beziehungen ihres Inhaltes zum Gewebe“ treten müsse.

Unter den Organen des reticuloendothelialen Systems weisen die Nebennieren, und zwar in erster Linie deren Rinde bei Infekten und Intoxikationen besonders hochgradige, pathologisch-anatomisch faßbare Veränderungen auf. Diese morphologischen Befunde lenken die Aufmerksamkeit des Klinikers auf die Nebennierenrinde und ihre Funktion, deren Störung bzw. Ausfall vielleicht vorzugsweise für zahlreiche im Gefolge von Infektionskrankheiten auftretende Symptome (Adynamie, Blutdrucksenkung, Kollapsbereitschaft, intestinale Erscheinungen) verantwortlich gemacht werden muß. In diesem Zusammenhang erscheint es von größter Wichtigkeit, daß die Nebennieren bzw. ihre Rinde die an reduzierenden Substanzen (Ascorbinsäure, Cystein, Glutathion) reichsten Organe des menschlichen Körpers sind.

Diese Stoffe spielen im Organismus deswegen eine so bedeutsame Rolle, weil ein Leben ohne Oxydation und Reduktion unmöglich ist. Entgegen den früheren Anschauungen, nach denen unter Oxydation Sauerstoffaufnahme, unter Reduktion Sauerstoffabgabe verstanden wurde, wird heute allgemein angenommen, daß Oxydation neben Sauerstoffaufnahme auch noch Wasserstoffabgabe und Abgabe von Elektronen bedeutet, während unter Reduktion die Umkehrung dieser Vorgänge zu verstehen ist. Damit befinden wir uns mitten im Streit der Meinungen über das eigentliche Wesen der Oxydation, das *Warburg* in der Einwirkung aktivierten Sauerstoffes im Sinne einer Oberflächenaktivierung an bestimmten Schwermetallen erblickt, für deren Vermittlung in besonderer Weise gebundenes Eisen als wesentlich zu gelten hat, während demgegenüber *Wieland* das Wesen der Oxydation dahingehend definiert, daß es nicht auf der Tätigkeit von aktiviertem Sauerstoff, sondern auf einer Aktivierung von Wasserstoff in Substraten der Oxydation beruht, und daß an den als Wasserstoffacceptor dienenden Sauerstoff — als leicht hydrierbare Substanz — unter dem Einfluß von Dehydrasen der aus den Zellsubstanzen labil gemachte Wasseroxid zur Bildung von H_2O_2 herangebracht werden kann. Man wird vielleicht nicht fehlgehen in der Annahme, daß die Lösung dieser Streitfrage in der Synthese beider Anschauungen liegt und daß ein Teil der Oxydationsvorgänge mit unmittelbarer Bildung von H_2O und CO_2 (nach *Warburg*), ein anderer Teil mit H_2O_2 -Bildung (nach *Wieland*) verläuft. Neben den schon erwähnten Schwermetallkationen dürften Vitamine und Hormone als sog. Redoxsysteme eine überragende Rolle im Ablauf der biologischen Stoffwechselvorgänge spielen.

Man unterscheidet zwei Hauptgruppen von Redoxsystemen im Körper: die negativen und die positiven. Zu den negativen gehören sicher das Vitamin C, das Cystein, das Glutathion, die Zucker, wahrscheinlich auch der Lebewirkstoff und die reduzierten Stufen der im Organismus vorkommenden Schwermetallionen, zu den positiven das Hämoglobin-Oxyhämoglobin-System; den Übergang zwischen diesen beiden Gruppen bildet offenbar der Vitamin B-Komplex.

Die Oxydations-Reduktions-Vorgänge sind im Körper um so inniger miteinander verknüpft als kein Oxydationsmittel frei von seiner reduzierten und kein Reduktionsmittel frei von seiner oxydierten Stufe ist, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß die oxydierte und reduzierte Form des gleichen Stoffes durch ihren Energiegehalt voneinander verschieden ist. Ein wesentliches Kennzeichen der Mehrzahl der bekannten Redoxsysteme ist es, daß sie reversibel sind. Verantwortlich für die jeweilige Leistung ist dabei nicht die Energie eines Systems, sondern vielmehr das Energiegefälle zwischen einzelnen Redoxsystemen; würden sich diese Energiegefälle ausgleichen, so würde infolge Fehlens von freier Energie ein Leben unmöglich sein und der Tod eintreten (*Michaelis, Mittasch, Mulli*).

Es spricht manches dafür, daß nicht nur Fermente, sondern auch Vitamine und Hormone und überhaupt reduzierende Substanzen als „Biokatalysatoren“ anzusehen sind (*Mittasch*). Der Katalysebegriff wird bekanntlich so definiert, daß ein Katalysator durch seine Gegenwart chemische Reaktionen im Organismus einleitet bzw. sie vermittelt. Dabei kann das, was biologisch als ungeheure Leistung imponiert, beispielsweise die Wirkung des Atmungsfermentes, chemisch-energetisch unbedeutend sein, da ein Katalysator ja nur spontan verlaufende Reaktionen vermittelt, ohne selber mit einer energetischen Arbeitsleistung daran beteiligt zu sein.

Diese theoretischen Erwägungen waren der eigentliche Ausgangspunkt unserer Versuche, eine Intoxikation mittels reduzierender Substanzen zu beeinflussen. Wir stellten uns dabei vor, daß gerade durch körpereigene reduzierende Substanzen eine Steigerung der Abwehrkraft des Organismus hervorgerufen werden könnte, wie es uns klinische Anhaltspunkte bereits früher gezeigt hatten; so konnte der eine von uns die Wirkung von Glutathion in Gestalt des Fertigpräparates „Detoxin“, der andere die Wirkung ascorbinsäurehaltiger Rindenhormone auf verschiedene Infektionskrankheiten beim Menschen nachweisen. Zu einer solchen Behandlungsart fühlten wir uns um so eher berechtigt, als ja z. B. die Serumtherapie der Diphtherie neben manchen Erfolgen zweifellos auch manchen Mißerfolg aufzuweisen hat. Diesen rein empirisch gewonnenen Erkenntnissen galt es eine wissenschaftliche Unterbauung im Tierexperiment zu schaffen.

Hauptteil.

Bei unseren Tierversuchen schwiebte uns die Frage vor, ob durch Zufuhr einer der oben erwähnten körpereigenen reduzierenden Substanzen das Leben der mit Diphtherie-Toxin vergifteten Tiere in nennenswertem Maße verlängert werden könnte, oder ob die Tiere sogar die schwere Intoxikation überleben würden. An einem Material von etwa 250 Tieren haben wir versucht, diese Frage zu klären. Wir begnügten uns jedoch nicht nur mit dieser mehr biologischen Fragestellung, sondern erstrebten darüber hinaus auch eine morphologische Fundierung unserer Versuche.

Wir verwandten zu unseren Experimenten ein Diphtherie-Toxin, das wir durch einfache Filtration von Diphtherie-Bacillen-Bouillonkulturen (Toxin-Bouillon = 1 Liter Kalbfleischwasser + 20 g Pepton + 3 g Kochsalz + 2 g Natriumphosphat + 1 g Traubenzucker + einige Stücke Marmor) gewannen; vergleichsweise wurde auch ein Diphtherie-Toxin der „Behring-Werke“ geprüft. Als Nebenbefund sei erwähnt,

daß die Toxizität der Filtrate im Tierversuch unabhängig davon war, ob als Ausgangsstamm Diphtheriebacillen vom Typus gravis oder solche vom Typus mitis gewählt wurden.

Mit Absicht benutzten wir in allen Fällen zur intraperitonealen Injektion eine Dosis, die so hoch war, daß mit dem Ableben der Kontrolltiere innerhalb von längstens 48 Stunden mit Sicherheit zu rechnen war, um so Erfolge bzw. Mißerfolge unserer Behandlung besser beurteilen zu können. Gleich nach dem Ableben wurden die Tiere seziert und die besonders interessierenden Organe des reticuloendothelialen Systems (Leber, Milz und Nebennieren) einer histologischen Untersuchung zugeführt. Neben der Hämatoxylin-Eosin-Färbung, die uns besonders geeignet für den Nachweis von Blutungen und Nekrosen schien, wandten wir in allen Fällen auch die Sudanfärbung an, die bekanntlich alle Fettsubstanzen färbt und die daher in besonders anschaulicher Weise etwa vorhandene Lipoidveränderungen wiedergibt. Es erscheint nicht ausgeschlossen, daß eine feinere histochemische Untersuchung vielleicht zu einer Differenzierung der Lipoidsubstanzen unter normalen und pathologischen Verhältnissen führen würde, die beispielsweise das Lipoid in der Nebennierenrinde eines normalen Meerschweinchens als völlig verschieden von dem eines diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchens erkennen lassen würde. Da sich in unseren Versuchen aber die Feststellung des Lipoidreichtums der Nebennierenrindsubstanz mittels der Sudanfärbung als ein zuverlässiger Test für den jeweiligen Grad etwaiger toxischer Veränderungen erwiesen hat, muß unseren nachfolgend beschriebenen Untersuchungen eine unbedingte Beweiskraft zuerkannt werden.

Abgesehen von den in der Rinde der Nebennieren vorkommenden Substanzen haben wir vergleichsweise noch eine Anzahl anderer Stoffe geprüft, und zwar Eiweißspaltprodukte, schwefelhaltige Verbindungen, Metallverbindungen, Leberpräparate, Vitaminpräparate, Seren und sonstige Mittel, von denen unter Umständen ein Einfluß auf die Intoxikation hätte erwartet werden können; es wurden untersucht:

1. *Eiweißspaltprodukte.*

A. Aliphatische Kerne

I. Monoaminoäuren

a) einbasische

Glykokoll

Alanin

Leucin

b) zweibasische

Asparaginsäure

Glutaminsäure

II. Schwefelhaltige Aminoäuren

Cystin

Cystein

B. Aromatische Kerne

Phenylalanin

Tyrosin

C. Tripeptide

Glutathion

Leucyl-Glycyl-Glycin

2. Handelsübliche <i>schwefelhaltige Verbindungen</i> mit entgiftender Wirkung:	Detoxin Natriumthiosulfat
3. Handelsübliche <i>Metallverbindungen</i> :	Auro-Detoxin Solganal Electrocollargol
4. Handelsübliches (reduz.) <i>Leberpräparat</i> mit Vitamin B ₂ -Komplex:	Pernaemyl
5. Handelsübliche <i>Vitaminpräparate</i> :	Vogan (Vitamin A) Cebion (Vitamin C)
6. Handelsübliche <i>Sera</i> :	Nativersum antitoxisches Hammel-serum antitoxisches Rinder-serum
7. <i>Sonstige Mittel</i> :	Pyramidon

1. Morphologische Befunde bei experimenteller Diphtherie-Vergiftung un behandelter Meerschweinchen.

Den eigentlichen Versuchen mit den bereits mehrfach erwähnten Substanzen seien zunächst unsere Beobachtungen an unseren mit Diphtherie-Toxin vergifteten Kontrolltieren vorausgeschickt. Bei der von uns gewählten Dosierung gingen alle Tiere ausnahmslos akut zugrunde, und zwar betrug die längste Lebensdauer nach intraperitonealer Toxin-Injektion 45 Stunden, die kürzeste 30 Stunden. Wir übersehen dabei ein Kontrollmaterial von rund 75 Tieren. Die Sektion erfolgte unmittelbar nach dem Tode.

Makroskopisch boten alle Kontrolltiere ein übereinstimmendes Bild, und zwar zeigten sie entzündliche Veränderungen am Peritoneum, an der Pleura und am Perikard, einhergehend mit starken serösen Ergüssen, mehr oder weniger ausgesprochene Darmblutungen, eine Vergrößerung der Milz und stärkste Nebennierenveränderungen (Vergrößerung, Ödem, Rötung, Blutung); die Leber zeigte in einigen Fällen neben leichter Vergrößerung eine gelbliche Verfärbung mit verstreuten, scharf begrenzten, subkapsulären Blutungen, während sie in anderen Fällen makroskopisch kaum verändert war.

Bei der mikroskopischen Untersuchung¹ beschränkten wir uns — wie bereits kurz angedeutet — mit Absicht nur auf die wichtigsten Organe des reticuloendothelialen Systems, nämlich Leber, Milz und Nebennieren.

Der makroskopisch nachweisbaren Verfärbung der Leber entsprach mikroskopisch bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung das Bestehen entzündlicher Veränderungen (Ödem, Blutungen), die vorwiegend die perivasculären Lymphräume betrafen (Abb. I u. 2).

¹ Den mikrophotographischen Bildern der an der Diphtherie-Intoxikation zugrunde gegangenen unbehandelten Meerschweinchen sind zwecks besserer optischer Vergleichsmöglichkeit solche von normalen Meerschweinchen gegenübergestellt.

Besonders anschaulich war die Sudanfärbung, die bei den so foudroyant verlaufenen Intoxikationen in der Mehrzahl der Fälle das Bild

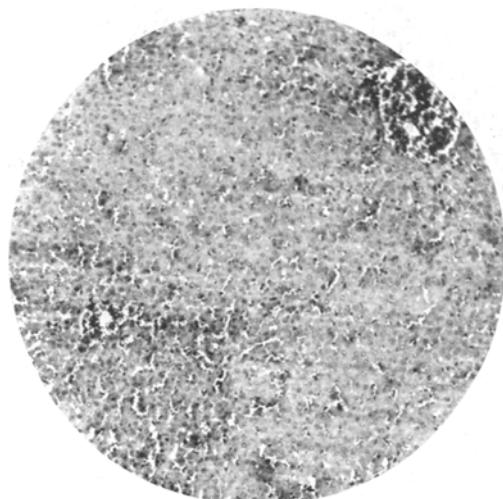


Abb. 1.

Abb. 1. Leber eines an der Diphtherietoxinvergiftung zugrunde gegangenen Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.

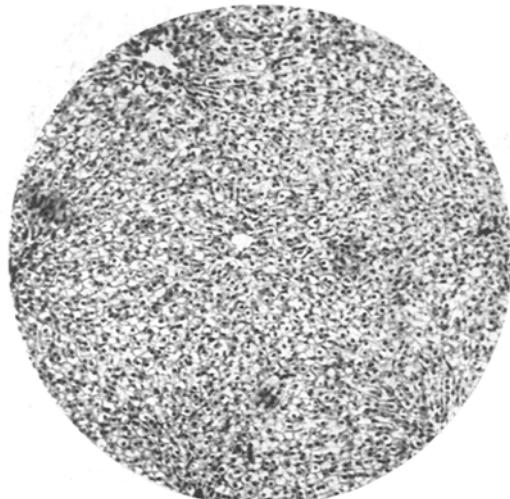


Abb. 2.

Abb. 2. Leber eines gesunden Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.

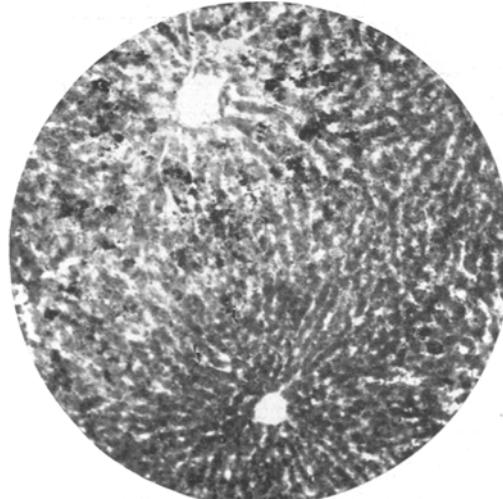


Abb. 3.

Abb. 3. Leber eines diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.

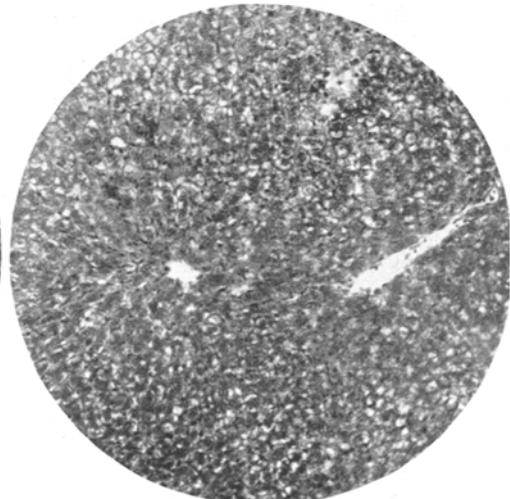


Abb. 4.

Abb. 4. Leber eines gesunden Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.

einer diffusen und nur in wenigen Fällen das einer partiellen zentralen oder peripheren Verfettung bot (Abb. 3 u. 4).

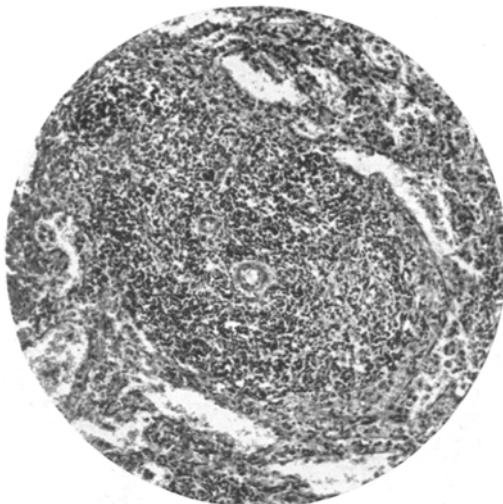


Abb. 5.

Abb. 5. Milz eines der Diphtherieintoxikation erlegenen Meerschweinchens.
80fache Vergrößerung.

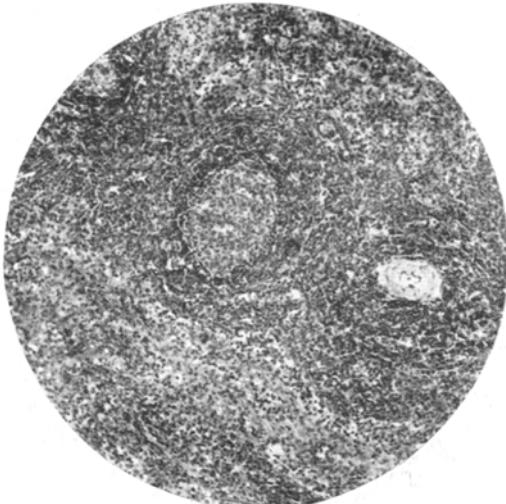


Abb. 6.

Abb. 6. Milz eines gesunden Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.

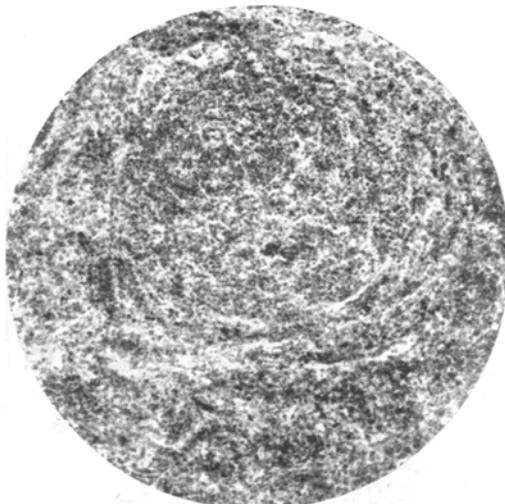


Abb. 7.

Abb. 7. Milz eines diphtherie-toxinvergifteten Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.
Abb. 8. Milz eines gesunden Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.

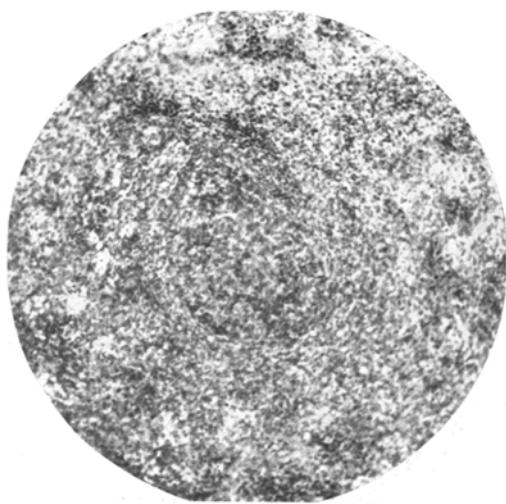


Abb. 8.

Das mikroskopische Bild der Milz war bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung von entzündlichen Veränderungen in Gestalt von Blutungen in der Pulpa und in Gestalt eines ausgesprochenen „Sinuskatarrhes“

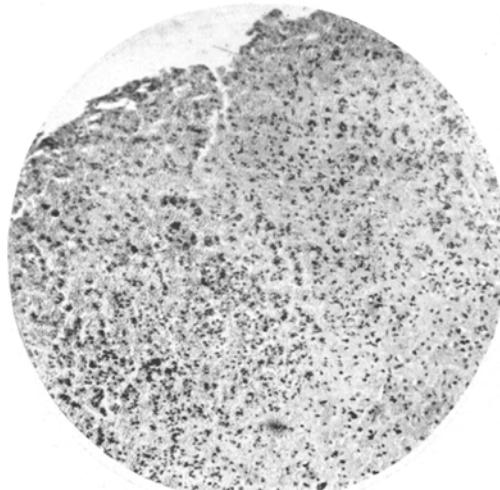


Abb. 9.
Abb. 9. Nebenniere eines an der Diphtherieintoxikation zugrunde gegangenen Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.
Abb. 10. Nebenniere eines gesunden Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.

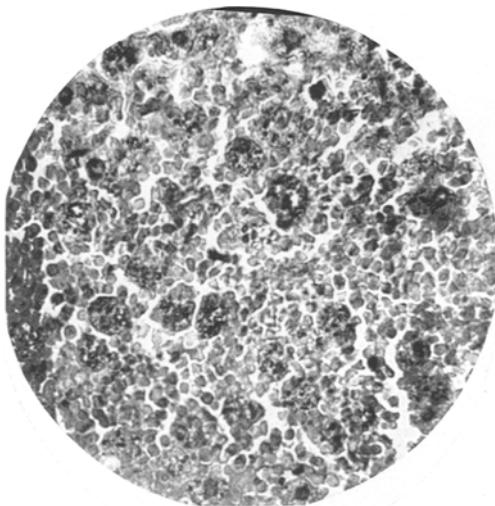
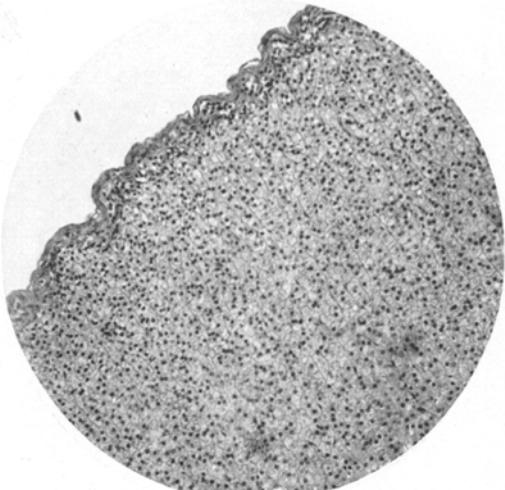
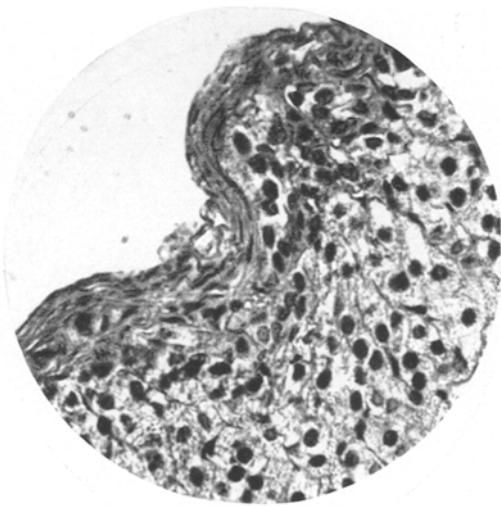


Abb. 11.
Abb. 11. Wie Abb. 9. Nur 360fache Vergrößerung.
Abb. 12. Wie Abb. 10. Nur 360fache Vergrößerung.



in den Lymphfollikeln (Ablösung der Reticulumzellen, massenhaft Leukozyten, wenig Plasmazellen und Lymphocyten) beherrscht (Abb. 5 u. 6).

Diesem Befunde entsprach auch das Bild bei der Sudanfärbung der Milz, das neben Blutungen wieder den typischen „Sinuskatarrh“ erkennen ließ (Abb. 7 u. 8).

Unser besonderes Augenmerk richteten wir auf die mikroskopische Untersuchung der Nebennieren, die bereits makroskopisch auffallend schwere Veränderungen aufwiesen. Bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung imponierten schwerste Blutungen, die bis unter die Kapsel reichten, und schwere Nekrosen jeder Art (Kernschwund) speziell der Rindenzellen (Abb. 9 u. 10).

Besonders eindringlich zeigt eine noch stärkere Vergrößerung diese Verhältnisse; schwere Blutungen mit weitestgehender Nekrose der Zellen beherrschen hier das Bild (Abb. 11 u. 12).

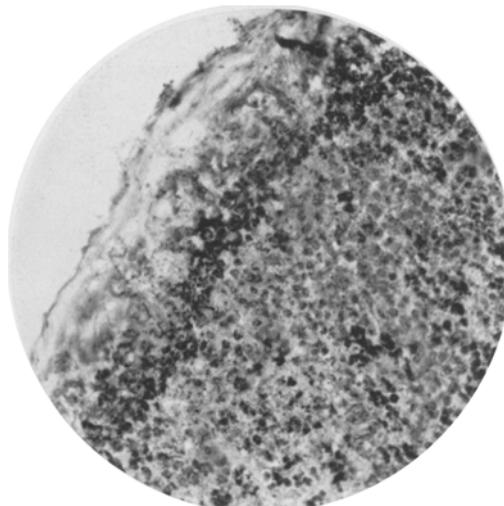


Abb. 13.
Abb. 13. Nebenniere eines diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchens.
80fache Vergrößerung.

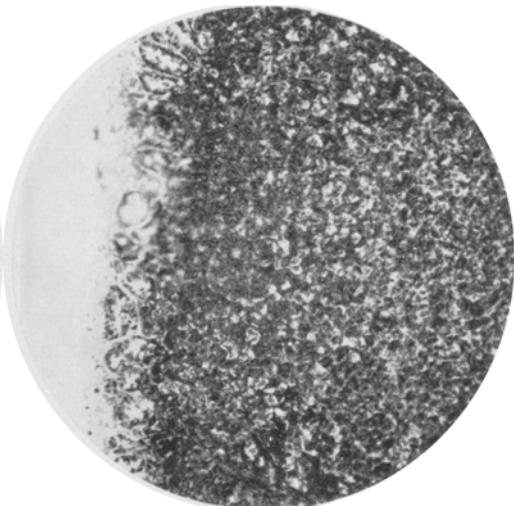


Abb. 14.
Abb. 14. Nebenniere eines gesunden Meerschweinchens. 80fache Vergrößerung.

Am eindrucksvollsten und charakteristischsten war bei unseren Kontrolltieren der hochgradige Lipoidschwund in der Rindensubstanz der Nebenniere, wie gerade unsere Sudan-Schnittfärbungen anschaulich unter Beweis stellen. Es möge dazu bemerkt sein, daß wir zur Reproduktion eigens eine der wenigen Stellen des Präparates ausgesucht haben, die überhaupt noch Reste von Lipoidsubstanzen enthielt (Abb. 13 u. 14).

2. Morphologische Befunde bei experimenteller Diphtherie-Vergiftung und gleichzeitiger unspezifischer Behandlung mit körpereigenen Substanzen.

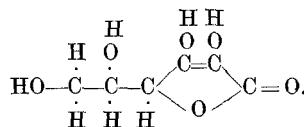
Von den auf S. 688 angeführten Substanzen ließ ein großer Teil jegliche Wirkung auf die Diphtherie-Intoxikation sowohl hinsichtlich der Überlebensdauer wie auch hinsichtlich der spezifischen Organveränderungen vermissen. So erwiesen sich in unseren Versuchen als unwirksam: Alanin, Asparaginsäure, Cystin, Glutaminsäure, Glykokoll,

Leucin, Leucyl-Glycyl-Glycin, Phenylalanin, Tyrosin, Natriumthiosulfat, Auro-Detoxin, Solganal, Electrocollargol, Pernaemyl, Vogan, Nativ-serum, antitoxisches Hammel- und Rinderserum sowie Pyramidon. Wir können auf eine ausführliche Beschreibung der makroskopischen Veränderungen und mikroskopischen Befunde ebenso wie auf Wiedergabe von Mikrophotogrammen um so eher verzichten, als sie im Vergleich zu den bei den Kontrolltieren erhobenen Befunden keine Besonderheiten oder Abweichungen im pathologisch-anatomischen bzw. histologischen Bild boten.

Als wirksam erwiesen sich demgegenüber Ascorbinsäure (Cebion), Cystein und Detoxin (bzw. Glutathion), auf deren biologische Besonderheiten deswegen auch im Rahmen dieser Arbeit kurz eingegangen werden muß.

a) *Versuche mit Ascorbinsäure.* Die Reindarstellung des Vitamin C ist im Jahre 1932 v. Szent-Györgyi gelungen. Nach den grundlegenden Untersuchungen dieses Forschers ist das antiskorbutische Vitamin C eine einheitliche Substanz und mit der L-Ascorbinsäure identisch. Die weitere Forschung führte zur sicheren Erkenntnis, daß dieser Stoff körpereigene und körperfremde Substanzen zu reduzieren oder vor oxydativem Abbau, z. B. Adrenalin (Kreitmair), zu schützen vermag. Daneben beruht seine Bedeutung auf seiner Rolle als Katalysator und Aktivator fermentativer Vorgänge (Edelbacher und Leuthardt, v. Euler, Karrer und Zehender).

Der Ascorbinsäure kommt folgende Konstitutionsformel zu:



Unter den biologischen Merkmalen gehört zu den eindruckvollsten die Wirkung hoher Ascorbinsäuredosen auf die Diphtherievergiftung beim Meerschweinchen, wie sie sich in einer gelegentlichen Verlängerung der Lebensdauer (*Jungeblut* und *Zwemer*, *Polónyi*) oder zumindest in einer Milderung der Krankheitserscheinungen (v. *Jeney* und Mitarbeiter) verrät.

Diphtheriebacillen, die in Ascorbinsäure gebracht werden, verlieren ihre Virulenz (*Jungeblut* und *Zwemer*, *Polónyi*, v. *Gagyi*), was nicht etwa nur als eine Säurewirkung, sondern als eine der Ascorbinsäure eigen-tümliche Wirkung angesehen werden muß (v. *Gagyi*).

Von wesentlicher Bedeutung scheint uns die Feststellung zu sein, daß bei der Antikörperbildung während der Immunisierung mit Pferde-serum Ascorbinsäure in besonders starkem Maße verbraucht wird (*Jusatz*, *Bersin* und *Köster*). Bemerkenswert ist weiter, daß die hämolysierende Fähigkeit von in Ascorbinsäure gebrachten Diphtheriebacillen eindeutig

abnimmt (*Polónyi*). Beachtenswert scheint uns in diesem Zusammenhang noch die Tatsache, daß bei der experimentellen Diphtherievergiftung die Rindenhormone nicht allein, sondern nur in Verbindung mit der Ascorbinsäure wirksam sind (*Herbrand, Thaddea, Aicham und Bock*).

Alle bisherigen Veröffentlichungen stützen sich vorzugsweise auf biologisch ausgewertete Untersuchungsergebnisse („Überlebensdauer“, Stoffwechsel), während auf morphologische Veränderungen bislang nicht eingegangen wurde. Diese Lücke auszufüllen und das pathologisch-anatomische Substrat zur Grundlage unserer Betrachtungen über die Wirkungsweise der Ascorbinsäure bzw. anderer körpereigener Substanzen zu machen, war das Ziel, das wir uns bei unseren Versuchen gesteckt hatten.

Gegenüber den Kontrolltieren stellten wir bei den mit Ascorbinsäure behandelten Tieren zunächst eine wesentliche Erhöhung der „Überlebensdauer“ fest, und zwar betrug die niedrigste Überlebensdauer 96 Stunden, die längste 120 Stunden. Dabei ist zu berücksichtigen, daß wir mit Absicht auf den sonst üblichen Vergleich der Versuchsergebnisse, ausgedrückt in Mittelwerten, verzichtet haben, weil — wie später noch näher ausgeführt wird — einige mit einer anderen körpereigenen Substanz (Detoxin bzw. Glutathion) behandelte Tiere die Intoxikation ohne nachhaltige Folgen überstanden, so daß „Mittelwerte“ ein falsches und zumindest ungenaues Bild ergeben hätten.

Toxische Symptome, wie wir sie bei unseren Kontrollen beobachten konnten, waren überhaupt nicht oder höchstens in wesentlich gemilderter Form nachweisbar.

In diesem Zusammenhang verdienen gleichzeitig in einem Teil unserer Versuche durchgeführte chemische Bestimmungen des Vitamin C-Gehaltes verschiedener Organe bei unbehandelten und mit Ascorbinsäure behandelten Meerschweinchen Erwähnung. Die Ascorbinsäurebestimmung wurde nach der Methode von *Martini und Bonsignore*, die nach den Untersuchungen von *Ammon und Hinsberg* sowie von *Neuweiler* die bisher beste Methode darstellt, vorgenommen; bezüglich methodischer Einzelheiten sei auf die Arbeiten der genannten Autoren sowie auf eine Veröffentlichung von *Lotze* verwiesen. Über unsere Ergebnisse (Mittelwerte!) unterrichtet in anschaulicher Weise die Abb. 15.

Aus dieser graphischen Darstellung ergibt sich, daß diphtheriekranke Meerschweinchen eine rapide Abnahme des Vitamin C-Gehaltes der Leber und der Nebennieren aufweisen. Diese Veränderungen lassen sich durch

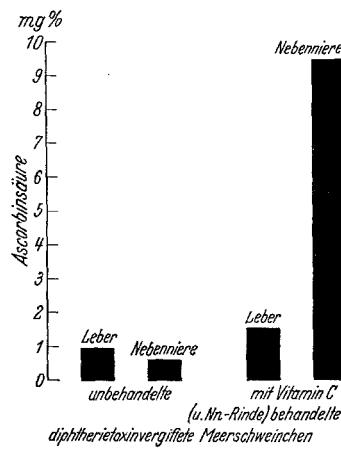


Abb. 15.

Zufuhr von Ascorbinsäure — im vorliegenden Falle zusammen mit Nebennierenrinde verabfolgt — hintanhalten, was sowohl im Sinne eines erhöhten Vitamin C-Bedarfes wie auch im Sinne eines erhöhten Vitamin C-Verbrauches ausgelegt werden könnte. Diese Befunde stimmen im wesentlichen mit den Befunden von *Thaddea* und *Hoffmeister* überein, die parallel dazu auch in klinischen Versuchen bei Infektionskrankheiten eine deutliche Abnahme des Vitamin C-Gehaltes in Liquor und Urin nachweisen konnten.

Die bei den Kontrollen gefundenen groben pathologisch-anatomischen

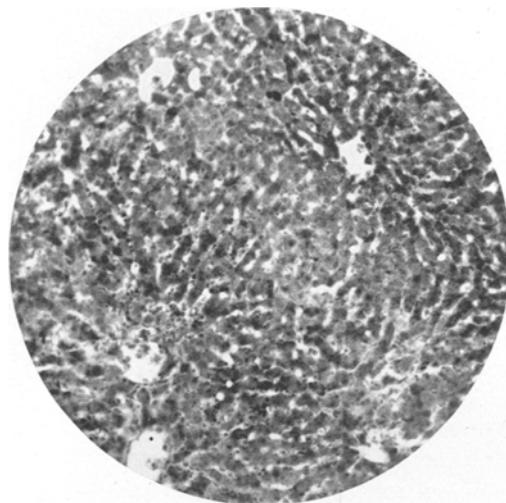


Abb. 16. Leber eines mit Ascorbinsäure behandelten, diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchens.
Sudanfärbung. 80fache Vergrößerung.

Organveränderungen wurden fast ausnahmslos bei den mit Vitamin C behandelten Tieren vermißt; Leber und Milz zeigten äußerlich keine Besonderheiten und selbst die Nebennieren wiesen in der Mehrzahl der Fälle bei normaler Größe ein normales gelbliches Aussehen auf.

Histologisch war die Leber bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung im wesentlichen frei von entzündlichen Veränderungen. Bei der Sudanfärbung wurden niemals die bei den Kontrolltieren beob-

achteten hochgradigen Formen von Verfettung festgestellt, sondern höchstens solche ganz geringen Grades (Abb. 16).

Auch das mikroskopische Bild der Milz ließ bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung annähernd normale Verhältnisse erkennen. Insbesondere sahen wir nur sehr selten und nur sehr geringfügige entzündliche Reaktionen seitens der Milzpulpa, und auch die Follikel zeigten keine größeren Abweichungen von der Norm. In den nach Sudan gefärbten Schnitten fehlten zudem jegliche Ablagerungen von Fett, so daß sie im ganzen einen fast völlig normalen Befund darboten.

Entsprechend diesen wenig von der Norm abweichenden Leber- und Milzbefunden zeigten die mit Ascorbinsäure behandelten Meerschweinchen bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung in den einzelnen Zonen der Nebennierenrinde nur geringgradige Veränderungen in Gestalt ganz vereinzelter Blutungen und Nekrosen, die bei manchen Tieren überhaupt völlig fehlten. Besonders eindrucksvoll war bei der Sudan-

färbung die gleichmäßige diffuse Rotbraunfärbung der einzelnen Rinden-zonen, die auf den hohen Lipoidreichtum der Rindenzellen bezogen werden muß (Abb. 17).

b) Versuche mit Cystein. Neben der Ascorbinsäure interessierte uns besonders das Cystein, das ja ebenfalls zu den reduzierenden Substanzen gehört. Das Cystein ist ein Abkömmling des Alanins, das im Zellproto-plasma nur in der dehydrierten Form als Cystin vorkommt. Das Cystin stellt eine schwefelhaltige Aminosäureverbindung dar und ist ein not-wendiger Bestandteil sämtlicher Eiweißkörper des Organismus (*Oppenheimer*). Ein Charakteristikum des Cysteins ist neben dem unmittelbaren Entgiftungsvermögen, z.B. gegenüber Blausäure und Goldverbindungen, die Fähigkeit im Körper durch „Entgiftungspaarung“ entgiftend zu wirken. So ist aus der physiologischen Chemie bekannt, daß zahl-reiche Gifte vom Organis-mus durch Paarung mit Schwefelsäure, Glykokoll, Cystein und andere Sub-stanzen in weniger giftige Stoffe übergeführ werden. Bei den meisten im Schrift-tum niedergelegten An-gaben über das Cystein handelt es sich um Reagensglas- und Tierversuche, die erkennen lassen, daß dieser schwefelreichen Aminosäureverbindung eine wichtige kata-lytische Aufgabe bei den anaeroben Reduktions-Oxydations-Vorgängen zukommt.

Klinische Untersuchungen über das Cystein liegen erst in geringer Anzahl vor. Von besonderer Wichtigkeit scheinen uns klinische Beobach-tungen zu sein, die eine ausgesprochen günstige — unterstützende — Wirkung von parenteraler Cysteinzufuhr bei *Addison*-Kranken bewiesen haben (*Rivoire, de Leobardy und Labesse, Thaddea*). Auf Grund unserer klinischen Erfahrungen ist zu sagen, daß die alleinige Cysteinzufuhr bei der *Addisonschen* Krankheit die Rindenhormonbehandlung nicht restlos ersetzen kann, daß sie aber ohne Zweifel eine wichtige unterstüt-zende Maßnahme in der Behandlung dieser Krankheit darstellt. Die günstige Wirkung der Cystein-Therapie ist nicht nur eine rein subjektive, sondern wird auch durch eine Besserung der objektiven Symptome bewiesen.

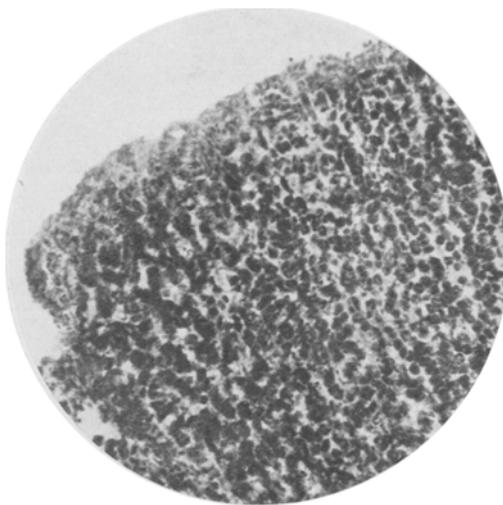


Abb. 17. Nebenniere eines mit Ascorbinsäure behandelten, diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchens. Sudan-Färbung. 80fache Vergrößerung.

Im Vergleich zu den Kontrolltieren waren auch die Cysteintiere gegenüber dem Diphtherietoxin weniger empfänglich; ihre Lebensdauer lag zwischen 72 und 88 Stunden, war also deutlich verlängert. Im Verlauf der Intoxikation wurden bei den mit Cystein behandelten Tieren zwar Vergiftungsscheinungen allgemeiner Art beobachtet, doch waren diese niemals so ausgesprochen wie bei den Kontrolltieren.

In Übereinstimmung hiermit ließen die verschiedenen Organe (Leber, Milz, Nebennieren) bei der makroskopischen und mikroskopischen Be- trachtung auch in keinem Falle jene für die Diphtherievergiftung sonst

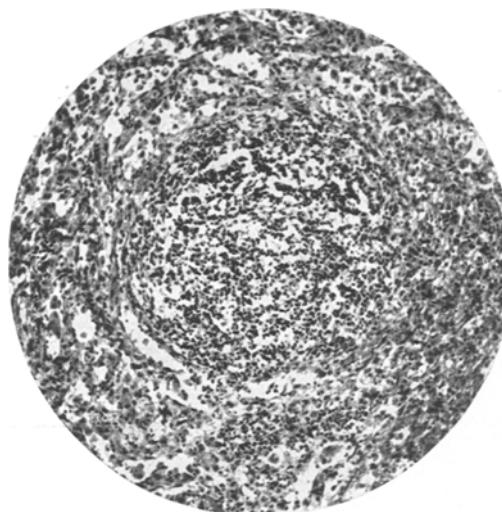
typischen schwersten Veränderungen erkennen, sondern zeigten solche nur in leichter und — in einigen wenigen Fällen — in etwas schwererer Form.

Histologisch waren bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung entzündliche Veränderungen in der Leber nur in geringerem Grade nachweisbar. Auch bei der Sudanfärbung kamen niemals jene hochgradigen Formen der Verfettung, wie wir sie bei den Kontrolltieren beschrieben haben, zur Darstellung; geringgradige Verfettung wurde allerdings bei fast allen Tieren beobachtet.

Abb. 18. Milz eines mit Cystein behandelten, diphtherie-toxinvergifteten Meerschweinchens. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. 80fache Vergrößerung.

Die Milz zeigte bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung in einer kleineren Anzahl von Fällen als Ausdruck einer entzündlichen Reaktion den schon vorher beschriebenen „Sinuskatarrh“, in anderen Fällen warten pathologische Veränderungen weder im Bereich der Pulpa noch im Bereich der Follikel nachweisbar. Bei der Sudanfärbung wurden Fettablagerungen völlig vermißt, so daß — abgesehen von den schon erwähnten leichteren Veränderungen — im wesentlichen ein normales Bild vorherrschte (Abb. 18).

Nicht minder eindrucksvoll waren die histologischen Befunde der Nebennierenrinde der mit Cystein behandelten Tiere. Hier konnten bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung Blutungen geringeren Grades ebenso wie Nekrosen beobachtet werden, die niemals auch nur entfernt an die massiven Befunde der Kontrolltiere erinnerten. Zudem zeigten alle Cysteintiere einen hohen Lipoidreichtum der Rindenzellen, wie aus den nach Sudan gefärbten Schnitten eindrucksvoll zu ersehen ist (Abb. 19).



c) Versuche mit Detoxin (bzw. Glutathion). Als antitoxisch wirksamer Körper erwies sich drittens das glutathionhaltige Präparat Detoxin (bzw. das Glutathion selbst).

Das Glutathion, das eine schwefelhaltige Substanz in organischer Bindung an Aminosäuren darstellt, ist ein aus Cystein, Glutaminsäure und Glykokoll aufgebautes Tripeptid (*Hopkins*), dem offenbar im intermediären Stoffwechsel eine besondere regulatorische Bedeutung zukommt. Erwähnenswert ist weiterhin die katalytische Beeinflussung zahlreicher Fermentprozesse, z. B. bei den Proteasen (*Oppenheimer*).

Bekannt ist schließlich noch die besondere Rolle des Glutathions als Entgifter, „Entgiftungspaarling“, und als Zellstimulans (*Waelsch, Voegelin, Fleischmann, Heffter, Heubner, Keeser, Schreiber*).

Es ist sicher kein Zufall, daß die Nebennieren mit ihrem großen Reichtum an Ascorbinsäure und Cystein auch das glutathionreichste Organ des menschlichen Organismus sind. Bemerkenswert ist hier wiederum der Schwefelreichtum vor allem der

Nebennierenrinde. In Durchströmungsversuchen konnte der Beweis erbracht werden, daß die Entstehung des Glutathions an die intakte Funktion der Rindenzenellen gebunden ist. Experimentelle Untersuchungen haben weiterhin gezeigt, daß die Nebenniere imstande ist, bei künstlicher Durchblutung unter Zusatz von Cystein, Glutaminsäure und Glykokoll zur Durchströmungsflüssigkeit Glutathion zu synthetisieren (*Binet und Weller, Blanchetière, Binet und Arnaudet*).

Während nebennierenlose Tiere eine auffallende Abnahme des Glutathions im Blut und vor allem im Muskel (*Rivoire*) zeigen, ist von mehreren Forschern (*Winter und Mitarbeiter, Zunz*) auf Zufuhr von Nebennierenrindenhormon Anstieg des Blutglutathiongehaltes beobachtet worden. Man muß daher daran denken, daß der Wirkungsmechanismus des Rindenhormons anscheinend vom Glutathiongehalt abhängt, denn durch intravenös zugeführtes Glutathion werden offenbar ähnliche Veränderungen des Gasstoffwechsels hervorgerufen wie durch das Rindenhormon (*Winter und Mitarbeiter*).

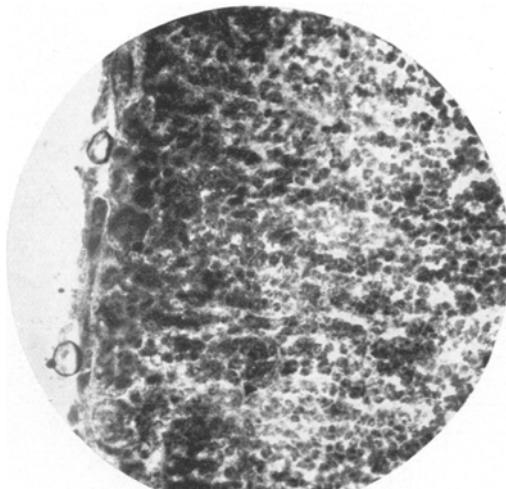


Abb. 19. Nebenniere eines mit Cystein behandelten, diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchens.
Sudanfärbung. 80fache Vergrößerung.

Gerade die in den letzten Jahren immer wieder beobachteten klinischen Erfolge der Detoxin-Behandlung (d. h. also des Glutathions) bei

mit Vergiftungsscheinungen einhergehenden Infektionskrankheiten finden im Zusammenhang mit den oben erwähnten experimentellen Untersuchungen eine teilweise Erklärung. Um einen weiteren experimentellen Beitrag zum Wirkungsmechanismus des Detoxins (bzw. Glutathions) bei Infektionskrankheiten zu liefern, haben wir am Test der Meerschweinchen-Diphtherie-Intoxikation den Einfluß der Detoxin- bzw. Glutathion-Zufuhr einer eingehenden Prüfung unterzogen.

Abb. 20. Nebenniere eines mit Detoxin behandelten, diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchens. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. 80fache Vergrößerung.

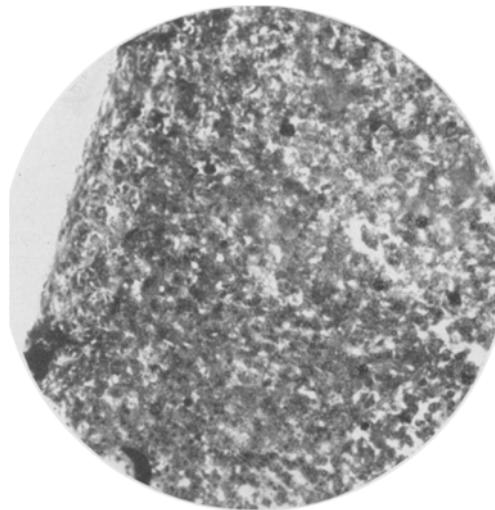


Abb. 21. Nebenniere eines mit Detoxin behandelten, diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchens. Sudanfärbung. 80fache Vergrößerung.

wurden. Bei den Tieren, die der Vergiftung erlagen, schwankte die Lebensdauer zwischen 80 und 168 Stunden, war also wesentlich länger

Die Ergebnisse der Detoxin- und Glutathionversuche werden im folgenden gemeinsam abgehandelt, da grundlegende Unterschiede in der Wirkung nicht bestanden.

Beide Präparate bewirkten nicht nur eine ganz wesentliche — über das bei anderen Präparaten beobachtete Maß hinausgehende — Minderung der Intoxikationserscheinungen, sondern vermochten darüber hinaus auch in einigen Fällen die Tiere am Leben zu erhalten, ohne daß Spätfolgen der Intoxikation beobachtet

als bei den mit den anderen reduzierenden Substanzen behandelten Tieren.

Diesen — die Wirkung von Ascorbinsäure und Cystein übertreffenden — ausgezeichneten Erfolgen entsprach auch der makroskopische Organbefund sowie das histologische Bild, waren doch in allen Fällen wesentliche Veränderungen an Leber, Milz und Nebennieren nicht erkennbar.

Die mikroskopische Untersuchung der Leber ergab bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung im wesentlichen einen durchaus normalen Befund. Ganz besonders aber ließ die Sudanfärbung fast völlig selbst leichtere Lipoidablagerungen vermissen.

Milzveränderungen fehlten — bis auf leichte Formen eines „Sinuskatarrhs“ in einigen wenigen Fällen — völlig. Das gleiche Bild bot die Sudanfärbung, bei der auch Fettablagerungen niemals zur Beobachtung kamen.

Die Nebennieren ließen histologisch bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung in der Mehrzahl der Fälle eine völlig normale Struktur der einzelnen Zonen der Rindensubstanz erkennen und nur ganz vereinzelt wurden Blutungen leichtesten Grades beobachtet. Hier zeigte auch gerade die Sudanfärbung in anschaulicher Weise einen besonders hohen Lipoidreichtum, der für die physiologische Funktion dieses lebenswichtigen Organs von ausschlaggebender Bedeutung ist (Abb. 20 u. 21).

3. Serienversuche über den Wirkungseintritt der Toxin-Vergiftung bei unbehandelten und behandelten Tieren.

Von besonderer Wichtigkeit schien uns die Beantwortung der Frage zu sein, wann bei den diphtherietoxinvergifteten Meerschweinchen die ersten Veränderungen an den verschiedenen Organen (Leber, Milz, Nebennieren) histologisch nachweisbar sind.

Die Untersuchungen wurden so vorgenommen, daß jeweils eine Serie von Tieren 6, 12, 18, 24, 36 und 48 Stunden nach der Injektion von Toxin getötet und makroskopisch und mikroskopisch untersucht wurde. Dabei zeigte sich, daß die ersten Veränderungen bei den unbehandelten Tieren spätestens 24 Stunden nach der Injektion aufzutreten pflegten und dann rapide an Intensität und Extensität zunahmen, während demgegenüber bei den mit Ascorbinsäure, Cystein und Detoxin behandelten Tieren selbst 48 Stunden nach der Injektion von Toxin gröbere Veränderungen sowohl bei der Hämatoxylin-Eosin-Färbung wie bei der Sudanfärbung noch völlig vermißt wurden. Bei der Kürze der Zeit eines derartigen Versuchsablaufes ließen sich natürlich Unterschiede in der Wirkung der einzelnen untersuchten Substanzen nicht eindeutig feststellen.

4. Versuche mit Schädigung des reticuloendothelialen Systems bei unbehandelten und behandelten Tieren.

Erwähnenswert im Zusammenhang mit den eben geschilderten Versuchsergebnissen ist die Feststellung, daß bei einer schweren Schädigung

des reticuloendothelialen Systems durch Gold bereits 6 Stunden nach der Toxin-Injektion bei der Sudanfärbung sowohl in den Nebennieren wie in der Leber beginnende Veränderungen nachweisbar waren, die sich spätestens nach 18 Stunden bei den Nebennieren als hochgradiger Schwund der Lipoidsubstanz, bei der Leber als stärkste Formen diffuser Verfettung verrieten. Die gleichzeitige Verabfolgung von reduzierenden Substanzen vermochte diese Prozesse niemals nachweisbar zu beeinflussen. In dieser Beobachtung dürfte ein weiterer Beitrag für die Bedeutung des reticuloendothelialen Systems bei der Abwehr von Infektionen erblickt werden, und darüber hinaus dürfte für die Klinik daraus die Bedeutung eines möglichst frühzeitigen Beginnes der Therapie von Infekten und Infektionskrankheiten erhellen, da bei bereits schwerer geschädigtem reticuloendothelialen System ein sonst wirksames Mittel völlig unwirksam sein kann.

Besprechung und Zusammenfassung der Ergebnisse.

Ausgehend von der Vorstellung, daß den reduzierenden Substanzen eine besondere Bedeutung bei der Abwehr von Infekten zukommt, wurde versucht, diese Frage am Modell der experimentellen Meerschweinch-Diphtherie-Intoxikation zu klären.

Abweichend von den bisher üblichen Arbeitsmethoden wurde hierbei nicht nur auf das funktionelle, sondern auch auf das morphologische Verhalten Gewicht gelegt.

Es konnte der experimentelle Nachweis erbracht werden, daß Ascorbinsäure, Cystein und vor allem Detoxin (bzw. Glutathion) unter den oben näher geschilderten Versuchsbedingungen in der Lage sind, nicht nur die Lebensdauer der vergifteten Tiere zu verlängern, sondern gleichzeitig auch die sonst obligatorisch auftretenden makroskopischen und mikroskopischen Veränderungen in den verschiedenen Organen wie Leber, Milz und Nebennieren hinsichtlich Intensität und Extensität ganz wesentlich zu beeinflussen.

Diese Befunde bilden gleichzeitig eine wertvolle Bestätigung und Ergänzung der klinischen Erfahrung, daß bestimmte reduzierende Substanzen bei der Bekämpfung von Infekten bedeutungsvoll sind.

Der zeitlich außerordentlich frühe Beginn der Organveränderungen weist anschaulich darauf hin, daß jeder Infekt dringend eine möglichst frühzeitige Behandlung erheischt, da bei irreparablen Veränderungen auch von dieser Therapie mit reduzierenden Substanzen kein Erfolg mehr zu erwarten ist.

Für die Richtigkeit dieser Auffassung könnte auch der Befund sprechen, daß nach Schädigung des reticuloendothelialen Systems die Zufuhr reduzierender Substanzen ohne Einfluß auf die „Überlebensdauer“ und auf die morphologischen Organveränderungen ist.

Literatur.

- Aicham u. Bock:* Mschr. Kinderheilk. **65**, 289 (1936). — *Ammon u. Hinsberg:* Klin. Wschr. **1936 I**, 85. — *Aschoff:* Erg. inn. Med. **26**, 1 (1924). — *Behring, v.:* Dtsch. med. Wschr. **1890 II**, 1145. — Die Geschichte der Diphtherie mit besonderer Berücksichtigung der Immunitätslehre. Leipzig: Georg Thieme 1893. — *Binet et Weller:* Presse méd. **1933**, 1946. — *Blanchetiére, Binet et Arnaudet:* J. Physiol. et Path. gén. **28**, 816 (1930). — *Bókay, v.:* Erg. inn. Med. **42**, 463 (1932); **43**, 428 (1932). — *Brettonneau:* Des inflammations spéciales du tissu muqueux et en particulier de la diphthérite. 1826. Deutsch von *M. Nölle*. Berlin: J. Springer 1927. — *Edlbacher u. Leuthardt:* Klin. Wschr. **1933 II**, 1843. — *Ehrlich:* Wertbestimmung des Diphtherieserums. Jena 1897. — Festschrift zu seinem 60. Geburtstag. Eine Darstellung seines wissenschaftlichen Wirkens. Jena 1914. — *Euler, v.:* Naturwiss. **1933**, 236. — *Fleischmann:* Wien. med. Wschr. **1934 I**, 753. — *Freund:* Virchows Arch. **286**, 526 (1932). — *Gagyi, v.:* Klin. Wschr. **1936 I**, 190. — *Gerhardt:* Verh. Kongr. inn. Med. Wiesbaden 1883. — *Gins:* Diphtherie. *Kolle-Kraus-Uhlenhuths* Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 3. Aufl., Bd. 5, 1. S. 451. Jena: Gustav Fischer u. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1928. — *Heffter:* Arch. f. exper. Path. **51**, 175 (1904). — *Herbrand:* Endokrinol. **16**, 236 (1935). — *Heubner:* Handbuch der experimentellen Pharmakologie, Bd. 3, 1. Berlin: Julius Springer 1927. — *Home:* Zit. nach *Gins*. — *Hopkins:* Biochemic. J. **15**, 286 (1921). — J. of biol. Chem. **84**, 269 (1929). — Chem. Zbl. **1930**, 2432. — *Jeney, v., v. Gagyi u. Baranyai:* Dtsch. med. Wschr. **1936 I**, 54. — *Jungeblut und Zwemer:* Proc. Soc. exper. Biol. a, Med. **32**, 1229 (1935). — *Jusatz, Bersin u. Köster:* Klin. Wschr. **1935 II**, 1419. — *Karrer u. Zehender:* Helvet. chim. Acta **16**, 701 (1933). — *Keeser:* Arch. f. exper. Path. **122**, 82 (1927). — *Klebs:* Zit. nach *Kolle-Hetsch*. — *Kolle-Hetsch:* Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten, Bd. 1, S. 497. „Diphtherie“. Berlin u. Wien: Urban & Schwarzenberg 1929. — *Kreitmair:* Naunyn-Schmiedebergs Arch. **176**, 326 (1934). — *Löffler:* Mitt. ksl. Gesd.h amt **2**, 462 (1884). — *Leobardy, de et Labesse:* Presse méd. **1934**, 599. — *Lotze:* Med. Welt **1936**, 479, 631. — Klin. Wschr. **1937 I**, 494. — Noch unveröffentlichte Versuche, erscheinen demnächst in Erg. inn. Med. **52** (1937). — *Lotze u. Thaddea:* Klin. Wschr. **1936 II**, 1512. — *Martini u. Bonsignore:* Biochem. Z. **273**, 170 (1934). — *Michaelis:* Oxydations-Reduktions-Potentiale. Berlin: Julius Springer 1933. — *Mittasch:* Über katalytische Verursachung im biologischen Geschehen. Berlin: Julius Springer 1935. — *Mulli:* Theorie und Praxis in der Medizin, S. 409. 1936 (10 B). — *Neuveiler:* Klin. Wschr. **1936 I**, 854, 856. — *Oppenheimer:* Einführung in die allgemeine Biochemie. Leiden: A. W. Sijthoffs Uitgeversmaatschappij N. V. 1936. — *Polónyi:* Wien. med. Wschr. **1935 I**, 685. — *Ricker:* Dtsch. med. Wschr. **1936 II**, 1393. — *Rivoire:* Presse méd. **1935**, 344. — *Römer:* Berl. klin. Wschr. **1914 I**, 503. — *Roux et Yersin:* Ann. Inst. Pasteur **1889**, 273. — *Schreiber:* Erg. Hyg. **14**, 271 (1933). — *Sydenham:* Opera medica. Genevae: Apud Fratres de Tournes MDCCCLXIX. — *Szent-Györgyi, v.:* Verh. dtsch. Ges. inn. Med. **1934**, 426. — *Thaddea:* Klin. Wschr. **1935 II**, 1275. — Dtsch. med. Wschr. **1936 II**, 1117. — Die Nebennierenrinde. Leipzig: Georg Thieme 1936. — *Thaddea u. Hoffmeister:* Noch unveröffentlichte Versuche. — *Trousseau:* Diphthérite. Dict. Méd. **1835**. — Union méd. 8 (1854). — Clin. méd. **1861**. — *Virchow:* Zit. nach *Kolle-Hetsch*. — *Voegelin:* J. of Pharmacol. **25**, 297 (1925); **27**, 467 (1926). — Proc. nat. Acad. Sci. USA. **11**, 344 (1925). — *Waelsch:* Arch. f. exper. Path. **156**, 370 (1930). — *Winter u. Mitarb.:* Endokrinol. **11**, 171 (1932). — *Zunz:* C. r. Soc. Biol. Paris **111**, 651 (1932).