

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Tübingen  
(Direktor: Prof. Dr. E. LETTERER).

## Untersuchungen über den Einfluß verschiedenartiger Ernährung auf die experimentelle Amyloidose.

Zugleich ein Beitrag zur Frage der Antikörperbildung  
in Abhängigkeit von der Ernährung.

Von

ERICH LETTERER.

Mit 8 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juni 1948.)

Mit dem Abschluß der Untersuchungen über Wesen und Entstehung des Amyloids [LETTERER (2)] vor mehr als 10 Jahren durfte damals die Frage nach Art und Entstehungsweise der Amyloidose in ihren wesentlichen Punkten als geklärt angesehen werden. Die Lösung des Problems, welche die amyloiden Abscheidungen in den Organen als eine Gattung von Präcipitaten sah, die nach der Art einer Antigen-Antikörperreaktion, jedoch im Gewebe selbst zum Niederschlag kommen, war schon einmal durch FRANZ HOFMEISTER mehr in der Idee vorausgesagt worden, als sie zu seiner Zeit schon begründet werden konnte.

LOESCHKE fand dann die ersten experimentell gewonnenen Tatsachen für die Festigung dieser Anschauung, und in der Verfolgung eigener Befunde [LETTERER (1)] mit Erweiterung der LOESCHKESchen Untersuchungen gelang es mir, eine experimentell gut begründbare, den morphologischen Tatsachen und experimentellen Erfahrungen entsprechende Vorstellung über die Amyloidentstehung als intravitale in den Geweben sich abspielende Präcipitatbildung zu entwickeln.

In der Zwischenzeit hat APITZ auf Grund seiner Beobachtungen über die von ihm sog. Paraproteinosen bei multiplen Myelomen eine neue Theorie der Amyloidentstehung umrissen, die allerdings noch der unumgänglichen Beweisführung bedarf. APITZ ist der Ansicht, daß die Serum eiweißkörper, welche bei Myelom vermehrt auftreten, ihren Ursprung in den Myelomtumorzellen haben. In manchen Fällen von Myelomen mit ihrer Paraproteinose kommt es nun bekanntlich zur sog. atypischen oder Paramyloidose, mit Ablagerung eines hyalinen Eiweißkörpers an Orten, die sonst nie von Amyloid befallen zu werden pflegen, wobei dieser Eiweißkörper aber alle typischen Amyloidfarbreaktionen gibt. Würde man annehmen, daß es sich bei diesem Paramyloid auf Grund der gleichen Färbbarkeit um denselben Eiweißkörper Amyloid handelt wie er sonst bei typischer Amyloidose auftritt, so läge der Schluß nahe, auch für die typische Amyloidose die Bildung des Eiweißkörpers aus gewissen Körperzellen (Plasmazellen, Mesenchymzellen) anzunehmen. Abgesehen von der noch nicht erbrachten morphologischen Beweisführung würde dies freilich auch heißen, daß man alles Eiweiß, welches die üblichen Färbereaktionen des Amyloids gibt, als chemisch

und genetisch ganz gleichartig anzusehen hätte, eine Voraussetzung, die ebenso wenig bewiesen, wie sie mir persönlich wahrscheinlich ist. In jüngster Zeit haben TERBRÜGGEN und RÄNDERATH ausgehend von Beobachtungen am Menschen insbesondere der Niere bei der Amyloidkrankheit erneut zum Problem der Amyloidose Stellung genommen. Beide bekennen sich, mit gewissen Abwändlungen, zu genetischen Beziehungen zwischen Amyloidose und Paraproteinose, RÄNDERATH sieht im Amyloideiweiß ein Paraglobulin, entsprechend meinen früher schon entwickelten Vorstellungen über die Rolle des Globulins bei der Amyloidose [LETTERER (1)]. Aber die Frage nach der Art und Weise der Ausfallung bleibt dabei immer wieder ungelöst. Ich sehe in den genetischen Beziehungen zu paraproteinogenen Vorgängen bei der Amyloidose weder einen Gegensatz zu meinen früheren Vorstellungen [LETTERER (1)] über die Rolle des Serumglobulins bei der Amyloidose, noch einen solchen zu denjenigen des Antigen-Antikörper-Präcipitationsprozesses, vielmehr sind diese Erkenntnisse geeignet, ungeklärte Gebiete dieses Fragenkomplexes weiterhin aufzuklären.

Es ist nun wesentlich, daß als Ergebnis meiner obengenannten Arbeiten die Anschauung begründet werden konnte [LETTERER (1 und 2)], daß Amyloid dann entsteht, wenn die Fähigkeit Antikörper, d. h. in diesem Falle Präcipitine, zu bilden, schlecht ist oder schlecht zu werden beginnt, während bei guter Antikörperbildung die Reaktion mit dem Antigen sich humoral abspielt und eine Präcipitatbildung im Gewebe dann ausbleibt.

Geht man von der obengenannten Feststellung aus, daß die Amyloidose den Ausdruck schlechter Antikörperbildungsfähigkeit darstellt, so müßte daraus der Schluß abgeleitet werden, daß unter den Bedingungen einer amyloidkrankmachenden Behandlung das gesundbleibende Tier einer Versuchsreihe eine bessere antikörper- bzw. präcipitinbildende Fähigkeit besitzt als das erkrankende. Darüber hinaus aber war schon bald aus den Versuchen mit eindringlicher Deutlichkeit hervorgegangen, daß äußere Versuchsbedingungen von Einfluß auf den Erfolg einer amyloidkrankmachenden Behandlung waren, insofern die Art der *Ernährung* der Versuchstiere von *ausschlaggebendem Einfluß* war auf den positiven oder negativen Erfolg, an Amyloidose zu erkranken.

Diese Feststellung brachte das Amyloidoseproblem in ein neues Licht der Betrachtung, denn es kommt nunmehr im Bereich der allgemeinen Pathologie insofern zu erneuter Bedeutung, als die *Amyloidose* als *Indicator* für eine *gute oder schlechte Antikörperbildung* angesehen werden darf und dieser Zustand allem Anschein nach durch *Ernährungseinflüsse* wandelbar ist. Damit aber wäre man in die Lage versetzt, im Auftreten von Amyloid den Einfluß der Ernährung auf Förderung und Hemmung gewisser antikörperbildenden Kräfte des Organismus zu erkennen und somit den Teil dieser Vorgänge zu erfassen, der nicht von inneren Bedingungen, wohl aber von Umweltseinflüssen abhängig ist.

Auf diese Weise gibt die Erforschung der Entstehung eines Krankheitsbildes einen neuen und geweiteten Blick in zunächst nicht vermutete Gebiete der allgemeinen Pathologie und Physiologie und es kann das Amyloidexperiment zu dem konstruktiven Versuch Verwendung finden, den Einfluß und die Bedeutung bestimmter Ernährung auf die antikörperbildende Kraft des Organismus, streng genommen auf die Präcipitinbildung, zu untersuchen.

Genau betrachtet handelt es sich bei der Amyloidose um eine Autopräcipitatabbildung, d. h. es kommt durch die amyloidkrankmachende Behandlung zur Einschmelzung von körpereigenem Eiweiß, welches als Antigen wirkend, die Präcipitinbildung hervorruft. Die Änderungen in der Ernährung würden also streng genommen die Bildung von Auto-Antikörpern beeinflussen, wobei angenommen werden darf, daß die Bildung von Heteroantikörpern sich nicht wesentlich von dieser ersten unterscheidet. Hingegen wäre zu erwägen, ob nicht die auf die Einspritzung einsetzende sekundäre Antigenbildung in der Form der Einschmelzung körpereigenen Eiweißes durch die vorgenommene Ernährungsänderung eine Beeinflussung, d. h. Beschleunigung oder Hemmung erfahren kann und somit eine geringere Antigenbildung auch eine herabgesetzte Präcipitinbildung mit sich bringt. Das heißt, die Änderung im Amyloidergebnis wäre dann nicht auf gesteigerte und geschwächte Antikörperbildung, sondern auf herabgesetzte sekundäre Antigenentstehung zurückzuführen. Soweit sich diese sekundäre Antigenbildung in der Entstehung der experimentell erzeugten Eiterung verfolgen läßt, kann man aus unseren vielen derartigen Versuchen einen eindeutigen Einfluß der Ernährung auf deren Entwicklung nicht feststellen.

Der Gedanke, den Ablauf einer Krankheit, die Heilung einer Wunde nicht nur durch unmittelbaren Eingriff am Krankheitsherd selbst, sondern auch durch indirekte Maßnahmen zu begünstigen, ist wohl so alt wie die Heilkunde selbst. Beziehen wir uns unmittelbar auf das Problem, durch Änderung der üblichen Ernährung oder durch zusätzliche Ernährungsstoffe eine Verbesserung der Immunitätsvorgänge zu erreichen, so müssen wir die möglichen Änderungen der allgemeinen Resistenz von einer Steigerung der Antikörperbildung als Immunitätsproblem sehr klar trennen. Die vorliegenden Versuche bezeichnen eine gezielte, durch Ernährungseinflüsse bewirkte Verbesserung der spezifischen Immunität und deren Erfassung im Experiment.

Somit liegt den im folgenden mitzuteilenden Untersuchungen der Gedanke zugrunde, die experimentell erzeugbare *Amyloidose* der Maus als einen *Indicator* für deren *gute oder schlechte Präcipitinbildung* zu benutzen und den offensichtlichen *Einfluß* verschiedener *Ernährung* auf diese Vorgänge zu ergründen. Von vornherein könnten die Versuche unterteilt werden in solche mit Änderung der organischen, der anorganischen und der sog. zusätzlichen Nährstoffe.

Es ist indes nicht das erste Mal, daß zur Klärung solcher Fragen das Experiment herangezogen wurde.

1925—1927 hat BIELING erstmals im Tierversuch die Frage des Infektionsablaufes bei quantitativer und qualitativer Unterernährung untersucht; das

Ergebnis war schon insofern wichtig, als sich zeigte, daß Hunger und vitaminfreie Ernährung in ihren nachteiligen Folgen gleichartig und nicht etwa unterschiedlich sich auswirken; dies trifft sowohl für die Beeinflussung der Resistenz wie für die Entwicklung von Immunitätserscheinungen zu.

Von gleicher Bedeutung ist aber die schon damals gemachte Feststellung, daß die Beeinträchtigung der Immunkörperbildung eine verschiedenartige ist. So wird die Bildung von Agglutininen und Hämolsinen bei Kaninchen durch Hunger und Avitaminose nicht beeinflußt, während die antitoxische Immunität und die Ausbildung bactericider Antikörper durch die gleichen Einflüsse eine deutliche Herabsetzung erleiden; dabei ist der Ernährungszustand maßgebend, in dem der Impfling sich bei Beginn der Impfung befindet, eine nachfolgende Verbesserung der Ernährungsbedingungen vermag die Immunitätslage nicht mehr zu verändern. Über Präcipitinbildung sind unter den geschilderten Umständen keine Untersuchungen angestellt worden.

Die Arbeiten von OELRICH und die späteren von JUSATZ und von KOLLATH beschäftigen sich vorwiegend mit dem Verhalten der Resistenz und der Entwicklung von Immunitätsvorgängen bei vitaminfrei ernährten Tieren, ein Kapitel, das auch in der Hand noch sehr zahlreicher anderer Autoren eine ausgedehnte Bearbeitung gefunden hat. Hier tritt als wesentlich hervor, daß die Beeinflussung der Immunität keine gleichmäßige ist; die von KOLLATH als aplastisch bezeichnete Kost (Mangel der „Wuchsstoffe“ und der wasserlöslichen Vitamine) führt zur Herabsetzung der Bakteriolysine, die mesotrophische dagegen (Mangel der Wuchsstoffe einschließlich aller Vitamine bis auf B<sup>1</sup>) beeinträchtigt in gleich starkem Maße die Bildung von Agglutininen.

Die Ergebnisse der verschiedenen Autoren sind weder hinsichtlich der Resultate noch der Methodik einheitlich zu nennen, schon deshalb nicht, weil zu verschiedenartige Versuchstiere Verwendung fanden und ferner deshalb, weil auch das Grundfutter in den einzelnen Versuchen ein zu verschiedenes war; aus diesem Grunde sind Vergleiche kaum möglich.

Die Präcipitinbildung wurde in ihrer Abhängigkeit von Ernährungsfaktoren nur am Kaninchen zuerst von WERKMAN und später von JUSATZ untersucht. Hinsichtlich verschiedener Futterarten (Hafer, Kartoffel, Rüben, Heu, Grünfutter) werden Angaben nicht gemacht. JUSATZ bemerkt nur, daß die Bactericidie des Blutes bei Kartoffelfutter schlecht, bei Hafer gering und bei Grünfutter besser sei. Ich kann aus eigener Erfahrung sagen, daß die vorwiegend mit Grünfutter im Sommer gehaltenen Tiere oder solche, welche im Winter zu dem täglichen Heu noch eine Zulage von gelben Rüben erhielten, immer besser präcipitierten als andere. Im übrigen verzögert ein durch mehrere Monate gegebenes, vitaminarm gemachtes Futter die Präcipitinbildung (JUSATZ), Vitamin A dagegen bleibt ohne Einfluß auf die Bildung präcipiterender Antikörper, desgleichen B, kleine Mengen von D ebenfalls, während große Dosen eine Hemmung bewirken; dagegen konnte mit intravenös verabfolgtem Vitamin C eine deutliche Steigerung der Präcipitinbildung erlangt werden.

Der oben schon genannten Dreiteilung folgend, sollte also das Amyloidexperiment — und damit die Prüfung auf gute und schlechte Antikörperbildung — mit einem Wechsel in den organischen, den anorganischen und den zusätzlichen Nährstoffen durchgeführt werden, ein Programm, welches viele hundert Versuche und lange Zeit für sich in Anspruch nimmt. Die schon vor 10 Jahren begonnenen Versuche

haben durch mancherlei Geschick mancherlei Aufschub erleiden müssen, der einen Abschluß des Gesamtfragenkomplexes oft hindernd im Wege stand. Immerhin ist aus den drei genannten Hauptgebieten eine größere Zahl von Einzelfragen behandelt worden, und es soll über diese vorerst gewonnenen Ergebnisse im folgenden berichtet werden, weitere werden in absehbarer Zeit folgen.

Es wurde zur Erzeugung einer Amyloidose die *Methode* gewählt, welche sich schon früher als die schnellste erwiesen hatte: Subcutane Injektion einer 2%igen Lösung von Nuclein in 0,25%iger Natronlauge. Damit gelingt es in 21 Tagen bei Haferfütterung bei etwa der Hälfte der Versuchstiere eine Amyloidose zu erzeugen.

Entgegen der in der Literatur verbreiteten Ansicht, der auch ich auf Grund meiner anfänglichen Erfahrungen zuneigte [(2), S. 51], daß die *Rasse der Tiere* eine Rolle für den positiven oder negativen Erfolg des Amyloidexperiments spielt, bin ich heute auf Grund noch sehr viel breiterer Erfahrungen der Meinung, daß dieselbe nicht den Einfluß auf den Versuch hat, den man oft anzunehmen geneigt ist und daß die vermeintlichen rassenbedingten Unterschiede im Amyloidexperiment mehr exogenen als endogenen Faktoren ihr Auftreten verdanken, wobei schon die Art der Aufzucht der Tiere und scheinbar auch Alter und Herkunft des in seiner Art gleichbleibenden Körnerfutters eine nicht zu vernachlässigende Rolle spielt. Immerhin wird es für die vergleichende Beurteilung der Versuchsergebnisse von Vorteil sein, ein seiner Herkunft nach möglichst gleichartiges Tiermaterial zu verwenden, und ich habe, soweit dies bei den oft nicht geringen Schwierigkeiten in der Beschaffung der Tiere möglich war, diesen Grundsatz verfolgt und außerdem in allen Versuchen die Herkunft jedes Einzeltieres notiert.

Meine jetzt mitzuteilenden Versuche beziehen sich auf mehr als 1500 Mäuse, die zum Teil aus eigener Zucht, zum Teil aus zwei anderen Quellen stammen, und sie haben einen sicheren Schluß auf Einfluß der *Rasse* für den Ausfall des Amyloidexperiments *nicht* erbringen können.

Um vergleichen zu können, mußte die Zahl der Injektionen und die Dauer des Experimentes standardisiert werden. Es gelingt in jeder Art von Amyloidversuch, den Prozentsatz der amyloidkranken Tiere zu steigern, wenn man nur lange genug den Versuch ausdehnt [LETTERER (2), S. 43] und bei entsprechend langer Dauer kann man es in jedem Falle auf 100% Erkrankungsquote bringen. Infolgedessen müssen die Versuche eine ganz gleichbleibende zeitliche Begrenzung erfahren und ein bestimmter Turnus der Injektionen genau eingehalten werden. Nur dann kann man eine bestimmte Erkrankungsquote als ein Äquivalent für bestimmte Versuchsbedingungen betrachten.

Sofern die Tiere nicht aus eigener Zucht stammten, wurden sie nach dem Transport für einige Wochen zuerst im Tiervorrat bei gutem Futter nach männlichen und weiblichen Tieren getrennt gehalten. Das letztere ist notwendig, um zu verhindern, daß trächtige Tiere in den Versuch genommen werden und mehr noch, um die sehr häufigen Beißbereien möglichst zu vermeiden, die bei Mischung der Tiere regelmäßig vorkommen und sehr oft zu kleinen subcutanen Abscessen führen, die, meistens unentdeckt, den Grund für die sog. „Spontanamyloidose“ der Maus abgeben, welche nach unseren Beobachtungen bei Nichteinhaltung dieser Vorsichtsmaßregel bis zu 5% betragen kann. Dies ist auch meines Erachtens der Grund für die in der Literatur unter dem Namen „Minutenamyloid“ (DOMAGK) bekannte Erscheinung. Die Trennung nach Männchen und Weibchen wird auch während des ganzen Versuches beibehalten. Zur Verhütung

der Beißereien, welche unsere Versuchsergebnisse unliebsam beeinträchtigen konnten, war es ferner angezeigt, niemals fremde Tiere in einen schon vorhandenen Kasten zu anderen zu setzen; geschieht dies, so fangen die Tiere, gleichgültig ob Männchen oder Weibchen, erstere aber mehr, sofort an zu raufen und zu beißen; man kann dieses verhindern, wenn man bei notwendig werdender Mischung von Tiermaterial dieses grundsätzlich nur in frisch gereinigte Kästen mit neuer Streu, als welche wir Holzspäne benutzen, einsetzt. In allen Versuchen wurde darauf geachtet, daß die Tiere ein Mindestgewicht von 16 g und ein Durchschnittsgewicht von etwa 18 g hatten. Das für die tägliche Fütterung und für die eigene Zucht benutzte Futter setzt sich aus einer Mischung von Mais, Gerste, Hafer, getrockneter Placenta, Hefe und Salzgemisch zusammen. Dieses sog. „Kraftfutter“ ist das Resultat vielfacher Fütterungs- und Zuchversuche und hat sich sehr gut bewährt, sowohl hinsichtlich der Verwendung verschiedener Getreidearten wie des Zusatzes der Placenta als Spender von tierischem Eiweiß und Vitamin E zugleich; als weiterer zusätzlicher Vitaminspender fungiert die Hefe und der relativ hohe Salzbedarf der Mäuse wird durch Zusatz der OSBORNE'schen Salzmischung gedeckt. Die Herstellungsvorschrift für das Futter ist folgende: Vollkommen frische Placenten, welche zuvor nicht in der Wärme gestanden haben dürfen, werden von Nabelschnur, umziehendem Bindegewebe und großen Gefäßen völlig befreit. Die weichen lockeren Placentarzotten werden allein verwendet; sie werden in einem Tuch unter Zuhilfenahme einer Presse soweit als möglich ausgepreßt und von Blut befreit, dann gewogen und das Placentar gewicht mit der zweieinhalbfachen Menge von Mais, der vorher geschrötert wurde, gleichmäßig und gut vermengt. Diese Mischung wird bei 30—35° C unter täglichem Umwenden getrocknet und schließlich der Placenta-Maismischung folgende Zusätze gegeben:

Placenta-Mais-Mischung . . . . .	450 g,
Gerste . . . . .	300 g,
Hafer . . . . .	200 g,
getrocknete Hefe . . . . .	20 g,
Salzmischung OSBORNE . . . . .	30 g.

Zu einem Versuch werden etwa gleich viel Männchen und Weibchen verwendet. Sie werden zu Versuchsbeginn und dann wöchentlich einmal gewogen. Es ist zu beachten, daß die Tiere stets zur gleichen Tageszeit, d. h. in gleichem Abstand von der letzten Fütterung gewogen werden. Aus der Gesamtzahl der Gewichte einerseits und aus denen der männlichen und weiblichen Tiere wird das Mittel gezogen, und am Ende des Versuches von den Tieren, welche den Versuch überstanden haben, eine männliche, eine weibliche und eine Gesamtdurchschnittskurve angelegt. Markierung der Tiere geschieht durch Coupierung und schlitzförmiges Einschneiden der Ohren; durch verschiedenartige Kombination dieser beiden Arten am linken und rechten Ohr sowie schließlich noch einer Coupierung der Schwanzspitze lassen sich beliebig viele Einzelmarkierungen auf einfachste Art gewinnen; mehr als 15—20 Tiere sollen an sich nicht in einem Versuchskasten gehalten werden.

Es gibt Futterarten, welche sehr gern und solche, welche aus geschmacklichen Gründen weniger gern gefressen werden. Dabei ist es zunächst überraschend, daß die Mäuse die Quantität ihrer Nahrungsaufnahme nicht etwa nach dem Geschmack und der mehr oder weniger großen Vorliebe für ein Futter einrichten, sondern ziemlich genau nach einer bestimmten für sie notwendigen Calorienmenge (10 Calorien) welche sie durch Aufnahme größerer Gewichtsmengen an Futter einigermaßen genau zu regulieren wissen, wenn dasselbe calorienärmer und ballaststoffreicher ist. Es ist aber doch notwendig bei sehr ballastreichen

Nährstoffen den Caloriengehalt zu kennen und Futterarten, zu denen eine größere Nagearbeit gehört, in einer Schrotmühle zu zerkleinern. Nagearbeit kostet Kalorien.

Beginnt ein Amyloidversuch mit einer bestimmten Ernährung, so werden die Tiere zunächst für 8 Tage ohne krankmachende Behandlung dieser neuen Nahrung unterworfen. Erst nach der Vorfütterungsperiode wird die Injektionsbehandlung begonnen. 0,5 cm<sup>3</sup> Nuclein-Natronlauge werden subcutan am Rücken injiziert, Einstich unterhalb der Nackengegend mit Richtung nach dem Körperende, kurzes Verstreichen der Injektionsmenge mit den Fingern nach unten. Das Tier wird mit Daumen und Zeigefinger am Nackenfell gehalten und auch da eingestochen. Der Schwanz wird mit Klein- und Ringfinger gegen den Daumenballen gepreßt. Auf diese Weise hat man eine Hand für die Spritze völlig frei. Unfälle wie Anstechen der Pleura oder Bauchhöhle sind so gut wie ausgeschlossen und auch eine große Tierzahl kann auf diese Weise in kurzer Zeit injiziert werden. Die Injektionslösung wird in ganzer Menge für den Versuch einmal angesetzt und unter Toluol aufbewahrt. Insgesamt werden 12 Injektionen in 21 Tagen gegeben, während der ersten 5 Tage täglich, dann jeweils einen Tag Pause, letztmals am 19. Tag. In der Regel entwickelt sich in den ersten 5 Tagen ein unter der Haut deutlich als teigige Schwellung fühlbarer Abscess, in den ohne Bedenken die weiteren Injektionen gegeben werden können, jedoch nicht zu oberflächlich, da sonst bald und leicht Nekrosen der Haut auftreten. Diese Nekrosen sind in einzelnen Versuchen auch bei gleichbleibender Spritztechnik oft sehr verschieden hinsichtlich Schnelligkeit des Auftretens und Ausdehnung und werden uns noch beschäftigen. Die Tiere lieben es oft, sich diese Nekrosen gegenseitig abzufressen und es entstehen dann breit ausgedehnte Wundflächen. In diesen und ähnlichen Fällen ist es angezeigt, die weiteren Einspritzungen an anderer Stelle vorzunehmen, auch können bei zu rasch fortschreitender Eiterung oder Nekrose sowie zu schnellem Verfall der Tiere einmal ein oder zwei Injektionen fortgelassen werden. Es bleibt *Grundsatz* der *krankmachenden Behandlung*, eine relativ rasch einsetzende Eiterung zu erzeugen und dieselbe während der 21 Versuchstage zu unterhalten, aber ohne daß das Tier dabei vorzeitig zu stark verfällt oder zugrunde geht. In der Nucleinlösung entwickelt sich beim Stehen unter Toluol langsam ein Bodensatz von nicht gelöster Substanz, welcher besonders stark abschleißend wirkt. Je nach Notwendigkeit kann er in die Injektionsmenge mit aufgenommen werden oder nicht. Am 21. Tag werden die Tiere durch Dekapitation getötet. Es hat sich gezeigt, daß diese Tötungsart für histologische Untersuchungen die wesentlich bessere ist als etwa die Anwendung der Narkose. Ganz abgesehen davon, daß man sich schon durch den reinen Anblick davon leicht überzeugen kann, daß die zur Tötung angewandte Narkose nicht etwa eine sanftere Tötungsart darstellt, führt diese zu einer so starken Stauungsbüffülle, daß das normale Bild der Organe dadurch nicht nur sehr stark abgewandelt, wenn nicht entstellt wird, sondern für die histologische Untersuchung besonders für den sonst leicht anwendbaren Gefrierschnitt viel schlechter behandelbar wird. Das gute Ausbluten ist für die nachfolgende histologische Untersuchung von großem Vorteil. Es wird über jedes Tier eine Protokollnotiz gemacht über Abscessentwicklung, eventuelle Rückenhautnekrosen, sonstiges Verhalten des Tieres, Größe und Beschaffenheit der Organe, Fettdepots usw. Die Organe werden in Formalin im ganzen fixiert und als Gefrierschnitt untersucht. Im Laufe des Versuches schon gestorbene Tiere werden ebenfalls seziert und untersucht, wenn auch zur endgültigen Auswertung nur die Tiere Verwendung finden, welche den ganzen Versuch überstanden haben. Auf diese Weise gelingt es, eine gute Grundlage für die vergleichenden Versuche bei verschiedenartiger Ernährung im Amyloidexperiment zu gewinnen.

Die *Auswertung* der Ergebnisse geschieht auf Grund der Auszählung der positiven Fälle nach der histologischen Untersuchung. Aus der Gesamtzahl der den 21tägigen Versuch überlebenden Tiere wird dann der Prozentsatz der erkrankten berechnet. In Übereinstimmung mit BURN wurde es als genügend angesehen, bei Berechnung der Schwankungsbreite des Wirkungsprozentsatzes den einfachen mittleren Fehler  $\sigma$  zu berücksichtigen nach der Formel

$$\sigma = \sqrt{\frac{p \cdot (100-p)}{n}},$$

$p$  = Prozentzahl,  $n$  = Anzahl der Tiere.

Nach BURN soll die Zahl der Tiere eines Versuches nicht unter 30 betragen. Es werden regelmäßig die ganze Milz, ein größeres Stück Leber, und eine ganze Niere mit Nebenniere untersucht, sowohl im Hämatoxylin-Eosin- wie im Scharlachrotpräparat. Die Milz muß von der breiten Fläche her und in ganzer Länge und nicht nur in den oberflächlichsten Schichten geschnitten sein, die Leber in einem etwa pfennigflächengroßen Schnitt, die Niere vom oberen zum unteren Pol etwa in der Mittellinie. Indicator für positives Ergebnis ist in jedem Falle die Milz, in der die amyloiden Ringe um die Follikel stets deutlich hervortreten. Es werden 3 Stärkegrade der Amyloidose festgelegt:

- + bedeutet einfache Ringe um alle oder einzelne Follikel.
- ++ die amyloiden Ringe um die Follikel berühren sich gegenseitig.
- +++ es ist zur diffusen Amyloidose der Milz gekommen.

(+) Spuren von Amyloid vorhanden.

In der Leber ist die Amyloidose stets geringer.

- + kleine Amyloidablagerungen in Venen oder Capillaren.
- ++ Amyloid in Venen und Capillaren.
- +++ größere Komplexe von Amyloid.

In der Niere erkranken zuerst die Interstitien der Nierenpapille (+ bis ++), nur ganz selten zusätzlich noch die Glomeruli (+++). [s. LETTERER (1)].

Um über den Ausfall eines Experimentes einen objektiveren Überblick zu bekommen, wurde noch ein *Amyloidstärcefaktor* und ein *Amyloidausbreitungsfaktor* für den Gesamtversuch berechnet; die Stärke des Amyloids läuft nicht immer gleich der Beteiligung von Milz, Leber und Niere. Stets beteiligt ist im positiven Falle die Milz. Es gibt aber Fälle mit sehr starker Milzamyloidose ohne Beteiligung der Leber und Niere und solche mit geringem Milzamyloid und gleichzeitigem Leber- und Nierenamyloid. Der Amyloidstärcefaktor  $s$  und der Amyloidausbreitungsfaktor  $q$  werden folgendermaßen berechnet:

Um  $s$  zu ermitteln, wird festgestellt, in wie vielen Fällen eines Versuches in der Milz die Amyloidose einen stärkeren Grad als + angenommen hat, also  $(a++) + (b+++)$ . Diese Summe wird dividiert durch die absolute Zahl der gesamten positiven Tiere des Versuches, der Quotient mit 100 multipliziert, ergibt den „Stärcefaktor“. Der Stärcefaktor  $s$  erhält dann folgende Formel:

$$s = \frac{(a++) + (b+++)}{Z} \cdot 100,$$

z. B. von 27 Tieren eines Versuches sind 16 positiv, davon ist +++ einmal, ++ viermal vertreten, also

$$\frac{1+++ + 4++}{16} \cdot 100 = 31,25 (31).$$

Der Stärcefaktor steigt mit zunehmender Amyloidstärke der Milz. Der Ausbreitungsfaktor  $q$  erfaßt die mehr oder weniger ausgedehnte Ausbreitung des Amyloids auf die Organe. Er berechnet sich folgendermaßen:

Summe der positiven Untersuchungsergebnisse Milz, Leber, Niere dividiert durch die Gesamtzahl der positiven Tiere eines Versuches mal 100. Zum Beispiel: von 15 Tieren eines Versuches sind 7 positiv. Dabei ist die Milz 7mal, Leber einmal, Niere einmal ergriffen:

$$q = \frac{7 + 1 + 1}{7} = \frac{9}{7} \cdot 100 = 128,5 \text{ (129).}$$

Mit zunehmender Ausbreitung des Amyloids in den Organen steigt der Faktor  $q$ .

Alle vorzeitig gestorbenen Tiere wurden seziert und nach dem 8. Versuchstag auch histologisch untersucht. Dabei stellte sich nicht selten heraus, daß schon vor dem 21. Versuchstag eine Amyloidose sich entwickelt hatte. Eine Todesursache bei vorzeitig verendeten Versuchstieren zu finden war zu allermeist unmöglich; nicht selten starben die Tiere schon nach den ersten Injektionen, ohne daß ihnen besondere Krankheitszeichen anzumerken waren, ziemlich plötzlich. Manche zeigten auch von Versuchsbeginn an eine stark abfallende Tendenz ihrer Gewichtskurve, die durch nichts erklärbar war und mit vorzeitigem Tod endete. Für die Prognose der Versuche spielt das Einsatzgewicht eine unzweiflhbare Rolle; zu leichte Tiere überstehen die an sich doch ziemlich eingreifenden Versuche schlecht; es kommt ferner hinzu, daß Mäuse nicht selten an latenten Infektionen mit Gärtner- oder Breslau-Bacillen leiden, welche unter normalen Bedingungen keinerlei Krankheitszeichen hervorrufen, aber zu rasch tödlich verlaufenden Durchfällen führen, sobald die Tiere nur einem Futterwechsel oder einer Injektionsbehandlung oder einer Unterkühlung ausgesetzt werden. Dann aber greift die Infektion auch rasch auf die Stallgenossen und die Nachbarküsten über und kann schnell den Erfolg mühsamer Versuche zunichte machen. Aus diesem Grunde ist es notwendig, stets die gleichen Futtergefäße in die gleichen Käfige nach deren Reinigung zurückzugeben und Käfige mit Erkrankungsfällen strengstens zu isolieren. Neu eingekaufte Tiere sollten stets in einigen Stichproben bakteriologisch mit Blut-, Milz- und Leberausstrich auf latente Gärtner- und Breslau-Bacillenträger untersucht werden (Ausstrich auf Endoplatte und Agglutination). Um solche für den Fortgang großer Versuchsreihen außerordentlich peinliche, aber nie zu vermeidende Vorkommnisse zurückzudrängen, habe ich mit Erfolg eine Vaccinebehandlung der Mäuse durchgeführt. Alle Jungtiere, sobald sie 8—10 g Gewicht hatten, bekamen innerhalb von 8 Tagen 3mal Vaccine (0,1—0,3 cm<sup>3</sup>) aus den aus den erkrankten Tieren selbst gezüchteten Stämmen. Vor Einsetzen in einen Versuch nochmals 0,3 cm<sup>3</sup>, außerdem wurden von Fall zu Fall die Vorratsstämme monatlich einmal vacciniert. Ist eine Seuche ausgebrochen, so kann es noch von Erfolg sein, eine kombinierte Globucid-Vaccine-Behandlung sofort anzusetzen (10 mg Globucid je Tier und Tag, an drei aufeinanderfolgenden Tagen, dann 0,5 cm<sup>3</sup> Vaccine). Diese Behandlungsweisen erscheinen umständlich, der Mangel an Tieren und die lange Dauer der Versuche, welche durch solche Zwischenfälle schwerstens beeinträchtigt werden können, gibt ihnen genügend Berechtigung. Trotzdem werden Verluste immer wieder auftreten. Eine Beeinträchtigung der Versuchsergebnisse hinsichtlich der Amyloidose durch die geschilderte prophylaktische Behandlung habe ich nicht feststellen können. Es war aber damit gelungen, Gärtner- und Breslau-Infektionen fast vollkommen auszurotten und Neueinschleppungen zu verhüten. Um dies allerdings zu erreichen, wurde in den meisten Versuchen jedes gestorbene Tier aus Vorrat und Versuch bakteriologisch untersucht und außerdem bei Tötung einer Versuchsreihe ebenfalls von jedem Tier ein Blut- und Organausstrich angelegt und kulturell geprüft. Diese Maßnahmen waren wichtig geworden, um die sehr peinlichen Verluste an Zeit und Arbeit durch Stallinfektionen zu verhüten.

War es schon in früheren Untersuchungen über die Amyloidose mehr zufällig bemerkt worden, daß bei verschiedenartiger Fütterung der Prozentsatz der erkrankten Tiere oft nicht unerhebliche Schwankungen zeigte, so konnte in eigens darauf gerichteten Versuchen schon 1938 [LETTERER (3)] der Einfluß der Ernährung auf Verlauf und Erfolg des Amyloidexperimentes gezeigt werden. Die Methodik war seinerzeit noch eine andere als eben beschrieben, insofern als der Versuch auf die Gesamtlebensdauer der Tiere abgestellt war, wobei bestätigt wurde, daß bei sehr langer Versuchsdauer ein sehr hoher Prozentsatz (90 %) amyloidkrank wurde (s. JAFFÉ). Es verschwanden dann aber die Unterschiede der Fütterungsarten. Da in diesen ersten Probeversuchen schon bemerkt werden konnte, daß der Hafer gegenüber Brotfütterung eine höhere Amyloidquote hatte, so wurde bei der Wiederaufnahme der Versuche (1943) die Brotfütterung mit Weizenbrot und Vollkornbrot gegenüber Hafer zuerst untersucht.

Bei der Vollkornbrotfütterung hatte es sich als notwendig erwiesen, das Brot vorher einige Tage bei gelinder Wärme zu trocknen und dann in grob-gemahlenem Zustande zu verfüttern, weil die Mäuse das frische Brot nur sehr schlecht vertrugen und infolge von dessen Feuchtigkeit vielfach an intestinale Gärungsschäden zugrunde gingen. Aus Gründen gleicher Versuchsbedingungen wurde dann auch das Weißbrot ebenso behandelt und der Hafer vor der Verfütterung geschrotet, ein Umstand, der es den Mäusen leichter machte, in jedem Falle die notwendige Menge von Calorien mit etwa demselben Arbeitsaufwand beim Fressen aufzunehmen.

Diese *Brotfütterungsversuche* beziehen sich auf 102 Tiere mit Vollkornbrot und 117 mit Weißbrot sowie 128 mit Hafer als Vergleich.

Tabelle 1.

Fütterung	Ge-samt-zahl	Prozent-positiv	s	a	Vorzeitiger Tod im Versuch	Relation der Positiven
					%	♂:♀
Vollkornbrot . . . . .	102	23,7 ± 4,1	8	117	48,4	1:1,7
Weißbrot . . . . .	117	35,1 ± 5,5	3	119	33,3	1:1,6
Hafer . . . . .	128	57 ± 4,3	34	140	17,4	1:1,8

Die Tabelle 1 zeigt, daß bei Brotfütterung der Amyloidprozentsatz wesentlich niedriger ist als bei Hafer. Vollkornbrot und Weizenbrot unterscheiden sich allerdings nur wenig voneinander, wenn man die Schwankungsbreite der mittleren Abweichung berücksichtigt. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Brotsorten kann also nicht angenommen werden. Der höhere Todesprozentsatz bei Vollkornbrot erklärt sich daraus, daß in den ersten Versuchen das Brot noch frisch verfüttert wurde und damit weniger verträglich war. Aufällig ist, was in allen derartigen Versuchen immer wieder zutage

tritt, das Überwiegen der Weibchen unter den positiven Tieren. Auf ein männliches amyloidkrankes Tier kommen 1,8 Weibchen bei Hafer, 1,7 bei Vollkornbrot, 1,6 bei Weißbrot, also etwa gleich viel in jedem Versuch. Die größere Heftigkeit der Amyloiderkrankung bei Haferkost spricht sich nicht nur in dem höheren Prozentsatz an Amyloid aus, sondern auch im größten Amyloidstärkegrad ( $s = 34,2$ ) und einem höheren Befall der Organe ( $q = 140$ ). Mit Schwarzbrotfütterung hat man zwar den geringsten Erkrankungsprozentsatz, aber die Stärke in der Milz ist größer als bei Weißbrot, während bei Weißbrot mehr Tiere erkranken, jedoch im Einzelfall schwächer. Morbidität und Erkrankungsstärke sind also nicht konform. Man muß somit feststellen, daß Brotfütterung eine bessere Amyloidverhütung bewirkt als Hafer. Die beiden Brotsorten Vollkornbrot und Weißbrot unterschieden sich zugunsten des Vollkornbrot nur so wenig, daß man irgendwelchen einwandfreien Vorteil des ersteren daraus nicht ablesen kann.

Die Ansichten, daß die Vollkornbroternährung für den Menschen besser sei als die Weißbrotahrung beruht ja, wenn man von den nur volkswirtschaftlich propagandistischen Seiten dieses Kapitels absieht, auf der Tatsache des größeren Gehaltes an Vitamin B. Calorienmäßig gesehen ist Weizenbrot überlegen, die Ballaststoffe sind im Vollkornbrot stärker vertreten. Die Meinungen, ob die im Vollkornbrot enthaltenen Nährstoffe überhaupt voll ausnutzbar sind, vor allem das um 100 % gegenüber dem Weizenbrot mehr vorhandene Fett, sind infolge der zweifellos schwereren Aufschließbarkeit des nicht ausgemahlenen Kornes geteilte (Literatur s. bei LENHARTZ-STEPP). Setzt man die Calorienzahl jeweils 100 gleich, so läßt sich berechnen, zu welchem Anteil die Grundnährstoffe Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate im Gesamtkalorienwert vertreten sind. Die Calorien aus Eiweiß und Kohlenhydrat sind in den drei Futterarten nahezu gleich und Hafer liefert vergleichsweise noch die meisten Calorien aus Fett.

Tabelle 2.

	Eiweiß %	Fett %	Kohlen- hydrate %	In 100 g Calorien
Vollkornbrot . . . . .	13,85	4,44	81,71	231
Weißbrot . . . . .	12,15	2,05	85,80	273
Hafer. . . . .	12,4	14,1	73,5	329

Die Beobachtung der Gewichtsbewegungen der Tiere läßt bei den verschiedenen Fütterungsarten eine Reihe von Unterschieden deutlich werden. Der Kurvenverlauf ist abhängig von der Fütterungsart. In der ersten Woche — der Vorfütterungszeit — nehmen die Hafertiere und Weißbrottiere oft noch zu, während das Futter mit den niedersten

*Erläuterung zu den Gewichtskurven* (s. Abb. 1-6 auf S. 12-14): 2 mm sind horizontal gesehen 1 Tag. — 1 mm ist vertikal gesehen 1 g. — Anfangs- und Endgewicht sind am Kurvenbeginn und -ende angemerkt. — Obere Kurve GesamtTierzahl. Dann folgt Aufteilung nach Männchen und Weibchen. — „Durchgestanden“ heißt, es sind nur Tiere aufgenommen, welche von Anfang bis Ende des Versuches leben. — „Spezialkurve“ bedeutet den Gewichtsverlauf der negativen und positiven Tiere eines Versuches nochmals aufgeteilt nach Geschlecht.

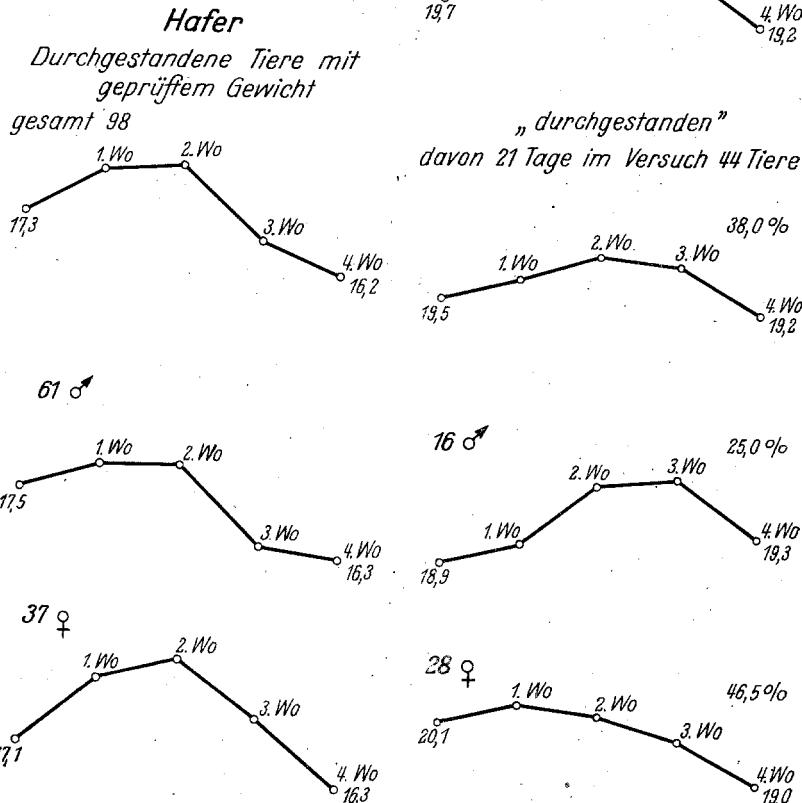


Abb. 1.

Abb. 2.

Calorien in der Gewichtseinheit (Vollkornbrot) schon zu einer Abnahme führt. Trotz der nun einsetzenden Injektionsbehandlung nimmt das Körpergewicht in allen Versuchen in dieser ersten Woche nicht mehr ab, manchmal sogar zu. Mit der dritten Woche jedoch setzt dann ein sehr deutlicher Sturz ein, der, die erkrankenden und die nichterkrankten Tiere gleichermaßen erfassend, bis zum Ende des

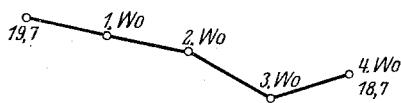
Versuches anhält, obwohl in dieser Zeit die Injektionen nur zweitägig gegeben werden (Abb. 1—3). Dabei zeigt sich dann, daß die Höhe der Amyloidquote in einer gewissen Abhängigkeit zur Stärke des Gewichtssturzes steht.

**Hafer**

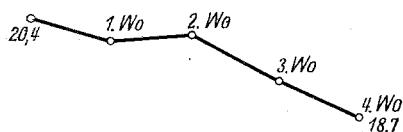
♂ und ♀ Spezialkurve

**Vollkornbrot**

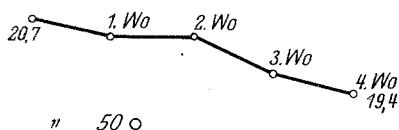
gesamt 198 Tiere im Versuch



„durchgestanden“  
davon 102 Tiere 21 Tage im Versuch



davon 52 ♂ = 9+ = 17,3 %



„ 50 ♀ = 30,0 %

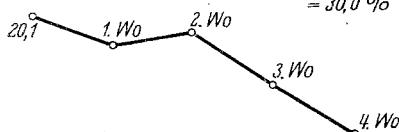
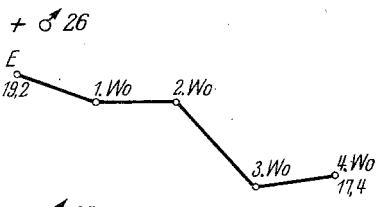
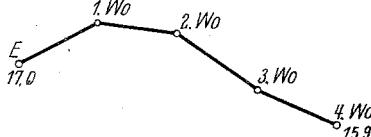


Abb. 3.

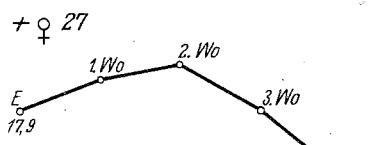
♂ gesamt 61



— ♂ 35



♀ gesamt 37



— ♀ 10

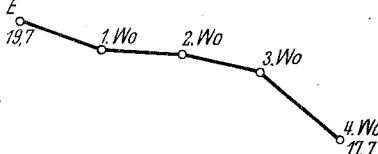


Abb. 4.

Wenn man in den 3 Versuchsserien die Gewichte bei Versuchsbeginn, bei Beginn der Injektion und das zu verschiedener Zeit erreichte Höchstgewicht jeweils mit dem Gewicht am Ende des Versuches vergleicht und die Prozente der Gewichtsabnahme daraus berechnet, so ergibt sich bei allen 3 Betrachtungsweisen, daß einer höheren Amyloidquote auch jeweils eine stärkere prozentuale Gewichtsabnahme

entspricht. Teilt man ferner die Gesamtdurchschnittskurven der Männchen und Weibchen eines jeden Versuches in positive und negative auf so zeigt sich, daß die prozentuale Körpermengenabnahme

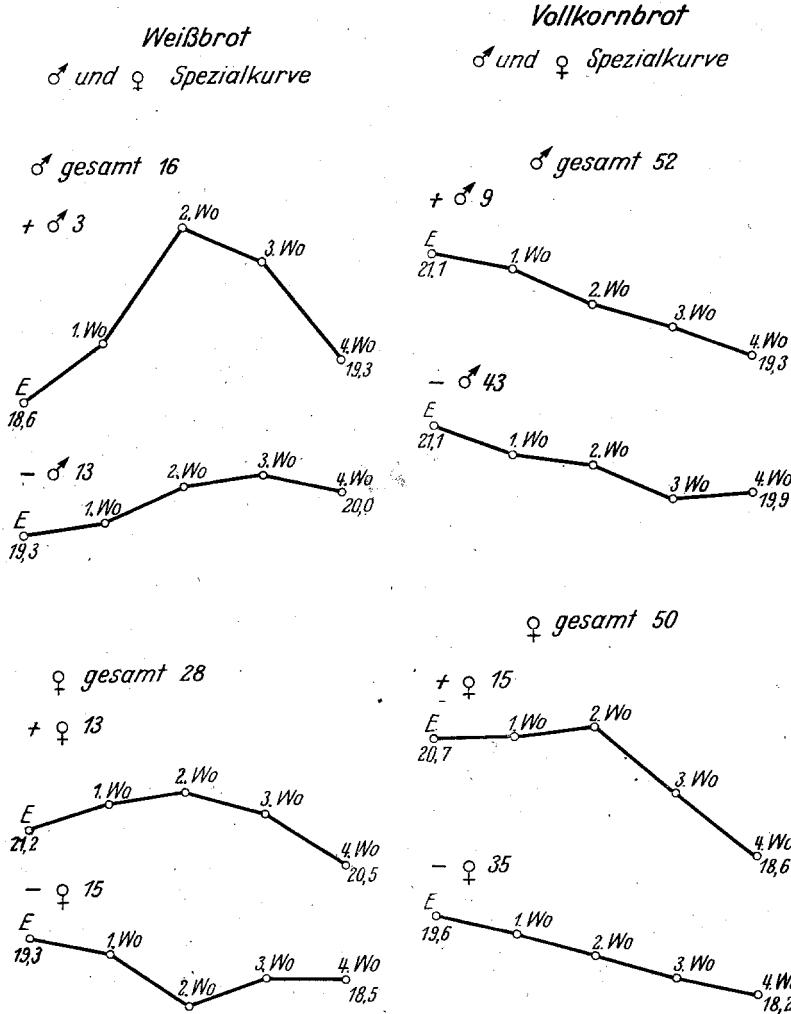


Abb. 5.

Abb. 6.

der amyloidpositiven Tiere mit wenig Ausnahmen ebenfalls wieder stärker ist als die der amyloidnegativen (Abb. 4—6).

Man erkennt also von verschiedenen Gesichtspunkten her kommend, daß, von wenigen Ausnahmen abgesehen, die amyloidnegativ bleibenden Tiere weniger abziehen als die positiv gewordenen, denn von 53 amyloidpositiven Mäusen aus dem Haferversuch zeigen z. B. 36 = 68 % Abnahmen. Es wäre wohl falsch, aus dieser Feststellung anzu-

nehmen, daß Gewichtsabnahme äquivalent mit Amyloidose sei; Abnahme zeigen beide, nur überwiegt sie bei den positiven Tieren. Daraus darf der Schluß gezogen werden, daß *Verlust an Körpergewicht* eine *Disposition für die Entstehung von Amyloid* schafft. Es wäre vorstellbar, daß für die fort dauernde Einschmelzung von Körpersubstanz die sog. sekundäre Antigenbildung gegenüber der Antikörperbildung begünstigt und somit die geeignete Situation für die Amyloidentstehung schafft.

In welcher Weise die Prävalenz der Weibchen, an Amyloidose zu erkranken, mit den eben geschilderten Verhältnissen zusammenhängt,

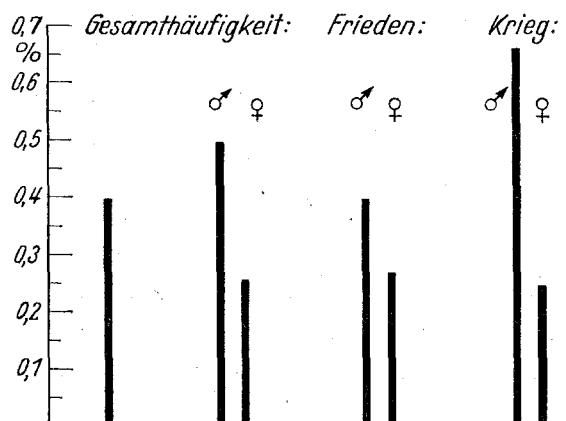


Abb. 7. Häufigkeit der Amyloidose unter 10408 Leichenöffnungen im Frieden und Krieg und für männliches und weibliches Geschlecht. Erste Säule = Prozentsatz der Amyloidfälle aus allen Leichenöffnungen. Weitere Säulen = prozentuale Verteilung berechnet für männliches und weibliches aus allen Amyloidfällen.

läßt sich nicht leicht entscheiden. Ist die stärkere Gewichtsabnahme geschlechtsgebunden und somit die stärkere Disposition, an Amyloid zu erkranken, dann hieraus zu erklären, oder führt positives Amyloid von sich aus zu stärkerem Verlust an Körpersubstanz? Die folgende Beobachtung erscheint hierfür nicht unwichtig: — Aus besonderen Gründen war einer der Haferversuche auf 38 Tage ausgedehnt worden. Er endet mit einer Amyloidquote von 60% ( $\pm 8,6\%$ ). Dabei verschwindet nun die Prävalenz der Weibchen, es sind die Männchen zu 73% und die Weibchen zu 50% erkrankt; die Gewichtsabnahme aber beträgt für die Männchen 16%, für die Weibchen nur 6%. Hieraus sollte man annehmen, daß die Bedingungen für die Abnahme an Gewicht mit dem Geschlecht der Tiere nicht unmittelbar gekoppelt sind. Vielmehr gibt diese Beobachtung einem ganz anderen Gedanken Raum, dessen experimentelle Nachprüfung infolge der Zeitverhältnisse noch nicht möglich war: Wenn in einem 21tägigen Versuch mehr Weibchen erkranken als Männchen, im 38tägigen aber mehr Männchen, so könnte es möglich sein, daß die Weibchen bei gleicher

Grundkrankheit früher erkranken als die Männchen, diese aber erst nach einem längeren und mehr chronischen Verlauf des Grundleidens und dann auch noch stärker als die Weibchen von der Amyloidose erfaßt werden. Mein Schüler HÄRTER hat an 10408 Sektionsfällen aus 20 Jahren des Tübinger Institutes unter anderem die Verteilung der Amyloidose auf Männer und Frauen untersucht und sowohl für Friedens- wie Kriegsjahre ein Überwiegen der Männer errechnet. Da die menschlichen Amyloidosen alle zu den chronischen Fällen gehören, so könnte dieses eigentümlich unterschiedliche Verhältnis der Geschlechter zwischen kurz- und langdauernden Tierversuchen einerseits und der Unterschied zum menschlichen Material andererseits seine Erklärung finden. Aber ohne genügend große Tierreihen und die gleichzeitige Bewertung der Faktoren  $s$  und  $q$  bei den erkrankten Tieren ist eine Entscheidung nicht möglich.

In jedem Versuch wurde auf die Entwicklung von Abscessen und Nekrosen, auf die Zeit ihrer Entstehung und ihre Ausdehnung und Größe geachtet, um daraus nicht nur auf die Beziehung dieser Erscheinung zur Entstehung des Amyloids, sondern auch auf den Einfluß der Fütterung Rückschlüsse machen zu können. Die folgende Zahlenaufstellung gibt Auskunft über die Sachlage.

Aus der Aufstellung (Tabelle 3) für alle 3 Fütterungen sieht man zunächst, daß die Absceßentwicklung allein den positiven oder negativen Ausgang des Amyloidexperimentes nicht beeinflußt. Abscesse sind in etwa gleich großen Prozentsätzen entwickelt, zweimal ist die starke Absceßbildung auf der positiven Seite, einmal aber auf der negativen (Tabelle 3b). Selbst ohne Absceßbildung gibt es amyloid-positive Fälle. Den größten Prozentsatz an Abscessen überhaupt hat die Weißbrotfütterung, dann folgt Hafer, dann Vollkornbrot. In der Reihenfolge der Absceßstärke steht aber an erster Stelle Hafer (86), dann Weißbrot (47,4), dann Vollkornbrot (43,9), jeweils positive und negative Tiere zusammengenommen. Ähnlich ist es mit der Entstehung der Nekrosen. Im allgemeinen war festzustellen, daß die Vollkornbrottiere am frühesten zur Nekrosenbildung kamen, wobei die Größe des Abscesses keineswegs ausschlaggebend für Beginn und Verlauf der Nekrose war; indes sind wesentliche Unterschiede hinsichtlich Zahl der Nekrosen zwischen Hafer- und Vollkornbrottieren nicht vorhanden. Die meisten und stärksten sind wiederum bei Weißbrot. Im Weißbrotversuch haben die Tiere einen fast um das Doppelte höheren Nekroseprozentsatz als bei Hafer; aus der Zahl der Nekrose läßt sich also auch hier keine unmittelbare Begünstigung der Amyloidbildung ableiten; eher könnte man umgekehrt sagen: kommt es zu Amyloid, so wird bei Brotfütterung die Nekrose häufiger als bei Haferfütterung. Der Prozentsatz der

Tabelle 3.

		Tierzahl	Abscesse %	Prozentuale Verteilung der Abscesse bei		Nekrosen %	Prozentuale Verteilung bei	
				+ Tieren	— Tieren		+ Tieren	— Tieren
a)	Hafer . . .	140 Amyloid- quote: (59,2 %)	88,5	90,4	86	31,6	29,7	34
				davon %: schwach 7,9	15,1		2,4	—
				normal 38,7	52,3		13,5	100
b)	Vollkornbrot	120 (33,8 %)	72	63	86	37	66	37
				davon %: schwach 15,8	38,4		15	40
				normal 63,5	38,4		65	44
c)	Weißbrot . . .	87 (39 %)	100	100	100	51,5	62,5	43,5
				davon %: schwach —	5,6		—	—
				normal 73,5	73,5		20	66
				stark 26,5	20,9		80	33
				I	II	III	IV	V
							VI	VII

starken Nekrosen ist aber bei den Weißbrottieren wiederum am größten, wie schon bei der Absceßstärke gesehen. Weißbrotfütterung hat also die häufigsten und die stärksten Nekrosen, wie ebenso die häufigsten Abscesse. Dann folgt Vollkornbrot, dann Hafer. Demgegenüber entwickeln sich unter Haferfütterung größere Abscesse. Man kommt also zu folgender Betrachtungsweise:

Vom Standpunkt der *Fütterungsart* gesehen hat größtmäßig Hafer die beste Absceßentwicklung, zahlenmäßig betrachtet stehen sich Hafer und Weißbrot am nächsten. Vollkornbrot ist zahlen- und größtmäßig am günstigsten. Die Entwicklung von *Nekrosen* wird durch Weißbrotfütterung am meisten begünstigt, sowohl zahlenmäßig wie größtmäßig. Hafer steht hier am günstigsten. Würde man also die Absceßentstehung und Nekrosenbildung zusammen als etwas Ungünstiges betrachten, dann schneidet hinsichtlich Fütterung *Weißbrot* am *wenigsten gut* ab.

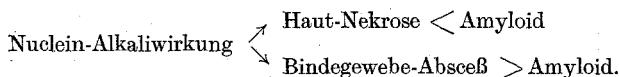
Vom Standpunkt der *Amyloidose* gesehen ist festzustellen: Hafer mit den stärksten und fast meisten Abscessen hat den größten Prozentsatz an Amyloidose. Dabei aber sind die negativ bleibenden Tiere nicht immer die von Abscessen verschont gebliebenen, sondern ihr Befallensein kommt den positiven oft sehr nahe. Das wird verständlich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß mit der Tötung der Tiere am 21. Tag des Versuches ja eine ziemlich gewaltsame Zäsur in das dynamische Geschehen der Amyloidentstehung gelegt wird und man

ja den negativen Tieren bislang noch nicht irgendwie ansehen kann, ob sie nicht in den nächsten Versuchstagen schon zu positiven geworden wären. Somit hat die Feststellung der Negativität immer eine sehr relative Komponente in sich, und man könnte daran denken, daß die Annäherung der Werte aneinander innerhalb einer positiven und negativen Zahlenäule vielleicht den kommenden Übergang vom negativen zum positiven bedeutet. So betrachtet, wird also die unter Hafer und Weißbrotfütterung besonders deutlich werdende Absceßbildung als Disposition für die Entstehung der Amyloidose anzusehen sein, welche noch irgendwelcher besonderer Faktoren bedarf, um dann manifest zu werden. Es ist aber kein Zweifel, daß unter diesem Gesichtspunkt die *Vollkornbrotfütterung* für die *Amyloidverhinderung* unter den 3 Fütterungsweisen die *beste* ist.

Von den vorhin unter Fütterungsgesichtspunkten besprochenen *Nekrose* ist in deren Beziehung zur Amyloidose zu sagen, daß Hafer mit der stärksten Amyloidose die geringste Nekroseneigung zeigt. Eine Begünstigung der Amyloidose durch die Nekrosen liegt also nicht vor. Man sollte hier die Frage stellen, weshalb bei den verschiedenen Fütterungen ein so auffallender Unterschied in der Entwicklung von Abscessen einerseits, von Nekrosen andererseits besteht. Kommt es nur zum Absceß, so hat die Injektionslösung zu einer Schädigung des Unterhautzellgewebes geführt, der die fermentativ proteolytische Einschmelzung durch die emigrierten Leukocyten folgt. Schnelligkeit der Absceßentstehung, Größe und Ausdehnung derselben wird also von der vorausgehenden Gewebsschädigung bedingt sein; da der exogen angesetzte Schaden aber immer der gleiche ist, so muß die Resistenz des Gewebes gegenüber dem Schaden eine verschieden große sein, was — ohne Zweifel und wenigstens teilweise — durch die Art der Ernährung bedingt ist; denn diese hat ja wie wir sahen einen deutlichen Einfluß; demgegenüber soll man nicht vergessen, daß der Begriff Resistenz ein sehr komplexer Begriff und niemals auf eine einzige Komponente allein rückführbar ist. — Besonders darauf eingestellte Versuche haben nun gezeigt, daß dieser Gewebsschaden durch das Natriumhydroxyd bewirkt wird, welches zur Lösung des Nucleins Verwendung findet: Frühere Versuche [LETTERER (1)] benutzten ja als parenteral verabfolgtes Protein das Casein, das in einer dünnen Sodalösung leicht löslich ist (0,25 %) und da seinerzeit andere Proteine ebenfalls auf ihre amyloidogene Wirkung erprobt wurden, so war das Hefenulein herangezogen worden; dies aber ist nur in einem wesentlich stärkeren Alkali zur Lösung zu bringen. Mittlerweile hatte sich herausgestellt, daß die Art des Proteins ziemlich belanglos ist für dessen amyloidogene Wirkung, daß aber davon abgesehen diese Nucleinlösung besonders gute Erfolge zeitigte. Aus diesem Grunde wurde bei ihr

verblieben. Es summiert sich bei ihr ein parenteraler und ein lokaler Reiz. Der letztere ist der Natronlauge zuzuschreiben. Injiziert man aber die Natronlauge in der gleichen Konzentration allein ohne Nuclein, so entwickelt sich innerhalb 24 Stunden an der Injektionsstelle eine schwerste Nekrose der Haut, welche mit einer der Alkaliwirkung entsprechenden Aufquellung und schließlichem Verlust der ganzen Epidermis dieser Stelle einhergeht. Hat man Nuclein gleichzeitig zugesetzt, so tritt dieser Vorgang nicht ein und in vielen Fällen kommt es während der ganzen Versuchsdauer zu gar keiner Nekrose. Das heißt also, daß das zugesetzte Protein eine Art Schutzwirkung gegenüber der verquellend-nekrotisierenden Lauge für das Gewebe der Haut ausübt. Unter besonderen Umständen tritt diese Nekrose im Verlaufe des Versuches wieder auf, bei Hafer sehr selten oder nie, bei Brotfütterung wesentlich häufiger. Worauf beruht dies aber? Man kann es vielleicht so erklären, daß die alkalische gewebstötende Wirkung durch den Mangel einer im Gewebe selbst fehlenden Komponente nicht hinreichend aufgehoben wird, und der Schluß liegt nahe, daß dies ein Mangel an sauren Valenzen sei. Daß solche eine Rolle gerade in der Haut spielen, ist bekannt, man hat vom Säuremantel der Haut gesprochen und wenn das Unterhautzellgewebe durch die überalkalisierende Wirkung der NaOH-Ionen geschädigt und dann von Leukozyten gelöst der Abscedierung zugeführt wird, so hält die eigentliche Epidermis darüber, obwohl sie gerade bei der Maus sehr dünn und empfindlicher scheint, einer Schädigung erstaunlich gut stand. Untersuchungen von SCHADE und MARCHIONINI, MARCHIONINI, MEMMESHEIMER, SCHOLTZ haben gezeigt, daß die Haut ein erheblich mehr im sauren Bereich (3—6) liegendes  $p_H$  hat als das Unterhautzellgewebe. Liegt es nun in der Tat an der Ernährungsart, wenn bei Hafer nur sehr wenig oder keine Nekrosen auftreten? Es gibt eine Reihe von Beobachtungen, welche die Umstellung der Stoffwechsellage nach der sauren Seite bei Haferkost unter Beweis stellen (BECKMANN, STRAUB, FREUND, SPIRO). Einen wichtigen Hinweis entnehmen wir ferner einem Versuch von LUITHELEN, welcher fand, daß der Crotonölreizung der Haut von Kaninchen bei saurer Kost (Hafer) Rötung und andere Entzündungserscheinungen folgen, während diese bei alkalischer Kost ausbleiben; d. h. also, die Hautreaktion steht hier in unmittelbarer Abhängigkeit von der Ernährung. Die Epidermis der Maus, welcher natürlicherweise als omnivorem sauren Tier schon mehr saure Valenzen überhaupt zur Verfügung stehen, widersteht einer Nekrose, solange dieselben gegenüber der stark alkalisierenden Wirkung der Injektionslösung ausreichen. Daher wird es verständlich, daß eine säuernde Nahrung wie der Hafer diese natürliche Schutzwirkung unterstützt, während eine nach der basischen Seite geneigte dies nicht tut und

erher eine Hautnekrose entstehen läßt. In der Tat ist nun die Brot-nahrung deutlich alkalischer als die Hafernahrung. Denn löst man die aus einer Verbrennung gleicher Mengen von Weißbrot, Vollkorn-brot und Hafer jeweils hergestellte Asche in gleichen Mengen Wassers, so ergibt Haferasche ein  $p_H$  von 7—8, gemessen mit Indicatorpapier, die beiden Brotarten aber 8—9. Alkalisiert man das Futter von Mäusen durch Zugabe von Natriumacetat (etwa 10%), so tritt die Nekrose-neigung in solchen Versuchen wieder deutlich und vermehrt hervor. Der Mangel an sauren Valenzen im Futter läßt also anscheinend die Haut an solchen verarmen und setzt sie der schädigenden Wirkung des Alkalis vermehrt aus. Unter dieser Betrachtungsweise könnten letzthin sogar Zweifel aufkommen, ob der erhöhte Amyloidprozent-satz bei Haferfütterung mit verminderter Antikörperbildung als solcher oder nur noch unmittelbar mit dieser zusammenhängt. Denn wenn bei Haferfütterung die Haut weitgehend intakt bleibt, dafür aber zahlenmäßig sich nachweisen läßt, daß die Abscesse am stärksten sich entwickeln (s. Tabelle 3), so ließe sich annehmen, daß unter der intakten Hautschicht ein Abscess sich besser entwickelt als bei einer bald ein-setzenden Nekrose. Der große Abscess bringt aber auch mit seiner vermehrten Ausschwemmungsmöglichkeit sekundär gebildeter Antigene die Prädisposition für die Amyloidose mit sich. — Demgegenüber kann dann, wenn die Alkaliwirkung sehr stark an der Haut angreift infolge der mehr oder weniger frühzeitigen Nekrose die Abscessbildung nicht die Stärke wie im anderen Falle erreichen; die Nekrose wird dann stärker, und deshalb die sekundäre Antigenbildung und somit auch die Amyloidose geringer. Wieweit dies zutrifft, soll hier vorerst einmal nicht entschieden werden. Eine schematische Skizze kann die dar-gelegten Verhältnisse nochmals erläutern:



Die Beobachtungen bei der Sektion der getöteten und spontan gestorbenen Tiere wurden in allen Fällen ebenfalls notiert und in den 3 Versuchsgruppen verglichen. Während die Brustorgane makrosko-pisch wenig Auffälliges boten, waren in der Bauchhöhle des öfteren bemerkenswerte Unterschiede sowohl in den einzelnen Gruppen selbst wie zwischen ihnen vorhanden. Der Ernährungszustand der Tiere, gemessen am peritonealen und retroperitonealen Fettgewebe, beson-ders auch um die Beckenorgane, war wechselvoll, in den Hafer- und Vollkornbrotversuchen oft stark gemindert oder gänzlich geschwunden, bei den Weißbrottieren aber auffallend reichlich. Dem entspricht auch die Gewichtskurve, aus der oben schon zu ersehen war, daß der Weiß-brotversuch zu keiner Abnahme, bei den Männchen sogar zur Zunahme

geführt hat. Wie auch sonst, wird also mit der Abnahme zuerst das Fettdepot eingeschmolzen; wie weit in unseren Versuchen gleichzeitig eine Einschmelzung von Körpereiweiß als wichtiges Glied in der Kette der Amyloidentstehungsvorgänge statt hat, läßt sich aus der einfachen Organbetrachtung und Gewichtskontrolle allein nicht erkennen. Wir müssen nur feststellen, daß die Gewichtsabnahme nicht etwa allein der Eiweißeinschmelzung gleichgesetzt werden kann.

In allen Versuchen fallen die relativ großen Bauchorgane, vor allem *Leber* und *Milz* auf. Da aber schon bei der Normalmaus die Leber ein relativ großes Organ darstellt, so ist als Erfolg der amyloidkrankmachenden Behandlung nur zu sagen, daß die Leber unter derselben nicht an Volumen abnimmt. Auffallend war in allen Versuchen, daß die Läppchenzeichnung der Leber infolge einer sehr guten Füllung der Zentralvenen stets sehr deutlich und stärker hervortrat als bei Normaltieren. Der Fettgehalt war, makroskopisch an einer mehr oder weniger deutlichen Gelbfärbung erkennbar, wechselnd. Sehr deutlich wurde, daß die am meisten fettreichen Lebern bei den Weißbrotfütterungen auftraten, ihnen folgen die Vollkornbrottiere und dann die Hafertiere. Die Reihenfolge entspricht dem Kohlenhydratgehalt der Nahrung, deren höchster auch am häufigsten zur Fettablagerung in den Leberzellen führt. Offensichtlich spielt die am besten ausnutzbare und zugleich kohlenhydratreichste Nahrung, die im Weißbrot vorliegt, die bestimmende Rolle. Durch Untersuchungen von LINDGREN über die Blutverteilung in den Organen wissen wir, daß die im Capillarkreislauf vorhandene Blutmenge im Augenblick des Dekapitationstodes dort verbleibt und nicht etwa „ausläuft“; daher auch die relativ geringe Blutmenge, welche man bei diesem Vorgehen erhält, d. h. wenig mehr als  $0,5 \text{ cm}^3$  und kaum die Hälfte der berechenbaren Gesamtblutmenge von  $1/13$  des Körpergewichtes. Auf diese Weise ist man aber in der Lage, über die intravitale, sozusagen funktionelle Blutfülle der Organe ein wesentlich genaueres Urteil abzugeben; und dabei stellen wir fest, daß dieselbe in der Leber während der amyloidkrankmachenden Behandlung gesteigert ist, denn die gesamte Gefäßfüllung der Leberacini ist gegenüber der Norm erhöht. Ein Unterschied zwischen den drei verschiedenen Fütterungsarten war nicht festzustellen.

Die *Milz* hat eine sehr wechselvolle Größe. In vielen Fällen ist sie vergrößert, in der Konsistenz fest, manchmal fast steif. Schon makroskopisch sind die Follikel durch die Kapsel durchscheinend und groß zu erkennen, ohne daß letztere Eigenschaften mit einer Amyloidose Hand in Hand gehen müssen. Vielmehr ist die Konsistenzzunahme auf Grund vermehrter Blutfülle und infolge der Zellvermehrung der Pulpa entstanden. Auch hier ist die Hyperämie keine

Stauungs-, sondern eine Funktionsblutfülle. Der Ernährungszustand, welcher für die Größe der Leber zweifellos eine Rolle spielt, ist für die Milzgröße nicht maßgebend. Es gibt sehr gut ernährte, fettreiche Tiere mit kleinen Milzen und stark reduzierte mit erheblichen Milzvergrößerungen. Für die Milz kommt eine ernährungsbedingte Verkleinerung erst bei ausgesprochener Hungeratrophie in Frage. Gelegentlich sehr hochgradige Milzvergrößerungen sind ebenfalls nicht die Folge der Einlagerung amyloider Massen. Daß diese nicht bei der Maus zu einer Milzvergrößerung führt, habe ich früher schon gezeigt [LETTERER (1)]. Die folgende kurvenmäßige Darstellung zeigt, daß keine der 3 Fütterungsarten eine besondere Neigung zur Milzvergrößerung erkennen läßt (Abb. 7). Um zu einer möglichst objektiven Vergleichsmöglichkeit über das Verhältnis der Milzgrößen zur Amyloidose einerseits und zu den verschiedenen Fütterungsarten andererseits zu kommen, wurden die Milzgrößen bzw. -flächen nach dem histologischen Schnittpräparat bestimmt. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in den folgenden 3 Kurvenpaaren niedergelegt.

Der histologische Schnitt war regelmäßig durch die größte Fläche nach Breite und Länge der Milz gelegt worden, und es wurde mit dem Millimetermaß Länge und Breite bestimmt und hieraus ein Annäherungswert für die Fläche durch Multiplikation dieser Größen berechnet. Die Form der Milzdurchschnittsfläche liegt annähernd zwischen einem Oval und Rechteck und wenn das letztere als gültig angenommen wurde, so geschah dies aus der Erwagung, daß der Annahme des Ovals mindestens ebensoviel und weniger konstante Fehlerquellen innewohnen als der Annahme des stets etwas zu großen Rechteckes. Auf diese Weise wurden von jeder Fütterungsreihe die amyloidpositiven und negativen Tiere getrennt berechnet und die Flächenzahlen in Klassen eingeteilt, die sich um je 10 qmm voneinander unterschieden. Die zu jeder Klasse gehörige Zahl von Einzelwerten wird dann in Prozenten der Gesamtzahl der zur jeweiligen Gruppe gehörigen Tiere ausgedrückt und dadurch für jede Fütterungsart ein Kurvenpaar für positive und negative Tiere erhalten.

Man ersieht, daß die positiven Tiere in allen 3 Kurvenpaaren die größeren Milzen haben, die positive Linie hat ihre Gipfel nicht nur in einer höheren Klasse, sondern ist auch insgesamt mehr nach rechts verschoben gegenüber der negativen. Dabei geht die Größe der Milz, wie schon einmal festgestellt, nicht etwa der Stärke der Amyloid-einlagerung parallel, denn die Gipfel der Verlaufslinie liegen bei den verschiedenen Futterarten in ganz verschiedenen Klassen. Die Milzvergrößerung ist also eine hyperplastische und nicht eine amyloid-infiltrierende. Diese Hyperplasie ist bei Hafer- am kleinsten, stärker bei Vollkornbrot-, am stärksten bei Weißbrotfütterung. Der große Kurvengipfel rückt immer mehr nach rechts in höhere Klassen, die Kurven der negativen Tiere haben ihre Hauptgipfel zweimal bei 100 und einmal bei 90, unterscheiden sich also hinsichtlich der Fütterung nicht. Starke Milzhyperplasie ist also ein Zeichen der Amyloiddispo-

sition, besonders stark hervortretend bei Weißbrotfütterung. Die Bedeutung dieser Tatsache wird später noch zu würdigen sein.

Die *Nieren* zeigen die wenigsten Veränderungen. Selten, und offenbar auch unabhängig von der Fütterung, kommt es im Verlauf der Amyloidose einmal zu nephrotischen Schäden, welche sich an der trüb-glasig-grauen Beschaffenheit des Nierengewebes und der mehr oder minder starken Vergrößerung der Niere erkennen lassen.

Die Lymphknoten sind regelmäßig etwas vergrößert, aber stets dabei fest bleibend, ihr Verhalten geht etwa dem der Milz parallel.

Wechselvoll ist das Aussehen und die Größe der *Nebennieren*. Schon innerhalb eines einzelnen Versuches wechseln Größe und Lipoidgehalt. Dabei sind es dann immer Tiere, welche durch ihr sonstiges Verhalten sich ebenfalls unterscheiden, d. h. die normal große, gut lipoidhaltige Nebenniere steht in ziemlich unmittelbarer Abhängigkeit zu einem auch sonst gut erhaltenen Zustand während des Versuches; Tiere, die wenig ab- oder sogar zugenommen haben, zeigen auch reichlich gelbe lipoidhaltige und manchmal sogar vergrößerte Nebennieren. Ist die Reduktion aber vorangeschritten, wie der Schwund des Fettgewebes und größere Gewichtsabnahme zeigen, dann wird auch die Nebenniere zunehmend kleiner und lipoidärmer. Ein größeres Beobachtungsgut zeigt, daß die Reduktion etwa folgender Reihe entspricht: Körperfett, Nebennierenlipoid, Gesamtkörpersubstanz. Eine unmittelbare Beziehung des Verhaltens der Nebenniere zur Amyloidose oder zu einer der besonderen Fütterungsarten konnte man nicht feststellen, doch zeigt die Weißbrotfütterung mit dem besten Fettansatz auch die besterhaltenen Nebennieren. Wie wir sahen, war hier der Amyloidprozentsatz aber keineswegs der beste.

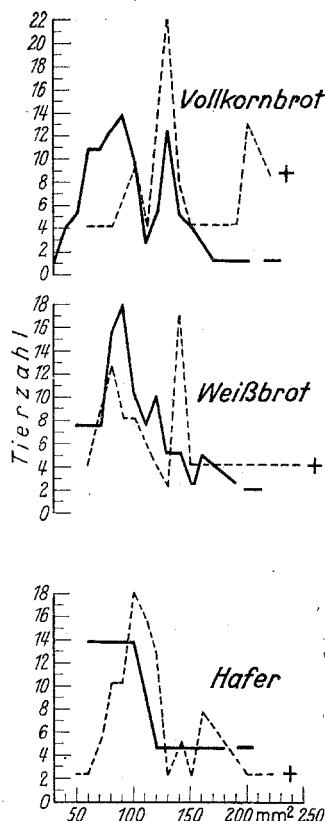


Abb. 8. Milzgröße in 3 Versuchen, Vollkornbrot, Weißbrot, Hafer. Für positive Tiere und negative Tiere. Vertikal ist die Zahl der zu einer Größenklasse gehörigen Milzen eingetragen, horizontal die Größe in Quadratmillimetern. Die Gipfel der Kurven zeigen an, in welcher Größenklasse in den jeweiligen Versuchen die meisten Milzen liegen.

*Zusammenfassung.*

1. Frühere Versuche über die experimentell erzeugte Amyloidose werden unter neuen Gesichtspunkten wieder aufgenommen.

2. Unter Zugrundelegen der Anschauung, daß *Entstehung* von Amyloid *gleichbedeutend* ist mit *schlechter, Ausbleiben* einer Amyloidose unter gleichen Experimentalbedingungen mit *guter Antikörperbildung* und unter Würdigung der Beobachtung, daß verschiedenartige *Fütterung* den Ausfall eines Amyloidexperimentes hinsichtlich der Erkrankungsquote wesentlich zu beeinflussen vermag, wird das *Amyloid-experiment* nunmehr als *Indicator* für das Studium einer Beeinflussung der *Antikörperbildung* durch *Ernährungseinflüsse* herangezogen.

3. Zuerst werden *Körnerfütterung* (Hafer) mit 2 *Brotarten* (Vollkornbrot und Weißbrot) *verglichen*. a) *Haferfütterung* hat unter der *Körnerfütterung* die *höchste* Amyloidquote (57 %), die höchste Erkrankungsbereitschaft die geringste Antikörperbildung. b) *Vollkornbrot* und *Weizenbrot* unterscheiden sich voneinander *nicht* wesentlich in der Amyloidquote (23 bzw. 35 %). c) Bei allen Versuchen *überwiegt* die Erkrankung der *weiblichen* Tiere die der *männlichen*.

Unter 131 positiven Tieren sind 60 % weibliche und 40 % männliche Tiere (= 3 : 2).

4. a) *Lebergröße* und *Leberdurchblutung* nehmen während des Amyloidexperimentes zu. b) Die *Milzgröße* nimmt während des Amyloidexperimentes nicht regelmäßig aber durchschnittlich zu; die *positiven* Tiere pflegen die *größeren* Milzen zu haben.

5. a) Die gleichartige Erzeugung künstlicher *Abscesse* bewirkt bei *Weißbrotfütterung* die *meisten*, bei *Haferfütterung* die *stärksten* Abscesse. b) *Saure Ernährung* (Hafer) bewirkt einen gewissen *Schutz* vor *Hautnekrosen* während der Absceßbehandlung.

Tabelle 4. *Zusammenstellung der Ergebnisse.*

Gesamtzahl	Davon +	%	Davon ♂	+	Davon ♀	+
<i>Haferfütterung,</i>						
143	79	55,2 ± 4,1	88	41,3 ± 5,4	55	77,5 ± 5,6
<i>Vollkornbrotfütterung,</i>						
120	30	25,0 ± 3,95				
<i>Weißbrotfütterung.</i>						
95	34	35,8 ± 4,9	43	29,5 ± 6,9	52	43,1 ± 6,8

### Literatur.

APITZ: Virchows Arch. **306**, 631 (1940). — BIELING: Z. Hyg. usw. **104**, 518, 631 (1925); **105**, 254 (1926); **106**, 188 (1926). — BOCKMANN: Z. exper. Med. **29** (1922); **42** (1924). — BURN: Biologische Auswertungsmethoden. Berlin: Springer 1937. — DOMAGK: Virchows Arch. **312** (1924). — FREUND: Arch. exper. Path. (D.) **65** (1911). — HÄRTTER: Inaug.-Diss. Tübingen 1948. — HAITINGER: Virchows Arch. **312** (1944). — HOFMEISTER: Mündliche Mitteilung an den Verfasser. 1921. — JAFFÉ: Arch. Path. a. Labor. Med. (Am.) **2** (1926). — JUSATZ: Z. Immuniforsch. **88**, 472, 483 (1936). — Dtsch. med. Wschr. **1934**, Nr 15, 573. — KOLLATH: Arch. exper. Path. (D.) **167** (1932); **197** (1941); **199** (1942). — LENHARTZ: In STEPPS Ernährungslehre. Berlin: Springer 1939. — LETTERER: (1) Beitr. path. Anat. **75**, 486 (1926). — (2) Virchows Arch. **293**, 34 (1934). — (3) Med. Ges. Prag. 27. Mai 1938. Ref. Med. Klin. 1938. — LINDGREN: Die capillare Architektonik der isogenetischen Großhirnrinde. Helsingfors 1940. — LOESCHKE: Beitr. path. Anat. **77** (1927). — LUITHLEN: Münch. med. Wschr. **1926**, 2. — MARCHIONINI: Klin. Wschr. **1929**, 21, 924. — MEMMESHEIMER: Klin. Wschr. **1924**, Nr 46. — MISSMAHL: Inaug.-Diss. Tübingen 1948. — OELRICHS: Z. Hyg. usw. **117**, 684 (1936). — RANDERATH: Virchows Arch. **314**, 388 (1947). — SCHADE u. MARCHIONINI: Arch. Derm. (D.) **154** (1928). — Z. exper. Path. u. Ther. **1** (1913). — SCHINDLER: Inaug.-Diss. Tübingen 1943. — SCHOLTZ: Klin. Wschr. **1930**, Nr 36. — SPIRO: Siehe STRAUB. — STRAUB: Erg. inn. Med. **25** (1924). — TERBRÜGGEN: Virchows Arch. **312** (1944). — WERKMAN: J. infect. Dis. (Am.) **32**, 247 (1933).