

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

Experimentelle und morphologische Untersuchungen über die Wirkungsweise reiner Ruhr giftstoffe.

Von

ERICH LETTERER.

Mit 9 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Juni 1948.)

In den 1943 vorerst abgeschlossenen Arbeiten (LETTERER) über die Pathogenese der Ruhr war man auf Grund histologischer Untersuchungen von frühesten Stadien menschlicher Ruhr sowie durch experimentelle und experimentell-biopische Beobachtungen zu dem Ergebnis gelangt, den Angriff der Ruhr giftstoffe primär an den Gefäßen der Schleimhaut zu sehen. Die dort entstehenden funktionellen, d. h. Durchströmungsstörungen, verbunden mit Durchlässigkeitsänderungen der Capillarwand, bedingen als Folge die Nekrobiose und Nekrose der Schleimhaut. Diese damaligen Feststellungen haben den Wert einer ersten Etappe auf dem Wege zur exakten Erforschung der Pathogenese der Ruhr, dessen erfolgreiches Beschreiten erst mit der Reindarstellung der Bakteriengiftstoffe möglich geworden ist. Wie verwickelt die Dinge aber liegen, mag beispielsweise aus dem Hinweis auf die schon in den früheren Untersuchungen gemachte Beobachtung ersehen werden, daß man bei Einbringung der 20fach tödlichen Giftmenge unmittelbar in den Dünnd- oder Dickdarm mit oder ohne Abbindung des Darms das Versuchstier (Maus) nicht zu töten vermag. Das Gift muß also parenteral angreifen, um zur Wirkung zu kommen, ein eigenartiges Paradoxon zu der Tatsache, daß die Ruhrbacillen sich aber doch im Darme befinden. Ebenso eigenartig ist es, daß mit Ruhr giftstoff vergiftete Tiere, denen vorher der Gallengang unterbunden wurde (ein deutlicher Ikterus der Ohren zeigt den Effekt der Operation an), im Vergleich zu gleichschweren Kontrolltieren, die Vergiftung länger oder völlig überstehen, und dies um so mehr und sogar mit übertödlichen Dosen, je stärker der Ikterus entwickelt war. Der Versuch war aus der Vorstellung heraus unternommen worden, daß zur erfolgreichen Wirkung der Giftstoffe vielleicht deren Leberpassage gehören könnte.

1944 hat BALLOWITZ Versuche veröffentlicht, aus denen er schließen zu dürfen glaubt, daß durch Kombination einer Ruhr- mit einer Virusinfektion

die erstere erst zu haften die Möglichkeit findet. Er schließt dies aus histologischen Befunden von im Versuch verendeten Mäusen. Die Liebenswürdigkeit des Autors hat es mir ermöglicht, seine Präparate selbst einzusehen, aber ich konnte mich von der intravitalen Natur der demonstrierten Gewebsveränderungen unter Hinweis auf die bei solchen Untersuchungen unumgänglichen Kautelen nicht überzeugen.

Die folgenden Untersuchungen berichten über zwei größere Versuchsgruppen: die erste mit FLEXNER-H-Endotoxin an Kaninchen und Meerschweinchen in Ergänzung zu den früheren Versuchen an Mäusen; die zweite über Untersuchungen der Toxinwirkung auf das Gewebe unmittelbar. Versuche dieser Art sind mit FLEXNER-Endotoxinen noch nicht ausgeführt worden, während PRIGGE und KICKSCH 1941 ähnliches mit Endotoxin- und Toxinpräparaten des SHIGA-KRUSE-Bacillus erprobt haben. Abgesehen von der Feststellung, daß die scharfe Unterscheidung zwischen sog. Nervengift = Kaninchengift = Toxin und sog. Darmgift = Meerschweinchengift = Endotoxin nicht aufrecht zu erhalten ist, ist es wichtig, daß die Vergiftung nach Ansicht der Autoren (II, S. 395), „vor allem am Gefäßsystem anzusetzen scheint“. Diese Wirkung auf das Gefäßsystem erscheint als das einigende Merkmal der beiden Toxinarten überhaupt, während Störungen am Nervensystem und am Darm wechselweise bei Kaninchen und Meerschweinchen je nach der Höhe der Dosierung zu beobachten sind. Die Untersucher wollen in einer Arbeitshypothese die Wirkung der Endotoxine für beide Tierarten vorwiegend am Darm sehen, den Toxinen aber eine bevorzugte, d. h. wohl generalisierte Gefäßsystemirritation zuschreiben. Unter Berücksichtigung unserer eigenen Versuchsresultate wird man die Ergebnisse von PRIGGE und KICKSCH dahin interpretieren können, daß die Endotoxine mit Prädilektion an der Endstrombahn der Darmschleimhaut angreifen, während die Toxine eine mehr allgemeine gefäßblähmende Schädigung ausüben.

Mit der Erfahrung aus einer Reihe von Versuchen mit SHIGA-Toxin an Kaninchen können wir die Beobachtungen von PRIGGE und KICKSCH bestätigen. Das Kaninchen reagiert auf SHIGA-Ektotoxin mit einem zuweilen gewaltigen Ödem der Coecumunterschleimhaut, die ganze Submucosa ist von stark eiweißhaltiger Flüssigkeit durchsetzt, die Schleimhäutschicht von der Muscularis abgehoben, ein Zustand, der mehr als deutlich für eine vermehrte Permeabilität, also für einen Capillarschaden spricht (Abb. 1). (Auch beim Menschen ist das Ödem der gesamten Dickdarmwand ja besonders in Fällen chronischer Ruhr ein bekanntes Symptom.) Darüber hinaus aber habe ich in einigen Fällen auch Nekrotisierungseffekte an der Darmschleimhaut des Dickdarmes bei (Ekto-)toxinvergifteten Kaninchen feststellen können und diese Beobachtung zeigt meines Erachtens, daß man mit einer allzu scharfen und grundsätzlichen Unterscheidung zwischen der

Wirkungsweise der beiden Toxine vorsichtig sein sollte. Fraglos ist in jedem Falle die Wirkung auf die Gefäße, fraglich aber die Stärke der Wirkung, die Einbeziehung bestimmter Gefäßkaliber und vor allem die Lokalisation. In dieser Wahl ganz besonderer Bevorzugungsstellen liegen heute die Kernfragen des ganzen Problems beschlossen, nicht mehr in der Art eines bestimmt bevorzugten Gewebes wie Nerven, Schleimhaut oder anderem.

Mit *Endotoxinen* habe ich am Kaninchen mit einer allerdings nur beschränkten Zahl experimentieren können. Immerhin sind einige



Abb. 1. Hochgradiges Ödem der Submucosa am Dickdarm des Kaninchens mit Abhebung der Schleimhaut nach intravenöser tödlicher Gabe von Shiga-Ektotoxin. Ödematos aufgetriebenes submuköses Bindegewebe, sehr weite Venen, enge Arterien, keine Schleimhautdefekte.

bemerkenswerte Beobachtungen zu verzeichnen. Versuche mit dem Endotoxin aus der gleichen Herstellungscharge, mit welcher alle in der früheren Veröffentlichung beschriebenen Versuche ausgeführt worden waren, haben an Kaninchen gezeigt, daß die Giftempfindlichkeit individuell stark verschieden ist; mit 7,5 mg Gift auf ein Kilogramm Tiergewicht (Jungtiere) können klinisch und anatomisch sehr deutliche Krankheitszeichen erhalten werden; aber es können dieselben auch vollkommen fehlen oder nur wechselweise vorhanden sein, d. h. anatomische Veränderungen sind ohne klinische Merkmale zu finden oder umgekehrt.

Das Ergebnis der *Sektion* bei Spontantod oder nach Tötung der Tiere zeigt die Bauchhöhle frei von Erguß, im *Magen* kleine hämorrhagische Erosionen der Schleimhaut mit frischen eben solchen ulcerativen Defekten. Unmittelbar hinter dem Pylorus beginnt eine starke seröse Durchtränkung der *Duodenalwand* mit stecknadelkopfgroßen, dunkelroten Blutungen (Abb. 2). Im Dünndarm schleimig-

breiige Massen ohne Blutungen in der Schleimhaut; diese beginnen erst wieder in der Appendix, verbunden mit submukösem Ödem und im *Rectum* liegen die gleichen *Punktblutungen* sehr dicht aneinander, nur selten kleine Schleimhautnekrosen. Das *Mesenterium* ist, besonders an der Wurzel, stark ödematös durchsetzt. Die übrigen Organe, insbesondere die Nebennieren, sind unverändert. Klinisch kann nach etwa 4—6 Stunden mehr oder weniger starker Durchfall eintreten, die Tiere werden sichtlich krank und schlapp ohne Abwehrbewegungen, bessern sich innerhalb von 24 Stunden wieder oder gehen zugrunde. Ein Tier starb 3 Stunden nach der Gifteinjektion mit plötzlich einsetzenden Krämpfen ohne makroskopischen anatomischen Befund.

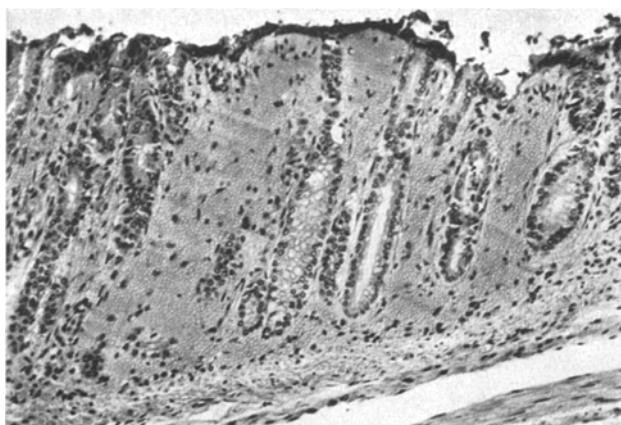


Abb. 2. Dünndarm (Kaninchen) nach 30 mg FLEXNER-Ruhr-Endotoxin (PRIGGE) mit Blutung in der Schleimhaut; starke Stase und Diapedese bei erhaltenen Drüsen (!).

Aus diesen an 4 Tieren gemachten Beobachtungen läßt sich so viel erschließen, daß klinischer und anatomischer Befund nicht als Äquivalent betrachtet werden können, daß das Gift als Endotoxin auch hier eine starke Affinität zum Magen-Darmkanal zeigt und die dort hervorgerufenen Veränderungen durch Gefäßirritation und Kreislaufstörungen im Endstrombahnbereich hervorgerufen sind.

Völlig anders waren die Ergebnisse mit dem Endotoxin PRIGGE der zweiten Herstellungscharge. In diesem Falle ergaben die Organe überhaupt keinen — wenigstens makroskopischen — Befund der getöteten oder spontan verstorbenen Tiere. Es wurden steigende Mengen von Gift, 0,5—45 mg je Kilogramm Gewicht angewandt und in allen Fällen mehr oder weniger starke *Lähmungen* der Vorder- und Hinterbeine beobachtet. Dabei starben 2 Tiere mit 30 mg, alle anderen (4) überleben. Diese zeigten, soweit sie am Leben gelassen wurden, nach 3 Wochen positive Präcipitinreaktion des Serums bis zu 1 : 20 gegenüber einer 0,1%igen Giftlösung. Blutungen, Ödem usw. im Magen-Darmkanal fehlen bei überlebenden und getöteten Tieren gänzlich. Die neurohistologische Untersuchung des Zentralnervensystems

war ohne Ergebnis (Prof. OSTERTAG). Der Befund zeigt, daß 1 trotz der Verwendung eines reinen Endotoxins Lähmungsscheinun ohne die sonst feststellbaren Schäden am Darmkanal zustande kai in einer Art, wie sie PRIGGE und KICKSCH nur bei dem Toxin SHIGA-KRUSE-Bacillus haben beobachten können.

Eine Beobachtung erscheint uns noch der besonderen Mitteilung wert. 420 g schweres Kaninchen (Jungtier) wird mit 4,2 mg Endotoxin FLEXNE (Charge 2) intravenös gespritzt (10 mg je Kilogramm). Injektion ohne je paravenösen Reflux. Nach 24 Stunden ist das Tier ebenfalls wie die and sehr elend, liegt auf der Seite, gibt vermehrt feuchten Kot ab, hat beschleun



Abb. 3 a.



Abb. 3 b.

Abb. 3 a. Linkes Kaninchenohr 24 Stunden nach intravenöser Toxininjektion.
Ausgedehnte perivasculäre Blutungen. Beachte Abb. 3 b.

Abb. 3 b. Rechtes Kaninchenohr desselben Tieres wie Abb. 3 a. Nicht gespritzte S
Gleichzeitig einsetzende symmetrische Blutungen.

Atmung. Der Zustand bessert sich in den zweiten 24 Stunden. 24 Stur nach der Injektion aber beginnt an den oberen zwei Dritteln beider Ohren *feinstfleckige Blutung*, also auch auf der *nicht injizierten Seite* (Abb. 3 a unc. Dabei befindet sich das Tier aber wohl. Nach weiteren 24 Stunden hat sich *Ödem an beiden Ohren* entwickelt, die Blutung hat noch zugenommen, die Öl hängen herunter. Der Befund bleibt bis zu 96 Stunden unverändert. I Tötung des Tieres. Befund an den inneren Organen völlig negativ. Die *ne angiotrope Wirkung* des Endotoxins dürfte in diesem Falle wohl außer Zw sein. Die angewandte Kaninchenrasse hatte leichte Hängeohren und es denkbar, daß dies eine gewisse Disposition für die Störung in der Endsti bahn der Ohrgefäß bedingte. Die Lokalisation des Schadens hängt also of sichtlich auch von einer entsprechenden Konstellation äußerer und innerer l toren ab.

Die mikroskopische Untersuchung der Organe und des Darms Tiere aus der ersten Endotoxingruppe hat, abgesehen von der ei tümlichen Ödembildung in der Gegend des Pankreas keine grunds lichen Abweichungen von den bei Mäusen gesehenen Erscheinun ergeben.

Den makroskopisch schon sichtbaren Blutungen in der Schleimhaut und Serosa des Duodenums entsprechen oft recht kräftige Blutauftritte in das Stroma der Schleimhaut, aber es bleiben, genau wie dies an den Frühsäulen von menschlicher Ruhr zu sehen war, die in das Stroma eingesenkten Drüsen für sehr lange Zeit noch völlig intakt¹ (Abb. 2). Zu pseudomembranösen Entzündungsformen ist es nicht gekommen. Je stärker die Giftdosis wird, desto mehr treten in den Organen, besonders der Lunge, der Leber sowie den Nebennierenrinden Erweiterungen der Capillaren bis zur Stase auf, einmal wird in der Lunge bei der höchsten Dosierung (30 mg) an Stellen der am stärksten erweiterten intraalveolären Capillaren nur noch eine plasmatische Füllung der Capillaren beobachtet; der Hämatoxylin-Eosin-gefärbte Schnitt sieht an diesen Stellen auffallend blaß aus. Im Gegensatz zu den später noch zu besprechenden Meerschweinchenversuchen kommt es am Pankreas nicht zu so starkem Ödem wie dort und auch die hämorrhagischen Infarzierungen der Nebennieren werden bei Kaninchen nicht beobachtet.

Um den Vorgang der Wirkung der Ruhrgiftstoffe in noch anderer und „sichtbarer“ Weise verfolgen zu können, habe ich in einer weiteren Versuchsreihe dieselben in die vordere Augenkammer des Kaninchens eingebbracht und mit der Spaltlampe die reaktiven Vorgänge vom ersten Augenblick nach der Injektion an fortlaufend studieren können. (Herrn Prof. Dr. STOCK, Direktor der Universitäts-Augenklinik in Tübingen, danke ich vielmals für die liebenswürdige Unterweisung und die Bereitstellung der Apparaturen seiner Klinik zu diesen Versuchen.)

Es wurde aus der Vorderkammer des einen Auges so viel Kammerwasser entnommen wie Toxinlösung (0,2 cm³) eingespritzt werden sollte, während auf der anderen Seite das Kammerwasser nur gegen Kochsalzlösung ausgetauscht wurde. Wurde Toxin in Trockensubstanz verwandt, dann wurde dasselbe in aspiriertem Kammerwasser gelöst und dieses reinjiziert. Es kamen auf diese Weise 3 Giftstoffarten zur Verwendung: SHIGA-Ektotoxin, KRUSE-SÖNNE-Endotoxin (ROELCKE) und FLEXNER-H-Endotoxin. Der Effekt des letzteren steigt mit der Konzentration, ist aber im ganzen geringer als bei den vorgenannten; das mag zum Teil wohl daran liegen, daß das flüssige Medium dieser Giftstoffe doch nicht ganz indifferent war.

Als erste Reaktion setzt an dem mit Toxin beschickten Auge innerhalb schon der ersten Minuten nach der Injektion eine Verengerung der Pupille ein, welche sich in verschieden langer Zeit wieder löst, bemerkenswert dabei bleibt die völlige Areaktivität auf Licht-einfall. Ist die Lichtreaktion wiedergekehrt, dann bleibt die Verengung dennoch für Tage erhalten. Die Lichtreaktion bleibt auf dem nur mit NaCl injizierten Auge dabei völlig ungestört. Die Blutgefäße der Iris erweitern sich, die Strömung wird langsamer. Am besten sind die Verhältnisse an Albinotieren zu studieren. Im Laufe des ersten Tages kommt es in der Vorderkammer des Toxinauges zu einer Eiweiß-abscheidung von mehr oder weniger starken Ausmaßen, das ausgetretene Eiweiß hat sich entweder in Fäden und Gerinnseln auf der

¹ LETTERER: Virchows Arch. 312, 688 (1944).

Iris abgeschieden oder ist in das untere Segment der Vorderkammer abgesunken; nicht selten ist auch das ganze Auge getrübt und verschattet, während das Kontrollauge immer frei von Gerinnseln und klar bleibt (Abb. 4a und b). Bis zum zweiten Tag hat sich nicht selten zusätzlich eine Injektion der Bindehaut eingestellt. Die „fibrinösen“ Gerinnsel werden im Laufe der kommenden Wochen resorbiert und organisiert je nach ihrer ursprünglichen Menge und Lage, und hiervon hängt es auch ab, inwieweit es zu einer Defektheilung oder zur Restitutio ad integrum kommt. Um die Zusammensetzung

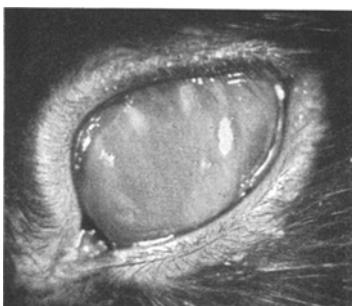


Abb. 4 a.



Abb. 4 b.

Abb. 4a. Kaninchen. Linkes Auge 24 Stunden nach Injektion von $0,2 \text{ cm}^3$ Endotoxinlösung in die Vorderkammer. Starke Eiweißtrübung des Kammerwassers.

Abb. 4b. Kaninchen. Rechtes Auge 24 Stunden nach Injektion von $0,2 \text{ cm}^3$ NaCl in die Vorderkammer.

des Exsudates selbst prüfen zu können, wurde nach Ablauf etwa eines Tages das Auge am unteren Rande punktiert, das Kammerwasser soweit wie möglich entleert und der Schleudersatz ausgestrichen. Leukozyten waren nie darin enthalten. Im histologischen Schnitt des Auges findet sich in der Vorderkammer geronnenes Eiweiß, welches die Fibrinfärbung nicht gibt. Die Blutgefäße insbesondere die Capillaren und Venolen in der Iris sind sehr stark erweitert und reichlich gefüllt, während die Arterien eng erscheinen. — Das Endotoxin scheint also in diesem Falle sowohl parasympathisch über die Nervi ciliares wie sympathisch über die Gefäße erregend zu wirken. Es geht jedenfalls aus diesen Experimenten hervor, daß auch hier das Toxin eine sehr deutliche Wirkung auf die Blutgefäße besitzt, die von Erweiterung, Strömungsverlangsamung und Durchtritt von Eiweiß gefolgt ist. Die letztere wird am Auge besonders deutlich, da das Kammerwasser gegenüber dem Blute als Lösungsmedium wenig geeignet ist und das austretende Eiweiß (Albumin) somit zum Ausfallen kommt. Der am gleichen Tier zu gleicher Zeit am anderen Auge angesetzte Kontrollversuch gewährleistet diese eindeutige Demonstration der gefäßschädigenden Wirkung des Toxins.

Die nächste Gruppe befaßte sich mit Versuchen an Meerschweinchen. Hier von sind nur einzelne besonders bemerkenswerte Einzelheiten aufzuzählen.

Von Darmerscheinungen war klinisch bei den Meerschweinchen nach Verabreichung der tödlichen Dosis von Endotoxin im Unterschied zu den Versuchen von PRIGGE und KICKSCH mit SHIGA-Endotoxin nur sehr wenig oder nichts festzustellen. Das Gift war regelmäßig intravenös verabreicht worden und die Tiere lebten bei intravenöser Gabe von 4,5—5 mg je Kilogramm Körpergewicht in den meisten Fällen noch höchstens 15—20 Stunden, oft auch kürzer; bekamen sie aber weniger, dann überlebten sie, ohne wesentliche Erscheinungen zu bieten. Steigert man die Dosis, so ist die Überlebenszeit nicht etwa in proportionaler Weise zur Giftdosis verkürzt, das Gift bedarf zur Wirkung also einer bestimmten Latenzzeit, welche unabhängig ist von der verabreichten Dosis. Aber es zeigt sich auch, daß die Empfänglichkeit des Einzeltieres für das Gift sehr verschieden ist, es kommt vor, daß die übliche tödliche Dosis von 5 mg je Kilogramm um das Dreifache überschritten werden kann, ohne daß die Tiere daran zugrunde gehen, obwohl die Einzeltiere alle gleichgewichtig waren. Der Kollaps selbst, durch den der Tod eintritt, entwickelt sich außerordentlich schnell, wobei die gleich zu schildernden anatomischen Veränderungen schon weitgehend vorhanden sein können, ohne daß irgendwelche Krankheitssymptome klinisch an dem Tier vorher nachweisbar wurden. Unabhängig von der Überlebenszeit sind die anatomischen Schäden bei hohen Giftdosen stärkere und mehr ausgebreitet als bei geringeren.

Völlig regelmäßig — und wiederum bezeichnend für die Gefäßwirkung des Giftes — findet sich in der Pankreasduodenalgegend ein hochgradiges Ödem des Mesenteriums und des Pankreasbindegewebes. Die ganze Pankreasdrüse mit ihrem eigenen und dem umgebenden Bindegewebe ist eingeschlossen in eine serös-gallertige Schicht, welche sich nicht selten auch noch über weitere Mesenterialgebiete ausbreitet. Dazu findet sich in der Bauchhöhle ein wasserklarer Erguß. Diese ödematöse Durchtränkung findet sich (bei Anwendung stärkerer Giftmengen) gelegentlich auch noch im Mediastinum und im pararenalen Fettgewebe und in solchen Fällen ist dann auch der Herzbeutelinhalt vermehrt. Die Darmserosa besonders die des Dünndarmes läßt aber nur wenige feinste punktförmige Blutungen erkennen. Der Dünndarm enthält dünne, schleimig-seröse Mengen, seine Schleimhaut erscheint hyperämisch. Die Falten des Dickdarmes sind ödematos gequollen und um die Lymphfollikel der Schleimhaut liegen punkt- und ringförmige Blutungen in wechselnder aber doch mäßiger Zahl. Von besonderer Bedeutung für die pathogenetische Betrachtung der Veränderungen erscheinen noch zwei weitere Phänomene an der Magenschleimhaut und an den Nebennieren. Hier kommt es zu Einzelblutungen in der Mucosa, zu hämorrhagischer Infiltrierung des Gewebes und bei entsprechender Zeitdauer zur Entwicklung kleiner peptischer Läsionen; dort, in den Nebennieren, zu Blutungen mit anschließendem Gewebstod, besonders in der Mark- und Rindenzone. Erscheinen solche Nebennieren

schon makroskopisch bis zu Dunkelblauröte verfärbt, so erkennt man die Blutungen in der Magenschleimhaut schon makroskopisch von der Serosaseite her an ihrer dunkelfleckigen Färbung, sofern sie nur die entsprechende Größe haben, die indes die einer Linse nie überschreitet. Die geschilderten Gewebsschäden sind nicht mit völiger Regelmäßigkeit anzutreffen, sie wechseln in Stärke und Zusammensetzung von Fall zu Fall, können aber außerordentlich rasch schon in 4—5 Stunden nach der Injektion sich entwickeln. Die Nebennierenblutungen entstehen häufiger unter sehr starker Giftwirkung, während das Pankreas-Mesenterialödem völlig regelmäßig auftritt, sofern das Tier überhaupt reagiert.

Vergleicht man die geschilderten Gewebsveränderungen nach FLEXNER-Ruhr-Endotoxinvergiftung mit denen anderer bakterieller Giftschäden, so fallen besonders die Diphtherietoxinwirkungen auf, bei denen der in diesem Falle hämorrhagisch-seröse Peritonealerguß und die Nebennierenblutungen seit langem bekannt sind. HEINLEIN hat hämorrhagische Infarzierungen der Magenschleimhaut bei Diphtherie beschrieben. Abgesehen davon, daß all diese Veränderungen Gefäßschädigungsphänomene darstellen, legen sie doch den Gedanken außerordentlich nahe, daß die Wirkung der Bakteriengiftstoffe, seien sie Endo- oder Ektotoxin, sich viel weniger durch eine chemisch-konstitutiv bedingte Spezifität als durch die Lokalisation ihrer auf vasculärem Wege entstandenen Schäden auszeichnen. Unsere vergleichenden Untersuchungen über die Wirkung der Ruhr- und Diphtherietoxine an der Harnblasenschleimhaut (LETTERER und SEYBOLD) bestätigen die völlige Gleichartigkeit des Wirkungsmechanismus der beiden Gifte und berechtigen um so mehr zu der Vermutung, daß diese Lokalisationen nicht durch einen spezifischen „Tropismus“, sondern durch Besonderheiten des giftempfangenden und -empfindenden Organismus und die Dosierung maßgebend bestimmt werden.

Die mikroskopische Untersuchung der Organe bestätigt den makroskopisch gewonnenen Eindruck. Das Pankreas und das die Drüse umhüllende Bindegewebe bis zum Mesenterialansatz am Dünndarm sind durch Ödem stärkstens aufgetrieben, so daß die Drüsengebiete wie in einer Flut von Flüssigkeit schwimmend erscheinen (Abb. 5). Die Venen sowohl die größeren wie die kleinen sind stärkstens erweitert, die Arterien relativ eng, die Lymphbahnen wiederum stark erweitert und reichlich gefüllt; beide Blätter der Serosa, zwischen denen die Drüse liegt, sind durch den Flüssigkeitserguß breit auseinandergedrängt. Das Bindegewebe hat seine Kollagenfärbarkeit eingebüßt, die ausgetretene Ödemflüssigkeit ist sehr eiweißreich, was sich an Carnoy-fixierten Schnitten besonders gut erweisen läßt. Dabei sind die Ödeme völlig zellfrei, insbesondere von Zellen des weißen

Blutes. In den mesenterialen Lymphknoten setzt, annehmbar als sofortige Folge der serösen Exsudation eine starke Resorption desselben ein, die Sinus sind maximal weit, die Endothelien zahlreich abgestoßen, in den Endothelien und Retikulumzellen treten Erythropagocytosen auf, ein Zeichen für den Austritt einzelner roter Blutkörper mit dem Exsudat während des peristatischen Zustandes. Mit der Sinuserweiterung geht bei ganz hohen Graden derselben eine Verarmung der Lymphknoten an Lymphocyten einher, so daß diese

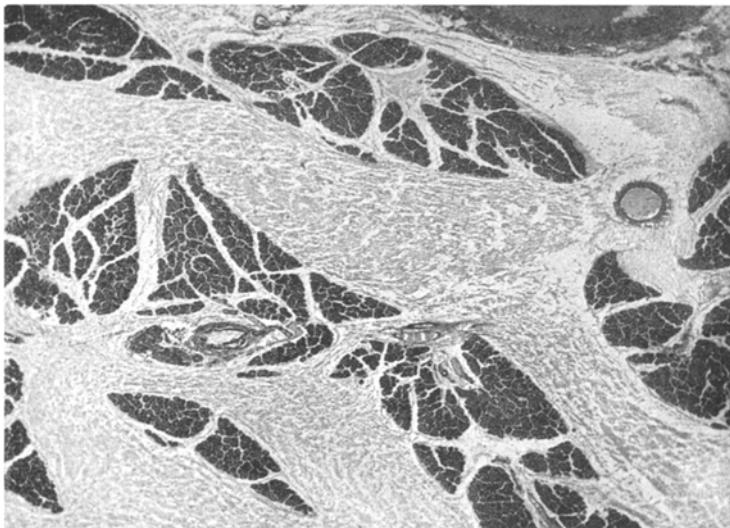


Abb. 5. Pankreas mit hochgradigem interstitiellem Ödem als Folge intravenöser FLEXNER-Ruhr-Endotoxinvergiftung des Meerschweinchens. Siehe Text.

teilweise fast leer sind und das Retikulum wie ausgespült erscheint. Das Duodenum, dessen paralytische Weite besonders bei den im schweren Kollaps gestorbenen Tieren auffällt, zeigt an seinen Schleimhautzotten grundsätzlich die gleichen Veränderungen, wie ich sie in früheren Versuchen an der Maus ausführlich geschildert habe. Es kommt zu Capillarektasien mit Peristasen und Stasen, zu Ödem der Zotten, besonders im Dünndarm, die Epithelien über der Zottenspitze gehen zugrunde und eine mehr oder weniger starke Spitzennekrose der Zotte tritt ein. Da der Tod der Tiere aber rascher eintritt als bei den Mäusen, so waren die Veränderungen meist nicht so stark und weitgreifend wie bei diesen. Die Lymphfollikel im Dickdarm sind ein weiterer Manifestationsort der Schäden. Hier entstehen peri- und endofollikular mehr oder weniger starke Peristasen und Stasen mit erheblicher Erweiterung der venösen Capillargebiete und in deren Gefolge geht die dünne Schleimhautschicht, welche über dem Follikel

sich ausbreitet, mehr oder weniger zugrunde, in seltenen Fällen entstehen auch submuköse Nekrosen in der Lymphknotensubstanz selbst. Die Nebennieren bieten in Rinde und Mark das Bild schwerer Kreislaufstörung, in verschiedener Stärke über das Organ verteilt, von der roten Stase bis zur hämorrhagischen Nekrose führend (Abb. 6 und 7). Besonders auffallend und ganz regelmäßig auch dann auftretend, wenn schwerere Schäden ausbleiben, ist die starke Erweiterung der

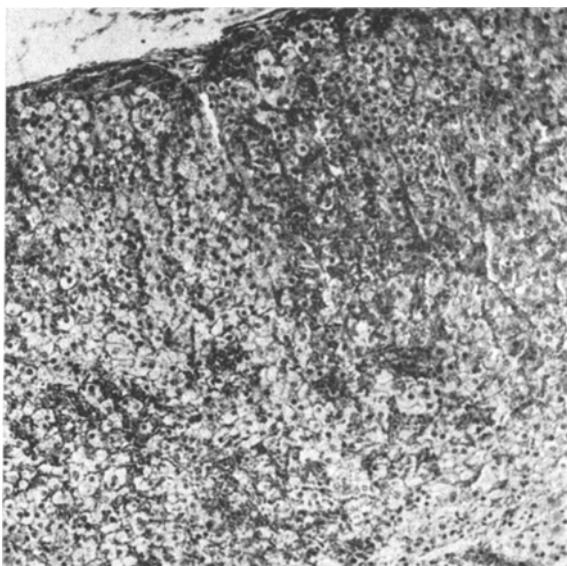


Abb. 6. Stück aus Nebennierenrinde vom Meerschweinchen mit starker Stase und beginnender hämorrhagischer Infarzierung als Folge von intravenöser FLEXNER-Endotoxininjektion.

großen sinuösen Bluträume im Mark der Nebennieren; gewebliche bzw. celluläre Schäden werden besonders in der Markrindengrenze deutlich; die Capillaren erweitern sich entweder total oder herdförmig, es kommt zur Dissoziation der Zellen ähnlich wie dies bei Zuständen akuter trüber Schwellung in der Leber zu sehen ist, auch blutige Infiltrationen bleiben nicht aus und führen zum Zelluntergang. Dabei schwinden Proto-plasma und Kern fast gleichzeitig, d. h. Substanz des ersten und die Färbbarkeit des letzteren und der ganze Vorgang entspricht vielmehr dem eines primär auto- und heterolytischen Geschehens als der sonst bekannten Koagulationsnekrose.

Über gelegentliche kleine fleckförmige Hämorragien in den Lungen sind Besonderheiten nicht zu sagen. Dagegen erfordern die Befunde am *Magen* einige Beachtung (Abb. 8). Wie schon gesagt, hat HEINLEIN bei Kindern mit schwerer Diphtherie ähnliches beobachtet.

LOBECK hat über Befunde von pseudomembranöser Entzündung der Magenschleimhaut bei Ruhr berichtet. In der Magenwand, besonders

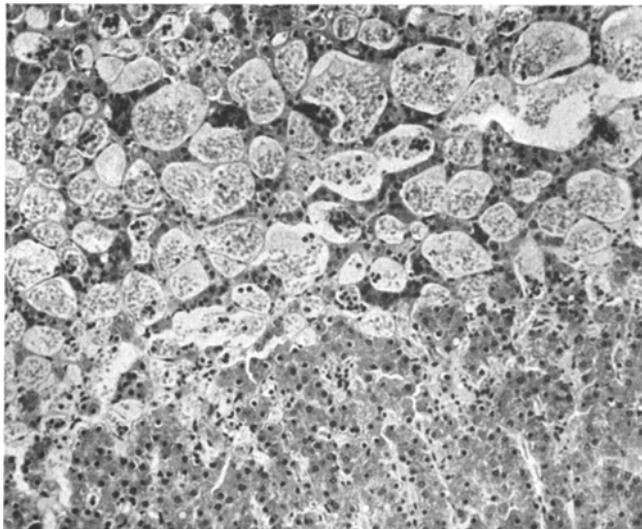


Abb.7. Meerschweinchennebenniere. Grenze von Rinde und Mark. Hochgradig erweiterte, von Stase befallene Markcapillaren nach intravenöser Injektion von Ruhr-Endotoxin.

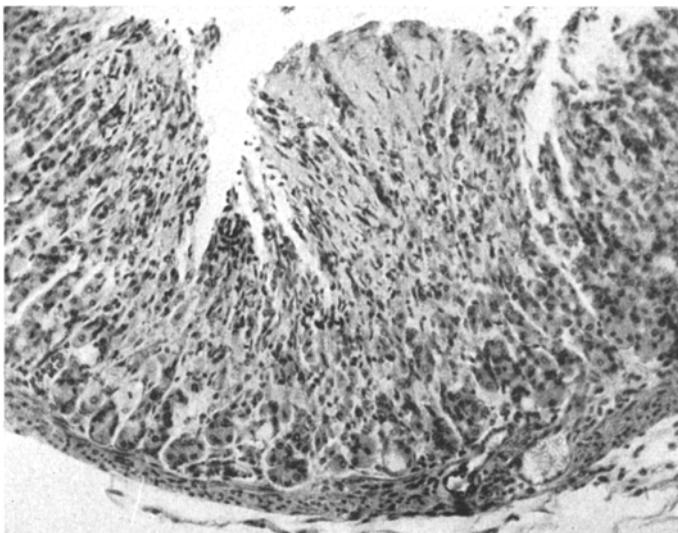


Abb. 8. Meerschweinchen. Magenschleimhaut. Frische Hämorrhagie mit beginnender Zerstörung der Schleimhaut nach intravenöser FLEXNER-Ruhr-Endotoxingabe.

zwischen Serosa und Muscularis, aber auch in den Interstitien der letzteren ist oft ein beträchtliches Ödem entwickelt. Den Hauptbefund

zeigt die Schleimhaut; in einzelnen fleckförmig begrenzten Bezirken zeigen die Capillarnetze stärkste Füllung, die Erythrocyten liegen, die Stase anzeigen, dicht gedrängt in den Capillaren, es kommt zu kleinen flächenhaften Blutungsbezirken, die Epithelien gehen in diesen Gebieten zugrunde, sodaß fast nur noch das Stroma der Schleimhaut übrigbleibt. Das Absterben der Schleimhautepithelien geschieht von der Magenlichtung her, also vom Stromabahnende nach unten hin.

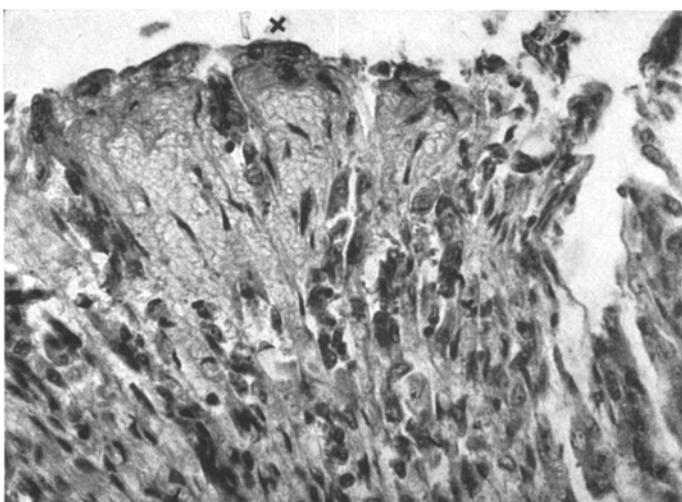


Abb. 9. Meerschweinchenmagen. Starke Vergrößerung der wesentlichen Stelle aus Abbildung 8. Beachte die hochgradige Stase in den Schleimhautcapillaren. Man erkennt die dicht gelagerten roten Blutkörper. Epithelien der Deckschicht sind noch erhalten (x), desgleichen Reststücke von Drüsenepithelien.

Der Verlust der Epithelien läßt zunächst die Stromazellen noch unberührt, das Stromagerüst, d. h. Fasern und spindelig schmale Zellen, zwischen denen die Epithelien liegen, ist zusammengesunken (Abb. 9). Auch hier spielt sich der Schwund des Epithels nicht auf dem Wege einer Koagulationsnekrose ab, sondern, wie in der Nebenniere, schwinden Kern und Plasma der Zelle fast gleichzeitig. Autolytische und vermutlich auch heterolytische Prozesse spielen zweifellos die Hauptrolle in diesem Geschehen und erst in zweiter Linie, auch zeitlich später, kommen die Einflüsse des Magensaftes in Frage, unter dessen Wirkung dann die so geschädigten Schleimhautbezirke abgedaut werden. Über flache Erosionen hinaus hat sich aber bis zum Zeitpunkt der Tötung oder des Todes der Tiere der Zustand nie entwickelt. Da einzelne der Versuchstiere schon nach wenigen Stunden im schweren Kollaps zugrunde gingen, wobei gerade auch Veränderungen am Magen in der beschriebenen Weise vorhanden waren, so ist anzunehmen, daß dieselben sich außerordentlich rasch entwickeln können.

Faßt man das Gesamtbild der Veränderungen zusammen, so ist allen das Merkmal der terminalen Strombahnschädigung gemeinsam und ihre Entstehung als Folge der Ruhr-Endotoxinvergiftung auf diesem Wege zu erklären. Vergleichen wir damit die Ergebnisse von PRIGGE und KICKSCH, so darf man sagen, daß zwischen dem Endotoxin des SHIGA-Stammes und dem der FLEXNER-Stämme weitgehende Ähnlichkeiten vorhanden sind (II. Mitteilung, S. 376). Die „Inkubation“ der Giftwirkung ist ziemlich kurz, innerhalb der ersten Tage, ja Stunden kommen die Tiere zu Tode oder bleiben überhaupt gesund. Die tödliche Giftmenge ist etwa die gleiche (4—5 mg je Kilogramm Körpergewicht intravenös). Beim Tode fallen die stark gefüllten Gefäße, insbesondere in den Endstrombahnen auf. Stark gefüllte Mesenterial- und Dünndarmgefäß, Ergüsse in den serösen Höhlen, nur die stets auftretende Ödembildung am Pankreas haben PRIGGE und KICKSCH nicht beschrieben, dagegen eine „Rötung“ der Nebennieren, was ich in meinen Versuchen mikroskopisch als Stasenbildung und hämorrhagische Infarzierung erweisen konnte. Die Erscheinungen von seiten des Darms scheinen mir bei dem Gift der FLEXNER-Erreger weniger stark zu sein.

Die letzte Versuchsgruppe befaßte sich noch einmal mit der Maus als Versuchstier, wobei das Endotoxin nun subcutan in steigenden Dosen zur Anwendung kam. Damit war die Gelegenheit gegeben, die Wirkung des Giftstoffes auf das Unterhautzellgewebe zu studieren in der Erwartung, über Angriffspunkt und Reaktionsmechanismus im Bindegewebe etwas zu erfahren und zugleich auch Zeitpunkt und Ausmaß der lokalen Reaktionsäußerungen mit der allgemeintoxischen nach der Resorption des Giftes zu vergleichen. Untersuchungen über lokale Gewebsreaktionen nach Einverleibung von Ruhr giftstoffen der FLEXNER-Gruppen liegen nicht vor. Nur mit SHIGA-Toxin und Endotoxin haben PRIGGE und KICKSCH auch subcutane Injektionen an Meerschweinchen und Kaninchen vorgenommen, allerdings ohne über die makroskopische Beschreibung hinaus die Injektionsstellen einer genaueren histologischen Analyse zu unterziehen.

Technisch wurde folgendermaßen verfahren: Die Bauchhaut der Mäuse wurde zunächst mit der Schere geschoren und die gekürzten Haare dann durch Aufstreichen von Raserpulver (Strontiumsulfid in starker Verdünnung) völlig entfernt. Es mußte ganz besonders darauf geachtet werden, daß bei keiner dieser beiden Prozeduren Verletzungen der Epidermis eintraten. 24 Stunden nach dieser Vorbereitung wurden $0,2 \text{ cm}^3$ physiologische Kochsalzlösung, worin wechselnd hohe Giftmengen gelöst waren, unter die Haut des Unterbauches injiziert. Die Einspritzung geschah mit langer dünner Nadel, die weit oben nahe dem Processus xiphoïdes eingestochen und mit der Spitze weit nach unten zwischen Mittellinie und Leistenbeuge einer Seite geführt wurde, um durch diesen langen Stichkanal ein Zurückfließen von Flüssigkeit aus der Einstichöffnung zu

verhindern. Die normale Mäusehaut besitzt an diesen Stellen eine fast papillarkörperfreie Epidermis mit einem schwach verhornten Epithelband. Darunter liegt ein vorwiegend parallel gelagertes kollagenes Bindegewebe, in das die Haarwurzeln mit ihren Anhangsgebilden, den Talgdrüsen, eingelassen sind. Schweißdrüsen fehlen. Diese Schicht besitzt keine größeren Gefäße, nur größere Capillaren, sie wird begrenzt von der Muscularis cutis, einer dünnen, parallel zum Epithel laufenden Muskelschicht aus 3—4 Fibrillenbündeln; ihr folgt eine zweite Bindegewebsschicht aus locker gelagerten Fasern; je nach Ernährungszustand und Lage des Hautstückes kommt es hier zur Bildung von Fettzellenschichten; nahe der Leistenbeuge liegt normalerweise ein Fettkörper in der Haut mit einem Lymphknoten. In dieser Bindegewebsschicht finden sich auch die größeren Gefäße, Nerven, Lymphbahnen; ihr folgt die eigentliche dreischichtige Bauchmuskellage. In diese Gefäßbindegewebsschicht zwischen Bauchmuskeln und Muscularis cutis muß die Injektion zu liegen kommen, was bei einiger Übung auch relativ leicht gelingt; die Hautquaddel zerfließt dann auch nicht, sondern erhält sich an der Stelle, an die sie gesetzt wurde. Der Bereich der entstehenden kleinen Quaddel wurde sofort mit einer wäßrigen Lösung von Methyl- oder Gentianaviolett mit dünnem Glasstab umrandet. Die Farbe hält sich gut 24 Stunden auf der Haut und gestattet bei der Tötung des Tieres die Gegend der ehemaligen Quaddel mit ihrer Umgebung hinreichend zu erfassen. Das aus geschnittene Hautstück wurde auf dünner Korkplatte aufgespannt in HELLY- und CARNOY-Lösung fixiert, darauf in der Mitte, dem Zentrum der Quaddel, durchtrennt und beide Hälften nach Einbettung in Paraffin von median nach lateral in Serien oder Stufen geschnitten. Auf diese Weise konnte der gesamte Injektions- und Quaddelbezirk total erfaßt werden.

Die Versuche gliedern sich in 2 Hauptgruppen: die erste, in der eine auf das Körpergewicht berechnete Giftmenge (0,2 mg je 10 g Maus, NB! gewogen 12 Stunden nach der letzten Fütterung) injiziert wurde, um in fortlaufenden Abständen von 30 Min. bis zu 72 Stunden zur Untersuchung zu kommen, die andere mit steigenden Giftdosen und Untersuchungen nach einer gleichbleibenden Zeit von 6 Stunden. Für je 2 Tiere jeder Untergruppe des Versuches wurden 2 Kontrolltiere angesetzt. In Gruppe I wurde nach 30 Min., 1—6 sowie 12, 18, 24, 48 und 72 Stunden untersucht.

Durchschnittlich nach 3 Stunden war die injizierte Lösung resorbiert und zwar sowohl in der Kontrolle wie im Hauptversuch; 4 Stunden nach der Einspritzung beginnt ein Ödem, welches an seiner perlgrauen hellen Färbung gut erkennbar, regelmäßig, aber nur bei den Endotoxintieren sich entwickelt; es bleibt etwa bis 24 Stunden gelegentlich auch noch länger erhalten und nach Herausnahme der Hautstückchen ist es auch von der Unterseite her gut zu erkennen.

Betrachtet man als Vergleichsgrundlage zuerst die Wirkung der sterilen Kochsalzlösung fortlaufend durch die Kontrollversuche der gesamten Gruppe I hindurch, so stellt sich heraus, daß ihre Injektion keineswegs reaktionslos vertragen wird. Setzt man die Körperoberfläche von Maus und Mensch in Proportion (etwa 1 : 250), dann müßte bei einer Injektion von 0,2 cm³ Lösung ein Mensch immerhin eine Menge von 50 cm³ subcutan in derselben Zeiteinheit verabreicht bekommen; das sehr lockere Unterhautgewebe der Maus verträgt nun sicherlich ein Vielfaches von Injektionsmenge im Vergleich zum Menschen, aber immerhin zeigt die mikroskopische Untersuchung, daß schon 0,2 cm³ eine deutlich erkennbare Insultierung der Faserstrukturen, Verdrängung, Zerrung und Rupturen bewirken können. Während der ersten 3 Stunden nach der Injektion

erkennt man gewisse Flüssigkeitsmengen im Unterhautgewebe, welche gegen Ende dieser Zeit gut resorbiert sind, schon nach 30 Min. beginnt eine für die Kürze der Zeit eigentlich überraschende Leukocytenmigration. In allen Gefäßen sind vermehrt Leukocyten zu finden und die beiden Schichten der Subcutis enthalten in diffuser Verteilung reichliche Granulocytes und einzelne große protoplasmareiche einkernige basophile Zellen. Alle Capillaren sind infolge ihrer Lichtungserweiterung deutlich sichtbar; nach 3 Stunden ist die eingespritzte Flüssigkeit aufgesaugt, die leukocytäre Infiltration ungefähr noch in gleicher Stärke vorhanden. Die Lymphbahnen sind noch stark erweitert, desgleichen die Sinus des Hautlymphknotens. Aus der Lage der Klappen in den Lymphbahnen ist auf ein zum Lymphknoten hinführendes Gefäß zu schließen. Nach 6 Stunden ist noch immer eine deutliche Zellvermehrung wahrzunehmen, die Leukocyten sind aber im Abnehmen, dafür tritt eine gewisse Schwellung und auch Vermehrung der Fibrocyten und Endothelien zutage. Damit ist der Höhepunkt der Reizwirkung der Kochsalzlösung überschritten; nach 12 Stunden sind die Leukocyten praktisch aus dem Zellgewebe geschwunden, die Fibrocytenschwellung und -vermehrung ist noch angedeutet vorhanden; nach 24 Stunden ist etwa der Normalstatus wieder erreicht, was von Leukocyten noch zu sehen ist, trägt die Zeichen der Regression, die Capillaren haben ihre Normalweite angenommen, die Lymphbahnen sind kaum mehr zu sehen. Den Probeschnitten nach 48 und 72 Stunden sind Anzeichen einer überstandenen sterilen Entzündung nicht mehr anzusehen.

Die Gründe für die entstehende entzündliche Reaktion der Unterhaut sind sicherlich sehr komplex, wenn auch der Verschiebung des p_H und der einseitigen Anhäufung gewebsfremder Ionen die Hauptursache wird zuerkannt werden müssen. Die Arbeit von AKAMATSU¹ über Zellreaktionen an künstlichen Grenzflächen nach Verschiebung des p_H und vor allem die Ergebnisse von LEUPOLD haben gezeigt, wie bedeutsam die Wasserstoffionenkonzentration und die Dysionie überhaupt für das Reaktionsbild des Gewebes sind. Es mag möglich sein, daß andere Lösungen als Medium für die zu injizierenden Toxine im Hinblick auf ihre geringere Reizwirkung noch besser geeignet gewesen wären. GERLACH² hat ebenfalls gefunden, daß die Injektion von physiologischer Kochsalzlösung von einer Leukocytenemigration gefolgt ist, die nach 4 Stunden noch stark und deutlich nach 24 Stunden aber schon weitgehend zurückgebildet ist. Er führt diese Reaktion auf die Schädigung des Gewebes durch eine zu große Menge von Injektionsflüssigkeit ($0,5 \text{ cm}^3$ bei Ratten und Kaninchen) zurück, denn geringere Mengen ($0,1$ — $0,2$) hatten nicht den oben genannten Erfolg.

Hier in unseren Versuchen kam es nun vorwiegend auf den Vergleich der toxinfreien und toxinhaltigen Lösung an, dieser verläuft mit sehr gut unterscheidbaren Phänomenen. Denn graduell völlig anders verhält sich die Reaktion des Unterhautgewebes nach der Injektion der Toxinlösung. Die gewählte Dosis von $0,2 \text{ mg}$ auf 10 g Mausgewicht entspricht bei intravenöser Injektion der von PRIGGE

¹ AKAMATSU: Beitr. path. Anat. 85, 349 (1930).

² GERLACH: Virchows Arch. 247, 303 (1923).

zur Verfügung gestellten Giftcharge Dysg.- Nr. 662 A einer sicher tödlichen Dosis. Bei subcutaner Gabe der gleichen Menge genügt diese indes nicht zur Tötung; also wird durch das Unterhautgewebe ein Teil des Giftes entweder zurückgehalten oder unschädlich gemacht; denn die injizierte Menge ist nach spätestens 3 Stunden resorbiert und sollte dann entsprechend den früheren Beobachtungen bei intravenöser Gabe nach etwa 6—16 Stunden zur Wirkung kommen. Auf diese Weise ist die Beobachtung einer bei intravenöser Gabe sonst letalen Dosis für eine längere Zeit von Stunden und Tagen möglich. Die Beobachtung der geweblichen Reaktionen schon während der Resorptionszeit (0,5—3 Stunden) bringt nun sogleich den überraschenden Befund, daß Kochsalzlösung eine stärkere Anfangsreaktion ergibt als die Giftlösung selbst. Zwar kommt es auch hier zur Leukocytenauswanderung, doch ist dieselbe wesentlich geringer als in der Kochsalzkontrolle und noch eher treten große monocytäre Zellen zutage als etwa Leukocyten. Die Erweiterung der Capillaren und Venen sowie auch Lymphbahnen ist nach wie vor deutlich. Die Zeit, in der die Injektionsquaddel resorbiert wird, erscheint gegenüber der Kochsalzkontrolle verlängert, was besonders bei Vergleich der Dreistundenpräparate erkennbar wird. Proben nach 4 und 5 Stunden lassen die fortlaufende Entwicklung der Entzündungsreaktion erkennen. Eine Dissoziation der Befunde sieht man vom Sechsstundenversuch an. Während wie beschrieben die Tiere mit Kochsalzlösung von da ab ein Abklingen der Entzündung zeigen, nimmt diese bei den Gifttieren nun dauernd zu, d. h. sie beginnt hier überhaupt erst deutlich und stärker zu werden. Nach der Resorption der Quaddel stellt sich an deren Stelle eine in ihrer Stärke wechselnde ödematöse Durchtränkung ein, welcher eine zunehmende und recht kräftige entzündliche leukocytäre Reaktion folgt. Makroskopisch kann man um diese Zeit (4.—6. Stunde) die beschriebene perlgraue ödematöse Schwellung bemerken. Die Entzündung greift nun auch über den ursprünglichen Bezirk der Quaddel weiter hinaus, durchsetzt das gesamte Faserwerk des Bindegewebes zwischen Muscularis cutis und Bauchwand, drängt sich in den Fettgewebskörper zwischen dessen Zellen und manchmal auch in die Muskulatur. Wiederum sind die Lymphbahnen stark erweitert, aber frei von Leukocyten und die Sinus des Lymphknötchens sind sehr breit. Die Blutgefäße sind verglichen mit sonstigen Entzündungsformen nicht stärker verändert bzw. erweitert. Die ödematöse Durchtränkung aber des ganzen Entzündungsbezirkes und seiner Umgebung ist in den meisten Fällen besonders den späteren Stadien sehr deutlich. Die Akuität des Prozesses steigert sich bis zu dichtester Leukocyteninfiltration, unter welcher das präexistente Gewebe zuweilen nicht mehr ausfindig zu machen ist, aber es kommt doch nur

relativ selten zu größeren Einschmelzungen des Gewebes; Faserverlust, Untergang einzelner Streifen der Muscularis cutis auf dem Wege der scholligen Degeneration und Lyse, kleine Abscesse im Fettgewebe sind indes zu beobachten. Während nach 24 Stunden beim Kontrolltier alle Merkmale der akuten Entzündung abgeklungen und die der chronisch reparativen recht spärlich sind, strebt die erstere beim Gifttier um diese Zeit ihrem Höhepunkt zu. Mehr oder weniger heftig greift die eitrige Infiltration dann auch über die Muscularis cutis hinweg in die subepithelialen Schichten und hier kann es in herdförmiger Weise entweder über die Haarbälge und Haarkanäle oder unmittelbar zur Zerstörung der Epidermis kommen, auf der sich dann sogleich Schorfe aus Leukocytenmassen und Epithelresten bilden. Dieser Zustand ist mit etwa 48 Stunden erreicht.

Mit der Untersuchungsstufe nach 72 Stunden ist der Gipfel der Entzündung überschritten, ihre Ausdehnung aber immer noch ziemlich breit, doch ist jetzt eine histio- und fibrocytäre Proliferation sowohl um die Einschmelzungsherde wie auch diffus im Gewebe im Gange; und an verschiedenen Stellen treten bereits kleine Narbenbildungen und Epithelproliferation als Zeichen der Reparation und der zunehmenden Chronizität ein.

In der Gruppe II wurde die Dauer der Gifteinwirkung auf 2 Zeitpunkte, 6 und 12 Stunden, fixiert, die Giftmenge aber fortlaufend gesteigert. Die Technik blieb die gleiche. So sollte die Frage beantwortet werden, ob stärkere Giftmengen eine stärkere und rascher einsetzende Entzündung bewirken würden, mit anderen Worten Giftquantum und Zeit als bestimmende Faktoren einander gegenübergestellt werden können. In der Gruppe I war zu beobachten gewesen, daß die Auswirkungen des Giftes im Sinne einer Entzündung erst nach Resorption der gesamten Injektionsmenge also auch hier mit einer gewissen Latenzzeit eintraten. Da nach Injektion reiner NaCl-Lösung aber sofort eine Entzündung festzustellen ist, so liegt der Schluß nahe, daß die Anwesenheit von *Endotoxin* die *Leukocytenemigration* hemmt. Dies bestätigt sich, denn die *Erhöhung der Giftekonzentration bis zu 4,0 mg hemmt* die entzündliche *Leukocytenemigration* um so mehr, je höher sie wird. Schon mit 0,2 mg Endotoxin ist die leukocytäre Reaktion geringer als nach reiner Kochsalzlösung. Man stellt fest, daß dieselbe mit Erhöhung der Giftstärke nicht steigt, sondern abnimmt. Mit 0,4, 1,0 und 2 mg ist eine Zunahme der Ödembildung am Injektionsherd zu sehen, die in das Interstitium abgebene Flüssigkeit hat einen deutlich erkennbaren Eiweißgehalt, aber nur wenige oder keine Leukocyten. Nach den früheren Kontrollversuchen muß nach 3 Stunden die Injektionsflüssigkeit resorbiert sein; hier ist nach 6 Stunden eine deutliche Ödem- oder Exsudat(?) -Bildung

vorhanden. Am stärksten aber ist dieser Zustand nach einer Menge von 4 mg ausgebildet; in diesem Versuch macht man noch eine weitere wichtige Beobachtung: Zellen und Fasern im Bereiche des Ödems gehen zugrunde, sie verlieren beide ihre färberische Darstellbarkeit, ein Zustand, der bei niedrigeren Konzentrationen nicht gesehen wird. Es ist nicht sicher zu entscheiden, ob dieser Untergang von Zellen und Fasern eine unmittelbare oder mittelbare Wirkung des Giftes ist, das letztere halte ich für wahrscheinlicher. Mit 4 mg lokalinjizierten Giftes, d.h. der 20fach auf intravenösem Wege tödlichen Dosis, stellt man also nach 6 Stunden dreierlei fest: Reichliches lokales Exsudat, keine Leukocytenemigration, beginnender Untergang von Fasern und autochthonen Zellen. Demgegenüber zeigt eine Injektionsstelle mit nur 0,2 mg doch noch deutliche Leukocytenansammlungen.

In der letzten Untergruppe dieses Versuches wurden noch verschiedene Tiere erst 24 Stunden nach Injektion steigender Giftdosen getötet. Da es sich um Mengen handelte, welche die tödliche Dosis für ein 10 g schweres Tier mehrfach überstiegen, so mußte, um nicht ein vorzeitiges Absterben zu erleben, das Gewicht des Einzeltieres ziemlich hoch gewählt werden. Trotzdem ging ein Tier von 27 g Gewicht nach Injektion von 1 mg Endotoxin schon nach 9 Stunden, ein zweites nach etwa 16 Stunden ein. Das Präparat zeigt reichliches Ödem im Injektionsgebiet, aber kein leukocytäres Exsudat, wo hingegen ein gleichgewichtiges Tier mit nur 0,2 mg Gift nach 24 Stunden wieder eine erhebliche Entzündung zu erkennen gibt. Die ödemisierende Wirkung des Endotoxins war nicht regelmäßig gleichbleibend in diesen Versuchen, aber die leukodepressorische und leukotoxische wiederum sehr evident.

Zur Ergänzung der Beobachtungen an der Mäusehaut wurden noch einige Versuche mit subcutaner Giftinjektion an Meerschweinchen ausgeführt. Auch hier bestätigt sich, daß die intravenös tödliche Giftwirkung bei subcutaner Gabe der gleichen Menge nicht erreicht wird. 0,5 mg und 10 mg je Kilogramm Tier, d.h. etwa 1 mg und 2,5 mg für ein etwa 250 g schweres Tier genügten nicht, nach 24 Stunden den spontanen Tod herbeizuführen. Die injizierte Hautstelle wurde nach 24 Stunden ausgeschnitten, außer einer gewissen ödematischen Schwellung war keine Besonderheit daran zu finden. Mikroskopisch kehren die gleichen Erscheinungen wieder, die an der Mäusehaut beobachtet worden waren. Die Dichte der Zelldurchsetzung nimmt auch hier wieder mit der steigenden Konzentration der Giftmenge ab. Es erscheint mir vorerst nicht tunlich, infolge der in den Versuchen von PRIGGE und KICKSCH festgestellten stärkeren Wirkung des SHIGA-Endotoxins an der Haut von einem „Nekrosegift“ zu sprechen. Diese Bezeichnung schließt doch wohl zu stark die Vorstellung in sich, daß

das Gift unmittelbar abtötend auf die Gewebselemente, der Unterhaut wirken könnte. Was die Autoren als Nekrose festgestellt haben, kann meines Erachtens durchaus als Folge der entzündlichen Reaktionen nach der Endotoxininjektion (SHIGA) angesprochen werden, unterscheidet sich also nur noch graduell, aber nicht grundsätzlich von der Wirkung des FLEXNER-Endotoxins, während wir unter Nekrosegift eine unmittelbar abtötende Wirkung des Giftes auf Zellen und Fasern und als Folge davon erst eine Entzündung der Umgebung verstehen wollen (chemisch-toxische Nekrose). Ein sehr stark unterschiedliches Verhalten, von dem ich überhaupt bezweifle, ob es als Folge von bakteriellen Giftstoffen vorkommt.

Versucht man demnach den ganzen Wirkungsmechanismus der lokalen Endotoxinschädigung zu entwickeln, so ergibt sich eine ungefähre *Latenzzeit* des Giftes von 3 Stunden, in welcher Zeit die injizierte Giftlösung resorbiert wird. Von da ab entwickeln sich gewisse *Gewebsreaktionen* wechselnder bzw. zunehmender Stärke, wobei die *Zunahme* eine *Funktion der Zeit* und *nicht der Giftkonzentration* ist. Es gelingt nicht die Gewebsreaktion, die in seröser und granulocytärer Exsudation besteht, durch Erhöhung der Giftkonzentration zu beschleunigen und zu verstärken. Sie bedarf zu ihrer Entwicklung nach der vollen Resorption der Giftlösung einer bestimmten Zeit und die Reaktionsgröße gemessen an der Leukocytenmigration kann durch stärkere Giftkonzentrationen in depressorischem Sinne beeinflußt werden. Mit steigender Giftmenge kann besonders in den Exsudatgebieten eine schlechtere Färbbarkeit der Fasern, Zerfall derselben und nekrobiotischer Untergang der Zellen und Zellkerne festgestellt werden. Offenbar kann das Gewebe aber nur eine bestimmte Menge Gift binden, denn von größeren Quantitäten wird unabhängig von der Lösungsmenge der wohl größere Teil resorbiert, welcher den Tod des Tieres unter den üblichen Erscheinungen des Kollapses bewirkt. Annäherungsweise kann man das $2\frac{1}{2}$ fache der sonst intravenös tödlichen Dosis subcutan verabreichen, bis es zur tödlichen Wirkung kommt. Es wäre also vorstellbar, daß das Gift adsorptiv an Gewebselemente (Fasern) gebunden, nach einer Latenzzeit (3 Stunden) erst entzündungserregend wirksam wird und die nicht gebundenen Mengen in den allgemeinen Kreislauf abgegeben werden. Mit den bisherigen Versuchen läßt sich noch nicht erläutern, an welchen Formelementen das Gift zur Wirkung kommt, ob unmittelbar an der Gefäßwand bzw. ihren Zellen oder an den Gefäßnerven. Würde man dem RICKERSchen Stufengesetz folgen, so entsteht (in Stufe 3 = starke Reize) mit der peristatischen Capillarerweiterung die Ansammlung von Leukocyten im Gefäß und ihre dann folgende Diapedese, welche von der „Liquordiapedese“ erst gefolgt wird. Die Liquordiapedese wäre also der

Ausdruck einer stärkeren Reizung, als der zur Leukocytenermigration führende Vorgang. In diesem Sinne könnte — mit Vorbehalt — das Zurücktreten der Leukodiapedese bei Anwendung stärkerer Giftkonzentrationen gegenüber der „Liquordiapedese“ betrachtet werden.

Da die Möglichkeit, diese Gedanken bioptisch nachzuprüfen besteht, wurden Meerschweinchen mit Endotoxin intravenös injiziert (5,7 mg/kg) und zur Zeit der ersten Krankheitszeichen in Äthernarkose zur capillarmikroskopischen Untersuchung gebracht. In der Bauchhöhle war zu dieser Zeit schon reichlich Exsudat zu finden; das Ödem am Pankreas war bei den meisten untersuchten Tieren ebenfalls vorhanden (nach 6 Stunden), also ein Stadium, in dem bioptisch an der Strömung der Blutgefäße schon Änderungen hätten feststellbar sein müssen. Überraschenderweise war dies nicht der Fall. Es zeigte sich, daß im Mesenterium sowohl die Strom- wie die Netzcapiillaren sehr gut und rasch durchströmt sind, das Pankreas, dessen ganze Gegend mit reicherlicher wasserklarer Flüssigkeit stark aufgetrieben ist, hat gut und rasch durchströmte Arteriolen und Venolen, das Pankreasgewebe selbst ist sehr blaß, in seinen Randgebieten sind die Endgefäße der Strombahn ebenfalls sehr gut und rasch durchflossen, keine Stasen, keine plasmatischen Strömungen zu finden. Hieraus wäre zu schließen, daß der zum Bauchhöhlenexsudat und Pankreasödem führende (hypothetische) Durchströmungsschaden entweder schon abgelaufen und durch Normalströmung wieder ersetzt sein müßte, oder daß die Extravasate auf Grund einer abnormen Gefäßwanddurchlässigkeit sich entwickeln (Endothelschaden?), der von Strömungsveränderungen nicht begleitet wäre.

Zum Zeitpunkte der Untersuchung (6 Stunden post injectionem) kann man jedenfalls die vorhandenen Veränderungen nicht mit dem RICKERSchen Stufengesetz in Einklang bringen.

Trotzdem die vorliegenden Untersuchungen wiederum einiges Neue zur Frage der Ruhrtoxine beizutragen vermochten, wobei die Wirkung auf die Gefäße aus Beobachtungen verschiedenster Art erneut deutlich wurden, soll es vorerst nicht unternommen werden, auf Grund dieser eine Theorie der Pathogenese der Ruhr aufzubauen. Es ist von vielen Autoren auf Grund neuer, von ihnen gefundener Einzeltatsachen immer wieder, meines Erachtens aber zu Unrecht, versucht worden, denn die Zeit dazu ist noch nicht reif, die uns bekannten Einzeltatsachen sind noch zu lückenhaft. Erst die Möglichkeiten, die Giftstoffe in reiner Form, getrennt in Endo- und Ektotoxin darzustellen und sie chemisch zu analysieren, haben die Grundlagen geschaffen für ein exaktes experimentelles Arbeiten auf diesem Gebiete. Die vielfachen Ähnlichkeiten zwischen Diphtherie und Dysenterie sind eigentlich nur durch die verschiedenartige Lokalisation der Erschei-

nungsformen dieser Erkrankungen unterschieden und es bleibt bei einer äußerst ähnlichen, wenn nicht gleichartigen Entstehungsweise der gewöhnlichen Schäden letzten Endes nur die Frage nach deren Lokalisation; dabei möchte ich es für die Ruhr, so paradox dies bei den natürlichen Entstehungsbedingungen erscheinen mag, auf Grund bisheriger Erkenntnisse für überwiegend wahrscheinlich halten, daß die Giftstoffe nicht unmittelbar vom Darm her, sondern erst nach Ablauf eines uns noch nicht durchschaubaren komplizierten Vorganges auf parenteralem Wege ihre Schäden setzen.

Zusammenfassung.

Die früheren Untersuchungen über die Wirkung des FLEXNER-Endotoxins werden an anderen Tieren und mit modifizierten Versuchsbedingungen weitergeführt. Dabei ergibt sich folgendes:

1. Unterbindung des Gallenganges bei der Maus mit folgendem Ikterus beeinflußt die Wirkung einer sonst tödlichen, auf intravenösem Wege verabreichten Giftmenge, entweder im Sinne einer Verzögerung oder der völligen Aufhebung.
2. Das Endotoxin FLEXNER wirkt sich an Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen in etwa der gleichen Weise aus wie das SHIGA-Endotoxin.
3. Endotoxinvergiftete Meerschweinchen zeigen nach intravenöser Gabe des Giftes starkes Pankreasödem, Bauchhöhlenexsudat, Hämorrhagien der Nebennieren und manchmal der Magen- und Darmschleimhaut mit ihren Folgen.
4. In die vordere Augenkammer eines Kaninchens eingebauchtes Endotoxin verursacht deutliche Gefäßirritationen an der Iris.
5. Injektion des Endotoxins in das Unterhautzellgewebe der Maus (oder des Meerschweinchens) erzeugt nach einer Latenzzeit von 3 Stunden eine leukocytäre Entzündung. Verglichen mit der Reaktion auf physiologische Kochsalzlösung erscheint diejenige des Giftes verzögert; je stärker das Gift desto stärker die leukodepressorische Wirkung. Auf die Schnelligkeit der Reaktionsentwicklung hat die Konzentration des Giftes aber keinen Einfluß, sondern nur auf deren Qualität.
6. Die Versuche sprechen erneut dafür, daß der Angriffspunkt des Giftes vorwiegend an der terminalen Strombahn gelegen ist.

Literatur.

- BALLOWITZ, KURT: Z. Hyg. usw. 125, 175, 468 (1944) — HEINLEIN, H. u. M. HEINLEIN: Dtsch. Z. Verdgs- u. Stoffw.krk. 5 (1941). — LETTERER: Virchows Arch. 312 (1944). — LETTERER u. SEYBOLD: Z. Hyg. 1949. — LOBECK: Zieglers Zbl. Suppl. 33 (1923). Festschrift M. B. SCHMIDT. — PRIGGE u. KICKSCH: Z. Hyg. usw. 123 (1941). — Z. Immunit.forsch. 101 (1942).