

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Florenz
(Direktor: Prof. ANTONIO COSTA).

Die Opsobiline und die durch Opsobilinmangel verursachten anikterischen hämoglobinurischen Hyperhämolyse.

Von

ANTONIO COSTA und PIER LUIGI CIPRIANI.

(Eingegangen am 18. August 1952.)

I. Teil.

Seit A. E. WRIGHT (1903) bewiesen hat, daß die Mikroorganismen der Phagocytose nur dann unterliegen, wenn sie in Verbindung mit dem normalen Blutserum bleiben (wobei es zur Entdeckung der Opsonine kam), werden immer die Leukocyten als Beweismittel dieses Phänomens zugezogen. Auch die modernen Handbücher der Pathologie und Immunologie und selbst die allerletzten Arbeiten über die Opsonine und Phagocytose (W. BAUMGARTNER 1948, L. J. BERRY und T. D. SPIES 1949) beziehen sich auf die Phagocytose durch die Leukocyten, d. h. also durch die Mikrophagen.

Es ist jedoch allgemein bekannt, daß die Phagocytose, innerhalb des komplizierten Bildes aller physiologischen und pathologischen Reaktionen des Organismus, zum großen Teil den histiocytären Zellen, den Makrophagen, zugeschrieben wird. Hier besteht offenbar eine Lücke in den Kenntnissen der Beziehungen der Opsonine zu der Makrophagenaktivität. Es ist kein Zufall, daß die Immunitätslehre sich bei der Behandlung des Opsoninproblems immer auf die Leukocyten bezieht; in Wirklichkeit ist die Tatsache einer Opsoninwirkung auf die Phagocytose der histiocytären Zellen nie experimentell bewiesen worden.

Und doch, wenn man nur einen Augenblick an die Größe des Makrophagensystems und an dessen so unterschiedliche Lage in bezug auf den Kreislauf denkt, erreicht das Problem eine Bedeutung, die es nicht übertrieben erscheinen läßt, ihm große Wichtigkeit beizumessen. Zum Beispiel: Die Lage der KUPFFERSchen Sternzellen „am Ufer“ wird im allgemeinen als Notwendigkeit für eine prompte und besonders unmittelbare Säuberungsaktivität dieser Zellen gegen die schädigenden granulären Körper innerhalb des Blutkreislaufes betrachtet. Es ist jedoch offenbar, daß gerade diese topographische Situation die Zellen selbst in die Lage bringt, auf Organismen einzuwirken, welche in engen Beziehungen zu den Opsoninen gestanden sind. Und dann, können die KUPFFERSchen Sternzellen, im Unterschied zu den Leukocyten, ihre Tätigkeit der Phagocytose weiter beibehalten, wenn die Opsonine fehlen?

Die klassischen Untersuchungen zeigen uns, daß gewaschene Leukozyten den Mikroorganismen gegenüber völlig inaktiv bleiben. Behalten die KUPFFERSchen Sternzellen ihre Aktivität in einer Umgebung, die durch Abspülungen opsoninenfrei geworden ist? Ein Reaktionsunterschied zwischen Leukozyten und KUPFFERSchen Sternzellen, von diesem Gesichtspunkt aus betrachtet, würde dann die Grenzen des Opsoninproblems festlegen, Grenzen, über welche Kenntnisse bis jetzt fehlen oder zumindest noch nicht formuliert sind.

Andererseits wiederholt sich das Problem in noch entscheidenderer Form bei Betrachtung der enormen Ausbreitung der histiocytären Elemente (verteilt auf die adventitiellen Stellen, das lockere Bindegewebe der verschiedenen Organe, die interalveolären Septen der Lungen, den Lymphsinus, die Interstitien des Fettgewebes, die äußeren Schichten der Herzklappen und auf alle anderen bekannten Stellen). Die KUPFFERSchen Sternzellen sind durch ihre topographische Lage noch in ständiger Tätigkeit und unmittelbarer Berührung mit dem Blut, wogegen der größte Teil der histiocytären Elemente durch seine Lage von einer unmittelbaren Berührung mit dem Blut mehr oder weniger ausgeschlossen ist. Also, auch wenn die Aktivität der KUPFFERSchen Sternzellen zusammen mit derjenigen der Leukozyten (was ebenfalls nie erforscht wurde) unten den Einfluß der Opsonine stehen sollte, würde ein zweites Problem offenbleiben, die Frage nämlich, ob *die Opsonine auch die Aktivität der Makrophagen an Stellen ohne unmittelbare Berührung mit dem Blut begünstigen würden*.

Es würde dann noch, auch im positiven Falle, die Frage zu beantworten sein, ob die Phagocytose dieser letzten histiocytären Zellen nur einen gewissen Nutzen aus den an sie durch die interstitiellen Säfte gelangten Opsonine ziehen würde, oder ob sie die Opsonine unbedingt als „conditio sine qua non“ braucht, in einer Art und Weise, an die man bis jetzt nie gedacht hat.

Im Rahmen dieser Fragen wurden die folgenden Untersuchungen angestellt:

Erste Untersuchungsreihe. Opsonine und KUPFFERSche Sternzellen.

1. Gruppe (Kontrollversuch). Bei 2 Kaninchen wurde direkt in die Vena portae am Leberhilus eine wäßrige Lösung von 1%igem Lithioncarmin injiziert (5 cm³). Nach 15 min wurde die Leber *in vivo* exstirpiert und gleich darauf ein kleines Stück des Organs in gesalzenem Formalin fixiert. In den mit Hämalaun gefärbten histologischen Präparaten traten aus der durch das Hämalaun verursachten Zeichnung des Parenchyms mit Deutlichkeit zahlreiche Gruppen von KUPFFERSchen Sternzellen hervor, welche von glänzend roten, im Plasma der Zellen

angehäuften Körnelungen überladen waren; die Zellen selbst wiesen pyramidenähnliche oder polyedrische Formen auf. Bei 2 anderen Tieren wurden in die Vena portae 5 cm^3 wäßriger Lösung von Tusche (1 Tropfen Tusche je Kubikzentimeter) eingespritzt. Die histologische Untersuchung der Leberstückchen mit der Kontrastfärbung Carmin-Alaun-Orange ergab, daß die KUPFFERSchen Sternzellen von schwarzgefärbten Körnchen überladen waren.

2. Gruppe. Nachdem wir uns noch einmal von der klassischen Aktivität der KUPFFERSchen Sternzellen überzeugt hatten, wurde das Material zu den Untersuchungen folgendermaßen vorbereitet: Perfusion der Leber mit isoviscöser bei gleichbleibender Temperatur von 38° gehaltener Ringerlösung durch die Vena portae am lebenden Tier mit gleichzeitiger Resektion der Aorta abdominalis als Abflußweg, die Perfusion dauerte nach dem Tode des Versuchstieres noch $1/2$ Std an. Am Ende der Perfusion injizierte man in die Vena portae der Kaninchen 5 cm^3 einer 1%igen wäßrigen Lösung von Lithioncarmin und nach weiteren 15 min wurde die Abtrennung von Leberstückchen für die histologische Untersuchung mit derselben Fixierung wie bei den Kontrolluntersuchungen durchgeführt; anderen 2 Kaninchen wurden 5 cm^3 einer wäßrigen Lösung von Tusche, wie bei dem Kontrollversuch, injiziert.

Technik der Perfusion. In einem gewöhnlichen Perfusionsapparat wurde eine mit Sauerstoff angereicherte und durch Zusatz von 2% Gelatine isoviscös gemachte Ringerlösung zubereitet und bei einer konstanten Temperatur von 38° gehalten. Der Perfusionsapparat wurde durch ein langes Gummirohr mit einer Kanüle verbunden; in der Mitte des Gummirohres wurde ein Tropfenzähler eingeschaltet. Nach Vorbereitung des Tieres und nach einer Laparotomia mediana, legte man die Vena portae in der „Porta hepatis“ frei, wo die Kanüle eingeführt und mit einer Schlinge befestigt wurde. Die Perfusion wurde mit etwa 60 Tropfen je Minute begonnen, nach etwa 2 min schnitt man die Aorta in dem unteren abdominalen Abschnitt durch und ließ das Blut unter Ausübung eines schwachen Druckes mit einem Gazestück, langsam abfließen. Nach dem Tode des Tieres durchschnitt man die Vena cava inferior. Die Perfusion wurde noch für die Dauer $1/2$ Std fortgeführt.

In den (nach den obengenannten Kontrastmethoden gefärbten) histologischen Präparaten blieben die KUPFFERSchen Sternzellen völlig frei von Körnelungsanhäufung.

3. Gruppe. Bei anderen Kaninchen haben wir das oben beschriebene Experiment, und zwar die Perfusion der Leber, mit derselben Technik durchgeführt und am Ende der Perfusion bei 2 Kaninchen in die Vena portae Lithioncarmin, bei 2 anderen mit frischem Kaninchenblutserum verdünnte Tusche injiziert. In den mit Hämalaun gefärbten Präparaten trat wieder (im Gegensatz zu den Lebern der vorherigen Untersuchung) die glänzend rote Farbe des Carmins in vielen KUPFFERSchen Sternzellen hervor: die oft zu Gruppen gehäuften Zellen waren genau so angeschwollen wie die Zellen anderer Tiere nach Injektion von Lithioncarmin ohne vorherige Leberperfusion in einigen Capillaren war coaguliertes, durch das Färbemittel rosa gefärbtes Hämoglobin zu beobachten.

4. Gruppe. An 4 weiteren Kaninchen wurde zuerst die Leberperfusion durchgeführt, danach injizierte man in die Vena portae die im Kaninchenblutserum gelösten Färbemittel (Lithioncarmin bzw. Tusche); das Serum war jedoch durch 30 min während des Verbleibens im Ofen (bei 55°) inaktiviert worden (diese Technik genügt, wie bekannt, um die Aktivität der Opsonine zu beseitigen).

Die histologischen Präparate bewiesen noch einmal die absolute Untätigkeit der KUPFFERSchen Sternzellen; diese waren, wie bei den Untersuchungen der Gruppe II, d. h. wie die Zellen der zuerst perfundierten und dann mit in Ringerlösung verdünnten Farbmitteln injizierten Leber, vollkommen farbfrei.

Zweite Untersuchungsreihe. Opsonine und Aktivität der Lungenhistiocyten.

1. Gruppe (Kontrollgruppe). Bei 2 Kaninchen wurden nach vorheriger Laparotomie in die Vena cava inferior 10 cm³ 1%iger Lithioncarminlösung injiziert. Nach 15 min wurde das Tier getötet und verschiedene Stücke des Lungenparenchyms zum Zweck histologischer Untersuchungen entfernt. Fixierung im gesalzenen Formalin, Hämalaunfärbung. Die Lungensepten wiesen an verschiedenen Stellen von roten Körnchen vollbeladene histiocytaire Zellen auf. In den kleinen Blutgefäßen waren hin und wieder einige rote Ablagerungen festzustellen.

2. Gruppe. Durch Perfusion mit isoviscöser (38°) Ringerlösung in die Vena cava inferior wurde die Lungenwaschung durchgeführt. Nach dem Tode des Tieres (durch Verblutung infolge Aortaresektion) wurden die Lungen mittels einer Kanüle in die Trachea ventilirt. Die Perfusion der Lunge dauerte etwa 1/2 Std; daraufhin injizierte man in die Vena cava inferior 10 cm³ einer 1%igen Lithioncarminlösung. Nach weiteren 15 min entnahm man einige Stücke aus den Lungen für die histologische Untersuchung (wie oben).

Technik der Perfusion. Am festgebundenen Tier führte man eine Laparotomia mediana durch und legte die Vena cava inferior oberhalb der Leber frei; in die Cava wurde, von unten nach oben, eine Kanüle eingeführt und danach mit der Perfusion begonnen. Danach erfolgte die Resektion der Aorta in ihrem abdominalen Abschnitt, um die Verblutung herbeizuführen. Nach dem Tode des Tieres Einführung eines an einem Gummiball gebundenen Katheters in die Trachea zum Zweck der Lungenventilation; nach Freilegung der Brusthöhle befestigte man mit einer Schlinge in dem Brustabschnitt der Cava inferior die Kanüle, die bis an das Herz geschoben worden war. Noch während der Perfusion wurden die Vv. jugulares et subclaviae abgesperrt. Um eine gute Perfusion der Lungen zu erreichen, die völlig weiß werden sollen, wurde dabei eine mäßige Massage am Herzen durchgeführt.

Bei diesen Tieren blieben die Lungensepten völlig frei von Farbansammlung; es waren nicht nur — was logisch war — die kleinen Gefäßchen leer, sondern auch die Septen selbst wiesen nicht eine einzige Zelle auf, welche die rote Farbe aufgenommen hätte.

3. Gruppe. An 2 Kaninchen ist die Lungenperfusion wie oben durchgeführt worden. Auch bei diesen Tieren Verblutung durch die Aorta und Lungenventilation. Nach $\frac{1}{2}$ stündiger Perfusion mit Ringerlösung durch die Vena cava wurden 10 cm^3 von normalem Kaninchenblutserum mit Lithioncarmin im Verhältnis 1:100 injiziert. 15 min nach der Injektion Resektion von einigen Lungenstücken für die histologische Untersuchung. Es ließ sich feststellen, daß, abgesehen von einigen Farbansammlungen in den Gefäßen, welche durch das Ausfallen der mit Carmin gemischten Serumproteine verursacht worden war, zahlreiche Zellen der Lungensepten die glänzend rote Farbe aufgenommen hatten.

4. Gruppe (Kontrollgruppe). Zwei Kaninchen wurde durch die Trachea eine 1%ige wäßrige Lösung Lithioncarmin (5 cm^3) injiziert. Nach 15 min tötete man die Tiere und entnahm einige Lungenstücke, welche sofort in gesalzenem Formalin fixiert wurden zwecks Anfertigung von mit Hämalaun gefärbten Präparaten. Histologisch gesehen waren die Alveolarsepten reichlich, jedoch mit stellenweise unterschiedlicher Intensität mit carmingefärbten Zellen versehen; diese Zellen ragten aus dem Alveolarlumen stark hervor und waren manchmal im Alveolarlumen selbst frei; ihr Cytoplasma war gänzlich von rot und glänzend gefärbten Körnern beladen.

5. Gruppe. Zwei weiteren Kaninchen wurden nach etwa $\frac{1}{2}$ stündiger Lungenperfusion mit Ringerlösung 5 cm^3 einer 1%igen wäßrigen Lösung von Lithioncarmin durch die Trachea injiziert. Nach 15 min wurden Lungenstücke abgetrennt. Die histologische Untersuchung derselben zeigte eine gewisse Mobilisierung der Histiocyten in den Interalveolarsepten, die manchmal sogar in Form von freien Zellen in den Alveolen auftraten, jedoch niemals Elemente, welche das Carmin aufgenommen hatten.

6. Gruppe. Diese Gruppe bezieht sich auf 2 Kaninchen, welchen, nach Lungenperfusion mit Ringerlösung, 5 cm^3 Lithioncarmin einer opsoninhaltigen physiologischen Lösung injiziert wurden (um dies zu erreichen wurden 300 cm^3 von normalem, menschlichem, entfibriniertem Blut vorbereitet; nach Zentrifugierung wurde das Sediment mit 200 cm^3 physiologischer Kochsalzlösung gewaschen und durch eine weitere Zentrifugierung die Flüssigkeit von den festen Bestandteilen getrennt: diese Flüssigkeit war somit sehr opsoninreich). Die histologische Untersuchung der abgeschnittenen Lungenstücke bewiesen noch einmal die Bewegung der Lungenhistiocyten und noch mehr die Ansammlung des Carmins im Cytoplasma vieler dieser Zellen der Septen und im Alveolarlumen.

7. Gruppe. An 2 Kaninchen wurde die Lungenperfusion mit Ringerlösung durchgeführt; danach injizierte man in die Vena cava inferior 15 cm^3 normalen Kaninchenserums und gleichzeitig, durch die Trachea,

5 cm³ einer 1%igen Lithioncarminlösung. Histologisch wurde wiederum die Aufnahme des Carmins seitens der Lungenhistiocyten bewiesen.

Dritte Untersuchungsreihe. Opsonine und Aktivität der Histiocyten in den Herzklappen und in der Intima der Aorta.

Technik der Perfusion. Nach Laparotomia mediana wurde die Vena cava inferior oberhalb der Leber freigelegt; in die Cava wurde die Kanüle von unten nach oben eingeführt und mit der Perfusion begonnen. Man durchschnitt dann die Aorta in dem abdominalen Abschnitt, um die Verblutung herbeizuführen. Nach dem Tode des Tieres wurde die Brusthöhle freigelegt; die bis an die Spitze des rechten Herzohres geschobene Kanüle wurde mit einer Schlinge befestigt. Noch während der Perfusion wurden die Vv. jugulares et subclaviae abgesperrt. Während der Perfusion wurde weiter mäßige Herzmassage durchgeführt, um die Entleerung zu begünstigen.

Die Perfusion (60—70 Tropfen je Minute) wurde etwa 45 min lang fortgeführt. Am Ende der Perfusion führte man durch die Kanüle Lecithin in physiologischer Lösung bzw. Kaninchenblutserum, immer tropfenweise etwa 15 min lang zu. Darauf erfolgte noch einmal für etwa 5 min Perfusion mit physiologischer Lösung, dann wurden kleine Stücke des Herzens mit Klappen und der Aorta abgetrennt und in gesalzenem Formalin fixiert. Zur Untersuchung der Lipoide wurde die Methode nach CIACCIO verwendet.

1. Gruppe. Nach physiologischer Kochsalzlösungsperfusion des Herzens und der Aorta nach der oben beschriebenen Technik wurde bei 2 Kaninchen die Perfusion mit einer Lecithinlösung fortgeführt. Nach 20 min wurde die Lecithinzugabe suspendiert und 10 min lang die Auswaschung mit physiologischer Lösung weitergeführt. Das Herz und die Aorta fixierte man nachher in Formalin.

In den histologischen Präparaten zur Beweisführung der Lipoide zeigten die Histiocyten der Herzklappen und der Intima der Aorta keine Sudanreaktion: man konnte lediglich einen gelblichen Ton des Cytoplasmas dieser Elemente feststellen.

2. Gruppe. An 2 weiteren Kaninchen haben wir dieselbe Technik wie bei den vorhergehenden Untersuchungen angewandt, jedoch mit dem Unterschied, daß diesmal das Lecithin mit frischem Kaninchenblutserum vermischt war. An den Präparaten der Herzklappen und der Aortenwand haben wir feststellen können, daß durch die Methode nach CIACCIO die Histiocyten von gelb-rötlichen Substanzen für die Lipoide beladen waren.

In einer ersten Untersuchungsreihe ist die Opsoninwirkung auf die Aktivität der KUPFFERSchen Sternzellen erforscht worden.

Die Perfusion der Kaninchenleber mit physiologischer Kochsalzlösung verhindert die Kumulation von Carmin sowie von Tusche seitens der KUPFFERSchen Sternzellen, wenn die Farbstoffe in den Leberkreislauf eingespritzt werden. Wenn man aber nach Perfusion von physiologischer

Kochsalzlösung die färbenden Substanzen zusammen mit frischem Kaninchenserum in Berührung mit den KUPFFERSCHEN Sternzellen bringt, dann halten in diesem Fall die Sternzellen die Farbe glänzend wie gewöhnlich fest. Wenn dagegen der eingeführte Farbstoff mit einem vorher inaktivierten Serum (durch Erhitzung) gemischt wird, bleiben die KUPFFERSCHEN Sternzellen farblos.

In der zweiten Untersuchungsreihe ist erforscht worden, ob die Histiocyten der Lunge ihre Aktivität auch ohne den Einfluß der Opsonine weiterführen können. Bei einigen Kaninchen ist die Farbe durch die Cava inferior eingeführt worden, bei anderen durch intratracheale Injektion. In den beiden Modalitäten haben die mit vorheriger Perfusion von Kochsalzlösung vorbehandelten Lungenhistiocyten, auch wenn mobilisiert, keine Farbstoffreaktion gezeigt. Ihr Speicherungsvermögen trat wieder in Erscheinung, sobald die Farbe (nach Perfusion von physiologischer Kochsalzlösung) zusammen mit Kaninchenserum oder mit einer opsoninhaltigen physiologischen Kochsalzlösung verabreicht wurde.

Aus der 3. Untersuchungsreihe ergibt sich, daß die Histiocyten der Herzkappen und der Intima der Aorta das Lecithin nicht aufnehmen, nachdem eine Perfusion von physiologischer Kochsalzlösung die Opsonine eliminiert hat, wogegen sie das Lecithin wieder aufnehmen, wenn es gemischt mit frischem Kaninchenserum eingeführt wird.

Nach diesen Untersuchungen scheint es nicht möglich, sich bei der Erklärung der charakteristischen Lage der Histiocyten, welche direkte Beziehungen zu dem Blut haben, auf die gewöhnlichen topographischen Begriffe zu beschränken, nach denen diese Zellen sich an einer Stelle befinden, welche ihnen erlaube durch die Cytoplasmafortsätze granuläre, im Blut kreisende Fremdelemente sofort zu erfassen und aufzunehmen. Außer dieser zweifellosen Finalität sind diese Zellen durch ihre besondere Topographie in der Lage, die Opsonine in hohem Maße auszunutzen, und dadurch eine äußerst günstige Phagocytose zu vermitteln.

Von nicht geringerer Bedeutung erscheint das schon beschriebene Phänomen für diejenigen Histiocyten, die in direkter Berührung mit den interstitiellen Säften aber nicht mit dem Blute stehen. Wenn wir beachten, daß die einfachste Form der Alveolitis, die seröse Form, der Mobilisierung der Zellen von v. BÜHL vorausgeht (Desquamativ-pneumonie der alten Pathologen), dann ist es klar, in welches Licht unsere Untersuchungen die Bedeutung der Opsoninanwesenheit durch das Blutserum in dem Alveolarlumen versetzen: schon von Anfang an wird die Umgebung der Zellen durch das Serum in die denkbar günstigsten Verhältnisse für eine Makrophagenaktivität der Alveolen und somit für eine Säuberung der Alveole selbst gebracht. Und alles dies noch bevor sich die spezifischen Antikörper, besonders die Bakteriotropine, bilden.

Wenn wir uns nun dem Geschehen zuwenden, das sich im Endokard und in der Intima der Blutgefäße im Laufe einer Entzündung vollzieht, so beleuchten und klären unsere Untersuchungen auch diese Lokalisationen und die Zusammenhänge zwischen der Serumpenetration durch das Endothel (Insudation) und der Makrophagenmobilisierung mit Abschaffung von bakteriellem Material bzw. Thesaurismosen. Dasselbe Serum, welches bis in das zarte Endokardstroma bzw. in die Intima vordringt, bringt eine Ladung von Opsoninen mit, um die Makrophagenaktivität und die Materialwegschaffung zu begünstigen.

Letzten Endes findet die seröse Exsudation (das Problem welches der modernen Pathologie so viel zu denken gegeben hat) nach den Ergebnissen unserer Untersuchungen die denkbar beste Deutung: ihr Zweck kann als ein schnelles reichliches und lokales Beförderungsmittel von Antikörpern nach Art der Opsonine verstanden werden.

Das Gesagte unterstützt endlich die Entzündungstheorie des so viel erörterten Problems im klassischen Sinne, von R. RÖSSELE, ohne daß jedoch die Möglichkeit der Hypoxydosis nach F. BÜCHNER im Rahmen der Pathogenese ausgeschaltet wird.

Es könnte hier der Einwand gemacht werden, daß die Ätiologie der Endokarditis und der serösen Entzündungen im allgemeinen als nicht deutlich in Korrelation mit der Makrophagenaktivität erscheine, da toxische Substanzen, die nicht von kolloidaler Natur sind, sich der Kolloidspeicherung zu entziehen scheinen. Man sollte sich aber vor Augen halten, daß die toxischen Substanzen, die sich im Blutplasma lösen und somit nichtkolloidaler Natur sind, dasselbe Plasma zu Änderungen bringen, die ein Freiwerden von heterogenen Kolloidkomplexen herbeiführen; und es sind die letzteren, die im Falle des Vorhandenseins von nichtkolloidalen toxischen Substanzen unter Bindung mit den Opsoninen in den Rahmen der histiocytairen Kolloidspeicherung eintreten. In jedem Falle von toxischen Substanzen also, seien sie kolloidaler Natur oder nicht, entsteht das Bild der histiocytairen Kolloidspeicherung (Splenitis, Alveolitis, Endokarditis) und somit das des Opsoninmechanismus.

Die von uns beschriebenen Untersuchungen beweisen, daß die Opsonine (die bekanntlich außerdem als Ausdruck der aktiven Immunität durch die Mikrophagen anzusehen sind) einen für das Zustandekommen der Makrophagenaktivität und der Kolloidspeicherung seitens der histiocytairen Elemente unentbehrlichen Faktor darstellen. Wir haben zum erstenmal gezeigt, wie die verschiedensten Bilder sich in den Opsoninmechanismus einreihen, von den Reaktionen der KUPFFERSCHEN Sternzellen bis zu denen der Lungenalveolen und bis zu den charakteristischen Phänomenen innerhalb des Endokards und der Gefäßintima.

Betrachten wir in Synthese das ganze Bild, welchem sicher alle, auch die kleinsten und fernliegendsten Zwischenstufen des histiocytären Systems zugehören, so entwickelt sich aus reiner Überlegung heraus der Gedanke, daß auch die Opsonine einen für die grundlegenden und funktionellen Ursachen des Systems (als ganzes betrachtet) unentbehrlichen intermediären Faktor darstellen.

Weiter haben wir eine Untersuchungsreihe angestellt, um zu erforschen, wieweit diese Hypothese begründet sein kann und wir haben versucht mit diesen Untersuchungen in die Problematik der großen Frage der Bilirubinbildung einzudringen.

Die Untersuchungsmethodik war folgende:

Vierte Untersuchungsreihe. Opsonine und splenische Bilirubinbildung.

Als erstes wurde die Perfusion der Milz mit isoviscöser und bei konstanter Temperatur von 38° gehaltener Ringerlösung durchgeführt. Nach Vorbereitung des Tieres und nach einer Laparotomia mediana wurde der abdominelle Abschnitt der Aorta freigelegt; mittels einer Dechampesnadel wurde eine Schlinge hinter die Aorta in den kurzen Abschnitt zwischen Arteria coeliaca und dem Anfang der 2 Nierenarterien geschoben; mit einer großen gebogenen Klemme wurde die Aorta unterhalb des Zwerchfelles unterbunden und dann die mit dem Perfusionsapparat verbundenen Kanüle unterhalb des Abgangs der Nierengefäße von unten nach oben in die Aorta eingeführt; die Nadel wurde so lange nach oben geschoben bis die Spitze sich auf der Höhe der A. coeliaca befand; dann wurde die angelegte Schlinge zugemacht, nachdem man mit der Perfusion schon begonnen hatte. Nach der Anlegung eines Abflußweges durch die Resektion der Vena portae am Leberhilus, wurden die kurzen Rami gastrici und die linken gastro-epiploici unterbunden; wegen der äußersten Kleinheit dieser Gefäße war es nicht möglich, die Unterbindung der Arteriolen getrennt durchzuführen. Die Perfusion (60 Tropfen je Minute) dauerte etwa 45 min an.

Die Milz soll schon am Anfang etwas anschwellen und sich rasch bis zur Erreichung eines rosa-weißlichen Farbtones entfärben: nur das Eintreten dieser beiden Zeichen beweist das gute Gelingen der Auswaschung.

Nach 45 min Auswaschung wurde durch dieselbe Kanüle Hämoglobin injiziert. Nach 10 weiteren Minuten erfolgte nochmals eine kurze Perfusion (etwa 5 min) um aus den Gefäßen und aus den Milzsinus das überflüssige Hämoglobin zu entfernen. Daraufhin Resektion der Milz und sofortige Fixierung von kleinen Stücken des Organs zum Teil in gesalzenem Formalin, zum Teil in Alkohol.

1. Gruppe. Nach Milzperfusion wurde bei 2 Kaninchen in die Milzarterie eine wäßrige Lösung von Hämoglobin injiziert; das Hämoglobin

stammte aus Kaninchenblut und war für $\frac{1}{2}$ Std im Ofen bei 60° gehalten worden¹. Für das weitere Verfahren siehe die schon beschriebene Technik.

Die histologischen Präparate wurden für den Hämoglobinnachweis nach der Methode von P. L. CIPRIANI und für den Hämosiderinnachweis nach der Methode von TIRMAN und SCHMELZER (blaue Turnbullreaktion) bearbeitet. In den histologischen Präparaten wurde ein völliges Fehlen des Hämoglobins in den histiocytairen Zellen der Milz festgestellt, auch wenn die mobilisierten Zellen in den Sinus zahlreich waren, sicher nach der Einführung des Hämoglobins. Hämosiderin war dagegen nur in Spuren zu beobachten.

2. Gruppe. Bei 2 weiteren Kaninchen wurde die gleiche Untersuchung durchgeführt, mit dem einzigen Unterschied, daß anstatt Kaninchenhämoglobin Rinderhämoglobin verwendet wurde. Wie bei der vorherigen Gruppe war in den histiocytairen Zellen der Milz und auch in den mobilisierten Zellen kein Hämoglobin vorhanden und das Hämosiderin war wiederum nur in Spuren zu beobachten.

3. Gruppe. Zwei Kaninchen, nach Milzperfusion, haben wir in die Arteria splenica eine mit frischem Kaninchenserum gemischte Kaninchenhämoglobinlösung injiziert. Weiter wurde dieselbe Technik wie vorher angewendet.

In den histologischen mit Hämoglobin- bzw. Hämosiderinfärbung angefertigten Präparaten haben wir zahlreiche histiocytaire Zellen der Sinus und auch der Trabekeln beobachten können, die voll von roten Hämoglobinkörnern waren; zahlreiche Makrophagen enthielten Hämosiderin.

4. Gruppe. Bei dieser Gruppe war der Untersuchungsgang genau wie der der vorherigen, mit dem Unterschied, daß man Rinderhämoglobin im frischen Kaninchenblutserum verwendet hat. Bei dieser Untersuchung waren die Milzmakrophagen mit Hämoglobin im Plasma zahlreich; besonders zahlreich diejenigen mit Hämosiderin.

5. Gruppe. In die perfundierte Milz von 2 Kaninchen haben wir Kaninchenhämoglobin und Kaninchenserum wie bei der 3. Gruppe injiziert; wir haben aber dabei ein (60° im Ofen $\frac{1}{2}$ Std lang) inaktiviertes Serum verwendet.

In den histologischen Präparaten der Milz fehlte das Hämoglobin in den Makrophagen völlig und auch in denjenigen, die sich nach Ein-

¹ Die Hämoglobinlösung wurde aus defibriniertem Kaninchen- bzw. Rinderblut vorbereitet indem die roten Blutkörperchen in physiologischer Lösung gewaschen und dann mit destilliertem Wasser in gleicher Quantität wie das Blut hämolsiert wurden. Lange Zentrifugierung der Lösung, Filtrierung; Isotonisierung mit Natrium chloricum und Inaktivierung der verbliebenen Opsonine durch $\frac{1}{2}$ Std im Ofen (60°).

führung des Hämoglobins freigemacht hatten; Hämosiderin war nur in Spuren vorhanden.

6. Gruppe. Zwei Kaninchen wurden durch die Milzarterie nach Milzperfusion Kaninchenhämoglobin und veraltetes Kaninchenserum (5 Tage im Eisschrank) eingespritzt.

In den Milzmakrophagen haben wir nur wenige Hämoglobinkörper und in anderen nur Spuren von Hämosiderin beobachten können.

7. Gruppe. Dieser Gruppe von Kaninchen wurde nach Milzperfusion Kaninchenhämoglobin und eine opsoninhaltige physiologische Lösung injiziert. Diese wurden durch Hämolyse von roten Blutkörperchen in destilliertem Wasser aus frischem Kaninchenblut mit darauffolgender Zentrifugierung und Isotonisierung gewonnen.

Das histologische Bild der Milz bewies eine mittelstarke Phagocytose und deutliche Spuren von Hämosiderin.

Die Perfusion der Kaninchenmilz mit physiologischer Kochsalzlösung verhindert (injiziert durch die Arteria lienalis) die Hämoglobin-speicherung seitens der Milzmakrophagen.

Kommt jedoch nach Perfusion der Milz mit physiologischer Kochsalzlösung das Hämoglobin gemischt mit frischem Kaninchenserum oder einer opsoninhaltigen physiologischen Kochsalzlösung in Berührung mit den Milzmakrophagen, so wird in diesem Fall eine Speicherung des Hämoglobins seitens der Milzmakrophagen und seine schnelle Umwandlung in Hämosiderin erkennbar; wird dagegen das in die mit Perfusion vorbehandelte Milz injizierte Hämoglobin mit inaktiviertem oder altem Blutserum gemischt, so bleiben die Milzmakrophagen hämoglobinfrei.

Wenn wir nicht im Irrtum sind, weisen diese Untersuchungen deutlich auf ein Phänomen hin, welches bisher noch nicht zu vermuten war. Der genetische Zusammenhang zwischen Hämoglobinumwandlung und Bilirubinbildung wird überall angenommen, wie ebenfalls die Tatsache, daß das histiocytaire System das morphologische Substrat dieses Zusammenhangs bildet. Hingegen hat man bislang übersehen, daß die *Opsonine*, bekannt als einer der Faktoren der aktiven Immunität gegen Infektionen, auch als *ein absolut unentbehrlicher intermediärer Faktor der Bilirubinbildung betrachtet werden müssen*.

Unsere Untersuchungen beweisen die Notwendigkeit der Anwesenheit von Blutserum bei der Speicherung der Farbstoffe durch die KUPFFER-schen Sternzellen. Sie zeigen ferner, daß die Makrophagen der Lungen-alveolen nicht mehr zu ihrer Phagocytaktivität befähigt sind, wenn die fremden Substanzen nicht vorher in Berührung mit dem Blutserum waren und weiter, daß die Milzmakrophagen das durch die Arteria lienalis eingeführte Hämoglobin nicht speichern können, wenn das Blut-

pigment nicht ebenfalls in vorheriger Berührung mit dem Blutserum war, genauer gesagt: mit einem frischen und nicht durch die Hitze inaktivierte Serum. Alles dieses verhilft uns zu der sicheren Annahme, daß sich im Blutserum ein „Etwas“ befindet, welches absolut unentbehrlich für den Hämoglobinumbau im ganzen histiocytären System ist; dabei handelt es sich bei diesem Hämoglobinumbau um die Grundlage der Bilirubinbildung. Dieses also im Blutserum vorhandene „Etwas“ zeigt, wie wir eben bewiesen haben, alle Eigenschaften, die denjenigen sich im Blutserum befindenden Substanzen zugeschrieben werden, welche bekanntlich die Phagocytose seitens der Leukocyten gegen bakterielle Elemente begünstigen, d. h. also den allbekannten Opsoninen von A. E. WRIGHT.

Wegen der obenbesagten Affinität bezüglich der Opsonine, mindestens vom Standpunkt der experimentellen Methodik aus betrachtet, liegt es an, zwecks Benennung dieses „Etwas“ die Erinnerung an die Entdeckung von A. E. WRIGHT aufrechtzuerhalten, zumal die griechische Etymologie des Wortes geeignet scheint, da die Genese des Bilirubins doch an einen Serumfaktor gebunden bleibt. Vollständigkeitshalber könnte man das Wort Opso-Biligenine vorschlagen, abkürzungshalber wäre jedoch die Bezeichnung „Opsobiline“ vorzuziehen.

Neben diesen Opsoninen, die, wie wir bewiesen, die Bilirubinbildung vorbereiten (Opsobiline) finden sich auch jene (wie wir ebenfalls schon gezeigt haben) welche für die Speicherungsfunktion von Substanzen, die nicht mit der Bilirubinbildung in Zusammenhang stehen, nötig sind (seitens des „Tropho-Bindegewebssystems von A. RUFFINI, oder des „histio-metabolischen System“ von G. FIORIO). Das Auseinanderhalten dieser Opsonine und der Opsobiline ist nicht ungerechtfertigt, genau wie auch die Makrophagenphagocytose und die Bilirubinbildung nicht zu identifizieren sind, auch wenn die erste die nötige Voraussetzung für die zweite ist; und wie auch die Funktion der Makrophagen und die der Bilirubinbildung durch das histiocytäre System nicht zu identifizieren sondern auseinanderzuhalten sind.

Zusammenfassung des ersten Teiles.

1. Die Speicherung von Lithioncarmin und Tusche durch die KUPFFER-schen Sternzellen wird durch eine Perfusion der Leber mit physiologischer Kochsalzlösung unterbunden. Die Speicherung findet jedoch statt, wenn nach Perfusion der Farbstoff gemischt mit frischem Blutserum in den Pfortaderkreislauf injiziert wird; wogegen sie wiederum nicht vorhanden ist, wenn man dabei inaktiviertes oder altes Blutserum verwendet.

2. Die Lungenhistiocyten zeigen keine Speicherung der Farbstoffe, wenn sie vorher mit physiologischer Kochsalzlösung vorbehandelt waren.

Jedoch auch bei diesen Untersuchungen findet eine Speicherung statt, wenn der Farbstoff gemischt mit frischem Blutserum nach der Perfusion in den Lungenkreislauf oder in die Trachea gebracht wird; sie fehlt dagegen, wenn das verwendete Blutserum alt oder inaktiviert ist.

3. Die Histiocyten der Herzklappen und der Aortaintima nach physiologischer Kochsalzlösungsperfusione nehmen die in den Kreislauf eingeführte Lipoide nicht auf; sie speichern das Lecithin nur, wenn es zusammen mit frischem Blutserum eingeführt wird.

4. Die Anwesenheit von Opsoninen bildet also einen unentbehrlichen Faktor zur Entwicklung der Phagocytose und dies sowohl in bezug auf die Histiocyten, welche in direkter Berührung mit dem Blut sind (wie die KUPFFERSchen Sternzellen) wie auch in bezug auf die Histiocyten, welche sich lediglich in Berührung mit den interstitiellen Säften befinden (wie die Lungen-, Herzklappen- und Intimahistiocyten).

5. Die KUPFFERSchen Sternzellen und im allgemeinen sämtliche Histiocyten „am Ufer“ der Blutgefäße sind durch ihre topographische Lage begünstigt; nicht nur zu einer schnellen Wegschaffung von granulären, im Blute kreisenden Fremdkörpern, sondern auch zu einer hohen Ausnutzung der in ihrer Umgebung so reichlich vorhandenen Opsonine bei der Makrophagenphagocytose.

6. Die seröse Lungenalveolitis, die einfachste und erste Form der Alveolenentzündung, hat den Zweck, zur Begünstigung der Makrophagenaktivität der Alveolen und somit zur Säuberung der Alveolen selbst, in das Alveolarlumen eine riesige Quantität von Opsoninen zu bringen.

7. Durch die „Insudation“ von Blutserum durch das Endokard bei Herzklappenentzündung und durch das Gefäßendothel bei Thesaurismosen und Entzündungen der Gefäßwand tritt das Vermögen des Endokard- und Intimastroma zur Kolloidspeicherung und Phagocytose noch mehr in Erscheinung.

8. Es wird festgestellt, daß nicht nur, wie allgemein bekannt, die Phagocytose der Leukocyten sondern auch die Aktivität der Makrophagen in jeder Lokalisation und jedem Gewebe bei einem Mangel an Opsoninen nicht mehr zustande kommt.

9. Die Hämoglobinspeicherung durch die Milzmakrophagen findet nicht mehr statt, wenn die Milz mit physiologischer Kochsalzlösung vorbehandelt war.

10. Wird jedoch das Hämoglobin mit frischem Blutserum oder mit einer opsoninhaltigen physiologischen Kochsalzlösung gemischt, so wird es durch die Milzmakrophagen gespeichert, auch wenn vorher eine Perfusion von physiologischer Kochsalzlösung gemacht wurde.

11. Der Mechanismus der Bilirubinbildung hängt, um in Tätigkeit zu bleiben, von einer Bedingung ab: es muß sich im Blutserum ein „Et-was“ befinden, welches dem Opsoninbegriff einzureihen ist.

II. Teil.

Wenn wir uns nun dem nicht großen aber schwierigen Abschnitt der Klinik über die Frage der Hämoglobinurie zuwenden, sehen wir, daß schon im vorigen Jahrhundert einige fundamentale Kenntnisse auf diesem Gebiet geschaffen waren: der spektroskopische Nachweis des freien Hämoglobins in den pathologischen Urinen durch H. SCHLEIDER 1872; die Feststellung der genetischen Zusammenhänge zwischen Erkältung und einigen Hämoglobinurien seitens AUGUSTO MURRI, 1878; die Beziehung zwischen einigen Hämoglobinurien und der Ermüdung, zuerst von R. FLEISCHER 1881 und dann von A. KAST 1884 formuliert. In der ersten Hälfte unseres Jahrhunderts wird das klinische Bild des Problems der Hämoglobinurie immer klarer: E. MARCHIAFAVA und A. NAZARI erwähnen im Jahre 1911 das Bild der hämolytischen Anämie mit nächtlicher Hämoglobinurie und dauernder Hämösiderinurie: F. MICHELI stellt 1927 die klinische Klassifikation der Hämoglobinurien auf.

Diesen klinischen Bildern, mit welchen die Erinnerung an die bekanntesten italienischen Gelehrten für immer verbunden ist, entgeht jedoch das Wesen der Krankheit. Man kann wohl sagen, daß in diesem Abschnitt die Klinik vorherrscht: die Pathologie dagegen bringt keine pathogenetische Entscheidung und keine wesentliche Definition. Diese sog. Hämoglobinurien sind ganz genau umrissene Erscheinungen mit verschiedener Ätiologie, die sogar manchmal gut definiert ist; über ihr Wesen aber kann der moderne Pathologe fast nichts aussagen. Kälte, Ermüdung, hämolysierende toxische Stoffe, schwere Traumen stellen jedesmal die hauptsächliche Ursache. Bei dem Versuch, neues Material für die Pathogenese zu finden, wurde auch an Syphilis, Malaria und Allergie gedacht. Aber tatsächlich gelingt es uns nicht, mit den bis jetzt erhaltenen Ergebnissen durch Beobachtung und Analyse zu dem Element zu kommen, welches den Schlüssel dieser verschiedenen Zustände, die einen gemeinsamen Nenner — die Hämoglobinurie — haben, darstellt: und es ist nur der endgültige Schlüssel zum Wesen der Phänomene, welcher allein das Forschen des Pathologen befriedigen kann.

Das Bild der Hämoglobinurien ist — wenn man es genau betrachtet — jedoch weit davon entfernt, homogen zu sein, auch wenn man bei Beobachtung der äußeren Symptome bleibt: neben den zahlenmäßig überlegenen Beobachtungen von Hämoglobinurie ohne Ikterus, sind doch einige mit Subikterus oder auch mit deutlichem Ikterus zu erwähnen; in den leichten Fällen ist der Ikterus — wenn vorhanden — von hyperhämolytischem Typ mit indirekter VAN DEN BERGHscher Reaktion und Urobilinurie: in den schweren Fällen ist — bei Vorhandensein von Ikterus — eine direkte VAN DEN BERGHsche Reaktion nachzuweisen mit Bilirubinpigmenten im Urin (L. J. WITTS, M. D. MANC,

F. R. LAND 1936); dieselben Autoren geben in bezug auf die paroxysmalen hyperhämolytischen Hämoglobinurien folgendes an: „Die Hämoglobinämie verursacht bald eine Bilirubinämie, die Quantität der Gallenpigmente bleibt jedoch innerhalb der exkretorischen Möglichkeit der normalen Leber und es gibt keinen Ikterus; tritt Ikterus ein, ist er den Einwirkungen der generellen organischen Reaktionen und der Anämie auf die Leber zuzuschreiben.“

Auch bei der Betrachtung des inneren Wesens jeder einzelnen Hämoglobinurie, finden wir verschiedene und oft — wenn auch nur scheinbar — nichtkoordinierte Eigenschaften. Bei der paroxysmalen Hämoglobinurie durch Kälte sind immer Beziehungen zwischen Erkältung, Hämolyse und Hämoglobinurie vorhanden: in manchen Fällen ist jedoch ein leichter hyperhämolytischer Ikterus festzustellen, in anderen erscheint kein Ikterus und in wieder anderen dagegen tritt ein starker Ikterus, hepatocellulärer Natur auf.

J. A. RICH (1930) hat auf das sog. paradoxe Phänomen der Hämoglobinurie durch Kälte aufmerksam gemacht, bei nichtanämischen Patienten, bei Personen also, die eine größere Menge verfügbaren erythrocytären Materials für eine starke Hämoglobinämie besitzen, tritt ein leichter Ikterus in Erscheinung, bei stark anämischen Subjekten dagegen geschieht das Gegenteil, d. h. hier entwickelt sich ein deutlicher hepatotoxischer Ikterus. R. AGNOLI (1932), C. D. HOWARD, E. S. MILLS und S. R. TOWSEND (1938) in ihren Beobachtungen zur paroxysmalen Hämoglobinurie durch Kälte ziehen überhaupt nicht in Betracht, daß bei ihren Fällen von Hämoglobinurie kein Ikterus vorhanden ist: es fehlt Urobilinurie, es fehlt die positive indirekte Reaktion von VAN DEN BERGH. L. FERRARINI (1932) beobachtete bei einem Patienten einen sehr leichten Ikterus und eine Andeutung der positiven indirekten Diazoreaktion.

Bei der *Hämoglobinurie durch Ermüdung* scheint die Ermüdung die einzige Ursache der Hämolyse und Hämoglobinurie zu sein; die bekannten dazu gemachten Beobachtungen sind folgende: D. McMANUS (1910), A. FEIGL (1913), O. PORCES und R. SRISOWER (1915), L. LICHTWITZ (1916), F. SCHELLONG (1923), W. H. W. ATTLE (1937), A. M. FISCHER und A. BERNSTEIN (1940), D. R. GILLIGAN, M. D. ALTSCHULE, C. M. KATERSKY (1943), C. D. DE LANGEN (1946), E. J. L. LOWBURY und A. P. L. BLAKELY (1948) usw. Man beachte, daß in diesen Beobachtungen weder Ikterus noch Urobilin erwähnt werden, wenn auch der bedeutende Grad der Hämoglobinurie für eine starke Hämoglobinämie spricht. Das Fehlen der Hyperbilirubinämie, welches nach dem Schweigen der Autoren anzunehmen ist, steht jedoch in Widerspruch zu der bekannten Tatsache der Physiologie des normalen ermüdeten Tieres, an welchem L. STANOJEVIC und S. PELKOVIC (1935) Erhöhung der Gallenpigmente bewiesen haben.

Bei *Hämoglobinurien infolge von schweren traumatischen Schocks* (E. HUSFELDT und T. BJERING 1937, E. G. L. BYWATERS und D. BEALL 1941), von Elektrizität (H. FISCHER und P. H. ROSSLER 1947) und von Verbrennungen (S. C. SHEN und T. H. HAM (1943)] ist niemals das Vorhandensein eines hyperhämolytischen Ikterus beschrieben worden, auch dann nicht, wenn durch das Überleben des Patienten das Auftreten einer derartigen Erscheinung möglich war. In einzelnen Fällen ist ein hepatotoxischer Ikterus beobachtet worden. Dasselbe ist bei einigen Beobachtungen von anaphylaktischem Schock, mit Hyperhämolyse kombiniert, festzustellen,

wie auch bei Fällen von Favismus, erwähnt von T. MACCRAE und T. C. ULLERY (1933), J. H. HUTTON (1937), H. W. JOSEPHS (1944), P. L. CIPRIANI (1952). Bei allen diesen Beobachtungen ist Ikterus, jedoch in äußerst schwacher Form und in keinem Verhältnis zu der Intensität der Hämolyse, welche die Krankheit charakterisiert, vorhanden.

Bei der *hämolytischen Anämie mit nächtlicher Hämoglobinurie und ständiger Hämösiderinurie* von E. MARCHIAFAVA und F. MICHELI ist der Anachronismus noch stärker. Trotz des bewiesenen Vorhandenseins einer hämolytischen Anämie ist in den Beobachtungen von A. NAZARI (1931), E. MARCHIAFAVA (1931), I. MICHELI (1931), F. D. JORDAN (1938), A. LOLLI (1943), G. IZZO (1946) und in der 2. Beobachtung von L. P. HAMBURGER und A. BERNSTEIN (1936) der Ikterus sehr schwach; kein Ikterus erscheint in den Beobachtungen von J. BERTA und D. KÖROG (1925), O. SCHEEL (1925), E. B. SALEN (1927), J. ENNEKING (1928), in diesen letzten Beobachtungen fehlt die Urobilinurie oder ist kaum vorhanden; bei einigen Fällen ist der Verlauf der Krankheit lange Zeit anikterisch und nur in den Endstadien der Anämie tritt Ikterus auf, jedoch nicht schwer und sicher hepato-toxischer Natur [erste Beobachtung von L. P. HAMBURGER und A. BERNSTEIN (1936)]; in den Fällen von S. TRIESTINI (1932) und von M. MORTARA (1946) endlich, bei welchen ein leichter Ikterus und in den Intervallen der Krisen eine mäßige Urobilinurie und eine indirekte positive Diazoreaktion zu verzeichnen sind, werden diese letzten Symptome während der Hämoglobinurie schwächer oder verschwinden ganz.

Als Zusammenfassung dieses Überblickes über die Biligenese in der Krankheit sei uns erlaubt, die Definition zu erwähnen, welche ETTORE MARCHIAFAVA (1929) der beschriebenen Krankheit gegeben hat: „Eine sicher hämolytische Form, ohne Ikterus, ohne Milztumor, deren differentialer Charakter in einer ständigen Hämösiderinurie besteht.“ Diese besondere Hämoglobinurie wird also durch Anwesenheit von Hämösiderin in den Nierenepithelien, im Gegensatz zu dem Fehlen des Eisenpigmentes in der Leber, in der Milz, in den histiocytären Elementen im allgemeinen und im ganzen Kreislauf charakterisiert. „Wo ist der Sitz der Hämolyse? — fragt sich E. MARCHIAFAVA — nicht in der Milz, nicht in der Leber, weder im Knochenmark noch in den Lymphknoten... Die Hämolyse des kreisenden Blutes würde im Widerspruch zu dem Fehlen eines spodogenen Milztumors, einer Siderose im reticuloendothelialen Gewebe, einer starken Urobilinurie usw. stehen.“ „Die Zerstörung der roten Blutkörperchen — so beantwortet der bekannte Pathologe seine eigene Frage — würde innerhalb des Gefäßlumens der Nieren stattfinden...; die Trennung des Hämoglobins von den Blutkörperchen und die Erythrorexis sollten dann auf zwei verschiedene Arten vor sich gehen: fortdauernd, langsam, unaufhörlich, daher die Umänderung des Hämoglobins in Hämösiderin im Protoplasma der Nierenepithelien und die darauffolgende Hämösiderinurie; rasch und stürmisch, daher die rekurrierenden hämoglobinurischen Krisen.“ Diese Antwort des bekannten Forschers löst jedoch das Problem nur formell und geht auf das Wesen des Problems selbst nicht ein: da die Ursache der Blutkörperchenzerstörung, welche innerhalb des Gefäßlumens

der Nieren — nach MARCHIAFAVA — und nicht in der Milz und in dem histiocytairen System im allgemeinen stattfindet, unbekannt bleibt.

Bei jeder der wichtigsten Formen von Hämoglobinurie müssen wir also Elemente feststellen, welche zum Teil im Gegensatz zueinander stehen: *es fehlt das Element, welches die Kette der folgenden Tatsachen zusammenfügte und deren logische Erklärung gäbe: Hyperhämolyse, Hyperhämoglobinämie, Fehlen von Hyperbilirubinämie, dürftige Urobilinurie, Hämoglobinurie. Es ist dies ein Bild, welches nicht zu den klassischen HyperhämolySEN gehört, da sie hyperbilirubinämisch und somit urobilinurisch sind.*

Im ersten Teil dieser Arbeit haben wir beweisen können, daß nicht nur die Phagocytose seitens der Leukocyten — wie bereits bekannt war — sondern auch die Aktivität der Makrophagen wegen des Fehlens der Opsonine in keinem Gewebe und an keiner Stelle zustande kommt. Wir haben weiter bewiesen, daß die Umarbeitung des Hämoglobins seitens der Makrophagen den Opsoningesetzen unterstellt ist: der Mechanismus der Bilirubinbildung bleibt also aus, wenn das im frischen Blutserum enthaltene „Etwas“ der Opsonine nicht vorhanden ist. Diesem, von uns das erstmal nachgewiesenen, für die Biligenese unentbehrlichen Serumfaktor, haben wir eine Benennung zu geben vorgeschlagen, welche im Rahmen des Opsoninbegriffes sich auf das Phänomen der Biligenese bezieht: *Opsobiline*.

Nach allem dem, was wir bezüglich des Themas Hämoglobinurie erinnert haben, stehen wir, wenn wir uns jetzt den Faktoren zuwenden, welche die Opsonine im allgemeinen verändern können, einem Zusammenhang gegenüber, der nicht ganz zufällig sein kann: gerade die Ermüdung durch Arbeit, die Erkältungen, die schweren Schocks sind Faktoren, die die Opsonineigenschaften im Blutserum herabsetzen können.

Unsere folgende *Arbeitshypothese* ist somit nicht unberechtigt: *die genannten Umstände (Schock durch Ermüdung, durch Erkältung, durch Anaphylaxie) setzen die Opsoninwirkung des Serums herab, und es ist leicht anzunehmen, daß auch den Opsoninen selbst das gleiche geschieht: tritt diese Herabsetzung wirklich ein, so ist das Makrophagensystem nicht mehr in der Lage, das Hämoglobin zu verarbeiten; wenn das Hämoglobin von den Makrophagen nicht verarbeitet wird, ist das Zustandekommen einer Hyperbilirubinämie und somit einer Urobilinurie unmöglich, im Gegenteil stellt das Hämoglobin, das sich im Blute anhäuft, gerade weil es von den Makrophagen nicht aufgenommen wird, das Substrat für die Hämoglobinurie dar.*

Die Untersuchungen, über welche wir nun berichten werden, sind die Folge dieser Gedanken, welche Anlaß zu unserer Arbeitshypothese gaben.

Technik der Untersuchungen.

Wir geben hier zuerst einen Überblick über die angewandte Technik; weiter unten werden wir bei jeder einzelnen Gruppe von Untersuchungen auf die Einzelheiten eingehen. Bei normalen Kaninchen und anderen, die vorher mit Ermüdungs-Erkältungs-Anaphylaxieschock vorbereitet wurden, wurde eine starke Hämolyse durch intravenöse Injektion von destilliertem Wasser verursacht. Einige Tiere wurden nach 3 Std, andere nach 6 Std getötet. Sofort danach schritt man zur Untersuchung: Urin direkt aus der Blase; das Blut aus der Aorta abdominalis, zum Teil in Natriumoxalat, zum Teil zur Bildung des Serums; endlich Stücke aus Leber, Milz und Nieren zur Anfertigung von histologischen Präparaten, nach Fixierung in gesalzenem Formalin oder in Alkohol.

Zur ersten Orientierung wurden am Urin die HELLERSche Probe und die TEICHMANNsche Reaktion zur Feststellung des hämatischen Pigmentes durchgeführt; weiter wurde die Hämoglobinanwesenheit mit Hilfe der spektrographischen Methode festgestellt; die Untersuchung auf Gallenpigmente wurde nach der Methode von HUNTER und die Untersuchung auf Urobilin nach NENCKI durchgeführt. Die Sedimente des zentrifugierten Urins wurden auf das Vorhandensein von roten Blutkörperchen hin untersucht.

Der quantitative Bilirubinnachweis im Blutserum fand mit Hilfe der Diazoreaktion statt.

Die histologischen Präparate wurden nach der Methode des Turnbulls (nach TIRMAN und SCHMELZER) für das Eisen, nach LEPEHNE und CIPRIANI für das Hämoglobin angefertigt. Das Blutoxalat jedes Kaninchens wurde dann sowohl in die Vena portae wie auch in die Milzarterie normaler Kaninchen injiziert, nachdem die Leber bzw. die Milz dieser Tiere auf demselben Weg $\frac{1}{2}$ Std lang mit Ringerlösung durchströmt worden war.

Auslegungen und Ergebnisse der Untersuchungen.

Gruppe I. Hyperhämolyse durch destilliertes Wasser (Kontrollversuch). Gruppe von 6 erwachsenen Kaninchen mittleren Gewichtes (etwa 1700 g). Drei Kaninchen wurden intravenös 10 cm^3 destilliertes Wasser, den anderen drei, immer intravenös, 20 cm^3 destilliertes Wasser injiziert. Je 1 Tier der beiden Untergruppen wurde nach 3 Std getötet, die übrigen nach 6 Std.

Aus jedem Kaninchen wurden nach dem Tod der Urin, das Blut, sowie Leber-Nieren-Milzstücke entnommen, ganz so, wie wir in dem Abschnitt „Technik“ bereits angegeben haben.

Bei allen Tieren war, ohne Unterschied durch die intravenös gegebene Quantität destillierten Wassers, der Hämoglobinnachweis im Urin auch mit der spektroskopischen Methode negativ: dagegen erscheint die Hämoglobinämie in den ersten Stunden stark erhöht und parallel der zugeführten Wasserquantität. Nach 6 Std war die noch immer sehr hohe Hämoglobinämie bei allen Tieren gleich. Im Urin war nach der 6. Std deutlich Anwesenheit von Urobilin festzustellen, und bei einigen Kaninchen waren auch Spuren von Gallenpigmenten vorhanden. Nur einige Tiere zeigten nach der 6. Std im Blutserum auch eine Andeutung der indirekten Reaktion von VAN DEN BERGH.

Das Hämoglobin erscheint nach der 3. Std in Form von Spuren in den Milzmakrophagen und noch deutlicher in den KUPFFERSchen Sternzellen, welche stark aus dem Capillarlumen hervorragen. In den Epithelien einiger Tubuli contorti und in einigen histiocytären Zellen des Niereninterstitiums sind noch einige Körnchen von hämoglobinischem Pigment festzustellen.

Cylinder hämoglobinischer oder anderer Natur sind nicht zu bemerken. Die Schlingen der Glomeruli sind voll von Blut. Die Epithelien der Tubuli, wie auch die Leberepithelien zeigen trübe Schwellung. Nach 6 Std ist das Bild unverändert. Das Hämosiderin zeigt keine bemerkenswerten Veränderungen zur Norm in den verschiedenen Organen nach der 3. Std; nach der 6. Std dagegen ist das Hämosiderin innerhalb der Makrophagen der Milz deutlich erhöht; in der Leber finden wir es nur in einzelnen KUPFFERSchen Sternzellen; auch in den Nierenepithelien sind Körnchen des Pigmentes zu beobachten.

Gruppe II. Hyperhämolyse durch destilliertes Wasser bei Ermüdungsschock. Gruppe von 4 erwachsenen Kaninchen mittleren Gewichts (etwa 1700 g). Jedes Tier bekam intravenös 20 cm³ destilliertes Wasser; sofort nach der Injektion wurden die Tiere gezwungen, in einer großen um eine Achse kreisenden Trommel etwa 15 min lang zu laufen: während der nächsten 6 Std wurden regelmäßig 15 min Ruhe und 15 min Ermüdung abwechselnd durchgeführt. Manchmal konnten die Tiere die Belastung nicht aushalten und lagen völlig ermüdet am Boden der Trommel. Sie zeigten sich meist wenig widerstandsfähig. Zwei Tiere wurden nach 3 Std, die anderen beiden nach 6 Std unter den bereits beschriebenen Modalitäten getötet.

Bei dieser Gruppe von Tieren stellten wir schon nach der 3. Std mit den gewöhnlichen Methoden und mit der Spektrographie eine bedeutende Quantität von Hämoglobin im Urin fest: andererseits waren in den entsprechenden Sedimenten nur sehr wenige Erythrocyten zu sehen; diese starke Hämoglobinurie ist noch in der 6. Std festzustellen. Im Urin fehlen Urobilin und Gallenpigmente. Im Blutserum erreicht die Hämoglobinämie ein deutlich stärkeres Quantum als bei den entsprechenden Kontrolltieren. Eine positive direkte oder indirekte VAN DEN BERGHSche Reaktion ist nie vorhanden.

Es ist sowohl in den Milzmakrophagen wie auch in den KUPFFERSchen Sternzellen nicht möglich mit Hilfe der bekannten Reaktionen Pigmente von Hämoglobin oder Hämosiderin nachzuweisen. Es lassen sich deutlich regressive Veränderungen in den Leberepithelien nachweisen. Die Niere zeigt das klassische Bild der hämoglobinurischen Nephrose: die Glomeruli sind geschwollen, die Capillarschlingen voll von Blut, mit geschwollenen Endothelien; starke Hyperämie in den intertubulären Interstitien; die Tubuli contorti zeigen das Lumen durch die Schwellung

der Epithelien äußerst verkleinert: bei diesen sind Mitleidenschaftszeichen deutlich zu sehen: wo diese Zeichen nicht so sehr in Erscheinung treten, ist in den epithelialen Zellen eine starke Ansammlung von Hämoglobin zu beobachten; die Pigmentzylinder sind sehr zahlreich und oft bis zu den Tubuli recti vorgeschoben.

Gruppe III. Hyperhämolyse durch destilliertes Wasser bei Erkältungsschock. Gruppe von 4 erwachsenen Kaninchen mittleren Gewichts (etwa 1800 g). Sofort nach Injektion von 20 cm³ destilliertem Wasser wurden die Tiere für die Dauer von 30 min bis zu 1 Std in eisgekühltes Wasser (etwa +2°) getaucht. Sämtliche Tiere zeigten nach dem Bad schwere Zeichen von allgemeiner Erschöpfung. Zwei Tiere wurden nach der 3. Std, die beiden anderen nach der 6. Std getötet, immer nach den beschriebenen Modalitäten.

Auch in dieser Gruppe sind die Unterschiede zum Bild der Kontrolltiere deutlich. Die sofort stark aufgetretene Hämoglobinurie, nachweisbar durch das Vorhandensein von Hämoglobincylindern in den Nierenkanälchen und durch die chemische und spektrographische Untersuchung des Urins; dabei fehlen Erythrocyten im Sediment fast ganz, die regressive Veränderung sowie das Vorhandensein von Hämoglobin in den Nierenepithelien, das Fehlen von Urobilin und Gallenpigmenten im Urin, die konstant negative VAN DEN BERGHsche Reaktion, die Hyperhämoglobiniämie, all dies sind die charakteristischsten Zeichen dieser Versuchsgruppe.

Auch hier enthalten wie in der Gruppe der experimentellen Hyperhämolyse bei Tieren mit Ermüdungsschock die Milz- und Leberhistiocyten keine Hämoglobin- und Hämosiderinpigmente.

Gruppe IV. Hyperhämolyse durch destilliertes Wasser bei anaphylaktischem Schock. Gruppe von 4 erwachsenen Kaninchen mittlerer Größe (etwa 1750 g). Den Kaninchen, die mit sensibilisierenden subcutanen Injektionen von Pferdeserum (je 2 cm³ Serum 4mal während 10 Tagen) vorbereitet wurden, wurde am 22. Tage ein anaphylaktischer Schock durch intravenöse Gabe von 20 cm³ Pferdeserum verursacht. Nach 30 min bekam jedes Kaninchen 20 cm³ destilliertes Wasser intravenös. Zwei Tiere zeigten einen schweren Schock; alle wurden nach 6 Std getötet.

Bei dieser Untersuchungsgruppe erreicht die Hämoglobinurie das Maximum (welches durch die nur geringe Anzahl von roten Blutkörperchen in den Urinsedimenten nicht gerechtfertigt ist); die regressiven Schädigungen der tubulären Epithelien sind sehr stark, die Hämoglobincylinder zahlreich; dagegen ist die Hämoglobinansammlung in den Epithelien schwächer und begrenzter als bei den vorherigen Gruppen. Die glomeruläre und interstitielle Hyperämie ist stark; Urobilinurie

fehlt völlig; die VAN DEN BERGHSche Reaktion ist negativ; eine starke Hyperhämoglobinämie ist vorhanden. Neben den Leberepithelien, die schwere Zeichen von regressiven Veränderungen aufweisen, bleiben die KUPFFERSchen Sternzellen, wie auch die Milzhistiocyten, frei von Hämoglobin und Hämosiderin.

Gruppe V. Hämoglobinstoffwechsel bei den Ermüdungs-Erkältungs- und anaphylaktischen Schocks (Kontrollversuch). Gruppe von 6 Kaninchen mittlerer Größe (etwa 1800 g). Zwei Tiere wurden einem Ermüdungsschock nach demselben Verfahren wie die der Gruppe II ausgesetzt; 2 andere einem Erkältungsschock wie die der Gruppe III; bei den beiden letzten wurde schließlich ein anaphylaktischer Schock wie bei Gruppe IV verursacht. Bei allen diesen Kontrolltieren wurde im Gegensatz zu den vorherigen Gruppen kein destilliertes Wasser zugeführt.

Bei diesen Kontrollversuchen ist Hämoglobin im Urin auch durch die spektrographische Methode nicht nachzuweisen; Hyperhämoglobinämie ist nicht vorhanden; die Untersuchung der Gallenpigmente im Urin und im Blutserum ergibt negative Ergebnisse; Urobilinurie fehlt; in der Leber und in den Nieren sind die bekannten regressiven und Stauungsanzeichen zu beobachten; der Nachweis von hämatischen Pigmenten in der Milz und den anderen Organen nach den bekannten Methoden, bringt Ergebnisse, welche von der Norm nicht abweichen.

Gruppe VI. Durchströmung der Leber und Milz von normalen Tieren mit dem Blut der Kaninchen der ersten Gruppe (Kontrollversuch). Die Organe wurden vorher mit Ringerlösung zwecks Auswaschung durchströmt. Normale Kaninchen wurden für die Leber- und Milzperfusion mit Ringerlösung nach der im ersten Teil dieser Arbeit (S. 284) beschriebenen Technik vorbereitet.

Bei dieser Gruppe von Tieren zeigen die nach den Methoden zum Nachweis von Eisen und Hämoglobin angefertigten histologischen Präparate der Milz und der Leber, daß eine große Zahl von Histiocyten der beiden Organe in reichlicher Menge Hämoglobin und auch einige Körnchen Hämosiderin enthalten.

Gruppe VII. Durchströmung der Leber und Milz von normalen Tieren mit dem Blut der Kaninchen der Gruppen II—IV nach vorhergehender Auswaschung durch Ringerlösung. Normale Kaninchen wurden für die Leber- und Milzperfusion mit Ringerlösung nach der bekannten Technik vorbereitet; nach der Perfusion wurden in den Kreislauf der Milz bzw. Leber je 10 cm³ Blutoxalat aus den Kaninchen der Gruppen II—IV (Hyperhämolyse durch destilliertes Wasser nach Ermüdungs-Erkältungs- und anaphylaktischem Schock) injiziert.

Leber- und Milzstücke wurden zur Fixierung in Alkohol und in gesalzenem Formalin ausgeschnitten.

Im Gegensatz zu den Bildern der Untersuchungen der vorherigen Gruppe enthalten die splenischen und hepatischen Histiozyten weder Hämoglobin noch Hämosiderin.

Gruppe VIII. Hyperhämolyse durch destilliertes Wasser in Kaninchen nach bilateraler Nephrektomie (Kontrollversuch). Zwei Kaninchen, die der bilateralen Nephrektomie unterzogen wurden, injizierte man sofort nach der Operation 20 cm³ destilliertes Wasser intravenös. Nach 6 Std wurden die Tiere getötet. Leber- und Milzstücke wurden reseziert und daraus histologische Präparate zur Untersuchung von Hämoglobin und Hämosiderin angefertigt.

Die Histiocyten der Leber und Milz enthielten häufig eine große Anzahl eosinophiler Hämoglobinkörper, sowie manchmal einige Hämosiderinkörnchen.

Gruppe IX. Hyperhämolyse durch destilliertes Wasser in nephrektomierten und Erkältungsschock unterzogenen Kaninchen. Technik wie bei der Gruppe VIII, den Tieren wurde jedoch durch 30 min währendes Eintauchen in kaltes Wasser (etwa +2°) wie bei Gruppe III ein Erkältungsschock verursacht.

Tabelle 1

In den Leber- und Milzpräparaten der Tiere dieser Gruppe erscheinen die histiocytären Zellen frei von Hämoglobin- und Hämosiderinkörnchen.

Besprechung der Versuche.

Die Ergebnisse der Untersuchungen entsprechen den Voraussetzungen unserer Arbeitshypothese. Es hat — wie allgemein bekannt war — auch bei unseren Untersuchungen (Gruppe I) eine Hyperhämolyse bei normalen Tieren nie eine Hämoglobinurie verursachen können; bei der Hyperhämolyse treten jedoch Erscheinungen auf, welche die Folge der makrophagischen Umarbeitung des Hämoglobins sind (Auftreten von Urobilinurie, Andeutung der indirekten VAN DEN BERGHschen Reaktion). Im Gegensatz dazu ist, wenn man dieselbe Hyperhämolyse bei den Kaninchen durch Ermüdungs-Erkältungs- oder anaphylaktische Schocks verursacht, das entstandene Bild umgekehrt, d. h. es tritt eine starke Hämoglobinurie auf, die histologischen Veränderungen durch die Aufnahme und Umarbeitung des Hämoglobins seitens der Makrophagen fehlen, ebenso wie die Hyperbilirubinämie und Urobilinurie.

Schon die bis jetzt angegebenen Ergebnisse genügen, ein Etwa anzudeuten, welches bisher außerhalb der Forschungen der Pathologie stand, d. h. das Element, durch welches die wichtigsten Symptome der hämoglobinurischen Krankheit zusammengehalten werden, muß in der Biologie des histiocytären Substrates individualisiert werden, und zwar in der fehlerhaften Aufnahme des Hämoglobins seitens der Makrophagen.

Dieser Gedanke könnte von geringer Bedeutung scheinen, wenn außer acht gelassen würde, daß der Mittelpunkt der hämoglobinurischen Krankheit von einer hauptsächlich renalen Pathogenese in eine hauptsächlich histiocytäre, d. h. also extrarenale Pathogenese verschoben wird. Später werden wir uns der konkreteren Definition des Anteiles zuwenden, welchen der Nierenfaktor bezüglich der Krankheit hat.

Hier muß eingefügt werden, daß wir, zu dem hauptsächlich extrarenalen und histiocytären Gedanken gelangt, uns einem anderen Problem zuwenden mußten, nämlich der Frage, ob die Ursache des Versagens der Histiocytten in den Zellen selbst oder in den Humores, d. h. in einer Veränderung der Opsobiline zu suchen sei.

Um dieses Problem in der für die Pathologie einzig annehmbaren Art zu lösen, d. h. also, auf Grund von experimentellen Unterlagen, wurden die Untersuchungen VI und VII vorgenommen; in der Gruppe VI haben die Milz- und Leberhistiocyten von normalen Organen bewiesen, daß sie, mit Ringerlösung durchströmt und in Berührung mit Blut von durch destilliertes Wasser hämolysierten Tieren gebracht, eine perfekte Aktivität für die Aufnahme von Hämoglobin besitzen, dagegen waren die gleichen Histiocytten (Gruppe VII) normaler Organe, wenn zuerst mit Ringerlösung behandelt und dann in Kontakt mit Blut von hämoly-

sierten Tieren — welche sich jedoch in Ermüdungs- bzw. Erkältungs- bzw. anaphylaktischem Schock befanden — gebracht, absolut unfähig, Hämoglobin aufzunehmen. Da sich jedoch die histiocytären Zellen der beiden Gruppen in der gleichen Lage befanden, ist es klar, daß die Schädigung, welche die histiocytäre Funktion unterbunden hat, *innerhalb der Humores, d. h. in den Opsobilinen zu suchen ist: dieser Mangel ist also von denselben Schockzuständen verursacht worden, welche bekanntlich die spontane hämoglobinurische Krankheit erzeugen.*

Wenn wir nicht im Irrtum sind, erscheint die Schlußfolgerung nahe- liegend, daß bei der Beurteilung der hämoglobinurischen Krankheit der Opsobilinmangel eine Tatsache ist, die dem Pathologen nicht entgehen darf. Dies erhöht die Wichtigkeit der Opsobiline in der Physiologie.

An dieser Stelle scheint eine Erläuterung angebracht zu sein. Wir haben darauf bestanden zu bemerken, daß die Pathologie der Opsobiline den Mittelpunkt der hämoglobinurischen Krankheit bildet. Es besteht aber, abgesehen von einem extrarenalen Element bei dieser Krankheit auch ein renales Element. Das extrarenale Element (Opsobiline und histiocytäres System) befindet sich in Korrelation mit dem Wesen der Krankheit (anikterische Hyperhämolyse), das renale Element ist zum Teil die Ursache des *Symptoms* (Hämoglobinurie). Wir haben bis jetzt den neuen und wichtigsten Aspekt, d. h. den Opsobilinmangel besprochen; nun wollen wir den Faktor des Symptoms Hämoglobinurie einer genaueren Betrachtung unterziehen. In anderen Untersuchungen ist bewiesen worden (P. L. CIPRIANI und C. MILLOSCHI), daß das Hämoglobin allein eine schwache toxische Einwirkung auf das Nierenparenchym ausüben kann, zum Zustandekommen des charakteristischen Bildes der Hämoglobinurie ist jedoch ein begünstigendes, begleitendes, durch traumatische Schädigungen des Nierenparenchyms verursachtes, Moment nötig. Die von der Insuffizienz des histiocytären Systems durch Opsobilinmangel verursachte Hyperhämoglobinämie ist ein unentbehrliches jedoch für das Erscheinen des Symptoms Hämoglobinurie nichtge- nügendes Moment. Dieses Symptom kommt erst dann zu seiner vollen Auswirkung, wenn schädigende Einflüsse auf das Nierenparenchym, nämlich Schockzustände (Erkältung, Ermüdung, Anaphylaxie) hinzutreten.

Wenn auch die Nierenschädigung aus allen Symptomen am meisten hervortritt und an einem gewissen Punkt der Krankheit am beunruhigendsten ist, so bleibt die hämoglobinurische Krankheit in ihrem Wesen doch eine generelle und extrarenale Erkrankung. Es sei uns zum mindesten erlaubt, das extrarenale Moment zu unterstreichen, welches im Laufe unserer Untersuchungen in Erscheinung getreten ist. Bei der hämoglobinurischen Krankheit, wie es auch bei anderen Affektionen dem Symptom gegenüber der Fall ist, wendet der Arzt seine Aufmerksamkeit

in der Hauptsache den symptomatischen Erscheinungen zu: diese Erscheinungen nun bestimmen den Gedankengang des Arztes, so als ob sie das Wesen der Krankheit darstellten: man denke z. B. an die übermäßige Bedeutung des Symptoms „Leukämie“ bei den Leukosen. Etwas ähnliches war bis jetzt auch bei den hämoglobinurischen Krankheiten der Fall: die Überschätzung des Symptoms hat das Wesen der Erkrankung bisher in den Hintergrund gedrängt. Das Wesen der Krankheit (natürlich nicht das Symptom) finden wir jedoch in seiner gesamten Auswirkung bei den von uns nephrektomierten Tieren; bei dem Versuch der Gruppe VIII verursacht die Hyperhämolyse durch destilliertes Wasser bei Kaninchen mit bilateraler Nephrektomie eine deutliche Anhäufung von Hämosiderin in den Milz- und Leberhistiocyten; setzt man jedoch, wie bei Gruppe IX, der Nephrektomie und Hyperhämolyse einen Erkältungsschock zu, so fehlt die Anhäufung von Hämoglobin und Hämosiderin in den Histiocyten. Wir glauben somit eine sichere Beweisführung unserer Behauptung erbracht zu haben, wonach *das Wesen der hämoglobinurischen Krankheit extrarenal ist, da sie auch im nephrektomierten Tier auftritt.*

Man erinnere sich an die in den vorhergehenden Seiten erwähnten Worte von ETORE MARCHIAFAVA. Auf Grund des Fehlens von Hämosiderin in Milz, Leber, Knochenmark und Reticuloendothelialsystem hält MARCHIAFAVA es für ausgeschlossen, daß die Hämolyse an diesen Stellen und im kreisenden Blut stattfände. Da er von den Opsobilinen noch nichts wußte, welcher Schlüssel ihm den Grund der Inaktivität der Histiocyten erklärt hätte, mußte er zu der problematischen Annahme greifen, die Blutkörperchenzerstörung fände im Gefäßblumen der Nieren statt. Aber die an sich berechtigte Stellung der MARCHIAFAVA-MICHELLischen Krankheit im Rahmen der Hämoglobinurien erlaubt uns für diese Hämoglobinurie denselben — von uns in den Opsobilinen erkannten — Schlüssel als gegeben anzunehmen, welcher bei den anderen Hämoglobinurien den pathogenetischen (sonst unverständlichen) Zusammenhang der Hauptsymptome erklärt. Wirklich besteht auch hier eine durch Opsobilinmangel (welcher denselben unbekannten Ursachen — Anaphylaxie? —, die die Hyperhämolyse erzeugen, zuzuschreiben ist) hervorgerufene Untätigkeit der Milz- und Leberhistiocyten und gerade deshalb ist bei der Krankheit kein spodogener Tumor vorhanden, der somit in diesem Fall auch nicht als Argument für das Vorhandensein einer Hyperhämolyse im ganzen Kreislauf vorgebracht werden kann.

Das Fehlen oder das nur schwache Vorhandensein des Ikterus steht genau so wie die Hyperhämoglobinämie und somit Hämoglobinurie mit dem Opsobilinmangel in Zusammenhang; in dieser besonderen Häm-

globinurieform, welche die MARCHIAFAVA-MICHELISCHE Krankheit darstellt, tritt der Mangel in paroxysmaler Weise auf.

Das Symptom Hämösiderinurie, keine ausschließliche aber doch ausdrückliche Erscheinung der Krankheit, wurde bisher in Zusammenhang mit einer angenommenen hämoglobinzerstörenden Aktivität der Nierenepithelien gebracht. Die Beweisführung dieses Phänomens war jedoch nur durch einen Versuch von nicht ausreichender Bedeutung gegeben, und zwar haben die verschiedenen Untersucher (L. J. RATHER 1948; J. H. HAMPTON und H. S. MAYERSON 1950; D. BLOOM, L. H. WESTMANN und J. J. LALICH 1952) eine Hyperhämolyse verursacht, oder lackfarbiges Blut in den Kreislauf eingeführt, woraufhin sie die Anwesenheit von Hämösiderin nicht nur in den Histiocyten der verschiedenen Organe und besonders der Milz, sondern auch in den Nierenepithelien feststellen konnten. Es war jedoch, eben weil die Histiocyten der verschiedenen Organe voll von Hämösiderin erschienen, immer der Zweifel berechtigt, daß das in den Nierenepithelien vorhandene Eisenpigment von diesen als solches, also als Produkt der histiocytären Hämaglobinumarbeitung, aufgenommen worden war.

Der Nachweis besagter Fähigkeit der Nierenepithelien ist von uns direkt in den Untersuchungen erbracht worden, welche wir zu dem vorgesetzten Thema angestellt haben, d. h. die biligenetischen Fähigkeiten der Leber- und Nierenepithelien zu studieren; diese Untersuchungen sind Gegenstand einer in diesem Archiv erschienenen Arbeit. Mit Hilfe unserer Kenntnisse über die Opsobiline haben wir hier die Möglichkeit eines autentischen Versagens des histiocytären Systems verwertet, wir konnten sozusagen die Aktivität der Nierenepithelien (und auch der Leber) dem Hämoglobin gegenüber isolieren, wobei das ganze histiocytäre System durch das Fehlen der Opsobiline völlig inaktiv blieb, inaktiv in absolut sicherer Weise, und nicht zu vergleichen mit der illusorischen Methode der sog. Blockierung durch massive Einführung von elektronegativen Kolloiden.

Durch Einführung von Ringerlösung in die Nierenarterien, um das Blut und somit die Opsobiline aus dem Nierenkreislauf auszuschalten, und mit darauffolgender Zugabe von Hämoglobin können wir in der kurzen Zeitspanne 1 Std eine starke Anhäufung von Hämösiderinpigment in den Nierenepithelien feststellen, wobei jedoch die Histiocyten von Pigment völlig frei bleiben.

Die hämoglobinzerstörende Fähigkeit der Nierenepithelien ist somit — wenn wir nicht im Irrtum sind — endgültig bewiesen. Die Hämösiderinurie im Verlauf von Hämaglobinurien besonders bei der MARCHIAFAVA-MICHELISCHEN Krankheit wäre somit, *auch wenn die Hämösiderose in der Milz und den anderen histiocytären Bezirken fehlt*, durchaus verständlich. Man beachte den letzten Satz, er ist für den Aufbau des

hämoglobinurischen Prozesses von primärer Bedeutung. Die Anwesenheit von Hämösiderin könnte Anlaß zu einem berechtigten Einwand gegen unsere Theorie der Pathogenese in bezug auf das Thema Hämoglobinurien sein, wenn die Hämösiderinurie wirklich auch hier Ausdruck der Umarbeitung des Hämoglobins seitens der Makrophagen wäre. Die Möglichkeit dieses Einwandes wird durch die Beweisführung ausgeschaltet, nach welcher die epithelialen Elemente auch ohne die Opsobiline hämoglobinisches Pigment aufnehmen und umarbeiten können.

Bei einem nochmaligen Überblick über das gesamte Bild der verschiedenen Hämoglobinurien, nötigt das Verhalten des Ikterus zu einer weiteren Betrachtung, oft fehlt der Ikterus ganz, manchmal tritt er in leichter Form auf.

In dem Vorhandensein eines wenn auch nur leichten Ikterus, bei einigen Fällen von Hämoglobinurie, könnte man einen Einwand gegen unsere Pathogenese der Krankheit sehen: aber zu Unrecht, wenn man bedenkt, daß gerade bei den leichten Formen der hämoglobinurischen Krankheit, bei welchen manchmal ein leichter Ikterus festgestellt worden ist (L. J. WITTS und Mitarbeiter 1936) eine *unvollständige* Unfähigkeit des histiocytären Substrates für die Biligenese besteht, welche sicher an einen nur partiellen Ausfall der Opsobiline gebunden ist. Ein partielles Bestehen der histiocytären Biligenese, vielleicht von dem Erscheinen der hepatocellulären Biligenese begleitet, kann das Fehlen der Acholie bei der hämoglobinurischen Krankheit erklären. Im Verlauf von paroxysmalen Hämoglobinurien kann auch eine schwach positive indirekte VAN DEN BERGHSche Reaktion auftreten (s. die zitierte Bibliographie). Um diese Tatsache mit der Herabsetzung der histiocytären Biligenese in Einklang zu bringen, genügt es, die starke Hyperhämoglobinämie zu beachten, diese, die bei intakten Opsobilinen von dem histiocytären Substrat völlig in Schach gehalten worden wäre (unter Auftreten einer starken Pleiochromie oder sogar eines Ikterus wegen des Pigmentüberschusses), bildet hier eine Art von Dekompensation, ein Mißverhältnis zwischen einem außergewöhnlichen Verlangen nach Funktionalität und den nichtadäquaten Grenzen der Quantität der Opsobiline und somit der histiocytären Aktivität; es entsteht also ein Mißverhältnis, da die Opsobiline zwar für die Umarbeitung einer normalen Quantität von Hämoglobin ausreichen, der Hyperhämoglobinämie gegenüber jedoch unvermögend sind. Für diese Fälle besteht keine funktionelle Reserve, wie es die normale und pathologische Physiologie des Herzens und der Niere lehrt.

Beachten wir nun die Möglichkeit des Hinzukommens einer Hepatose (was alles andere als hypothetisch ist, im Rahmen der Schocks gesehen, an welche die hämoglobinurische Krankheit gebunden ist); bei einem

Kranken mit Hämoglobinurie aber noch intakter Leber, kann die wenige sich bildende Galle im histiocytären Substrat die hepatische Schwelle überschreiten, kommt jedoch eine hepatocelluläre Schädigung hinzu, so ist es möglich, daß in diesem Fall die reduzierte Biligenese einen Subikterus verursacht, welcher sicher hepatotoxischer Natur ist.

Zwecks Aufstellung eines notwendigerweise schematisierten Gesamtüberblickes über die anatomisch-klinische Kasuistik der hämoglobinurischen Krankheit, könnte man folgende Punkte formulieren: 1. Schwere Formen der hämoglobinurischen Krankheit; das zusätzliche Auftreten der Hepatose verursacht einen hepatotoxischen Ikterus. 2. Mittlere Formen, welche am zahlreichsten sind; Ikterus fehlt, da der größte Teil der extrahepatischen Biligenese ebenfalls fehlt und die hepatische Schwelle intakt ist. 3. Schwache und sehr schwache Formen; schwacher hyperhämolytischer Ikterus durch die Geringfügigkeit der hämoglobinurischen Krankheit, d. h. des Opsobilinmangels; diese schwachen Formen stehen an der Grenze zwischen Hämoglobinurie und hyperhämolytischem Ikterus.

Zusammenfassung des zweiten Teiles.

Bei den wichtigsten Formen der Hämoglobinurie stellen wir Elemente fest, welche zum Teil im Gegensatz zueinander stehen; es fehlt das Element, welches die folgenden Tatsachen vom funktionellen und logischen Standpunkt aus verbindet: Hyperhämolyse, Hyperhämoglobinämie, Fehlen von Hyperbilirubinämie, schwache Urobilinurie, Hämoglobinurie. Es ist dies ein Bild, welches mit den klassischen hyperbilirubinämischen und somit urobilinurischen Hyperhämolyse nicht übereinstimmt. Unsere experimentellen Untersuchungen lösen das Problem mit den folgenden Feststellungen:

1. Die Hyperhämolyse (durch destilliertes Wasser) bei Kaninchen mit Ermüdungs-Erkältungs- oder anaphylaktischem Schock, verursacht keine Hyperbilirubinämie und keine Urobilinurie wie bei den normalen Tieren, sondern ist hier Ursache einer starken Hämoglobinämie und Hämoglobinurie; in Milz und Leber fehlen unter diesen Umständen Aufnahme und Umarbeitung des Hämoglobins seitens der Makrophagen.

2. Wenn wir normalen Kaninchen nach Leber- und Milzdurchströmung in die Vena portae bzw. in die Milzarterie Blut von hyperhämolierten und einem Ermüdungs- oder anaphylaktischen Schock unterzogenen Kaninchen injizieren, können wir beweisen, daß das Blut selbst keine Opsobiline enthält, tatsächlich findet keine Phagocytose von hämatischen Pigmenten seitens der Milz- und Leberhistiocyten der Tiere statt.

3. Es ist also der Mangel an Opsobilinen, der bei diesen Versuchen die histiocytäre Funktion unterbindet, dieser Mangel wird von den

gleichen Schockzuständen verursacht (Ermüdung, Erkältung, 'Anaphylaxie), welche bekanntlich die spontane hämoglobinurische Krankheit erzeugen.

4. Die Hämосiderinurie, besonders stark bei MARCHIAFAVA-MICHELLI-scher Krankheit aber schließlich auch bei den anderen spontanen und experimentellen Hämoglobinurien vorhanden, steht zu oben Gesagtem nicht in Widerspruch, sie stammt ja nicht aus der histiocytären Umarbeitung des Hämoglobins in Milz oder Leber, sondern aus der hämoglobinzerstörenden Aktivität des Epithels der Nierenkanälchen; dies ist experimentell durch unsere Untersuchungen bewiesen worden (durch Blockierung der Phagocytose wegen Fehlens der Opsobiline).

5. Das Versagen der splenischen und hepatischen Phagocytose des hämatischen Pigmentes bei den benannten Schocks unterzogenen Tieren entsteht in völlig analoger Weise wie bei nephrektomierten Tieren.

Zusammengefaßt ist das bindende Element der wichtigsten Symptome der hämoglobinurischen Krankheit extrarenal und generell, dieses Element ist von uns in der Pathologie der Opsobiline erkannt worden; die Schocks, die die hämoglobinurische Krankheit verursachen, erzeugen auch den Ausfall der Opsobiline; die Makrophagenfähigkeit und daher die Biligenese in den Histiocyten wird somit unterbunden. Der Ausfall der Opsobiline ist die bisher unbekannte Tatsache, welche den logischen Zusammenhang in der Kette der folgenden Symptome der hämoglobinurischen Krankheit bildet: Hyperhämolyse, Hyperhämoglobinämie, Fehlen von Hyperbilirubinämie, schwache Urobilinurie, Hämoglobinurie.

Literatur.

- AGNOLI, R.: Minerva med. (Torino) **2**, 731 (1932). — ALZONA, L., e L. VIALE: Arch. „E. Maragliano“ Pat. **1**, 160 (1946). — ATTLE, W. H. W.: Lancet **232**, 1400 (1937). — BARTA, J., u. D. KÖROG: Virchows Arch. **273**, 266 (1929). — BAUMGARTNER, W.: Helvet. med. Acta **15**, 61 (1948). — BERRY, L. J., and T. D. SPIES: Medicine **28**, 239 (1949). — BING, R. J.: Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **53**, 29 (1943). — BLUMGART, H. L., and D. R. GILLIGAN: Tr. Assoc. Amer. Physicians **56**, 123 (1941). — BYWATERS, E. G. L., and J. H. DIBBLE: J. of Path. **54**, 111 (1942). — CAIN, A. R. CATTON, J. V. HANISPE et G. BOUWENS: Bull. Soc. méd. Hôp. Paris **53**, 78 (1937). — CATHALA, J., et J. BERNARD: Arch. franç. Pédiatr. **4**, 113 (1948). — CATTANEO, L.: Giorn. ital. Dermat. **72**, 1159 (1931). — CIPRIANI, P. L., e C. MILLOSCHI: Arch. „De Vecchi“ (Firenze) **17**, 762 (1952). — CLEMENT, R., J. GÉRBEAUX et C. KONPEZNIK: Bull. Soc. méd. Hôp. Paris **63**, 610 (1947). — COSTA, A., e P. L. CIPRIANI: Arch. „De Vecchi“ (Firenze) **17**, 15, 733, 745 (1952). — CROSNIER, R. u. Mitarb.: Semaine Hôp. **26**, 3874 (1950). — DAMM, P., u. M. KATSCHOW: Dtsch. med. Wschr. **1948**, 562. — DiLORENZO, F.: Giorn. ital. Mal. esot. **6**, 72 (1933). — DUNN, J. S., M. GILLESPIE and J. S. F. NIVEN: Lancet **1941 II**, 549. — ENNEKING, J.: Klin. Wschr. **1928**, 2045. — FERRANINI, L.: Minerva Med. (Torino) **26**, 209 (1935). — FISCHER, A. M., u. A. BERNSTEIN: Bull. Hopkins Hosp. **67**, 457 (1940). — FÖRSTER, A.: Münch. med. Wschr. **1919**, 554. — GILLIGAN, D. R., and H. L. BLUM-

GART: Medicine **20**, 341 (1941). — GILLIGAN, D. R., M. D. ALTSCHULE and C. M. KATERZKY: J. Clin. Invest. **22**, 859 (1943). — GUICHARD, A., et J. FEROLDI: Sang **17**, 439 (1946). — HAM, T. H.: New England J. Med. **217**, 915 (1937). — Arch. Int. Med. **64**, 1271 (1939). — HAMBURGER, L. P., and A. BERNSTEIN: Amer. J. Med. Sci. **192**, 301 (1936). — HANNS, A.: Sang **15**, 506 (1942/43). — HEGGLIN, R.: Schweiz. med. Wschr. **1945**, 354. — HEGGLIN, R., u. C. MAIER: Klin. Wschr. **1941**, 956. — Amer. J. Med. Sci. **207**, 624 (1944). — HICHEY, M. D., and L. K. MALLEY: Quart. J. Med. **17**, 1 (1948). — HOFFMANN, B. J., and R. R. KRACHE: J. Labor. a. Clin. Med. **28**, 817 (1943). — HOWARD, C. P., and E. S. MILLIS: Amer. J. Med. Sci. **196**, 792 (1938). — IGLAUER, K., u. S. FRENDSREIS: Klin. Wschr. **1934**, 880. — IZZO, G.: Giorn. Med. mil. **93**, 406 (1946). — JORDAN, F. L. J.: Acta med. scand. (Stockh.) **95**, 319 (1938). — JOSEPHS, H. W.: Bull. Hopkins Hosp. **74**, 295 (1944). — KEEKE, C. A., and D. SLOME: Brit. J. Exper. Path. **26**, 151 (1945). — LICHTWITZ, L.: Berl. klin. Wschr. **1916**, 1233. — LOLLI, N.: Riforma med. **49**, 1313 (1933). — LOTZ, H.: Erg. inn. Med. **52**, 277 (1937). — LOUW, A., u. H. E. NILSEN: Acta med. scand. (Stockh.) **117**, 424 (1944). — LOWBURY, E. J. L., and A. P. L. BLAKELY: Brit. Med. J. **1948**, 12. — LUCKÉ, B.: Mil. Surgeon **99**, 371 (1946). — MACCIOTTA, G.: Pédiatria **44**, 1 (1936). — MACCRAE, T. E. J., and C. ULLERY: J. Amer. Med. Assoc. **101**, 1389 (1933). — MACKENZIE, G. M.: Clin. M. Mary J. Basset. Hosp. **2**, 190 (1935). — MALLORY, T. B.: Amer. J. Clin. Path. **17**, 427 (1948). — MARCHIAFAVA, E.: Policlinico, Sez. med. **35**, 109 (1928).; **38**, 105 (1931). — MARCHIAFAVA, F., e A. NAZARI: Policlinico, Sez. prat. **18**, 241 (1911). — MEYER, BETZ F.: Dtsch. Arch. klin. Med. **101**, 85 (1910). — MICHELI, F.: Haematologica (Palermo) **12**, 101 (1931). — MORTARA, M.: Haematologica (Palermo) **29**, 385 (1946). — MURRI, A.: Fava, Bologna 1880. — NAZARI, A.: Boll. Atti R. Acad. med. Roma **57**, 90 (1931). — PORGES, O., u. R. STRISOVER: Dtsch. Arch. klin. Med. **117**, 13 (1915). — RICH, J. A.: Ref. von L. J. WITTS 1930. — ROBINSON, P.: Amer. J. Dis. Childr. **62**, 701 (1941). — ROSENTHAL, F.: Z. klin. Med. **119**, 449 (1932). — ROSSIER, P. H., u. H. FISCHER: Helvet. med. Acta **14**, 212 (1948). — SALÉN, E. B.: Acta med. scand. (Stockh.) Suppl. **11**, 1 (1925). — SCHALLY, A. O.: Z. klin. Med. **127**, 697 (1935). — SCHEEL, O.: Zit. von J. ENNEKING 1925. — SCHELLONG, F.: Z. exper. Med. **34**, 82 (1923). — SCOTT, R. B., A. H. T. ROBB-SMITH and E. F. SCOWER: Quart. J. Med. **7**, 95 (1937). — SEGA, A.: Arch. Pat. e Clin. med. **19**, 82 (1938). — SELLBERG, W.: Dtsch. med. Wschr. **1942**, 561. — SHEN, S. C., and T. H. HAM: New England J. Med. **229**, 701 (1943). — STRÜBING, P.: Dtsch. med. Wschr. **1881**. — TRESTINI, S.: Policlinico, Sez. med. **42**, 550 (1935). — VILA, O.: Riv. Med. Rosario **29**, 1082 (1939). — WATSON, E. M., and L. C. FISCHER: Amer. J. Clin. Path. **5**, 151 (1935). — WERGLEY, P. F., W. H. ZINKHAN and A. GIEBENS: Amer. J. Med. **2**, 342 (1948). — WHARTON, H. J., and W. DEUSSELMANN: New England J. Med. **236**, 974 (1947). — WITTS, L. J., M. D. MANC and F. R. LAND: Lancet **231**, 115 (1936). — WRIGHT, A. E., and S. R. DOUGLAS: Proc. Roy. Soc. Lond. **72**, 4 (1903).

Prof. Dr. ANTONIO COSTA, Direktor des Pathologischen Instituts
der Universität Florenz, Italien.