

Übertragungsversuche der Amyloidose durch Parabiose homozygoter Mäuse

REINHOLD P. LINKE und HORST KUNI

Pathologisches Institut (ehem. Direktor: Prof. Dr. E. LETTERER) und Medizinische Klinik (Direktor: Prof. Dr. H. E. BOCK) der Universität Tübingen

Eingegangen am 6. Juni 1968

Transmission Studies of Amyloidosis by Parabiosis of Isogenetic Mice

Summary. To answer the question about a transmissibility of experimental amyloidosis by parabiosis one partner of 67 parabiotic pairs of homozygotic mice was treated with injections of casein or casein+Freund's adjuvant or with an experimental osteomyelitis. Amyloidosis occurred in 62 of the animals treated but in only 9 of the untreated partners.

The incidence rate of amyloidosis in the untreated partners did not exceed significantly that in parabiotic controls. It showed no correlation with the intensity of treatment but the rate was increased in pairs with abscesses in the parabiotic bridge.

Using the experimental conditions mentioned above amyloidosis was *not* transmissible in parabiosis.

Six weeks after the parabiotic junction the blood flow through the parabiotic bridge on an average was 17.2 mg/min. That corresponded to a half time of exchange of 22.8 min and excluded an impaired anastomosis.

The failure to transmit amyloidosis although the parabiotic junction remained intact implies the existence of a relative parabiotic barrier for the factor or for one of the factors primarily involved and essential in causing amyloidosis. This agent must have a disappearance rate with a half time of certainly less than 22.8 min. Therefore, all substances with longer half times such as plasma proteins are excluded from causing, either primarily or alone, the amyloidosis formed by the described methods.

Zusammenfassung. Ausgangspunkt der Untersuchung war die Frage, ob eine experimentelle Amyloidose durch Parabiose übertragbar ist.

Zur Beantwortung dieser Frage behandelten wir jeweils einen Partner von 67 homozygoten Parabiose-Partnern mit Casein-, Casein+Freund's Adjuvans-Injektionen oder der experimentellen Osteomyelitis. Die Behandlung führte in 62 Fällen zur Amyloidose. Der un behandelte Partner erkrankte nur in 9 Fällen. Die Amyloidose blieb also in 85,5% der Fälle auf den erfolgreich behandelten Partner beschränkt.

Die Amyloidhäufigkeit des un behandelten Partners lag nicht signifikant über der von Kontroll-Paaren, zeigte keine Abhängigkeit von der Stärke der Behandlung im behandelten Partner und war häufiger bei den Paaren, deren Gewebebrücke Abszesse trug.

Die Amyloidose ist also unter den geschilderten Bedingungen in Parabiose *nicht* übertragbar.

Der an den gleichen Paaren gemessene Blutfluß von durchschnittlich 17,2 mg/min entspricht einer Halbwertszeit von 22,8 min. Diese Werte schließen eine mangelhafte Anastomose aus.

Aus der fehlenden Amyloidübertragung und der Größe des Blutflusses kann man für einen an der Amyloidoseentstehung primär beteiligten und essentiellen Faktor in unserer Versuchsanordnung eine relative Parabiose-Schranke annehmen. Diesem postulierten Agens kann man daher eine Halbwertszeit von sicher unter 22,8 min zuschreiben.

Für die Pathogenese der von uns erzeugten Amyloidose scheiden demnach alle Stoffe mit längerer Halbwertszeit, insbesondere Bluteiweißkörper, als erste oder einzige Ursache aus.

Einleitung

Die erworbene, periretikuläre Amyloidose (MISSMAHL, 1959; HELLER et al., 1964) wird im Organismus in anderen Organen gefunden als die sie auslösende Primärerkrankung z.B. eine chronische Infektion. Vermittler zwischen Primärerkrankung und Amyloidose dürfte das Blut sein, dessen pathogene Komponente noch unbekannt ist.

Zahlreiche Untersuchungen zeigen Bluteiweißveränderungen im Verlaufe der menschlichen und experimentellen Amyloidose (LETTERER, 1926, 1950; EKLUND und REIMAN, 1936; DICK und LEITER, 1937, 1941; SCHNEIDER, 1949, 1962; JOHANSSON, 1949; BOHLE et al., 1950; ALBRECHT, 1950; GöSSNER et al., 1951; PERNIS et al., 1953; LATVALAHTI, 1953; RICHTER, 1956; VAZQUEZ und DIXON, 1956; HUESTIS und JAEGER, 1960; RASK-NIELSEN et al., 1960; COHEN et al., 1962; CHRISTENSEN und RASK-NIELSEN, 1962; PAVLIKHINA und SEROV, 1963; HOROWITZ et al., 1965) u.a.

Trotz der großen Zahl verschiedenartiger Untersuchungen ist es bis heute nicht geklärt, ob die bei der Amyloidose gefundenen Bluteiweißveränderungen Ursache, Begleitsymptom oder nur ein Glied in der Kette der Ursachen sind. Außerdem ist unklar, ob die Muttersubstanz des Amyloids aus dem Blute stammt und unter bestimmten Bedingungen [z.B. einer Immunreaktion (LETTERER, 1925, 1934, 1949; LOESCHKE, 1927; VAZQUEZ und DIXON, 1956; PAVLIKHINA und SEROV, 1963)] im Zwischengewebe niedergeschlagen wird, wobei den Bluteiweißveränderungen z.T. eine kausale Rolle zugesprochen wird (SCHMIDT, 1904; KUCZYNSKI, 1922; RANDERATH, 1947; SCHNEIDER, 1962), oder ob sie an der Stelle der späteren Amyloidablagerungen von ortsständigen Zellen ins Zwischengewebe abgeschieden wird, wobei die Bluteiweißkörper nicht primär beteiligt sind (MAXIMOW, 1898; DOMAGK, 1924, 1925; SMETANA, 1927; RASK-NIELSEN et al., 1960; TEILUM, 1956; CHRISTENSEN und HJORT, 1960; BATTAGLIA, 1962). In dieser Gegenüberstellung finden sich die beiden heute geltenden Anschauungen.

Falls die nachgewiesenen oder noch unbekannten Blutveränderungen *die* oder eine der Ursachen der Amyloidose sind, könnte möglicherweise mit dem Blut eine Übertragung dieser Krankheit von einem amyloidkranken auf einen gesunden Organismus möglich sein, so daß auch dieser erkrankt.

Auf Anregung von LETTERER haben wir in dieser Arbeit mit Hilfe der Parabiose homozygoter Mäuse versucht die Frage zu beantworten, ob die Amyloidose von einem auf ein anderes Tier mit Hilfe der Parabiose übertragbar ist oder nicht.

Methode

1. Paare

Aus 85 Parabiosepaaren homozygoter Mäuse der Stämme C 57 BL/6 J, C 57 BL/6 und C 57 BR/cd J wurden 67 Paare (79%) zur Auswertung gewählt. Die Kriterien der Auswahl waren eine Überlebenszeit von 2 Wochen und vollständige histologische Untersuchung. Als Kontrolle dienten 59 Paare des Stammes C 57 BL/6.

2. Parabioseoperation

Es wurden gleichgewichtige und gleichgeschlechtliche, männliche und weibliche Tiere nach einer Methode vereinigt, die auf BUNSTER und MEYER (1933) zurückgeht.

Zur Operationsvorbereitung wurden die Tiere mit 0,01 ml/g Maus 2% Evipan-Natrium¹ intraperitoneal narkotisiert. Das Operationsfeld wurde zunächst mit der Schere, dann mit

¹ Farbenfabriken Bayer AG, 5090 Leverkusen.

Pilea rapid² enthaart. Bis auf den Kopf wurde das ganze Tier mit 70% Alkohol abgerieben. Instrumente und Abdecktücher waren sterilisiert.

Operation: Längsschnitt der enthaarten Haut von der Mitte des Oberschenkels bis unmittelbar hinter das Ohr auf den korrespondierenden Körperseiten beider Tiere unter Schonung der unter dem Panniculus carnosus liegenden Gefäße. Darstellung der Scapulae und Vereinigung derselben mit einer Supramid-U-Naht. Ebenso werden die dorsalen Wundränder vereinigt. Zur Eröffnung der Bauchhöhlen werden nun in Rückenlage die freiliegenden Bauchdecken der Tiere unterhalb der Rippen in der Axillarlinie in der Länge von 1—1,5 cm durchtrennt und die so entstandenen 4 Blätter mit einer fortlaufenden Catgut³-Naht zusammengefaßt. Verschluß der ventralen Wundränder auf die gleiche Art wie die dorsalen. Übersprühung aller Hautnähte mit dem flüssigen Verbandstoff Nobecutan⁴.

Die Paare wurden einzeln in Makrolon-Standardkäfigen gehalten, mit Altromin⁵, Wasser ad libitum und etwas Hafer ernährt.

3. Amyloidprovokation

Jeweils der rechte Partner wurde mit Amyloidose provozierenden Maßnahmen behandelt. Der Beginn der Provokation war unterschiedlich. Bei Gruppe a) und b) wurde 5—8 Tage, bei c) während der Operation und bei d) 3—4 Wochen nach der Parabioseoperation begonnen.

a) Casein-Injektionen. Es wurden 0,3 ml einer 5% Casein-Lösung in 0,5% Na₂CO₃ 6mal in der Woche subcutan unter die von der Brücke abgewandte Axilla- und Inguinalhaut injiziert.

Die Versuchsdauer betrug 2—7 Wochen.

b) Casein+Freund's Adjuvans-Injektionen. Es wurde wie in a) verfahren, nur wurde die 6. Injektion der Woche durch 0,3 ml einer Emulsion der Casein-Lösung nach a) mit Freund's Adjuvans⁶ im Verhältnis 1:1 (im Glaskolben ca. 1 Std geschüttelt) ersetzt.

Versuchsdauer wie a).

c) Chronische Osteomyelitis. Im Anschluß an die Parabioseoperation wurde jeweils das rechte Femur des rechten Partners von dorsal her operativ dargestellt und frakturiert. Beschickung des Knochenmarkes mit Kotbröckchen. Nagelung des Femur mit einem Stahlstift. Verschluß der Muskulatur mit engen Catgut-Einzelnähten und der Haut mit Supramid³-U-Nähten. Übersprühung der Nähte mit Nobecutan.

Versuchsdauer 2—7 Wochen, bei zwei Paaren 15 Wochen.

d) Kreuzversuche. An drei Paaren wurde zusätzlich zur Osteomyelitis nach c) eine vom unbehandelten Partner entnommene, mit Kot infizierte Niere entweder subcutan implantiert oder in den Herd der Osteomyelitis eingenäht.

Versuchsdauer 6—8 Wochen. Die Implantation erfolgte 3 Wochen nach der Parabioseoperation.

4. Histologische Bearbeitung

Von allen Tieren wurden Milz, Leber, Niere, Lymphknoten und die Parabiosebrücke in 4% Formeln fixiert und an ca. 6 μ dicken HE-Paraffinschnitten untersucht. Als Spezialfärbung verwendeten wir zusätzlich die Kongorotfärbung mit Beurteilung im Polarisationsmikroskop⁷.

5. Statistische Bearbeitung

Zum Vergleich der Amyloidbefunde wendeten wir je nach der Zahl der Erwartungswerte die X²-Methode (mit Yates-Korrektur) oder den exakten Fisher-Test an.

Die Organgewichte verglichen wir mit dem *t*-Test für gepaarte Stichproben nach Berechnung von \bar{x} , s , $s_{\bar{x}}$.

² Olivin Werke, 6200 Wiesbaden.

³ Serag-Catgutfabrik, 8674 Naila.

⁴ Bastian-Werk GmbH, 8000 München-Pasing.

⁵ Altromin GmbH, 4910 Lage.

⁶ Lot No. 930T3B der Hyland Laboratories, Los Angeles, Calif.

⁷ Die Beurteilung der mit Kongorot gefärbten Präparate im Polarisationsmikroskop haben wir Herrn Prof. Dr. H. P. MISSMAHL (Medizinische Universitätsklinik Tübingen) zu verdanken.

Ergebnisse

1. Überleben, Organgewichte

Von 85 angesetzten überlebten 73 Paare (85%) 2 Wochen und 68 Paare (80%) 4 Wochen. 67 Paare (79%) wurden nach den oben beschriebenen Kriterien für die Auswertung ausgewählt. Von 81 angesetzten Kontroll-Paaren überlebten 61 (75%) 2 und 49 Paare (61%) 4 Wochen. 59 Paare wurden nach denselben Kriterien wie die Hauptversuchsgruppe für die Auswertung ausgewählt.

Einem Partner war bei dieser Serie unter der Parabioseoperation eine Niere oder ein Hoden am Gefäßstiel unterbunden worden zur Erzeugung einer sterilen Organnekrose. Wie schon gezeigt (LINKE, 1966), hatte die sterile Organnekrose keinen sicheren Einfluß auf die Amyloidbildung. Deshalb haben wir diese Paare den erfolgreich behandelten Paaren als Kontroll-Reihe gegenübergestellt.

Ein Vergleich der Organgewichte von Milz, Leber und Nieren beider Partner (Tabelle 1) zeigt eine Zunahme der Gewichte beim behandelten Partner. So nimmt die Milz um 65% ($p < 0,001$), die Leber um 9% ($0,02 < p < 0,05$) zu. Die Zunahme des Nierengewichtes um 11% war ebenfalls signifikant ($0,01 < p < 0,02$). Die Milzgewichte der Kontroll-Paare unterschieden sich nicht ($p > 0,1$).

2. Amyloidbefunde

Von 67 Parabiosen erkrankte der behandelte Partner 62mal (93%), der unbehandelte hingegen nur 9mal (13%). Bezogen auf das erfolgreich behandelte Tier erkrankte sein Partner in 14,5% der Fälle. Die Amyloidose blieb also in 85,5% auf das erfolgreich behandelte Tier beschränkt.

Die Kontroll-Paare zeigten eine von der sterilen Organnekrose unabhängige Amyloidhäufigkeit von 8,5% beidseits. Eine graphische Darstellung der hier und anderswo (LINKE, 1966) beschriebenen Amyloidhäufigkeiten zeigt Abb. I.

Die statistische Auswertung ergibt einen hochsignifikanten Unterschied zwischen dem erfolgreich behandelten Tier und seinem unbehandelten Partner ($p < 0,001$). Demgegenüber unterscheidet sich der unbehandelte Partner nicht von den Kontroll-Paaren ($p > 0,5$), und diese wiederum unterscheiden sich statistisch nicht von Einzeltieren mit Parabiose-Scheinoperation und/oder steriler Organnekrose ($0,1 < p < 0,2$).

Bei einem Vergleich der Wirksamkeit der Behandlungsmethoden erweist sich die Casein-Behandlung (untersucht am Milzbefall) der Kombination mit Freund's Adjuvans und der Osteomyelitis als unterlegen ($p < 0,01$). Der durchschnittlich häufigere Leberbefall bei Osteomyelitis der Casein-Freund's-Adjuvans-Behandlung gegenüber ist nicht signifikant ($p > 0,5$).

Erkrankte nun der unbehandelte Partner bei stärkerer Amyloidprovokation im behandelten häufiger? Weder beim Milzbefall ($p > 0,78$) noch beim Leberbefall ($p > 0,5$) war eine Abhängigkeit der Amyloidhäufigkeit im nicht behandelten Partner von der Stärke der Behandlung feststellbar.

3. Eiterungen in der Parabiosebrücke

Da die Amyloidose der Mäuse wie beim Menschen vor allem bei Eiterungen auftritt, wie das Amyloid nach Osteomyelitis zeigt, haben wir bei der Sektion sorgfältig auf Eiterungen besonders in der Parabiosebrücke geachtet. Bei 12 Paaren wurden kleine Abscesse in der Brücke gefunden (Tabelle 2). In dieser Gruppe

Tabelle 1. Zusammenstellung der Organgewichte

Behandlung	Partner	Anzahl	Körpergewicht (g)			Milz (mg)			(Leber (mg)			Niere (mg)		
			\bar{x}	s	$s_{\bar{x}}$	\bar{x}	s	$s_{\bar{x}}$	\bar{x}	s	$s_{\bar{x}}$	\bar{x}	s	$s_{\bar{x}}$
Nierenligatur (Kontrollen)	behandelt	42	—	—	—	63,1	23,2	3,6	—	—	—	—	—	—
	unbehandelt	42	—	—	—	57,9	25,0	3,9	—	—	—	—	—	—
Casein, Casein + Freund's Adjuvans	behandelt	48—50	19,4	3,4	0,05	99,6	46,4	6,6	1308,3	275,7	39,0	308,0	65,0	9,3
	unbehandelt	48—50	19,1	3,5	0,05	64,9	32,8	4,6	1189,0	258,9	37,0	277,6	48,4	7,0
Unbehandelte Einzeltiere		26	21,7	7,4	1,47	72,3	22,4	4,4	1315,9	272,4	53,4	362,5	75,4	14,8

Tabelle 2. Zusammenfassung der Versuchsergebnisse

Behandlungsmethoden	Anzahl der Paare	Amyloid positiv		Anzahl der Amyloid-paare		Doppel- seitig Amyloid		Eiterungen in der Brücke		Koincidenz von doppelseitigem Amyloid und Eiterungen in der Brücke	
		behandelte Partner	unbehandelte Partner								
				Milz	Leber	Milz	Leber	Milz	Leber	Milz	Leber
Sterile Behandlung (Kontrollen)											
Nierenligatur	46	4	2	3	1	4	3	12	3	1	3
Nierenligatur und Freund's Adjuvans	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hodenligatur	10	1	1	2	2	2	1	4	1	1	1
Summe	59	5	3	5	3	6	4	16	4		
Casein- und bakterielle Behandlung											
Casein	12	7	1	1 ^a	0	7	1	2	1	1	1
Casein und Freund's Adjuvans	40	46	26	6 ^a	1	46	6	7	7	2	2
Osteomyelitis	6	6	5	1	0	6	1	1	1	0	0
Kreuzversuche	3	3	3	1	1	3	1	2	2	1	1
Summe	67	62	35	9	2	62	9	12	4		
Summe	126	67	38	14	5	68	13	28	8		

^a Bei je einem Tier nur polarisationsoptisch nachweisbar.

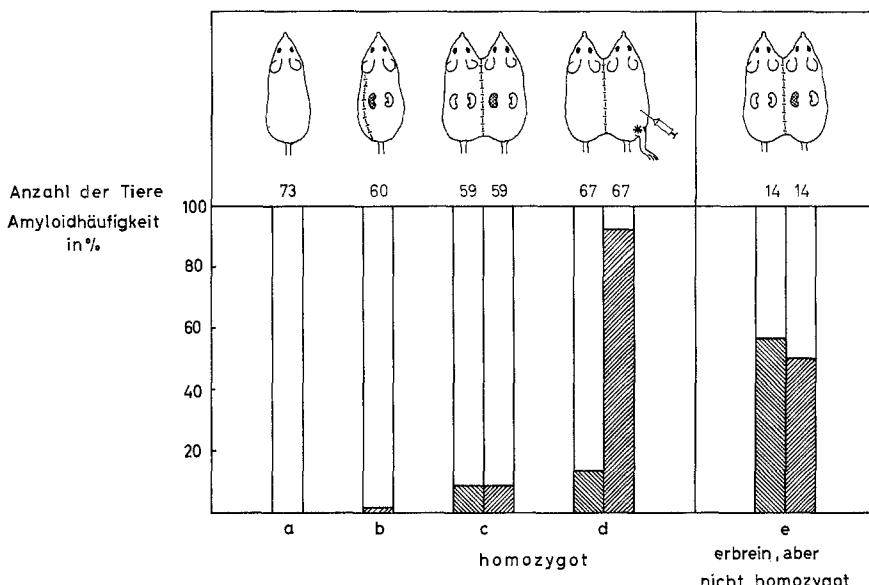


Abb. 1a—e. Amyloidhäufigkeiten beim Übertragungsversuch der Amyloidose im Parabiose-Experiment einschließlich der Kontroll-Parabiosen und früherer Befunde (LINKE, 1966). a Unbehandelte Einzeltiere (Versuchsdauer 2—4 Monate). b Parabiose-Scheinoperation und/oder sterile Nierennekrose (Versuchsdauer 3—5 Wochen). c Parabiose zwischen homozygoten Tieren mit steriler Organnekrose (49 Niere, 10 Hoden) bei einem Partner (Versuchsdauer 2 bis 5 Wochen). d Parabiose zwischen homozygoten Tieren mit Amyloiderzeugung bei einem Partner durch Injektion von Casein, Casein und Freund's Adjuvans oder experimenteller Osteomyelitis des Femurs [Versuchsdauer 2—7 (—15) Wochen]. e Parabiose zwischen nicht ganz homozygoten Inzucht-Tieren mit steriler Nierennekrose bei einem Partner (Versuchsdauer 2—5 Wochen)

finden sich 4 Paare mit doppelseitigem Amyloid. Unter den restlichen 55 Paaren, bei denen keine Eiterung gefunden wurde, fanden wir 5mal doppelseitig Amyloid. Der statistische Vergleich zeigt eine signifikante Differenz ($p = 0,048$).

Bei den Kontrollen wurde unter 59 Paaren 4mal doppelseitig Amyloid gefunden. Alle 4 Paare hatten Abszesse in der Brücke.

4. Histologischer Befund der Organe

Der Unterschied der Amyloidhäufigkeit zwischen beiden Partnern besteht auch in der Amyloidstärke. So zeigt der nichtbehandelte Partner bei den 9 Amyloidfällen immer eine geringere Ausprägung als sein behandelter Partner mit einer einzigen Ausnahme. Unter den Kontrollen ist dieser Unterschied nicht auffallend.

Die Morphologie der Amyloid-Ablagerungen gleicht der von LETTERER (1926) beschriebenen. Die Häufigkeit des Auftretens und die Stärke der Ablagerungen halten folgende Reihenfolge ein: Milz, Leber, Niere. Es trat nie eine Leberamyloidose ohne Milzbefall und nie eine Nierenamyloidose ohne Milz- und Leberamyloid auf. Nierenamyloid sahen wir jedoch nur in einigen Fällen.

Die Stärke der Amyloidablagerungen geht mit einer entsprechenden Mesenchymaktivierung einher, die sich in einem Zellreichtum der roten Milzpulpa mit Lymphocyten-, Riesenzell- und Plasmazellvermehrung und in der Leber in Endothelproliferaten und Proliferationen der Gefäßadventitia der Interlobularvenen

zeigt. In der Niere sieht man gelegentlich an der Rinden-Markgrenze kleine Proliferate der Gefäßadventitia. Die Mesenchymaktivierung zeigt sich auch in den Lymphknoten, die je nach Behandlungsstärke unterschiedlich groß sind und Markstranghyperplasie und Plasmazellvermehrung aufweisen.

Die Parabiosebrücke lässt tadellose Wundheilung und bei einigen Paaren (Tabelle 2) Abscesse erkennen.

Auch der amyloidfreie unbehandelte Partner zeigt eine Mesenchymaktivierung, die besonders in der Milz zu erkennen ist. Noch geringer ist die Mesenchymaktivierung bei den Kontrollen, wohl als Folge der Vereinigung.

Diskussion

1. Amyloid bei Parabiose

Allein durch die Maßnahme der Parabiose ist Amyloid hervorgerufen worden (HALL und HALL, 1959; ARRAS und THIERFELDER, 1962; WILLIAMS, 1964; WALZ et al., 1964; WALFORD und HILDEMANN, 1964; LINKE, 1966).

Die Häufigkeit ist in beiden Partnern immer etwa gleich, da die auslösende Ursache in der Parabiosebrücke liegt. Das zeigen einerseits auch unsere homozygoten Kontroll-Parabiosen, deren geringer Amyloidbefall vor allem auf begleitende Infektionen in der Brücke zurückgeführt werden kann, und andererseits unsere nicht homozygoten Paare mit erheblicher Amyloidbildung (Abb. 1, e), deren Ursache wahrscheinlich in einer hyperergischen Entzündung mit Inkompabilitätserscheinungen und begleitenden Eiterungen in der Brücke zu suchen ist.

Homozygote Paare erkranken hingegen nicht an Amyloidose, sofern Eiterungen vermieden werden können (ARRAS und THIERFELDER, 1962; WALZ et al., 1964).

2. Fehlende Amyloidübertragung

Folgende Gründe machen eine Übertragung der Amyloidose in unseren Versuchen unwahrscheinlich:

- Es besteht eine hochsignifikante Differenz der Amyloidhäufigkeiten zwischen behandeltem und unbehandeltem Partner bei intakter Anstomose.
- Die Amyloidhäufigkeit des unbehandelten Partners unterscheidet sich statistisch nicht von der unserer Kontrollpaare.
- Bei 12 Paaren mit Eiterungen in der Brücke waren die doppelseitigen Amyloidfälle signifikant häufiger als bei den übrigen 55 Paaren ohne erkrankte Eiterung.
- Eine stärkere Behandlung (gemessen am Amyloidbefall) führte nicht zu vermehrt doppelseitigen Amyloidfällen.

Auch bei den Kreuzversuchen blieb die Übertragung aus. Von der Vorstellung LETTERERS (1925, 1926, 1934) ausgehend, nach der das Amyloid ein Präcipitat einer Autoantikörper-Reaktion gegen körpereigenes abgewandeltes Gewebe darstellt, könnte die fehlende Übertragung auf einer Antikörperbildung gegen ausschließlich den behandelten Partner hin erfolgen. Um diese Möglichkeit auszuschließen, führten wir eine Übertragung von Gewebe des unbehandelten Partners auf den behandelten durch. Die bei der Nekrose gebildeten Antikörper hätten sich dann vor allem gegen den unbehandelten Partner richten müssen.

3. Hämodynamik zwischen Parabiose-Tieren

Der negative Ausgang des Übertragungsversuches lässt zunächst an der Effektivität des Austausches überhaupt zweifeln. Deshalb bestimmten wir den Beginn

und die Größe des Blutflusses an denselben Paaren in der Zeit nach der Parabioseoperation (LINKE et al., 1968). Der Blutfluß beginnt um die 50. Std nach der Parabioseoperation, steigt dann in den folgenden Tagen rasch, dann langsamer an und erreicht etwa nach 6wöchiger Parabiose einen Wert von 17,2 mg/min ($s = \pm 8,5$). Die Halbwertszeit beträgt 23 min, d.h., die Hälfte des intravenös einem Partner injizierten Indicators (^{51}Cr -Erythrocyten) tritt in 23 min in den anderen Partner über.

Das schließt eine Ineffektivität der Anstomose aus.

Ebenso wie Erythrocyten treten auch Bluteiweißkörper (HÖLSCHER und OEFF, 1959), Antikörper (RANZ und EHRLICH, 1909; FRIEDBERGER und NASSETI, 1909) und Autoantikörper (LIPTON und FREUND, 1953; PFEIFFER et al., 1960; LANGE et al., 1961; OTTO und PFEIFFER, 1963) in den anderen Partner über. Es gibt aber auch Stoffe, die kaum oder nicht nachweisbar übertragen, z.B. Äther, Eviapan (LINKE, 1966), Geschlechtshormone (HILL, 1932; HUFF et al., 1950), Corticoide (HÖLSCHER, 1960/61), Vitamin A (DRAGSTEDT und COOPER, 1923). Es besteht also für bestimmte Stoffe eine Schranke, die HILL (1932) als erster beschrieben hat und deren relativen Charakter HUFF et al. (1950) bewiesen haben.

4. Die „relative Parabiose-Schranke“, „parabiotic barrier“ (HUFF et al., 1950)

Eine in einen Partner injizierte oder in einem Partner gebildete Substanz zeigt nur dann in beiden Tieren den gleichen Blutspiegel, wenn diese Substanz solange im Blute verweilt, bis sich ein etwa gleicher Blutspiegel eingestellt hat. Bei kürzerer Verweildauer zeigt der unbehandelte Partner einen geringeren Blutspiegel. Die Differenz nimmt zu mit der Abnahme der Verweildauer im Blut. Im Extremfall kann im unbehandelten Partner die biologische, chemische usw. Nachweisgrenze unterschritten werden mit der Folge einer fehlenden Übertragung bei intaktem Blutaustausch. Diese „Schranke“ beruht also nicht auf anatomischer, sondern auf funktioneller Ursache. Sie besteht nicht an sich, sondern immer nur bezogen auf eine Substanz. Ihren relativen Charakter zeigt sie daran, daß sie durch Veränderung der für sie wichtigen Größen durchbrochen werden kann, so daß eine nicht nachweisbar ausgetauschte Substanz nun auf den anderen Partner nachweisbar übertritt. Wir nannten sie deshalb die „relative Parabiose-Schranke“. Im Gegensatz dazu steht die „absolute Parabiose-Schranke“. Sie ist Folge eines fehlenden Austausches und damit anatomischer Ursache (LINKE et al., 1968).

Die Kenntnis der Größe des Blutflusses und das Verständnis der „relativen Parabiose-Schranke“ sind unerlässlich für die Deutung der fehlenden Amyloidübertragung. Man kann nämlich umgekehrt bei differenten Wirkungen in beiden Parabiose-Tieren einen noch unbekannten Stoff hinsichtlich seiner Verweildauer im Blut charakterisieren, wenn der Blutfluß bekannt ist. Diese Tatsache haben wir uns für die Deutung der ausgebliebenen Amyloidübertragung zunutze gemacht.

5. Amyloid-Agens

Aus der örtlichen Verschiedenheit zwischen Primärerkrankung (z.B. Osteomyelitis) und Sekundärkrankheit (Amyloidose) ist ein Agens als Vermittler zwischen beiden zu fordern. Die enge Beziehung der Amyloidose zu den reticuloendothelialen Geweben läßt eigentlich nur an ein humorales Agens denken, das mit dem Blutstrom diesem zugeführt wird.

Welcher Natur könnte aber das geforderte Agens sein ?

Der negative Ausgang des Amyloidübertragungsversuches läßt darauf schließen daß unter unseren Versuchsbedingungen für das Amyloid-Agens eine relative Parabiose-Schranke besteht. Die an den verwendeten Mäuseparabiosen gemessenen Blutflußwerte gestatten deshalb eine Aussage über die Clearance bzw. die Halbwertszeit des Faktors, der das beobachtete Amyloid hervor- oder mithervorruft.

Das Fehlen eines der Stärke der Provokationsmethoden entsprechenden Amyloidbefalls im unbehandelten Partner läßt auf einen hohen Konzentrationsgradienten für das Amyloid-Agens in der Parabiosebrücke schließen, d.h., die Clearance dürfte bedeutend über dem durchschnittlichen Wert von 17,2 mg Blut pro Minute und die Halbwertszeit weit unter 23 min liegen.

Der periphere, in Richtung des Blutstromes nach zentral abnehmende Amyloidbefall der Leberläppchen fordert von einem der an der Amyloidoseentstehung beteiligten Faktoren, daß er praktisch während der ersten Capillarpassagen peripher im Leberläppchen aus dem Blut eliminiert wird. Der Beginn der Amyloidose in der Leber bei leichten „Fütterungsamyloidosen“ von KUCZYNSKI (1922), MORGENTHORN (1926) sowie MURATA und YOSHIKAWA (1927) sollte ebenfalls für eine hohe Clearance typisch sein.

Die Frage, welche Substanzen die Bedingungen des von uns charakterisierten Agens erfüllen, soll an einigen Beispielen beantwortet werden. Typische Substanzen mit den geforderten kurzen Verweilzeiten im Blut sind:

körperfremde Korpusmuskeln, z.B. Bakterien in kleinen Mengen (JUNGBLUT, 1930), denaturierte, bzw. geschädigte Körperzellen, z.B. Erythrozyten (JANDL et al., 1957), kolloidale Substanzen, z.B. anorganische Kolloide, denaturierte Proteine (HALPERN et al., 1956; BRAUER et al., 1957), Endotoxine (DOERING, 1959; HERRING, 1963), Antigen-Antikörper-Komplexe (DIXON und WEIGLE, 1957), Gamma-Globulin mit Antikörpereigenschaften aus nephrotoxischem Antiserum (Kaninchen-anti-Ratten-Serum; wahrscheinliche Halbwertszeit unter 30 min (DITSCHUNEIT et al., 1961).

Die Clearance dieser Stoffe (außer dem erwähnten Gamma-Globulin ?) sowie die des Amyloid-Agens, das von den genannten Substanzen verschieden sein kann, ist eine aktive Leistung des RES. Die Natur des Agens ist also stofflich noch nicht charakterisiert. Möglich sind alle Substanzen oder Teilchen mit kurzer Verweildauer im Blut, die zur Amyloidose führen können. Möglich sind von Fall zu Fall wechselnde oder mehrere gleichzeitig wirkende Stoffe.

Können Bluteiweißkörper Amyloid-Agens sein ?

Normale Bluteiweißkörper unterscheiden sich vom Amyloid-Agens durch ihre wesentlich längere Verweildauer im Blut (MCFARLANE, 1957; D'ADDABBO und KALEE, 1959; MILLS et al., 1961). Das gilt auch für Paraproteine (FRANK et al., 1956). Daher erfüllen Bluteiweißkörper *nicht* die Bedingungen der „relativen Parabiose-Schranke“ mit der Folge, daß Bluteiweißveränderungen des einen Partners immer auch zu ähnlichen Bluteiweißveränderungen im anderen Partner führen.

In einer kürzlich durchgeführten Untersuchung wurde an Einzeltieren und einem Parabiose-Partner (Mäuse-Stamm C57 BL/6J) durch Osteomyelitis eine Bluteiweißveränderung hervorgerufen. Es kam bei dem Einzeltieren und bei beiden (!) Parabiosepartnern zu einer signifikanten Verminderung der Albumine, einer signifikanten Erhöhung der α_2 - und β -Globuline im Vergleich mit unbehandelten Einzeltieren. Die α_1 - und γ -Globuline zeigten keine signifikante Differenz. Besonders hervorgehoben werden muß die Tatsache, daß der geringe Unterschied beider Partner nicht signifikant war.

Die theoretisch geforderte und experimentell gezeigte Ähnlichkeit der Bluteiweißbilder beider Partner unterscheidet sich erheblich von der Amyloidverteilung. Die Bluteiweißveränderungen waren übertragbar, die Amyloidose nicht. Das läßt an der primären oder einzigen Bedeutung der Bluteiweißkörper für die Amyloidbildung zweifeln.

Wenn kreisende Auto-Antikörper die Ursache der Amyloidose wären, dann hätte man eine Übertragung dieser Krankheit erwarten können, da unter diesen Umständen bereits normales Gewebe Antigen ist. Man hätte mit Hilfe der Parabiose eine Übertragung erwarten können analog der Übertragung der allergischen Encephalomyelitis (LIPTON und FREUND, 1953), der experimentellen Glomerulonephritis (PFEIFFER et al., 1960; LANGE et al., 1961) und der Panophthalmitis (OTTO und PFEIFFER, 1963), für deren Zustandekommen Auto-Antikörper verantwortlich gemacht werden.

6. Celluläre Amyloidbildung

Ein Vergleich der eingangs erwähnten zwei Gruppen heute geltender Anschauungen zur Pathogenese der Amyloidose („Infiltrationstheorie“ und „Sekretionstheorie“) mit unseren Ergebnissen läßt daher die Bluteiweißkörper in ihrer primären Bedeutung für die Amyloidgenese hinter die Rolle der reticulo-endothelialen Gewebe zurücktreten.

Der von uns als Amyloid-Agens bezeichnete Stoff mit kurzer Verweildauer im Blut und der Fähigkeit, Amyloid hervorbringen zu können, ist Substanzen, Partikeln und Zellen ähnlich, die in kurzer Zeit von reticulo-endothelialen Geweben aus dem Blut aufgenommen werden können.

Die Aufnahme führt zu funktionellen Änderungen, die mit den von TEILUM (1956) gefundenen vergleichbar sein kann. TEILUM fand regelmäßig eine der Amyloidbildung vorangehende zweiphasige Zelländerung im Bereich des reticulo-endothelialen Gewebes der Milz in Form zunächst pyroninophiler und danach PAS-positiver Zellen. Letztere sind nach seiner Ansicht die Amyloidbildner. Andere Untersucher betonen ebenfalls die Bedeutung der RES-Zellen für die Amyloidbildung (DOMAGK, 1924; SMETANA, 1927; RASK-NIELSEN et al., 1960; BATTAGLIA, 1962).

Aber auch Plasmazellen wurde eine wichtige Rolle in der Amyloidgenese zugeschrieben. LETTERER, CAESAR und VOGL (1960) fanden elektronenoptisch an Plasmazellen bei experimenteller Amyloidose stark erweiterte Ergastoplasmalschlüsse, die manchmal rupturiert waren und ihren Inhalt ins Interstitium abgaben. Dieser Inhalt soll in einer Antigen-Antikörper-Reaktion als Amyloid niedergeschlagen werden. Für diese Ansicht soll der Befund komplementbindender Substanzen im Amyloid sprechen. Wie die genannten Autoren fanden auch wir in Milz, Leber und Lymphknoten vermehrt Plasmazellen, jedoch nicht in räumlicher Beziehung zu den Amyloidablagerungen. Vielmehr sahen wir zahlreiche Endothelzellen in der Nähe von und eingeschlossen in Amyloid. Auch entsprach die Stärke der Amyloidablagerungen nicht der Menge der Plasmazellen. So fanden wir z. B. in den stark vergrößerten Lymphknoten die meisten Plasmazellen, dagegen niemals Amyloid.

DRUET und JANIGAN (1966) fanden hingegen auf Grund ihrer Untersuchungen an bursektomierten und thymektomierten Küken nach späterer Azocasein-Be-

handlung in gleicher Häufigkeit Amyloid wie bei unbehandelten Tieren. Sie folgern daraus, daß die Plasmazellen keine entscheidende Rolle bei der Amyloidbildung spielen können.

Histologisch sahen sie außerdem die ersten Amyloidablagerungen in der Milz in unmittelbarer Nähe von reticulo-endothelialen Zellscheiden um die perifollikulär gelegenen Milzarteriolen.

Bemerkenswert sind die Befunde von COHEN, GROSS und SHIRAHAMA (1965), die in der Gewebekultur die Amyloidbildung ohne Anwesenheit von Bluteiweißkörpern und Fasern an in vivo transformierten RES-Zellen beobachten konnten.

Auch die erfolgreichen Übertragungsversuche von WERDELIN und RANLOV (1959) und HULTGREN, DRUET und JANIGAN (1967) wurden an in vivo transformierten reticulo-endothelialen Zellen vorgenommen. Es scheint, daß bis heute nur infolge bestimmter Maßnahmen in vivo veränderte RES-Zellen Amyloid bilden können.

Diese zum Amyloid führenden Zellveränderungen könnten eventuell durch das von uns angenommene Agens ausgelöst sein.

7. Möglichkeiten der Amyloidübertragung

Unter den geschilderten Versuchsbedingungen war die Amyloidose im Parabioseexperiment nicht übertragbar. Ist sie überhaupt in Parabiose übertragbar?

Wir nehmen für die Entstehung der sekundären Amyloidose ein auslösendes Agens an, das mit dem Blutstrom vom Sitz der Primärerkrankung den reticulo-endothelialen Geweben zugeführt, von diesen phagozytiert wird und in deren Nähe zur Sekundärkrankheit Amyloidose führt. Dieses Amyloid-Agens gelangt über die Anastomose auch in den nichtbehandelten Partner, jedoch innerhalb der Versuchszeit von etwa 6 Wochen nur in solch geringer Menge, daß es nur zu einer Mesenchymaktivierung vor allem in der Milz, hingegen nicht zur Amyloidbildung kommt bei meist starker Amyloidose des behandelten Partners.

Diesen unterschiedlichen Amyloidbefall von behandeltem und unbehandeltem Partner führen wir auf die relative Parabiose-Schranke zurück, der das Amyloid-Agens offenbar unterliegt. Die Parabiose-Schranke kann durchbrochen werden. So kann u.U. eine Erhöhung des Wirkspiegels im behandelten Partner, eine Vergrößerung des Blutflusses, eine Verlängerung der Wirkdauer, eine Verlängerung der Verweildauer im Blut sowie eine Herabsetzung der „Amyloidschwelle“ zur Amyloidose des nicht behandelten Partners führen. Unter geeigneten Bedingungen müßte die Amyloidose also in Parabiose übertragbar sein.

Betont werden muß allerdings, daß der Konzentrationsgradient des Amyloid-Agens zwischen beiden Partnern erheblich sein muß, da es trotz eines ^{51}Cr -Erythrocytenzuflusses mit einer Halbwertszeit von durchschnittlich 23 min durch die Anastomose bei uns nicht zu einer Übertragung der Amyloidose gekommen ist.

Literatur

- ALBRECHT, W.: Über Veränderungen des Weltmannschen Coagulationsbandes während der experimentell erzeugten Amyloidose bei Mäusen. *Klin. Wschr.* **28**, 720 (1950).
- ARRAS, H., u. S. THIERFELDER: Parabiose und Amyloidose. *Frankfurt. Z. Path.* **72**, 63—74 (1962).
- BATTAGLIA, S.: Elektronenoptische Untersuchungen am Leberamyloid der Maus. *Beitr. path. Anat.* **126**, 300—320 (1962).

- BOHLE, A., F. HARTMANN u. W. POLA: Elektrophoretische Serumweißuntersuchungen bei experimentellem Mäuseamyloid. *Virchows Arch. Path. Anat.* **319**, 231—246 (1950).
- BRAUER, R. W., R. J. HOLLOWAY, and G. LEONG: Temperature effects on radiocolloid uptake by the isolated rat liver. *Amer. J. Physiol.* **189**, 24 (1957).
- BUNSTER, E., and R. K. MEYER: An improved method of parabiosis. *Anat. Rec.* **57**, 339 (1933).
- CHRISTENSEN, H. E., and G. H. HJORT: Spleen-shielding in X-irradiation-accelerated experimental amyloidosis in mice. *Acta path. microbiol. scand.* **48**, 1 (1960).
- , and R. RASK-NIELSEN: Comparative morphologic, histochemical, and serologic studies on the pathogenesis of casein-induced and reticulo-sarkoma-induced amyloidosis in mice. *J. nat. Cancer Inst.* **28**, 1 (1962).
- COHEN, A. S., E. CALKINS, and P. F. MULLINAX: Studies in experimental amyloidosis. III. The effect of cortisone administration on the incidence of casein-induced amyloidosis in the rabbit. *Arch. intern. Med.* **110**, 569 (1962).
- E. GROSS, and T. SHIRAHAMA: The light and electron microscopic autoradiographic demonstration of local amyloid formation in spleen explants. *Amer. J. Path.* **47**, 1079—1091 (1965).
- D'ADDABBO, A., u. E. KALLEE: ^{131}I -Serumproteine und Schilddrüse. *Z. Naturforsch. B* **14**, 240 (1959).
- DICK, G. F., and L. LETTER: Experimental amyloidosis and hyperglobulinemia. *Trans. Ass. Amer. Physcns.* **52**, 246 (1937).
- — Some factors in the development, localization and reabsorption of experimental amyloidosis in the rabbit. *Amer. J. Path.* **17**, 741 (1941).
- DIRTSCHUNEIT, H., A. OHEBSCHALON u. E. F. PFEIFFER: Studien zur „Übertragung“ der Mangu-Nephritis der Ratte. V. Die Kinetik der Elimination von Kaninchen-Anti-Ratten-Nieren-Globulin, Kaninchen- γ -Globulin, Human-Albumin und Human- γ -Globulin bei der Ratte. *Z. ges. exp. Med.* **134**, 148 (1961).
- DIXON, F. J., and W. O. WEIGLE: The relationship of the rates of serum protein metabolism, heterologous serum protein catabolism, and the time and magnitude of the antibody response. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **70**, 69 (1957).
- DOERING, P., H. CLEMENS u. E. FRITZE: Die Verteilung eines markierten Endotoxins im Organismus. *Z. ges. exp. Med.* **131**, 334 (1959).
- DOMAGK, G.: Untersuchungen über die Bedeutung des RES für die Vernichtung von Infektionserreger und für die Entstehung des Amyloids. *Virchows Arch. path. Anat.* **253**, 595—638 (1924).
- Das Amyloid und seine Entstehung. *Ergebn. inn. Med. Kinderheilk.* **28**, 47 (1925).
- DRAGSTEDT, L. R., and E. F. COOPER: Parabiosis in the study of deficiency disease. *Amer. J. Physiol.* **67**, 48 (1923).
- DRUET, R. L., and D. T. JANIGAN: Experimental amyloidosis. Amyloid induction with a soluble protein antigen in intact, burssectomized and thymectomized chickens. *Amer. J. Path.* **49**, 1103—1123 (1966).
- EKLUND, C. M., and H. A. REIMAN: The etiology of amyloid disease with a note on experimental renal amyloidosis. *Arch. Path.* **21**, 1 (1936).
- FRANK, W. P., F. MEYER, and A. MRKVYAKE: Proteins in multiple myeloma. V. Synthesis and excretion of Bence-Jones protein. *J. biol. Chem.* **221**, 517 (1956).
- FRIEDBERGER, E., u. NASSETI: Über die Antikörperbildung bei parabiotischen Tieren. *Wien. klin. Wschr.* **49**, 1735 (1909).
- GÖSSNER, W., G. SCHNEIDER, M. SIESS u. H. STEGMANN: Morphologisches und humorales Stoffwechselgeschehen in Leber, Milz und Blut im Verlauf der experimentellen Amyloidose. *Virchows Arch. path. Anat.* **320**, 326—373 (1951).
- HALL, C. E., O. HALL, and E. CROSS: Amyloidosis induced by parabiosis in “genetically homogenous” mice. *Arch. Path.* **68**, 657—668 (1959).
- HALPERN, B. N., G. BIOZZI, B. BENACERRAF, C. STIFFEL et D. B. HILLEMAND: Cinétique de la phagocytose d'une serum albumine humaine spécialement traitée et radiomarquée et son application à l'étude de la circulation hépatique chez l'homme. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **150**, 1307 (1956).
- HELLER, H., H. P. MISSMAHL, E. SOHAR, and J. GAFNI: Amyloidosis: Its differentiation into perireticulin and pericollagen types. *J. Path. Bact.* **88**, 15 (1964).

- HERRING, W. B., J. C. HERION, R. J. WALKER, and J. G. PALMER: Distribution and clearance of circulating endotoxin. *J. clin. Invest.* **42**, 79 (1963).
- HILL, R. T.: Blood exchange and hormonal reactions in parabiotic rats. *J. exp. Zool.* **63**, 203 (1932).
- HÖLSCHER, B.: Die Parabioseschanke für die Corticosteroide in ihrer Bedeutung für die Hämodynamik der Ratte. *Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch.* **11**, 364 (1960/61).
- , u. K. OEFF: Die histologische Struktur der Anastomose bei parabiotischen Ratten in ihrer Beziehung zum Austausch von ^{131}I -markiertem Serumweiß. *Z. ges. exp. Med.* **131**, 262 (1959).
- HOROWITZ, R. E., V. W. STUYVESANT, W. WIGMORE, and D. TATTER: Fibrinogen as a component of amyloid. *Arch. Path.* **79**, 238—244 (1965).
- HUESTIS, D. W., and E. A. JAEGER: Studies on serum proteins, glucoproteins and sialic acid in experimental amyloidosis. *Arch. Path.* **70**, 166—170 (1960).
- HUFF, R. L., R. TRAUTMAN, and D. C. VAN DYKE: Nature of exchange in parabiotic rats. *Amer. J. Physiol.* **161**, 56 (1950).
- HULTGREN, M. K., R. L. DRUET, and D. T. JANIGAN: Experimental amyloidosis in isogeneic X-irradiated recipients of sensitized spleen tissue. *Amer. J. Path.* **50**, 943—955 (1967).
- JANDL, J. H., J. R. JONES, and W. B. CASTLE: The destruction of red cells by antibodies in man. I. Observation on the sequestration and lysis of red cells altered by immune mechanisms. *J. clin. Invest.* **36**, 1428 (1957).
- JOHANSSON, G. A.: Elektrophoreseuntersuchungen im Blut und Harn von Amyloidosen mit und ohne Amyloidnephrose. *Klin. Wschr.* **27**, 68 (1949).
- JUNGEBLUT, C. W.: Die Bedeutung des reticuloendothelialen Systems für die Infektion und Immunität. *Ergebn. Hyg. Bakt.* **11**, 1 (1930).
- KUCZYNSKI, M. H.: Edmund Goldmann's Untersuchungen über celluläre Vorgänge im Gefolge des Verdauungsprozesses auf Grund nachgelassener Präparate dargestellt und durch neue Versuche ergänzt. *Virchows Arch. path. Anat.* **239**, 185—302 (1922).
- LANG, K., M. WACHSTEIN, and S. E. MCPHERSON: Immunologic mechanism of transmission of experimental glomerulonephritis in parabiotic rats. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **106**, 13 (1961).
- LATVALAHTI, J.: Experimental studies on the influence of certain hormones on the development of amyloidosis. *Acta endocr. (Kbh.)*, Suppl. **16** (1953).
- LETTERER, E.: Ein Beitrag zur experimentellen Amyloidfrage. *Verh. dtsch. path. Ges.* **20**, 301—304 (1925).
- : Studien über Art und Entstehung des Amyloid. *Beitr. path. Anat.* **75**, 486—588 (1926).
- : Neue Untersuchungen über die Entstehung des Amyloid. *Virchows Arch. path. Anat.* **293**, 34—72 (1934).
- : Untersuchungen über den Einfluß verschiedenartiger Ernährung auf die experimentelle Amyloidose. *Virchows Arch. path. Anat.* **317**, 1—25 (1949).
- : Die Amyloidose im Lichte neuer Forschungsmethoden. *Dtsch. med. Wschr.* **75**, 15—19 (1950).
- : R. CAESAR u. A. VOGT: Studien zur elektronenoptischen Struktur des Amyloids. *Dtsch. med. Wschr.* **85**, 1909—1910 (1960).
- LINKE, R. P.: Das Parabioseexperiment und seine Anwendung zur Klärung einiger Fragen der Amyloid-Pathogenese. *Inaug.-Diss. Tübingen* 1966.
- : H. KUNI u. E. WECHSELBERGER: Quantitative Bestimmung des Blutaustausches zwischen homozygoten Parabiose-Mäusen. *Z. ges. exp. Med.* (im Druck).
- LIPTON, M. M., and J. FREUND: The transfer of experimental allergic encephalomyelitis in rat by means of parabiosis. *J. Immunol.* **71**, 380 (1953).
- LOESCHKE, H.: Vorstellungen über das Wesen von Hyalin und Amyloid auf Grund von serologischen Versuchen. *Beitr. path. Anat.* **77**, 231—239 (1927).
- MAXIMOW, A.: Über die experimentell hervorgerufene Amyloid-Entartung der Leber. *Virchows Arch. path. Anat.* **153**, 353—401 (1898).
- MFARLANE, A. S.: The behaviour of ^{131}I -labeled plasma-protein in vivo. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **70**, 19 (1957).
- MILLS, J. A., E. CALKINS, and A. S. COHEN: The plasma disappearance time and catabolic half-life of ^{131}I -labeled normal human gamma globulin in amyloidosis and in rheumatoid arthritis. *J. clin. Invest.* **40**, 1926 (1961).

- MISSMAHL, H. P.: Welche Beziehungen bestehen zwischen den verschiedenen Formen der Amyloidose und den Bindegewebsfasern? *Verh. Kongr. inn. Med.* **65**, 439 (1959).
- MORGENSTERN, Z.: Zur Frage über Amyloidose und Resorption. *Virchows Arch. path. Anat.* **259**, 698—725 (1926).
- MURATA, M., u. S. YOSHIKAWA: Experimentelle Erzeugung von Amyloidose durch orale und parenterale Verabreichung der Kieselsäure und einer ihrer Verbindungen. *Virchows Arch. path. Anat.* **264**, 587—604 (1927).
- OTTO, J., u. E. F. PFEIFFER: Die Übertragung der experimentellen Panophthalmitis der Ratte durch Parabiose. *Mbl. Goslar. Verb. naturw. med. Ver.* **142**, 139 (1963).
- PAVLIKHINA, L. V., and V. V. SEROV: Pathogenesis of amyloidosis. *Fed. Proc.* **22**, T 531 (1963).
- PERNIS, B., G. SCHNEIDER u. C. WUNDERLY: Quantitative Aminosäurenanalyse von Amyloidsubstanz, elektrophoretischen Serumweißfraktionen und Bindegewebsprotein. *Ärzt. Forsch.* **7**, 454 (1953).
- PFEIFFER, E. F., H. DITSCHUNET, K. FERLIN, I. MOSLER, R. OHEBSCHALON u. W. SANDRITTER: Immunelektrophoretische und fluoreszensmikroskopische Untersuchungen an der durch Parabiose übertragenen experimentellen Glomerulonephritis der Ratte. *Klin. Wschr.* **38**, 611 (1960).
- RANDERATH, E.: Zur pathologischen Anatomie der sog. Amyloidnephrose. Zugleich ein Beitrag zur Frage der allgemeinen Amyloidose als Paraproteinose. *Virchows Arch. path. Anat.* **314**, 388—459 (1947).
- RANZI, E., u. H. EHRLICH: Über Antikörperbildung bei parabiotischen Tieren. *Wien. klin. Wschr.* **49**, 1735 (1909).
- RASK-NIELSEN, R., H. E. CHRISTENSEN, and J. CLAUSEN: Electrophoretic and morphologic studies of a transplantable reticulum-cell neoplasm in mice inducing amyloidosis. *J. nat. Cancer Inst.* **25**, 315 (1960).
- REIMAN, H. A., and C. M. EKLUND: The etiology of amyloid disease with a note on experimental renal amyloidosis. *Arch. Path.* **21**, 1 (1936).
- RICHTER, G. W.: Alterations in serum globulins during the formation and resorption of amyloid in rabbits. *J. exp. Med.* **104**, 847 (1956).
- SCHMIDT, M. B.: Referat über Amyloid. *Verh. dtsch. path. Ges.* **7**, 2 (1904).
- SCHNEIDER, G.: Das Bluteiweißbild bei experimenteller Amyloidose. *Virchows Arch. path. Anat.* **317**, 26—33 (1949).
- Über die Pathogenese der Amyloidose. Immunologische, histochemische und morphologische Untersuchungen. *Habil.-Schr.*, Tübingen (1962).
- SMETANA, H.: The relation of the reticuloendothelial system to the formation of amyloid. *J. exp. Med.* **45**, 619 (1927).
- STRUKOV, A. I., V. V. SEROV, and L. V. PAVLIKHINA: On the pathogenesis of amyloidosis. *Virchows Arch. path. Anat.* **336**, 550—563 (1963).
- TEILUM, G.: Periodic acid-Schiff-positive reticuloendothelial cells producing glycoprotein. Functional significance during formation of amyloid. *Amer. J. Path.* **32**, 945 (1956).
- VAZQUEZ, J. J., and F. J. DIXON: Immunohistochemical analysis of amyloid by the fluorescence technique. *J. exp. Med.* **104**, 727 (1956).
- WALFORD, R. L., and W. H. HILDEMANN: Chronic and subacute parabiotic reactions in the Syrian hamsters. *Transplant. Bull.* **2**, 87 (1964).
- WALZ, U. M., A. MAYER u. D. VOGEL: Untersuchungen an homozygoten und heterozygoten, 6-Mercaptopurin-behandelten Mäuseparabiosen unter besonderer Berücksichtigung der Amyloidentstehung. *Frankfurt. Z. Path.* **73**, 346—362 (1964).
- WERDELIN, O., and P. RANDLOV: Amyloidosis in mice produced by transplantation of spleen cells from casein-treated mice. *Acta path. microbiol. scand.* **47**, 140 (1959).
- WILLIAMS, G.: Amyloidosis in parabiotic mice. *J. Path. Bact.* **88**, 35 (1964).