ARBEITEN AUS DEM STAATLICHEN INSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE UND DEM FORSCHUNGSINSTITUT FÜR CHEMOTHERAPIE ZU FRANKFURT A. M.

HERAUSGEGEBEN VON

DR. **RICHARD OTTO**

DIREKTOR DES STAATLICHEN INSTITUTS FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE
UND DES FORSCHUNGSINSTITUTS FÜR CHEMOTHERAPIE ZU FRANKFURT A. M.
HONORARPROFESSOR AN DER JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT

Heft 38

1. Otto, Richard. Bericht über die Tätigkeit des Forschungsinstituts für Chemotherapie zu Frankfurt a. M. in der Zeit vom August 1935 bis Ende Februar 1939. (S. 1—24.)
2. Schäfer, Walther. Antianaphylaxie und anaphylaktischer Antikörper im Blut. Mit 2 Abbild. im Text. (S. 25—44.)
3. Rothermundt, M. und Burschkies, K. Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen. Mit 1 Abbild. im Text. (S. 45—64.)
4. Otto, R. und Wohlrab, R. Experimentelle Untersuchungen über Rickettsien-Impfstoffe gegen Fleckfieber. (S. 64—84.)
5. Wohlrab, R. Beiträge zur Chemotherapie des Fleckfiebers. Mit 2 Abbild. im Text. (S. 85—90.)
6. Schäfer, Wilhelm. Die mathematisch-statistische Bewertung von Stichproben und deren Bedeutung für die Beurteilung von Tierversuchen. Mit 6 Abbild. im Text. (S. 91—114.)

Mit 11 Abbildungen im Text

JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER
1939

Verlag von Gustav Fischer in Jena

Die Methoden der experimentellen Chemotherapie

Von

Prof. Dr. **Claus Schilling**

Abteilungsdirektor i. R. am Institut Robert Koch

Mit 18 Abbildungen im Text

III, 104 S. gr. 8° 1938 RM 4.50

Inhalt: Einleitung. / 1. Technik der experimentellen Infektion und Behandlung. 2. Chemotherapie bakterieller Infektionen. 3. Chemotherapie der Spirochäteninfektionen. 4. Chemotherapie der Protozoeninfektionen. 5. Chemotherapie der Infektionen mit Würmern (Helminthiasis). 6. Infektionen mit Rickettsien. 7. Infektionen mit Bartonellen. 8. „Virus"-Infektionen. 9. Chemotherapie der experimentell erzeugten Tumoren. 10. Versuche zur Therapie der chemotherapeutischen Wirkung. 11. Besondere Wirkungen einzelner Chemotherapeutika. 12. Methoden zum Nachweis einiger Chemotherapeutika. / Literatur. Register.

Berichte üb. d. ges. Biologie. B, Bd. 108 (1938), 5/6: Dieses Werk hat der modernen Literatur schon lange gefehlt, da außer einigen Spezialartikeln in Abderhaldens Handbuch recht wenig zusammenfassende Literatur über die Technik der experimentellen Chemotherapie vorhanden ist. Verfasser erledigt sich der Aufgabe, Taktik und Methodik des chemotherapeutischen Kampfes zu schildern, in gründlicher Weise, da er praktisch alle chemotherapeutisch faßbaren Infektionskrankheiten auf gegebenem Raume behandelt. . . . Besonders eingehend befaßt sich Verfasser auch mit den verschiedenen Theorien, Anschauungen und Beweisen über den Wirkungsmechanismus der Chemotherapeutika. . . . Oesterlin

Zentralblatt f. d. ges. Hygiene. Bd. 42 (1938), 5/6: . . . Wer souverän die Materie beherrschen will, muß Kenntnis über Aufbau und Synthese der chemotherapeutisch wirkenden Stoffe besitzen, deren wichtigsten Repräsentanten von Schilling angeführt werden. Ihre physikalischen Eigenschaften, ihr Eindringungsvermögen in die Erreger sowie ihre Nachweisbarkeit müssen in der Methodik dem Experimentator bekannt sein, Dinge, die vom Verf. an Hand prägnanter Beispiele aus den Forschungsergebnissen der letzten Jahre dem Leser vor Augen geführt werden. Die Abhandlung gehört in die Bibliothek jedes Experimentators, der auf dem Gebiete der Chemotherapie selbständig arbeiten will.
E. Berger, Basel

Klinische Wochenschrift. 1938, Nr. 38: In seiner frischen, sympathischen Art läßt der Autor den Leser an einem Streifzug durch die Gefilde der Chemotherapie teilnehmen. Besondere Berücksichtigung findet die biologische Seite der chemotherapeutischen Methoden und Probleme, die Verf. in Beispielen schildert. Bei der Fülle des Stoffes, der überdies noch in der Literatur weit verstreut ist, war Vollständigkeit verständlicherweise unmöglich. Dem Arzt gibt das Buch eine fesselnde Einführung in ein schwieriges Forschungsgebiet, der Fachmann wird sich des Buches gern zur Orientierung über Einzelfragen bedienen.
W. Schulemann, Bonn

Münch. medizin. Wochenschrift. 1938, Nr. 46: Das Buch beschreibt zuerst die Technik der experimentellen Infektion und Behandlung im allgemeinen und geht dann sehr klar und ausführlich auf die Besonderheiten des technischen und methodischen Vorgehens bei der experimentellen Infektion der einzelnen Gruppen pathogener Erreger ein. Davon sind erfaßt Bakterien, Spirochäten, Protozoen, Rickettsien, Bartonellen, ferner Helminthen und Virusarten. Den Abschluß bildet die Chemotherapie der experimentellen Tumoren. Ueberall werden die wichtigsten Chemotherapeutika mit ihren wesentlichen Merkmalen, der chemischen Struktur usw. angeführt.

Neben den technischen und methodischen Angaben ist die biologische Seite der Fragestellungen besonders berücksichtigt. Ein eigener umfangreicher Abschnitt befaßt sich mit Versuchen, die zur Klärung der Theorie der chemotherapeutischen Wirkung dienen, wobei auch das Problem: Chemische Struktur und therapeutische Wirkung gestreift wird. Das kleine Werk ist sehr lebendig geschrieben, so daß es nicht nur der Fachmann, sondern auch der interessierte praktische Arzt mit Nutzen zu Rate ziehen wird.
A. W. Forst, München

Dr. med. vet. G. Eichler

ARBEITEN AUS DEM STAATLICHEN INSTITUT FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE UND DEM FORSCHUNGSINSTITUT FÜR CHEMOTHERAPIE ZU FRANKFURT A. M.

HERAUSGEGEBEN VON

DR. **RICHARD OTTO**

DIREKTOR DES STAATLICHEN INSTITUTS FÜR EXPERIMENTELLE THERAPIE UND DES FORSCHUNGSINSTITUTS FÜR CHEMOTHERAPIE ZU FRANKFURT A. M.
HONORARPROFESSOR AN DER JOHANN WOLFGANG GOETHE-UNIVERSITÄT

Heft 38

1. Otto, Richard. Bericht über die Tätigkeit des Forschungsinstituts für Chemotherapie zu Frankfurt a. M. in der Zeit vom August 1935 bis Ende Februar 1939. (S. 1—24.)
2. Schäfer, Walther. Antianaphylaxie und anaphylaktischer Antikörper im Blut. Mit 2 Abbild. im Text. (S. 25—44.)
3. Rothermundt, M. und Burschkies, K. Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen. Mit 1 Abbild. im Text. (S. 45—64.)
4. Otto, R. und Wohlrab, R. Experimentelle Untersuchungen über Rickettsien-Impfstoffe gegen Fleckfieber. (S. 64—84.)
5. Wohlrab, R. Beiträge zur Chemotherapie des Fleckfiebers. Mit 2 Abbild. im Text. (S. 85—90.)
6. Schäfer, Wilhelm. Die mathematisch-statistische Bewertung von Stichproben und deren Bedeutung für die Beurteilung von Tierversuchen. Mit 6 Abbild. im Text. (S. 91—114.)

Mit 11 Abbildungen im Text

JENA
VERLAG VON GUSTAV FISCHER
1939

Alle Rechte vorbehalten
Printed in Germany

Dr. med. vet. G. Eibner

I.

Bericht über die Tätigkeit des Forschungsinstituts für Chemotherapie zu Frankfurt a. M.

in der Zeit vom August 1935 bis Ende Februar 1939.

Von
Prof. Dr. **Richard Otto,** Geh. Med.-Rat,
Direktor des Instituts.

I. Wissenschaftliche Untersuchungen.

Die wissenschaftlichen Arbeiten des Forschungs-Instituts für Chemotherapie liefen wie in früheren Jahren vielfach in Verbindung mit dem gleichfalls meiner Leitung unterstehenden Staatlichen Institut für experimentelle Therapie. Sie sind daher zum großen Teil auch in dem von mir über die Tätigkeit dieses Instituts erstatteten und inzwischen in den „Veröffentlichungen aus dem Gebiet des Volksgesundheitsdienstes" (Bd. 102) erschienenen „Bericht über die Tätigkeit des Staatlichen Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. in der Zeit vom 1. 4. 1935 bis 31. 3. 1938" erwähnt und gewürdigt worden. Im einzelnen ist über die wissenschaftlichen Arbeiten der verschiedenen Abteilungen des Forschungs-Instituts für Chemotherapie zu Frankfurt a. M. folgendes zu berichten.

Die hauptsächlichsten Arbeitsgebiete der Chemischen Abteilung (Dr. Wagner-Jauregg) betrafen:

1. biochemische Untersuchungen von Tuberkelbazillen (mit Dr. Umezu);
2. Chemotherapie der Lepra und Tuberkulose (mit Dr. H. Arnold, Dr. R. Voigt, Prof. Kudicke und Prof. Prigge[1]);
3. chemotherapeutische Versuche über Fleckfieber, Gonorrhöe und Krebs (mit Geh.-Rat Otto, Dr. Wohlrab, Dr. Schäfer und Dr. Dittmar[2]);
4. synthetische Spasmolytika (mit Dr. H. Arnold und P. Born);
5. die Reinigung des Diphtherietoxins und der Toxine des Shiga-Kruse-Ruhrbazillus (mit Dr. Erica Helmert und Prof. Prigge).

Zu 1) Die Fettsäuren der Tuberkelbazillen wurden näher untersucht; es konnte die Summenformel der „Tuberkelsäure" zu $C_{29}H_{58}O_2$

1) Mitarbeiter aus dem Staatl. Institut für experimentelle Therapie.
2) auf der Krebsabteilung des staatl. Instituts tätig.

ermittelt werden. Die Gerüstsubstanz menschlicher Tuberkelbazillen erwies sich als Lipoid-Kohlehydrat-Protein-Komplex. Das Ergebnis dieser Untersuchung wurde auf dem Internationalen Chemiker-Kongreß im Mai 1938 in Rom vorgetragen.

Zu 2) Eine große Anzahl von Derivaten der Chaulmoograsäure und anderen Fettsäuren wurde dargestellt. Zwei Verbindungen zeigten bei Ratten- und Mäuse-Lepra eine deutliche therapeutische Wirkung und sollen als Grundlage für den weiteren Ausbau der Versuche dienen. Es wurde festgestellt, daß einige Derivate von synthetischen Fettsäuren, die R. Adams und Mitarbeiter in Reagenzglasversuchen gegenüber Leprabazillen ebenso bakterizid wie Chaulmoograsäure fanden, im Tierversuch bei Ratten- und Mäuse-Lepra keine therapeutische Wirkung besitzen.

Im Zusammenhang mit dieser chemotherapeutischen Fragestellung erfolgte die Ausarbeitung einer neuen Synthese für Phosphatidsäuren (mit Dr. H. Arnold). Diese Arbeit diente weiterhin als Ausgangspunkt für die Darstellung von Kupplungsprodukten aus Phosphatidsäuren und Eiweiß. Die dabei gewonnenen Substanzen stellen einen neuen Typus von „Lipoproteiden" dar, der möglicherweise auch in der Natur vorkommt.

Zu 3) Von den für chemotherapeutische Krebsversuche abgegebenen Präparaten besaß eine Chaulmoogra-Verbindung deutlich hemmende Wirkung auf die Entwicklung von Impftumoren. Dagegen konnte die Infektion von Mäusen mit murinem mexikanischen Fleckfiebervirus ebensowenig wie die Infektion von Mäusen mit Gonokokken durch Chemotherapeutica (synthetische Versuche mit Dr. K. Reinemund) beeinflußt werden.

Zu 4) Es wurden chemisch verhältnismäßig einfach gebaute Substanzen synthetisiert, die starke spasmolytische Eigenschaften besitzen. Die besten Präparate waren 5mal so wirksam wie Papaverin und besaßen daneben auch Atropin-Wirkung; einige davon werden gegenwärtig klinisch ausprobiert.

Zu 5) Die Untersuchungen über die Reinigung der Toxine des Diphtherie- und Shiga-Kruse-Ruhrbazillus sind noch im Gange. Es soll darüber im Frühjahr 1939 berichtet werden.

Von Dr. K. Burschkies, dem z. Zt. die chemische Prüfung der Salvarsane obliegt[1]), wurden in den letzten Jahren zahlreiche Organo-Germaniumverbindungen hergestellt und zur Prüfung auf ihre Wirksamkeit abgegeben, da die nach Blair-Bell, sowie nach Krause und Collier im Tierversuch bei Karzinom bewährten Organo-Bleiverbindungen wegen ihrer Giftigkeit beim Menschen nicht brauchbar sind. Trotz der vor 50 Jahren erfolgten Entdeckung des Elementes war das Germanium weder chemisch noch chemotherapeutisch systematisch bearbeitet worden. Ueber die Herstellungsart und das chemische Verhalten der neu gewonnenen und von Dr. Burschkies hergestellten Ge-Verbindungen (vgl. S. 4) sind eine Reihe

1) Vgl. S. 5.

Arbeiten in den Berichten der Deutschen Chemischen Gesellschaft veröffentlicht worden. In chemotherapeutischer Hinsicht wurde festgestellt, daß sich das Germanium nicht dem Blei, sondern dem Zinn anschließt, das sowohl bei Karzinom wie auch bei Infektionskrankheiten unwirksam ist.

Da von organischen Verbindungen des Arsens mit Schwefel nur am Arsen geschwefelte Derivate aromatischer Arsenverbindungen bekannt waren, wurde eine Reihe Thio-Arsenverbindungen hergestellt, die den Oxy-amino-phenyl-arsenverbindungen analog sind, die in die Therapie Eingang gefunden haben. Bei der Umsetzung dieser Arsenikalien mit Gold III-Verbindungen gelang es Dr. Burschkies, zu Goldsalvarsanen und Goldarsinsäuren zu kommen, und somit eine neue Klasse von Schwermetall-Arsenikalien zu erschließen. Die Verbindungen wurden im Tierversuch von Prof. Rothermundt, sowie von Prof. Prigge geprüft.

Durch Einführung verschiedener Substituenten in den Benzolkern, sowie durch chemische Modellierung der Phenylarsinsäuren wurde weiter versucht, die neurotoxischen Eigenschaften der aromatischen Arsinsäuren zu beseitigen, durch die die Einführung derselben in die humane Therapie besonders erschwert wird. In der 4-oxy-3-isobutyryl-aminophenylarsinsäure konnte ein Präparat gefunden werden, das einen besseren therapeutischen Index als das bekannte Spirozid aufweist (vgl. S. 4).

Mit lipoidlöslichen Substanzen wurden Beiträge zur experimentellen Therapie der Lepra und der Tuberkulose geliefert. Von den hergestellten Estern der Chaulmoograsäure und des Chaulmoogrylalkohols hat sich besonders Präparat Sp. H. 823 (Zimtsäurechaulmoogrylester) zur Behandlung der auf Mäuse übertragenen Rattenlepra bewährt. Der Chaulmoograsäureguajacolester ließ bei experimenteller Meerschweinchentuberkulose vielleicht eine gewisse Wirkung erkennen.

Der Krebsabteilung des Staatlichen Instituts wurde eine Reihe von Aetherauszügen aus Weizenkeimlingen zur Nachprüfung der Angaben von Rowntree, Steinberg, Dorrance und Ciccone, nach denen bei Ratten nach Fütterung mit einem Aetherauszug aus Weizenkeimlingen in hohem Prozentsatz Sarkome auftreten, abgegeben. Nach den von Dr. Dittmar dort bis jetzt gemachten Beobachtungen ist dies nicht der Fall.

Ferner wurden Monohalogenkarbonsäureester hergestellt, die von Dr. Dittmar chemotherapeutisch bei Krebsmäusen geprüft wurden. Veröffentlichungen hierüber stehen bevor.

Dr. H. Bauer und Dr. E. Strauss setzten in den Jahren 1935—1936 ihre Untersuchungen über substituierte Proteine mit Arbeiten über die Jodierung des Hämoglobulins, Globins, Nitroglobins und Nitrotyrosins fort und haben über ihre Ergebnisse 1936 berichtet.

Die Experimentell-biologische Abteilung hat sich in den Berichtsjahren vorwiegend mit der experimentellen Auswirkung neuer aro-

matischer Arsenverbindungen beschäftigt, die von Prof. Rothermundt gemeinsam mit Dr. Burschkies nach bestimmten Gesichtspunkten hergestellt worden waren. Es wurde versucht, durch systematisches Vorgehen die gefürchteten neurotoxischen Nebenwirkungen der Arsinsäuren auszuschalten und zugleich zu Verbindungen zu gelangen, die vornehmlich bei peroraler Applikation den bisher handelsüblichen Arsinsäurepräparaten toxikologisch und therapeutisch überlegen sein sollten. Ein Präparat, das an Wirkung insbesondere bei der Rekurrensinfektion dem bekannten Spirozid überlegen zu sein scheint, wurde in der oben erwähnten 4-oxy-3-isobutyrylaminophenylarsinsäure gefunden (vgl. S. 3). Des weiteren konnte festgestellt werden, daß bei den ungesättigten Arsinsäuren, so z. B. der 2-oxy-4-crotonylamino-phenylarsinsäure die neurotoxischen Erscheinungen bei Mäusen nicht mehr auftreten. Die bisher geprüften ungesättigten Verbindungen haben jedoch den Nachteil, daß sie bei der experimentellen Kaninchensyphilis zwar einen Heilerfolg aufweisen, für Kaninchen aber recht toxisch sind. Diese Untersuchungen sind noch nicht abgeschlossen und müssen noch durch neue Präparate ergänzt werden.

Ferner wurde eine Anzahl von aromatischen Bleiverbindungen, die von Dr. Burschkies hauptsächlich für Karzinomversuche hergestellt waren, toxikologisch durchgeprüft.

In umfangreichen Versuchsreihen wurden die bereits oben erwähnten bisher noch nicht bekannten Germaniumverbindungen chemotherapeutisch geprüft. Es konnte hierbei gezeigt werden, daß Germanium in den verschiedensten Bindungen nicht imstande ist, eine Trypanosomen- oder Rekurrensinfektion zu beeinflussen oder zur Ausheilung zu bringen.

Außerdem wurden die oben genannten von Dr. Burschkies hergestellten Schwefel- und Goldverbindungen der aromatischen Arsinsäuren geprüft. Es mußte hierbei festgestellt werden, daß die an sich interessanten mercapto- und auromercapto-Arsinsäureverbindungen bei therapeutischen Versuchen mit Trypanosomen- und Rekurrensinfektionen vollkommen versagt haben.

Neben den eben erwähnten chemotherapeutischen Versuchen befinden sich noch folgende wissenschaftliche Probleme in experimenteller Bearbeitung:

1. die Frage, ob durch medikamentöse Eingriffe die Liquorsperre im Organismus gesprengt und Salvarsan in größeren Mengen an das Zentralnervensystem gebracht werden kann;

2. Versuche an Mäusen und Ratten, die als Grundlage für die Modernisierung der staatlichen Salvarsanprüfungsvorschriften dienen sollen;

3. Versuche zur Klärung der Frage, welchen Einfluß die Ernährung der Mäuse und Ratten auf die toxikologische Auswirkung der Arsenobenzole auszuüben vermag;

4. weitere Versuche über etwaige Beziehungen zwischen Konstitution und Wirkung der aromatischen Arsenverbindungen und

5. über die Wirkung der Arsinsäuren auf Trypanosomen- und Rekurrensspirochäten im Körper und im Reagenzglas unter Berücksichtigung der molekularen Verhältnisse der Arsinsäuren.

Versuche, die mit Dr. Dittmar über den Einfluß von Trypanosomen-Infektionen auf das Wachstum des Mäuse-Karzinoms angestellt wurden, hatten im Gegensatz zu früheren Angaben in der Literatur, die eine Hemmung des Tumorwachstums durch Trypanosomen (Tr. brucei) beschrieben, ein negatives Ergebnis. Mit Karzinom beimpfte Mäuse wurden mit Rattenserum, das Dourine-Trypanosomen enthielt, behandelt. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Tumoren war die gleiche wie bei Kontrolltieren, die Rattenserum allein erhielten.

Neben der wissenschaftlichen Forschung nimmt einen nicht unwesentlichen Teil der Arbeitszeit der Abteilung die unter Verantwortung des Direktors erfolgende Salvarsanprüfung und die Instandhaltung der für diese Prüfung benötigten Trypanosomen-, Rekurrens- und Pallida-Stämme in Anspruch. So erforderte in den letzten drei Jahren die Salvarsanprüfung umfangreiche Tierversuche, bei denen rund 21000 Mäuse und 3900 Ratten intravenös behandelt werden mußten. Allein zur Auswertung der Heilwertbestimmung mußten in dieser Zeit 261500 mikroskopische Blutpräparate untersucht werden. Für die Erhaltung der Stämme von 1935—1938 wurden über 14000 Mäuse infiziert. Berechnet man die Beobachtungszeit der Tiere auf durchschnittlich 5 Tage, so sind auch bei den Tierpassagen über 70000 mikroskopische Blutpräparate untersucht worden.

Zu den laufenden Prüfungen kommt noch die Herstellung neuer Salvarsan-Standardpräparate hinzu, die viel Zeit und Sorgfalt erfordert.

Die chemische Prüfung der Salvarsane ist von mir, wie bereits oben erwähnt wurde, Dr. Burschkies übertragen.

Auf der Biochemischen Abteilung (Prof. Maschmann) wurden in Fortsetzung früherer Untersuchungen über den Eiweißstoffwechsel der Krebszelle zum Verständnis des den Eiweißabbau und -aufbau in normalen und Krebszellen regelnden Enzymapparates eingehende Untersuchungen über intrazelluläre Proteinasen, wie z. B. Kathepsin und Papain, ausgeführt, über deren Ergebnisse in verschiedenen Veröffentlichungen von Prof. Maschmann, zum Teil mit Dr. Erika Helmert, berichtet wurde. Eine umfassendere Darstellung der Arbeiten über den proteolytischen Apparat der Krebszelle und normaler Zellen findet sich in Heft 34 der „Arbeiten aus dem Staatl. Institut für experimentelle Therapie und dem Forschungsinstitut für Chemotherapie". Die wesentlichen Ergebnisse waren kurz folgende: Der proteolytische Enzymapparat der Krebszelle (Mäusekarzinom, Mäusesarkom, Rattensarkom, Hühnersarkom) ist weniger aktiv und leistungsfähig als der parenchymatöser Zellen. Er ist nur in wachsenden Zellen intakt, im nekrotischen Teil der Geschwulst ist er fast völlig zer-

stört. Auf Grund ihres proteolytischen Enzymapparates können Krebszellen keinen von der Norm „abgearteten" oder keinen „andersartigen" Eiweißstoffwechsel besitzen als parenchymatöse Zellen. Das Krebswachstum zieht eine Erhöhung des Kathepsingehaltes und der katheptischen Aktivität in bestimmten Organen des Wirtstieres nach sich. Die Muskulatur krebsresistenter und krebskranker Tiere ist nicht kathepsinreicher als die Muskulatur normaler Tiere.

Weitere Untersuchungen bezogen sich auf den Einfluß verschiedener Arsenverbindungen auf intrazellulare Proteinasen, wie Kathepsin und Papain, um festzustellen, ob Arsenverbindungen verschiedener Wertigkeit die proteolytische Wirkung aktivieren. Diese Versuche, die gleichzeitig einen Beitrag zur Kenntnis des Wirkungsmechanismus arsenhaltiger Chemotherapeutica darstellen, sind noch nicht abgeschlossen.

Ueber Tuberkulin arbeitet zur Zeit auf der Abteilung Dr. M. Morellini (Forlanini-Institut in Rom). Er soll die Untersuchungen von E. Maschmann und E. Küster, die es sehr wahrscheinlich gemacht haben, daß für die spezifische Wirkung des Tuberkulins in der Haut Tuberkulöser (Intrakutanmethode) und für die tödliche Wirkung auf tuberkulöse Meerschweinchen (Subkutanmethode) zwei chemisch verschiedene Substanzen verantwortlich sind, wiederholen und erweitern. U. a. prüft er das nach Long und Seibert hergestellte Tuberkulin auf seinen Intrakutan- und Subkutanwert.

Seit Ende 1936 bearbeitet Prof. Maschmann das bis dahin fast unbekannte Gebiet der eiweiß- und peptidspaltenden Enzyme aerober und anaerober Bakterien (Proteinasen, Peptidasen) und zwar:

1. um die Bildungsbedingungen, die Eigenart und Natur der Proteasen aerober und anaerober Bakterien kennenzulernen;
2. um die Bedeutung der Proteasen für den Verlauf der Infektion zu studieren und
3. um die Frage zu klären, ob es spezifische Antienzyme (im Sinne von spezifischen Antikörpern) gibt.

Die Untersuchungen haben schon aufschlußreiche Ergebnisse gezeitigt und den Arbeiten der Abteilung eine hervorragende Stellung auf diesem Gebiet verschafft. Maschmann fand, daß neben dem als starken Proteasenbildner bekannten Bac. histolyticus einige von Prigge als starke Giftbildner festgestellte Stämme des Bac. perfringens hinsichtlich der Proteasenbildung besonders hervorragten. Es konnten bisher vier neue eiweißspaltende Enzyme (Proteinasen), zum Teil in hochgereinigtem Zustande, dargestellt und ihre Eigenart näher beschrieben werden. In der letzten Zeit wurden die Peptidasen anaerober Bakterien als eine neue Klasse von Peptidasen erkannt. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in verschiedenen Mitteilungen veröffentlicht.

Ueber die in Zusammenarbeit mit Prof. Albrecht[1]) ausgeführten Untersuchungen, die Enzymbildung des Bac. prodigiosus, Bac. pyocyaneus,

1) S. Anm. 1 S. 1.

Bac. fluorescens liquefaciens und des Bac. mesentericus ist eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse der insgesamt mit 28 Stämmen angestellten Versuche in Vorbereitung.

Auf der Abteilung für Zellforschung wurde von Dr. Hildegard Vollmar in einer Reihe von Zellkulturversuchen der Einfluß verschiedener Substanzen und Versuchsbedingungen auf das Gewebewachstum untersucht.

Zwecks Studiums des Einflusses von Vitaminen auf Gewebekulturen von Normal- und Tumorzellen wurden dem Kulturmedium die einzelnen Vitamine in verschiedenen Mengen zugesetzt und das Verhalten des Normal- und Tumorgewebes den betr. Vitaminen gegenüber verfolgt. Dabei ergab sich im wesentlichen: Vitamin A bedingt in kleinen Mengen bei Normal- und Tumorgewebe eine Wachstumsanregung, während das Vitamin B außer einer ebenfalls anregenden Wirkung auf das Normalgewebe bei Verabreichung der gleichen Menge eine hemmende Wirkung auf das Tumorgewebe zeigt. Vitamin C ist ohne nennenswerten Einfluß auf das Tumorgewebe, Normalgewebe wird im Wachstum durch kleine C-Mengen angeregt. Dem Vitamin D gegenüber verhält sich Normal- und Tumorgewebe indifferent, während Vitamin E einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum von Tumorgewebe besitzt bei Zusatz einer Menge, die das Wachstum des Normalgewebes anregt.

Die unter Leitung des Institutsdirektors in Verbindung mit Versuchen an Tumormäusen (Dr. Dittmar) auf der Krebs-Abteilung des Staatlichen Instituts für experimentelle Therapie ausgeführten umfangreichen Versuchen über den Einfluß von Extrakten und Präparaten aus Weizenkeimlingen und aus keimlinghaltigen Broten ergaben in Parallelversuchen an Gewebekulturen von Normal- und Tumorgewebe, daß diese Substanzen einen hemmenden Einfluß auf das Wachstum von Tumorgewebe ausüben, während das Normalgewebe unter den gleichen Versuchsbedingungen unbeeinflußt bleibt, bzw. durch kleine Mengen im Wachstum angeregt werden kann. Als besonders wirksam erwies sich in den Gewebekulturversuchen ein Aetherauszug aus Keimlingen, bei dem die das Tumorgewebe hemmende Menge um das 6fache die hemmende Wirkung auf das Normalgewebe übersteigt. Eine Uebertragung dieser Befunde auf das Verhalten von menschlichem Gewebe ist nicht ohne weiteres möglich, auch ergaben sich bei Auswertung ein und desselben Präparates in der Gewebekultur und im Mäuseversuch nicht immer übereinstimmende Resultate.

Noch im Gang befindliche Untersuchungen beschäftigen sich mit dem Einfluß von Organstückchen, die in Gewebekulturen mit Normal- und Tumorgewebestückchen im gemeinsamen Medium kultiviert werden. Es hat sich bei Zusatz von Normalgewebe, besonders solcher Gewebe, die gegenüber der Entwicklung von Tumoren refraktär sind (Herz, Muskel),

ferner bei Zusatz von Darm und Leber ein das Tumorwachstum hemmender Einfluß gezeigt.

Bei strahlenbiologischen Versuchen an Gewebekulturen haben Dr. Hildegard Vollmar und Dr. Inouye (Fukuoka, Japan) die Abhängigkeit des Wachstums und Stoffwechsels vom Radiumgehalt des Nährmediums an Normal- und Tumorgewebe studiert. Ergebnis: das Normalgewebe zeigt bei kurzdauernder Züchtung in radiumhaltigem Medium (2,55—10^{-6} g Ra.El./ccm) sowohl eine Steigerung des Stoffwechsels als des Wachstums. Die Stoffwechselerhöhung der Radiumkulturen bleibt noch bestehen, während das Wachstum allmählich absinkt; im weiteren Verlauf der Ra-Einwirkung ist die Hemmung von Wachstum und Stoffwechsel dann gleichsinnig. Die Tumorgewebekulturen zeigen weder im Stoffwechsel noch im Wachstum eine Beeinflussung, die im Sinne einer Anregung zu deuten wäre, beide Lebensäußerungen sind von Anfang der Radiumeinwirkung an gehemmt.

Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf normale und Tumorzellen in Gewebekulturen wurde unter den verschiedensten Versuchsbedingungen von Dr. H. Vollmar und Prof. Rajewsky[1]) studiert. Der Ablauf der Strahlenschädigungen an der Einzelzelle wurde in Film-Aufnahmen festgehalten, in denen erstmalig die Vorgänge an den einzelnen Zellen während der Bestrahlung zur Beobachtung kamen. Dabei vollziehen sich an den Zellen charakteristische Veränderungen, besonders Veränderungen bezüglich der Zellform, der Orts- und Eigenbeweglichkeit. Die Tumorzellen erweisen sich sichtbar als strahlenempfindlicher, die Strahlenschädigungen bei kleinen Dosen als reversibel, während bei großen Dosen der Zelltod noch unter der Bestrahlung zu beobachten ist.

Der Film: „Wirkung von Röntgenstrahlen auf normale und Tumorzellen" wurde von Dr. H. Vollmar bzw. dem Institutsdirektor mehrfach vorgeführt, und zwar

im Biophysikal. Seminar, Frankfurt a. M.,
auf dem II. Internationalen Kongreß f. Krebsforschung und Krebsbekämpfung, Brüssel, 1936,
im Aerztlichen Verein, Marburg a. d. L.,
in der Gesellschaft für Natur- und Heilkunde, Dresden,
auf der Tagung der Deutschen Röntgen-Gesellschaft, Breslau,
auf der Aerztetagung des Landkrankenhauses, Homburg, Saar,
in der Physikalisch-medizinischen Societät, Erlangen,
im Aerztlichen Verein, München und
auf der Tagung der Vereinigung der Leiter deutscher Krankenanstalten, Frankfurt a. M.,
im Aerztlichen Verein, Stuttgart.

1) Direktor des Instituts f. Physikal. Grundlagen der Medizin (jetzt Kaiser Wilhelm-Institut für Biophysik in Frankfurt a. M.).

In Versuchen an Tumormäusen wird z. Zt. der Einfluß erhöhter Körpertemperatur, die durch Ueberwärmungsbäder erzielt wird, auf die Entwicklung des Aszites-Karzinoms und anderer Impftumoren geprüft. Es geht bis jetzt aus diesen Versuchen, die in Gemeinschaft mit Prof. Lampert (Bad Homburg v. d. H.) und seinen Assistenten durchgeführt werden, hervor, daß durch fortlaufend verabreichte Wasserbäder (bis zu 43°) die Entwicklung vor allem des Karzinom-Aszites stark gehemmt wird. In Parallelversuchen hierzu wird an Gewebekulturen die „kritische" Temperatur für Normal- und Tumorgewebezellen ermittelt.

Versuche zur Züchtung des Erregers der Ratten-Lepra in Gewebekulturen haben zu dem Ergebnis geführt, daß die unter den verschiedensten Bedingungen gehaltenen Lepra-Gewebe-Kulturen bis zu 22 Tagen mit Sicherheit infektiös bleiben; eine Vermehrung der Lepra-Bazillen in diesem Zeitraum kann als wahrscheinlich angenommen werden. Weitere Versuche, wie bisher gemeinsam mit Prof. Kudicke durchgeführt, sind im Gange (vgl. S. 12).

Eine von Prof. Seyderhelm beim Menschen beobachtete und als „maligne Anämie" bezeichnete Erkrankung wurde in bezug auf ihre Uebertragbarkeit auf Tiere und auf ihr Verhalten in der Gewebekultur untersucht. Es gelang bisher eine Uebertragung auf Hühner, die auf die Injektion von Patientenblut ebenfalls mit einer Anämie antworten; in der Gewebekultur treten eigenartige große, flache Zellen mit langen Ausläufern auf, die in Filmaufnahmen eine an das Verhalten von Tumorzellen erinnernde Beweglichkeit zeigen.

An Gewebekulturen konnte Dr. H. Vollmar zu den Befunden von Prof. Blum (Biologisches Institut), nach denen sich durch Fütterung mit verschiedenen Kohlarten beim Kaninchen eine starke Wucherung des Schilddrüsengewebes erzeugen läßt, ergänzende Untersuchungen anstellen. Es zeigte sich, daß solches Schilddrüsengewebe im Vergleich mit dem von normalen Kaninchen in der Gewebekultur ein außerordentlich gesteigertes Wachstum aufwies.

In gemeinsamer Arbeit wurde von Dr. H. Vollmar und Dr. H. Knöll (Institut für Kolloidforschung) ein Film hergestellt, der als „Beitrag zur Theorie des Alters" die Entstehung der Liesegangschen Ringe zeigt. (Aufnahme im Hell- und Dunkelfeld.)

Auf der Abteilung wurden weiterhin unter Leitung von Dr. Hildegard Vollmar folgende Untersuchungen ausgeführt: An der Keimscheibe des Hühner-Embryos stellte Dr. S. Bürgi (Bern) Versuche über die Wirkung von Pharmaka auf das embryonale Herz an. Es ließen sich für die einzelnen Pharmaka, besonders die Cardiaca, jeweils bestimmte Beeinflussungen der Herztätigkeit festlegen; bezüglich der Frequenz ergaben die einzelnen Präparate charakteristische Kurvenbilder. Dr. A. Gregory (Pavia) hat sich mit der Röntgenbestrahlung von Knochenmark in vivo und in vitro beschäftigt; aus seinen Versuchen geht hervor, daß

zur Vernichtung der Knochenmarkselemente in vitro eine bedeutend größere Röntgendosis erforderlich ist als in vivo. Außerdem konnte festgestellt werden, daß eine direkte Bestrahlung des Knochenmarks zwar eine bemerkenswerte Verminderung seiner Regenerationsfähigkeit zur Folge hat, daß diese Störung aber in weit stärkerem Maße durch eine Bestrahlung der Milz mit gleicher Dosis hervorgerufen wird. Mit einer den Verhältnissen der Gewebekultur angepaßten Versuchsanordnung konnte Dr. K. O. Streng (Helsinki) nachweisen, daß die Rattenleber auch in der Kultur zu einer spontanen Azetonbildung fähig ist, während diese Fähigkeit der Huhn-Leber-Kultur nicht zukommt. Z. Zt. prüft Dr. Morellini (Rom), der auf der biochemischen Abteilung sich mit Tuberkulinforschung beschäftigt, die Wirkung der oben erwähnten spezifischen Stoffe aus Volltuberkulin auch im Zellkulturversuch.

Die Herstellung der Filme auf der Mikrophotographischen Abteilung lag in den Händen des wissenschaftlichen Photographen H. Maas. Er hat für die verschiedenen Abteilungen des Forschungs-Instituts zahlreiche mikroskopische Aufnahmen geliefert. Seine Erfahrungen mit dem Leitzschen Monochromator hat er 1937 veröffentlicht.

Ueber die Arbeiten des Dr. phil. nat. Wilhelm Schäfer ist in der Hauptsache bereits in dem Tätigkeitsbericht des Staatlichen Instituts berichtet, da Dr. Schäfer bisher der experimentell-therapeutischen Abteilung dieses Instituts (Prof. Prigge) zugeteilt ist. Im einzelnen sei über seine Arbeiten noch folgendes gesagt:

Die Mitte 1934 begonnenen variationsstatistischen Untersuchungen über die Wertbestimmung der Diphtherie-Impfstoffe, die er in Zusammenarbeit mit Prof. Prigge im Anschluß an die Ausarbeitung der Staatlichen Prüfung der Diphtherie-Impfstoffe durchführte, wurden 1935 zum Abschluß gebracht. Ferner war Dr. Schäfer — ebenfalls in Zusammenarbeit mit Prof. Prigge — mit der statistischen Analyse der von den Instituten in Hampstead (Nat. Inst. f. Med. Res.), Kopenhagen (Statens Serum-Inst.) und Frankfurt a. M. (Staatl. Institut f. experimentelle Therapie) durchgeführten Vergleichsuntersuchungen mit den britischen, deutschen und dänischen Dysenterie-Standard-Sera beschäftigt.

An diese Arbeiten schlossen sich statistisch-erbbiologische Untersuchungen an, die in Zusammenhang mit Versuchen von Prof. Prigge über die Variabilität von Inzuchtmeerschweinchen begonnen und an mit dem gleichen, von Prof. Kröning-Göttingen geliefertem Inzuchtmaterial angestellten Versuchen von Küster und Kröning fortgesetzt wurden. Diese erbbiologischen Arbeiten führten einerseits zu theoretischen Studien über die Bedeutung der Inzucht für die Züchtung reiner Rassen und andererseits zu praktischen Züchtungsversuchen mit Meerschweinchen und Mäusen, um ein genetisch einheitliches Tiermaterial für verschiedene Versuchszwecke zu gewinnen.

Zusammen mit Dr. Dittmar unterzog Dr. Schäfer die Ergebnisse aus ca. 3000 in den letzten 10 Jahren auf der Krebs-Abteilung des Staatlichen Instituts ausgeführten Karzinom-Impfungen einer eingehenden statistischen Bearbeitung: Es ließen sich Beziehungen zwischen der Wachstumsgeschwindigkeit und der Angangszahl der Tumoren, ferner das Vorhandensein von jahreszeitlichen Schwankungen der Wachstumsintensität nachweisen. Variationsstatistisch sehr interessant ist der Nachweis einer Doppelkorrelation zwischen Wachstumsgeschwindigkeit und Lebensdauer, einer linear-negativen und einer nichtlinearen, bei der sowohl niedere als auch hohe Wachstumsgeschwindigkeit mit kurzer Lebensdauer verknüpft sind, während bei mittlerer Wachstumsgeschwindigkeit die Lebensdauer erhöht ist.

Auf Anregung von Prof. Prigge führte Dr. Schäfer die von Dr. H. Anton begonnenen Untersuchungen[1]) über die Messung der Dichtigkeit von Injektionsspritzen fort. Es gelang ihm, das von Anton ausgearbeitete Prüfungsverfahren durch Einführung eines aus physikalischen Erwägungen entwickelten Dichtigkeitsmaßes („Dichtigkeits-Einheit") so zu verallgemeinern, daß es auf alle Spritzen des Handels angewandt werden kann.

Eine Reihe von Arbeiten, die in engster Zusammenarbeit mit Prof. Prigge, Dr. H. v. Schelling (Berlin) und Prof. B. L. v. d. Waerden (Leipzig) durchgeführt wurden, beschäftigten sich mit Fragen der mathematischen Statistik. Unter dem Titel: „Fehlerrechung bei biologischen Messungen" wurde von Prof. Prigge eine „Kurze Original-Mitteilung" 1937 in den „Naturwissenschaften" veröffentlicht, an die sich eine gleichnamige Mitteilung von Dr. Schäfer anschloß. Diese beiden Mitteilungen befassen sich mit der Abgrenzung von Intervallen, in denen der einer „Stichprobe" zugrunde liegende „wahre" Wert zu suchen ist. Prof. Prigge hat in seiner Mitteilung gezeigt, daß der in der Literatur allgemein übliche „mittlere Fehler" bei der Stichproben-Bewertung unzulässig ist. Da die gebräuchlichen Methoden der Messung biologisch wirksamer Substanzen im Tierversuch vielfach auf der falschen Anwendung des „mittleren Fehlers" basieren, wurde eine Umarbeitung dieser Methoden unter Zugrundelegung des Prriggeschen „Mutungsbereiches" für den „wahren Wert" einer Stichprobe erforderlich.

Dr. H. v. Schelling hat eingehend die mathematisch-statistische Bewertung von Stichproben und deren Bedeutung für die Beurteilung von Tierversuchen bearbeitet. Die erste Mitteilung bezog sich auf die Fragestellung von Thomas Bayes, die zweite auf die Abgrenzung von Mutungsbereichen. Beide Arbeiten sind von mir in den Arbeiten des Staatl. Instituts für experimentelle Therapie und des Forschungs-Instituts für Chemotherapie aufgenommen und wegen ihrer Bedeutung für die Auswertung

1) Literatur siehe Tätigkeitbericht des Staatl. Instituts f. exp. Therapie.

tierexperimenteller Versuchsergebnisse aus Mitteln des Forschungs-Instituts für Chemotherapie gefördert worden.

Im Anschluß an die in Heft 23 der Arbeiten aus dem Staatl. Institut für experimentelle Therapie u. d. Forschungs-Institut für Chemotherapie veröffentlichten Untersuchungen von R. Prigge und O. Hartoch über die Wertbestimmung des Dysenterieserums befaßte sich eine weitere, rein mathematische Arbeit Dr. Schäfers mit dem „Fehler des biologischen Reihenversuches bei Verwendung nur eines Tieres für jede Dosis der Messungsreihe".

Z. Zt. ist Dr. Schäfer an der Ausarbeitung neuer Prüfungsbestimmungen für die amtliche Toxizitätsprüfung der Salvarsane durch Prof. Rothermundt mitbeteiligt und zugleich auch auf verschiedenen anderen Gebieten an statistischen Auswertungen von Versuchen tätig. So führte er Berechnungen von Mittelwerten und mittleren Fehlern zum Zweck der Feststellung der statistischen Sicherheit der von Dr. Hildegard Vollmar, Prof. R. Kudicke, Prof. Dr. Rothermundt, Dr. Dittmar, Dr. Walther Schäfer und Dr. Wohlrab gewonnenen Ergebnisse aus. Bei einer blutgruppen-theoretischen Untersuchung von Dr. Olbrich berechnete Dr. Schäfer den zusätzlichen Prozentsatz des Vaterschafts-Ausschlusses bei Berücksichtigung der heterozygoten Genotypen. Das von Prof. Berghaus (Münster i. W.) gesammelte Tuberkulose-Material (Sippentafeln) prüfte er mit variationsstatistischen Methoden.

Prof. Berghaus studierte in umfangreichen Ermittlungen die Frage „Tuberkulose und Vererbung". Auf Grund seiner Arbeiten, die er mit der ihm von seiten des Forschungs-Instituts für Chemotherapie zuteil gewordenen Hilfe durchgeführt hat, kam Berghaus zu der Schlußfolgerung, daß es eine vererbte Disposition zur Tuberkulose gibt, der eine große Bedeutung zukommt, ohne allerdings allein hierfür maßgebend zu sein. Die Tuberkulose mache sich jede Minderwertigkeit im Gewebe, mag sie ererbt oder erworben sein, zunutze. Weiterhin studierte Berghaus die Frage der Zwillingstuberkulose. Die Arbeiten lieferten, wenn sie auch kein endgültiges Urteil erlauben, doch einen wichtigen Beitrag zur Zwillingsforschung.

Mit besonderen Forschungen beschäftigten sich mehrere im Institut eingerichtete Speziallaboratorien. Es handelt sich hierbei einmal um tropenmedizinische Arbeiten, für die ich Prof. R. Kudicke gewonnen habe. Von ihm und Dr. Hildegard Vollmar wurden Versuche angestellt, die Bazillen der Rattenlepra in der Zellkultur zu züchten. Explantiertes lepröses Gewebe blieb in der Kultur bis zu 22 Tagen infektiös. Neben diesen Versuchen wurden in der Hauptsache chemotherapeutische Untersuchungen angestellt. Dieselben gingen aus von dem oben erwähnten Chaulmoograsäurepräparat (s. S. 2).

Ein anderes Laboratorium beschäftigte sich mit Gonokokkenarbeiten. Die Einrichtung dieses Laboratoriums ging auf eine Verabredung meines Amtsvorgängers mit Prof. Wirz-München, zurück. Es sollte in der Hauptsache geprüft werden, inwieweit der Tierversuch zur Beurteilung von chemotherapeutischen Präparaten brauchbar ist. Trotz eingehender Untersuchungen, bei denen man teils von gehäuften Tierpassagen und teils von Schädigungen der Versuchstiere (Röntgenstrahlen, mangelhafte Ernährung mit Vitaminen usw.) ausging, konnten von Prof. O. Lentz und Dr. Walther Schäfer keine Steigerung der Pathogenität für Ratten, Mäuse und Kaninchen erzielt werden. Es kam stets nur zu einer Endotoxin-Wirkung bei den Tieren, die allerdings, wie spätere Versuche von Schäfer zeigten, durch gewisse Chemikalien (Phenylsulfoxyde, vgl. Levaditi) beeinflußt werden konnten, ohne daß man allerdings darin einen Beweis für ihre therapeutische Wirksamkeit beim Menschen erblicken kann. Hinsichtlich der Biologie der Gonokokken wurden von Lentz und Schäfer auch nach anderen Richtungen hin Untersuchungen angestellt. So ließ sich z. B. eine serologische Aufteilung bei etwa 50 untersuchten verschiedenen Stämmen in abgrenzbare Gruppen nicht durchführen.

Von Dr. Walther Schäfer sind neben den Gonokokken-Untersuchungen noch folgende Studien betrieben worden. In Gemeinschaft mit Dr. H. Schaefer (vom Institut für physikalische Grundlagen der Medizin) beschäftigte er sich mit der Hyperthermiewirkung des Ultrakurzwellenfeldes auf die Ratte. Dabei wurde festgestellt, daß die Temperatursteigerung der Ratte im U.K.W.-Feld um ein Mehrfaches die Wärmemenge übertraf, die sich aus der Umsetzung der elektrischen Energie in tierische Wärme ergibt. Infolge höchstgesteigerter endogener Wärmebildung kommt es dabei zum Tode der Tiere infolge einer Erhöhung der Körpertemperatur von 3° je Min. Die Möglichkeit, daß auch beim Menschen manche Zellvorgänge im U.K.W.-Feld unter gesteigerter Wärmebildung verlaufen können, ist damit angedeutet. Das Auftreten endogener Motilitätswärme macht sich als Schwierigkeit geltend, niedere Tiere als Test der Feldstärken im U.K.W.-Feld heranzuziehen, von welcher Idee die beiden Autoren ausgegangen waren.

Weitere Versuche hat Dr. Schäfer vielfach in Gemeinschaft mit dem Institutsdirektor über Anaphylaxie angestellt. Bei seinen Untersuchungen über die Bedeutung der Hormone und Vitamine bei der Anaphylaxie fand er nach Vorbehandlung anaphylaktischer Meerschweinchen mit Follikelhormon eine deutliche Zunahme der Schockbereitschaft. Der Frage nach dem Einfluß verschiedenen Vitamingehaltes in der Nahrung auf den anaphylaktischen Schock des Meerschweinchens ist Schäfer in einer anderen Arbeit nachgegangen. Vitaminfreie Ernährung veränderte die anaphylaktische Reaktionsbereitschaft nicht und vitaminreiche Kost führte nicht zu einem Schutz gegenüber dem anaphylaktischen Schock. Besondere Zulagen von Vitamin C setzten die anaphylaktische Empfind-

lichkeit der Versuchstiere etwas herauf, wogegen Zulagen von Vitamin D dämpfend wirkten. Auf Grund dieser Befunde nahm SCHÄFER ein gewisses antagonistisches Eingreifen der beiden Vitamine in die anaphylaktische Reaktionslage des Organismus an. In einer weiteren Arbeit behandelte SCHÄFER den Einfluß von Askorbinsäuregaben, die kurz vor der Auslösung der anaphylaktischen Reaktion dem sensibilisierten Meerschweinchen verabfolgt wurden.

Der Berichterstatter und Dr. SCHÄFER studierten die Rolle des anaphylaktischen Schocks auf den Verlauf der Diphtheriegiftintoxikation und einer bakteriellen Infektion beim Meerschweinchen. Im Anschluß an einen anaphylaktischen Schock beobachteten sie weder ein Nachlassen der natürlichen Resistenz gegenüber dem Diphtheriegift noch eine Minderung der erworbenen aktiven Diphtherie-Immunität. Dagegen sahen sie bei bereits Diphtherie-vergifteten Tieren die Schwere des Schocks mit fortschreitender Giftwirkung anwachsen. Infolgedessen halten sie die Möglichkeit für gegeben, daß die Schwere einer Diphtherie-Infektion des Menschen von Einfluß auf die Stärke der Symptome einer ev. auftretenden Serumkrankheit werden kann, und sie finden darin ein neues Argument für die möglichst frühzeitige Anwendung des Heilserums. Die Schwere einer Infektion des Meerschweinchens mit Gärtner-Bazillen wurde durch das Auftreten eines nach der Infizierung ablaufenden anaphylaktischen Schocks nicht beeinflußt und die Mortalität blieb unverändert. Dieser Befund, übertragen auf die Verhältnisse, wo eine Serumkrankheit mit einer Infektionskrankheit zusammentrifft, erlaubt es nicht, die Serumkrankheit in die Prognosestellung der Infektionskrankheit einzubeziehen. Der Ablauf der Meerschweinchen-Infektionskrankheit wurde dagegen durch den anaphylaktischen Schock deutlich beschleunigt. Dieses Ergebnis wird in Analogie gesetzt zu ähnlichen klinischen Beobachtungen, nach denen es im Anschluß an eine Serumkrankheit zu einer rascheren Beendigung einer außerdem vorliegenden Infektionskrankheit kam. Es wird betont, daß für den Krankheitsausgang — ob gut oder schlecht — der anaphylaktische Schock (und entsprechend wohl die Serumkrankheit) ohne Bedeutung ist, dagegen trägt er zu einer kürzeren Krankheitsdauer bei, und diesem Umstand verdankt vermutlich die Serumkrankheit die Anerkennung als Heilfaktor bei sich länger hinziehenden Infektionskrankheiten, z. B. Meningitis.

Die Besonderheit der intravenösen Desensibilisierung des Meerschweinchens hat Dr. SCHÄFER studiert (siehe Arbeiten aus dem Staatl. Institut für experimentelle Therapie) und dabei die Frage der Spezifität der Anaphylaxieherabsetzung nach einem anaphylaktischen Schock (Antianaphylaxie) bearbeitet. Dort berichtet er auch über die Sensibilisierbarkeit der Meerschweinchen mit Antigengemischen (Hammel- und Pferdeserum). Bei gleichzeitiger Verabfolgung von zwei Antigenen kam es nicht zu einer gegenseitigen Beeinträchtigung

der Sensibilisierungswirkung, ein Befund, der — wie andere — die früher bestehende Abneigung gegen die Verwendung von Kombinationsimpfstoffen als nicht begründet erscheinen läßt.

Dr. SCHÄFER untersuchte weiter die Anaphylaxie, die nach Vorbehandlung von Meerschweinchen mit formoltoxoidhaltigem Diphtheriebazillenfiltrat auftritt, auf die Besonderheiten der anaphylaktogenen Komponenten. Er fand, daß neben einer gegen Bakterieneiweißstoffe gerichteten Anaphylaxie es mit hoher Wahrscheinlichkeit zur Ausbildung einer besonderen Toxoid-Anaphylaxie kommt.

In einem weiteren Laboratorium wurden Fleckfieberforschungen angestellt. Wie sich in und nach dem Weltkrieg gezeigt hat, spielt das Fleckfieber in Osteuropa eine große Rolle. Auf die Notwendigkeit der Fortführung von Fleckfieberforschungen in Deutschland komme ich später zurück. Die Arbeiten, die ich schon im Institut „Robert Koch" begonnen habe, bezweckten einerseits die Auffindung chemotherapeutisch wirksamer Präparate und andererseits die Herstellung eines brauchbaren Fleckfieberimpfstoffes.

Um die Chemotherapie des Fleckfiebers in größerem Rahmen erfolgversprechend bearbeiten zu können, war es notwendig, ein geeignetes Versuchsmodell zu schaffen. So wurde an Stelle des bisher verwendeten Meerschweinchenversuches eine ausreichend exakte Versuchsanordnung mit Mäusen (als Versuchstieren) und dem murinen Fleckfieber (als Testinfektion) entwickelt. Ueber die ersten chemotherapeutischen Versuche beim experimentellen Fleckfieber der weißen Maus habe ich mit Dr. WALTHER SCHÄFER (Arbeiten aus dem Staatl. Institut für experimentelle Therapie, Heft 33) berichtet. Ueber den Verlauf der experimentellen Fleckfieber-Infektion bei diesen Tieren hat Dr. WOHLRAB näher berichtet. Die mit ihm begonnenen chemotherapeutischen Versuche, die in der Zeit seiner Erkrankung von Dr. SCHÄFER vertretungsweise fortgesetzt waren, wurden später von ihm weitergeführt.

Geprüft wurden einmal bekannte Chemotherapeutika, weiter klinisch oder experimentell bisher beim Fleckfieber für wirksam gehaltene Substanzen (z. B. Cäsiumnitrat, Rubidiumsulfat u. a.), sodann Verbindungen, die von der chemischen Abteilung des Forschungsinstituts besonders hierfür entwickelt wurden (Viktoriablauabkömmlinge usw.), ferner Präparate, die im Institut ursprünglich für Zwecke der Tbc- und Leprabehandlung synthetisiert wurden (Chaulmoogra- und Goldverbindungen), zuletzt eine Reihe von Prontosilen der I. G. Farbenindustrie-Elberfeld. Leider waren alle Bemühungen vergeblich: keine Substanz beeinflußte den Verlauf der Infektion. Lediglich eine Prontosilverbindung zeigte in einer großen Versuchsreihe eine gewisse Wirkung, doch konnte dieser Befund nicht wiederholt bestätigt werden, auch nicht in Verbindung mit einer unterstützenden Serumtherapie. Hierzu benutzten wir in der Hauptsache Serum von Meer-

schweinchen, die eine Fleckfieberinfektion überstanden hatten, da die Behandlung mit diesem Immunserum allein schon deutliche Erfolge gezeigt hatte.

Die weiteren Fleckfieber-Arbeiten erstreckten sich auf die Herstellung von Impfstoffen. Nachdem Versuche von Dr. Walther Schäfer an weißen Mäusen gezeigt hatten, daß das Verfahren von Laigret und Durand für die Praxis nicht geeignet war, sind wir zu Versuchen übergegangen, Impfstoffe aus Rickettsien zu gewinnen. Leider können wir in Deutschland die Methode der Rickettsienzüchtung in der Laus nach Weigl (bzw. Rocha Lima) wegen Mangel an Fleckfieber-Rekonvaleszenten nicht durchführen. Es mußten daher andere Methoden zur Rickettsien-Gewinnung studiert werden. Für diese wurden von Dr. Wohlrab einmal die Methode von Zinsser und Castaneda auf unser Versuchsmaterial adaptiert und der Impfstoff aus röntgengeschädigten Mäusen gewonnen (Röntgenbestrahlung erfolgte im Institut für physikalische Grundlagen der Medizin), zum anderen wurden ausgedehnte Züchtungsversuche der Rickettsia Mooseri und Prowazeki in Zellkulturen unternommen.

Es zeigte sich, daß die Brauchbarkeit der Impfstoffe im allgemeinen wohl von der Quantität der darin enthaltenen Rickettsien abhängig ist. Eine gewisse Menge mit gutem Erfolg geprüfter Impfstoffe wurden nach beiden Verfahren hergestellt. Die Auswertung erfolgte an Meerschweinchen und Mäusen; letztere erwiesen sich besonders hierfür geeignet.

Die Züchtung der Rickettsia Mooseri wurde mit wechselndem Erfolg nach Pinkerton, Nigg u. Landsteiner sowie nach Zinsser ausgeführt. Trotz einer gewissen Unbeständigkeit der Rickettsiengewinnung scheint uns dieser Weg der Impfstoffherstellung der aussichtsreichere. So konnten wir Impfstoffe gewinnen, mit denen die mit Fleckfieberarbeiten beschäftigten Personen immunisiert werden. In letzter Zeit gelang es auch, die Rickettsia Prowazeki in Gewebskulturen zu züchten, doch war der Erfolg sehr unsicher und noch wenig befriedigend.

In dem Fleckfieberlaboratorium wurden (zum Teil in Gemeinschaft mit dem auswärtigen Mitgliede des Instituts, Prof. E. Hoffmann-Bonn), auch Virusfragen studiert (Ueber die nahen Beziehungen der Rickettsien mit diesen Krankheitserregern siehe Diskussionsbemerkungen von R. Otto auf dem 5. Intern. Zellforscher-Kongreß, Zürich). So hat Dr. Wohlrab u. a. im Laufe des vergangenen Jahres von Dr. Schmidt-La Baume in Mannheim und Prof. Schubert in Frankfurt a. M. (Universitäts-Hautklinik) beigebrachtes Material von Pemphiguskranken untersucht. Bislang konnte die in der Literatur angegebene Uebertragung der Krankheit auf Tiere nicht bestätigt werden. Zwar fanden sich in einem Fall mikroskopisch einem Virus gleichende Formen in dem Pemphigusblaseninhalt, doch konnten sonstige positive Ergebnisse hinsichtlich des Erregers bisher nicht erbracht werden.

Außer den im Bericht genannten Wissenschaftlern werden noch mit einer Anzahl anderer Forscher und Institute Beziehungen zwecks gemeinsamer Studien wissenschaftlicher Fragen unterhalten, auf die erst nach Abschluß der Arbeiten eingegangen werden soll.

II. Personalien.

Als Nachfolger des am 10. Mai 1935 verstorbenen Direktors des Staatl. Instituts für experimentelle Therapie und des Georg-Speyer-Hauses, Geh. Medizinalrats Prof. Dr. Wilhelm Kolle, wurde der Berichterstatter am 20. August 1935 von dem Herrn Reichsminister für Wissenschaft, Erziehung und Volksbildung nach Benehmen mit dem Vorstand der Stiftung auch mit der Leitung des Forschungs-Instituts für Chemotherapie kommissarisch beauftragt und mit Wirkung vom 1. April 1936 als Direktor bestellt.

Die Mitglieder des Institutes Dr. Bauer (Leiter der Chemischen Abteilung) und Dr. Strauss sind am 31. Dezember 1935 aus dem Institut ausgeschieden, ebenso der Bibliothekar Dr. Stilling. Prof. Dr. Otto Lentz, (Berlin) hat im Februar 1936 seine Gonokokkenstudien (s. S. 13) und Prof. Berghaus (Karlsruhe) im Dezember 1938 seine Arbeiten über Tuberkulose (s. S. 12) abgeschlossen.

Zum Leiter der chemischen Abteilung und Mitglied des Instituts wurde der Assistent der Chemischen Abteilung des Kaiser-Wilhelm-Instituts für medizinische Forschung in Heidelberg, Dr. Theodor Wagner-Jauregg, berufen, der seine Tätigkeit im Institut am 1. Juni 1936 aufgenommen hat. Als Assistent der Chemischen Abteilung wurde Dr. Herbert Arnold im September 1936 angestellt; er war bis dahin in der Biologisch-chemischen Abteilung der hiesigen Medizin. Universitätsklinik tätig

Der wissenschaftliche Assistent Dr. Walther Schäfer schied infolge Uebernahme in das Staatliche Institut für experimentelle Therapie am 1. August 1936 aus dem Forschungs-Institut aus.

Der Oberassistent Dr. Karl Burschkies wurde durch Beschluß des Stiftungsvorstandes am 24. Juni 1937 zum Mitglied des Instituts ernannt. Den wissenschaftlichen Instituts-Mitgliedern Dr. Maschmann und Dr. Rothermundt wurde am 20. April 1938 vom Führer und Reichskanzler der Titel „Professor" verliehen. Mit der Verwaltung der von dem Staatlichen Institut für experimentelle Therapie und dem Forschungs-Institut für Chemotherapie gemeinsam geführten Bibliothek wurde Prof. Dr. Albrecht (vom Staatlichen Institut) beauftragt; zu seiner Unterstützung wurde eine Bibliotheksgehilfin angenommen. Neben der Umgestaltung der umfangreichen Sammlung in- und ausländischer Literatur zu einer Handbibliothek wurde die Aufnahme der vom Chemotherapeutischen Institut aus dem Nachlaß von Geheimrat Kolle erworbenen Bücherei in die Bibliothek durchgeführt und eine fortlaufende Sammlung der bisher erschienenen Arbeiten beider Institute angelegt.

Mit der Uebernahme der Direktionsgeschäfte wurde von mir dem Institut eine meiner Leitung unterstehende Abteilung für Fleckfieberforschung angegliedert; die Abteilung ist mit einem wissenschaftlichen Assistenten, Dr. Rudolf Wohlrab, einer technischen Assistentin und einem Laboratoriumsgehilfen besetzt worden. Die Weiterführung der von mir im Institut „Robert Koch" seit langen Jahren betriebenen Fleckfieberarbeiten lag nicht nur in rein wissenschaftlichem Interesse, sondern sie hat auch große praktische Bedeutung, insofern als unsere Arbeiten der Auffindung von Chemotherapeutica und der Gewinnung eines brauchbaren Fleckfieber-Impfstoffes gewidmet sind. Uebrigens ist das Forschungs-Institut für Chemotherapie das einzige, das sich z. Zt. mit diesen Studien in Deutschland befaßt.

Bei den chemotherapeutischen Arbeiten des Instituts machte sich das Fehlen eines in Tropenkrankheiten erfahrenen Forschers fühlbar. Um diesem Mangel abzuhelfen, habe ich Prof. Robert Kudicke, einen früheren Mitarbeiter von Robert Koch und bekannten Tropenmediziner, gebeten, das Institut mit Rat und Tat bei den experimentellen Studien der Tropenkrankheiten, bei deren Bekämpfung Deutschland insbesondere durch Auffindung hochwirksamer chemischer Mittel führend ist, zu unterstützen. Prof. Kudicke ist der Aufforderung gefolgt und arbeitet seit dem Oktober 1936 im Institut, dem er bereits von Oktober 1909 bis Mai 1910 als freiwilliger Mitarbeiter und in den Jahren von 1920 bis 1924 als wissenschaftliches Mitglied angehört hat.

Die Notwendigkeit, zur Durchführung von wissenschaftlichen variationsstatistischen Arbeiten auf den verschiedenen in den beiden Instituten tierexperimentell bearbeiteten Gebieten einen Mathematiker zur Mitarbeit heranzuziehen, hatte 1935 meinen Amtsvorgänger auf Anregung von Prof. Prigge zur Anstellung des Mathematikers und Zoologen Dr. Wilhelm Schäfer als wissenschaftlichen Assistenten veranlaßt. Ueber sein Arbeiten ist oben eingehend berichtet. Außer deutschen Gelehrten arbeiteten in den Jahren von 1935 bis 1938 eine Anzahl ausländischer Forscher in dem Institut, so Dr. S. Bürgi (Bern), Dr. M. Umezu (Mukden), Dr. K. Inouye (Fukuoda, Japan), Dr. A. Gregori (Pavia), Dr. K. O. Streng (Helsinki, Helsingfors), Dr. Nobrega (São Paulo), Dr. M. Morellini (Rom).

Am 31. Dezember 1937 trat der langjährige Verwaltungsdirektor Arnold Rissmann in den Ruhestand. Er war schon in der Verwaltung des Staatl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. seit dessen Verlegung nach Frankfurt a. M. (1899) bis Ende März 1930 tätig. Bei dem Aufbau und der Verwaltung des Forschungs-Instituts für Chemotherapie hat er von seiner Begründung an in hervorragender Weise mitgewirkt, insbesondere auch bei der Verwaltung des Stiftungsvermögens. An seine Stelle hat Dr. jur. G. Eberlein, der ihm seit 1. Febr. 1934 zur Unterstützung beigegeben war, die Leitung des Verwaltungsbüros übernommen. Aus dem Kreise der Verwaltungsmitglieder ist ferner der Ober-

verwaltungsdirektor a. D. A. Heydler am 1. 7. 1938 ausgeschieden. Auch er war bereits als Verwaltungsdirektor des Magistrats mit den Angelegenheiten der Stiftungen beschäftigt. Nach seiner Pensionierung bei der Stadtverwaltung hat er bei dem Institut vom Jan. 1933 bis 31. Juni 1937 die Bankbuchhaltung und den Verkehr mit den Banken mit ausgezeichneter Sachkenntnis und Pflichttreue ausgeführt. Als sein Nachfolger ist der Bankbeamte a. D. G. Zulauf bestellt worden, der sein Amt am 1. Juli 1937 angetreten hat. Aus dem Institut ist ferner der Laborant L. Kühnly (nach Erreichung der Altersgrenze) am 1. April 1938 ausgeschieden. Kühnly hat seit 1906 dem Forschungsinstitut für Chemotherapie angehört und während dieser Zeit dem Institut wertvolle Dienste geleistet.

Leider hat das Institut als Opfer der Arbeit den Verlust einer technischen Assistentin zu beklagen. Im Dezember 1936 zog sich Frau Wyss bei den Arbeiten im Institut eine Laboratoriumsinfektion zu, deren Folgen die pflichttreue Mitarbeiterin im Februar 1937 erlag.

Ueber Bestand, Zugang und Abgang an Personal gibt die nachstehende Uebersicht Aufschluß.

	Bestand am 1. August 1935	Zu- und Abgänge im Laufe der Berichtszeit		Bestand am 1. März 1939
Direktor	1	1	1	1
Wissenschaftliche Mitglieder	4	2	2	4
Wissenschaftliche Oberassistenten	4	—	1	3
Wissenschaftliche Assistenten	2	4	2	4
Auswärtige Mitglieder und wissenschaftliche Mitarbeiter	3	—	1	2
Verwaltungsdirektor	1	1	1	1
Rechnungsführerin	1	—	—	1
Bankbuchhalter	1	1	1	1
Bibliothekar	1	—	1	—
Bibliotheksgehilfin	—	1	—	1
Photograph	1	—	—	1
Technische Assistentinnen	6	3	3	6
Laboranten	7	4	1	10
Laboratoriumsgehilfen	8	2	2	8
Laboratoriumslehrling	—	1	—	1
Maschinenmeister u. Kraftfahrer	2	—	—	2
Pförtner	—	1	—	1
Tierpfleger	2	2	2	2
Putzfrauen	3	2	1	4

Zum Schluß sei noch bemerkt, daß die vom Vorstande der Stiftung am 28. 6. 38 beschlossene Satzungsänderung am 2. 9. 38 die Genehmigung des Regierungspräsidenten erhielt. Entsprechend der neuen Bezeichnung der Stiftung lautet jetzt auch der Name des Instituts: „Forschungs-Institut für Chemotherapie zu Frankfurt a. M."

Verzeichnis der Veröffentlichungen vom August 1935 bis zum Februar 1939 aus dem Forschungs-Institut für Chemotherapie zu Frankfurt a. M.

(einschließlich der vom Institut geförderten Arbeiten).

Arnold, H., Synthetische Phosphatidsäuren. II. Mitteilung: Darstellung mono-fett-acylierter Glyzerinphosphorsäuren. Berichte d. Deutsch. Chem. Ges., Jahrg. 71, 1938, S. 1505.

Bauer, H., und Strauss, E., Beiträge zur Kenntnis substituierter Proteine, II. Biochem. Ztschr., Bd. 284, S. 197, 1936.

Dies., Beiträge zur Kenntnis substituierter Proteine, III. Biochem. Ztschr., Bd. 284, S. 231, 1936.

Dies., Zur Jodierung des Nitrotyrosins. Ber. d. Deutsch. Chem. Ges., Jahrg. 69, S. 245, 1936.

Berghaus, W., Gibt es eine erbliche Tuberkulosedisposition? Ztschr. f. Hyg. u. Inf.-Krkh., Bd. 117, S. 757, 1936.

Ders., Beitrag zur Frage Tuberkulose und Vererbung. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie, H. 36, S. 1, 1938.

Ders., Beitrag zur Zwillings-Tuberkulose. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 36, S. 68, 1938.

Bürgi, S., Ueber die Wirkung einiger Pharmaka auf das Praevagusherz des Hühnerembryo. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 33, S. 1, 1936.

Burschkies, K., Ueber organische Verbindungen des Germaniums. Ztschr. f. angewandte Chemie, Bd. 48, S. 478, 1935.

Ders., Ueber einige organische Verbindungen des Germaniums (IV. Mitt.). Ber. d. Dtsch. Chem. Ges., Bd. 69, S. 1143, 1936.

Ders., Nachtrag zu meiner Arbeit: Ueber einige organische Verbindungen des Germaniums (IV. Mitt.) Ber. d. Dtsch. Chem. Ges., Bd. 69, S. 1313, 1936.

Ders., Zur Kenntnis aromatischer Auro-mercapto-arsenverbindungen. Arch. Pharm. 1937, S. 503.

Ders., Ueber einige ungesättigte Ester der Chaulmoograsäure. Ber. d. Dtsch. Chem. Ges., Bd. 71, S. 233, 1938.

Ders., Ueber einige Karbonsäureester des Chaulmoogryl- und Hydnokarpylalkohols. Ber. d. Dtsch. Chem. Ges., Bd. 71, S. 1855, 1938.

Ders., Flacourtiaceenöle und ihre Derivate. X. Kongreß Intern. d. Chimica, Roma. La Chimica e l'industrie, Maggio 1938, XIV. (Im Druck.) Ref. Chem. Ztg. 1938, S. 517. Angew. Chemie 1938, S. 772.

Burschkies, K. und Rothermundt, M., Zur Kenntnis aromatischer Schwefel-Arsenverbindungen. Ber. Dtsch. Chem. Ges., Bd. 69, S. 2721, 1936.

Dies., Konstitution und Wirkung aromatischer Arsinsäuren. I. Mitt. Arch. Pharm. 1938, S. 226.

Gregori, A., Wirkung von Röntgenstrahlen auf das Knochenmark in vivo und in vitro. „Strahlentherapie". (Im Druck.)

Kudicke, R., und Vollmar, H., Gewebekulturversuche mit den Bazillen der Rattenlepra. Vortr. a. d. 17. Tag. d. D. Vereinig. f. Mikrobiol. Berlin 1937. Zbl. f. Bakt. I. Orig., Bd. 140, 1937, Beiheft S. 293.

Lentz, O., und Schäfer, Walther, Untersuchungen über Gonokokken. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemother. zu Frankfurt a. M., H. 33, S. 39, 1936.

Dies., Beiträge zur Gonokokkenfrage. D. m. W. 1937, S. 388.

Maas, H., Erfahrungen mit dem Leitzschen Monochromator. Ztschr. f. wiss. Mikroskopie u. f. mikrosk. Technik, Bd. 55, 1938, S. 41.

Maschmann, E., Ueber Kathepsin und Peptidasen in gesunden und krebskranken Tieren. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemother. zu Frankfurt a. M., H. 34, S. 1, 1937.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. I. Biochem. Ztschr., Bd. 294, S. 1, 1937.

Ders., „ „ „ II. Ebenda, Bd. 295, S. 1, 1937.

Ders., Ueber Tuberkulin. D. m. W. 1937, S. 778.

Ders., Die Proteinase des B. prodigiosus, B. pyocyaneus und B. fluorescens liquefaciens. Vortr. a. d. 17. Tag. d. D. Vereinig. f. Mikrobiol., Berlin 1937. Zbl. f. Bakt. I Orig., Bd. 140, 1937, Beiheft S. 288.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. III. „Die Proteasen des B. perfringens." Biochem. Ztschr., Bd. 295, S. 351, 1938.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. IV. „Die Proteasen des B. histolyticus." Ebenda, Bd. 295, S. 391, 1938.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. V. „Die Proteasen des Rauschbrandbazillus." Ebenda, Bd. 295, S. 400, 1938.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. VI. Ebenda, Bd. 295, S. 402, 1938.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. VII. „Ueber den Aufbau einer Bakterienprotease." Die Naturwissenschaften, 26. Jahrg., 1938, S. 139.

Ders., Ueber Bakterienproteasen, VIII. „Ueber die Proteasen der Gasbranderreger." Vortrag a. d. X. Internat. Kongreß f. Chemie in Rom 15.—21. Mai 1938. Erscheint im Kongreßbericht. Ref.: Chem. Ztg. 1938, S. 516.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. IX. „Die Anaerobiase der Gasbranderreger." Biochem. Ztschr., Bd. 297, S. 284, 1938.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. X. „Ueber die Aktivierung der Peptidasen anaerober Bakterien." Die Naturwissenschaften., 26. Jahrg., 1938, S. 791.

Ders., Ueber Bakterienproteasen. XI. „Zur Kenntnis der Proteasen des B. sporogenes. Ueber eine neue Proteinase und über aktivierbare Peptidasen." Biochem. Ztschr., Bd. 300, S. 89, 1939.

Maschmann, E., und Helmert, E., Ueber den Einfluß von Co-Ferment und von Co-Zymase auf die durch Schwermetall reversibel inaktivierten Proteinasen. Ztschr. f. physiol. Chemie, Bd. 243, S. 207, 1936.

Dies., Ueber den Kathepsingehalt von Organen und der Muskulatur normaler, (krebsresistenter) und krebskranker Tiere. Ztschr. f. Krebsf., Bd. 45, S. 423, 1937.

Otto, R., Fleckfieber (Flecktyphus). Waldmann, A., u. Hoffmann, W., Lehrbuch der Militärhygiene, 1936, S. 509.

Otto, R., Les mesures préventives contre les maladies infectieuses et spécialement les affections transmises par la vermine, en temps de guerre et de calamités publiques. Bericht auf der Tagung des Comité international de la Croix-Rouge am 27. 1. 1937 in Paris. Bull. intern. des Soc. de la Croix-Rouge. T. 68, Nr. 417, 1937.

Ders., Eiweiß, Anaphylaxie und Allergie. „Chemie und Physiologie des Eiweißes" Vortrag a. d. 3. Frankf. Konf. f. med.-naturw. Zusammenarbeit, 1938.

Otto, R., und Schäfer, Walth., Weitere chemotherapeutische Versuche beim experimentellen Fleckfieber. (Versuche an weißen Mäusen mit murinem Virus). Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 33, S. 73, 1936.

Dies., Anaphylaktischer Schock und Diphtheriegift-Intoxikation. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemother. zu Frankfurt a. M., H. 34, S. 31, 1937.

Dies., Beeinflußt ein anaphylaktischer Schock den Verlauf einer Infektionskrankheit? Ztschr. f. Hyg. u. Inf.-Krkh., Bd. 120, S. 230, 1937.

Dies., Schutzimpfung und Infektionsverlauf. (Einfluß der Schutzimpfung auf den Verlauf einer Infektion mit Gärtner-Bazillen beim Meerschweinchen). Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemother. zu Frankfurt a. M., H. 37, S. 1, 1939.

Otto, R., Dittmar, C., und Vollmar, H., Ueber den Einfluß von Kornkeimlingen und Keimlingspräparaten auf die Entwicklung und das Wachstum von Mäusetumoren und auf Zellkulturen. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemother. zu Frankfurt a. M., H. 35, S. 1, 1938.

Rothermundt, M., Ueber die Bedeutung der biologischen Prüfung der Salvarsane. D. m. W. 1936, S. 647.

Rothermundt, M., und Burschkies, K., Ueber die Bedeutung des Germaniums für die Chemotherapie. Ztschr. f. Immunitätsf., Bd. 87, S. 445, 1936.

Dies., Konstitution und Wirkung aromatischer Arsenverbindungen. Vortrag a. d. 17. Tag. d. D. Ver. f. Mikrobiol. Berlin 1937. Zbl. f. Bakt. I. Orig., Bd. 140, 1937, Beiheft S. 206,

Dies., Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemother. zu Frankfurt a. M., H. 38. 1939.

Schaefer, H., und Schäfer, Walth., Zur Frage der Dosismessung im Ultrakurzwellen-Kondensatorfeld. Ztschr. f. d. ges. exp. Med., Bd. 100, S. 691, 1937.

Dies., Zur Frage der Hyperthermiewirkung des Ultrakurzwellenfeldes. Klin. Wo. 1937, S. 999.

Dies., Ueber die Wärmebildung im Organismus im Ultrakurzwellenfeld. Forschungen u. Fortschritte 1938, Nr. 1, S. 11.

Schäfer, Walth., Der Einfluß von Follikelhormon auf die Reaktionsbereitschaft des allergischen Organismus. Med. Klin. 1937, S. 1061.

Ders., Der Einfluß verschiedenen Vitamingehaltes der Ernährung auf den anaphylaktischen Schock der Meerschweinchen. Ztschr. f. Immunitätsf., Bd. 91, S. 385, 1937.

Ders., Gewährt Askorbinsäure einen Schutz gegenüber dem anaphylaktischen Schock des Meerschweinchens? Ztschr. f. Immunitätsf., Bd. 91, S. 394, 1937.

Ders., Zur Frage der Schutzimpfung gegen Fleckfieber. (Immunisierungsversuche an weißen Mäusen mit Impfstoffen nach den Verfahren von Laigret und Durand.) Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exper. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 34, S. 39, 1937.

Schäfer, Walther, Tierische Hyperthermie. Vortr. a. d. 2. Frankf. Konf. f. med.-naturwiss. Zusammenarbeit. 13.—14. Mai 1937: „Erforschung und Praxis der Wärmebehandlung in der Medizin einschließlich Diathermie und Kurzwellentherapie".

Ders., Beiträge zur Wirkung von Hormonen und Vitaminen bei experimenteller Anaphylaxie. Vortrag a. d. 17. Tag. d. Ver. f. Mikrobiologie Berlin 1937. Zbl. f. Bakt. I. Orig., Bd. 140, 1937, Beiheft S. 260.

Ders., Beitrag zur Frage der Ueberempfindlichkeit gegen toxoidhaltige Bakterienfiltrate. Ztschr. f. Hyg., Bd. 121, H. 3, S. 236, 1938.

Ders., Zur Frage der Dauer und Spezifität des antianaphylaktischen Zustandes beim Meerschweinchen (nach intravenöser Desensibilisierung). Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exper. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 36, S. 106, 1938.

Ders., Die Sensibilisierung des Meerschweinchens mit zwei Antigenen. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 37, S. 16, 1939.

Schäfer, Walther und Walther, Erika, Untersuchungen über Gonokokken. II. Mitt. Zeitschr. f. Hygiene, 1939 (im Druck).

Schäfer, Wilh., Fehlerrechnung bei biologischen Messungen. Die Naturwissenschaften 1937, 25. Jahrg., H. 14, S. 218.

Ders., Ueber den Fehler des Reihenversuches bei Verwendung nur eines Tieres für jede Dosis der Messungsreihe. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 37, S. 55, 1939.

Schelling, H. v., Die mathematisch-statistische Bewertung von Stichproben und deren Bedeutung für die Beurteilung von Tierversuchen. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 35, S. 69, 1938.

Ders., Die mathematisch-statistische Bewertung von Stichproben und deren Bedeutung für die Beurteilung von Tierversuchen. 2. Mitt.: Die Abgrenzung von Mutungsbereichen. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 37, S. 28, 1939.

Streng, K. O., Beiträge zur Kenntnis der spontanen Bildung und des Abbaues von Azeton im Lebergewebe. Arch. f. Zellforschung Bd. XXIII, S. 61, 1939.

Umezu, M. und Wagner-Jauregg, Th., Ueber die Gerüstsubstanz der Tuberkelbazillen. Biochem. Ztschr., Bd. 298, S. 115, 1938.

Voigt, R., Ueber die präparative Darstellung der Crotylhalogenide. Journ. f. prakt. Chemie, Bd. 151, S. 307, 1938.

Vollmar, Hildeg., Die Wirkung von Röntgenstrahlen auf normale Zellen und auf Tumorzellen. Die Umschau 1939, S. 200.

Dies., Wirkung von Röntgenstrahlen auf normale Zellen und auf Tumorzellen. Filmvortrag a. d. V. Intern. Zellforscherkongreß in Zürich 1938. Arch. f. Zellforschung, Bd. XXII, S. 407, 1938.

Dies., Über den Einfluß von Vitaminen auf Gewebekulturen von Normal- und Tumorgewebe. Archiv f. Zellforschung Bd. XXIII, S. 42, 1939.

Vollmar, H., und Inouye, K., Wachstum und Stoffwechsel von Normal- und Tumorgewebekulturen in Radium-haltigem Nährmedium. Arch. f. Zellforschung, Bd. XXIII, S. 27, 1939.

Vollmar, H., und Rajewsky, B., Mikrokinematographische Studien über die Wirkung von Röntgenstrahlen auf normale und Tumorzellen in Gewebekulturen. Strahlentherapie, Bd. 60, S. 524, 1937.

WAGNER-JAUREGG, TH., Vitamin B_2. Abderhaldens Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden. Abt. V, Teil 3 B, S. 1211—1240.

Ders., Ueber die chemischen Grundlagen einer experimentellen Therapie der Lepra und der Tuberkulose mit lipoiden Substanzen. Colloquium vom 22. 11. 1937 im Kaiser Wilhelm-Institut für med. Forschung in Heidelberg. Angewandte Chemie 1938, S. 18.

Ders., Ueber die Fettsäuren der Tuberkelbazillen. Ztschr. f. phys. Chem., Bd. 247, S. 135, 1937.

Ders., Eiweiß als Bestandteil von Fermenten. „Chemie und Physiologie des Eiweißes". Vortrag a. d. 3. Frankf. Konferenz f. med.-naturwiss. Zusammenarbeit am 2. und 3. Juni 1938.

Ders., Ueber die Gerüstsubstanz der Tuberkelbazillen. Vortrag beim X. Intern. Chemiekongreß Rom 1938. (Im Druck.) Ref. Chem. Ztg. 1938, S. 516. Angew. Chemie 1938, S. 542.

WAGNER-JAUREGG, TH., und ARNOLD, H., Synthesen mit aliphatischen Monoterpenen Liebigs Annalen d. Chem., Bd. 529, S. 274, 1937.

Dies., Darstellung der α, γ-Dichaulmoogryl-glyzerin-β-Phosphorsäure. Ber. d. Dt. Chem Ges., Bd. 70, S. 1459, 1937.

Dies., Ueber Phosphatidsäure-Eiweiß-Verbindungen: Chaulphosphatproteide. Biochem. Ztschr., Bd. 299, S. 274, 1938.

Dies., Ueber Cycloalkylfettsäuren und ihre chemotherapeutische Prüfung bei Lepra und Tuberkulose. Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Ther. u. d. Forsch.-Inst. f. Chemotherapie zu Frankfurt a. M., H. 37, S. 22, 1939.

WAGNER-JAUREGG, TH., und GRIESSHABER, H., Ueber die Akridinsalze saurer Phosphorsäureester. Ber. d. Dt. Chem. Ges., Bd. 70, S. 1458 1937.

WAGNER-JAUREGG, TH., und HELMERT, E., Ueber Dien-Synthesen mit Derivaten der Sorbinsäure. Ber. d. Dtsch. Chem. Ges., Bd. 71, S. 2535, 1938.

WAGNER-JAUREGG, TH., und PRIER, F., Aufsatz zur Extraktion sowohl von festen Stoffen wie von Flüssigkeiten. Chemikerztg. 1937, S. 645.

WAGNER-JAUREGG, TH., und REINEMUND, K., Ueber Fett-acylierte Triaryl-methanfarbstoffe. Journ. f. prakt. Chemie. N. F., Bd. 150, S. 250, 1938.

WAGNER-JAUREGG, TH., und VOIGT, R., Ueber die katalytische Reduktion des Chaulmoograsäurechlorides nach Rosenmund. Ber. d. Dtsch. Chem. Ges. Bd. 71, S. 1973, 1938.

WOHLRAB, R., Die experimentelle Infektion weißer Mäuse mit murinem Fleckfiebervirus. Vortrag a. d. 17. Tag. d. Ver. f. Mikrobiol. Berlin 1937. Zbl. f. Bakt. I. Bd. 140, 1937, Beiheft, S. 193.

Aus dem Staatlichen Institut für experimentelle Therapie und dem Forschungsinstitut für Chemotherapie (Direktor: Geh. Med.-Rat. Prof. R. OTTO).

II.

Antianaphylaxie und anaphylaktischer Antikörper im Blut.

Von

Dr. med. habil. Walther Schäfer.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Seit den ersten Befunden von R OTTO (1) ist bekannt, daß im anaphylaktischen Organismus Antikörper auftreten, die sich bei geeigneter Versuchsanordnung mit dem Serum des sensibilisierten Tieres auf normale Tiere übertragen lassen und dort einen anaphylaktischen Zustand hervorrufen („anaphylaktischer Reaktionskörper"). Bevor diese „passive Anaphylaxie" in Erscheinung tritt, muß erst eine gewisse Latenzzeit verstrichen sein. Aus dieser Tatsache folgerte OTTO, daß nicht die im Blute kreisenden Antikörper die anaphylaktische Umstimmung bewirken, sondern daß erst durch ihre Verankerung an die Zellen des Empfängertieres die Grundlage für die anaphylaktische Reaktionsbereitschaft geschaffen wird; nicht auf zirkulierende, sondern auf zellständige Antikörper muß das Antigen stoßen, wenn eine anaphylaktische Reaktion auftreten soll.

War bereits aus dem Umstand der Latenzzeit beim passiv präparierten Tier ersichtlich, daß das Vorhandensein zirkulierender Antikörper nicht für das Bestehen eines anaphylaktischen Zustandes maßgebend ist, so wurde diese Erkenntnis in der Folgezeit durch zahlreiche Versuche von DOERR und Mitarbeitern, DALE u. a. bestätigt und erweitert. Zirkulierende Antikörper sind bei aktiv sensibilisierten Meerschweinchen höchstens 2 bis 2½ Monate nach der Sensibilisierung nachweisbar [DOERR und SEIDENBERG (2)], während die Tiere selbst ihre Anaphylaxie weit über diesen Zeitpunkt hinaus beibehalten. An isolierten Organen anaphylaktischer Tiere lassen sich anaphylaktische Reaktionen noch auslösen, nachdem mittels Durchspülung alle humoralen Antikörper entfernt worden sind [DALE (3), COCA (4) u. a.]. Eindeutig geht aus all diesen Versuchen hervor, daß eine Anaphylaxie ohne nachweisbare zirkulierende Antikörper vorliegen kann [DOERR (5)], und daß zwischen beiden keinerlei Beziehungen

bestehen, die es erlauben würden, auf Grund des Antikörpergehaltes im Blut über den Grad der Anaphylaxie etwas auszusagen.

Diese Feststellungen bezüglich des Verhältnisses von Antikörpergehalt und Anaphylaxie beim Tier sind nicht nur von wissenschaftlich-experimentellem Interesse. Auch im Blute von Idiosynkrasikern sind Antikörper nachweisbar. Durch Uebertragung von Idiosynkrasikerserum in die Haut von nichtidiosynkrasischen Versuchspersonen [Praussnitz und Küstner (6)] gelingt es in 65—85 Proz. der Fälle, diese Hautstelle gegenüber dem spezifischen Antigen überempfindlich zu machen. Von Bedeutung ist die Tatsache, daß das Präparierungsvermögen des Serums von der Stärke der Hautreaktion des Spenders unabhängig ist [Jadassohn (7) u. a.], was ohne weiteres erklärlich erscheint, wenn man sich vergegenwärtigt, daß der Hautreaktion des Spenders das Maß der zellständigen Antikörper zugrunde liegt, wogegen die Intensität der beim Empfänger auslösbaren Hauterscheinungen eine Funktion des Gehaltes an humoralen Antikörpern im Spenderblut darstellt. Wir stoßen also auch beim Menschen auf die gleiche Inkongruenz von humoralem und sessilem Antikörpertiter, wie wir sie beim anaphylaktischen Tier beobachten können.

Das Ziel der therapeutischen Behandlung der allergischen Erkrankung liegt in der Ausschaltung der reagierenden Antikörper. Durch wiederholte Zufuhr kleiner Antigenmengen nimmt sowohl beim allergischen Menschen wie auch beim anaphylaktischen Tier der Grad der Ueberempfindlichkeit — wenigstens vorübergehend — ab (Desensibilisierung, Antianaphylaxie). Albus (8) beobachtete bei Pollen-Allergien im Verlauf der desensibilisierenden Antigenbehandlung auch ein Absinken des (mit der Hechtschen Modifikation der Komplementbindung feststellbaren) Antikörpertiters im Blut der Allergiker, parallel mit dem Nachlassen der klinischen Allergiesymptome, und legt dies einer Beurteilung des Behandlungserfolges zugrunde. Andere Autoren beschrieben dagegen ein Ansteigen der Antikörper im Blut bei der Desensibilisierung, wobei sie darauf verwiesen, daß oft erst im Verlauf einer erfolgreichen Desensibilisierungsbehandlung der Praussnitz-Küstnersche Uebertragungsversuch ermöglicht wird [Kallos und Kallos-Deffner (9), Urbach (10) u. a.].

Im Anschluß an solche Beobachtungen ist die Anschauung (Weil, Urbach, Hansen u. a.) aufgetaucht, in der Vermehrung der humoralen Antikörper die Ursache für verminderte Ueberempfindlichkeit nach wiederholten Antigeninjektionen zu sehen, indem man sich die Vorstellung bildet, daß sich nunmehr die Antigen-Antikörperreaktion bereits im Blute vollziehe, ohne dabei den zellständigen Antikörper in Mitleidenschaft zu ziehen.

Ueber die Verhältnisse beim Tier finden sich, wenn man der bisherigen Literatur folgt, recht verwickelte Anschauungen hinsichtlich der Beziehungen von Anti-Anaphylaxie zu den zirkulierenden anaphylaktischen Antikörpern, hervorgerufen durch die unterschiedlichen Befunde bei den

verschiedenen Methoden, mit denen sich eine Anaphylaxie desensibilisieren läßt.

Das Blut von Meerschweinchen, die durch wiederholte Antigeninjektionen antianaphylaktisch gemacht worden sind, weist meist eine Erhöhung des Antikörpergehaltes auf; die isolierten Organe zeigen eine herabgesetzte Reaktionsfähigkeit (Kallos und Kallos-Deffner u. a.). Doerr spricht von einer „Maskierung" der sessilen Antikörper, die sie unfähig mache, mit dem Antigen zu reagieren. — Man kann aber auch beim anaphylaktischen Meerschweinchen Antianaphylaxie hervorrufen (durch einmalige Einverleibung einer großen Antigendosis), bei der die zirkulierenden Antikörper im Blut völlig verschwinden. In diesem Fall, in dem wiederum eine Verminderung der Reaktionsfähigkeit der isolierten Organe (also der sessilen Antikörper) festzustellen ist, wird die Herabsetzung der Anaphylaxie allein mit dem Verschwinden der Antikörper erklärt (Kallos und Kallos-Deffner u. a.).

In seiner Darstellung (1937) der Ergebnisse der experimentellen Anaphylaxie vertritt Kallos die Anschauung (vgl. S. 273), daß der Schutz, der in beiden Fällen zustande kommt, unterschiedlich bedingt sei. Das Ausbleiben der Reaktion bei den Tieren, die durch wiederholte kleine Antigengaben desensibilisiert worden sind, hält er bei der Zunahme des Gehaltes — wenigstens an freien — Antikörpern für nicht ebenso erklärbar wie den Schutz nach einmaliger größerer Antigeneinverleibung mit dem Fehlen von Antikörpern. Die Theorie von Weil (Antigenabsättigung durch die zirkulierenden Antikörper, s. o.) reicht ihm aber nicht aus, da die mangelnde Reaktionsfähigkeit auch der isolierten Organe durch sie nicht erklärt wird. Kallos spricht dann von „mangelnder Disponibilität" der zellständigen Antikörper. Nichtsdestotrotz sieht er in der Vermehrung der freien Antikörper einen Zustand, der der Immunität näher steht als die durch eine einmalige große Antigeninjektion bedingte Antianaphylaxie und der doch im Sinne von Weil für die Antianaphylaxie eine große Rolle spielen könnte. Den therapeutischen Erfolg in der Desensibilisierung mit wiederholten Antigenmengen bei Idiosynkrasien hält er vorwiegend (vgl. S. 239) durch die Steigerung der humoralen Antikörper gegeben, indem „bei mäßiger Antigenzufuhr die Antigen-Antikörperreaktion in den Körperflüssigkeiten und nicht an oder in den körperhaltigen Zellen vor sich geht (Immunität)". Damit werden die Antikörper im Blut als ein Faktor anerkannt, der den Grad der Anaphylaxie bzw. Antianaphylaxie weitgehend beeinflussen kann.

Bei ein und demselben „klinischen" Phänomen (reduzierte Anaphylaxie) ist also der Gehalt des Blutes an Antikörpern völlig verschieden, je nach der Methode, deren man sich zur Herbeiführung des Zustandes der Anaphylaxieherabsetzung bedient. Anstatt nun daraus auf eine ziemliche Bedeutungslosigkeit der zirkulierenden Antikörper für den Grad des anaphylaktischen Zustandes und auf eine Unabhängigkeit der beiden Er-

scheinungen zu schließen, hat man — aus Analogie zu den Auswirkungen anderer Antikörperveränderungen, z. B. des Anstieges des Antitoxintiters im Blut während der Immunisierung — den Desensibilisierungsschutz nach wiederholten kleinen Antigeninjektionen zum Teil als Folge der Erhöhung des Blutgehaltes an anaphylaktischen Antikörpern angenommen und damit enge ursächliche Beziehungen von Blutantikörpergehalt und Desensibilisierungserfolg hergestellt. Der ausgeprägten Antianaphylaxie des sensibilisierten Tieres nach Einverleibung einer einmaligen großen Antigendosis, die mit völligem Schwund der zirkulierenden Antikörper einhergeht, konnte diese These natürlich nicht gerecht werden; für diese Fälle verlegte man den Schwerpunkt im Mechanismus der Desensibilisierungswirkung wieder auf die Beseitigung der sessilen Antikörper. Unter dieser gegenseitigen Ergänzung bestehen nunmehr zwei Erklärungen des antianaphylaktischen Zustandes: einmal soll die Desensibilisierung eine Folge der in die Höhe getriebenen zirkulierenden anaphylaktischen Antikörper sein, zum anderen eine Folge der Absättigung der sessilen Antikörper.

Diese Betrachtungsweise befriedigt wenig. Nach unserer Anschauung kommt für den Grad des anaphylaktischen Zustandes nur den sessilen Antikörpern eine Bedeutung zu. Bei ihrer Besetzung (Absättigung) durch eingebrachtes Antigen nimmt — je nach der Dosis und der Häufigkeit der Injektion — die anaphylaktische Reaktionsfähigkeit des Tieres ab. Eine weitere sekundäre Folge ist die wie bei jeder Antigenzufuhr als Reaktion des Organismus sich einstellende Produktion von Antikörpern, feststellbar im Blut.

Je nach der Lokalisation — frei zirkulierend oder sessil — sind die Antikörper von unterschiedlichem Wert für die Anaphylaxie, weil nur die zellgebundenen Antikörper eine anaphylaktische Reaktionsweise ermöglichen. Man könnte sogar in der Vermehrung der zirkulierenden Antikörper nach wiederholter Antigenbehandlung ein der Erhaltung der Desensibilisierung abträgliches Moment sehen, nachdem man in der Beseitigung der sessilen Antikörper ihre Ursache erkannt hat; denn die Möglichkeit wäre zu bedenken, ob nicht aus dem Blut wieder Antikörper von den Zellen angenommen und — in analoger Weise wie bei der passiven Präparierung — zellständig werden und damit also den Wiederanstieg der Anaphylaxie bewirken.

Wenn die Menge der Antikörper im Blut mit der jeweiligen Reaktionsunfähigkeit des Organismus in einem Zusammenhang stünde, wäre nicht einzusehen, warum das antikörperreiche Serum eines desensibilisierten Tieres, das bei der Uebertragung auf einen Normalorganismus diesen überempfindlich macht, infolge der gleichen Eigenschaft die Ueberempfindlichkeit seines Besitzers verringern sollte.

Angesichts dieser noch wenig geklärten Rolle der zirkulierenden Antikörper bei der Antianaphylaxie haben wir in neueren eigenen Versuchen das Verhalten der Antikörper im Blut zu dem jeweiligen Grad der Anaphylaxie sensibilisierter Meerschweinchen festzustellen gesucht. Eine möglichst genaue quantitative Erfassung des Antianaphylaxiegrades und des Antikörperspiegels im Blut sollte zur weiteren Klärung der Frage beitragen, ob den zirkulierenden Antikörpern

eine Bedeutung für das Zustandekommen des antianaphylaktischen Zustandes zukommt. Dabei schien es erforderlich, die Anaphylaxieminderung (= Antianaphylaxie) durch möglichst verschieden gestaltete desensibilisierende Antigenapplikation herbeizuführen, um an dem jeweiligen Stand des Antikörperspiegels im Blut etwaige Wechselbeziehungen zu erkennen. Wir untersuchten daher die Veränderung der experimentell nachweisbaren Anaphylaxie und des Antikörpergehaltes im Blut: 1. nach einer einmaligen Antigenapplikation (nach einer geringen [iv.] und einer hohen [subk.] Antigendosis) und 2. nach mehreren (teils in gleichbleibend niedriger, teils in steigender Dosis) über eine längere Zeit hin verabfolgten subk. Antigenapplikationen.

Versuche.

I. Desensibilisierung mittels einmaliger Antigenapplikation.

A. Antianaphylaxie und anaphylaktische Antikörper im Blut nach einer kleinen Antigendosis iv.

Versuch 1.

20 Meerschweinchen werden ip. mit 0,01 ccm Pferdeserum sensibilisiert. Nach 45 Tagen iv. Reinjektion (Anaphylaxieprüfung durch iv. ausgelösten Schock): auf die Dosis von 0,02 ccm gehen von 10 Tieren 3 Tiere ein und auf die Dosis von 0,05 ccm von 5 Tieren 3 Tiere.

Anaphylaktische Antikörper im Blut vor dem Schock: Vor der Schockauslösung wurde den Tieren durch Herzpunktion Blut entnommen; mit je 1,5 ccm des erhaltenen Mischserums wurden zur Ermittlung des Blutantikörpertiters 7 normale Meerschweinchen ip. präpariert. Nach 48 Stunden gingen auf die Reinjektion von 0,1 ccm Pferdeserum von 3 passiv präparierten Tieren 1 und auf die Dosis von 0,25 ccm von 4 Tieren 3 ein; das 4. Tier überstand einen sehr schweren Schock.

Antikörper im Blut ½ Std. nach dem Schock: 4 Normaltiere werden mit je 1,5 ccm Mischserum ip. präpariert. Auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum ging von 2 Tieren das eine ein, das andere überstand einen sehr schweren Schock. Die Dosis von 0,75 ccm wurde mit einem mittelschweren, die Dosis von 0,5 ccm mit einem ganz leichten Schock beantwortet.

Antikörper im Blut 3 Std. nach dem Schock: tödlicher Schock der mit 1,5 ccm Mischserum ip. präparierten Tiere auf die Reinjektion von 0,5 und 0,4 ccm Pferdeserum. Die Dosis von 0,25 ccm wird mit einer leichten Reaktion ertragen.

Antikörper im Blut 20 Std. nach dem Schock: auf die iv. Reinjektion von 0,25 ccm Pferdeserum gingen von 4 (mit 1,5 ccm Mischserum ip. präparierten) Tieren 3 Tiere ein, das 4. überstand einen sehr schweren Schock.

Anaphylaxie 20 Std. nach dem Schock: auf die iv. Reinjektion von 0,05 ccm Pferdeserum ging von 3 Tieren 1 Tier ein. Die Dosis von 0,1 ccm führte bei 1 Tier sofort zum tödlichen Schock.

Anaphylaxie 4 Tage nach dem Schock: Auf die iv. Reinjektion von 0,05 ccm Pferdeserum gingen von 4 Tieren 2 Tiere ein.

Durch eine geringe Antigenmenge (0,02—0,05 ccm) wurde in diesem Versuch die Anaphylaxie der Meerschweinchen nur ganz vorübergehend herabgesetzt. Bereits 20 Stunden später war fast der ursprüngliche Empfindlichkeitsgrad wieder vorhanden. Die anaphylaktischen Blutantikörper waren unmittelbar nach dem Schock am stärksten vermindert, im Verlauf

der nächsten 20 Stunden kehrten auch sie wieder zur ursprünglichen Höhe zurück. Blutantikörper und anaphylaktische Empfindlichkeit gingen nach ihrem Absinken auf die Antigeninjektion in ihrem Wiederansteig zeitlich parallel.

B. Antianaphylaxie und anaphylaktische Antikörper im Blut nach einer einmaligen großen Antigendosis subk. (Abb. 1).

(Versuch 2 und 3.)

Versuch 2.

22 Meerschweinchen werden mit 0,01 ccm Pferdeserum ip. sensibilisiert. Nach 27 Tagen wird die Anaphylaxie eines Kontrolltieres mittels iv. Reinjektion von 0,02 ccm Pferdeserum geprüft: das Tier geht im Schock ein. Den anderen Tieren wird zur Bestimmung des Blutgehaltes an anaphylaktischen Antikörpern durch Herzpunktion Blut entnommen. Das mit 1,5 ccm des Mischserums ip. präparierte Normaltier zeigt nach 48stündiger Latenzzeit auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum nur eine geringfügige Reaktion, ein anderes mit 5,0 ccm Serum ip. präpariertes Tier reagiert auf die gleiche iv. Reinjektionsdosis mit einem schweren Schock. Nach der Herzpunktion werden die 21 Tiere mit 3,0 ccm Pferdeserum subk. desensibilisiert.

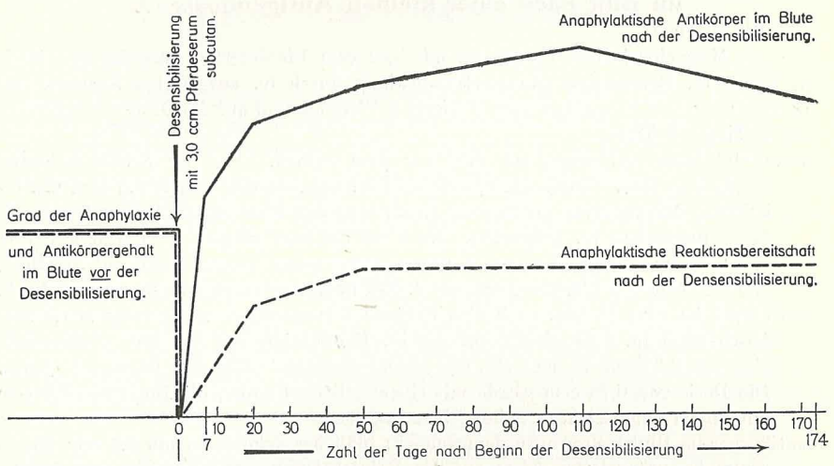


Abb. 1. Verhalten der Antianaphylaxie und der anaphylaktischen Antikörper im Blut nach einmaliger subk. Applikation einer größeren Antigenmenge (3,0 ccm) gegen Pferdeserum sensibilisierter Meerschweinchen im Verhältnis zum Grad der Anaphylaxie und zum Antikörpergehalt im Blut vor der Desensibilisierung.

Antianaphylaxie nach 20 Std.: Auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm erfolgt leichte Reaktion (Unruhe, Kauen).

Antikörper im Blut nach 20 Std.: auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm zeigt ein mit 5,0 ccm ip. präpariertes Tier keine Reaktion.

Antianaphylaxie nach 3 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm erfolgt leichter Schock.

Antikörper im Blut nach 3 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm zeigt ein mit 5,0 ccm ip. präpariertes Tier leichten Schock.

Antianaphylaxie nach 7 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm tritt ein tödlicher Schock ein, auf die Dosis von 0,5 ccm ein sehr schwerer Schock, von dem sich das Tier wieder erholt.

Antikörper im Blut nach 7 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm und 0,5 ccm Pferdeserum gehen die mit je 1,5 ccm präparierten Tiere ein. Die Reinjektionsdosis von 0,25 ccm wird ertragen.

Antikörper im Blut nach 14 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,5 ccm geht von den beiden mit 1,5 ccm ip. präparierten Tieren 1 Tier ein, das andere übersteht einen sehr schweren Schock. Die Reinjektionsdosis von 0,25 ccm wird ertragen.

Antianaphylaxie nach 22 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,25 ccm Pferdeserum tritt ein tödlicher Schock ein, auf die Dosis von 0,1 ccm stellt sich ein sehr schwerer Schock ein, von dem das Tier sich wieder erholt.

Antikörper im Blut nach 22 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,5 ccm Pferdeserum erfolgt ein tödlicher Schock des mit 1,5 ccm Serum präparierten Tieres. Auf die Dosis von 0,4 ccm reagiert ein ebenso präpariertes Tier mit mittelschwerem Schock.

Antianaphylaxie nach 50 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,1 ccm Pferdeserum tritt tödlicher Schock ein. Auf die Dosis von 0,05 ccm erfolgt ein schwerer Schock, von dem sich das Tier wieder erholt.

Antikörper im Blut nach 50 Tagen: von den mit 1,5 ccm Serum präparierten Tieren gehen auf die iv. Reinjektion von 0,4 ccm und 0,2 ccm Pferdeserum je 1 Tier ein, die Dosen von 0,05 und 0,1 ccm werden mit schwerem, aber nicht tödlichem Schock beantwortet.

Antikörper im Blut nach 120 Tagen: von den mit 1,5 ccm Serum präparierten Tieren gehen auf die iv. Reinjektion von 0,2, 0,15 und 0,1 ccm Pferdeserum alle Tiere ein, die Dosis von 0,05 ccm Serum wird ertragen.

Antianaphylaxie nach 150 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,1 ccm Pferdeserum erfolgt ein tödlicher Schock. Die Dosis von 0,05 ccm wird mit einem schweren, aber nicht tödlichen Schock beantwortet.

Antianaphylaxie nach 174 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,1 ccm Pferdeserum geht von 3 geprüften Tieren 1 Tier ein. Auf die Dosis von 0,15 und 0,2 ccm erliegen die beiden geprüften Tiere im tödlichen Schock.

Antikörper im Blut nach 172 Tagen: von 7 mit 1,5 ccm ip. präparierten Tieren erhalten 2 Tiere als iv. Reinjektion 0,4 ccm Pferdeserum, beide tot im Schock. Von 2 mit 0,3 ccm reinjizierten Tieren geht 1 Tier ein, auf die Dosis von 0,2 ccm geht von 3 Tieren 1 Tier ein, während die 2 anderen den Schock überstehen. Der Versuch wird abgebrochen.

Durch eine hohe Antigendosis (3,0 ccm), die infolge der subk. Applikation ohne anaphylaktische Schockreaktion ertragen wurde, sank die Anaphylaxie der Meerschweinchen sehr stark ab. 20 Stunden nach der Injektion bestand ein fast völliger antianaphylaktischer Refraktärzustand. Anaphylaktische Antikörper waren im Blut nicht mehr nachweisbar. Dieses Bild bleibt ungefähr 3 Tage. — Am 7. Tage läßt sich bereits wieder ein tödlicher anaphylaktischer Schock auslösen, allerdings nur mit der sehr hohen Dosis von 1,0 ccm iv., etwa dem 50fachen der zuvor tödlichen Reinjektionsdosis. Am 22. Tag besteht der antianaphylaktische Schutz noch gegenüber etwa dem 10fachen der zuvor tödlichen Antigenmenge, bis zum 50. Tag vermindert er sich weiter auf etwa das 5fache, tödlicher Schock bei 0,1 ccm Pferdeserum-Reinjektion. Von dieser Zeit ab bleibt der antianaphylaktische Zustand ziemlich konstant (Beobachtungsfrist bis 174 Tage), er geht nicht weiter zurück und die ursprüngliche anaphylaktische Empfindlichkeit wird in dieser Zeit nicht mehr zurückgewonnen.

Nach der einmaligen Desensibilisierung mit großer Antigenmenge kommt es zuerst zu einem Schwund auch der anaphylaktischen Antikörper im Blut, der dann aber bald einer deutlichen Vermehrung Platz macht. Der Titer der anaphylaktischen Antikörper im Blut ist bereits am 7. Tag, an dem die Tiere noch hochgradig antianaphylaktisch sind, höher als vor der Desensibilisierung und steigt weiterhin fortgesetzt an. Am 50. Tag nach der Desensibilisierung, an dem die Tiere noch keineswegs die ursprüngliche anaphylaktische Reaktionsbereitschaft wiedererlangt haben (antianaphylaktischer Schutz gegenüber etwa der 5fachen zuvor tödlichen Antigendosis), führt die Uebertragung von 1,5 ccm Serum zum tödlichen Schock des präparierten Tieres auf die Reinjektion von 0,2 ccm Pferdeserum. (Vor der Desensibilisierung kam es nach der Präparierung sogar mit 5,0 ccm auf die Reinjektion von selbst 1,0 ccm Pferdeserum nicht zu einem tödlichen Schock des präparierten Tieres.) Bis zum 120. Tage etwa steigen die Blutantikörper noch weiter an; tödlicher Schock der mit 1,5 ccm Serum ip. präparierten Tiere auf die iv. Reinjektion von 0,15—0,1 ccm Pferdeserum. Dann sinkt der Antikörperspiegel langsam ab; am 172. Tage tritt ein tödlicher Schock erst auf die iv. Reinjektion von 0,4—0,3 ccm Pferdeserum bei den mit 1,5 ccm präparierten Tieren ein.

Die Einwirkung des Antigens (3 ccm subk.) auf den sensibilisierten Organismus bestand: 1. in der Bindung der vorhandenen Antikörper (Schwund der im Blut nachweisbaren und — aus der Aufhebung der Anaphylaxie ersichtlich — Reaktionsunfähigkeit der zellständigen Antikörper). 2. in der nachfolgenden Anregung zur Neubildung von Antikörpern, nachweisbar im Blut. Die im freien Blut — durch das passive Präparierungsvermögen — nachweisbaren Antikörper und die anaphylaktische Reaktivität des Organismus zeigten mit ihrem Absinken zwar ein ähnliches Verhalten, in ihrer weiteren Entwicklung gingen sie aber nicht parallel. Der Wiederanstieg der Blutantikörper vollzog sich 1. ungleich rascher als das Anwachsen der Anaphylaxie und ging 2. erheblich über das ursprüngliche Niveau hinaus. Bereits am 7. Tage nach der Desensibilisierung waren mehr anaphylaktische Antikörper im Blut nachweisbar als zuvor. Dieser Zustand blieb über 5 Monate bestehen. Dann nahmen die Antikörper im Blut allmählich wieder ab. Die Anaphylaxie dagegen kehrte in dieser Zeit nicht zu ihrer ursprünglichen Ausprägung zurück.

Betrachten wir rückblickend die einzelnen Phasen des Versuches und das Verhältnis von Anaphylaxie und anaphylaktischen Antikörpern im Blut, so ergibt sich folgendes Bild zu den verschiedenen Prüfungsterminen:

1. anfänglich: hohe Anaphylaxie bei relativ geringem Gehalt an anaphylaktischen Antikörpern im Blut;
2. kurz nach der Desensibilisierung: geschwundene Anaphylaxie bei geschwundenen anaphylaktischen Antikörpern im Blut;
3. 7. Tag nach der Desensibilisierung: gering ausgeprägte Anaphylaxie bei höherem Antikörperspiegel im Blut als vor der Desensibilisierung;

4. 7.—120. Tag nach der Desensibilisierung: weitere Vermehrung der anaphylaktischen Antikörper im Blut und langsames Ansteigen der anaphylaktischen Reaktionsbereitschaft bis etwa zum 50. Tag, von wo an sie sich nicht weiter verändert. Die Anaphylaxie bleibt schwächer als vor der Desensibilisierung, der antianaphylaktische Zustand geht nicht ganz zurück;
5. Vom 120. Tag nach der Desensibilsierung ab: Rückgang der anaphylaktischen Antikörper im Blut bei gleichbleibend verminderter anaphylaktischer Reaktionsbereitschaft.

Aus diesem Ergebnis kann man folgern, daß hoher Gehalt des Blutes an anaphylaktischen Antikörpern nicht zu einem antianaphylaktischen Schutz des Organismus führt. Denn sonst hätte die Zunahme der Antianaphylaxie mit der Vermehrung der Blutantikörper, die erst ab dem 7. Tag nach der Desensibilisierung deutlich in Erscheinung trat, parallel gehen müssen. Da aber das Gegenteil der Fall war, stärkste Antianaphylaxie unmittelbar nach der Desensibilisierung bei völligem Fehlen von zirkulierenden Antikörpern, so ist daraus erwiesen, daß die Blutantikörper zu dem antianaphylaktischen Zustand nicht haben beitragen können. Auch bei dem Absinken der anaphylaktischen Antikörper im Blut vom 120. Tage ab nach der Desensibilisierung steigt die Anaphylaxie nun nicht an, wie es zu erwarten wäre, wenn zuvor der hohe Antikörperspiegel im Blut den antianaphylaktischen Zustand aufrechterhalten hätte.

Versuch 3.

25 Meerschweinchen werden mit 0,01 ccm Pferdeserum ip. sensibilisiert. 23 Tage später wird ihnen durch Herzpunktion Blut entnommen zur Bestimmung des Gehaltes an anaphylaktischen Antikörpern. Mit je 1,5 ccm des Mischserums werden Normaltiere ip. präpariert. Nach 48stündiger Latenzzeit erfolgt auf die iv. Reinjektion von 0,75 ccm und 0,5 ccm Pferdeserum ein tödlicher Schock, die Dosis von 0,25 ccm wird mit einem mittelschweren Schock beantwortet. — Bei der Anaphylaxieprüfung eines der aktiv sensibilisierten Tiere erfolgt nach ip. Applikation von 3,0 ccm Pferdeserum tödlicher Schock.

Anschließend an die Herzpunktion werden die 25 sensibilisierten Meerschweinchen mit 3,0 ccm Pferdeserum subk. desensibilisiert. Der antianaphylaktische Zustand und der Blutantikörpergehalt werden zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Desensibilisierung in Stichproben geprüft.

Antianaphylaxie nach 20 Std.: auf die Reinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum tritt leichte Schwäche ein.

Antikörper im Blut nach 20 Std.: auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum zeigt sich bei dem mit 1,5 ccm und 5,0 ccm ip. präparierten Tier keine Reaktion.

Antianaphylaxie nach 15 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm und 0,5 ccm Pferdeserum erfolgt tödlicher Schock. Die Dosis von 0,25 ccm wird ertragen.

Antikörper im Blut nach 14 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 1,0 ccm und 0,75 ccm Pferdeserum tritt bei den mit 1,5 ccm ip. präparierten Tieren eine tödliche anaphylaktische Reaktion ein. Die Dosis von 0,5 ccm Pferdeserum wird ertragen.

Antianaphylaxie nach 29 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,5 ccm Pferdeserum stellt sich ein tödlicher Schock ein. Die Dosis von 0,25 ccm wird ertragen (sehr schwerer Schock).

Antikörper im Blut nach 29 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,2 ccm Pferdeserum reagiert das mit 1,5 präparierte Tier mit tödlichem Schock. 0,1 ccm wird von einem in gleicher Weise präparierten Tier ertragen.

Antianaphylaxie nach 42 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,1 ccm Pferdeserum erfolgt bei 1 Tier tödlich verlaufender Schock, bei 1 anderen Tier ein sehr schwerer Schock, von dem das Tier sich wieder erholt.

Antianaphylaxie nach 73 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,1 ccm Pferdeserum erfolgt bei 1 Tier ein tödlich verlaufender Schock, die Dosis 0,05 ccm wird von einem anderen Tier ertragen.

Antikörper im Blut nach 73 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,2 ccm Pferdeserum reagiert ein mit 1,5 ccm präpariertes Tier mit einem tödlichem Schock. Die Reinjektionsdosis von 0,1 ccm wird von einem Tier ertragen, bei einem 2. Tier führt sie einen tödlich endenden Schock herbei.

Antikörper im Blut nach 96 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,25 und 0,3 ccm Pferdeserum geht je 1 mit 1,5 ccm Serum ip. präpariertes Tier ein. Die Dosen von 0,1 und 0,2 ccm werden ertragen.

Antianaphylaxie nach 140 Tagen: auf die iv. Reinjektion von 0,1 und 0,075 ccm Pferdeserum erfolgt tödlicher Schock. Die Dosen von 0,02 und 0,05 ccm werden ertragen.

Antikörper im Blut nach 140 Tagen: auf die Reinjektion von 1,0—1,4 ccm Pferdeserum reagieren die mit je 1,5 ccm Serum ip. präparierten Tiere mit schwerem, aber nicht tödlichem Schock. Nach der Präparierung von 3,0 ccm Antiserum tritt auf die Dosis von 1,0 und 0,5 ccm Pferdeserum tödlicher Schock ein.

Der Versuch wird nun abgebrochen.

Das Ergebnis des Versuches 3 stimmt prinzipiell mit dem des Versuches 2 überein. Hochradiger antianaphylaktischer Refraktärzustand und Schwund der anaphylaktischen Blutantikörper 20 Stunden nach der subk. Desensibilisierung; gleichsinniger Wiederanstieg von Anaphylaxie und Blutantikörpern im Verlauf der Folgezeit.

Etwa am 20. Tag ist der vor der Desensibilisierung gemessene Blutantikörperspiegel wieder erreicht, während die Tiere selbst sich noch in einem Zustand ausgeprägter Antianaphylaxie befinden (tödliche Schockdosis am 29. Tag: 0,5 ccm Pferdeserum). Der Antikörperspiegel im Blut beträgt am 29. Tage nach der Desensibilisierung etwa das Doppelte von dem vor der Desensibilisierung (tödlicher Schock bei 0,2 ccm Pferdeserum-Reinjektion des mit 1,5 ccm präparierten Tieres). Auf dieser Höhe hält er sich bis über den 73. Tag hinaus. Am 96. Tag ist eine geringfügige Verminderung festzustellen, es sind aber immer noch mehr anaphylaktische Antikörper im Blut vorhanden als vor der Desensibilisierung. Am 140. Tag sind die Antikörper nun erheblich unter das vor der Desensibilisierung festgestellte Niveau abgesunken, bei Reinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum kommt es nicht mehr zu einem tödlichen Schock des mit 1,5 ccm präparierten Tieres, erst nach Präparierung mit 3,0 ccm tritt auf die Reinjektion von 0,5 ccm ein tödlicher Schock ein.

Der antianaphylaktische Schutz geht nach dem 29. Tag weiter zurück, am 42. Tag löst die Reinjektion von 0,1 ccm Pferdeserum einen tödlichen Schock aus. Auf dieser Höhe (s. den gleichen Befund in Versuch 2) bleibt die Antianaphylaxie bis zum Abbruch des Versuches am 140. Tag konstant.

Der in diesem Zeitraum absinkende Gehalt des Blutes an anaphylaktischen Antikörpern findet in der anaphylaktischen Reaktivität der Tiere keine Parallele. Etwaige Rückschlüsse aus dem Antikörpergehalt des Serums auf die anaphylaktische Reaktionsfähigkeit der Tiere hätten darum ein völlig unzutreffendes Bild des Desensibilisierungsgrades geben müssen: bei ein und demselben Anaphylaxiegrad wurden ganz verschiedene Antikörperwerte gefunden, und bei ein und demselben Antikörperspiegel, z. B. wie er vor der Desensibilisierung und etwa 20 Tage nachher bestand, war eine ganz unterschiedlich hohe anaphylaktische Reaktivität vorhanden.

Der Rückgang der anaphylaktischen Antikörper hat in diesem Versuch früher (etwa ab dem 90. Tag nach der Desensibilisierung) eingesetzt als in Versuch 2. Trotz des erheblichen Absinkens der Blutantikörper, die sogar spärlicher wurden als vor der Desensibilisierung, stellte sich keine Zunahme der anaphylaktischen Reaktionsbereitschaft ein, wozu es nun doch hätte kommen können, wenn wirklich vorher die reichlichen Antikörper im Blut das in die Blutbahn injizierte Antigen gebunden und damit die anaphylaktische Reaktion des Organismus verhindert hätten.

Aus den Versuchen 2 und 3 ergibt sich, daß die Ursache des antianaphylaktischen Zustandes nicht in der Vermehrung der anaphylaktischen Antikörper im Blut der mit einer einmaligen hohen Antigenmenge desensibilisierten Meerschweinchen gefunden werden kann. Die Veränderung der anaphylaktischen Reaktivität und der anaphylaktischen Blutantikörper zeigen sich als zwei voneinander unabhängige Folgen der Antigeneinwirkung auf einen sensibilisierten Organismus.

In zwei weiteren Versuchen wurde nunmehr die Desensibilisierung anaphylaktischer Meerschweinchen mit mehrfach wiederholten Antigenapplikationen durchgeführt.

II. Desensibilisierung mit wiederholten Antigeninjektionen.

A. Antianaphylaxie und anaphylaktische Antikörper im Blut bei Desensibilisierung mit ansteigenden Antigendosen (Abb. 2).

Versuch 4.

34 Meerschweinchen wurden mit 1,0 ccm Pferdeserum 1:100 ip. sensibilisiert. 17 Meerschweinchen werden nach 41tägiger Sensibilisierungszeit mit steigenden Dosen — beginnend mit 0,005 ccm Pferdeserum — in 3—4tägigen Abständen subk. desensibilisiert. Abschluß der 25tägigen Desensibilisierungsbehandlung mit 1,0 ccm Pferdeserum subk. Insgesamt erhielten die Tiere 2,0 ccm Pferdeserum subk. 4 Tage nach der letzten subk. Injektion wurde den desensibilisierten Meerschweinchen durch Herzpunktion Blut entnommen und 24 Stunden später die Empfindlichkeit der Tiere gegen Pferdeserum iv. geprüft.

17 Meerschweinchen wurden als Kontrolltiere nicht desensibilisiert. Nach 78tägiger Sensibilisierungszeit wurde ihre Anaphylaxie geprüft und der Gehalt des Blutes an anaphylaktischen Antikörpern bestimmt.

Die Anaphylaxie der nicht desensibilisierten Kontrolltiere war sehr ausgeprägt. Auf die Antigendosis von 0,005 ccm gingen bei iv. Reinjektion von 5 Tieren 3 ein, auf die Dosis von 0,01 ccm von 5 Tieren 4 ein.

Die Anaphylaxie der während 4 Wochen mit steigenden Antigendosen in der Gesamtmenge von 2,0 ccm Pferdeserum desensibilisierten Tiere war 4 Tage nach der letzten Injektion weit geringer. Auf die iv. Reinjektion von 0,25 ccm ging 1 Tier von den 5 geprüften Tieren ein, ebenso auf die Dosis von 0,5 ccm; von den 6 mit der Dosis 1,0 ccm geprüften Tiere überstanden sogar alle den Schock. Die sichtbaren Schockreaktionen aller Ueberlebenden waren nur mäßig ausgeprägt. Die Desensibilisierung hatte also zu einem Verlust der Anaphylaxie geführt, der gegenüber dem 100fachen Multiplum der sonst tödlichen Antigendosis noch zum Ausdruck kam.

Anaphylaktische Antikörper waren im Blut der (nicht mit wiederholten Antigeninjektionen behandelten) Kontrolltiere kaum nachweisbar. Das Serum dieser hoch überempfindlichen Tiere (Sensibilisierungsdauer von 78 Tagen) vermochte selbst in großen Applikationsmengen (4,5 ccm) bei normalen Tieren keine Anaphylaxie hervorzurufen. Die iv. Reinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum wurde

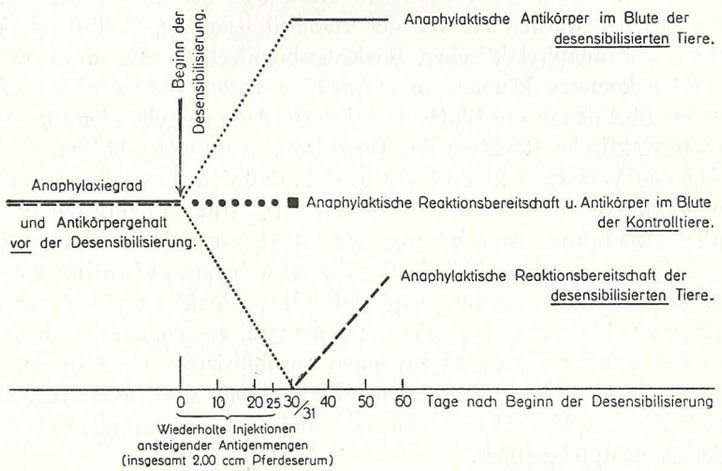


Abb. 2. Verhalten der Antianaphylaxie und der anaphylaktischen Antikörper im Blut nach (im Verlauf von 25 Tagen) wiederholten subk. Injektionen ansteigender (0,01—1,0 ccm) Antigenmengen gegen Pferdeserum sensibilisierter Meerschweinchen im Verhältnis zum Grad der Anaphylaxie und des Antikörpergehaltes im Blut der nichtdesensibilisierten Kontrolltiere.

von präparierten Tieren ertragen, ohne daß es bei der Mehrzahl überhaupt zur Ausbildung typischer anaphylaktischer Erscheinungen gekommen wäre. Es zeigte sich also bei hoher Anaphylaxie ein fast völliges Fehlen von zirkulierenden Antikörpern.

Der Antikörpergehalt des Blutes der desensibilisierten Tiere war 4 Tage nach der letzten Antigeninjektion sehr hoch. Von 5 mit 1,0—2,0 ccm Serum präparierten Tieren gingen auf die Reinjektion von 0,1 ccm Pferdeserum 1 Tier ein, von 6 Tieren gingen auf 0,2 ccm Pferdeserum 4 Tiere ein, die beiden anderen machten einen schweren Schock durch. Auf die iv. Reinjektion von 0,25 ccm Pferdeserum gingen von 4 mit 1,0—2,0 ccm Serum passiv präparierten Tieren 3 Tiere ein. Die mit dem Serum der desensibilisierten Tiere passiv präparierten Normal-Meerschweinchen wiesen damit also eine deutlich höhere Anaphylaxie auf als die desensibilisierten Spendertiere selbst. Bei den Spendertieren ging auf das 4fache dieser Prüfungsdosis: 1,0 ccm gar kein Tier von den 6 geprüften ein, s. o.).

Anaphylaxie und Blutantikörpergehalt der desensibilisierten Tiere wurden 30 Tage nach Abschluß der Desensibilisierungsbehandlung ein 2. Mal geprüft. (Die Antigendosis der 1. Reinjektion muß zur Gesamt-Desensibilisierungsmenge addiert werden, so daß bei der 2. Prüfung (26 Tage nach der 1.) der antianaphylaktische Zustand 26 Tage nach einer Desensibilisierung mit 2,25—3,0 ccm Pferdeserum festgestellt wurde.)

Von den 6 Tieren, die bei der 1. Prüfung auf die Reinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum nur mit einem leichten Schock reagiert hatten, erhielt nunmehr 1 Tier 1,0 ccm und 2 Tiere 0,5 ccm Pferdeserum iv. Alle Tiere gingen im schweren Schock ein, die Dosis 0,25 ccm wurde von 3 anderen Tieren ertragen.

Von 4 Tieren, die die 1. Prüfung auf die Reinjektion von 0,5 ccm Pferdeserum iv. unter nur geringen Schocksymptomen ertragen hatten, ging nunmehr auf die Reinjektion von 0,5 ccm das 1 geprüfte Tier ein, 3 andere reagierten auf die Dosis 0,25 ccm Pferdeserum mit schwerem Schock.

1 Tier, das bei der 1. Prüfung mit 0,25 ccm Pferdeserum einen geringen Schock gezeigt hat, ging auf die gleiche Dosis nunmehr ein.

Die Antianaphylaxie hatte also während der 26 Tage, die zwischen den beiden Prüfungsterminen liegen, erheblich abgenommen.

In analoger Weise wie bei der ersten Prüfung auf Antikörper bestimmten wir den Antikörpergehalt des Serums der nunmehr weniger desensibilisierten Tiere. Es zeigte sich dabei, daß 26 Tage nach Aussetzen der desensibilisierenden Antigeninjektionen der Antikörpergehalt ziemlich gleichgeblieben, keineswegs niedriger, bei einigen Tieren sogar etwas höher war als unmittelbar nach dem Abbruch der Desensibilationsbehandlung. Die einverleibten Antigenmengen waren also groß genug gewesen, um für die Aufrechterhaltung eines gleichbleibenden Blutgehaltes an anaphylaktischen Antikörpern über 4 Wochen nach Beendigung der Antigenapplikation zu sorgen.

Das Ergebnis dieses Versuches zusammenfassend stellen wir fest: Durch Behandlung sensibilisierter Meerschweinchen mit steigenden Dosen Pferdeserum wurde die ursprüngliche anaphylaktische Reaktionsbereitschaft fast völlig zum Verschwinden gebracht. Der Gehalt des Blutes an anaphylaktischen Antikörpern stieg dagegen unter der Desensibilationsbehandlung erheblich an. Während der Blutantikörperspiegel sich mindestens 26 Tage (nach den Ergebnissen von Versuch 2 u. 3 sogar noch viel länger) auf diesem Niveau hielt, war die antianaphylaktische Reaktivitätsminderung von viel kürzerer Dauer. In Uebereinstimmung mit den vorausgegangenen Versuchen sahen wir ein deutliches Nachlassen innerhalb einer Beobachtungsfrist von 26 Tagen nach Abbruch der Desensibilisierung.

Durch die wiederholten Antigeninjektionen wurde einerseits der Antikörperspiegel im Blut in die Höhe getrieben und andererseits die Reaktionsfähigkeit der sessilen Antikörper (bzw. die Reaktionsfähigkeit des Organismus) verringert. Es besteht keine Veranlassung, den Mechanismus, der der Antianaphylaxie nach wiederholten Antigenapplikationen zugrunde liegt, anders aufzufassen als denjenigen, der zur Desensibilisierung nach der einmaligen Antigeninjektion führt: die Besetzung der zellständigen Antikörper an den reagiblen Zellen durch das

Antigen. Der hohe Antikörperspiegel im Blut ist der Ausdruck der durch das zellgebundene Antigen nicht gestörten Antikörperanhäufung in der freien Blutbahn, wie es ihr rascherer Anstieg nach der einmaligen Antigenapplikation (Vers. 2 u. 3) bereits gezeigt hat. Mit ihm die Antianaphylaxie zu erklären und eine Herabsetzung der anaphylaktischen Reaktivität durch Antigenneutralisierung in der Blutbahn anzunehmen, ist eine unbewiesene Hypothese. — Die Reaktionsfähigkeit der sessilen Antikörper wurde durch die Wiederholung der Antigenapplikationen hintangehalten, und infolge dieser zeitlichen Verzögerung konnte sie bei einer Stichprobe bei Abschluß der Injektionen noch nicht in Erscheinung treten. Zu einer Reaktion der sessilen Antikörper kam es erst nach dem Aufhören der Antigeninjektionen. Man muß also auch bei der Desensibilisierung mit steigenden Antigeninjektionen im Prinzip ein ähnliches Verhalten der zirkulierenden und sessilen Antikörper annehmen, wie es nach der Desensibilisierung nach einmaliger Antigeninjektion ohne weiteres ersichtlich ist. — Wenn man nun in der Desensibilationsphase einen annähernd gleichen Antikörpergehalt bei sehr unterschiedlicher anaphylaktischer Reaktionsbereitschaft der Tiere antrifft (unmittelbar nach Beendigung der Desensibilisierung und 26 Tage später), kann man in ihm nicht die maßgebende Ursache der Antianaphylaxie nach wiederholten Antigenapplikationen annehmen.

B. Antianaphylaxie und Antikörpergehalt im Blut bei der Desensibilisierung mit gleichbleibend kleinen Antigendosen.

Versuch 5.

58 Meerschweinchen werden mit 1,0 ccm Pferdeserum 1:100 ip. sensibilisiert. 30 Meerschweinchen erhalten nach 20 Tagen in 3—5tägigen Abständen innerhalb eines Zeitraumes von 4 Wochen 7mal die gleiche Menge von 0,01 ccm Pferdeserum subk. 9 Tiere gingen dabei ein. 5 Tage nach der letzten subk. Applikation von 0,01 ccm Pferdeserum erfolgt Blutentnahme durch Herzpunktion, tags darauf iv. Reinjektion.

Die Anaphylaxie wurde bei Beginn der Desensibilisierungsbehandlung bei 28 Kontrolltieren mittels iv. Antigenreinjektion festgestellt. Auf die Dosis von 0,005 ccm Pferdeserum gingen von 22 Tieren 4 ein, auf 0,01 ccm gingen von 4 Tieren zwei ein, auf 0,02 ccm gingen von 2 Tieren beide ein.

Die Anaphylaxie der mit insgesamt 0,07 ccm Pferdeserum desensibilisierten Tiere 5 Tage nach dem Abschluß der Behandlung: auf die Dosis von 0,02 ccm ging von 12 Tieren 1 ein, auf 0,03 ccm ging von 5 Tieren 1 ein; die 3 mit höherer Dosis 0,04, 0,1 und 0,2 reinjizierten Tiere gingen alle ein. Die Anaphylaxie war also verhältnismäßig wenig herabgesetzt. Das 4—5fache der vor der Desensibilisierung wirksamen Reinjektionsdosis führte zu anaphylaktischen Reaktionen von ungefähr der gleichen Schwere, wie sie bei den zur Kontrolle geprüften Tieren vor Beginn der Desensibilisierungsbehandlung aufgetreten waren.

Der Antikörpergehalt des vor der Desensibilisierung entnommenen Blutes der Tiere war sehr gering. Selbst Serummengen bis 6,5 ccm präparierten ip. ein Normaltier nur ganz unvollkommen, auf die iv. Testreinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum stellten sich nur leichte Unruhe und Atembeschwerden ein.

Der Antikörpergehalt des 5 Tage nach Abschluß der Desensibilisierungsbehandlung entnommenen Blutes war hoch. Nach Präparierung mit 3,0—4,5 ccm Serum trat auf die Testreinjektion von 0,02 ccm Pferdeserum bei 3 geprüften Tieren ein tödlicher Schock ein. Nach Präparierung mit 1,5 ccm Serum gingen von 7 Tieren 2 auf die iv. Reinjektion von 0,01 ccm Pferdeserum ein, die übrigen zeigten schwere Schocksymptome. Auf die Reinjektion von 0,025 ccm Pferdeserum gingen von 3 Tieren 2 Tiere ein, auf 0,05 ccm ging von 2 Tieren 1 Tier ein, auf 0,1 ccm gingen von 7 Tieren 4 Tiere ein, und auf die Reinjektion von 0,2 ccm Pferdeserum erlagen alle 3 Tiere im tödlichen Schock.

Durch die 7malige subk. Applikation von 0,01 ccm Pferdeserum war der Antikörpergehalt des Blutes um mehr als das 100fache in die Höhe getrieben worden. Die Anaphylaxie war demgegenüber zwar auch zurückgegangen, aber nur ein Bruchteil dieses Faktors.

Die Anaphylaxie der desensibilisierten Tiere wurde 30 Tage nach der 1. Prüfung ein zweites Mal geprüft. Von 6 Tieren, die insgesamt (zusätzlich der bei der 1. Prüfung verabfolgten Antigenmenge) mit 0,09 ccm Pferdeserum desensibilisiert worden waren, ging auf die Reinjektion von 0,01 ccm Pferdeserum kein Tier ein, von 6 weiteren Tieren gingen auf die Reinjektion von 0,02 ccm Pferdeserum 4 Tiere ein. Der antianaphylaktische Zustand hat innerhalb von 30 Tagen also deutlich nachgelassen gegenüber dem bei der 1. Prüfung festgestellten Grad (1 tödlicher Schock bei 12 mit 0,02 ccm Pferdeserum reinjizierten Tieren). Es ist zwar noch nicht ganz der Anaphylaxiegrad erreicht, wie er bei den nichtdesensibilisierten Kontrolltieren vorhanden war (tödlicher Schock der beiden mit 0,02 ccm und tödlicher Schock bei 2 von 4 mit 0,01 ccm Pferdeserum reinjizierten Prüfungstieren), der Abstand ist aber nur noch ganz gering.

Der Antikörpergehalt des Blutes 30 Tage nach Abschluß der Desensibilisierungsbehandlung erwies sich als ganz geringfügig vermindert gegenüber dem Stand 5 Tage nach Beendigung der Desensibilisierung. Auf die Dosis von 0,05 ccm Pferdeserum ging von 4 mit 1,5 ccm Serum präparierten Tieren 1 Tier ein (bei der 1. Prüfung: 1 Tier von 2 Tieren), auf die Reinjektion von 0,01 ccm gingen 2 von 6 Tieren ein (bei der 1. Prüfung 4 von 7 Tieren) und auf die Reinjektion von 0,2 ccm Pferdeserum gingen alle 5 geprüften Tiere ein (bei der 1. Prüfung alle 3 mit dieser Dosis reinjizierten Tiere).

30 Tage nach Beendigung der mit insgesamt 0,09 ccm Pferdeserum in 8maligen Einzelapplikationen von 0,01—0,02 ccm durchgeführten Desensibilisierung war fast die ursprüngliche anaphylaktische Reaktionsbereitschaft wieder erreicht. Der Gehalt des Blutes an anaphylaktischen Antikörpern war dagegen noch um ein Vielfaches höher als vor der Desensibilisierung. Bei den nicht mit wiederholten Antigeninjektionen behandelten Kontrolltieren waren so wenig zirkulierende Antikörper vorhanden, daß selbst nach der Präparierung mit 6,5 ccm auf die Reinjektion von 1,0 ccm Pferdeserum nur ein ganz leichter Schock sich einstellte. Bei den mit wiederholt kleinen Antigeninjektionen behandelten Tieren von der fast gleichen anaphylaktischen Reaktivität wie die Kontrolltiere waren dagegen im Blut so reichlich Antikörper vorhanden, daß nach Präparierung mit 1,5 ccm Serum auf die Reinjektion von 0,2 ccm Pferdeserum alle Tiere im tödlichen Schock eingingen; der Titer der Blutantikörper lag also bei fast gleicher Anaphylaxie um mehr als das 20fache höher.

Gegenüber dem Ergebnis des Versuches 4, in dem die anaphylaktischen Meerschweinchen mit wiederholten ansteigenden Antigendosen in einer Gesamtmenge von 2,0 ccm innerhalb von 4 Wochen behandelt worden

waren, bestehen bezüglich der antianaphylaktischen Wirkung und des Gehaltes an anaphylaktischen Antikörpern im Blut deutliche Unterschiede: die Behandlung mit wiederholten kleinen Antigenmengen (insgesamt 0,07 ccm Pferdeserum) setzt die Anaphylaxie nur wenig herab, die Behandlung mit wiederholten bis 1,0 ccm ansteigenden Antigenmengen (insgesamt 2,0 ccm Pferdeserum) setzt innerhalb der gleichen Versuchszeit die Anaphylaxie weitgehend herab. Die wiederholten Injektionen gleichbleibend niedriger Antigendosen steigern die Antikörperproduktion außerordentlich, die wiederholten Injektionen jedesmal größer werdender Antigenmengen ergeben zwar eine im Prinzip ähnliche, aber keine im Verhältnis zur viel größeren Antigenmenge stärker ausgeprägte Antikörpersteigerung im Blut. Der Belastung mit großen Antigenmengen ist dafür andererseits die so viel stärker ausgeprägte Verminderung der Anaphylaxie zuzuschreiben.

Aus den Ergebnissen dieses Versuches ergibt sich erneut, daß ein hoher Blutantikörpertiter keineswegs zu einer Aufhebung des anaphylaktischen Zustandes eines sensibilisierten Tieres führt. Bei annähernd gleicher hochgradiger Ausprägung der Anaphylaxie wurde ein völlig verschiedener — teils sehr hoher, teils sehr niedriger — Blutgehalt an anaphylaktischen Antikörpern angetroffen. Ebenso fand sich ein sehr hoher Antikörpergehalt sowohl bei hochgradig ausgeprägter Anaphylaxie der Tiere in Versuch 5 wie auch bei weitgehend geschwundener Anaphylaxie der Tiere im Versuch 4. Schließlich ließ sich bei fast völligem Mangel an Blutantikörpern sowohl eine sehr hochgradig ausgebildete Anaphylaxie (Kontrolltiere in Versuch 5) wie auch eine völlig aufgehobene Anaphylaxie (Antianaphylaxie in Versuch 2 und 3) beobachten.

Aus diesen Feststellungen läßt sich folgern:

1. Die Antianaphylaxie (der Grad der Anaphylaxieminderung) ist abhängig von der Menge des zellgebundenen Antigens bzw. der noch reaktionsfähigen zellständigen Antikörper.

2. Die Neubildung von Antikörpern unter dem Antigenreiz ist im Blut nachweisbar, wenn die Reaktion zellständiger Antikörper von dem zellverankerten Antigen noch verhindert ist.

3. Die anaphylaktischen Antikörper im Blut sind in ihrer Höhe abhängig von der Reizwirkung des Antigens auf den Ort der Antikörperproduktion. Durch wiederholte Applikation geringer Antigenmengen (0,01 ccm innerhalb von 4 Wochen) werden sie sehr stark in die Höhe getrieben. Größere Antigenmengen (2—3,0 ccm), entweder bei einmaliger oder — auch in steigender Dosis — wiederholter Applikation, sind dazu weniger geeignet.

Für die These, die in einem hohen Blutgehalt an anaphylaktischen Antikörpern einen Schutz für den anaphylaktischen Organismus sieht, konnte somit kein experimenteller Beweis erbracht werden. Da ausgeprägte

Anaphylaxieherabsetzung mit wenig zirkulierenden Antikörpern einhergeht und ein deutlicher anaphylaktischer Zustand bei reichlich zirkulierenden Antikörpern vorliegen kann, muß man eine schützende Funktion der zirkulierenden Antikörper und einen Zusammenhang dieser beiden Faktoren ablehnen.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Nach der einmaligen großen Antigenapplikation sahen wir als gleichzeitige Folgeerscheinungen den Schwund sowohl der anaphylaktischen Empfindlichkeit als auch der anaphylaktischen Blutantikörper. Während aber die für die anaphylaktische Reaktionsfähigkeit ausschlaggebenden zellständigen Antikörper noch lange mit Antigen besetzt sind und (bei der langsam erfolgenden Antigeneliminierung) reaktionsfähige sessile anaphylaktische Antikörper an den Zellen erst allmählich wieder in Erscheinung treten, beginnt innerhalb weniger Tage ungestört der Anstieg der Antikörper im Blut. Das Verhalten von Blutantikörpern und zellulären Antikörpern nach der einmaligen Antigenzufuhr ist also prinzipiell zwar gleich, ihr Anstieg vollzieht sich aber in verschiedener Geschwindigkeit.

In der Feststellung der ungleichen Geschwindigkeit im Auftreten von Antikörpern im Blut und an den Zellen nach einer einmaligen desensibilisierenden Antigenapplikation liegt auch der Schlüssel für das Verständnis der Gegensätzlichkeit der Befunde, die für Anaphylaxiegrad und Blutantikörperspiegel nach einer längeren Behandlung mit mehreren Antigenapplikationen erhoben werden. War im Anschluß an die einmalige Antigenapplikation immerhin ein gleichsinniges Absinken und Wiederansteigen von Anaphylaxie und Blutantikörpern in der antianaphylaktischen Phase festzustellen, so kommt bei der Desensibilisierung nach mehrmaliger Antigenapplikation (besonders in ansteigenden Dosen) ein entgegengesetztes Verhalten zum Vorschein: Rückgang der Anaphylaxie bei Vermehrung der Blutantikörper. Dieser Zustand ist aber nur der ungleichen Geschwindigkeit im Wiederanstieg beider zuzuschreiben. Die Antikörper im Blut sanken nach der einzelnen Injektion — entsprechend der Antigenmenge — zwar wohl auch etwas ab, aus der Höhe des Niveaus am Ende der fortlaufenden Antigenbehandlung ist aber zu entnehmen, daß der jeweilige Zuwachs den Grad des jeweiligen Abfalls erheblich übertroffen hat. Jede neue Antigenzufuhr erhöht einerseits die Reaktionsunfähigkeit der sessilen anaphylaktischen Antikörper in den reagiblen Zellen, also die Antianaphylaxie des Organismus, und beschleunigt andererseits die Bildung der im Blut erscheinenden Antikörper. Je niedriger die Antigendosis, um so stärker und rascher wirkt sich die Antikörperbildung aus. So vergrößert sich der im Anschluß an die erste Antigenzufuhr aufgetretene Vorsprung des Wiederanstiegs der Antikörper im Blut vor dem der zellulären Antikörper infolge der Antigenbeladung der Zellen mit der Fortsetzung der Injek-

tionen — besonders bei ansteigenden Antigenmengen — und bereits im Laufe der wiederholten Antigenbehandlung kommt es zu einer in ständiger Erhöhung begriffenen Steigerung der anaphylaktischen Blutantikörper.

Beim Abschluß der Desensibilisierungsbehandlung ergibt sich dann ein Bild, aus dem die an sich gleichsinnige Bewegung von Blut-Antikörpern und anaphylaktischer Empfindlichkeit in Richtung eines Wiederanstiegs infolge des ungleichen Tempos des Auftretens der Antikörper im Blut und an den Zellen gar nicht mehr zu erkennen ist. Die anaphylaktische Empfindlichkeit hat unter der fortlaufenden Antigenbesetzung der sessilen anaphylaktischen Antikörper ständig abgenommen (jede Tendenz zum Wiederanstieg wird durch die nächstfolgende Antigenzufuhr unterdrückt und kann sich nicht durchsetzen) und die Kurve der anaphylaktischen Reaktionsfähigkeit ist unter der fortgesetzten Antigenzufuhr immer weiter abgesunken; sie befindet sich am Ende der Behandlung an ihrem tiefsten Punkt. Während die Blutantikörper fast schon ihre definitive Höhe erreicht haben, kann der Wiederanstieg der Anaphylaxie erst jetzt einsetzen, wo weitere Antigenapplikationen ausbleiben.

In der Folgezeit verringert sich dieser Gegensatz zwischen der Höhe der anaphylaktischen Antikörper im Blut und der Reaktionsfähigkeit der reagiblen Zellen. Bei weiterer Beobachtung nach Abschluß der desensibilisierenden Antigenapplikationen (in steigenden Dosen) zeigte sich 30 Tage später der deutliche Wiederanstieg der anaphylaktischen Empfindlichkeit. Er vollzog sich in der ähnlichen langsamen Weise, wie wir das nach der einmaligen Antigenapplikation verfolgt haben. Die anaphylaktischen Antikörper im Blut waren in diesem Zeitraum ziemlich unverändert geblieben, eher noch etwas weiter angestiegen als zurückgegangen.

Nach den Ergebnissen in unseren Versuchen ist der hohe Stand der im Blut nachweisbaren Antikörper nach einer längeren Antigenbehandlung eine Folge des rasch ansprechenden Antikörperbildungsvermögens, das sich aber nur in der freien Blutbahn und infolge der Antigenstapelung nicht an den Zellen geltend machen kann, und der antianaphylaktische Zustand ist eine Folge der an den reagiblen Zellen (sessilen Antikörpern) verankerten Antigenmenge.

Die gegenseitige Unabhängigkeit der Entwicklung von anaphylaktischer Empfindlichkeit und Antikörper im Blut nach wiederholter Antigenapplikation erwies besonders instruktiv das Ergebnis des Versuches, in dem (im Gegensatz zu dem vorherigen Versuch) nicht steigende Antigenmengen, sondern gleichbleibend kleine Antigendosen von $7 \times 0{,}01$ ccm Pferdeserum gegeben wurden. Die Gesamtantigenmenge betrug gegenüber dem Versuch, in dem bei ansteigenden Antigenmengen insgesamt 2,0 ccm Pferdeserum nacheinander verabfolgt worden war, nur 0,07 ccm. Da die Antianaphylaxie der applizierten Antigenmenge proportional ist, war der Grad der Empfindlichkeitsverminderung in diesem Fall nur recht gering. Die

anaphylaktischen Antikörper im Blut waren aber zu einer erheblichen Höhe angestiegen und ihr Titer übertraf sogar etwas den Antikörperspiegel, der (in Versuch 4) nach der Desensibilisierung mit ansteigenden Antigenmengen festzustellen war. Die größeren Antigendosen waren keineswegs besser geeignet, den Antikörperspiegel in die Höhe zu treiben als die gleichbleibend geringen Antigendosen. Zur Herbeiführung eines Desensibilisierungszustandes waren die kleinen Antigendosen aber viel weniger geeignet als die großen Antigendosen. Die Unrichtigkeit der Hypothese, nach der ein hoher Antikörperspiegel im Blut einen antianaphylaktischen Zustand mit sich bringen soll, ist damit erwiesen, daß nach wiederholter Applikation gleichbleibend geringer Antigenmengen ein hoher Antikörperspiegel im Blut sich einstellt, ohne damit die Anaphylaxie im selben Grad zu verringern. Anaphylaktische Empfindlichkeit und Antikörperspiegel im Blut stehen in keiner ursächlichen Beziehung zueinander. Jeder Versuch, den Grad der anaphylaktischen Reaktionsbereitschaft nach der Höhe der Blutantikörper zu bestimmen, ist abzulehnen.

Zuammenfassung und Schlußfolgerungen aus den Versuchsergebnissen.

1. Bei den gegen Pferdeserum sensibilisierten Meerschweinchen kommt es nach einmaliger Antigeneinverleibung zu einem anschließenden Abfall der anaphylaktischen Antikörper im Blut und der anaphylaktischen Reaktionsbereitschaft; das Ausmaß und die Dauer der Herabsetzung der Anaphylaxie gehen mit der injizierten Antigenmenge proportional. Beide steigen wieder an. Der Wiederanstieg der Anaphylaxie nach der Desensibilisierung mit einer großen Antigenmenge vollzieht sich langsam und die ursprüngliche Ausprägung wird überhaupt nicht mehr erreicht (wenigstens nicht innerhalb unserer Beobachtungsdauer von 172 Tagen), während der Gehalt des Blutes an Antikörpern gegenüber dem Ausgangstiter gesteigert wird.

2. Reinjiziertes Antigen veranlaßt beim sensibilisierten Meerschweinchen 1. die Bindung vorhandener und dann 2. die Bildung neuer Antikörper. Die Neubildung von Antikörpern läßt sich im Blut bereits nach wenigen Tagen feststellen. Durch die Antigenbesetzung der Zellen wird die Reaktionsfähigkeit der zellulären Antikörper und damit das gleich rasche Wiederansteigen der Anaphylaxie mit den Blutantikörpern verhindert.

3. Durch wiederholte Antigeneinverleibungen erreicht man beim sensibilisierten Meerschweinchen einen Anstieg der anaphylaktischen Antikörper im Blut und ein Absinken der anaphylaktischen Reaktionsbereitschaft des Organismus. Die Höhe des Blutantikörpergehaltes bei geschwundener Anaphylaxie am Ende der wiederholten Antigenbehandlung erklärt sich

in ihrem Gegensatz zu dem gleichzeitigen Tiefstand von Blutantikörper und Anaphylaxie nach einer einmaligen Antigenapplikation in dem schnelleren Wiederanstig der frei zirkulierenden Antikörper. Erst nach Aufhören der Antigeninjektionen nimmt auch die anaphylaktische Reaktionsbereitschaft wieder zu; das Tempo ihrer Zunahme hängt von der vorher applizierten Antigenmenge ab.

4. Anaphylaktische Antikörper im Blut können sehr reichlich angetroffen werden

1) bei hoher Antianaphylaxie, z. B. nach wiederholten Antigeninjektionen in ansteigenden Dosen,
2) bei ganz gering ausgeprägter Antianaphylaxie, z. B. nach wiederholten Antigeninjektionen in gleichbleibend niedriger Dosis,

Anaphylaktische Antikörper können im Blut fehlen:

1) bei hochgradig entwickelter Anaphylaxie und
2) bei hochgradig entwickelter Antianaphylaxie (z. B. nach einmaliger Applikation einer größeren Antigenmenge).

5. Hochgradige Anaphylaxie kann vorliegen:

1) bei hohem Antikörperspiegel im Blut (z. B. nach wiederholten Antigenapplikationen in gleichbleibend niedriger Dosis),
2) bei fehlenden Blutantikörpern (bestimmte Zeit nach einer Sensibilisierung) mit einer kleinen Antigendosis).

6. Aufgehobene Anaphylaxie (= Antianaphylaxie) kann vorliegen:

1) bei hohem Antikörperspiegel im Blut (z. B. nach wiederholten Antigenapplikationen in ansteigender Dosis).
2) bei fehlenden Blutantikörpern (z. B. nach einmaliger Antigenapplikation in hoher Dosis).

7. Die Ursache der antianaphylaktischen Reaktionsbehinderung ist also nicht in einem hohen Antikörpergehalt des Blutes zu suchen und aus seinem Titer kann man keinen Rückschluß auf die anaphylaktische Reaktionsfähigkeit des sensibilisierten Organismus ziehen.

Literaturverzeichnis.

1. Otto, R., v. Leuthold-Gedenkschrift I 153, 1906; Münch. med. Wschr., Nr. 34, 1907.
2. Doerr u. Seidenberg, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 71, S. 242, 1931.
3. Dale, Zeitschr. f. Pharmakol., Bd. 4, S. 167, 1913.
4. Coca, Zeitschr. f. Immunitätsf., Bd. 20, S. 622, 1914.
5. Doerr, Handb. d. path. Mikroorg., Bd. I/2. 1929.
6. Praussnitz u. Küstner, Zentralbl. f. Bakt. I Orig., Bd. 86, S. 160, 1921.
7. Jadassohn, Handb. d. Haut- u. Geschlechtskrankh., Bd. 2, S. 352, 1932.
8. Albus, Med. Welt, 1937, S. 1485.
9. Kallos u. Kallos-Deffner, Ergebnisse d. Hyg., Bd. 19, S. 239, 1937.
10. Urbach, Klinik u. Therapie der allerg. Krankheiten Wien, Wilhelm Meudrich. 1935.

Aus dem Forschungsinstitut für Chemotherapie Frankfurt a. M.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Otto).

III.

Zur Kenntnis aromatischer Arsenverbindungen.

Von

M. Rothermundt und K. Burschkies.

Mit 1 Abbildung im Text.

Nach geschichtlicher Ueberlieferung wurde Arsen in Form von Sulfiden und Oxyden bereits im Altertum zur Behandlung einer Reihe von Krankheiten herangezogen. Als im Jahre 1837 das Kakodyloxyd, eine aliphatische As-Verbindung von Bunsen hergestellt wurde, zeigte sich, daß die organischen As-Verbindungen im Vergleich zu den anorganischen Verbindungen bedeutend ungiftiger waren. Mit der Einführung des Kakodyloxyds in die humane Therapie durch Jochheim war ein weiterer Fortschritt in der Arsentherapie zu verzeichnen.

Der Aufschwung, den die Chemotherapie des Arsens in den letzten Jahrzehnten erfahren hat, wäre wohl kaum möglich gewesen, wenn es nicht gelungen wäre, die richtige Konstitution des von Béchamp dargestellten Arsensäureanilids aufzufinden und zu zeigen, daß das von ihm irrtümlich bezeichnete Meta-arsensäureanilid eine p-Amino-phenylarsinsäure (Arsanilsäure) darstellt. Mit dieser Feststellung von Ehrlich und Bertheim war die Möglichkeit der Synthese unzähliger Arsenverbindungen gegeben.

Nachdem bereits 1904 Thomas in Liverpool die trypanozide Wirkung der obigen Phenylarsinsäure erkannt und Uhlenhuth mit Atoxyl, dem Mononatriumsalz der Arsanilsäure die Hühnerspirolose erfolgreich behandelt hat, sowie die parasitizide Wirkung der Atoxyls auch bei experimenteller und humaner Syphilis nachweisen konnte, setzten die erfolgreichen chemischen und biologischen Arbeiten von Ehrlich ein, die schließlich zur Entdeckung des Salvarsans des 4,4′-Dioxy-3,3′-diamino-arsenobenzol-dichlorhydrats führten.

Da die Arsenobenzole gegenüber den Phenylarsinsäuren den Vorzug haben fast keine neurotropen Eigenschaften zu besitzen und zumeist einen günstigeren chemotherapeutischen Index aufweisen, hat Ehrlich bei seinen

Untersuchungen die 3-wertigen Arsenverbindungen den 5-wertigen vorgezogen und auf eine klinische Erprobung der Phenylarsinsäuren verzichtet.

Bekanntlich hat die Anwendung des Atoxyls zuweilen zu schweren Störungen geführt, die sich besonders in einer Schädigung der nervösen Elemente des Sehorgans äußerten und in manchen Fällen sogar zur Atrophie des N. opticus und völligen Amaurose führten.

Da die Arsinsäuren, die im Organismus eine starke therapeutische Wirkung bei der Trypanosomeninfektion entfalten, im Reagenzglasversuch fast gar keine trypanozide Wirkung zeigen, folgerte Ehrlich, daß die 5-wertigen As-Verbindungen erst reduziert werden müssen, um überhaupt parasitizid wirken zu können, während bei den Arsenobenzolen dem Organismus diese Reduktionsphase erspart bleibt.

Das Interesse für die Phenylarsinsäuren wurde erst neuerdings wieder wachgerufen, als Fourneau auf die Möglichkeit ihrer stomachalen Anwendung hinwies.

Von den Phenylarsinsäuren hat neben dem Atoxyl und dessen Derivaten die 3-Amino-4-oxy-1-phenylarsinsäure, als Zwischenprodukt bei der Salvarsanherstellung, eine gewisse Bedeutung erlangt. Ehrlich hat diese Verbindung im Tierversuch geprüft, von einer klinischen Erprobung jedoch Abstand genommen, zumal sie weit schwächer als Salvarsan wirkte und dazu starke neurotrope Eigenschaften zeigte.

Auf Veranlassung von Fourneau wurde die 3-Amino-4-oxy-phenylarsinsäure erneut einer eingehenden Prüfung unterzogen. In der 3-Acetylamino-4-oxy-phenylarsinsäure wurde von ihm eine Verbindung gefunden, die bei peroraler Applikation experimentelle und menschliche Lues zu beeinflussen vermag. Er hat dann weiter feststellen können, daß die meisten Phenylarsinsäuren einen besseren therapeutischen Index bei peroraler, als bei parenteraler Applikation haben, während die Arsenobenzole vom Magen-Darmkanal aus eine weit schwächere Wirkung entfalten. Da die Arsenobenzole kolloidal löslich sind, die Blutliquorschranke nur langsam durchbrechen, um so in das Zentralnervensystem zu gelangen, wird eine Behandlung mit Arsenobenzolen vorwiegend im Frühstadium der Syphilis von gutem Erfolg sein. Bei vorgeschrittener Infektion, der Spätlues oder der Neurolues sollten die Phenylarsinsäuren wegen ihrer molekularen Löslichkeit und der größeren Diffusibilität Verwendung finden.

Da indessen die 3-Acetylamino-4-oxy-phenylarsinsäure, das Spirozid oder Stovarsol, keineswegs frei von neurotoxischen Nebenwirkungen ist, war unser Bestreben zu solchen Verbindungen zu gelangen, die bei gleich gutem therapeutischen Index nur eine geringe oder gar keine Neurotropie aufweisen und bei peroraler Anwendung eine maximale Wirkung entfalten.

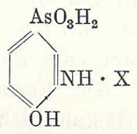
Was nun die Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und therapeutischer Wirkung betrifft, so lassen sich bei den Phenylarsinsäuren, wie bei den chemotherapeutischen Präparaten überhaupt, nur sehr schwer

allgemeingültige Regeln aufstellen. Wir wissen heute, daß alle Forschungen über den Einfluß gewisser Substituenten voller Trugschlüsse sind, zumal wir über den Abbau der Substanzen im Organismus nur sehr mangelhaft unterrichtet sind. Immerhin lassen sich durch systematische Studien, wie durch geeignete chemische Modelierung der Arsinsäuren, durch Einführung homologer Acylreste, sowie durch Molekülvergrößerung wertvolle Schlüsse ziehen, die für ein weiteres Arbeiten auf dem Arsengebiet von Bedeutung sind.

Durch unsere Versuchsergebnisse konnte erneut bestätigt werden, daß die Phenylarsinsäuren, bei denen eine Hydroxylgruppe in p-Stellung und eine Aminogruppe in m-Stellung zum Arsinsäurerest eingetreten ist, eine stärkere spirochätizide und gleichzeitig eine geringere trypanozide Wirkung entfalten, während die isomeren Verbindungen mit einer Hydroxylgruppe in o- und einer Aminogruppe in p-Stellung einen ausgesprochen trypanoziden Charakter haben.

Als Ausgangsmaterial diente uns die 4-Oxy-3-amino-phenylarsinsäure, die durch systematische Acylierung der Aminogruppe zu höher molekularen Säureamiden umgesetzt wurde. Die Einführung des Acetylrestes erfolgte mit Hilfe des Säurechlorides, während die höher molekularen Säureamide mit Hilfe der entsprechenden Fettsäureanhydride hergestellt wurden[1]). Die 4-Oxy-3-amino-phenylarsinsäure wurde in verdünnter Natronlauge gelöst und in schwach alkalischem Medium bei niederer Temperatur unter ständigem Rühren mit den verschiedensten Säureanhydriden umgesetzt. So konnte neben der bereits bekannten 4-Oxy-3-acetylamino-phenylarsinsäure (Spirozid) die 4-Oxy-3-dipropionyl-,-3-isobutyryl-, -3-isovaleryl- und -3-n.valerylamino-phenylarsinsäure gewonnen werden.

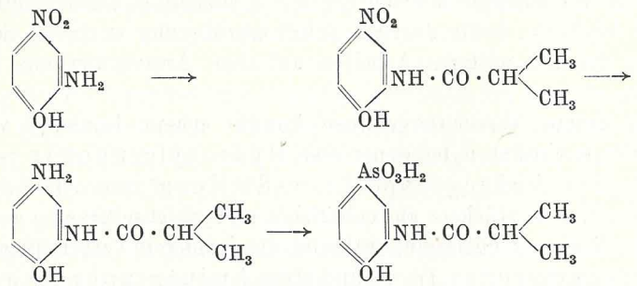
Derivate der 4-Oxy-3-amino-phenylarsinsäure.



Präparat	Chemische Formel	Schmelzpunkt
x = acetyl	$-CO \cdot CH_3$	228—230°
x = dipropionyl	$-(CO \cdot CH_2 \cdot CH_3)_2$	182°
x = isobutyryl	$-CO \cdot CH{<}^{CH_3}_{CH_3}$	195°
x = isovaleryl	$-CO \cdot CH_2 \cdot CH{<}^{CH_3}_{CH_3}$	227°
x = n. valeryl	$-CO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_3$	209°

1) K. Burschkies und M. Rothermundt, Arch. d. Pharm. u. Ber. d. Dtsch. Pharmaz. Ges. Jahrg. 1938.

Die Herstellung der obigen Verbindungen kann auch über das 3-Amino-4-oxy-1-nitrobenzol erfolgen. So wurde u. a. das 3-Isobutyrylamino-4-oxy-1-nitrobenzol synthetisiert, das nach erfolgter Reduktion zum Amin zur Arsinsäure umgesetzt wurde.



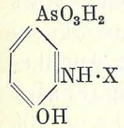
Die biologische Auswertung der eben aufgezählten, sowie der späterhin noch zu besprechenden Arsinsäuren erfolgte an weißen Mäusen. An einer größeren Anzahl von Tieren wurde zunächst für jedes einzelne As-Präparat die Dosis toxica bzw. tolerata, sowie die Dosis curativa sowohl für Trypanosomen (Stamm Prowazek), wie auch für russ. Recurrens (Stamm Obermeieri) ermittelt. In bekannter Weise wurden die Versuchstiere (Durchschnittsgewicht 13—15 g) tags zuvor mit den entsprechenden Krankheitserregern infiziert, und die erfolgte Infektion mikroskopisch sichergestellt. Durch eine 14tägige Untersuchung des Blutbildes konnte der Verlauf des therapeutischen Effektes verfolgt werden. Da die spirochätizide Wirkung der Arsinsäuren bei der russ. Recurrens nicht so prompt, wie bei der Trypanosomeninfektion einsetzt und hauptsächlich bei peroraler Applikation, wahrscheinlich wegen einer langsameren Resorption des Mittels durch die Darmschleimhaut, zum Teil erst am 2. Tage post medicationem sichtbar wird, ist die Beurteilung, ob das Verschwinden der Spirochäten durch das Therapeutikum bedingt oder auf den charakteristischen intermittierenden Krankheitsverlauf der Recurrensinfektion zurückzuführen ist, zuweilen recht erschwert. Bekanntlich tritt nach mehrmaligen Rezidiven bei Mäusen eine vollkommene Immunität gegen eine Reinfektion ein, ein Phänomen, das uns zum Nachweis der erfolgten Ausheilung diente. Die behandelten Tiere wurden 45 Tage post infectionem nochmals mit Recurrensspirochäten infiziert und der Verlauf der Reinfektion etwa 10 Tage mikroskopisch kontrolliert. Bei den geheilten Tieren geht die Reinfektion regelmäßig an, während dies bei den nicht ausgeheilten Tieren nicht der Fall ist.

In den nachstehenden Tabellen (I, II, III) sind die Versuchsergebnisse der geprüften Arsinsäuren bei intravenöser, subkutaner und peroraler Applikation eingetragen: die Dosis toxica, Dosis tolerata, Dosis curativa für Trypanosomen- und Recurrensinfektion, sowie der therapeutische Index.

Wie aus den Tabellen zu ersehen, ist ein Wasserstoffatom der Aminogruppe durch x (eingeführter Säurerest) ersetzt.

Tabelle I.

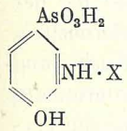
Biologische Auswertung bei **intravenöser** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen		Russ. Recurrens	
	toxica	tolerata	Heilwert	Index	Heilwert	Index
x = Wasserstoff	30 mg	20 mg	2 mg	1 : 10	10 mg	1 : 2
x = acetyl	30 „	20 „	10 „	1 : 2	20 „	1 : 1
x = isobutyryl	40 „	30 „	30 „	1 : 1	20 „	1 : 1,5
x = isovaleryl	15 „	10 „	10 „ K.W.[1])	—	10 „ K.W.[1])	—
x = n. valeryl	10 „	6 „	6 „ K.W.[1])	—	6 „ K.W.[1])	—

Tabelle II.

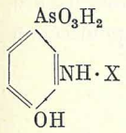
Biologische Auswertung bei **subkutaner** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen		Russ. Recurrens	
	toxica	tolerata	Heilwert	Index	Heilwert	Index
x = Wasserstoff	30 mg	20 mg	3 mg	1 : 6,6	10 mg	1 : 2
x = acetyl	50 „	40 „	15 „	1 : 2,7	20 „	1 : 2
x = isobutyryl	50 „	40 „	40 „	1 : 1	15 „	1 : 2,6
x = isovaleryl	15 „	10 „	10 „ K.W.[1])	—	10 „ K.W.[1])	—
x = n. valeryl	15 „	10 „	10 „ K.W.[1])	—	10 „ K.W.[1])	—

Tabelle III.

Biologische Auswertung bei **peroraler** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen		Russ. Recurrens	
	toxica	tolerata	Heilwert	Index	Heilwert	Index
x = Wasserstoff	50 mg	30 mg	3 mg	1 : 10	10 mg	1 : 3
x = acetyl	150 „	120 „	20 „	1 : 6	20 „	1 : 6
x = isobutyryl	200 „	180 „	70 „	1 : 2,6	15 „	1 : 12
x = isovaleryl	100 „	80 „	80 „	1 : 1	20 „	1 : 4
x = n. valeryl	60 „	40 „	40 „ K.W.[1])	—	25 „	1 : 1,6

1) K.W. = keine therapeutische Wirkung.

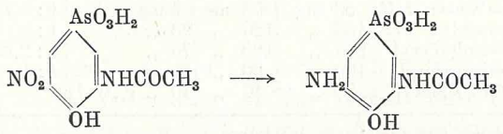
Während die Verträglichkeit der Arsinsäuren bei subkutaner und intravenöser Injektion fast die gleiche ist (Tabelle I u. II), konnten bei peroraler Applikation weit größere Mengen verabreicht werden. So wurde z. B. von der 4-Oxy-3-isobutyrylamino-phenylarsinsäure per os 180 mg, intravenös bzw. subkutan dagegen nur 30—40 mg vertragen. Interessant ist, daß hauptsächlich die Toleranz durch die Größe des Arsinsäuremoleküls beeinflußt wird. Von der 4-Oxy-3-amino- bis zur 4-Oxy-3-isobutyrylamino-phenylarsinsäure nimmt die Verträglichkeit zu, um dann bei der Einführung noch höher molekularer Säurereste, wie bei der Iso- und n.Valerylamino-phenylarsinsäure eine deutliche Verschlechterung zu erfahren. Die Präparate entfalten bei der Heilung der russ. Recurrens bis zur 4-Oxy-3-isobutyrylamino-phenylarsinsäure die gleiche therapeutische Wirkung, unabhängig

davon, ob sie peroral, intravenös oder subkutan appliziert werden. Wie aus Tabelle I und II zu ersehen, konnte bei der russ. Recurrensinfektion mit den Valerylverbindungen weder intravenös noch subkutan eine Heilung erzielt werden, was auf die schlechte Verträglichkeit der Präparate zurückzuführen ist. Selbst bei Verabreichung der Dosis tolerata bleibt ein Heilerfolg aus.

Zieht man den therapeutischen Index zur Beurteilung der Güte eines chemotherapeutischen Präparates heran, so ist bei den Phenylarsinsäuren das Verhältnis der Dosis curativa zur Dosis tolerata bei peroraler Applikation am günstigsten. Die Phenylarsinsäuren werden daher bei stomachaler Verwendung die beste therapeutische Wirkung entfalten, während die Arsenobenzole nur intravenös (Neosalvarsan) oder subkutan (Myosalvarsan, Solusalvarsan) angewandt werden.

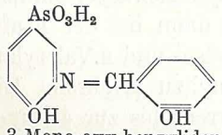
Der 4-Oxy-3-amino-phenylarsinsäure kommt, wie bereits erwähnt, eine stärkere spirochätizide, dagegen eine geringere trypanozide Wirkung zu. So waren zur Heilung der Trypanosomeninfektion 70, 80 und 40 mg der Isobutyryl, Isovaleryl- und n.Valerylamino-phenylarsinsäure erforderlich, während bei der Recurrensinfektion bereits 15, 20 und 25 mg zur Ausheilung genügten. Mit der n.Valeryl-Verbindung konnte bei der Trypanosomeninfektion überhaupt keine Heilung mehr erzielt werden, da 40 mg die Trypanosomen noch nicht restlos zu vernichten vermögen, andererseits aber diese Dosierung die äußerste Verträglichkeitsmenge bereits darstellt.

Durch Nitrierung des Spirozids mit rauchender Salpetersäure konnte die 3-Acetyl-amino-4-oxy-5-nitro-phenylarsinsäure synthetisiert werden, die durch Reduktion in die 3-Acetyl-amino-4-oxy-5-amino-phenylarsinsäure überging, eine Di-amino-oxy-phenylarsinsäure, die in ihrer therapeutischen Wirksamkeit der Mono-amino-oxy-phenylarsinsäure analog ist.

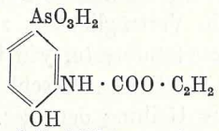


Die Einführung einer zweiten Aminogruppe in das Molekül des Spirozids hat demnach zu keiner Steigerung der therapeutischen Wirkung und somit zu keinem verbesserten Präparat geführt.

Durch Einwirkung des Salizylaldehyds sowie des chlorkohlensauren Äthylesters entstanden die 3-Benzyliden-arsinsäure und die 3-Carbäthoxy-amino-4-oxy-phenylarsinsäure, Verbindungen, die in ihrer therapeutischen Wirksamkeit dem Spirozid unterlegen sind.



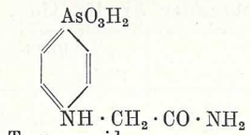
3-Mono-oxy-benzyliden-4-oxy-phenylarsinsäure



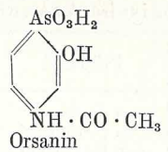
3-Carbäthoxy-amino-4-oxy-phenylarsinsäure

Als wirksame Präparate zur Bekämpfung der Trypanosomeninfektion haben sich bekanntlich die Arsinsäuren vom Typus des Atoxyls bewährt, bei denen die Aminogruppe in p-Stellung zur Arsinsäure eingetreten ist.

Von verschiedenen Forschern wurde versucht, sowohl durch Substitution der p-ständigen Aminogruppe als auch durch Einführung zahlreicher Substituenten in den Benzolring zu wirksamen Heilmitteln zu gelangen. Jakobs und Heidelberger fanden im Tryparsamid, dem Mononatriumsalz des p-Arsinsäurephenylglyzinamids, Fourneau im Orsanin, dem Mononatriumsalz der 2-Oxy-4-acetylamino-phenylarsinsäure



Tryparsamid

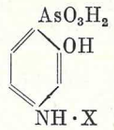


Orsanin

klinisch brauchbare Trypanosomenpräparate, die zufolge ihrer leichten Löslichkeit in das Zentralnervensystem gelangen und somit auch in fortgeschrittenem Stadium der Trypanose Heilung herbeizuführen vermögen.

Unser weiteres Studium erstreckte sich auf eine, der 4-Oxy-3-amino-phenylarsinsäure isomere Verbindung.

Derivate der 2-Oxy-4-amino-phenylarsinsäure.



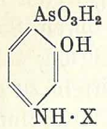
Präparat	Chemische Formel	Schmelzpunkt
x = Wasserstoff	-H	180—182°
x = acetyl	-CO · CH_3	255—256°
x = propionyl	-CO · CH_2 · CH_3	233°
x = isovaleryl	-CO · CH_2 · CH(CH_3)$_2$	232°
x = n. valeryl	-CO · CH_2 · CH_2 · CH_2 · CH_3	227—228°

Durch Einführung höher molekularer Säurereste in die 2-Oxy-4-amino-phenylarsinsäure gelangten wir zur 4-Acetyl-, 4-Propionyl-, 4-Isovaleryl- und 4-n.valeryl-amino-2-oxy-phenylarsinsäure, wasserunlösliche Präparate, die zur biologischen Auswertung in ihre leichtlöslichen Natriumsalze übergeführt und intravenös, subkutan, vorwiegend jedoch stomachal gesunden, sowie mit Trypanosomen bzw. mit Recurrens infizierten weißen Mäusen einverleibt wurden.

Aus Tabelle IV, V und VI, in denen die biologischen Versuchsergebnisse der acylierten 2-Oxy-4-amino-phenylarsinsäuren eingetragen sind, ergibt

Tabelle IV.

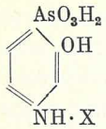
Biologische Auswertung bei **intravenöser** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen	
	toxica	tolerata	Heilwert	Index
x = acetyl	20 mg	10 mg	0,5 mg	1 : 20
x = propionyl	15 „	10 „	1 „	1 : 10
x = isovaleryl	8 „	5 „	3 „	1 : 1,6
x = n · valeryl	8 „	5 „	2 „	1 : 2,5

Tabelle V.

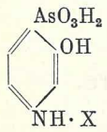
Biologische Auswertung bei **subkutaner** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen	
	toxica	tolerata	Heilwert	Index
x = acetyl	50 mg	30 mg	1 mg	1 : 30
x = propionyl	10 „	8 „	1 „	1 : 8
x = isovaleryl	8 „	5 „	3 „	1 : 1,6
x = n · valeryl	5 „	4 „	2 „	1 : 2

Tabelle VI.

Biologische Auswertung bei **peroraler** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen	
	toxia	tolerata	Heilwert	Index
x = acetyl	200 mg	160 mg	2 mg	1 : 80
x = propionyl	150 „	100 „	5 „	1 : 20
x = isovaleryl	120 „	100 „	8 „	1 : 12,5
x = n · valeryl	80 „	60 „	10 „	1 : 6

sich, daß durch eine systematische Molekülvergrößerung die Dosis tolerata bei intravenöser, subkutaner, sowie bei peroraler Applikation deutlich beeinflußt wird. Mit der Vergrößerung des Moleküls nimmt die Toxizität der Säuren ständig zu, während der Heilwert hierdurch nicht verbessert, sondern verschlechtert, also divergent beeinflußt wird. So nimmt die Dosis toxica wie aus der Tabelle hervorgeht, von 200 mg bis zu 80 mg zu; der Heilwert dagegen fällt von 2 auf 10 mg. Es besteht demnach bei unseren Verbindungen kein Parallelismus zwischen Toxizität und therapeutischer Wirkung.

Der günstigste therapeutische Index ist bei peroraler Applikation zu verzeichnen, so daß auch die Derivate der 2-Oxy-4-amino-phenylarsinsäure vorwiegend für eine stomachale Verwendung bestimmt sind.

Trotz der Isomerie der 2-Oxy-4-amino-phenylarsinsäure mit der 4-Oxy-3-amino-Verbindung besteht doch ein wesentlicher Unterschied im therapeutischen Effekt, was wohl auf die Konstitution der beiden Phenylarsinsäuren zurückzuführen ist. Eine Gegenüberstellung der Heilwerte dieser beiden Säuren läßt den ausgesprochenen trypanoziden Charakter der acylierten 2-Oxy-4-amino-phenylarsinsäuren erkennen, eine Feststellung, die von uns erneut bestätigt werden konnte.

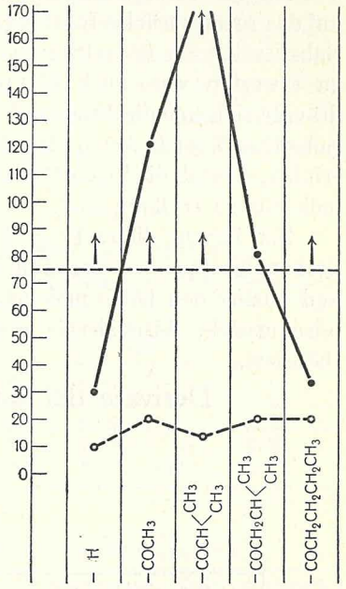
Gegenüberstellung der Trypanosomen-Heilwerte bei peroraler Applikation.

Eingeführte Säurereste	Derivate der 2-oxy-4-amino-phenylarsinsäure	Derivate der 4-oxy-3-amino-phenylarsinsäure
-acetyl-	2 mg	20 mg
-isovaleryl-	8 „	80 „
-n · valeryl-	10 „	40 mg

Der Einfluß, den die acylierten 4-Oxy-3-amino-phenylarsinsäuren bei peroraler Applikation auf die Toleranz und den therapeutischen Effekt ausüben, ist am deutlichsten aus einer graphischen Aufzeichnung der Versuchsergebnisse zu ersehen.

Graphische Darstellung der Dosis tolerata und der Dosis curativa (russ. Rec.) bei peroraler Applikation verschiedener Phenylarsinsäuren.

Der anfänglich steile Anstieg der Verträglichkeitskurve beweist, daß die Verträglichkeit bis zur Isobutyrylverbindung zunimmt, um bei den nächst höher molekularen Phenylarsinsäuren eine Verschlechterung zu erfahren, die in dem steilen Abfall der Kurve in Erscheinung tritt. Im Gegensatz hierzu verläuft die therapeutische Kurve ziemlich horizontal. Die Divergenz der beiden Kurven entspricht den errechneten therapeutischen Indizes:



Erläuterung: Die ausgezogene Linie verbindet die Verträglichkeitsdosen der Phenylarsinsäurederivate; die gestrichelte Linie stellt die Verbindungslinie zwischen den Heilwertdosen dar. Horizontale Linie vgl. S. 59.

Therapeutischer Index (russ. Rec.) bei peroraler Applikation.

Präparat		Index
4-oxy-3-acetyl-	amino-phenyl-arsinsäure	1 : 6
4-oxy-3-isobutyryl-		1 : 12
4-oxy-3-isovaleryl-		1 : 4
4-oxy-3-n · valeryl-		1 : 1,6

Zieht man die Begriffe Organotropie (Toxizität) und Parasitotropie (therapeutischer Effekt) zur Erklärung der graphischen Darstellung heran, so zeigt sich, daß durch Substitution der obigen Phenylarsinsäuren

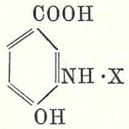
die Parasitotropie eine nur unwesentliche, die Organotropie dagegen eine weitgehende Veränderung erfährt.

Wenn beispielsweise in der 3-Acetylamino-4-oxy-phenylarsinsäure ein „chemotherapeutisch" wertvolleres Präparat vorliegt, als in der 3-Isovaleryl-amino-phenylarsinsäure, so ist der absolute Heilwert (Parasitotropie) der beiden Arsinsäuren der gleiche. Die chemotherapeutische Ueberlegenheit der 3-Acetyl-amino-4-oxy-phenylarsinsäure ist einzig und allein durch die geringere Organotropie bedingt.

Da die therapeutische und toxische Wirkung der Phenylarsinsäure auf das Arsen zurückgeführt wird, andererseits aber durch die vorgenommene Substitution am Benzolring nur die organotrope und nicht gleichzeitig, wie zu erwarten war, auch die parasitotrope Komponente verändert wird, drängte sich uns die Frage auf, ob durch die Einführung höher molekularer Substituenten das Arsen als solches in seiner Auswirkung eine Veränderung erfährt, oder ob die Toxizitätsunterschiede durch Umgestaltung des Gesamtmoleküls zu erklären sind.

Zur Lösung dieser Frage haben wir an Stelle des Arsinsäurerestes die Carboxylgruppe in das Molekül des 4-Oxy-3-amino-benzols eingeführt und analog den höher molekularen Phenylarsinsäuren die 4-Oxy-3-acetyl-, 3-isobutyryl-, 3-isovaleryl- sowie die 3-n. valeryl-amino-benzoesäure synthetisiert.

Derivate der 4-Oxy-3-amino-benzoesäure.



Präparat	Chemische Formel	Schmelzpunkt
x = Wasserstoff	-H	205°
x = acetyl	$-CO \cdot CH_3$	255°
x = isobutyryl	$-CO \cdot CH\langle^{CH_3}_{CH_3}$	238°
x = isovaleryl	$-CO \cdot CH_2 \cdot CH\langle^{CH_3}_{CH_3}$	248°
x = n · valeryl	$-CO \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_2 \cdot CH_3$	241°

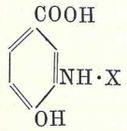
Die Einführung der Säurereste in die 4-Oxy-3-aminobenzoesäure erfolgte mit Hilfe der Säureanhydride. Die Carbonsäure wurde in trockenem Aceton mit Essigsäure-, Isobuttersäure-, Isovaleriansäure- und n·Valeriansäureanhydrid mehrere Stunden zum Sieden erhitzt. Das Lösungsmittel wurde sodann entfernt, die Rohprodukte in 2-n·Natronlauge gelöst, mit Salzsäure umgefällt und aus Wasser fraktioniert umkristallisiert. Die acylierten Säuren stellen kristallisierte Verbindungen dar, die sich in Alkalien leicht auflösen.

Dr. med. vet. G. Eifner

Die Ergebnisse der Toxizitätsauswertung (cf. Tabelle VIII, IX und X) zeigen eine auffallende Uebereinstimmung mit denen der analogen Phenylarsinsäuren. Auch bei der biologischen Auswertung der Benzoesäuren tritt der Toxizitätsunterschied am deutlichsten bei der peroralen Applikation in Erscheinung. So weist die 4-Oxy-3-acetylamino-benzoesäure die beste Verträglichkeit bzw. geringste Giftigkeit auf. Die Einführung noch höher molekularer Reste hat dagegen eine Zunahme der Giftigkeit zufolge. Obwohl die Benzoesäuren für den Organismus ebenso giftig sind, wie die Phenylarsinsäuren, so zeigen sie doch keinerlei parasitizide Wirkung. Selbst bei Einverleibung der höchst verträglichen Mengen sind sie gegenüber Trypanosomen und Recurrensspirochäten vollkommen wirkungslos. Weder intravenös, subkutan noch peroral konnte auch nur der geringste Heilerfolg erzielt werden. Die toxikologischen und therapeutischen Versuche haben zur Klärung der Frage über die Beziehung zwischen Konstitution und Wirkung besonderen Wert.

Tabelle VIII.

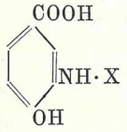
Biologische Auswertung bei **intravenöser** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen		Russ. Recurrens	
	toxica	tolerata	Heilwert	Index	Heilwert	Index
x=Wasserstoff	50 mg	40 mg	40 mg K.W.	—	40 mg K.W.	—
x=acetyl	70 „	50 „	50 „ K.W.	—	50 „ K.W.	—
x=isobutyryl	70 „	50 „	50 „ K.W.	—	50 „ K.W.	—
x=isovaleryl	30 „	15 „	15 „ K.W.	—	15 „ K.W.	—
x=n · valeryl	50 „	30 „	30 „ K.W.	—	30 „ K.W.	—

Tabelle IX.

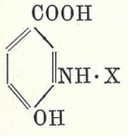
Biologische Auswertung bei **subkutaner** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen		Russ. Recurrenz	
	toxica	tolerata	Heilwert	Index	Heilwert	Index
x=Wasserstoff	70 mg	50 mg	50 mg K.W.	—	50 mg K.W.	—
x=acetyl	100 „	70 „	70 „ K.W.	—	70 „ K.W.	—
x=isobutyryl	70 „	50 „	50 „ K.W.	—	50 K.W.	—
x=isovaleryl	50 „	30 „	30 „ K.W.	—	30 „ K.W.	—
x=n · valeryl	50 „	30 „	25 „ K.W.	—	25 „ K.W.	—

Tabelle X.

Biologische Auswertung bei **peroraler** Applikation.



Präparat	Dosis		Trypanosomen		Russ. Recurrens	
	toxica	tolerata	Heilwert	Index	Heilwert	Index
x=Wasserstoff	150 mg	100 mg	100 mg K.W.	—	100 mg K.W.	—
x=acetyl	200 „	150 „	150 „ K.W.	—	150 „ K.W.	—
x=isobutyryl	150 „	100 „	100 „ K.W.	—	100 „ K.W.	—
x=isovaleryl	100 „	70 „	70 „ K.W.	—	70 „ K.W.	—
x=n · valeryl	60 „	40 „	40 „ K.W.	—	40 „ K.W.	—

Neben den experimentellen Auswertungen im Tierversuch wurde die parasitizide Wirkung der Phenylarsinsäuren und Benzoesäuren auch im Reagenzglas geprüft.

Als Testobjekt für die Versuche in vitro diente eine Blutaufschwemmung von Trypanosomen bzw. Recurrens-Spirochäten. Es wurde Spirochäten- oder Trypanosomen-haltiges Blut einer Maus in einem Medium suspendiert, das aus physiologischer NaCl-Lösung und nativem Pferdeserum zu gleichen Teilen bestand. In einigen Vorversuchen hat sich gezeigt, daß sowohl die Trypanosomen als auch die Spirochäten mehrere Stunden in diesem Medium gehalten werden können ohne ihre Beweglichkeit einzubüßen, während in physiologischer NaCl-Lösung insbesondere die Recurrens-Spirochäten schon nach kurzer Zeit zugrunde gehen. Zu diesen Blutemulsionen wurde eine bestimmte Menge der Phenylarsinsäuren und Benzoesäuren zugesetzt, so daß schließlich die in den nachstehenden Tabellen XI, XII und XIII eingetragenen Verdünnungen erreicht wurden. Der Inhalt der Versuchsröhrchen betrug 2 ccm, die sich aus 1 ccm Blutemulsion und 1 ccm des dosierten Präparates zusammensetzten. In bestimmten Zeitintervallen wurde die parasitizide Wirkung mikroskopisch kontrolliert.

Als parasitizide Wirkung wurde die Unbeweglichkeit der Parasiten oder ihre beginnende Auflösung bewertet und in den Tabellen mit 0 bezeichnet. Der Grad der Beweglichkeit wurde durch +++, ++ und + wiedergegeben.

Die wasserunlöslichen Phenylarsinsäuren wurden in n Natronlauge bezw. Aethanolamin gelöst und mit der Sörrensschen Pufferlösung (sekund. Natriumphosphat und primäres Kaliumphosphat im Verhältnis 6 : 4) auf den pH-Wert von 6,9—7,0 gebracht.

Da die Reagenzglasversuche mit allen acylierten Phenylarsinsäuren die gleichen Resultate ergaben, sollen hier nur die Prüfungsergebnisse der 4-Oxy-3-acetylamino-phenylarsinsäure (Spirozid) wiedergegeben werden.

In den Tabellen (XI—XV) sind die Zeitintervalle der mikroskopischen Untersuchungen, der Verdünnungsgrad der Phenylarsinsäuren sowie die Prüfungsergebnisse eingetragen.

Tabelle XI.

Auswertung der parasitiziden Wirkung der 4-Oxy-3-acetylamino-phenylarinsäure in vitro an russ. Recurrens-Spirochäten.

Verd.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	60 Min.
1/40	+++	+++	+++	++—+++	++	+	0—+	0
1/80	+++	+++	+++	+++	++—+++	++	+	0—+
1/160	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
1/320	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/640	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/1280	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kontr.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Tabelle XII.

Auswertung der parasitiziden Wirkung der 4-Oxy-3-acetylamino-phenylarsinsäure in vitro an Trypanosomen.

Verd.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	60 Min.
1/10								
1/20								
1/40	+—++	+	0					
1/80	++	++	+	0—+	0			
1/160	+++	+++	++—+++	+—++	+—0	0		
1/320	+++	+++	+++	+++	++	+	0—+	0
1/640	+++	+++	+++	+++	+++	++—+++	++	+
Kontr.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Da bei einer Verdünnung von 1/320 nach 60 Min. (Tab. XII) keine Beweglichkeit der Trypanosomen mehr festgestellt werden konnte, während sie in dem Kontrollröhrchen noch lebhaft beweglich waren, ist den Phenylarsinsäuren eine, wenn auch nur geringe, parasitizide Wirkung nicht abzusprechen. Gegenüber der parasitiziden Wirkung des Chlorhydrates des 4-Oxy-3-amino-phenylarsenoxyds, bei dem die Trypanosomen in einer Verdünnung von 1/1000000 in 20 Min. und 1/10000000 noch in 30 Min. abgetötet werden (s. Tab. XIII) sind allerdings die Phenylarsinsäuren in vitro praktisch unwirksam.

Tabelle XIII.

Auswertung der parasitiziden Wirkung des 3-Amino-4-oxy-phenylarsinoxyd-hydrochlorids an Trypanosomen.

Verdünnung	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.
1/1000000	+	0—+	0		
1/5000000	+	0—+	0		
1/8000000	++	+	0—+	0	
1/10000000	++	+	0—+	0	
Kontrolle	+++	+++	++	++	++

Die mit Recurrens-Spirochäten in gleicher Weise ausgeführten Reagenzglasversuche zeigten, daß bei der 4-Oxy-3-acetylamino-phenylarsinsäure im Vergleich zur trypanoziden, die spirochätizide Wirkung eine noch wesentlich geringere ist (Tab. XI).

Tabelle XIV.

Auswertung der parasitiziden Wirkung der 4-Oxy-3-acetylamino-benzoesäure in vitro an Trypanosomen.

Verd.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	60 Min.
1/10								
1/20	+	0						
1/40	++	+	0—+	0				
1/80	+++	+++—++	+—++	+	+	0		
1/160	+++	+++	+++	++	+	0—+	0	
1/320	+++	+++	+++	++	++	+	0—+	0
1/640	+++	+++	+++	+++	+++	++—+	0—+	0
1/1280	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
Kontr.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++—+

Tabelle XV.

Auswertung der parasitiziden Wirkung der 4-Oxy-3-acetylamino-benzoesäure in vitro an russ. Recurrens-Spirochäten.

Verd.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	60 Min.
1/10	0							
1/20	+++	+++	++—+++	++—+++	++	++	++	++
1/40	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/80	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/160	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/320	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1/640	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Kontr.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Die bei der Auswertung der analogen Benzoesäuren in vitro mit Trypanosomen und Recurrens erzielten Prüfungsergebnisse stimmten mit denen der Phenylarsinsäuren vollkommen überein.

Zusammenfassend kann gesagt werden: Die Einführung höher molekularer Säurereste übt auf die parasitizide Wirkung der Phenylarsinsäuren in vitro keinen Einfluß aus. Sie wird demnach weder vermehrt noch verringert. Die analogen Benzoesäuren besitzen in vitro die gleiche parasitizide Wirkung. Demzufolge ist die, wenn auch nur geringe trypanozide oder spirochätizide Wirkung der Phenylarsinsäuren in vitro weniger auf das Arsen, als auf das Gesamtmolekül selbst zurückzuführen. Vermutlich kommt bereits dem substituierten Benzolring in vitro eine parasitenschädigende Wirkung zu.

Die Auswirkung unserer Phenylarsinsäuren stimmt im Tierversuch wie auch im Reagenzglas insofern überein, als durch Einführung höher molekularer Substituenten weder die parasitizide Wirkung in vitro, noch der therapeutische Effekt in vivo beeinflußt wird.

Wie eingangs dieser Abhandlung erwähnt, war unser Bestreben, die Affinität der Phenylarsinsäuren zum Zentralnervensystem durch Veränderung des Moleküls weitgehendst zu beseitigen. Bei der toxikologischen Auswertung traten bereits bei einmaliger peroraler Gabe der Dosis tolerata der 4-Oxy-3-acetylamino-phenylarsinsäure bei allen Mäusen schwere nervöse Störungen auf, die auch bei den Isobutyryl-Verbindungen zu beobachten waren, während die noch höher molekularen Säuren, wie z. B. die Iso- bzw. n·Valerylamino-phenylarsinsäure, diese Erscheinungen nicht oder nur in geringem Grade zeigten.

Das Ausbleiben der nervösen Erscheinungen ist nun keineswegs auf eine tatsächliche Beseitigung der Neurotropie, sondern lediglich auf eine erhöhte Giftigkeit der höher molekularen Säuren zurückzuführen. Gibt man einer Maus von der 4-Oxy-3-acetyl-amino-phenylarsinsäure die Menge, die der Dosis tolerata der n·Valerylaminoverbindung entspricht, so treten auch hier keinerlei neurotoxische Erscheinungen auf. Es muß demnach

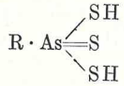
ein ganz bestimmtes Quantum an Arsen dem Organismus einverleibt werden, um überhaupt eine neurotoxische Erscheinung auszulösen. — Gut verträgliche Phenylarsinsäuren werden demnach neurotoxisch wirken, wie aus der graphischen Darstellung zu ersehen ist, schlecht verträgliche, wie die Iso- bezw. die n·Valerylarsinsäure täuschen dagegen nur eine Beseitigung der Neurotropie vor.

In der graphischen Darstellung (s. S. 53) stellt die horizontale Linie die Grenzdosierung, d. h. die zur Auslösung der neurotoxischen Erscheinungen erforderlichen Mindestmengen dar. Präparate, deren Dosis tolerata unterhalb dieser Linie liegt, lösen demnach keine nervösen Störungen aus.

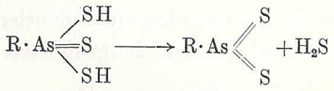
Da bei den von uns geprüften Benzoesäuren, die den Phenylarsinsäuren analog sind, keinerlei neurotoxische Erscheinungen auftreten, ist anzunehmen, daß die Neurotropie der Arsinsäuren lediglich dem 5-wertigen Arsen zuzuschreiben ist.

Um eventuell eine erhöhte therapeutische Wirksamkeit der Phenylarsinsäure zu erreichen, wurde weiterhin im Spirozid, der 3-Acetylamino-4-oxy-phenylarsinsäure die Hydroxylgruppe durch den Sulfhydryl-Rest ersetzt. Wir gelangten so zu organischen Schwefel-Arsen-Verbindungen, über die bisher chemotherapeutisch nichts bekannt geworden ist. Vor einer Reihe von Jahren sind am Arsen geschwefelte Derivate aromatischer Arsenverbindungen hergestellt, jedoch nicht biologisch ausgewertet worden.

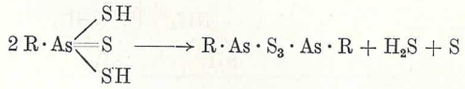
Durch Einwirkung von Schwefelalkalien oder Schwefelwasserstoff auf die Phenylarsinsäuren entstanden primär die Aryl-, Trithio-Arsinsäuren,



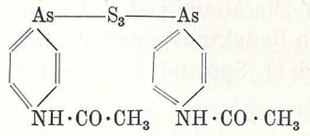
die nur in Form ihrer Salze isoliert werden konnten. In freiem Zustand gehen sie unter Verlust von Schwefelwasserstoff entweder in die Disulfide



oder in die Sesquisulfide über

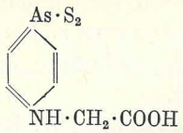


So konnte aus Arsacetin mit Schwefelwasserstoff das 4-Acet-amino-phenylarsin-sesquisulfid gewonnen werden (D.R.P. 205617)

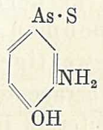


dessen Toxizität höher als die des Arsacetin war.

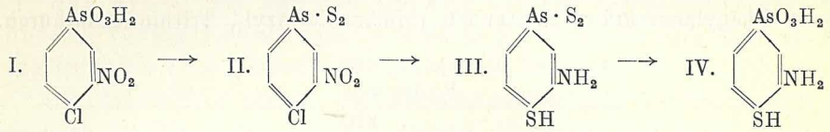
Aus Phenylglyzinarsinsäure wurde das Phenylglyzinarsindisulfid von folgender Konstitution hergestellt (D.R.P. 253757)



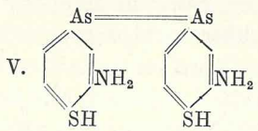
Während nach Voegtlin und Mitarbeitern bei den Arylarsindisulfiden sowie Sesquisulfiden Toxizität und Trypanozidie eine Steigerung erfahren, unterscheidet sich das 3-Amino-4-oxy-phenyl-1-arsinsulfid im chemotherapeutischen Index kaum vom analogen Oxyd.



Von der 3-Nitro-4-chlor-phenylarsinsäure (I) ausgehend, haben wir durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff das 3-Nitro-4-chlor-phenylarsendisulfid (II) hergestellt. Durch Ersatz des Halogenatoms durch die Sulfhydryl-Gruppe gelangten wir zum 3-Amino-4-thio-phenylarsindisulfid (III), daß sich mit Bleicarbonat am Arsen entschwefeln ließ.

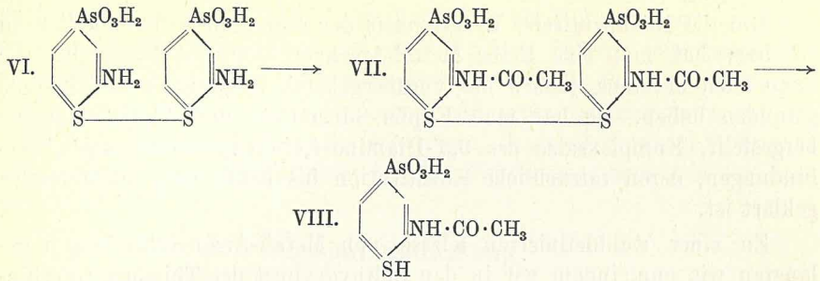


Die so erhaltene 3-Amino-4-thiophenylarsinsäure (IV) wurde mit Natriumhydrosulfit nach bekanntem Verfahren zum 4,4′-Dithio-3,3′-diaminoarsenobenzol (V) reduziert und erwies sich identisch mit der bereits von H. J. Barber[1]) in unreinem Zustand hergestellten Verbindung



Durch Oxydation der 3-Amino-4-thio-phenylarsinsäure entstand das 2,2′-Diamino-4,4′-diarsinsäure-diphenyldisulfid (VI), das sich mit Essigsäureanhydrid zum 2,2′-Diacet-amino-4,4′-diarsinsäure-diphenyl-disulfid (VII) umsetzen ließ. Durch Reduktion konnte die 3-Acetamino-4-thio-phenylarsinsäure (VIII), die dem Spirozid analoge Schwefelverbindung, gewonnen werden.

1) Journ. chem. Soc. London 1931 II, 2556.



Die so dargestellten Thio-Verbindungen stellen amorphe, farblose Pulver dar, deren Natriumsalze leicht löslich und somit gut zur Injektion zu verwenden sind. Sie wurden sowohl intravenös, wie subkutan an weißen gesunden und infizierten Mäusen ausgewertet.

Die von uns geprüften Thio-Verbindungen zeichnen sich gegenüber den analogen Oxy-Verbindungen durch stark erhöhte Giftigkeit aus. Während, wie Voegtlin angibt, bei den am Arsen geschwefelten Arsenverbindungen mit der Erhöhung der Giftigkeit auch eine Verstärkung der Trypanozidie eintritt, ist bei den Thio-phenyl-arsinsäuren die Heilwirkung nicht gesteigert, sondern fast vollständig aufgehoben (s. Tab. XVI). Selbst

Tabelle XVI.

Präparat	Dosis toxica (intravenös)	Dosis tolerata (intravenös)	Dosis toxica (subkutan)	Dosis tolerata (subkutan)	Heilwert Trypanosomen intravenös	Heilwert Trypanosomen subkutan	Index
4-Mercapto-phenylarsinsäure	.	.	1,6 mg	1,5 mg	.	1,6 mg K.W.	—
4-Mercapto-3-amino-phenylarsinsäure	4 mg	2 mg	2 „	1,25 „	2 mg K.W.	1,25 „ K.W.	—
4-Mercapto-3-acetyl-amino-phenylarsinsäure .	.	.	3 „	2 „	.	2 „ K.W.	—
1,1′-Diarsinsäure-3,3′-diamino-diphenyl-4,4′ disulfid	.	.	2,5 „	2 „	.	2 „ K.W.	—
1,1′-Diarsinsäure-3,3′-diacetylamino-diphenyl-4,4′disulfid	1,0 mg	0,3 mg	1 „	0,3 „	0,3 mg K.W.	0,3 „ K.W.	—
3,3′-Diamino-4,4′-dimercapto-arsenobenzol . .	.	.	5 „	2—1 „	.	2 „ K.W.	—

K.W. = Keine Wirkung.

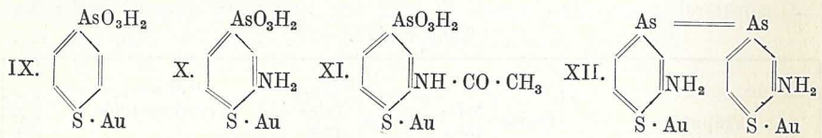
bei Verabreichung der Dosis tolerata und der Dosis toxica konnte keinerlei Beeinflussung der Trypanosomen- sowie Rekurrens-Infektion beobachtet, geschweige denn eine Heilung der Tiere erzielt werden.

Diese biologischen Ergebnisse sind deswegen überraschend, weil durch Einführung der Sulfhydrylgruppe in den Benzolring mit der Verstärkung der Organotropie auch eine erhöhte Parasitotropie zu erwarten war.

Um die therapeutische Wirksamkeit der organischen Arsenikalien zu erhöhen, hat man eine Reihe Metall-Arsenverbindungen hergestellt, die dann auch meistens, jedoch nur vorübergehend, Eingang in die Therapie gefunden haben. So hat man Kupfer-Silber-Gold und Platinsalvarsane hergestellt, Komplexsalze des 3,3′-Diamino-4,4′-dioxy-arsenobenzols, Verbindungen, deren tatsächliche Konstitution bis heute noch nicht restlos geklärt ist.

Zu einer wohldefinierten Klasse von Metall-Arsenverbindungen gelangten wir nun, indem wir in den Sulfhydrylrest der Thio-arsen-Verbindungen Gold einführten. Es hat sich nämlich gezeigt, daß man bei der Umsetzung von Goldsalzen wie Goldkaliumbromid mit Mercapto-phenylarsinsäuren sowie Mercapto-salvarsanen in saurer Lösung in Gegenwart von Natriumsulfit zu Auro-mercapto-phenylarsinsäuren, sowie zu Auromercapto-salvarsanen gelangt, braune amorphe Pulver, deren Natriumsalze in Wasser leicht löslich und somit gut injiziert werden können.

Die 4-Auro-mercapto-phenylarsinsäure (IX), die 4-Auro-mercapto-3-amino-phenylarsinsäure (X), die 4-Auro-mercapto-3-acetamino-phenylarsinsäure (XI) (Auro-mercapto-spirozid) sowie das 4,4′-Diauro-dimercapto-3,3′-diamino-arsenobenzol (XII) Auro-mercapto-salvarsan)



ließen gegenüber den freien Mercapto-arsenverbindungen keine erhöhte Heilwirkung erkennen (Tab. XVII).

Tabelle XVII.

Präparat	Dosis toxica (intravenös)	Dosis tolerata (intravenös)	Dosis toxica (subkutan)	Dosis tolerata (subkutan)	Heilwert Trypanosomen intravenös	Heilwert Trypanosomen subkutan	Heilwert russ. Recurrens intravenös	Heilwert russ. Recurrens subkutan
4-Auro-mercapto-phenylarsinsaures Natrium	1 mg	0,5 mg	1,25 mg	1 mg	0,5 mg K.W.	1 mg K.W.	.	.
4-Auro-merapto-3-amino-phenylarsinsaures Natrium	2 mg	1,25 mg	2,5 mg	1,5 mg	1,25 mg K.W.	1,5 mg K.W.	1,25 mg K.W.	1,5 mg K.W.
4,4′-Diauro-mercapto-3,3′-diamino-arsenobenzol	.	.	5 mg	2,5 mg	.	2,2 mg K.W.	.	.

K.W. = Keine Wirkung.

Da mit dem Ausbau der Goldtherapie durch Feld eine Reihe von Auromercaptoverbindungen hergestellt und klinisch erprobt wurden, und

da beim Tuberkulose-Kranken Arsen zuweilen als Roborans gegeben wird, wurden die obigen Verbindungen einer Prüfung bei der experimentellen Meerschweinchentuberkulose unterzogen. Die von R. Prigge[1]) geprüften Verbindungen verhielten sich im Tierversuch genau so unwirksam, wie die bekannten Tuberkulosepräparate Sanocrysin, Solganal, Solganal B, Triphal und Lopion, deren Wirksamkeit bei der Tuberkulose nach wie vor hart umstritten wird.

Zusammenfassung.

1. Durch Einführung höher molekularer Säurereste in die Aminogruppe der 4-Oxy-3-amino- bzw. 2-Oxy-4-amino-phenylarsinsäure wird die beabsichtigte Vergrößerung des Moleküls erreicht.

2. Es konnte erneut bestätigt werden, daß Derivate der 2-Oxy-4-amino-phenylarsinsäure eine höhere trypanozide Wirkung als die der 4-Oxy-3-amino-phenylarsinsäure entfalten. Letzteren kommt dagegen ein ausgesprochen spirochätizider Charakter zu.

3. Aus den therapeutischen Versuchen ergibt sich die Bedeutung der Stellung der Hydroxyl- und Aminogruppe zum Arsinsäurerest.

4. Die Phenylarsinsäuren weisen bei peroraler Applikation den günstigsten therapeutischen Index auf. Sie eignen sich daher vorwiegend für eine stomachale Anwendung.

5. Durch systematische Acylierung wird die therapeutische Wirkung der Phenylarsinsäuren nur unwesentlich verändert.

6. Die Dosis toxica sowie die Dosis tolerata der höher molekularen Phenylarsinsäuren wird dagegen stark beeinflußt. Von der Acetyl- bis zur Isobutyrylverbindung nimmt die Verträglichkeit zu, um bei den noch höher molekularen Verbindungen eine schnelle Abnahme zu erfahren.

7. Die Unterschiede im therapeutischen Index sind bei diesen Präparaten nicht auf eine Verbesserung oder Verschlechterung des therapeutischen Effektes, sondern lediglich auf eine gesteigerte bzw. verringerte Toleranz zurückzuführen.

8. Verbindungen, bei denen die Carboxylgruppe an Stelle des Arsinsäurerestes in den Benzolring eingetreten ist, zeigen im Tierkörper hinsichtlich der Verträglichkeit das gleiche Verhalten, wie die entsprechenden Derivate der Phenylarsinsäure. Im infizierten Organismus dagegen kommt ihnen, selbst bei Verabreichung der Dosis tolerata keinerlei Heilwirkung zu.

9. Gegenüber der starken parasitiziden Wirkung des Phenylarsenoxyds im Reagenzglasversuch sind die Phenylarsinsäuren und die analogen Benzoesäuren in vitro praktisch unwirksam.

10. Die Einführung höher molekularer Säurereste übt keinen Einfluß auf die parasitizide Wirkung der Phenylarsinsäuren aus.

1) I. Intern. Kongr. d. therap. Union, Bern 1938.

11. Durch Vergrößerung des Moleküls wird die neurotrope Eigenschaft der Phenylarsinsäuren nicht beseitigt.

12. Das Ausbleiben der neurotoxischen Erscheinungen bei der 4-Oxy-3-n-valerylarsinsäure ist auf eine erhöhte Toxizität dieses Präparates zurückzuführen. Zur Auslösung der nervösen Störungen bei der Maus sind bestimmte Mengen Arsen erforderlich, die bei der obigen Verbindung wegen der geringen Toleranz nicht erreicht werden.

13. Bei den von uns hergestellten Thio-Arsenverbindungen ist an Stelle der Hydroxyl- die Sulfhydrylgruppe eingetreten.

14. Diese Verbindungen zeichnen sich durch bedeutend höhere Giftigkeit aus, als die entsprechenden Oxy-Verbindungen. Die Heilwirkung ist bei ihnen fast vollkommen aufgehoben.

15. Durch Einführung von Gold in die Sulfhydrylgruppe der obigen Verbindungen konnte eine neue Klasse von Metall-Arsenverbindungen erschlossen werden.

16. Gegenüber den Mercapto-Arsenverbindungen zeigen diese Mercapto-Gold-Arsenverbindungen keine erhöhte Heilwirkung.

Aus dem Forschungsinstitut für Chemotherapie zu Frankfurt a/Main.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Otto.)

IV.

Experimentelle Untersuchungen über Rickettsien-Impfstoffe gegen Fleckfieber.

Von
R. Otto und **R. Wohlrab.**

Nach anfänglichen, wenig befriedigenden Versuchen, einmal mit inaktiviertem Krankenblut, dann mit verschiedenen Organemulsionen infizierter Tiere (Meerschweinchen) zu immunisieren, wurde, als die ätiologische Bedeutung der Rickettsia prowazeki und anderer ähnlicher Rickettsien für die Krankheiten der Fleckfiebergruppen gesichert war, versucht, wirksame Rickettsien-Impfstoffe herzustellen. Dabei wurden nach zwei verschiedenen Methoden solche Impfstoffe gewonnen: 1. Impfstoffe aus lebendem und 2. aus abgetötetem Rickettsienmaterial.

Für die Lebend-Impfstoffe ist von französischen Forschern (in Analogie zu der Art des Vorgehens bei der Pocken- und Lyssa-Schutzimpfung) nach verschiedenen Verfahren, so von Nicolle, Sparrow und Conseil mit subinfektiösen Dosen und von anderen Forschern durch Abschwächung der Rickettsien bei Erhaltung der antigenen Eigenschaften, die Schutzimpfung versucht worden. Laigret und Durand hüllten virulentes Meerschweinchengehirn eines als schwach menschenpathogen bekannten murinen Virusstammes (Virus Typ murin Tunis I) in Eigelb und Olivenöl ein. Blanc schwächte ein anderes Virus (TMC III aus Casablanca) durch Zusatz von Rindergalle ab. Diese Impfstoffe sind in Afrika in großen Reihen mit Erfolg verwandt worden. Bei der Übertragung dieser Methoden auf andere murine Virusarten (Laigret-Impfstoff: Balteanu, Schäfer u. a.), sowie bei ihrer Verwendung bei Europäern und auch bei Indianern Südamerikas waren die Ergebnisse ungünstig. Für letztere erwies sich ein Impfstoff nach Le Blanc als so menschenpathogen, daß von etwa 800 Personen 23% schwer an Fleckfieber erkrankten und 5 der Erkrankten starben (s. Palazios, Chávez und Avendaño, sowie Vaccaro und Santelices).

Ist bei den Lebend-Impfstoffen eine Abschwächung der Erregervirulenz Voraussetzung und Arbeitsziel, so waren und sind bis jetzt bei der Suche

nach einem brauchbaren Totimpfstoff rein quantitative Gesichtspunkte maßgebend. Über die Herstellung dieser Impfstoffe sei kurz folgendes vorausgeschickt. Die massige Rickettsienanreicherung im Läusekörper hatte schon H. da Rocha Lima zu einer Verwendung von Emulsionen aus infektiösen Läusen zu Impfzwecken angeregt. Von Weigl wurde dieser Weg dann systematisch ausgebaut, und die phenolisierte Weigl-Vakzine ist bereits in großem Umfange mehrfach als wirksamer Impfstoff gegen das klassische Virus angewandt worden (Chodzkow, Knack u. a.). Allerdings ist die Technik der Impfstoffgewinnung so schwierig, daß sie nur für beschränkte Impfungen, aber schlecht für einen unter Epidemieverhältnissen auftretenden Massenbedarf genügen kann. Zudem ist die Läusefütterung von einem Stab von flecktyphusimmunen Personen abhängig, der nur in Ländern mit endemischer Verseuchung zur Verfügung steht. Die künstliche Ernährung der Läuse dürfte für Massendarstellung der Impfstoffe wohl nicht in Frage kommen.

Ähnlich wie beim klassischen Flecktyphus mit Impfstoff aus Läusen wurde auch beim murinen Fleckfieber mit Flohfäzes zu immunisieren versucht. Dabei zeigte sich bei den Versuchen von Dyer, Workmann, Rumreich und Badger, daß auch hier quantitative Beziehungen zwischen Rickettsiengehalt des Impfstoffes und Impferfolg bestehen.

Neuerdings haben Zinsser und Castaneda die Möglichkeiten der Anreicherung der murinen Rickettsien in Nagetieren untersucht. Nachdem schon Formalinvakzine aus Tunica vaginalis von Meerschweinchen, einem Gewebe, in welchem die Rickettsia mooseri in Mengen bei der Infektion des Meerschweinchens auftritt, experimentell brauchbare Impfstoffe geliefert hatte, verbesserten sich den genannten Autoren die Immunisierungsergebnisse in dem Maß, in dem es ihnen gelang, die Quantität der Rickettsien im Impfstoff zu steigern. Ein Rickettsia mooseri-Impfstoff, der aus röntgengeschädigten Ratten, die in der Peritonealhöhle eine starke Vermehrung der Fleckfiebererreger zulassen, gewonnen wird, wurde mit Erfolg an Meerschweinchen und auch an Menschen in Mexiko verimpft (Parada und Varela, Veintemillas).

Diese positiven Ergebnisse, welche die grundsätzliche Eignung auch toten Rickettsienmaterials für die Erzeugung einer Immunität bekräftigen, berechtigen und verpflichten sogar, wie es auch von Zinsser mehrfach ausgedrückt wird, dazu, Impfstoffe aus abgetöteten Rickettsien zu suchen.

In geringer Abänderung der Technik von Zinsser haben wir einen solchen Rickettsia mooseri-Impfstoff aus Mäusen gewonnen, da bei Rattenbestrahlung und Infektion keine regelmäßigen Ergebnisse zu erzielen waren. Weiße Mäuse bekamen in einer Sitzung 900 r Röntgenstrahlen[1]). Die

1) Auch an dieser Stelle sprechen wir Herrn Prof. Rajewski (Direktor des Kaiser-Wilhelm-Institutes für Biophysik) für die Bereitwilligkeit, in seinem Institut die Bestrahlungen vornehmen zu lassen, und Herrn Dr. Dorneich für die Ausführung der Bestrahlungen unsern besten Dank aus.

Röntgenschädigung war nicht unbedingt erforderlich, sie erhöhte aber die Rickettsien-Ausbeute und ergab vor allem eine regelmäßige Rickettsien-Vermehrung. Anschließend an die Bestrahlung wurden die Tiere sofort infiziert und auf der Höhe der Krankheit kurz vor dem Absterben getötet. Nach Abziehen des Felles und Abbrennen der Bauchhaut wurden die Bauchdecken herausgenommen, in Petrischalen mit der Peritonealseite nach oben ausgebreitet und angefroren, wozu die Petrischalen in eine Azeton-CO_2-Schneemischung gehalten wurden. Das Peritoneum, welches als letzte Gewebeschicht friert und als erste auftaut, läßt sich danach gut abschaben. Das Geschabsel wird in physiologischer NaCl- bzw. Ringerlösung, die 0,2—0,5 % Formalin enthält, aufgenommen. Durch Zermahlen des Gewebes und fraktioniertes Zentrifugieren wird dann der Rickettsien-Impfstoff gewonnen und weiterverarbeitet. (Über die Ergebnisse der Immunitätsversuche mit diesen s. unten.)

Seit den erfolgreichen Versuchen von Clara Nigg und Landsteiner sowie anderen Autoren, die Rickettsien in vitro zu züchten, war es naheliegend, diese Technik für die Rickettsien-Impfstoffgewinnung nutzbar zu machen, da in Maitlandkulturen Rickettsien in genügenden Mengen angereichert werden konnten. Kligler und Aschner sowie Zinsser und Macchiavello berichten über gute Immunisierungserfolge bei Meerschweinchen mit gezüchtetem klassischem und murinem Virus, ferner neuerdings Zinsser, Fitzpatrick und Hsi Wei mit einem Impfstoff aus Rickettsien, die mit einer neuartigen Agargewebekulturmethodik gewonnen wurden.

Auswertung der Fleckfieberimpfstoffe.

Zur Auswertung der Fleckfieberimpfstoffe wurden zunächst Meerschweinchen immunisiert und auf Immunität geprüft. Dabei zeigte sich aber einmal, daß recht erhebliche Mengen Impfstoff, dessen Herstellung im Vergleich zu bakteriellen Impfstoffen immer noch schwierig ist, gebraucht wurden; zum andern ergab sich, daß selbst bei Verwendung größerer Tierzahlen und Wiederholung der Versuche nicht ganz eindeutige und vor allem nicht gut vergleichbare Resultate erhalten wurden, da bei diesen Tieren allein der Verlauf der Temperaturkurven Anhaltspunkte für den Immunisierungseffekt und den Infektionsverlauf lieferte.

Schon bei den üblichen Gehirn-Passagen (ip.-Inf.) zur Fortführung des Virus im Tier erhält man zeitweilig recht wenig überzeugende Temperaturkurven, die bei Steigerungen um 0,2° bis 0,4° über 39° C in typischer Zeit wohl den Zeitpunkt der Weiterführung des Stammes auf neue Versuchstiere angeben, die aber bei der Beurteilung von Immunisierungserfolgen unangenehme Zweifel für die Bedeutung der Ablesung bringen (vgl. die nachstehende Arbeit von R. Wohlrab). Dagegen läßt sich das Immunisierungsvermögen eines Impfstoffes aus murinem Virus nach unseren Erfahrungen an Mäusen sehr viel feiner und exakter ablesen. Allerdings kann bei

diesen Tieren nur mit murinem Fleckfieber als Infektion getestet werden, da die Mäuse auf Infektionen mit klassischem Fleckfieber nicht erkranken. Auf die Möglichkeit, auch das Mäuseexperiment zur Auswertung von Impfstoffen aus dem klassischen Virus zu verwenden, soll hier nicht näher eingegangen werden.

Die Fleckfieberinfektion der Laboratoriumsmäuse mit murinem Virus läßt sich bei genügender Tier- und Kontrollenzahl genau in ihrer Schwankungsbreite verfolgen und beurteilen. Zudem bietet sie den großen Vorteil des Auswertens auf eine eindeutige, vor aller Beobachtersubjektivität geschützten Entscheidung hin, nämlich auf den Tod oder das Überleben der Versuchstiere. Daneben kann aber noch durch die Beobachtung der klinischen Erkrankung bei genügender Erfahrung an einer entsprechend großen Tierzahl die Beurteilung verfeinert werden.

Bei unseren seit langen Jahren ausgeführten Chemotherapieversuchen hat sich an den einige Tausend zählenden Versuchstieren eine große Gleichartigkeit im Versuchsablauf und bei den großen Tierzahlen auch die Möglichkeit einer sicheren mathematischen Aufarbeitung ergeben.

Zur Beantwortung der Fragestellung, ob der in Untersuchung stehende Impfstoff immunisiert hat oder nicht, kommt die alternative oder qualitative Variationsberechnung in Betracht. Zunächst seien hier die Verhältnisse der unbeeinflußten, experimentellen Fleckfieberinfektion vorgelegt, wie sie sich uns in 15 verschiedenen Versuchsserien an jeweils 25 Kontrollmäusen zeigten.

Zur Infektionstechnik sei kurz folgendes bemerkt: Die gut im Gewicht übereinstimmenden Mäuse (von 13 bis 17 g) wurden zu zweien in Gläser gesetzt und so alternierend in der jeweiligen Versuchsserie infiziert, daß zwischen der Infektion der ersten beiden Mäuse eines Kollektives und der der letzten zwei höchstens 40 Minuten lagen, in welcher Zeit außer den Kontrollen die übrigen (uns hier nicht interessierenden), zu anderen Zwecken dienenden Mäuse nach dem bei uns in Frankfurt/Main gebräuchlichen Schema (vgl. W. Schäfer, diese Arbeiten Heft 32), mitinfiziert wurden. Das dort von W. Schäfer, gezeigte Schema der alternierenden Auswahl großer Tierreihen sei nochmals aufgeführt, da seine Wichtigkeit besonders beim Arbeiten mit Infektionsmaterial, das sich in vitro so schnell abschwächt, wie es Virusarten und Rickettsien, besonders in Grenzinfektionsdosen, nun einmal tun, ins Auge springt.

Das Behandlungsschema besteht darin, daß nicht die Tiere der einzelnen Versuchsreihen nacheinander, sondern schematisch wechselnd infiziert werden, wie die folgende Skizze zeigt:

1. Versuchsreihe	2. Versuchsreihe	3. Versuchsreihe	4. Versuchsreihe
1. Tier →	2. Tier →	3. Tier →	4. Tier → ↓
8. Tier ← ↓	7. Tier ←	6. Tier ←	5. Tier ←
9. Tier →	10. Tier →	11. Tier →	12. Tier → ↓

und so weiter.

Nur bei dieser einwandfreien Versuchsanordnung und schnellem Arbeiten sind vergleichbare Ergebnisse möglich.

Für die Infektion haben wir ein mexikanisches Virus von H. Mooser, welches der eine von uns (R. Otto) über H. Plotz, s. Zt. erhielt, benutzt. Jeder Maus wurde 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Mäusehirn-Emulsion in physiologischer NaCl-Lösung, also ein $^1/_{8000}$ Mäusehirn, ip. gegeben. Diese Dosis entspricht (je nach Jahreszeit und Virusgehalt des Gehirnes der Infektionsmaus) einer 10 bis 100fachen, ja in einzelnen Fällen einer mehr als 1000fachen Infektionsdosis. Zur Kontrolle des Infektionstiters wurden je 3 Mäuse, welche $^1/_{80000}$, $^1/_{800000}$ und $^1/_{80000000}$ Mäusegehirn ip. erhielten, mitinfiziert. Das Mäusegehirn wurde von Tieren, die am ersten Tage ihrer schweren Erkrankung standen, genommen. Abgesehen von der Beachtung der typischen Erkrankungszeit und des Sektionsbefundes wurde noch der Rickettsiennachweis in Peritonealabstrichen, nach Giemsa gefärbt, kontrolliert.

Tabelle I.

Kontrolltiere I (Kontrollen bei Chemotherapieversuchen).
Auswertung auf „Tot" (†). Infektionsdosis: 0,25 ccm Mäusegehirn-Emulsion $^1/_{2000}$ ip.

Versuch	†/25 [1])
I 146	12
152	16
160	16
170	14
182	12
188	18
II 2	13
12	21
24	16
44	21
54	18
54	22
70	19
80	17
118	23
Summe:	259/375

1) †/25 = Anzahl der eingegangenen Tiere des Kollektives zu 25 Tieren.

Von 375 Mäusen aus 15 verschiedenen Versuchsreihen gingen also 259 Tiere ein (in den einzelnen Kollektiven zwischen 12 und 23 schwankend).

Nimmt man an, daß $p = 100 \frac{259}{375} = 69{,}06\,\%$ die durchschnittliche Mortalität des benutzten Tiermaterials darstellt, dann ergibt sich nach der Formel für die mittlere Fehlerabweichung

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

die einfache mittlere Fehlerabweichung von $m = \pm\, 2{,}39\,\%$, die dreifache von $3\,m = \pm\, 7{,}16\,\%$. Bei Benutzung von 25er- bzw. 10er-Kollektiven sind die entsprechenden Zahlen der Schwankungsbreiten der für „tot" zu erwartenden Mäuse dann folgende:

Schwankungsbreite der tödlichen Infektion:

	1 m	2 m	3 m
	± 2,31	± 4,62	± 6,93 Mäuse
n = 25 Mäuse, p_0 = 69,07 % = 17,27 Mäuse	↗von 14,96 ↘bis 19,58	↗ 12,55 ↘21,89	↗10,34 Mäusen ↘24,20 Mäusen
	1 m	2 m	3 m
	± 1,46	± 2,92	± 4,38 Mäuse
n = 10 Mäuse, p_0 = 69,07 % = 6,91 Mäuse	↗von 5,45 ↘bis 8,37	↗ 3,99 ↘ 9,83	↗ 2,53 Mäuse ↘10,00 Mäuse

Wenn wir die Zahlen der zweifach oder dreifach gesicherten Schwankungsbreite in der Reihe mit n = 25 Tieren mit der obigen Tabelle vergleichen, so zeigt sich eine gute Übereinstimmung, die noch durch den Ausfall der über 100 negativen Chemotherapieversuchsreihen belegt werden kann. Hieraus läßt sich folgern, daß, eine immer gleiche Versuchstechnik vorausgesetzt, die Fleckfieberinfektion der Mäuse mit unserem Virus als Testinfektion in genügend engen Versuchsgrenzen reproduzierbar ist. Nur ein einziges Mal bewegte sich die Mäuseinfektion einer großen Tierreihe außerhalb dieser Grenzen. Diesen Versuch haben wir ausgelassen, da sich in jener Zeit Juni—Juli 1938 die mittleren Tagestemperaturen außerhalb gewöhnlicher Grenzen bewegten, und der überstarke Einfluß des Wetters auf den Versuchsausfall außer Zweifel stand.

Über den Grad der Immunität, der nach einer experimentellen Fleckfieber-Infektion bei den überlebenden Mäusen zu erwarten ist, und den man bei Immunisierung mit einem Impfstoff aus toten Rickettsien billigerweise nicht zu übertreffen erwartet, geben Reinfektionsversuche an Mäusen, die 4 Wochen vorher eine Fleckfieber-Infektion überstanden hatten, Aufschluß. Bekanntlich hinterläßt diese Infektion bei den Tieren eine gute Immunität. In der Tat waren von 37 Mäusen, die eine erste Fleckfieberinfektion, bei der sie inapparent bis schwerkrank reagierten, überlebt hatten, alle bis auf zwei gegen eine 4 Wochen später folgende Zweitinfektion immun. Von den 2 Ausnahmen wurde eine in typischer Zeit schwerkrank, die andere ging in typischer Zeit ein. Es ist also auch zu erwarten, daß einzelne Mäuse vorkommen werden, die trotz der Güte eines Impfstoffes keine erfolgreiche Immunität entwickeln.

Vorbemerkungen zu den Immunisierungsversuchen (Tabellen II—VIII).

Aus röntgenbestrahlten Mäusen (nach der oben beschriebenen Technik) hergestellte Impfstoffe wurden in mehrfachen Versuchen an Mäusen und auch an Meerschweinchen ausgewertet; außerdem wurden noch ein aus röntgengeschädigten Ratten hergestellter Impfstoff sowie verschiedene kulturell hergestellte Impfstoffe geprüft.

I. Immunisierungsversuche mit Rickettsien-Impfstoffen aus Mäuseperitoneum.

In Tabelle II und III sind unsere Mäuseversuche mit Rickettsien-Impfstoffen, die durch Anreicherung im Versuchstier gewonnen wurden, zusammengestellt. Die verschiedenen Impfstoffpartien unterscheiden sich untereinander nicht wesentlich in ihrer Anfertigung. Die Technik der Rikkettsien- und Impfstoffgewinnung ist oben beschrieben (S. 66). Bezüglich Infektionstechnik siehe S. 68 und weiter S. 73. Über den Impfstoff 12b siehe Näheres Tabelle IX (s. Tabelle II, S. 72).

Wenn eine Zusammenfassung trotz einigen uns wohlbewußten Ungleichheiten[1]) in der Versuchsausführung, die aber nicht so groß sind, um das Endergebnis zu verfälschen, erlaubt ist, so ergeben sich die Zahlenverhältnisse der Tabelle III (S. 73).

Aus der Tabelle III ist die Wirkung der geprüften Impfstoffe so eindeutig abzulesen, daß eine besondere variationsstatistische Kritik nicht notwendig wird. Doch sei nachfolgend der von uns sogenannte „Sicherheitsfaktor" der mittleren Fehler der Differenzen ausgerechnet, um mit dieser Zahl eine Möglichkeit zu gewinnen, Vergleiche mit anderen Versuchsreihen ähnlicher Art anzustellen. Vgl. die Besprechung der Befunde S. 80 ff.

Die Berechnung des mittleren Fehlers der Differenz wurde nach der von Erna Weber angegebenen Formel

$$m_{Diff.} = \sqrt{\frac{P\,(100-P)\,(n_1+n_2)}{n_1\,n_2}}$$

ausgeführt. Bezeichnet man mit P_1 und P_2 die Prozentsätze der zu vergleichenden Versuchsergebnisse beider Reihen, so stellen P den Prozentsatz der Summe beider Versuchsergebnisse, und n_1 und n_2 die Tierzahlen in den beiden Versuchsreihen dar.

Auf „†" ausgewertet würden die Zahlen der Tabelle III folgende Rechnung ergeben:

Immunisierte und infizierte Mäuse:

$$\frac{9}{123} = 7{,}32\,\% = P_1 \qquad P = \frac{9+38}{123+65} = \frac{47}{188} = 25\%$$

Kontrolltiere:

$$\frac{38}{65} = 58{,}46\,\% = P_2$$

Differenz: $P_2 - P_1 = 51{,}14$.

$$m_{Diff.} = \sqrt{\frac{25 \cdot 75 \cdot 188}{123 \cdot 65}} = 6{,}64.$$

Die Häufigkeit, mit welcher der mittlere Fehler der Differenz in dieser enthalten ist, kann als Sicherheitsfaktor bezeichnet werden, da die Größe dieses Faktors die

1) Z. B. Schwanken des Tierzahlenverhältnisses von Versuchstieren zu Kontrollen zwischen 4:1 und 7:5, ungleiche Infektionsdosen und -zeiten.

Tabelle II.

Auswertung von formalinisierten Mäuseperitoneal-Impfstoffen mit mikroskopisch reichlich nachweisbarem Rickettsiengehalt[1]) (Mäuseversuche). Infektion mit homologem, murinem Virus.

Bezeichnung der einzelnen Impfstoffe	Impfstoff (I.St.): Applikation und Dosen je Maus	Zahl, Infektion und Infektionsverlauf bei den immunisierten Tieren	Zahl und Befunde[2]) der Kontrolltiere
1, 3a, 3b	3mal mit 5 Tagen Abstand sk.; insgesamt I.St.-Menge = Abschwemmung von 1 Maus	31 Tage später geprüft mit 0,25 ccm $^1/_{15}$ Mäusehirn[3]) ip. 9 8 immun 1 krank in typ. Zeit	2 1 † 1 krank
4 (ungereinigter bzw. frakt. zentrifugierter Impfstoff)	2mal mit 5 Tagen Abstand sk.; insgesamt I.St.-Menge = Abschwemmung von 1 Maus	63 Tage später geprüft mit 0,25 ccm $^1/_{15}$ Msehirn ip. 7 7 immun	3 1 † 1 schwer krank 1 leicht krank
9 (grob gereinigt)	3mal mit 5 Tagen Abstand sk.; insgesamt I.St.-Menge = Abschwemmung von ½ Maus	58 Tage später geprüft mit 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Msehirn ip. (10 bis 100fache Inf.-Dosis) 46 43 immun 3 † in typ. Zeit (Ri. +++)	25 15 † 4 schwer krank 6 leicht krank bzw. glatt
10 (gereinigt, 4000 Touren-Sediment)	2mal mit 5 Tagen Abstand sk.; insgesamt I.St.-Menge = Abschwemmung von ½ Maus	33 Tage später geprüft mit 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Msehirn ip. (100 bis 1000-fache Inf.-Dosis) 37 31 immun 4 † in typ. Zeit 1 † verspätet 1 schwer krank in typ. Zeit	25 13 † 3 schwer krank 9 leicht krank bzw. glatt
12a (4000 Touren-Sediment)	2mal 0,1 ccm und 1mal 0,2 ccm in 5 Tage Abstand sk.; insgesamt I.-St.-Menge = Abschwemmung von 4 Mäusen	65 Tage später geprüft mit 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Msehirn ip. 8 8 immun	10 8 † 1 schwer krank 1 leicht krank
12b (Überstand von 12a, Rikkettsien nicht nachweisbar)	2mal 0,1 ccm und 1mal 0,2 ccm in 5 Tage Abstand sk.; insgesamt I.-St.-Menge = Abschwemmung von ¾ Maus	65 Tage später geprüft, Infektion wie 12a 8 8 immun	,,
Rattenperitonealimpfstoff 1 (wenig Rikkettsien enthaltend)	2mal 0,1 ccm und 1mal 0,2 ccm in 5 Tage Abstand sk; insgesamt I.-St.-Menge = von $^1/_6$ Ratte	65 Tage später geprüft, Infektion wie 12a 8 7 immun 1 † in typ. Zeit (Ri. +++)	,,

1) Ausgenommen Impfstoff 12b und der Rattenimpfstoff.
2) Wenn nichts anderes bemerkt ist, erfolgt Tod und Erkrankung in der typischen Zeit.
3) Msehirn = Mäusegehirn-Emulsion, $^1/_{15}$ = 1 Gehirn auf 15 ccm NaCl-Lösung.

Tabelle III.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse aus Tabelle II.

Immunisiert und infiziert	Infektionskontrollen
123 Mäuse, davon glatt = 112 = 91,1 % schwer krank = 2 = 1,6 % † = 9 = 7,3 % } 8,94 %	65 Mäuse, davon glatt = 17 = 26,1 % schwer krank = 10 = 15,4 % † = 38 = 58,5 % } 73,85 %

Höhe der Versuchssicherheit direkt aussagt, besser als absolute Zahlen, obendrein, weil ein Bezug auf die Höhe der Tierzahlen der Versuche eingerechnet ist.

$$\text{Sicherheitsfaktor} = \frac{\text{Differenz}}{m_{\text{Diff.}}} = 7{,}7.$$

7,7fach ist also der mittlere Fehler der Differenz in dieser enthalten, ein Ergebnis, das recht erheblich die für biologische Versuche als ausreichend betrachtete Sicherheit von 3 überschreitet. Die entsprechende Zahl für die zusammengefaßten † und Schwerkranken der Tabelle III beträgt 9,12.

Diese hohen Sicherheiten erklären sich natürlich auch aus der Höhe der zusammengefaßten Versuchstierzahlen. Im Einzelversuch ist die Sicherheit kleiner, erst die Zusammenfassung vieler gleichsinnigen Versuche mit geringer Tierzahl erhöht die Wahrscheinlichkeit.

Ein Versuch (mit Impfstoff 10) sei in Technik und Ergebnis im einzelnen besprochen, wobei zum Vergleich die Beobachtung des Gesundheitszustandes am 9. Tag (post inf.) der 25 Infektionskontrollmäuse und der 37 immunisierten und dann infizierten Mäuse vorgelegt ist (s. Tabelle IV, S. 74).

Die Infektion wurde mit 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Mäusehirn ip. ausgeführt. Der Hergang der Infektion erfolgte so, daß das Kontrollkollektiv und die immunisierten Mäuse und außerdem noch 7 Kollektive zu je 25 Tieren für Chemotherapieversuche völlig gleichmäßig infiziert wurden, wie es auf S. 68 beschrieben ist. Der 9. Tag post inf. bedeutete bei diesem Versuchsansatz den 3. Tag der Erkrankung in allen Kollektiven.

Von den +++ (= schwer) kranken Kontrollmäusen waren in den nächsten 2 Tagen alle 8 tot, von den immunisierten Tieren ging nur am 14. Tag post inf. noch eine Maus ein. Bei den Kontrollen erschienen nur 2 + 6 von 25 Tieren als gesund bzw. gering krankheitsverdächtig (—/+) während bei den Immunisierten 34 von 37 gesund blieben.

Rechnet man für diesen Beobachtungstag nach der Weberschen Formel den mittleren Fehler der Differenz aus, so ergibt sich, daß dieser 5,62fach in der Differenz enthalten ist. Wird nach der gleichen Differenzrechnung die Sicherheit des Beobachtungswertes allein der †-Zahlen des abgeschlossenen Versuches (s. Tab. II) berechnet, so ergibt sich, daß der mittlere Fehler dieser Beobachtung 3,3fach in der Differenz enthalten ist. Auch die Sicherheit dieser Beobachtung der Immunisierungswirkung ist schon sehr groß.

Wir sehen also, daß bei der Beobachtung des klinischen Verlaufes mehr als bei der etwas groben, dafür allerdings um so eindeutiger zu beobachtenden

Tabelle IV.

Gesundheitszustand[1]) der mit Impfstoff 10 immunisierten Tiere und der Kontrollmäuse am 9. Tag post inf.

Tier No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Kontrolltiere	—	+++	+++	++	++	+	++	+	+	+	†	+	+	+++	—	+++
Versuchstiere	—	—	†	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tier No.	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30 bis 37 (einschl.)
Kontrolltiere	++	†	+++	++	†	+++	+++	+++	+++	.	.	.	.	. . . . .
Versuchstiere	—	—	†	—	†	—	—	—	—	—	—	—	—	alle —

1) In der folgenden Tabelle bedeutet:
— = immer glatt oder nicht krank.
+ = leicht krank; dies ist bei einer Auswertung nicht zu beachten, weil es nie genau abzugrenzen ist und nur eine Hilfsbeobachtung darstellt, die erst ihren Wert erhält bei einem Vergleich vieler Tiere nebeneinander und an den sich folgenden Beobachtungstagen, wenn der Zustand unsicherer Gesundheitsbeurteilung in der typischen Erkrankungszeit als Korrelat zu schwerer Erkrankung bei Infektionsgeschwistern auftritt.
++ = krank d. i. gesträubtes Fell und dadurch aufgetrieben erscheinendes Abdomen, Freßunlust.
+++ = bedeutet schwerkrank, dabei treten zum vorbeschriebenen Zustand noch tonisch-klonische Krämpfe (Zittern), Bewegungsarmut oder -unmöglichkeit, Ascites, eventuell Konjunktivitis und oft Durchfälle hinzu.
† = tot.

Auswertung auf Leben oder Tod der Versuchstiere ein noch stärkerer Eindruck von der Wirksamkeit eines Impfstoffes entsteht. Natürlich ist uns die Subjektivität einer Krankheitsbewertung von Versuchstieren nach den klinischen Symptomen bewußt, aber erstens handelt es sich um Vergleichsbeobachtungen an gleichen Tagen in großen (250) Tierreihen, und zweitens werden diese Beobachtungen an fortlaufenden Tagen der experimentell erzeugten Krankheit erhoben, so daß auch durch die Art des Ablaufes der Krankheit beim Einzeltier die Möglichkeit einer Kontrolle durch den Beobachter besteht. Wie gesagt, ist dieses in Ausführlichkeit gegebene Protokoll nur eine zusätzliche, nicht durchaus erforderliche Bestärkung des Versuchsergebnisses bei alleiniger Berücksichtigung der Toten.

Die Immunisationswirkung war bei Impfstoff 10 (übrigens auch bei Impfstoff 9) besonders stark, so daß fast alle Tiere hochgradig geschützt waren und nicht einmal eine geringe klinische Erkrankung zeigten, abgesehen von einzelnen Mäusen, die überhaupt keinen Schutz oder keine Resistenz aufwiesen und extrem mit „†“ reagierten. Bei den geringer wirksamen Impfstoffen, vor allem bei denen aus Züchtungs-Rickettsien, die in Tabelle VII aufgeführt werden, ist der Unterschied im Infektionsverlauf

zwischen immunisierten und Kontrollen nur ein gradueller, während die Infektionsreaktion bei immunisierten und Kontrolltieren im erwähnten Falle deutlich verschieden ist.

Prigge hat bei einem anscheinend ähnlichen Phänomen bei der Intoxikation mit Diphtheriegift die Abhängigkeit des Phänomens von der Höhe der Intoxikationsdosis (12 dl_{100}) einleuchtend erklärt. Ob diese Erklärung auch für unsere Versuche, bei denen es sich um eine Infektion handelt, die zudem nie in 100 % angeht, herangezogen werden kann, bleibt fraglich.

Mit dem murinen Fleckfiebervirus, der Rickettsia mooseri, erkranken auch Meerschweinchen, und zwar mit einer typischen, oft unregelmäßig verlaufenden Fieberreaktion, die nach einer Inkubationszeit von 6—10 Tagen je nach Infektionsdosis auftritt und über 40° ansteigend mehrere Tage anhält. Während dieser Zeit tritt auch eine Periorchitis auf, die in der Regel das klinische Symptom einer Hodenschwellung und die Fixation des Hodens außerhalb der Bauchhöhle verursacht (Neill-Moosersche Reaktion). Auf die Schwierigkeiten, welche die Benutzung von Meerschweinchenversuchen bei Fleckfieberimmunitätsstudien bereitet, wurde bereits hingewiesen. In Tabelle V sind unsere Meerschweinchenversuche mit den gleichen Impfstoffen protokolliert, wie wir sie in Tabelle II an Mäusen vorführten. Es handelt sich um eine Prüfung der homologen Immunität, also gegen das mexikanische Virus.

Tabelle V.

Auswertung der Wirkung von formalinisierten Mäuseperitoneal-Impfstoffen mit mikroskopisch reichlich nachweisbarem Rickettsiengehalt an Meerschweinchen (Mee.) gegen homologe Fleckfieberinfektion (mexikanisches Virus).

Bezeichnung der einzelnen Impfstoffe	Impfstoff: Applikation und Dosen je Mee.	Zahl, Infektion und Infektionsverlauf bei den immunisierten Tieren	Zahl und Befund der Kontrolltiere
Mäuseperitonealimpfstoff	3mal mit 5 Tage Abstand sk.; insgesamt Abschwemmung von 3—4 Mäusen je Mee.	30—70 Tage später geprüft mit 0,5 ccm $^1/_{15}$—$^1/_{50}$ mexikan. Mee.-Hirnvirus ip. 31 14 immun (kein Fieber) 17 nicht immun (Fieber)	11 1 kein Fieber 10 Fieber
Mäuse- bzw. Rattenperitonealimpfstoff	3mal mit 5 Tage Abstand sk.; insgesamt Abschwemmung von 5—10 Mäusen bzw. $^2/_3$ Ratte je Mee.	67 Tage später geprüft mit 0,5 ccm $^1/_{500}$ mexikan. Mee.-Hirnvirus ip. 10 8 immun (kein Fieber) 2 nicht immun (Fieber)	4 4 Fieber
Summe		41 22 immun (kein Fieber) 19 nicht immun (Fieber)	15 1 kein Fieber 14 Fieber

Die mathematische Sicherheit dieses Ergebnisses ist nicht ganz so groß wie die der Mäuseversuche. Nach der WEBERschen Formel berechnet übertrifft die Differenz der beiden Ergebnisse, $\frac{22}{41} = 53{,}66$ % und $\frac{1}{15} = 6{,}66$ % negativer Temperaturkurven, ihren mittleren Fehler um das 3,17fache, womit immerhin eine sehr gute Sicherung erreicht ist. Dazu ist noch zu bemerken, daß bei der Beurteilung der Temperaturerhöhungen streng vorgegangen wurde. In der Abteilung „positiv immun", also negative Fieberkurven, sind die Kurven mit verlängerter Inkubationszeit nicht mitgezählt, ebenso ist darauf Rücksicht genommen, daß die Temperaturerhöhung beim immunisierten Tiere wenn überhaupt, dann gewöhnlich weit geringer ist als die bei den Kontrolltieren und auch weniger lange anhält. Auch der Meerschweinchenversuch zeigt also die Wirksamkeit der mit Formalin abgetöteten Peritonealrickettsien-Impfstoffe gegen eine Infektion mit homologem (also mexikanischem) Virus, wie das schon von ZINSSER und seinen Mitarbeitern CASTANEDA und MACCHIAVELLO angegeben wurde.

An Meerschweinchen ist es weiterhin möglich, den Impfschutz der murinen Impfstoffe auch gegen das heterologe, klassische Virus, die Rickettsia Prowazeki, zu prüfen. Das klassische Virus

Tabelle VI.

Auswertung der Wirkung von formalinisierten Mäuseperitoneal-Impfstoffen an Meerschweinchen gegen heterologe Fleckfieberinfektion (klassisches Virus).

Bezeichnung der einzelnen Impfstoffe	Impfstoff: Applikation und Dosen je Mee.	Zahl der Versuchstiere und Art der Infektion	Ergebnis der Immunitätsprüfungen	Zahl und Befund der Kontrolltiere
12a und Ra I	3mal mit 5 Tagen Abstand sk. insgesamt Abschwemmung von 5—10 Mäusen bzw. $^2/_3$ Ratte	5 Meerschweinchen mit $^1/_{1000}$[1]) Mee.-Hirn ip. Virus Pr II (Weigl, Lemberg)	Mee 1141 ab 16. d. p. i.[2]) geringes, aber deutliches, über 5 Tage sich erstreckendes Fieber Mee 114 2ab 13. d. p. i. 2-tägiges Fieber Mee 1143 ab 12. d. p. i. typisches Fieber Mee 1152 kein Fieber Mee 1153 „ „	5 Meerschweinchen: Mee 249 ab 9. d. p. i. typ. Fieber Mee 250 ab 9. d. p. i. typ. Fieber Mee 251 ab 7. d. p. i. mäßiges Fieber Mee 252 ab 9. d. p. i. typ. Fieber Mee 253 ab 9. d. p. i. typ. Fieber
9/10 und 12b	3mal mit 5 Tagen Abstand sk. insgesamt Abschwemmung von 3 Mäusen	4 Meerschweinchen mit $^1/_{100}$[3]) Mee.-Hirn ip. Virus ZW IV (Weigl, Lemberg)	Mee 278 ab 9. d. p. i. typisches Fieber Mee 284 ab 9. d. p. i. typisches Fieber Mee 285 ab 9. d. p. i. typisches Fieber Mee 287 ab 9. d. p. i. typisches Fieber	3 Meerschweinchen: Mee 38 ab 6. d. p. i. typ. Fieber Mee 39 ab 7. d. p. i. typ. Fieber Mee 40 ab 8. d. p. i. typ. Fieber

1) 0,5 ccm $^1/_{500}$ Geh.-Em. 2) d. p. i. = dies post infectionem. 3) 0,5 ccm $^1/_{50}$ Geh.-Em.

erzeugt eine regelmäßigere und vielleicht anhaltendere Temperaturerhöhung. Die Infektion ist aber fast nie von einer Periorchitis begleitet. Beide Infektionen hinterlassen nach den vorliegenden Erfahrungen eine gekreuzte Immunität gegeneinander, wobei die Infektion mit klassischem Virus die bessere Immunität verleiht. Einen gewissen Grad von Kreuzimmunität scheint nach den Ergebnissen von ZINSSER auch ein toter muriner Impfstoff zu geben. Unsere Befunde erlauben zwar nicht, das eindeutig festzustellen, jedoch geben sie und besonders die Ergebnisse mit Impfstoffen aus Hühnereiern (noch nicht abgeschlossene Versuche) diesem Eindruck Raum (s. Tabelle VI, S. 76).

Obgleich also ein völliger Impfschutz mit murinem Rickettsien-Impfstoff beim Meerschweinchen nicht erreicht wird, wird man, ohne zu strenge Kritik gegenüber der geringen Tierzahl und den unbefriedigenden Symptomen, wie es eine mäßige Verlängerung von Inkubationszeiten und eine gleichzeitige, leichte Fieberverkürzung oder nur eines von beiden darstellen, doch den Eindruck haben, daß eine immunisatorische Wirkung beim ersten Impfstoff in gewissen Grenzen erreicht ist, wobei die geringere Infektionsdosis eine Rolle gespielt haben mag: 5 typisch reagierende Kontrollen gegenüber 5 Meerschweinchen, von denen 2 gesund bleiben und 3 fiebern, wobei die Inkubationszeit um ¾ bis das Doppelte verlängert ist.

Weitere Versuche über die heterologe Immunität zwischen murinem und klassischem Fleckfiebervirus sind im Gange.

II. Immunisierungsversuche mit Impfstoffen, die aus Rickettsien-Züchtungen in vitro gewonnen wurden.

Der umständlichen Rickettsien-Gewinnung aus Anreicherungsverfahren im Tierversuch, wobei immerhin noch das schwierige Arbeiten mit größerer personeller Gefährdung verbunden ist, steht die Rickettsien-Züchtung vor allem in Maitland-Kulturen gegenüber.

Wir züchten nach der Methode von NIGG und LANDSTEINER, die von ZINSSER und MACCHIAVELLO der Züchtung im großen angepaßt wurde. Leider haben wir bislang regelmäßiges Wachstum nur beim murinen Fleckfiebervirus, der Rickettsia mooseri, erhalten.

Um die Impfstoffe herzustellen, werden die Züchtungskolben mit reichlichem Rickettsiengehalt, geprüft an Giemsaausstrichen, mit Formalin so versetzt, daß eine 0,2 bis 0,5proz. Formalinkonzentration entsteht. Dann wird die Gesamtkultur zunächst durch Zentrifugieren konzentriert. Die Rickettsien wachsen auch in vitro nur intrazellulär, so daß sie also mit den Gewebsfragmenten zum großen Teil ausgeschleudert werden, soweit nicht die Zellen vorher zugrunde gegangen sind. Es müssen daher die Gewebebröckel zerrieben und in der abgeschleuderten Züchtungsmediummenge entsprechenden physiologischen Kochsalzlösung aufgeschwemmt

werden. Mäuse und Meerschweinchen wurden in gleicher Art wie bei den vorbesprochenen Impfstoffen immunisiert; sie erhielten also 2mal mit 5 Tagen Abstand eine bestimmte gleiche Menge sk. und das 3. Mal, nach weiteren 5 Tagen, die doppelte Dosis sk.. Quantitative Unterschiede des Rickettsiengehaltes der einzelnen Impfstoffe bestehen sicher, doch sind sie z. B. durch Auszählen oder durch Auswägen wegen der wechselnde Menge des Nährgewebes kaum zu erfassen. Tabelle VII zeigt die einzelnen

Tabelle VII.

Auswertung der Wirkung von formalinisiertem Maitlandzüchtungsmaterial von Rickettsia mooseri gegen die Infektion mit mexikanischem (bzw. tunesischem) Virus.

Bezeichnung der einzelnen Impfstoffe	Impfstoff: Applikation und Dosen je Maus	Zahl, Infektion und Infektionsverlauf bei den immunisierten Tieren	Zahl und Befunde der Kontrolltiere
Zü 1 (Ri ++)	3mal 0,5 ccm sk. mit 5 Tagen Abstand	65 Tage später mit 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Mäusehirnemulsion ip. 10 6 immun 1 schwerkrank 1 †	10 1 glatt 1 schwerkrank 8 †
Zü 2 (Ri +)	dgl.	30 Tage später mit 0,25 ccm $^1/_{125}$ Mäusehirn-Emulsion ip. 6 6 †	7 7 †
Zü Tunis Virus I	dgl.	Infiziert wie vorige 7 4 immun 3 †	„
Zü 3a (Ri +++)	dgl.	25 Tage später mit 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Mäusehirnemulsion ip. (100fache Infektionsdosis) 27 7 immun 5 schwerkrank 15 †	24 4 glatt 3 schwerkrank 17 †
Zü 3a mit normalem Mäuse-Eiweiß	dgl.	Infiziert wie vorige 28 12 immun 2 schwerkrank 14 †	nur mit Normalmäuse-Eiweiß vorbehandelt, analog den immunisierten Mäusen 26 3 glatt 6 schwerkrank 17 †
Zü 3b, Kulturflüssigkeit von 3a filtriert (Berkefeld N)	dgl.	Infiziert wie vorige 27 9 immun 3 schwerkrank 15 †	wie die vorstehenden Kontrollreihen
Zü 4 (Ri?)	dgl.	Infiziert wie vorige 23 10 immun 2 schwerkrank 11 †	dgl.
Summe:		128 48 glatt = 37,5 % 13 +++ = 10,2 % } 62,5 % 67 † = 52,3 %	67 8 glatt = 11,9% 10 +++ = 14,9% } 88,1 % 49 † = 73,2%

Versuche. Wenn im Gesamtergebnis die Unterschiede zwischen den Kontrollen und der Immunitätsreihe wenig auffällig erscheinen, so ergibt eine ausführliche Versuchsprotokollierung doch die einheitlich in 6 von 7 Versuchen erscheinende Beeinflussung im Sinne einer gewissen immunisierenden Wirksamkeit der Impfstoffe wieder.

Die in den einzelnen Versuchen recht geringe Sicherheit des jeweiligen Ergebnisses wird natürlich in der Zusammenfassung aller Versuche mit den ansteigenden Tierzahlen größer und beträgt auf die gesund gebliebenen Tiere in beiden Reihen (immunisierte Mäuse: 48 glatt von 128, Kontrollen 8 glatt auf 67) bezogen nach der Weberschen Differenzberechnung, das 3,75fache des mittleren Fehlers der Differenz. Dies ist aber eine genügend hohe Wahrscheinlichkeit dafür, daß die zur Berechnung gelangenden Ergebnisse nicht völlig gleichen Versuchsbedingungen entsprochen haben. Von den 7 Versuchen zeigen 6 die gleiche Tendenz.

Die Zusammenfassung ist auch erlaubt hinsichtlich des Verhältnisses der Tierzahlen der beiden Reihen zueinander im Einzel- wie im Gesamt-

Tabelle VIII.

Auswertung der Wirkung von formalinisierten Maitlandzüchtungsimpfstoffen (Rickettsia mooseri des mexikanischen bzw. tunesischen Fiebers) an Meerschweinchen gegen die Infektion a) mit homologem (murinem) und b) heterologem (klassischem) Virus.

Bezeichnung der Impfstoffe	Art der Immunisierung	Infiziert	Ergebnis der Prüfung	Zahl und Befund der Kontrolltiere
a) mit murinem Virus				
Zü 1 (Ri ++)	3mal 0,5 ccm mit 5 Tagen Abstand sk.	Nach 67 Tagen 0,5 ccm $^1/_{500}$ Mee.-Hirn-Emulsion ip.	2 Meerschweinchen: Mee. 1157 immun „ 1158 immun?	5 Meerschweinchen: 4 Mee. typ. Fieber 1 „ atyp. Fieber
Zü Tunis I	dgl.	nach 30 Tagen 0,5 ccm $^1/_{50}$ Mee.-Hirn-Emulsion ip.	3 Meerschweinchen: Mee. 296 13. d. p. i. Fieber „ 297 immun „ 300 immun?	5 Meerschweinchen: 4 Mee. mäßiges Fieber 1 „ kein Fieber
b) mit klassischem Virus				
Zü 1	dgl.	nach 67 Tagen 0,5 ccm $^1/_{500}$ Mee.-Hirn-Emulsion ip.	3 Meerschweinchen: Mee. 1154 13. d. p. i. typ. Fieber „ 1155 9. d. p. i. typ. Fieber „ 1156 14. d. p. i. typ. Fieber	5 Meerschweinchen: 4 Mee. 9. d. p. i. typ. Fieber 1 „ 7. d. p. i. typ. Fieber
Zü Tunis I	dgl.	Nach 32 Tagen 0,5 ccm $^1/_{50}$ Mee.-Hirn-Emulsion ip.	2 Meerschweinchen: Mee. 295 9. d. p. i. typ. Fieber „ 298 10. d. p. i. typ. Fieber	3 Meerschweinchen: Mee. 38 6. d. p. i. typ. Fieber „ 39 7. d. p. i. typ. Fieber „ 40 8. d. p. i. typ. Fieber

versuch. Es beträgt beide Male ungefähr 2:1. Zu den 24 Infektionskontrollen der letztaufgeführten 4 Immunisierungsreihen haben wir noch weitere, als spezielle Kontrollen zu dem Versuch „Zü 3 a und normales Mäuseeiweiß“ hinzugefügte 26 Kontrollmäuse dazugenommen, die zur selben Zeit genau gleich, aber ohne den spezifischen Impfstoff „Zü 3 a“, vorbehandelt worden waren.

Die Sicherheitsfaktoren (s. Erklärung zu Tabelle III) für die „†-Zahlen“ und die für „† und +++“ der Tabelle VII betragen 2,81 bzw. 3,74, womit auch noch eine recht gute Sicherheit dafür garantiert ist, daß die Impfstoffe eine nachweisbare Wirkung besitzen.

Die mit Meerschweinchen durchgeführten Prüfungen des Züchtungsimpfstoffes können wegen zu geringer Tierzahl für sich allein nichts aussagen, im Zusammenhang mit dem Ergebnis der Mäuseversuche betrachtet, mögen sie aber ebenfalls für eine gewisse Immunisierungswirkung der Impfstoffe zeugen. Aus diesem Grunde seien als zusätzliche Unterstützung der Ergebnisse von Tabelle VII die Protokolle der Meerschweinchen-Immunsierungen in Tabelle VIII (S. 79) angefügt.

Besprechung der Befunde.

Auf verschiedene Weise wurden mit murinem Fleckfiebervirus (Rikkettsia mooseri) Impfstoffe hergestellt, einmal aus im Tierversuch angereicherten Rickettsien und zum anderen aus Kulturrickettsien.

Vergleicht man die Wirkung der beiden Impfstoffarten im Mäuseversuch miteinander, so fällt ohne weiteres auf, daß die Mäuseperitoneal-Rickettsien-Impfstoffe eine bedeutend stärkere immunisatorische Fähigkeit entwickeln als die Züchtungsimpfstoffe. Die Zusammenfassungen geben bei der ersten Art 91 % geschützte Tiere gegen 26 % resistente Kontrollmäuse, während bei der zweiten Art 37,5 % gegen allerdings auch nur 11,9 % der Kontrollen stehen. Das unterschiedliche Verhalten der Kontrollen in diesen Zusammenfassungen zeigt uns aber, daß das Vergleichen verschiedener Infektionsversuche sehr vorsichtig zu geschehen hat, und daß dabei die von Zeit zu Zeit schwankende Infektionskraft der Mäusegehirne zu berücksichtigen bleibt. Abgesehen von dem großen Einfluß schon recht kleiner Ungleichheiten in der Technik (z. B. Zeitdauer der Virusinjektion und Temperatur des Infektionsmaterials), bleiben noch die Unterschiede des Fieberablaufes in den verschiedenen Jahreszeiten zu beachten, wobei im Sommer der Infektionsausfall recht bedeutend von der Norm, die vorn beschrieben, abweichen kann, was sich aber an den Infektionskontrollen feststellen läßt.

Ein korrektes Vergleichen der Schwankungen in der Immunisierungsfähigkeit von nicht allzu groben Unterschieden des Immunisierungsvermögens von Impfstoffen ist aber immer abhängig von der Kontrolle gegen einen stabilen Standard-Impfstoff, der uns bislang noch fehlt. Trotzdem

ist wohl aus dem Vergleiche aller Immunisierungen mit Mäuseperitoneal-Rickettsien-Impfstoffen an Mäusen und Meerschweinchen mit denen mit Züchtungs-Rickettsien-Impfstoffen an Mäusen und Meerschweinchen zu ersehen, daß erstere die größere Immunisierungsfähigkeit haben. Hier mögen auch die bei den einzelnen Tabellenbesprechungen angegebenen Sicherheitsfaktoren der Ergebnisse folgen, bei denen schon die störenden Unterschiede der Versuchsbedingungen bei den einzelnen Infektionsversuchen ausgeschaltet sind. Die Sicherheitsfaktoren ermöglichen, da ihre Unterschiede recht erheblich sind, eine kritische Beurteilung.

Die Sicherheitsfaktoren, die angeben, wie oft der mittlere Fehler der Differenz zweier Versuchsergebnisse (Immunisierungsreihe und Infektionskontrollen) in dieser Differenz enthalten ist, betragen:

	a) Mäuseperitoneal-Rickettsien-Impfstoffe		b) Züchtungs-Rickettsien-Impfstoffe
	Tabelle III Mäuseversuche	Tabelle V Meerschweinchen-versuche[1])	Tabelle VII Mäuseversuche
Auf † ausgewertet	7,70	3,17[1])	2,81
Auf † und schwerkrank ausgewertet	9,12		3,74

1) Sicherheit der Differenz der Anzahl negativer Temperaturkurven bei immunisierten Tieren und Infektionskontrollen.

Wahrscheinlich wird dieser Unterschied in der Menge der in den Impfstoffen vorhandenen und zur Wirkung kommenden Rickettsien begründet sein.

Bei dieser Gelegenheit sei noch auf die Eigenschaft der Rickettsien, in physiologischen NaCl- und Ringerlösungen und wohl auch in den Kulturmedien der Maitlandkulturen aufgelöst zu werden, hingewiesen (s. weiter unten), so daß aus der Größe des mikroskopischen Rickettsienbefundes in einem Impfstoffpräparat nicht unbedingt auf die Immunisierungswirkung zu schließen ist. So hat in den in Tabelle VII aufgeführten Versuchen der „Zü 4-Impfstoff“ den geringsten, mikroskopisch nachweisbaren Rickettsiengehalt und doch die verhältnismäßig beste Immunisierungswirkung; ebenso läßt in der gleichen Tabelle der Impfstoff „Zü 3b“, der die gesammelte abzentrifugierte Kulturflüssigkeit von Impfstoff 3a, die dazu noch durch Berkefeld N-Kerze filtriert war, darstellt, eine Immunisierungswirkung annehmen. Zu dieser Annahme berechtigt uns nicht so sehr der schwächere Infektionsbefall in diesem Kollektive, als vielmehr der Versuch mit Impfstoff „12b“ in Tabelle II und die Wiederholung dieses Versuches (zusammen in einer Versuchsreihe mit den 4 letzten Impfstoffkollektiven in Tabelle VII). Eine Zusammenstellung der Versuche mit diesen Impfstoffpartien, in denen im wesentlichen nur ein gelöstes Rickettsienantigen zur Wirkung gelangen kann, bietet Tabelle IX.

Wenn auch für die Summenergebnisse in der Tabelle IX die Versuchssicherheit nach WEBER berechnet wird, so beträgt diese für die „†“ 3,38 und für die „† und +++“ 4,27, also für biologische Versuche ausreichend große Sicherheiten.

Tabelle IX.

Versuche mit Rickettsienantigen, in dem Rickettsien nicht nachweisbar waren.

Bezeichnung der einzelnen Impfstoffe	Applikation und Dosen je Maus	Zahl, Infektion und Infektionsverlauf bei den immunisierten Tieren	Zahl und Befunde der Kontrolltiere
Mäuseperitonealimpfstoff 12b (Ueberstand des 4000-Touren-Sedimentes 12a) vgl. Tab. II	3mal 0,1 bzw. 0,2 ccm mit 5 Tagen Abstand sk.; insgesamt Ueberstand von $^3/_4$ Maus-Peritoneum-Abschwemmung	65 Tage später geprüft mit 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Mäusehirn-Emulsion ip. 8 8 immun	10 8 † 1 +++ 1 leichtkrank
wie oben (neuer Versuch)	dgl.	25 Tage später geprüft mit 0,25 ccm $^1/_{2000}$ Mäusehirn-Emulsion ip. (100fache Infektionsdosis) 28 10 † 4 +++ 14 mehr oder weniger glatt	24 17 † 3 +++ 4 mehr oder weniger glatt
Zü 3b (Kulturflüssigkeit von Zü 3a durch Berkefeld N-Kerze filtriert) vgl. Tab. VII	3mal mit 5 Tagen Abstand sk.; 0,5 ccm	25 Tage später wie vorige infiziert 27 15 † 3 +++ 9 mehr oder weniger glatt	26 17 † 6 +++ 3 glatt
	Summe:	63 davon 25 † } 32 in typ. Zeit 7 +++ } 31 mehr oder weniger glatt	60 davon 42 † } 52 in typ. Zeit 10 +++ } 8 mehr oder weniger glatt

Bei der Beurteilung der im Mäuseperitonealimpfstoff 12b wirksamen Substanzen war auch daran zu denken, daß vielleicht das dem Impfstoff anhaftende Mäuseeiweiß unspezifisch den Infektionsablauf zu beeinflussen vermochte. Wir haben deshalb als Kontrolle in einem zweiten Versuch mit Impfstoff 12b ein mit normalem Mäuseperitoneal-Eiweiß unspezifisch immunisiertes Kollektiv mitinfiziert; es zeigte aber keinerlei von den Normalinfektionskontrollen abweichendes Verhalten, vgl. Infektionskontrolle in Tabelle VII (besonders bezeichnet) und letztes Kontrollkollektiv (mit 26 Mäusen) in Tabelle IX. Auch der Züchtungsrickettsien-Impfstoff „3a“ mit Normalmäuse-Peritoneal-Eiweiß (Tabelle VII) versetzt, brachte keine veränderte Immunisierungswirkung. Daraus muß man schließen, daß es sich bei den Wirkungen rickettsienfreier Zentrifugate und Filtrate der Rickettsien-Abschwemmungen um eine spezifische Wirkung in Lösung gegangenen Rickettsienantigens handelt. Weitere Versuche über diese Substanz sind im Gange.

Nicht auszuschließen wäre natürlich, daß in den Flüssigkeiten auch echte Toxine der Rickettsien oder kleinste Rickettsienformen enthalten sind, deren Kerzendurchlässigkeit (Berkefeld N) vielfach angegeben ist. Doch haben wir bisher für das Vorhandensein dieser kleinsten Rickettsienformen noch keine sicheren Anhaltspunkte. Die Infektiosität von Sedimentationswaschwassern und von Rickettsien freizentrifugierten Peritonealexsudaten hat z. B. SUÁREZ, PALACIOS, CHÁVES und AVENDAÑO zur Annahme einer ultravisiblen Form des Virus für das Fleckfieber geführt.

Schlußfolgerungen.

Aus den Versuchszusammenstellungen geht eindeutig hervor, daß bei den angewendeten Impfstoffmengen und der Immunisierungsart (3malige sk.-Applikation mit je 5 Tagen Abstand) eine sehr gute Immunisierungswirkung gegen das homologe Virus mit den Mäuseperitoneal-Impfstoffen bei Mäusen (Tabelle II, III und IV) zu erzielen war, die auch an Meerschweinchen (Tabelle V) noch deutlich nachweisbar war, wenn sie auch dem Anschein nach nicht in gleichem Ausmaß auftrat. Impfstoffe aus den in Maitlandkulturen gezüchteten Rickettsien (muriner Typ) entwickelten gleichfalls eine genügend sicher nachweisbare Immunität, die auch hier in den Mäuseversuchen (Tabelle VII) überzeugender als bei denen mit Meerschweinchen (Tabelle VIII) hervortrat. Allerdings berechtigt die geringe Zahl der Meerschweinchenversuche noch nicht zu bindenden Schlüssen. Ebenso können wir auf Grund der hier aufgeführten Versuche kein endgültiges Urteil über das Ausmaß einer Immunisierung mit Tot-Impfstoff gegen heterologes Virus abgeben (Tabelle VI u. VIII).

Auch mikroskopisch rickettsienfreie Zentrifugate und Filtrate der Impfstoffe besaßen ein deutliches Immunisierungsvermögen. Über die Natur der hierbei wirksamen antigenen Substanzen können wir noch nichts Sicheres aussagen (Tabelle IX).

Schrifttum.

1) BALTEANU, J., C. r. Soc. Biol. Paris, T. 124, 1937, p. 690. — Bull. mens. Off. internat. Hyg. publ., T. 29, 1937, p. 2328.

2) BLANC, G., Ann. Méd., T. 42, 1937, p. 440. — Autoreferat, Int. Kongreß f. Tropenkrankh. Amsterdam 1938.

3) CHODZKOW, W., Bull. Off. internat. Hyg. publ., T. 25, 1933, p. 1548.

4) DYER, R. E., WORKMAN, W. G., RUMREICH, A., and BADGER, L. F., Publ. Health Rep., 1932, p. 1329.

5) KLIGLER, I. J., und ASCHNER, M., Brit. J. exper. Path., Vol. 15, 1934, p. 337.

6) KNACK, A. V., Wien. klin. Wschr., 1937, p. 1155.

7) LAIGRET, J., DURAND, R., BELFORT, J., et LEFAUCHEUR, J., Arch. Inst. Pasteur Tunis, T. 26, 1937, p. 453.

8) NICOLLE, C., SPARROW, H., und CONSEIL, Presse méd., 1927, p. 503.

9) Nigg, Cl., und Landsteiner, K., Proc. Soc. exper. Biol. a. Med., Vol. 28, 1930, p. 3.
10a) Otto, R., und Munter, H., Handb. d. pathog. Mikroorg. 1930, Bd. VIII.
10b) — und Wohlrab, R., Handb. d. Viruskrankh. Gildemeister, Haagen, Waldmann, 1939, Bd. II, S. 528.
11) Palacios, R., Cháves, F., und Avendaño, O., Rev. Inst. bacter. Chile, T. 4, 1935, p. 49.
12) Parada, M. A., und Varela, G., Bol. Inst. Hig. del Dep. Sal. Publ. Mexico, Vol. 2, 1932, p. 5.
13) Prigge, R., Arb. aus dem Staatsinstitut f. exper. Ther. Frankfurt a. M., Bd. 32, 1935, S. 1.
14) da Rocha Lima, H., Med. Klin., 1917, S. 1147.
15) Schäfer, Wa., Arb. aus dem Staatsinstitut f. exper. Ther. Frankfurt a. M., Bd. 34, 1937, S. 39.
16) Schäfer Wi. Arb. aus dem Staatsinstitut f. exper. Ther. Frankfurt a. M. Bd. 32 1935 S. 51.
17) Suárez, E. H. Palacios, R., Cháves, F. R., und Avendaño, O., Rev. Inst. bacter. Chile, T. 4, 1935, p. 3.
18) Vaccaro, H., und Santelices, A., Rev. méd. Chile, T. 63, 1935, p. 417.
19) Veintemillas, F., J. of Immun., Vol. 36, 1939, p. 339.
20) Weber, Erna, Einführung in die Variations- und Erblichkeitsstatistik. München 1935, S. 180/181.
21) Weigl, R., Bull. internat. Acad. pol. Sci. C. Méd., T. 4, 1930, p. 25.
22) Wohlrab, R., Zbl. Bakter. I, Orig., Bd. 140, 1937, S. 193.
23) Zinsser, H., J. exper. Med., Vol. 57, 1933, p. 381.
24) — Americ. J. of Hyg., Vol. 25, 1937, p. 430.
25) — und Castaneda, R., Proc. Soc. exper. Biol. and Med., Vol. 29, 1932, p. 840.
26) — Fitzpatrick, Fl., und Hsi Wei, J. of exper. Med., Vol. 69, 1939, p. 179.
27) — und Macchiavello, A., J. of exper. Med., Vol. 64, 1936, p. 673.
28) — — Proc. Soc. exper. Biol. a. Med., Vol. 35, 1936, p. 84.

Aus dem Forschungsinstitut für Chemotherapie zu Frankfurt a. M.
(Direktor Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Otto).

V.

Beiträge zur Chemotherapie des Fleckfiebers

(Versuche mit Cäsiumnitrat und Rubidiumsulfat; Bewertung des Meerschweinchen- und Mäuse-Modellversuchs).

Von

R. Wohlrab.

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die bisherigen Versuche einer Chemotherapie beim Fleckfieber haben hier und an anderen Instituten zu mehr oder weniger negativen Resultaten geführt. Eine Reihe von Chemikalien sind am Krankenbett und im Tierversuch geprüft worden.

Anläßlich einer systematischen Erprobung der therapeutischen Eignung von Salzen fast aller Metalle des periodischen Systems und der Na-Halogenide stellten Breinl und John fest, daß auch die meisten dieser Substanzen keine oder nur eine geringe Einwirkung auf das experimentelle Fleckfieber der Meerschweinchen haben. Ausgenommen hiervon waren die Verbindungen gewisser Gruppen, bei deren Applikation die Temperaturkurven der mit Fleckfieber infizierten Meerschweinchen deutlich im Sinne einer Abschwächung der Erkrankung verändert waren, nämlich gewisse Erdalkalien und Metalle. Aus diesen ragte die Wirkung, die zwei Substanzen, und zwar das Rubidiumsulfat und das Cäsiumnitrat ausübten, eindeutig hervor.

Die Technik der angeführten Untersuchungen war folgende: Nach der Feststellung der Toleranzdosen der 1proz. Lösungen der Salze am Meerschweinchen wurden die einzelnen Substanzen 2—3 bereits infizierten Meerschweinchen während der Inkubationszeit jeden 2. bzw. 3. Tag sk. oder im. gegeben. Die Infektion (wohl mit einem klassischen Virus?) erfolgte mit 0,001 ccm Meerschweinchen-Gehirn-Emulsion (vom 4. Fiebertag) und brachte bei unbehandelten Tieren regelmäßigen Infektionserfolg.

Beim Rubidiumsulfat erreichten die Autoren in mehrfach wiederholten Versuchen, wenn überhaupt, dann nur abgeschwächte Temperaturerhöhungen, beim Cäsiumnitrat blieben von 6 Meerschweinchen 3 fieberfrei, 1 hatte geringes 2tägiges Fieber und 2 fieberten nach verlängerter Inkubationszeit 4 Tage lang. Alle Tiere, auch die fieberfreien, waren später

immun und zeigten die typischen Fleckfieberherde bei der Untersuchung des Gehirns, wenn auch nur spärlich, so daß im ganzen nur von einer Abschwächung der Erkrankung zu reden war.

Uns schienen immerhin die Versuche mit diesen beiden Substanzen einer Nachprüfung wert zu sein, obgleich wir von der Unmöglichkeit, aus tierexperimentellen Versuchen mit einer Gesamttierzahl von 6 Tieren bindende Schlüsse zu ziehen, überzeugt waren. An dieser Stelle sei auf die Arbeit von H. von Schelling in Heft 37 dieser Arbeiten mit dem Tabellenanhang zu den Prriggeschen Mutungsgrenzen der Versuchsergebnisse biologischer Stichprobenuntersuchungen hingewiesen. Aus dieser Tabulierung ist die geringe Bedeutung des Arbeitens mit zu kleiner Versuchstierzahl deutlich abzulesen, ein Nachteil, der besonders bei der Eigenart des Infektionsversuches mit klassischem Fleckfieber an Meerschweinchen hervortritt, wovon später zu sprechen sein wird.

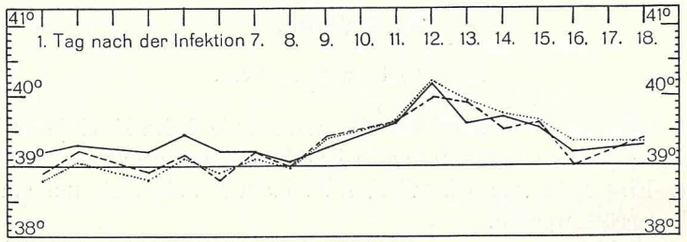


Fig. 1. Kurven der täglichen, arithmetischen Mitteltemperaturen dreier Meerschweinchenkollektive zu je 10 Tieren.
——— = Kontrollreihe,
- - - - - - = mit Cäsiumnitrat,
. . . . . = mit Rubidiumsulfat behandelte Tierreihen.

Die Infektion der Versuchstiere in unseren Versuchen erfolgte mit je $^1/_{1000}$ Meerschweinchen-Gehirnvirus (Rickettsia mooseri) ip. Von 30 Meerschweinchen erhielten 10 während der ersten 5 Tage der Inkubationszeit täglich je 5 ccm 1proz. Cäsiumnitratlösung und 10 Tiere in eben derselben Zeit je 5 ccm 1proz. Rubidiumsulfatlösung sk., die letzten 10 Tiere blieben ohne Behandlung. Die Verträglichkeit der Präparate war vorher geprüft worden. Die Temperatur der Meerschweinchen wurde in üblicher Weise täglich zur selben Zeit rektal gemessen.

Die einzelnen Temperaturkurven haben wir in folgender Weise (Fig. 1 und 2) verarbeitet. Fig. 1 zeigt den Verlauf der Kurven des arithmetischen Mittels der täglichen Temperaturen der einzelnen Kollektive. Auf Fig. 2 befinden sich drei Zusammenfassungen der Kollektive durch photographische Übereinanderkopierung der Fieberkurven der einzelnen Tiere.

Die in Fig. 1 dargestellten Kurven lassen keine wesentlichen Differenzen im Verlauf bei den behandelten und den unbehandelten Meerschweinchen erkennen. Die arithmetischen Mittelwerte unterscheiden sich bei den drei Versuchsreihen nicht voneinander.

Aus den photographisch erzielten Sammelbildern der Temperaturkurven in Fig. 2 ergibt sich im wesentlichen das gleiche mit dem Unterschied, daß

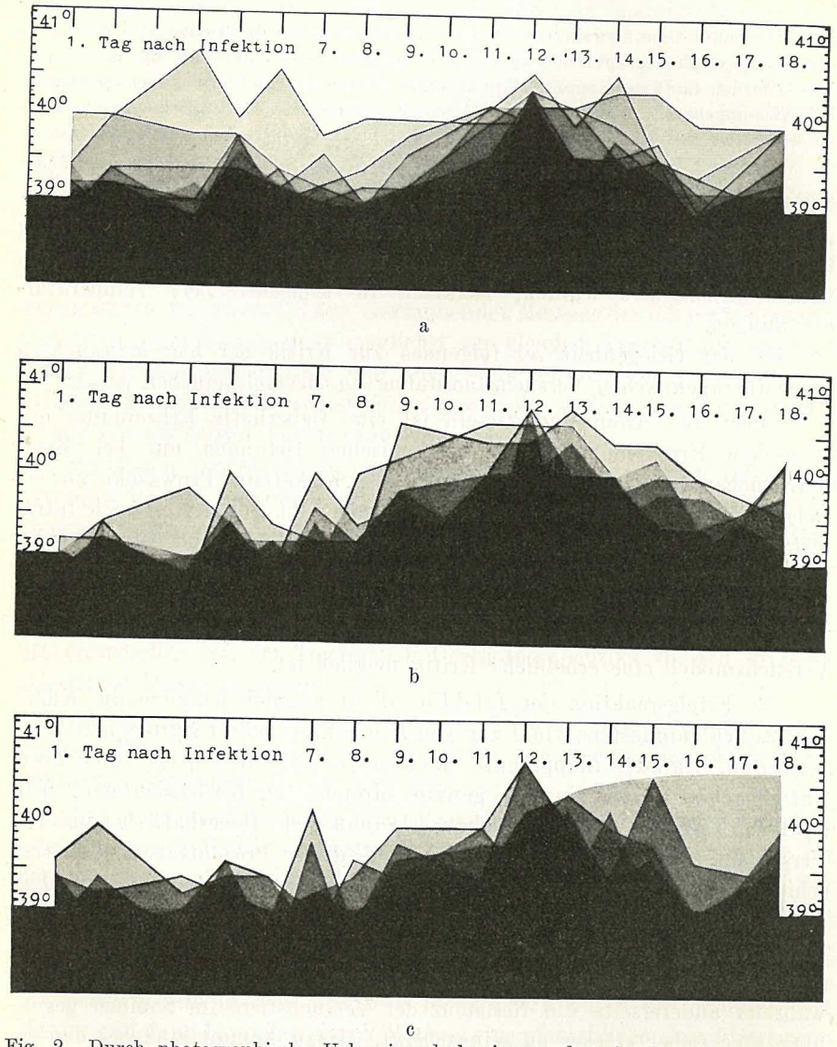


Fig. 2. Durch photographische Uebereinanderkopierung der einzelnen Temperaturkurven gewonnene Sammelkurven dreier Meerschweinchenkollektive zu je 10 Tieren.
a) Kontrollreihe,
b) mit Cäsiumnitrat,
c) mit Rubidiumsulfat behandelte Tierreihen.

die Temperatur-Extreme nach oben als Tonwert zu dem Dunkel der mittleren Temperatur der Meerschweinchen mit beitragen und trotzdem gleichzeitig als Abweichungen erscheinen.

Da nicht mehr als 5—6 Tonstufen erzielbar sind, werden die Extreme nach unten leider nicht dargestellt. Diese könnten sich unter Aufgabe der Sichtbarmachung der Temperaturschwankungen nach oben leicht darstellen lassen, indem man nicht die Temperaturkurven auf dünnstem Pergamentpapier, sondern ihre Negative ausschneidet und diese übereinanderkopiert. Dabei muß, um die Temperatur dunkel zu erhalten, das photographische Negativ als Vorlage (bereits nachdem die Seiten verkehrt worden sind) zur Reproduktion gelangen. Diese Art der Darstellung wäre natürlich hier angebracht. Da in unserem Versuch nur bei der Kontrollreihe zweimal abgeschwächter Fieberverlauf auftrat, war diese Negativdarstellung ohne Bedeutung.

Aus allen Kurven ist zu ersehen, daß in unserem Versuch die geprüften Substanzen nicht die geringste, nachweisbare Wirkung ausgeübt haben. Sogar die zwei Tiere, welche früher zur Toleranzprüfung 6 Tage lang vorbehandelt worden waren, und welche mitinfiziert und nochmals mitbehandelt wurden, bekamen in typischer Zeit Temperaturerhöhungen.

Bei der Gelegenheit sei folgendes zur Kritik der hier gebrauchten chemotherapeutischen Versuchsanordnung an Meerschweinchen gesagt:

Außer bei Affen und Zieseln ist eine fieberhafte Erkrankung mit klinischen Erscheinungen und anatomischen Befunden nur bei Meerschweinchen auf die Einverleibung von Rickettsia Prowazeki zu erzielen. Zu entzündlichen Reaktionen lokaler Art kommt es nach intratestaler oder intraokularer Applikation auch bei Kaninchen. Eine tödliche Erkrankung ist im allgemeinen nicht zu erreichen. Es sind also zwingende Gründe, die für Chemotherapieversuche bei klassischem Fleckfieber die Wahl des Meerschweinchen-Modelles veranlaßt haben, trotzdem an dem Versuchsmodell eine erhebliche Kritik möglich ist.

Als Erfolgsreaktion der Infektion dient nämlich lediglich die Kurve der täglich mindestens 1mal zur gleichen Stunde rektal gefundenen Temperaturen. Da auch inapparente Infektionen vorkommen, ist durch diese Tatsache von vornherein eine gewisse Streuung zu berücksichtigen. Ein gewisser Teil der Meerschweinchen erkrankt nicht fieberhaft (bei unseren Versuchen war es etwa $^1/_6$ bis $^1/_{20}$), und dieser Prozentsatz ist zu verschiedenen Jahreszeiten wechselnd. Der Infektionsbefall tritt aus verschiedenen Gründen stärker oder schwächer auf. Einerseits scheint die Infektiosität der benutzten Organemulsionen (hier von Gehirn) nicht immer gleich zu sein, im Sommer beispielsweise deutlich geringer als im Winter, während andererseits die Resistenz der Versuchstiere im Sommer gegenüber Fleckfieber stärker zu sein scheint. Hinzu kommt eine bei den erhaltenen positiven Temperaturkurven normalerweise in geringen Grenzen (1—2—4 Tage) schwankende, unterschiedliche Inkubationszeit, und schließlich schwankt, in geringer Anzahl zwar, aber doch ebenfalls normalerweise die Höhe und Dauer der Temperaturerhebung.

Das sind Schwankungen, die zwar nicht häufig auftreten, aber durch Summierung bei dem Beobachter doch Zweifel in der Beurteilung eines Versuches hervorrufen können. Solchen Fehlerstreuungen ist wohl im allgemeinen durch Vergrößerung der Versuchstierzahlen zu begegnen. (Vgl. auch das oben Gesagte mit dem Literaturhinweis auf S. 86.) Jedoch muß man schon recht erhebliche Zahlen an Versuchstieren nehmen.

Der hier beschriebene Versuch wies in der Kontrollreihe bei 10 infizierten Meerschweinchen 2 mit negativer Fieberkurve auf, abgesehen von einem interkurrenten Todesfall waren alle Tiere der anderen Kollektive krank geworden. Mit Hilfe der obengenannten Tabellen der prozentualen Mutungsgrenzen stellt man diese für das Versuchsergebnis: 2 (= 20 %) von 10 mit 3,23 % bis 65,19 % fest, d. h. das im angezogenen Versuch erschienene Versuchsergebnis könnte ebensogut 0 bis 7 heißen. Unter völlig normalen Infektionsbedingungen kann der Krankheitsbefall bei kleinen Kollektiven von 10 Tieren also von 3 bis 10 Tieren schwanken.

Der Ausweg, durch große Versuchstierzahlen sichere Ergebnisse zu erhalten, ist aber bei dem Meerschweinchenfleckfieber recht schwierig zu begehen wegen des erforderlichen, zeitraubenden Messens der Körpertemperatur der Tiere. Das Messen muß möglichst zur gleichen Tagesstunde bei allen Tieren durchgeführt werden und auch völlig gleichmäßig geschehen. Es erfordert große Sorgfalt schon deshalb, weil die Gefahr von Darmperforationen bei unruhigen Tieren groß ist.

Zu diesen Unsicherheiten der Beurteilung eines normalen Infektionsverlaufes kommt nun noch eine solche des Chemotherapieversuches. Die Versuchsbeurteilung erfolgt — wie gesagt — allein auf Grund der Höhe der Temperaturkurven. Nun gibt es aber Antipyretica, die ohne spezifische Wirkung auf die Fieberursache sind und nur die Fieberkurve beeinflussen. Diese antipyretische Wirkung wird um so mehr ins Gewicht fallen, als es oft erforderlich ist, im Tierversuch Chemotherapeutika in den größten, tolerierten Dosen zu geben.

Nicht unerwähnt sei dann noch die Schwierigkeit, Meerschweinchen mehrere Male hintereinander iv. zu spritzen, wie dies bei den chemotherapeutischen Versuchen oft der Fall ist.

Alle diese Gründe lassen den Meerschweinchenversuch als ein nicht sehr glückliches Modell für große chemotherapeutische Reihenversuche bei der Fleckfieberinfektion erscheinen. Es verdankt seine Verwendung nur der schwierigen Übertragbarkeit des klassischen Flecktyphus auf sonstige kleine Laboratoriumstiere mit einer erwünschten, eindeutigen Infektionsreaktion.

Seitdem nun in den murinen Fleckfiebern durch die Arbeiten von Maxcy und dann besonders durch Mooser eine menschliche, dem klassischen Flecktyphus sehr nahe verwandte Rickettsiose erkannt worden war, die auf Ratten und auf Mäuse, auf diese sogar mit für sie oft tödlich verlaufender Infektion, übertragen werden kann, lag es nahe, diese Tiere zu derartigen Auswertungen zu benutzen. Es ist möglich, so eine Versuchsanordnung zu entwickeln, die chemotherapeutischen Versuchszwecken z. B. durch die Auswertung auf „†“ und durch die Möglichkeit großer Versuchsreihen völlig genügt. Wir benutzten weiße Mäuse, bei denen unser zu diesen Versuchen

benutztes murines, mexikanisches Virus eine in 70 % mit tödlichem Erfolg übertragbare Fleckfieberinfektion setzt.

Bei diesen Mäuseversuchen ergab sich nun, daß auch hier Rubidiumsulfat und Cäsiumnitrat ebensowenig Erfolge einer chemotherapeutischen Wirkung zeigten wie im Meerschweinchenversuch.

Zusammenfassung.

In neuen chemotherapeutischen Versuchen wurden auf Grund der Arbeit von Breinl und John Cäsiumnitrat und Rubidiumsulfat auf ihre Wirkung bei der Fleckfieber-Infektion im Tierversuch nachgeprüft. Weder im Meerschweinchen- noch im Mäuseversuch konnte eine nennenswerte Wirksamkeit festgestellt werden.

Die Nachteile des Meerschweinchenversuchs gegenüber dem Mäuseversuch bei der Auswertung von chemotherapeutischen Substanzen gegen (murines) Fleckfieber werden erörtert.

Literatur.

Breinl und John, Chemotherapeutische Versuche bei Fleckfieber. Med. Klinik, Bd. 28, 1932, S. 225.

von Schelling, Hermann, Die mathematisch-statistische Bewertung von Stichproben und deren Bedeutung für die Beurteilung von Tierversuchen. 2. Mitteilung: Die Abgrenzung von Mutungsbereichen. Arb. a. d. Staatsinst. usw., H. 37, 1939, S. 28.

Aus der Experimentell-Therapeutischen Abteilung (Leiter: Prof. Dr. R. Prigge) des Staatl. Instituts für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Otto).

VI.

Die mathematisch-statistische Bewertung von Stichproben und deren Bedeutung für die Beurteilung von Tierversuchen.

Dritte Mitteilung[1]): Das Problem der Rückschluß-Wahrscheinlichkeit[2]).

Von

Wilhelm Schäfer.

Mit 6 Abbildungen im Text.

H. v. Schelling hat in der Einleitung zu der zweiten Mitteilung (l. c. S. 28—30) die beiden Fragen, die bei der Beurteilung von Stichproben auftreten können, an zwei Beispielen scharf umrissen. Ebenso wie die zweite befaßt sich auch die vorliegende dritte Mitteilung nur mit der inversen Fragestellung, bei der das Ergebnis der Stichprobe bekannt, der diesem Ergebnis zugrunde liegende „*wahre Wert*“ unbekannt ist. Dieses Problem ist mehr als anderthalb Jahrhunderte lang verkannt und mit einer gänzlich andersartigen Fragestellung verwechselt worden, nämlich mit dem Problem von Bayes. Zwar haben sich schon seit langem Stimmen gegen die falsche Anwendung des Bayesschen Theorems erhoben. So z. B. vertrat H. Bruns (1906) den Standpunkt, daß das Bayessche Problem ohne Nachteil aus den Lehrbüchern der Wahrscheinlichkeitsrechnung ausgemerzt werden könnte. Trotzdem hielt man — und hält mancherorts sogar heute noch — an dem Bayesschen Theorem als Lösung für die inverse Fragestellung

1) I. und II. Mitteilung: Arb. a. d. Staatl. Inst. usw., Heft 35 (S. 69—112) und Heft 37 (S. 28—54).

2) Das Manuskript hat zwei hervorragenden Kennern des behandelten Spezialgebietes, den Herren Prof. Dr. B. L. van der Waerden, Leipzig und Dr. H. von Schelling, Berlin-Charlottenburg vorgelegen. Beide Herren haben die Arbeit durch eingehende Kritik und durch zahlreiche wertvolle Anregungen unterstützt, wofür ihnen auch an dieser Stelle nochmals herzlichst gedankt sei.

fest, einfach deshalb, weil man nichts Besseres an die Stelle des BAYESschen Ansatzes zu setzen wußte.

Erst R. A. FISHER (1930) hat die logischen Zusammenhänge endgültig zu klären vermocht. Da in der deutschen Literatur eine korrekte wahrscheinlichkeits-theoretische Darstellung des inversen Stichproben-Problems noch immer keinen Eingang gefunden hat, ist es notwendig, den FISHERschen Gedankengang hier kurz zu skizzieren, bevor ich zu den Ergebnissen meiner eigenen Untersuchungen übergehe.

Gegeben sei eine stetige Verteilung $f_\Theta(T)$ einer variablen Größe T, die nur von einem Parameter Θ abhängen soll. Wir wollen die Varianten T als Ergebnisse von Stichproben und den Parameter Θ als den diesen Ergebnissen zugrundeliegenden „*wahren Wert*" auffassen (Abb. 1). Die Wahrscheinlichkeit, daß T größer als eine feste Grenze T_ε ist, sei ε:

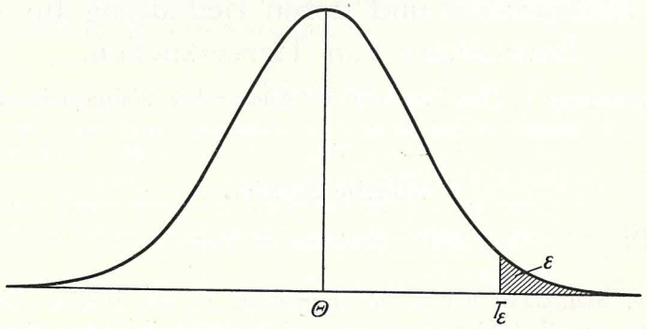


Abb. 1.

$$W(T \geqq T_\varepsilon) = \varepsilon.$$

Es gilt also

$$\varepsilon = \int_{T_\varepsilon}^{\infty} f_\Theta(T)\, dT = F(T_\varepsilon, \Theta) \qquad (1).$$

Halten wir in (1) ε konstant, dann ergibt sich eine Funktion zwischen T_ε und Θ, die wir schreiben:

$$T_\varepsilon = \varphi(\Theta) \qquad (2).$$

und zwar soll $\varphi(\Theta)$ mit Θ monoton zunehmen.

Die Definition (1) besagt, daß unter N Fällen εN mal zu erwarten ist, daß die Variante T die Grenze T_ε überschreitet. Diese Aussage gilt auch, wenn nicht alle Ergebnisse Varianten des gleichen Wertes sind. Denn mit Θ ändert sich ja auch $\varphi(\Theta)$, und wenn zu jedem Θ ein T_ε berechnet wird, für das die Beziehung $W(T \geqq T_\varepsilon) = \varepsilon$ gilt, dann gilt diese auch für die Gesamtheit der Varianten, unabhängig von dem jeweiligen Θ.

Wir können nun auch den umgekehrten Weg gehen: Nach der Funktion (2), die wir als eindeutig umkehrbar vorausgesetzt haben, berechnen

wir zu jedem gefundenen Stichproben-Ergebnis T den zugehörigen Wert Θ_ε, der die Gleichung

$$T = \varphi(\Theta_\varepsilon)$$

erfüllt. Mit Hilfe von Abb. 2 macht man sich leicht klar, daß immer und nur dann, wenn $T > T_\varepsilon$ gefunden wird, der berechnete Wert Θ_ε größer ist als der dem Ergebnis T zugrundeliegende *wahre Wert* Θ, gleichgültig ob die beobachteten Varianten zu den gleichen oder zu verschiedenen Parametern gehören.

Daraus folgt aber, daß auch die Wahrscheinlichkeit, daß der jedem Ergebnis T zugrundeliegende *wahre Wert* Θ kleiner (oder gleich) der zu T gehörigen Grenze Θ_ε ist, den Wert ε hat:

$$W(\Theta \leqq \Theta_\varepsilon) = \varepsilon.$$

Diese Grenze Θ_ε nennt FISHER die „Vertrauens-Grenze" *(fiducial limit)* und entsprechend die Wahrscheinlichkeit, daß $\Theta \leqq \Theta_\varepsilon$ ist, die „Vertrauens-Wahrscheinlichkeit" *(fiducial probability)*.

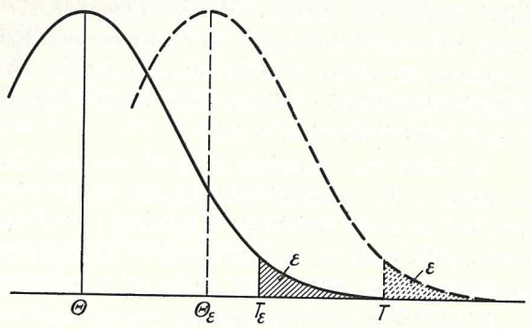


Abb. 2.

Schreiben wir diese Wahrscheinlichkeit in der Form

$$\int_{-\infty}^{\Theta_\varepsilon} f_T(\Theta)\, d\Theta = \varepsilon = F(T, \Theta_\varepsilon)$$

so folgt durch Differentiation nach Θ_ε:

$$f_T(\Theta) = \frac{d\varepsilon}{d\Theta} = \frac{\partial}{\partial(\Theta)} F(T, \Theta) \qquad (3).$$

FISHER drückt die Beziehung zwischen der Verteilung $f_\Theta(T)$ der Varianten T und der Verteilung $f_T(\Theta)$, die er die „*fiducial distribution*" nennt, in übersichtlicher Weise durch die Differentialgleichung

$$d\varepsilon = -\frac{\partial}{\partial T} F(T, \Theta)\, dT = \frac{\partial}{\partial \Theta} F(T, \Theta)\, d\Theta$$

aus, die aus der Definition (1) und der daraus abgeleiteten Beziehung (3) folgt.

Damit hat FISHER bewiesen, daß, auch wenn der *wahre Wert* Θ nicht bekannt ist, die Wahrscheinlichkeit, mit der Θ zwischen zwei willkürlichen Grenzen Θ_{ε_1} und Θ_{ε_2} liegt, in aller Strenge angegeben werden kann, und zwar ohne Zuhilfenahme einer Hypothese über die in Frage kommenden Θ-Werte und deren Apriori-Wahrscheinlichkeit, wie sie beim BAYESschen Theorem erforderlich ist. Das gilt jedoch nur bei stetiger Verteilung der Stichproben-Ergebnisse.

Ist die Verteilung $f_\Theta(T)$ der Stichproben-Ergebnisse diskontinuierlich, wie in dem Sonderfall der alternativen Variabilität, mit dem sich die vorliegende Arbeit wie auch die beiden vorausgehenden Mitteilungen ausschließlich befassen, dann liefert der FISHERsche Gedankengang nur eine Näherungslösung, die in dem Maße brauchbar ist, wie die Verteilung $f_\Theta(T)$ durch eine stetige Verteilung angenähert werden kann.

Die FISHERschen Ueberlegungen haben bis jetzt noch nicht Eingang in die deutsche Literatur gefunden. Wohl aber sind gerade von deutscher Seite — völlig unabhängig von FISHER — brauchbare Näherungs-Lösungen für das inverse Problem der Stichproben-Erhebung bei alternativer Variabilität angegeben worden. Bereits 1928 hat H. POLL (1928 u. 1933) ein graphisches Näherungs-Verfahren zur Ermittelung von Bereichen angegeben, in denen der unbekannte *wahre Wert* mit einer hinreichend großen Wahrscheinlichkeit zu suchen ist. (Zur Kritik an POLL vgl. H. v. SCHELLING, 2. Mitteilung, l. c. S. 31.)

An Stelle des graphischen Verfahrens hat dann R. PRIGGE (1937) eine allgemeine Formel zur Berechnung der Bereichsgrenzen angegeben. Im Anschluß an die PRIGGEsche Mitteilung hat H. v. SCHELLING (1937, 1938, 1939) das Problem aufgegriffen und — ebenfalls unabhängig von FISHER — zum erstenmal für das inverse BERNOULLI-Problem eine Verteilungs-Funktion abgeleitet, die in der vorliegenden Arbeit eingehend diskutiert werden wird. Ferner hat v. SCHELLING zur bequemeren Ermittelung der PRIGGEschen Bereichsgrenzen in der 2. Mitteilung (1929, S. 40/54) ausführliche Tabellen veröffentlicht[1]).

Inzwischen ist der FISHERsche Gedankengang von J. NEYMAN und E. S. PEARSON (1933) weitergeführt und auf die Ermittelung von „Vertrauens-Bereichen" für beliebige unbekannte Parameter ausgedehnt worden. Anschließend haben CLOPPER u. PEARSON (1934) gezeigt, wie man durch graphische Umkehrung der strengen BERNOULLIschen Formel die zu einer bestimmten Mindest-Wahrscheinlichkeit gehörenden „Vertrauensgrenzen" finden kann. Jedoch lassen sich aus den graphischen Darstellungen die Grenzen nur mit beschränkter Genauigkeit ablesen. Außerdem liefert die PRIGGEsche Formel den gesuchten Bereich für jede beliebig vorgegebene Wahrscheinlichkeit ε, während die graphische Darstellung bei CLOPPER u. PEARSON nur für zwei Wahrscheinlichkeits-Werte, $\varepsilon = 0{,}01$ (*„confidence coefficient"* 0,99 bzw. 99 %) und $\varepsilon = 0{,}05$ (*confidence coefficient* 0,95 bzw. 95 %), durchgeführt ist.

An Stelle der wenig glücklichen Bezeichnungen „Vertrauensgrenzen" *(fiducial limits)* und „Vertrauens-Bereich" *(fiducial* oder *confidence interval)*

[1]) Anmerkung bei der Korrektur: Einer brieflichen Mitteilung von Herrn Dr. G. RASCH (Kopenhagen) entnehme ich, daß S. MILLOT (Comp. Rend. Acad. Sci. **176** (1923), S. 30—32) bereits vor längerer Zeit zu einer ähnlichen Formulierung gelangt ist, die in der deutschen und angelsächsischen Literatur bisher unbeachtet geblieben zu sein scheint.

der Engländer haben PRIGGE u. SCHÄFER (1939) den der deutschen Bergmanns-Sprache entnommenen Ausdruck *Mutungs-Grenzen* bzw. *Mutungs-Bereich* geprägt, der dem inversen Problem, das sich mit der „Schürfung" nach dem unbekannten *wahren Wert* befaßt, besser entspricht.

I.

Der häufigste Fall des Problems der Stichproben-Erhebung, bei dem die Tiere des Stichproben-Kollektivs, je nachdem sie Träger eines bestimmten Merkmals sind oder nicht, in zwei Klassen eingeteilt werden (alternative Variabilität), wird in seiner einfachsten Form durch das BERNOULLIsche Urnen-Schema gekennzeichnet: Der *wahre Wert*, d. h. der Anteil an Merkmals-Trägern in der Gesamt-Population, wird hierbei durch das Verhältnis der in der Urne befindlichen weißen Kugeln (= Merkmalsträger) zur Gesamt-Zahl der Kugeln in der Urne dargestellt. Während sich bei der Entnahme der Stichprobe aus einer Tier-Population der *wahre Wert* von Ziehung zu Ziehung — wenn auch bei genügend großer Population nur wenig — ändert, läßt sich im Urnen-Schema der Idealfall, bei dem überhaupt keine Aenderung erfolgt, dadurch verwirklichen, daß die Kugel nach jeder Ziehung in die Urne zurückgelegt wird. Wir wollen uns, um das Problem nicht unnötig zu komplizieren, auf das BERNOULLIsche Ideal-Schema beschränken und dürfen das um so mehr tun, als stärkere Abweichungen von diesem Schema in der Praxis der Stichproben-Erhebung kaum vorkommen.

* * *

Die Wahrscheinlichkeit, daß ein Versuch zu n Ziehungen (mit Zurücklegen der gezogenen Kugel) aus einer Urne mit A weißen und B schwarzen Kugeln ein Ergebnis $P = \frac{\nu}{n}$ liefert, worin ν die Anzahl der gezogenen weißen Kugeln ist, wird durch die Formel von BERNOULLI

$$w_U(P) = \binom{n}{\nu} U^\nu (1-U)^{n-\nu} \qquad (4).$$

gegeben, worin U die Wahrscheinlichkeit für die Ziehung einer weißen Kugel und damit den *wahren Wert*

$$U = \frac{A}{A+B}$$

bedeutet.

Wichtiger als die Frage nach der Wahrscheinlichkeit $w_U(P)$ ist die Frage nach dem Bereich, innerhalb dessen ein Versuchs-Ergebnis $P = \frac{\nu}{n}$ mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist. Da die Ergebnisse P als Varianten des *wahren Wertes* U aufgefaßt werden können, die über einen gewissen Bereich „verstreut" sind, wollen wir diesen Bereich den *„Streuungs-Bereich"* für die Ergebnisse P nennen. Bezeichnen wir ferner

die Wahrscheinlichkeit, mit der P außerhalb der Grenzen dieses Bereiches zu liegen kommt, mit ε, so finden wir die Grenzen des Streuungs-Bereiches, indem wir aus der Reihe

$$w_o,\ w_1, \ldots . w_\nu \ldots . w_n; \qquad w_\nu = w_U(P)$$

von den kleinsten Gliedern angefangen so lange Glieder ausscheiden, bis ihre Summe den vorgegebenen Wert ε gerade erreicht.

Für $U = \frac{1}{3}$ und $n = 10$ besitzt die Reihe der w_ν die folgenden 11 Glieder:

ν	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
59049 w_ν	1024	5120	11520	15360	13440	8064	3360	960	180	20	1

Geben wir ε den Wert 0.01 (= 1 %), dann müssen wir die Glieder w_{10}, w_9 und w_8 ausschließen; ihre Summe (= 0.034) erreicht aber den verlangten Betrag von 0.01 noch nicht. Würden wir jedoch auch das nächst größere Glied w_7 noch mit ausschließen, dann würde die Summe (= 0.0197) den vorgegebenen Wert von ε übersteigen.

Dieses einfache Beispiel zeigt, daß die Frage nach dem Bereich, in dem ein Ergebnis P mit einer vorgegebenen Wahrscheinlichkeit, dem „*Streuungs-Koeffizienten*" $1-\varepsilon$, zu erwarten ist, im allgemeinen nicht streng beantwortet werden kann, und zwar deshalb nicht, weil die Bernoullische Verteilungs-Funktion $w_U(P)$ unstetig ist. Sie ist nur für ganzzahlige Werte von ν definiert.

Wir wollen nun das Problem umkehren:

Gegeben sei ein Versuchs-Ergebnis $P = \frac{\nu}{n}$. Wir fragen nach der Wahrscheinlichkeit, mit der der unbekannte *wahre Wert* U in dem Bereich $x_1 < P < x_2$ zu erwarten ist.

Beachten wir, daß „*Wahrscheinlichkeit*" als Grenzwert einer *relativen Häufigkeit* definiert ist, so lautet unsere Frage:

Wie häufig ist die Aussage, daß U in dem angegebenen *Mutungs-Bereich* $x_1 < P < x_2$ liegt, richtig oder falsch?

II.

Clopper u. Pearson (1934) fassen U und P als Koordinaten eines Punktes in einer Ebene auf[1]) und ermitteln die Kurven der zu jedem Wert von U gehörenden Streuungs-Grenzen $P_1 = \frac{\nu_1}{n}$ und $P_2 = \frac{\nu_2}{n}$ für ein gegebenes ε, das in zwei gleiche Anteile ε_1 und ε_2 aufgeteilt wird:

1) Das gleiche Verfahren hat H. v. Schelling für die Funktion $P = U + k\sqrt{\frac{U(1-U)}{n}}$ bei den Figuren 1 bis 4 der 2. Mitteilung (1939) angewandt.

$$\varepsilon_1 = \sum_{\lambda=o}^{\nu_1} w_U\left(\frac{\lambda}{n}\right)$$
$$\varepsilon_2 = \sum_{\lambda=\nu_2}^{n} w_U\left(\frac{\lambda}{n}\right) \qquad (5).$$

Umgekehrt liefern die Grenzen des so konstruierten „Vertrauens-Gürtels" (*confidence belt*) die Mutungs-Grenzen für ein gegebenes P.

Da die Gleichungen (5) für $\varepsilon_1 = \varepsilon_2 = \frac{\varepsilon}{2}$ infolge der Unstetigkeit der Funktion $w_U(P)$ nicht streng erfüllbar sind, ändern Clopper u. Pearson die Forderung bezüglich des *Streuungs-Koeffizienten* $1-\varepsilon$ dahin ab, daß die Größen ε_1 und ε_2 den Wert $\frac{\varepsilon}{2}$ nicht überschreiten dürfen, d. h. sie setzen $\varepsilon_1 \leqq \frac{\varepsilon}{2}$ und $\varepsilon_2 \leqq \frac{\varepsilon}{2}$, aber so, daß beide Größen möglichst nahe an $\frac{\varepsilon}{2}$ herankommen.

Die Mutungs-Grenzen zu einem Versuchs-Ergebnis $P = \frac{\nu}{n}$ können durch folgende Gleichungen definiert werden:

$$\eta' = \sum_{\lambda=\nu}^{n} w_{x_1}\left(\frac{\lambda}{n}\right) \qquad (6a),$$

$$\zeta'' = \sum_{\lambda=o}^{\nu} w_{x_2}\left(\frac{\lambda}{n}\right) \qquad (6b),$$

wobei $\eta' + \zeta''$ dem auszuschließenden Anteil ε gleichzusetzen ist. Die Größe $1-\varepsilon$ nennen wir jetzt den „*Mutungs-Koeffizienten*" (bei Clopper u. Pearson *confidence coefficient*). Bemerkenswert ist, daß zur Bestimmung der oberen (x_1) und der unteren (x_2) Mutungs-Grenze zwei verschiedene Ansätze benützt werden. Läßt man x_1 und x_2 zusammenfallen, so sieht man, daß

$$\eta' + \zeta'' = 1 + w_x(P)$$

wird, während für $x_1 = x_2$ $\eta + \zeta = 1$ zu fordern ist. Um diese Forderung zu erfüllen, schreiben wir die Definition der Mutungs-Grenzen in der allgemeinen Form

$$\eta = \sum_{\lambda=\nu}^{n} w_{x_1}\left(\frac{\lambda}{n}\right) - h w_{x_1}(P) \qquad (7a)$$

$$\zeta = \sum_{\lambda=o}^{\nu} w_{x_2}\left(\frac{\lambda}{n}\right) - (1-h) w_{x_2}(P) \qquad (7b),$$

worin h ein echter Bruch — $0 \leqq h \leqq 1$ — ist.

Wir betrachten nun die Ergebnisse $P_1, P_2, \ldots . P_N$ von N Versuchen zu je n Ziehungen (mit Zurücklegen der gezogenen Kugel nach jeder Ziehung) aus der Urne mit der unbekannten Grund-Wahrscheinlichkeit U.

Denken wir uns zu jedem $P = \frac{\nu}{n}$ den zugehörigen x_1-Wert nach (7a) ausgerechnet, so ist zu erwarten, daß in etwa ηN unter den N Ergebnissen $x_1 \geqq U$ ist.

Beweis: Wir denken uns die BERNOULLIsche Wahrscheinlichkeits-Verteilung der P-Werte graphisch dargestellt (Abb. 3). Die auf jeden der $n+1$ möglichen verschiedenen Werte von P entfallende Wahrscheinlichkeit entspricht der Ordinate zu dem betreffenden P. Jede dieser Ordinaten $w_U(P)$ teilen wir durch die Punkte T_ν im Verhältnis $h:(1-h)$ so, daß das untere Stück die Länge $hw_U(P)$, das obere die Länge $(1-h)w_U(P)$ bekommt. Nun grenzen wir, von rechts beginnend, die vorgegebene Summe η ab, wie das durch die gestrichelte Linie rechts in Abb. 3 geschieht. Diese Linie wird im allgemeinen eine der Ordinaten schneiden. Die Strecke zwischen dem Schnittpunkt S_1 und dem nächstfolgenden, innerhalb des abgegrenzten Bereiches η gelegenen Teilungspunkt T_i der Ordinate $w_U\left(\frac{i}{n}\right)$ sei mit δ_1 bezeichnet.

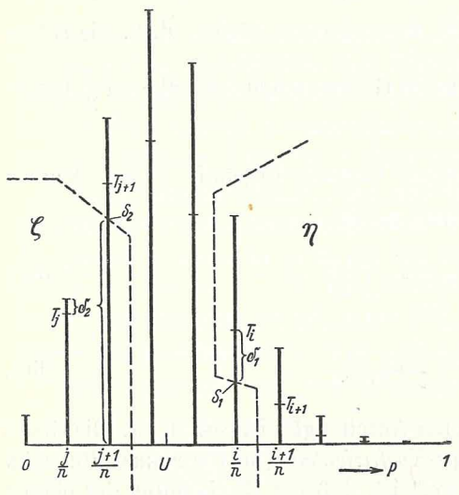


Abb. 3. Graphische Darstellung der BERNOULLIschen Verteilung mit Abgrenzung der Anteile η und ζ für $h = \frac{n-\nu}{n}$.

Liegen S_1 und T_i nicht auf der gleichen Ordinate, dann ist $w_U\left(\frac{i}{n}\right)$ die folgende Ordinate, deren unterer Abschnitt $hw_U\left(\frac{i}{n}\right)$ zu δ_1 gehört.

Wie wir mit Hilfe der Gl. (7a) leicht feststellen können, ist für jedes $P \geqq \frac{i}{n}$ $x_1 \geqq U$ ($x_1 = U$ für $\delta_1 = 0$). Nun ist die Wahrscheinlichkeit, daß $P \geqq \frac{i}{n}$ ist,

$$\sum_{\lambda=i}^{n} w_U\left(\frac{\lambda}{n}\right) = \eta + hw_U\left(\frac{i}{n}\right) - \delta_1.$$

Die Behauptung, daß in ηN unter den N Ergebnissen $x_1 \geqq U$ sei, ist somit bis auf die Größe $\Delta_1 = hw_U(P) - \delta_1$ richtig. Da für genügend kleine Werte von η bei hinreichend großem n die Größe Δ_1 sehr klein wird und vernachlässigt werden kann, so ist damit die Behauptung, daß in „etwa" ηN unter N Ergebnissen $x_1 \geqq U$ zu erwarten sei, bewiesen.

Die Größe Δ_1, die von U abhängig, also unbekannt ist, nennen wir die „*Unsicherheit*" unserer Behauptung. Wollen wir eine exakte Wahrscheinlichkeits-Aussage machen, dann müssen wir die *Unsicherheit* Δ_1 mit in die Aussage hineinnehmen:

Die Wahrscheinlichkeit, daß x_1 größer oder gleich U ist, ist $\eta + \Delta_1$ oder in Symbolen

$$W(x_1 \geqq U) = \eta + \Delta_1 \qquad (8a).$$

Eine ganz entsprechende Ueberlegung stellen wir für die Gleichung (7b) an, indem wir die vorgegebene Summe ζ auf der linken Seite der Verteilung abgrenzen. Die Strecke zwischen dem Schnittpunkt S_2 der Abgrenzungs-Linie (gestrichelte Linie links in Abb. 3) und dem nächstgelegenen Teilungspunkt T_j innerhalb des abgegrenzten Bereiches ζ wird mit δ_2 bezeichnet.

Liegen — wie in Abb. 3 — S_2 und T_j auf verschiedenen Ordinaten, dann ist $w_U\left(\frac{j}{n}\right)$ die vorausgehende Ordinate, von der die Strecke $(1-h)\, w_U\left(\frac{j}{n}\right)$ zu δ_2 gehört.

Für $P \leqq \frac{j}{n}$ finden wir $x_2 \leqq U$ ($x_2 = U$ nur dann, wenn $\delta_2 = 0$ ist). Die Wahrscheinlichkeit für $P \leqq \frac{j}{n}$ ist

$$\sum_{\lambda=o}^{j} w_U\left(\frac{\lambda}{n}\right) = \zeta + (1-h)\, w_U\left(\frac{j}{n}\right) - \delta_2.$$

Die Behauptung, daß in ζN unter N Ergebnissen $x_2 \leqq U$ sei, ist also bis auf die Größe $\Delta_2 = (1-h)\, w_j - \delta_2$ richtig. Diese Größe nennen wir entsprechend die *Unsicherheit* der Aussage

$$W(x_2 \leqq U) = \zeta + \Delta_2 \qquad (8b).$$

Die beiden Aussagen (8a) und (8b) lassen sich in einer Gleichung zusammenfassen. Wir ziehen von dem Anteil $1-\eta-\Delta_1$, für den nach (8a) $x_1 < U$ ist, den darin enthaltenen Anteil $\zeta + \Delta_2$, für den $x_2 \leqq U$ ist, ab. Es bleibt dann der Anteil übrig, für den $x_1 < U < x_2$ ist, und wir erhalten

$$W(x_1 < U < x_2) = 1 - (\eta + \zeta + \Delta_1 + \Delta_2).$$

Wir setzen noch $\Delta_1 + \Delta_2 = \Delta$ und nennen Δ die *Unsicherheit* der Wahrscheinlichkeits-Aussage

$$W(x_1 < U < x_2) = 1 - \varepsilon - \Delta \qquad (8).$$

Auf der rechten Seite ist nur Δ, da es von U abhängig ist, unbekannt.

Wenn wir nun für jedes der N Versuchs-Ergebnisse $P_1, P_2, \ldots P_N$ unter Beibehaltung der Konstanten η und ζ die Mutungs-Grenzen x_1 und x_2 nach den Definitions-Gleichungen (7) berechnen, dann ist zu erwarten, daß die Aussage $x_1 < U < x_2$ in $N(1-\varepsilon-\Delta)$, d. h. in etwa $N(1-\varepsilon)$, unter N Fällen richtig ist: Für $N \to \infty$ geht die relative Häufigkeit der richtigen Aussagen über in die mit der *Unsicherheit* Δ behaftete Wahrscheinlichkeit, daß für ein beliebiges Ergebnis $P = \frac{\nu}{n}$ U zwischen den Mutungs-Grenzen $x_1 = x(P, \eta)$ und $x_2 = x(P, \zeta)$ liegt. Diese Wahrscheinlichkeit nenne ich die Wahrscheinlichkeit des Rückschlusses auf den *wahren Wert* U oder kurz die *Rückschluß-Wahrscheinlichkeit.*

III.

Unabhängig voneinander und auf verschiedenen Wegen haben B. L. v. D. WAERDEN (1936) und H. v. SCHELLING (1937) gezeigt, daß eine BERNOULLIsche Summe sich in Form eines Integrals darstellen läßt. Es ist

$$\frac{d}{dx}\sum_{\lambda=\nu}^{n}\binom{n}{\lambda}x^{\lambda}(1-x)^{n-\lambda}=\sum_{\lambda=\nu}^{n}\binom{n}{\lambda}x^{\lambda}(1-x)^{n-\lambda}\left[\frac{\lambda}{x}-\frac{n-\lambda}{1-x}\right].$$

Man erkennt leicht, daß sich das zweite Glied jedes Summanden der rechts stehenden Summe gegen das erste Glied des folgenden Summanden aufhebt und das zweite Glied des letzten Summanden verschwindet. Nur das erste Glied bleibt übrig. Für die Summe erhalten wir

$$\sum_{\lambda=\nu}^{n}\binom{n}{\lambda}x_i^{\lambda}(1-x_i)^{n-\lambda}=\frac{n!}{(\nu-1)!\,(n-\nu)!}\int_{x=o}^{x_i}x^{\nu-1}(1-x)^{n-\nu}\,dx.$$

Wendet man dieses Verfahren auf die Summe (7a) an, dann ergibt sich

$$\frac{d\eta}{dx}=v_P(x)=(1-h)\frac{n!}{(\nu-1)!\,(n-\nu)!}x^{\nu-1}(1-x)^{n-\nu}$$

$$+h\frac{n!}{\nu!\,(n-\nu-1)!}x^{\nu}(1-x)^{n-\nu-1} \qquad (9).$$

Die Funktion $v_P(x)$ mit $0\leqq h\leqq 1$ stellt die allgemeine Form der Verteilungs-Funktion für die Rückschluß-Wahrscheinlichkeit dar. Ihr Erwartungswert ist

$$\int_{x=o}^{1}x\,v_P(x)\,dx=a_v=\frac{\nu+h}{n+1} \qquad (9a).$$

Der Ausdruck für das zweite Moment (das Quadrat der Standard-Abweichung) sieht etwas weniger einfach aus:

$$\sigma_v^2=\int_{x=o}^{1}(x-a_v)^2\,v_P(x)\,dx=\frac{(n-\nu+1)(\nu+2h)-h^2(n+2)}{(n+1)^2(n+2)}$$

Er läßt sich jedoch in die einfachere Form

$$\sigma_v^2=\frac{a_v(1-a_v)}{n+2}+\frac{h(1-h)}{(n+1)(n+2)} \qquad (9b)$$

bringen. Für genügend große Werte von n wird der zweite Summand gegenüber dem ersten so klein, daß er vernachlässigt werden kann.

Wir sind bei der Ableitung der Funktion $v_P(x)$ von dem Ansatz (7a) ausgegangen, der zu der Beziehung

$$\eta=\int_{x=o}^{x_1}v_P(x)\,dx \qquad (10a)$$

führt. Ebensogut hätten wir auch von dem Ansatz (7b) ausgehen können und wären dann zu der Beziehung

$$\zeta=\int_{x=x_2}^{1}v_P(x)\,dx \qquad (10b)$$

gekommen. Beide Ansätze (7) führen also auf die gleiche Funktion $v_P(x)$, im Gegensatz zu den Ansätzen (6), die auf zwei verschiedene Funktionen

$$v_P'(x)=\frac{n!}{(\nu-1)!\,(n-\nu)!}x^{\nu-1}(1-x)^{n-\nu}$$

$$v_P''(x)=\frac{n!}{\nu!\,(n-\nu-1)!}x^{\nu}(1-x)^{n-\nu-1}$$

führen. Auf diese Tatsache hat schon H. v. SCHELLING (1939) nachdrücklich hingewiesen und den Vorschlag gemacht, die Ansätze in der Form der Gleichungen (7) mit $h=\frac{1}{2}$ zu schreiben. Diese Definition der Mutungs-Grenzen führt zu einer speziellen Form der Funktion (9), die v. SCHELLING bereits 1937 (Astron. Nachr., Bd. 264, S. 30) veröffentlicht hatte:

$$\overline{v}_P(x)=\frac{1}{2}\left[\frac{n!}{(\nu-1)!\,(n-\nu)!}x^{\nu-1}(1-x)^{n-\nu}\right.$$

$$\left.+\frac{n!}{\nu!\,(n-\nu-1)!}x^{\nu}(1-x)^{n-\nu-1}\right]$$

oder einfacher

$$\overline{v}_P(x)=\frac{1}{2}\left(\frac{\nu}{x}+\frac{n-\nu}{1-x}\right)w_x(P) \qquad (11).$$

Somit hat v. SCHELLING — unabhängig von den FISHERschen Ueberlegungen — zum ersten Male eine dem BERNOULLIschen Problem adäquate Verteilungs-Funktion für die Rückschluß-Wahrscheinlichkeit gegeben. v. SCHELLING begründet seine Funktion durch die von ihm als Axiom aufgestellte, auf intuitivem Wege gefundene „Regel von der Reziprozität zwischen Ursache und Wirkung“:

„Die Wahrscheinlichkeit, daß ein wahrer Anteil x_0 unter n willkürlich ausgewählten Objekten n_1 oder mehr Merkmalsträger verursacht, ist ebenso groß wie die Wahrscheinlichkeit, daß der beobachtete Anteil $n_1:n$ auf einen wahren Anteil $x\leqq x_0$ zurückgeht.“

Diese „Reziprozitäts-Regel“ entspricht der von FISHER streng bewiesenen Tatsache, daß die *fiducial*-Wahrscheinlichkeit $W(\Theta\leqq\Theta_\varepsilon)$ gleich der Wahrscheinlichkeit $W(T\geqq T_\varepsilon)$ ist, wenn die Verteilung der Größe T kontinuierlich ist (vgl. S. 93/94). Da diese Voraussetzung jedoch für die BERNOULLIsche Verteilung $w_U(P)$ der Größe P nicht zutrifft, kann auch

die v. SCHELLINGsche Reziprozitäts-Regel nur als eine Näherung aufgefaßt werden, was in dem Vorhandensein der *Unsicherheit* $\varDelta$ zum Ausdruck kommt.

Es ist nun zu prüfen, ob die Wahl $h = \frac{1}{2}$ in jedem Falle gerechtfertigt ist. Zu diesem Zweck untersuchen wir, ob die für jede Wahrscheinlichkeits-Verteilung zu fordernde Beziehung

$$\int_{x=o}^{1} v_P(x)\,dx = 1 \tag{12}$$

für jeden möglichen Wert von P erfüllt ist.

Das ist nun bei der SCHELLINGschen Funktion für $P = 1$ und $P = 0$ nicht der Fall. Für $\nu = n$ wird $\eta = \frac{1}{2} x_1^n$. Lassen wir x_1 sämtliche Werte von 0 bis 1 durchlaufen, so erhalten wir für η die Grenzen 0 und $\frac{1}{2}$. Für $\nu = 0$ wird $\eta = 1 - \frac{1}{2}(1-x_1)^n$, und die Grenzen von η sind $\frac{1}{2}$ (für $x_1 = 0$) und 1 (für $x_1 = 1$). Für die Grenzfälle $\nu = n$ und $\nu = 0$ können also die vorzugebenden Wahrscheinlichkeits-Größen η und ζ nicht mehr willkürlich gewählt werden. Infolgedessen ist auch die Fundamental-Beziehung (12) für $P = 1$ und $P = 0$ nicht mehr erfüllt; denn

$$\int_{x=o}^{1} \bar{v}_1(x)\,dx = \int_{x=o}^{1} \frac{n}{2} x^{n-1}\,dx = \frac{1}{2},$$

$$\int_{x=o}^{1} \bar{v}_0(x)\,dx = \int_{x=o}^{1} \frac{n}{2} (1-x)^{n-1}\,dx = \frac{1}{2}.$$

Die SCHELLINGsche Funktion $\bar{v}_P(x)$ muß also für die Grenzfälle $P = 1$ und $P = 0$ versagen[1]). Ueberhaupt läßt sich leicht zeigen, daß jede Funktion mit konstantem h an den Grenzen $\nu = 0$ und $\nu = n$ versagen muß:

Die Antwort auf die Frage nach der Wahrscheinlichkeit, daß U (die „Ursache" von P) zwischen 0 und x liegt, verlangt eine Funktion, die von 0 bis 1 ansteigt, wenn x die Werte von 0 bis 1 durchläuft. Die Funktion (10a) mit $\nu = 0$

$$\int_{x=o}^{x_1} v_0(x)\,dx = 1 - h(1-x_1)^n$$

kann für $x_1 = 0$ nur dann gleich Null werden, wenn $h = 1$ wird, und ebenso kann die Funktion (10a) mit $\nu = n$

$$\int_{x=o}^{x_1} v_1(x)\,dx = x_1^n (1-h)$$

1) v. SCHELLING setzt für seine Funktion ausdrücklich voraus, „daß n_1 weder verschwindet noch gleich n wird".

für $x_1 = 1$ nur dann gleich 1 werden, wenn $h = 0$ wird. Es muß also h eine zwischen 0 und 1 verlaufende Funktion von ν sein, die für $\nu = 0$ den Wert 1 und für $\nu = n$ den Wert 0 annimmt. Diese Funktion $h(\nu)$ muß ferner der Bedingung

$$h(\nu) = 1 - h(n-\nu)$$

genügen. Diese Bedingung folgt aus der zur Wahrung der Symmetrie notwendigen Beziehung $v_P(x) = v_{1-P}(1-x)$.

Auf die Notwendigkeit dieser Beziehung hat mich Herr v. SCHELLING durch briefliche Mitteilung in freundlicher Weise aufmerksam gemacht. Die Symmetrie des BERNOULLIschen Theorems kommt in der Beziehung

$$w_x(P) = w_{1-x}(1-P)$$

zum Ausdruck, aus der die Gleichung $v_P(x) = v_{1-P}(1-x)$ folgt. Sie ist lediglich ein Ausdruck für die Tatsache, daß bei n Ziehungen aus einer Urne mit dem *wahren Wert* x für die Ziehung einer weißen (bzw. $1-x$ für die Ziehung einer schwarzen) Kugel die Ziehung von ν weißen Kugeln gleichbedeutend ist mit der Ziehung von $n-\nu$ schwarzen Kugeln.

Aus der Bedingung $h(\nu) = 1 - h(n-\nu)$ folgt, daß die Funktion $h(\nu)$ in dem Punkte $\nu = \frac{n}{2}$, $h = \frac{1}{2}$ eine zweizählige Symmetrie-(Dreh)-Achse besitzt. Die einfachste Funktion mit $h(0) = 1$, die dieser Anforderung genügt, ist die Gerade

$$h(\nu) = \frac{n-\nu}{n}.$$

Aber auch z. B. die Funktion

$$h(\nu) = \frac{1}{2} \cos \frac{\nu}{n} \pi + \frac{1}{2}$$

erfüllt die Bedingungen. Man kann nun nicht behaupten, daß die eine Funktion „besser" (im Sinne von „der Wahrheit mehr entsprechend") sei als die andere. Lediglich die bei der Bildung der Wahrscheinlichkeits-Kollektive auftretenden „*Unsicherheiten*" $\varDelta$ sind verschieden. Da man aber über diese Größen ohne Kenntnis von U keine Aussagen machen kann, ist es auch nicht möglich, der einen oder anderen Bestimmung von h den Vorzug zu geben. Damit dürfte die Wahl der formal einfachsten Bestimmung $h = \frac{n-\nu}{n}$ genügend gerechtfertigt sein, und wir schreiben die Verteilungs-Funktion

$$\begin{aligned} v_P(x) = {} & \frac{\nu(n-1)!}{(\nu-1)!\,(n-\nu)!} x^{\nu-1} (1-x)^{n-\nu} \\ & + \frac{(n-\nu)(n-1)!}{\nu!\,(n-\nu-1)!} x^{\nu} (1-x)^{n-\nu-1} \end{aligned} \tag{13}$$

oder einfacher

$$v_P(x) = \frac{1}{n} \left(\frac{\nu^2}{x} + \frac{(n-\nu)^2}{1-x} \right) w_x(P) \tag{13a}$$

Noch in anderer Hinsicht zeigt sich die Funktion $v_P(x)$ mit $h = \frac{n-\nu}{n}$ der SCHELLINGschen Funktion überlegen. Während bei der Funktion $\overline{v}_P(x)$ der Maximalwert durch den sehr komplizierten Ausdruck

$$x_{\max} = \frac{\nu(\nu-1) - \sqrt{\nu(\nu-1)(n-\nu)(n-\nu-1)}}{(2\nu-n)(n-1)}$$

gegeben ist, gilt für $v_P(x)$ die einfache Beziehung

$$x_{\max} = \frac{\nu}{n} = P.$$

Das ist ein außerordentlich plausibles Ergebnis. Es ist — wenn man von der *Unsicherheit* Δ absieht — nicht einzusehen, daß ein Wert $x \neq P$ eine größere Wahrscheinlichkeits-Dichte besitzen sollte als der beobachtete Wert P selber.

Auch für die BAYESsche Verteilungs-Funktion ist $x_{\max} = P$. Infolgedessen nähert sich die Funktion $v_P(x)$ der BAYESschen Verteilungs-Funktion noch mehr, als das die SCHELLINGsche Funktion (vgl. v. SCHELLING 1937) bereits tut.

Bei der SCHELLINGschen Funktion liegt der Wert $P = \frac{\nu}{n}$, abgesehen von den Grenzfällen $\nu = o$ und $\nu = n$, zwischen dem Erwartungswert $a_{\overline{v}} = \frac{\nu + \frac{1}{2}}{n+1}$ und dem Maximalwert, also in der Nähe des Zentralwertes.

Wenn auch die BAYESsche Funktion als eine in logischer Hinsicht falsche Lösung für das Rückschluß-Problem aufzufassen ist, so erklärt doch die weitgehende Uebereinstimmung der Funktions-Werte die Zähigkeit, mit der so lange Zeit hindurch an der BAYESschen Lösung festgehalten wurde.

IV.

Eigenartig ist die Interpretation der Funktion $v_P(x)$ als Verteilung. Was hat man sich als „verteilt" vorzustellen? Hier tritt der Unterschied zwischen dem BAYESschen Theorem und dem Theorem der Rückschluß-Wahrscheinlichkeit für das BERNOULLIsche Problem besonders deutlich in Erscheinung.

Bei der BAYESschen Verteilung (Abb. 4: gestrichelte Kurve)

$$b_P(x) = (n+1)\binom{n}{\nu} x^{\nu}(1-x)^{n-\nu} \tag{14}$$

stellt die Fläche zwischen zwei Abszissen x_1 und x_2 die zu erwartende relative Häufigkeit eines bestimmten Ergebnisses $P_a = \frac{\nu_a}{n}$ aus den Urnen mit $x_1 \leqq U \leqq x_2$ bezogen auf die Häufigkeit des Ergebnisses P_a aus sämtlichen in Betracht kommenden Urnen $(O \leqq U \leqq 1)$ dar.

Die zwischen x_1 und x_2 liegende Fläche der Kurve $v_P(x)$ (Abb. 4: ausgezogene Kurve) stellt dagegen die — abgesehen von Δ — zu erwartende relative Häufigkeit der Mutungs-Bereiche dar, die den *wahren Wert U* einschließen. Hier wird das Wahrscheinlichkeits-Kollektiv aus sämtlichen N Ergebnissen P, die $n+1$ verschiedene Werte besitzen können, gebildet, und zwar nehmen wir zunächst an, daß alle P-Werte aus der gleichen Urne mit dem *wahren Wert U* stammen.

Um das graphisch zu veranschaulichen, brauchen wir zwei Abszissen-Achsen: Eine für die $n+1$ verschiedenen P-Werte und eine für die x-Werte. Auf der P-Achse stellen wir die BERNOULLIsche Verteilung der P-Werte für den *wahren Wert U* dar, auf den $n+1$ Parallelen zur x-Achse werden die durch die Gleichungen (7) definierten Mutungs-Bereiche eingetragen.

Die ausgezogene Kurve in Abb. 4 stellt die Funktion $v_P(x)$

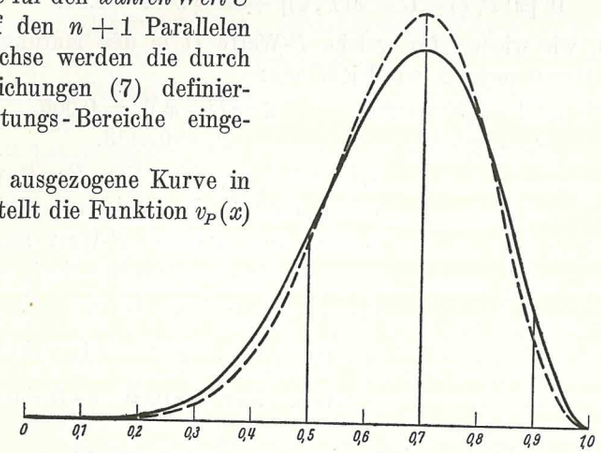


Abb. 4. Die Kurven der Funktionen $v_P(x)$ ——— und $b_P(x)$ — — — für $P = {}^7/_{10}$.

für $n = 10$ und $P = 0.7$ dar. Die Fläche zwischen den Punkten $x_1 = 0.5$ und $x_2 = 0{,}9$ wird dargestellt durch das Integral

$$\int_{x=0.5}^{0.9} v_{0.7}(x)\,dx = 1 - \eta - \zeta.$$

Nach (7a) und (7b) finden wir

$$\eta = 0.1367,$$
$$\zeta = 0.0284.$$

Daraus folgt:

$$W(0.5 < U < 0.9) + \Delta = 0.8349.$$

Abb. 5 gibt die graphische Veranschaulichung dieser Wahrscheinlichkeits-Aussage. Zu jedem der 11 P-Werte sind die Mutungs-Grenzen x_1 für $\eta = 0.1367$ und x_2 für $\zeta = 0.0284$ eingetragen. Die P-Werte, deren Mutungs-Bereich den *wahren Wert* $\frac{1}{3}$ einschließt, sind: 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5. Ihr Anteil an der P-Verteilung ist 0.9061. Der vorgegebene Mutungs-Koeffizient $1-\varepsilon = 1-\eta-\zeta$ war 0.8349. Die Differenz zwischen $1-\varepsilon$ und dem Anteil

der P, deren Mutungs-Bereich den Wert $\frac{1}{3}$ einschließt, ist $\Delta = -0.0712$; das ist die *Unsicherheit* der — ohne Kenntnis von U — gemachten Wahrscheinlichkeits-Aussage.

Wir haben für η und ζ ziemlich große Werte gewählt und mußten deshalb mit einem verhältnismäßig großen absoluten Betrag der *Unsicherheit* rechnen. Bei einem kleineren Wert für ε wird auch der absolute Betrag der *Unsicherheit* kleiner ausfallen. Allerdings sind durch den niedrigen Wert von n der Verkleinerung von Δ Grenzen gesetzt. Wir wählen der Einfachheit halber $\eta = \zeta = \frac{\varepsilon}{2} = 0.005$. Dann ist

$$W\,[x(P,\eta) < U < x(P,\zeta)] + \Delta = 1 - \varepsilon = 0.99.$$

Nun prüfen wir wieder, für welche P-Werte U in den Mutungs-Bereich fällt. Für $P = 0$ rechnen wir leicht aus:

$$1-\eta = (1-x_1)^{10} = 0.995, \qquad \zeta = (1-x_2)^{10} = 0.005,$$
$$x_1 = 0.0005. \qquad x_2 = 0.4113.$$

Wir sehen, bereits für $P = 0$ wird der *wahre Wert* $\frac{1}{3}$ eingeschlossen. Um festzustellen, von welchem P-Wert an U nicht mehr im Mutungs-Bereich liegt, setzen wir $x_1 = \frac{1}{3}$ und rechnen das nach (7a) sich ergebende η aus. Für $\nu = 10$ wird $\eta = \frac{1}{3^{10}} < 0.005$. Für $\eta = 0.005$ muß daher $x_1 > \frac{1}{3}$

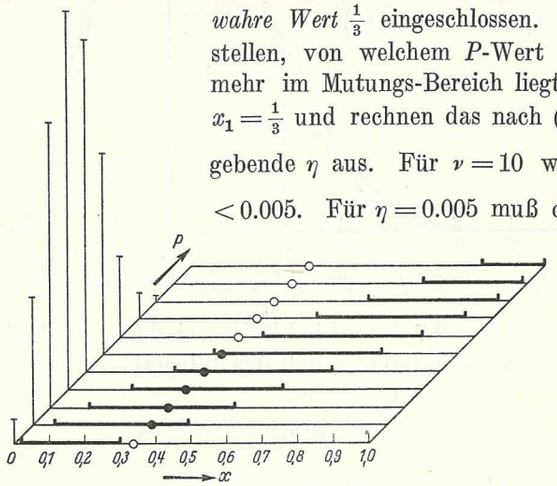


Abb. 5.

sein. Das gleiche finden wir für $\nu = 9$ und für $\nu = 8$. Für $\nu = 7$ wird $\eta = 0.01475$, d. h. für $\eta = 0.005$ muß $x_1 < \frac{1}{3}$ sein. $U = \frac{1}{3}$ kommt also nur für $P = 0.8$, 0.9 und 1 außerhalb des Mutungs-Bereiches zu liegen. Die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten dieser P-Werte ist 0.0034, also die „wahre" Wahrscheinlichkeit, daß $\frac{1}{3}$ in den Mutungs-Bereich fällt: 0.9966. Da als Mutungs-Koeffizient $1-\varepsilon = 0.99$ gewählt wurde, ist die *Unsicherheit* der Wahrscheinlichkeits-Aussage $\Delta = -0.0066$.

Umständlicher wird die graphische Darstellung, wenn wir annehmen, daß die N Ergebnisse P nicht aus der gleichen Urne gewonnen sind. Man

denkt sich dann das Gesamt-Kollektiv in so viele Einzel-Kollektive zerlegt, als Urnen in Frage kommen. Für jede einzelne Urne ist eine besondere Darstellung in der Art von Abb. 4 erforderlich, und ebensoviele verschiedene Werte von Δ werden sich daraus ergeben. Faßt man schließlich alle Teilergebnisse zusammen, so gewinnt man durch Summation der Δ-Werte aus den Teil-Kollektiven die *Unsicherheit* $\overline{\Delta}$ *der Wahrscheinlichkeits-Aussage.* Haben die einzelnen Urnen die Apriori-Wahrscheinlichkeiten $\alpha_1, \alpha_2, \ldots \alpha_s$ und die zugehörigen Teil-Kollektive die *Unsicherheiten* $\Delta_1, \Delta_2 \ldots \Delta_s$, so ist

$$\overline{\Delta} = \alpha_1 \Delta_1 + \alpha_2 \Delta_2 + \ldots + \alpha_s \Delta_s,$$

worin $\alpha_1 + \alpha_2 + \ldots + \alpha_s = 1$ zu setzen ist. Daraus folgt

$$|\overline{\Delta}| \leqq \alpha_1 |\Delta_1| + \alpha_2 |\Delta_2| + \ldots + \alpha_s |\Delta_s| \leqq (\alpha_1 + \alpha_2 + \ldots + \alpha_s)\,|\Delta_m|$$
$$|\overline{\Delta}| \leqq |\Delta_m|,$$

wenn mit Δ_m die ihrem absoluten Betrag nach größte *Teil-Unsicherheit* bezeichnet wird.

Damit haben wir die dem Fisherschen Gedankengang entsprechende Wahrscheinlichkeits-Betrachtung bei *diskontinuierlicher Ausgangs-Verteilung* für *beliebig viele verschiedene Werte* von U durchgeführt.

Die Frage nach der Wahrscheinlichkeit, daß der *wahre Wert* der Urne, aus der das Ergebnis $P = \frac{\nu}{n}$ gewonnen wurde, zwischen zwei Grenzen x_1 und x_2 liegt, kann — sofern mehrere Urnen in Frage kommen — auch durch das Bayessche Theorem beantwortet werden. Allerdings ist dann die Angabe der Häufigkeit, mit der jede Urne zu einer Stichproben-Entnahme herangezogen wird („Wahrscheinlichkeit a priori"), erforderlich. Steht diese Angabe zur Verfügung, dann erhebt sich die Frage, welchem von beiden zur Beantwortung der Frage möglichen Wegen der Vorzug zu geben ist.

Die eigenartige logische Schwierigkeit dieser Frage steht etwa auf der gleichen Stufe mit folgendem Problem: Einer Lebensversicherungs-Anstalt stehen für eine neu abzuschließende Versicherung zwei Sterbetafeln zur Verfügung. Die eine umfaßt die gesamte Bevölkerung, die andere nur den Berufsstand des Versicherungs-Nehmers. Das Zahlen-Material beider Tafeln möge mit etwa gleich großen Fehlern behaftet sein. Für welche von beiden Tafeln soll sich die Versicherungs-Anstalt entscheiden, wenn die Lebens-Erwartungen der beiden Tafeln beträchtlich verschieden sind?

Es ist anzunehmen, daß die Entscheidung zugunsten der berufsständischen Tafel fallen wird. Aber warum? Der tiefere Grund dürfte wohl darin zu suchen sein, daß die Sterbe-Tafel für den engeren Kreis eine enger begrenzte und darum genauere Angabe darstellt als die umfassendere Tafel, die nur Durchschnitts-Werte durch sämtliche Berufs-Klassen enthält.

Aus dem gleichen Grund dürfte auch der Bayesschen Lösung der Vorzug zu geben sein; denn sie berücksichtigt alle zur Verfügung stehenden Angaben, während das Rückschluß-Theorem die zusätzliche Angabe über die Verteilung der Apriori-Wahrscheinlichkeiten unberücksichtigt läßt.

V.

Eine besondere Beachtung verdienen die Grenzfälle $P = 0$ und $P = 1$. Da der Fall $P = 1$ durch Vertauschen von P mit $1-P$ in den Fall $P = 0$ übergeht, brauchen wir uns grundsätzlich nur mit einem der beiden Grenzfälle zu befassen.

Wenn ein Ergebnis $P = 0$ vorliegt, bestehen zwei scharf voneinander zu trennende Möglichkeiten: Entweder ist $U = 0$, d. h. in der Urne sind nur schwarze Kugeln enthalten. Dann gibt es keine Verteilung der P-Werte mehr, denn sämtliche Ergebnisse aus der Urne mit $U = 0$ haben den Wert 0. Oder U liegt zwischen 0 und 1 ($0 < U < 1$). Nur in diesem Falle gibt es eine Verteilung der P-Werte. Liegt also ein Ergebnis $P = 0$ vor, dann ist eine Wahrscheinlichkeits-Aussage über die Lage von U nur möglich unter der Annahme $U \neq 0$. Die Möglichkeit, daß U auch Null sein kann, muß stets offengelassen werden. Es wäre aber sinnlos, nach der Häufigkeit („Wahrscheinlichkeit") zu fragen, mit welcher $U = 0$ bzw. $U > 0$ ist. Diesem logischen Sachverhalt trägt die Formel (8) Rechnung, die ausdrückt, daß x_1 und x_2 außerhalb des Mutungs-Bereiches liegen. Wenn also $x_1 = 0$ gesetzt wird, so wird schon durch die Schreibweise $W(0 < U < x_2)$ zum Ausdruck gebracht, daß die Wahrscheinlichkeits-Aussage nur unter der Voraussetzung $U \neq 0$ gemacht ist.

Die Funktion $v_P(x)$ für den Grenzfall $P = 0$

$$v_0(x) = n\,(1-x)^{n-1} \tag{15}$$

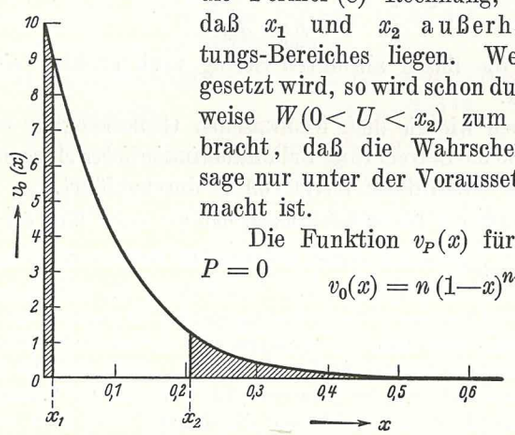


Abb. 6. Die Funktion $v_0(x) = n(1-x)^{n-1}$ mit der Abgrenzung gleicher Anteile η und ζ.

ist in dem definierten Bereich $0 \leqq x \leqq 1$ monoton abnehmend (Abb. 6). Bemerkenswert ist, daß für $x = P = 0$ der Differential-Quotient

$$\frac{dv}{dx} = -n\,(n-1)\,(1-x)^{n-2}$$

nicht verschwindet, wohl aber für $x = 1$. Die Kurve ist für $n > 2$ im Bereich $0 \leqq x \leqq 1$ konvex zur x-Achse. Der Maximalwert ist $v_0(0) = n$, der Minimalwert $v_0(1) = 0$.

Die Formeln für die Mutungs-Grenzen werden für $P = 0$ sehr einfach:

$$x_1 = 1 - \sqrt[n]{1-\eta}, \qquad x_2 = 1 - \sqrt[n]{\zeta}.$$

Wir haben seither η und ζ als willkürlich vorzugebende Größen aufgefaßt. Für den Grenzfall $P = 0$ können wir diese Auffassung nicht mehr aufrechterhalten. Wählen wir nämlich $\eta > 0$, dann wird auch $x_1 > 0$. Damit schließen wir aber gerade die Werte mit der größten Wahrscheinlichkeits-Dichte aus dem Mutungs-Bereich $x_1 < U < x_2$ aus. Wir müssen also, um

für den Fall $P = 0$ einen sinngemäßen Mutungs-Bereich zu bekommen, $\eta = 0$ wählen. Damit erhalten wir den Mutungs-Bereich $0 < U < x_2$. ζ wird dann gleich dem gesamten abzugrenzenden Wahrscheinlichkeits-Anteil ε, also

$$x_1 = 0, \qquad x_2 = 1 - \sqrt[n]{\varepsilon} \tag{16}$$

Es bleibt nun noch die Aufgabe übrig, ganz allgemein den vorgegebenen Wahrscheinlichkeits-Anteil auf die Größen η und ζ sinngemäß zu verteilen.

Geschieht die Abgrenzung zu dem Zweck, eine Auslese unter den möglichen Varianten zu treffen, dann hat eine solche Auslese nur dann einen Sinn, wenn sie entsprechend der Häufigkeit der Varianten erfolgt. Es sind also zunächst die „seltensten" Varianten, d. h. die mit der geringsten Wahrscheinlichkeit, auszuschließen, dann die weniger seltenen und so fort, bis der verlangte Anteil erreicht ist. Handelt es sich um eine stetige Verteilung, so ist die der Größe ε entsprechende Restfläche so zu bestimmen, daß die Wahrscheinlichkeits-Dichte für alle auszuschließenden x-Werte kleiner ist als für alle zuzulassenden. Ist die Verteilungs-Kurve glockenförmig, dann muß die Wahrscheinlichkeits-Dichte für die linke Mutungs-Grenze gleich der Wahrscheinlichkeits-Dichte für die rechte Mutungs-Grenze sein, d. h. $v_P(x_1) = v_P(x_2)$.

Die Bestimmung von x_1 und x_2 aus den Bedingungen

$$\left| \begin{array}{l} \eta + \zeta = \varepsilon \\ v_P(x_1) = v_P(x_2) \end{array} \right| \tag{17}$$

ist für die numerische Rechnung unbrauchbar, da sie langwierige Interpolationen erfordert. Eine in vielen Fällen ausreichende Näherung stellen die Ausdrücke

$$\eta = \frac{\nu}{n}\varepsilon, \qquad \zeta = \frac{n-\nu}{n}\,\varepsilon \tag{18}$$

dar, die für $\nu = 0$, $\frac{n}{2}$ und n sogar die richtigen Werte $\eta = 0$, $\frac{\varepsilon}{2}$ und ε bzw. $\zeta = \varepsilon$, $\frac{\varepsilon}{2}$ und 0 liefern.

Die von ν unabhängige Vorgabe von η kann unter Umständen zu einer sinnlosen Wahrscheinlichkeits-Aussage führen, nämlich dann, wenn U sehr nahe bei 0 liegt. Das ist der Fall, wenn für einen positiven Wert von η die untere Mutungs-Grenze (x_1) bereits für $\nu = 0$ (Abb. 6) größer oder gleich U ist; denn dann ist für $\nu > 0$ erst recht $x_1 > U$. Das bedeutet aber, daß U niemals zwischen x_1 und x_2 liegen kann, so groß auch das Kollektiv der P-Werte gemacht wird. Infolgedessen ist (nach 8a)

$$W(x_1 \geqq U) = \eta + \Delta_1 = 1,$$

d. h. je kleiner η, um so größer die *Unsicherheit* Δ_1.

Wird η dagegen aus (17) bestimmt, so ist zumindest für $P = 0$ $x_1 < U$. Wenn es sich um ein sehr kleines U handelt, das Ergebnis $P = 0$ also das weitaus häufigste ist, ist die Aussage $x_1 < U$ „fast immer" richtig. Dafür ist jetzt die Aussage $x_2 \leqq U$

für jeden P-Wert falsch, sobald $\zeta < w_U(0)$ ist; denn bereits für $\nu = 0$ ist nach (7b) $\zeta = w_{x_2}(0)$, also $x_2 > U$, d. h. die Aussage, daß in $\zeta + \Delta_2$ Fällen $x_2 \leqq U$ sei, ist nur richtig, wenn $\zeta = -\Delta_2$ ist. Die *Unsicherheit* der Wahrscheinlichkeits-Aussage ist also ihrem absoluten Betrag nach so groß wie der vorgegebene Wahrscheinlichkeits-Anteil.

Nun läßt sich für jedes $U > 0$, so klein es auch sein möge, durch Vergrößerung von n stets erreichen, daß $w_U(0) < \zeta$ wird. Das bedeutet aber, daß auch hier die *Unsicherheit* Δ_2 für $n \to \infty$ verschwindet.

Werfen wir noch einen Rückblick auf das der Wahrscheinlichkeits-Aussage (8) zugrunde liegende Kollektiv. Dieses wird unter Beibehaltung der einmal gewählten Werte von η und ζ aus den den Ergebnissen $P = \frac{\nu}{n}$ zugeordneten Mutungs-Bereichen gebildet. Wenn nun zu einem bestimmten Ergebnis $P_a = \frac{\nu_a}{n}$ der Mutungs-Bereich für ein vorgegebenes ε nach (17) abgegrenzt wird, dann hat das zugehörige Wahrscheinlichkeits-Kollektiv, das alle $n+1$ möglichen verschiedenen P-Werte umfaßt, nur fiktiven Charakter; denn für alle $P \neq P_a$ kann die Abgrenzung des Mutungs-Bereiches nicht mehr sinngemäß sein, wenn für die Abgrenzung der übrigen n möglichen Mutungs-Bereiche die für P_a nach (17) ermittelten Werte $\eta = \varepsilon - \zeta = f(\varepsilon, \nu_a)$ beibehalten werden sollen.

Es liegt deshalb nahe, die Konstanz von η und ζ aufzugeben und zu jedem möglichen Ergebnis $P_i = \frac{\nu_i}{n}$ den Mutungs-Bereich mit $\eta_i = f(\varepsilon, \nu_i)$ abzugrenzen. Natürlich verschieben sich die Mutungs-Grenzen gegenüber dem Verfahren mit konstantem η und ζ etwas, und es kann vorkommen, daß der neue Mutungs-Bereich den *wahren Wert* nicht mehr einschließt, während das bei konstantem η und ζ der Fall war, oder umgekehrt. Das bedeutet aber nur, daß die *Unsicherheit* Δ sich möglicherweise ändert. Im übrigen bleibt die Wahrscheinlichkeits-Aussage (8) davon unberührt.

VI.

Zur numerischen Berechnung der Mutungs-Grenzen sind die Definitions-Gleichungen (7) — ebenso wie die Gleichungen (6) — unbrauchbar. Man ist daher auf Näherungs-Verfahren angewiesen. Ob man nun die Mutungs-Grenzen nach Clopper u. Pearson durch graphische Umkehrung der „strengen" Ansätze ermittelt oder ob man sie nach der numerisch verhältnismäßig einfachen Formel von Prigge (1937)

$$x = \frac{2\nu + k^2 \pm k\sqrt{4P(n-\nu) + k^2}}{2(n + k^2)} \tag{19}$$

errechnet, spielt praktisch keine nennenswerte Rolle. Der durch den Laplaceschen Grenzübergang bedingten Ungenauigkeit von (19) steht bei der graphischen Methode die beschränkte Ablese-Genauigkeit gegenüber (vgl. auch S. 94).

Auch die Funktion $v_P(x)$ läßt sich zur näherungsweisen Bestimmung der Mutungs-Grenzen heranziehen; denn auch sie geht für $n \to \infty$ in die Form der Gaussschen Normal-Verteilung über:

$$\lim_{n \to \infty} v_P(x) = \frac{1}{\sigma_v \sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-a_v)^2}{2\sigma_v^2}}$$

Für die Mutungs-Grenzen gilt die Beziehung

$$x = a_v \pm k\sigma_v \tag{20}$$

wobei k, ebenso wie bei (19)[1], durch das Gaussische Fehler-Integral

$$\Phi(k) = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{t=0}^{k} e^{-\frac{t^2}{2}} dt \tag{21}$$

bestimmt wird[2]). Die Größen a_v und σ_v sind nach (9a) und (9b) für $h = 1 - \frac{\nu}{n}$ zu berechnen. Allerdings stimmen die nach (20) ermittelten Mutungs-Grenzen mit den durch (7) definierten Werten weniger gut überein als die nach der Priggeschen Formel (19) berechneten. Der Grund dafür ist der, daß der Ersatz von $v_P(x)$ durch die Gaussische Verteilung nur für nicht zu nahe bei 0 (bzw. 1) liegende Werte genau genug ist. Für kleines P ist auch a_v klein und infolgedessen die Formel (20) zu ungenau. Die nach (19) berechnete obere Mutungs-Grenze (x_2) dagegen ist auch bei kleinem P noch groß genug, um die Anwendung der Formel $P = x_2 - k\sqrt{\frac{x_2(1-x_2)}{n}}$ zu gestatten. Die untere Mutungs-Grenze (x_1) liegt aber so nahe bei 0, daß ihre genaue Bestimmung mehr oder weniger belanglos ist.

Zugunsten der Priggeschen Umkehr-Formel (19) spricht noch der Umstand, daß für $P > 0$, auch wenn es sehr nahe bei 0 liegt, x_1 immer

1) Die der Formel (19) entsprechende Wahrscheinlichkeits-Funktion ist (als Funktion von $x_2 - x_1 = \frac{k\sqrt{4P(n-\nu) + k^2}}{n + k^2}$ geschrieben)

$$\frac{2}{\sqrt{2\pi}} \int_{t=0}^{k} e^{-\frac{t^2}{2}} dt = \Psi(x_2 - x_1) \tag{19a}$$

Sie verläuft mit $x_2 - x_1$ von 0 bis 1. Als Verteilungs-Funktion geschrieben ergibt sich die Form

$$\psi(x_2 - x_1) = \frac{d\Psi}{d(x_2 - x_1)} = \frac{2}{\sqrt{2\pi}} e^{\frac{k^2}{2}} \cdot \frac{dk}{d(x_2 - x_1)}.$$

Die Bestimmung der Mutungs-Grenzen auf Grund der Wahrscheinlichkeits-Funktion (19a) führt selbstverständlich auf Gl. (19).

2) Eine geeignete Tabelle dieses Integrals findet sich u. a. in dem kleinen „Handbuch der mathematischen Statistik" von Rietz-Baur (erschienen bei Teubner, Leipzig u. Berlin 1930).

positiv bleibt, während nach der direkten Formel (20) x_1 für $k > 1$ negative Werte annehmen kann, die an sich keinen Sinn haben.

Die PRIGGESche Funktion (19) ist, wie bereits erwähnt, von v. SCHELLING ausführlich tabuliert worden, und zwar für $k = 1$, 2 und 3.

Für kleine Werte von P vereinfacht sich bei genügend großen Werten von n die PRIGGESche Umkehr-Formel (19) sehr beträchtlich: Wenn P sehr klein ist, kann der Faktor $1-P$ gleich 1 gesetzt werden. Ferner unterscheidet sich für kleines k die Größe $n + k^2$ nur wenig von n. Multipliziert man die Gleichung (19) mit n, so folgt

$$nx = \nu + \frac{k^2}{2} \pm \frac{k}{2}\sqrt{4\nu + k^2} \qquad (21).$$

Auch für diese Funktion[1]) hat v. SCHELLING eine Tafel berechnet, die die Mutungs-Grenzen multipliziert mit n für $P < 0.02$ gibt (v. SCHELLING 1939).

Die Forderung der Gleichungen (17) läßt sich allerdings bei Benützung von Gleichung (21) nicht ohne weiteres erfüllen. Jedoch kann man auch hier mit Hilfe der Näherungs-Formeln (18) zu brauchbaren Ergebnissen gelangen, wenn man die den Größen $\eta = \frac{\nu}{n}\varepsilon$ und $\zeta = \frac{n-\nu}{n}\varepsilon$ entsprechenden k-Werte aus einer Tabelle des GAUSSschen Fehlerintegrals ermittelt und für die beiden Werte k_1 und k_2 die Mutungs-Grenzen x_1 und x_2 nach (21) ausrechnet.

Mit Hilfe der Funktion $v_P(x)$ ist es möglich, die Forderung (17) auf unmittelbarem Wege zu erfüllen. Die der POISSONschen Grenz-Formel für kleine Werte von U entsprechende Funktion für die BAYESsche Verteilung $b_P(x)$ ist von Hilde POLLACZEK-GEIRINGER (1925) entwickelt worden:

$$b_\nu(nx) = \frac{n}{\nu!}(nx)^\nu e^{-nx}.$$

Das Integral $\int_0^{x_i} b_\nu(nx)\,dx$ geht mit Hilfe der Substitution $nx = z$ in die Form

$$\int_0^{x_i} b_\nu(nx)\,dx = \frac{1}{\nu!}\int_0^{z_i} z^\nu e^{-z}\,dz$$

über, die bis auf den Faktor $\frac{1}{\nu!}$ die „unvollständige Γ-Funktion" EULERS darstellt. Sie ist tabuliert von Karl PEARSON (1934).

Wenn ν klein gegenüber n ist, dann nähert sich der Faktor $1-h = \frac{\nu}{n}$ im ersten Summanden der Funktion $v_P(x)$ (Formel 9, S. 100) der 0 und entsprechend der Faktor $h = \frac{n-\nu}{n}$ im zweiten Summanden der 1, so daß man schreiben kann

$$v_P(x) \to n\binom{n-1}{\nu} x^\nu (1-x)^{n-\nu-1} = b_{\frac{\nu}{n-1}}(x) \to b_\nu((n-1)x)$$

Es gilt also in guter Annäherung

$$\int_0^{x_i} v_P(x)\,dx = \frac{1}{\nu!}\int_0^{z_i} z^\nu e^{-z}\,dz \qquad (22),$$

wobei $z_i = (n-1)\,x_i$ zu setzen ist.

Wir wollen nun die beiden Verfahren (21) und (22) zur Bestimmung der Mutungs-Grenzen für kleine P miteinander vergleichen. Für $k = 2$ und $\nu = 3$ entnehmen wir der SCHELLINGschen Tafel IV (l. c. S. 53) die mit n multiplizierten Mutungs-Bereiche

$$a' = nx_1 = 1.00, \qquad a'' = nx_2 = 9.00.$$

Für $n = 100$ erhalten wir: $x_1 = 0.01$ und $x_2 = 0.09$. Der Größe $k = 2$ entspricht als vorzugebender Wahrscheinlichkeits-Anteil $\eta = 0.02275$. Die PEARSONsche Tafel der unvollständigen Γ-Funktion liefert für $I(u,3) = 0.02275$ das Argument $u = 0.525$. Nun ist

$$I(u,\nu) = \frac{1}{\nu!}\int_0^{u\sqrt{\nu+1}} z^\nu e^{-z}\,dz,$$

d. h. $z_1 = (n-1)\,x_1 = u\sqrt{\nu+1} = 1.05$. Entsprechend finden wir für $I(u,3) = 1-\eta = 0.97725$ das Argument $u = 4.453$, dem der Wert $z_2 = (n-1)\,x_2 = 8.91$ entspricht. Für $n = 100$ ist $x_1 = 0.0106$ und $x_2 = 0.0900$. Die Uebereinstimmung der Mutungs-Grenzen ist trotz der Verschiedenheit der beiden Näherungs-Methoden überaus gut. Dabei ist für $n = 100$ und $\nu = 3$ $P = 0.03$, also größer als die von v. SCHELLING für die Anwendbarkeit der Formel (21) geforderte obere Grenze von P.

Wir kommen jetzt zur Bestimmung der Mutungs-Grenzen für die Bedingungen (17) bzw. (18).

Die den strengen Bedingungen (17) genügenden Werte können nur durch umständliche und zeitraubende Interpolations-Rechnung gewonnen werden. Die unter Benützung von (22) ermittelten, der Formel (17) genügenden Werte sind $\eta = 0.005$, $\zeta = 0.0405$, $x_1 = 0.0066$ und $x_2 = 0.0816$. Die Abweichungen von den für $\eta = \zeta$ gefundenen Werten sind recht beträchtlich.

Für die genäherten Bedingungen (18) ergeben sich nach (22) folgende Näherungs-Werte: Für $\varepsilon = 0.0455$ und $n = 100$ ist $\eta = 0.03\,\varepsilon = 0.001365$ und $\zeta = 0.97\,\varepsilon = 0.044135$. Zu $I(u,3) = \eta$ finden wir aus den PEARSONschen Tafeln $u = 0.223$ und für $I(u,3) = 1-\zeta$ ist $u = 3.971$. Daraus ergeben sich $(n-1)\,x_1 = 0.446$ und $(n-1)\,x_2 = 7.942$. Für $n = 100$ ist $x_1 = 0.0045$ und $x_2 = 0.0802$.

1) Formel (21) findet sich auch bei W. E. RICKER (Juni 1937). Die RICKERsche Arbeit ist jedoch erst nach der PRIGGEschen Mitteilung (März 1937) veröffentlicht worden.

Nun wollen wir die Rechnung nach der Formel (21) durchführen. Aus einer Tabelle des Gaussschen Fehler-Integrals finden wir nach (20a) für $\eta = \frac{1}{2} - \Phi(k_1) = 0.001365$ $k_1 = 3.00$ und entnehmen der Schellingschen Tafel IV für $k = 3$ den Wert $a' = nx_1 = 0.63$. Für $\zeta = \frac{1}{2} - \Phi(k_2) = 0.044135$ finden wir $k_2 = 1.746$ und rechnen nach (21) aus: $nx_2 = 7.41$. Für $n = 100$ finden wir $x_1 = 0.0063$ und $x_2 = 0.0741$.

Die Uebereinstimmung zwischen den „strengen", die Bedingungen (17) erfüllenden Werten und den für (18) nach (22) bzw. (21) berechneten Näherungs-Werten ist, wie wir sehen, teilweise recht gut.

Für den Fall $P = 0$ können die durch (7) definierten Werte direkt — nach (16) — berechnet werden. Für $\varepsilon = 0.0455$ und $n = 100$ finden wir $x_2 = 1 - \sqrt[100]{\varepsilon} = 0.0304$. Aus den Pearsonschen Tafeln entnehmen wir zu $I(u,0) = 1 - \varepsilon = 0.9545$ als Argument $u = 3.0905$. Daraus ergibt sich für $n = 100$ $x_2 = 0.0312$. Die Uebereinstimmung zwischen den beiden x_2-Werten ist sehr gut.

Auch nach (21) erhält man für $P = 0$ noch ausreichende Uebereinstimmung. Aus $\varepsilon = 0.0455 = \frac{1}{2} - \Phi(k_2)$ finden wir für k_2 den Wert 1.69 und rechnen nach (21) für $\nu = 0$ leicht aus: $nx_2 = 2.86$. Für $n = 100$ ergibt sich $x_2 = 0.0286$.

Literatur.

1906 Bruns, H., Wahrscheinlichkeits-Rechnung und Kollektiv-Maßlehre. Leipzig.
1925 Pollaczek-Geiringer, Hilde, Zeitschr. f. angew. Math. u. Mech. **5**, 493—501.
1928 Poll, H., Klin. Wschr. S. 1777—1788.
1930 Fisher, R. A., Proceedings of the Cambridge Philos. Society **26**, 528—535.
1933 Poll, H., Med. Welt **7**, Nr. 38/39.
1933 Neyman, J., u. Pearson, E. S., Philos. Trans. Roy. Soc. London A **231**, 289—337.
1933 — — Proceed. of the Cambr. Philos. Soc. **29**, 492—510.
1934 Clopper, C. J., u. Pearson, E. S., Biometrika **26**, 404—413.
1934 Pearson, Karl, Tables of the Incomplete Γ-Function. Cambridge, Univ. Press.
1936 van der Waerden, B. L., Ber. d. Sächs. Akad. d. Wiss. **58**, 21—30.
1937 (März) Prigge, R., Naturwiss. **25**, 169—170.
1937 (Juni) Ricker, W. E., Journ. Amer. Stat. Assoc. **32**, 349—356.
1937 (Okt.) von Schelling, H., Astron. Nachr. Nr. 6314, **264**, 30—31.
1938 von Schelling, H., Arb. a. d. Staatl. Inst. f. exp. Therapie u. d. Forschungsinst. f. Chemother. zu Frankfurt a. M. Heft 35, 69—112.
1939 — Arb. a. d. Staatl. Inst. Heft 37, 28—54.
1939 Prigge, R., u. Schäfer, W., Arch. f. exp. Path. u. Pharm. **191**, 281—310.

Frommannsche Buchdruckerei (Hermann Pohle) in Jena. — 6816