

# Beeinflussung des Malaria-Verlaufes bei Kücken durch Tusche-Speicherung im RES

Autor(en): **Rahm, U. / Kauffmann, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Acta Tropica**

Band (Jahr): **16 (1959)**

Heft 4

PDF erstellt am: **30.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-310818>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Beeinflussung des Malaria-Verlaufes bei Kücken durch Tusche-Speicherung im RES.

Von U. RAHM und M. KAUFFMANN.

## Inhalt

I. Einleitung . . . . .	303
II. Vergleich mit früheren Versuchen . . . . .	304
1. Versuchstiere und Plasmodienstämme . . . . .	304
2. Vergleich der Kontrollserien unter sich . . . . .	306
a) Vergleich 8tägiger mit 30tägigen Kücken . . . . .	306
b) Vergleich 30tägiger Kücken unter sich . . . . .	308
III. Tuscheinjektionsversuche . . . . .	308
1. Methodik . . . . .	308
a) nach TRAGER . . . . .	308
b) nach HALPERN et al. . . . .	309
2. Vorversuche . . . . .	309
3. Quantitative Tuschebestimmungen . . . . .	311
4. Hauptversuche . . . . .	315
a) Histologischer Befund . . . . .	316
b) Infektionsverlauf in den Versuchsgruppen	
Serien ST5, ST6 und SU5 . . . . .	317
Serien ST7, ST8 und SU7 . . . . .	323
Serien ST9, ST11 und SU8 . . . . .	326
IV. Diskussion der Resultate . . . . .	327
V. Literatur . . . . .	328
VI. Résumé. Summary . . . . .	329

## Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen.

EE	exo-erythrocytär
EV <sub>8</sub>	Ergänzung zu SV <sub>8</sub>
EV <sub>30</sub>	Ergänzung zu SV <sub>30</sub>
H	Hirn
IT	Infektionstag
L	Leber
M	Milz
N	Niere
ST	Tuscheversuch
SU	Kontroll-Serie
SV <sub>8</sub>	Kontroll-Serie 8tägige Kücken (FREYVOGEL)
SV <sub>30</sub>	Kontroll-Serie 30tägige Kücken (FREYVOGEL)

## I. Einleitung.

Die hier vorliegenden Untersuchungen bilden eine Fortsetzung der Arbeiten von HERBIG (1953), FREYVOGEL (1953, 1956) und WEIL (1955), welche sich alle mit dem Einfluß des Höhenklimas auf akute Malaria (*P. gallinaceum* auf juvenilen Kücken) befaßten.

HERBIG konnte seinerzeit eine Korrelation zwischen der Dauer der Anpassung an das Höhenklima (Jungfrauojoch: 3475 m ü. M.) und der Abwehrreaktion des Wirtes nachweisen, indem sie juvenile Kücken in verschiedenen Phasen der Infektion (Sporoziten-Inokulation) auf das Jungfrauojoch brachte. Sie ließ aber die Frage offen, ob es sich ausschließlich um eine stimulierende Wirkung des RES handelt, oder ob in späteren Stadien der Infektion auch ein direkter Einfluß der durch die Höhenanpassung erzeugten Veränderungen des Blutes auf die erythrocytären Formen zustande komme.

FREYVOGEL seinerseits konnte durch vergleichende Versuche auf Jungfrauojoch und in einer entsprechenden Unterdruckkammer nachweisen, daß die Wirkung ausschließlich auf eine Erhöhung der allgemeinen Abwehrlage, vermutlich eine Stimulierung des RES, zurückzuführen ist.

Da schon ALVAREZ (1952) den experimentellen Beweis erbrachte, daß die Makrophagen tatsächlich imstande sind, Malariaparasiten (Blutschizonten von *P. gallinaceum*) aufzunehmen und zu zerstören, versuchten wir nun ganz spezifisch die RES-Zellen zu beeinflussen. Es stellte sich uns die Frage, ob durch eine Stimulierung oder Blockierung des RES der Verlauf einer Sporoziten-induzierten Hühnermalaria direkt beeinflußt werden kann.

Im Falle der Vogel malaria, und ganz besonders bei einer Sporoziten-Inokulation mit *P. gallinaceum*, spielt der Zeitpunkt einer Intervention ganz sicher eine Rolle, da man es hier — im Gegensatz zu den meisten Säugerplasmodien — während der präpatenten Phase mit mehreren, mindestens aber mit zwei Generationen von EE-Schizonten zu tun hat. Es war deshalb vorauszusehen, daß je nach dem Zeitpunkt einer experimentellen Beeinflussung des RES die Wirkung verschieden ausfallen mußte. Bei den Vogelplasmodien kommt weiter hinzu, daß die natürliche Wirtszelle der EE-Formen, vor allem der Cryptoziten, augenscheinlich dem gleichen Zelltyp angehört wie die der Abwehr dienenden RES-Zellen. Man kann diese Doppelfunktion der Histiocyten vielleicht damit erklären, daß je nach Funktionszustand der einzelnen Makrophagen die Vernichtung der phagocytierten Parasiten gelingt oder aber sich diese auf Kosten der Wirtszelle voll entwickeln können. So hat auch HUFF (1952) auf seinen Organausstrichen in gleichartigen Histiocyten einen gewissen Prozentsatz degenerierter, mehrkerniger Metacryptozoiten gefunden.

Aus der Reihe von Irritantien, deren selektive Wirkung auf die RES-Zellen bekannt ist, wählten wir für unsere Versuche chinesische Tusche, die sich in den Organen sehr leicht nachweisen läßt. Wir gingen von der Idee aus, einerseits durch geringe Dosen Tusche das RES zu aktivieren und andererseits durch hohe Dosen dieses zu blockieren. TRAGER (1941) untersuchte seinerzeit die Wirkung intraperitonealer und intracardialer Gaben von Tusche auf den Verlauf der Infektion bei Kücken nach Blutinokulation von *P. lophurae*, während LOXLEY (1955) ähnliche Versuche an Mäusen mit *P. berghei* durchführte. In beiden Fällen war der Blutbefall nach Tuscheverabreichung bedeutend höher als bei den Kontrolltieren, und die Parasitämie begann früher (im Fall von *P. berghei*) oder dauerte länger (bei *P. lophurae*). In Anlehnung an die Versuche von TRAGER begannen wir mit der intraperitonealen Verabreichung chinesischer Tusche. Da wir aber unsere Versuchstiere mit Sporoziten und nicht mit infiziertem Blut inokulierten, waren wir vor allem an der Reaktion der inneren Organe wäh-

rend der präpatenten Phase interessiert und gingen deshalb bald zur intravenösen Applikation über, da nur diese eine bei allen Versuchstieren gleichmäßige Ablagerung der gesamten Tusche in den Organen gewährleistet.

## II. Vergleich mit früheren Versuchen.

### 1. Versuchstiere und Plasmodienstämme.

Wir bezogen für unsere Versuche anfänglich weiße Leghornhühner vom gleichen Züchter wie HERBIG und FREYVOGEL, mußten aber im Laufe der Untersuchungen feststellen, daß es sich nicht durchwegs um reinrassige Tiere handelte, sondern daß zumindest ein Teil der Kücken Merkmale der Mechener Rasse aufwies. Wir wechselten in der Folge zu einer Groß-Geflügelzucht über, da diese in der Lage war, uns eine größere Anzahl von Tieren möglichst gleichen Gewichts zu liefern. Ab Mai 1957 arbeiteten wir mit einer bekannten Mischrasse Leghorn/blaue Holländer. Wenn 30tägige Kücken verwendet wurden, bezogen wir die Tiere im Alter von 23—25 Tagen. Wir verabreichten unseren Versuchstieren ein günstigeres Kraftfutter als dies früher der Fall war. Auch erhielten die Tiere von Zeit zu Zeit Trinkwasser mit Jodzusatz. Diese ausgewogene Ernährung machte sich in den Serien SU5, ST5, ST6 und SU8, ST9, ST11 deutlich bemerkbar, indem sich eine normale Gewichtszunahme feststellen ließ. In den Serien SU7, ST7 und ST8 war das Wachstum etwas geringer, da die Tiere anfänglich an Durchfall litten. In den Kurven a—c (Abb. 1) sind die durchschnittlichen Gewichtszunahmen pro Tag und Serie aufgetragen. Mangelnahrung mag wohl mit der Grund für das niedrige Gewicht 30tägiger Kücken (95 g am 0. IT) in den früheren Versuchen von FREYVOGEL (1956) sein, der die Tiere ja vom 8. Tag an im Institut aufzog. Die durchschnittliche Gewichtszunahme betrug z. B. bei diesem Autor vom 0. bis 6. IT nur 21 g. Diese Wachstumsdifferenzen müssen bei einem Vergleich mit früheren Versuchen mit in Betracht gezogen werden (vgl. S. 306/8). Der in diesen Versuchen verwendete Plasmodienstamm *P. gallinaceum* stammte ursprünglich aus Antwerpen, wurde dann 6 Jahre in der Firma Ciba und seit September 1954 an unserem Institut gehalten. Der gleiche Stamm wurde auch von HERBIG (1953) und FREYVOGEL (1956) verwendet.

Die folgende Aufstellung zeigt die Anzahl der Mückenpassagen, die den verschiedenen Versuchen vorausgegangen sind:

1954	11. November	
1955	10. Januar	
	31. März	← SU2
	29. Dezember	
1956	8. Februar	
	9. April	
	11. Juni	← SU3, SU4
	18. August	← SU5, ST5, ST6
	25. Oktober	
1957	7. Februar	← SU7, ST7, ST8
	20. Mai	
	9. August	← SU8, ST9, ST10, ST11

Die Virulenz dieses Stammes scheint gleich stark zu sein, wie diejenige des Stammes FREYVOGEL. Vergleicht man nämlich unsere Kontrollserie 8tägiger Kücken (SU2/8) mit der Kontrollserie 8tägiger Kücken von FREYVOGEL (SV8

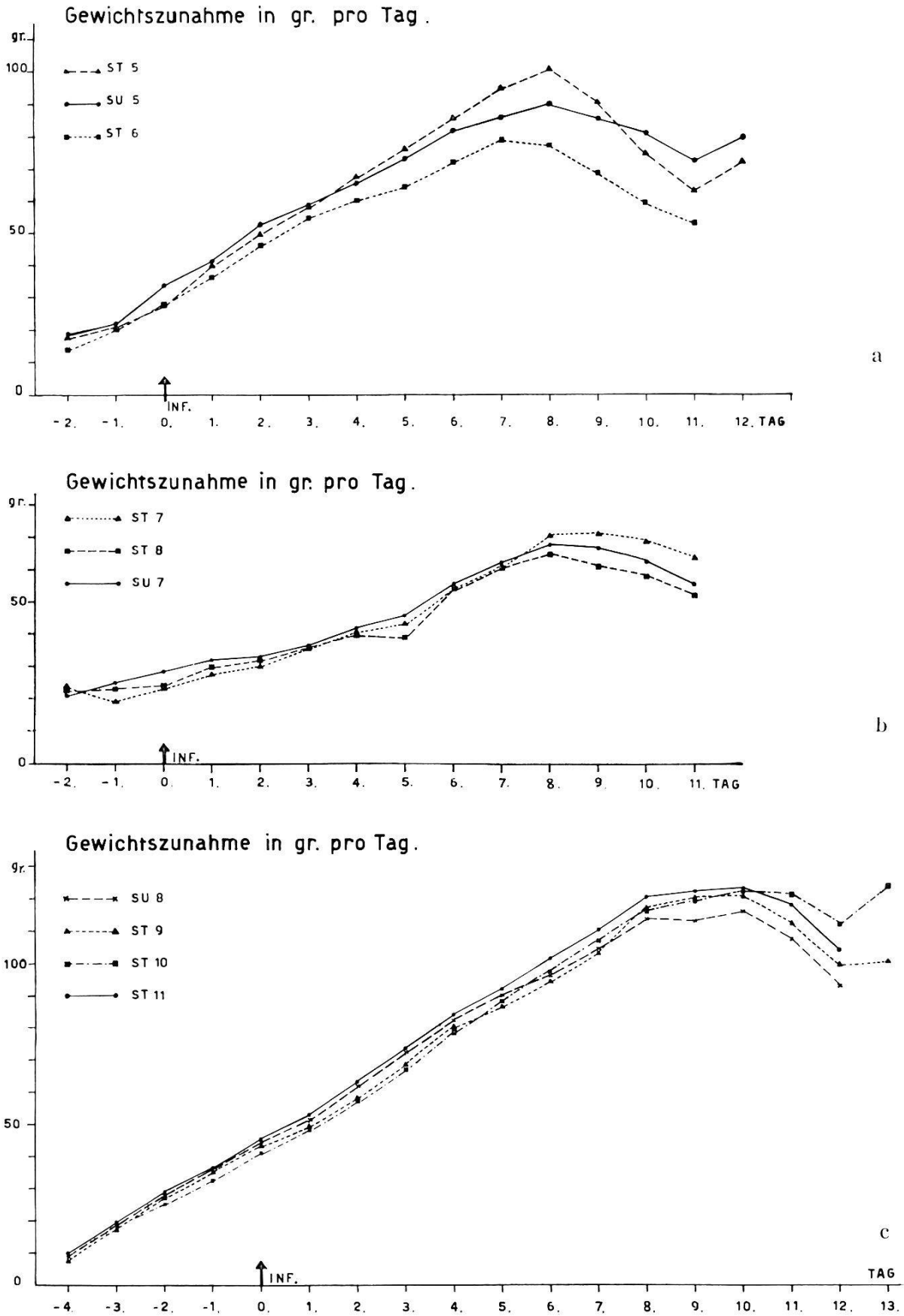


Abb. 1. Mittlere Gewichtszunahme der Versuchstiere in den 3 Versuchsgruppen.

und EV8), so ist eine identische Infektionsstärke festzustellen (vgl. Abb. 2a). Unsere Ergebnisse können deshalb ohne weiteres mit den früheren verglichen werden (Abb. 2).

Die Sporozoiten wurden durch Zermörsern von infizierten *Aedes*-Weibchen in Locke-Lösung und Abzentrifugieren der festen Bestandteile gewonnen. Die Mückenzahl wurde wie früher so gewählt, daß bei der Sporozoiteninokulation pro Huhn  $2\frac{1}{2}$ —3 Mückeneinheiten in 0,2 ccm injiziert wurden. Da jeweils 60 bis über 90 Tiere innert 30 Minuten mit der gleichen Sporozoiten-Aufschwemmung infiziert wurden, war es uns aus zeitlichen Gründen nicht möglich, eine quantitative Sporozoiten-Kontrolle durchzuführen. Wir mußten uns deshalb mit einer Bestimmung der Cystendichte, durchgeführt am 6. oder 7. Tag nach Infektion der *Aedes*, begnügen. Um eine möglichst regelmäßige Infektionsstärke bei unseren Hühnern zu erreichen, wurden die zum Versuch dienenden Mücken jeweils in mehreren Gruppen und auf verschiedenen Gametocytenträgern infiziert. Wir verwendeten zur Broyage Mücken, welche 13 bis maximal 24 Tage vor Versuchsbeginn auf Gametocytenträgern gefüttert worden waren. Da in jeder Versuchsgruppe etwa dreimal mehr Mücken infiziert wurden, als zur Herstellung der Sporozoiten-Aufschwemmung benötigt wurden, konnten wir jeweils diejenigen Mückenserien auswählen, welche sich bei der Cystenkontrolle als am stärksten positiv erwiesen.

Blutausstriche wurden vom 6. IT an täglich hergestellt, Tupfpräparate von Leber, Milz und Niere ( $30\text{ mm}^2$ ) sowie Quetschpräparate vom Gehirn. Für genaue Angaben sei auf die Arbeiten von HERBIG (1953) und FREYVOGEL (1956) verwiesen. Vgl. auch S. 316/17.

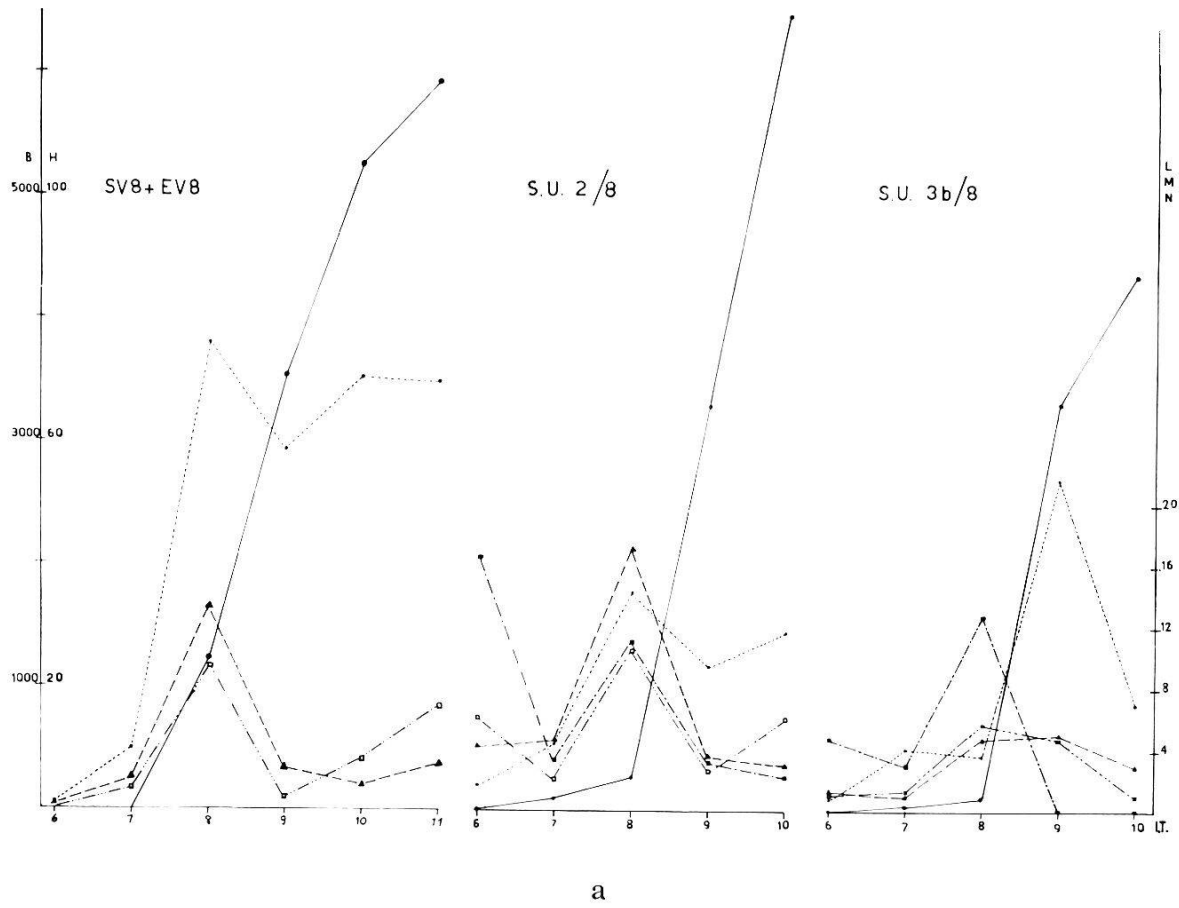
## 2. Vergleich der Kontrollserien unter sich.

Vergleicht man die Infektionswerte der Kontrollserien, so ergeben sich zwei wichtige Tatsachen:

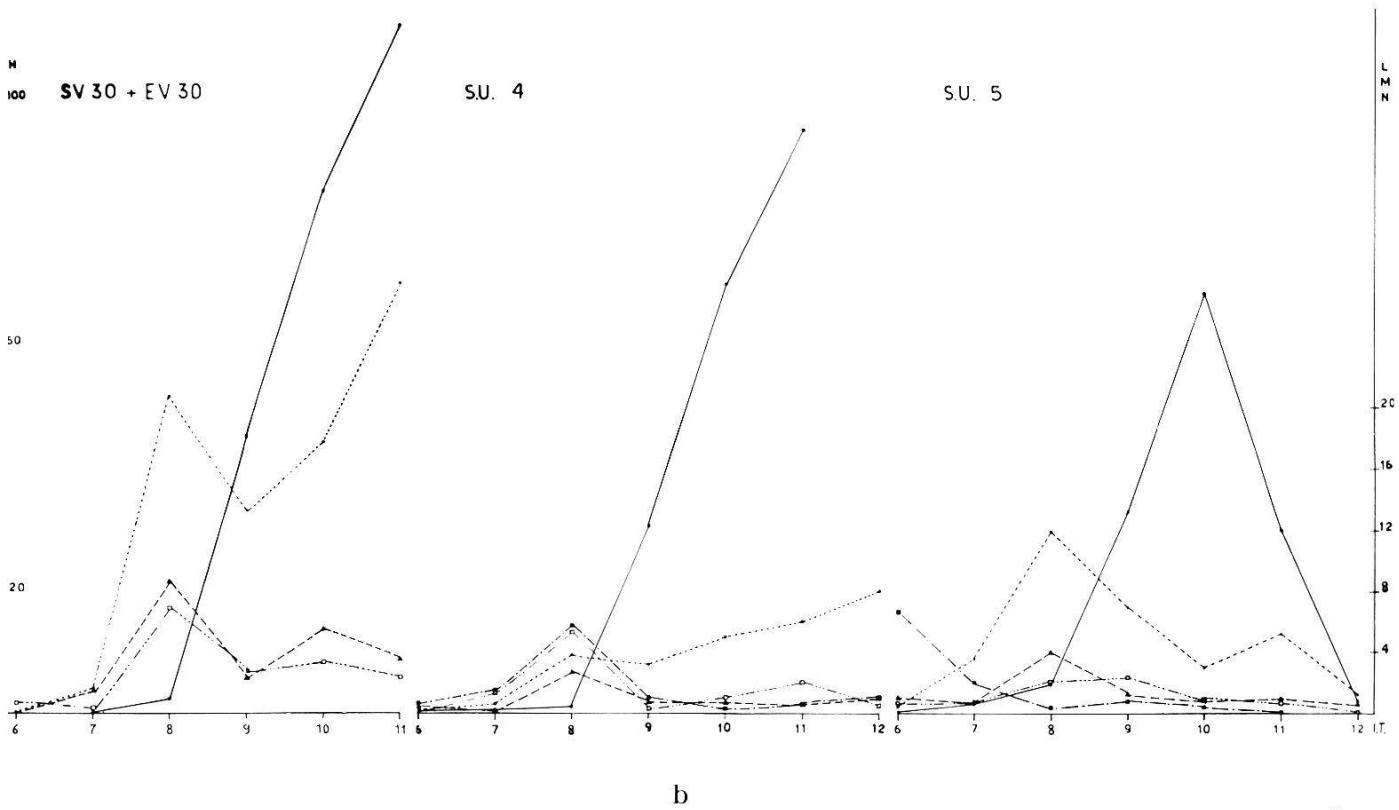
1. Die Parasitämie nimmt mit steigendem Alter der Hühner ab.
2. Von Kontrollserie zu Kontrollserie gleichaltriger Hühner sind immer kleine Schwankungen im Infektionsverlauf festzustellen.

### a) Vergleich 8tägiger mit 30tägigen Kücken (vgl. Abb. 2).

Stellt man die Kontrollserien der 8tägigen Kücken ( $SU_{2/8}$  und  $SU_{3b/8}$ ) den entsprechenden Kontrollserien der 30tägigen Tiere ( $SU_4$  und  $SU_5$  gegenüber, so geht aus einem solchen Vergleich deutlich hervor, daß mit zunehmendem Alter bzw. Gewicht die Infektionsstärke abnimmt. Dies kommt besonders eindeutig im Befall der Organe Leber, Milz, Niere am 8. IT zum Ausdruck. Blut- und Hirnbefall sind Schwankungen unterworfen, auf die wir noch zu sprechen kommen werden. Die Schizontenzahl pro  $30\text{ mm}^2$  liegt bei den 8tägigen über acht, bei den 30tägigen unter acht. Die Zahlenwerte, insbesondere des 8. IT, der Serie  $SV_8 + EV_8$  von FREYVOGEL entsprechen denjenigen unserer  $SU_{2/8}$ , wenn man vom höheren Hirnbefall der  $SV_8$  absieht. Vergleicht man hingegen die In-



a



b

— B  
 - - - H  
 ▲ L  
 ○ M  
 ● N

Abb. 2. Infektionsverlauf bei verschiedenen Kontrollserien 8tägiger und 30tägiger Kücken.

fektionswerte der  $SV_{30} + EV_{30}$  von FREYVOGEL mit unseren Kontrollen  $SU_5$  und  $SU_4$ , so liegen jene Werte höher als unsere, wenn man den 8. IT berücksichtigt, obwohl es sich bekanntlich bei allen diesen Serien um 30tägige Kücken handelte. Diese Kontrollserie von FREYVOGEL nimmt demnach punkto Infektionsintensität eine Mittelstellung ein zwischen den 8tägigen und unseren 30tägigen. Das läßt sich damit erklären, daß seine Tiere gewichtsmäßig ebenfalls eine Mittelstellung einnehmen, da die Kücken, obwohl 30tägig, eben untergewichtig waren und deshalb auch eine stärkere Parasitämie durchmachten. Berücksichtigt man diese Fakten, so können die Serien von FREYVOGEL ohne Bedenken mit den unsrigen verglichen werden.

b) *Vergleich 30tägiger Kücken unter sich.*

Vergleicht man andererseits zwei Kontrollserien von 30tägigen Hühnern ( $SU_4$  und  $SU_5$  — Abb. 2b), deren Parasitämie auch unterschiedliche Kurvenbilder ergab, so steigt z. B. der Blutbefall in  $SU_4$  weiter an, während er in  $SU_5$  am 10. IT seinen Gipfel erreicht und dann steil abfällt. Die Hirninfektion nimmt in  $SU_4$  kontinuierlich bis zum 12. IT zu, in  $SU_5$  erreicht sie am 8. IT ihr Maximum. Die Schizontenzahl in der Milz ist in  $SU_4$  am 8. IT am höchsten, in  $SU_5$  verläuft die Milzkurve viel flacher, und am 8. und 9. IT sind praktisch die gleichen Werte zu finden. Auch der Befall der Niere ist verschieden, und nur die Leberwerte können miteinander verglichen werden. Hier kann natürlich der Umstand mitspielen, daß die einzelnen Serien zeitlich verschieden liegen und daß dazwischen beim Plasmodienstamm Mückenpassagen eingeschaltet wurden. Auf jeden Fall lehrt uns diese Tatsache, daß mit jeder Versuchsserie eine vollständige Kontrollserie mitgeführt werden muß, und daß nur diese unmittelbar mit der entsprechenden Versuchsreihe verglichen werden kann.

### III. Tuscheinjektionsversuche.

#### 1. Methodik.

Es ist bekannt, daß man durch Injektion einer körperfremden Lösung, wie z. B. Tusche, Aleuronat oder Trypanblau, je nach Dosis die Makrophagenbildung fördern oder aber diese Zellen blockieren kann.

a) *nach* TRAGER.

In einer ersten Serie versuchten wir nach der Methode von TRAGER (1941) bei 30tägigen Kücken durch intraperitoneale Injektion von großen Tuschemengen (Pelikantusche, kommerziell) das RES zu blockieren. TRAGER, der seinerzeit nebeneinander den Einfluß intraperitonealer und intracardialer Verab-



reichung von Tusche auf den Infektionsverlauf von Hühnermalaria untersuchte, stellte fest, daß nur nach i.p. Applikation eine Änderung des Parasitenbefalles zu beobachten war. Er fand bei 4—9 Wochen alten, mit *P. lophurae* infizierten Kücken nach i.p. Tuscheverabreichung eine Verzögerung des maximalen Blutbefalles um ca. 2—3 Tage, wobei gleichzeitig eine Parasitenzahl erreicht wurde, die man sonst nur bei 3—5tägigen Kücken findet.

In unseren Versuchen wendeten wir folgende Dosierung an:

Infektionstag:	—3	—2	—1	0	+1	+2	+3
Tusche in ccm:		5	5	5	5	5	

Insgesamt wurden 234 mg Gasruß verabreicht. Es zeigte sich aber, in Übereinstimmung mit den Erfahrungen von TRAGER, daß nur sehr kräftige Hühner diese Behandlung überlebten, und daß vor allem die Tusche von den Organen nicht in der gewünschten Weise resorbiert wurde, sondern als mehr oder weniger kompakte Masse im Peritoneum verblieb. Die überlebenden Tiere starben größtenteils frühzeitig, indem sie pneumonieartige Erscheinungen zeigten, so daß dieser Versuch nicht ausgewertet wurde.

Da wir im Gegensatz zu TRAGER nicht mit Blut- sondern mit Sporozoiten-Inokulationen arbeiteten, waren wir an einer Blockierung der RES-Zellen in den Organen selbst, d. h. vor allem Leber, Milz und Niere, wo sich die ersten exo-erythrocytären Stadien entwickeln, interessiert und gingen deshalb zu einer intravenösen Applikation der Tusche über.

b) nach HALPERN *et al.*

In einer zweiten Serie wendeten wir die Methode, welche HALPERN für Kleinsäuger ausgearbeitet hatte, nämlich die intravenöse Applikation kleinerer Tuschemengen, auf Kücken an.

Nach den Angaben von HALPERN (1951) verwendeten wir kommerzielle Pelikantusche (Günther-Wagner, Hannover) mit einem Gasrußgehalt von 6,25% und einer Körnung von durchschnittlich 200 A. Diese Tusche wird direkt vor Gebrauch 1 : 1 mit einer 2%igen Gelatine-Lösung verdünnt und lauwarm injiziert. Das Tusche-Gelatine-Gemisch wurde mit einer feinen Injektionsnadel in die Flügel- und Brustvenen gespritzt. Da wir später durch die Firma Günther-Wagner darauf aufmerksam gemacht wurden, daß für medizinisch-wissenschaftliche Zwecke ein Spezialpräparat ohne Schellack-Zusatz hergestellt wird (C 11/1431 a mit einem Gasrußgehalt von 10% und einer Körnung von ebenfalls rund 200 A), verwendeten wir für die letzten Versuchsreihen dieses neue Präparat (ST 9/10/11). Wie aus den Angaben von HALPERN *et al.* (1953) hervorgeht, werden kleinere Dosen schellackhaltiger Tusche ebensogut vertragen wie entsprechende Dosen des Spezialpräparates. Doch konnten die Autoren anhand der «clearance rate» bei Anwendung steigender Tusche-Konzentrationen eine kritische Dose nachweisen, bei welcher sich der Kurventyp ebenso wie die Verteilung der gespeicherten Tusche auf die verschiedenen Organe verändert. Vergleichende Versuche zeigten, daß dieser toxische Effekt auf den Schellackgehalt der Handels-Tusche zurückzuführen ist und bei schellackfreien Tuschelösungen nicht auftritt. Die kritische Dosis ist zudem je nach Tierart verschieden und liegt z. B. für Ratten bei 32 mg/100 g, für Mäuse bei mindestens 48 mg/100 g Körpergewicht.

## 2. Vorversuche.

Die höchste von uns für Kücken verwendete Menge betrug 44 mg/100 g in vier aufeinanderfolgenden Dosen und wurde, wie aus den Gewichtskurven hervorgeht, gut vertragen (Abb. 1a).

In der Serie ST<sub>3</sub> wurde die Verträglichkeit verschiedener Dosen für Kücken untersucht. Es zeigte sich, daß bis zu 2,5 ccm Versuchslösung (= 78,1 mg Gasruß) von Kücken zwischen 110 und 180 g gut vertragen wurden, solange die Tusche in mehreren Dosen verabreicht wurde. Dabei sollte die erste Injektion eine Menge von 0,5 ccm (15,6 mg) nicht übersteigen. Bei der zweiten Injektion wird aber 1 ccm (31,3 mg) gut vertragen, falls sehr langsam gespritzt wird. Injektionen größerer Einzeldosen wurden nicht vorgenommen, da bereits bei 1 ccm der Blutdruck derart ansteigt, daß die Einstichstelle längere Zeit zugepreßt werden muß, um das Entstehen von Hämatomen zu vermeiden. Da uns zur Zeit der ersten Versuche der genaue Gasrußgehalt der Pelikan-Tusche nicht bekannt war, wurden die Dosen nach Volumen Injektions-Lösung berechnet:

2,5 ccm	=	78,1	mg	Gasruß
0,5 ccm	=	15,6	mg	»
0,2 ccm	=	6,25	mg	»
0,1 ccm	=	3,0	mg	»

In der Serie ST<sub>4</sub> wurden Tusche-Mengen zwischen 1 und 2,5 ccm in verschiedenen Dosen appliziert und anschließend durch Sektion der Tiere festgestellt, in welchem Maße die Tusche von den einzelnen Organen aufgenommen wird. Es sollte vor allem vermieden werden, daß sich größere Tusche-Mengen in den Lungen ansetzen, um Atmungsstörungen zu vermeiden. Wie in der Arbeit von HALPERN et al. (1953) dargelegt wird, nehmen die Lungen bei Kleinsäugetern z. B. nur dann größere Mengen von Tusche auf, wenn toxische Dosen schellackhaltiger Tusche gespritzt werden.

In Tabelle 1 sind die Sektionsbefunde zusammengestellt, die zeigen, wieviel Tusche approximativ in den einzelnen Organen festgestellt wurde.

TABELLE 1.

Tier Nr.	Injektionstage					Organe				
	1	2	3	4	5	Le	Lu	Mi	Ni	He
404	0,5	1	1	—	—	+++	+	+++	++	—
405	0,5	0,75	—	0,15	—	++	—	++	+	—
406	0,5	1	0,5	0,5	—	+++	+	+++	++	+
408	0,5	1	1	—	—	+++	+	+++	++	+
409	0,4	1	—	—	—	++	—	++	+	—
410	0,4	1	0,5	0,5	—	+++	+	+++	++	—
411	0,5	1	—	—	—	++	—	++	++	—
412	0,3	1	0,7	0,7	—	—	+	—	++	+

+++ tiefschwarz      + verfärbt  
 ++ schwarz          — normal

Auf Grund der Vorversuche wählten wir für die eigentlichen Versuche 2,5 ccm als Maximaldosis, die uns zur Blockierung des RES dienen sollte, da nach obiger Zusammenstellung Leber und Milz bei dieser Tusche-Menge abgesättigt zu sein schienen und Spuren davon bereits in den Lungen auftraten. Eine einmalige Injektion von 0,1 bis 0,5 ccm applizierten wir dagegen in der Absicht, die Phagocytenzellen zu stimulieren. Bei der Wahl der Dosis und der Verteilung der Injektionen stützten wir uns z. T. auf die Arbeiten von HALPERN et al. an Ratten und Mäusen, z. T. auf eigene Überlegungen.

### 3. *Quantitative Tusche-Bestimmungen.*

Da wir aus technischen Gründen die Methode HALPERN (1950) zur quantitativen Bestimmung der in den verschiedenen Organen gespeicherten Tusche nicht anwenden konnten, gingen wir wie folgt vor<sup>1</sup>: Die uns interessierenden Organe (Leber, Milz, Niere und Lunge) wurden 4—6 Stunden in KOH 60% (gelöst in Methanol) verseift, mehrere Male mit Wasser ausgewaschen und anschließend bei 17 000 Touren während 30 Minuten zentrifugiert. Die gut ausgewaschene Tusche wurde mit Hilfe eines hochoberigen Homogenisators in Wasser gleichmäßig suspendiert und ihre Menge elektrophotometrisch bestimmt.

Die Tuscheverteilung bei speziell für diesen Zweck injizierten Kücken wurde nach Verabreichung von 0,1, 0,2, 0,5 und 2,5 ccm Versuchslösung geprüft. Die oben beschriebene Methode ergab zuverlässige Resultate für Leber, Milz und Niere bei mit der Maximaldosis behandelten Tieren. Nach Injektion von 0,5 und 0,2 ccm konnte nur noch der Gehalt von Leber und Milz bestimmt werden. Bei den übrigen Organen und Dosen war die Tuschemenge zu gering, um mit dieser Methode genau gemessen zu werden. Die entsprechenden Werte wurden deshalb auf unseren Tabellen und Kurven weggelassen.

Die Resultate sind in Tab. 2 zusammengestellt. Der Tuschegehalt wurde für jedes Organ in % der gespritzten Menge und in mg umgerechnet, ebenso findet sich eine Kolonne mit den gefundenen Tuschemengen in mg pro Gramm Organ. Die graphischen Darstellungen hiezu zeigen die Mittelwerte aller untersuchten Organe gleicher Dosierung in % Tusche pro Organ (Abb. 3a) und mg Tusche pro Gramm Organ (Abb. 3b).

---

<sup>1</sup> Wir danken Herrn Prof. Dr. K. BERNHARD und seinem Mitarbeiter, Herrn Dr. H. WAGNER, sehr herzlich dafür, daß wir die quantitativen Tuschebestimmungen in der Physiologisch-chemischen Anstalt mit ihrer Hilfe durchführen durften.

Die quantitativen Tuschebestimmungen wurden erstmals im Juli 1957 durchgeführt und zur Sicherung der Befunde im Mai 1958 wiederholt. Es zeigte sich dabei, daß für die Maximal-Dosis von 78,1 mg Gasruß die Werte der zweiten Serie (Mai 1958) bedeutend tiefer lagen als bei der ersten Versuchsserie (Juli 1957); für die mittlere Dosis von 15,6 mg dagegen wurden beide Male (Juli 1957 und Mai 1958) entsprechende Mengen Tusche in Leber und Milz wiedergefunden. Der Unterschied der beiden Serien lag darin, daß 1957 die Sektion der Kücken einige Tage nach der letzten Tuscheinjektion, nämlich entsprechend dem 6. IT (siehe Malariaerien ST5 und 6) stattfand. Im Mai 1958 dagegen wurde die Sektion 24 Stunden nach einer einmaligen oder, bei mehreren, nach der letzten Tuscheinjektion durchgeführt. Es zeigt sich bei der hohen Dosis von 78,1 mg deutlich, daß nach 24 Stunden bedeutend weniger Tusche in den untersuchten Organen (Leber, Milz und Niere) auftritt als z. B. 72 Stunden nach der letzten Injektion, weshalb der Versuch im Juni 1958 wiederholt wurde. Bei der Wahl eines entsprechenden Sektionstages wurden auch für die Maximaldosis vergleichbare Werte für Leber, Milz und Niere gefunden. In der graphischen Darstellung (Abb. 3a und b) wurden deshalb für die mittlere Dosis von 15,6 mg Tusche sämtliche Werte von Juli 1957 und Mai 1958 gemeinsam berücksichtigt, während für die Dosis von 78,1 mg links die Werte von Juli 1957 und Juni 1958, also jeweils 72 Stunden nach der letzten Injektion gewonnen, aufgetragen sind, während die Resultate von Mai 1958 (24 Stunden nach letzter Injektion) auf der rechten Seite der Abbildungen separat aufgetragen wurden. Die Gesamtmenge der in den untersuchten Organen wiedergefundenen Tusche, ausgedrückt in % der injizierten Dosis, ist bei Kücken in jedem Fall geringer als bei Kleinsäugetern. Während HALPERN und Mitarbeiter (1951) bei Ratten und Mäusen bei einer niederen Dosis von 8—16 mg Tusche/100 g Körpergewicht in Leber und Milz ca. 90% der injizierten Substanz zurückgewinnen konnten, fanden wir bei entsprechender Dosierung nur etwa 80%. Bei höheren Dosen (30 bis 60 mg/100 g), wo neben Leber und Milz bereits auch die Nieren beträchtliche Mengen speichern können, betrug die gefundenen Werte für Ratten und Mäuse wie für Kücken etwa 70%. Bei unseren eigenen Untersuchungen an Kücken konnten wir makroskopisch bei der Sektion an der Schwarzfärbung feststellen, daß schon bei mittleren Dosen und in vermehrtem Maße bei der Maximaldosis große Mengen Gasruß vom Knochenmark gespeichert werden. Die Lunge scheint jedoch bei Kücken im Gegensatz zu Kleinsäugetern nur eine unbedeutende Rolle als Speicherorgan zu spielen.

TABELLE 2  
Quantitative Bestimmung der in Leber, Milz und Niere gespeicherten Tusche nach i. v. Verabreichung.

Datum	Tier	Gewicht in g	Fektl.-Tag	Leber			Milz			Niere							
				Gewicht g	%	Tusche Total mg	Gewicht g	%	Tusche Total mg	Gewicht g	%	Tusche Total mg					
2,5 ccm Tusche / Gelatine 1:1 i. v. (= 78,1 mg Gasruß)																	
1957 Juli	407 ♀	9,42	189	4,98	57,8	45,2	4,80	0,67	0,355	8,3	6,49	9,70	2,23	1,18	1,23	0,96	0,43
	409 ♀	10,39	202	5,15	65,5	51,2	4,94	0,72	0,356	5,7	4,45	6,19	2,585	1,28	1,45	1,13	0,44
	411 ♀	14,85	248	6,00	67,7	52,9	3,56	1,35	0,545	10,9	8,51	6,31	3,91	1,58	1,37	1,07	0,274
	412 ♀	9,29	170	5,46	—	—	—	0,95	0,560	12,8	10,0	10,52	2,46	1,45	1,13	0,87	0,353
1958 Mai	318 ♀	10,14	225	4,51	28,7	22,4	2,205	1,14	0,506	13,0	10,15	8,91	2,84	1,26	1,2	0,94	0,33
	326 ♂	9,13	193	4,74	42,4	33,05	3,61	1,21	0,627	13,3	10,4	8,60	2,82	1,46	1,4	1,09	0,39
	313 ♂	10,64	214	4,98	47,3	37,00	3,47	0,94	0,440	11,4	8,91	9,48	2,44	1,14	2,4	1,87	0,77
1958 Juni	334 ♀	8,08	170	4,75	56,6	44,2	5,47	0,78	0,459	4,1	3,21	4,11	2,00	1,18	1,15	0,877	0,45
	339 ♀	8,00	179	4,47	62,1	48,5	6,06	0,92	0,514	4,4	3,44	3,74	2,04	1,14	0,9	0,704	0,345
0,5 ccm Tusche / Gelatine 1:1 i. v. (= 15,6 mg Gasruß)																	
1957 Juli	404 ♀	10,36	210	4,93	67,4	10,5	1,01	0,72	0,343	7,7	1,20	1,67					
	406 ♀	8,59	201	4,28	64,0	9,98	1,17	0,65	0,323	8,6	1,34	2,31					
1958 Mai	320 ♂	8,52	212	4,02	77,5	12,1	1,42										
	323 ♀	7,68	193	3,98	87,0	13,6	1,77	0,71	0,368	9,1	1,42	2,0					
	322 ♀	10,06	217	4,61	63,9	9,95	0,990	0,86	0,396	5,8	0,905	1,05					
0,2 ccm Tusche / Gelatine 1:1 i. v. (= 6,3 mg Gasruß)																	
1957 Juli	405 ♂	8,29	263	3,15	70,0	4,38	0,528	0,68	0,258	4,60	0,288	0,422					
	408 ♀	7,68	224	3,43	71,0	4,44	0,579	0,585	0,261	4,54	0,284	0,485					
	410 ♀	12,23	257	4,75	78,0	4,87	0,398	1,33	0,518	8,85	0,554	0,416					

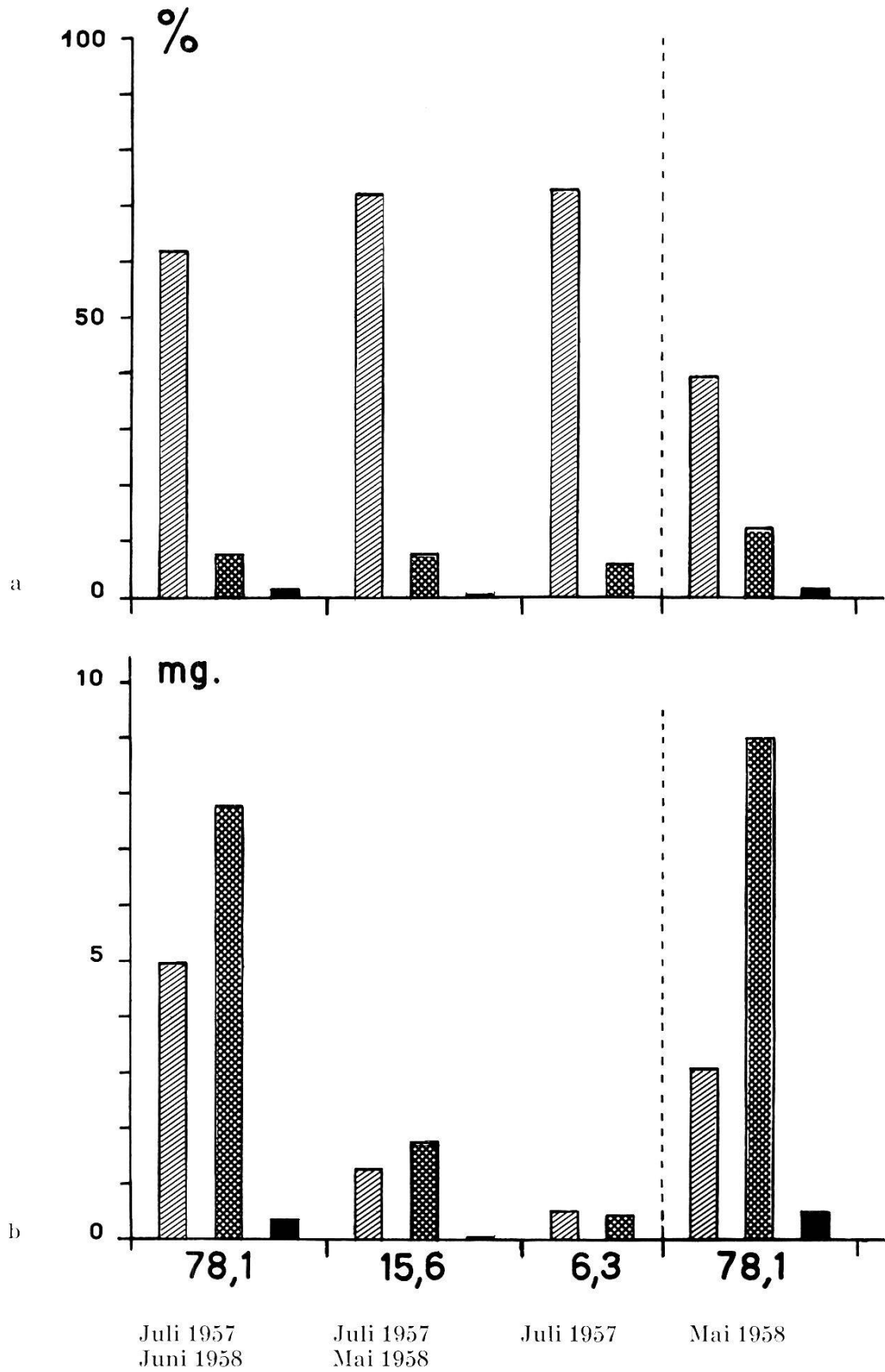


Abb. 3.

Mittelwerte der in Leber , Milz und Niere gefundenen Tuschemengen. a) in % pro Organ, b) in mg pro Gramm Organ.

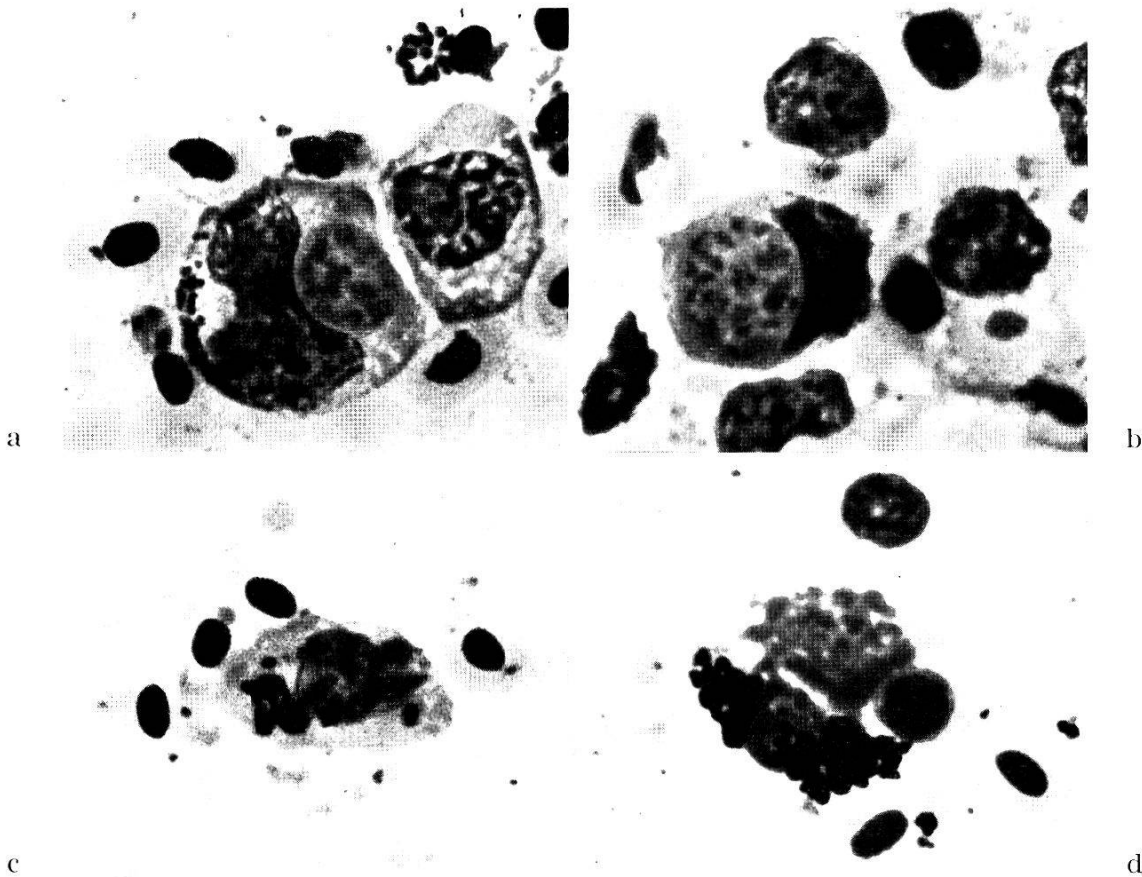


Abb. 4.

c und d: Intracelluläre Speicherung von Tuschepartikeln in 2 verschieden stark beladenen Makrophagen (Leber). a und b: Im Vergleich dazu mit EE-Schizonten von *P. gallinaceum* befallene Makrophagen (Niere). Fixierung: Giemsa. Vergrößerung 1 : 1200.

Vergleicht man die pro g Organ gefundenen Mengen Gasruß (Abb. 3b), so zeigt sich, daß, obwohl die Gesamtmenge der wiedergefundenen Tusche relativ gering ist (nur etwa 40%), die Milz nach 24 Stunden verglichen mit der Leber bedeutend mehr speichert als nach 72 Stunden. Diese Resultate zeigen deutlich, daß nicht nur die Menge der injizierten Tusche, sondern vor allem auch der Zeitpunkt der Verabreichung von Bedeutung ist.

#### 4. Hauptversuche.

Die Versuche wurden in Gruppen von 3—4 Serien durchgeführt; eine Serie jeder Gruppe bildete jeweils die gleichzeitig infizierte Kontrollserie (SU). Die Serien einer Gruppe bestanden aus gleich alten Tieren, die alle gleichzeitig mit derselben Sporozoiten-Suspension inokuliert wurden. Um eine möglichst regelmäßige Infektion und vergleichbare Resultate zu erzielen, wurde darauf geachtet, daß alle Tiere einer solchen Gruppe innert maximal 30 Minuten infiziert wurden, und zwar wurde abwechslungsweise je 1 Tier jeder Versuchsserie gespritzt. Die einzelnen Serien bestanden aus 21—26 Tieren, wovon jeweils 3 am 6., 7., 8., 9., 10., 11. und 12. Infektionstag (IT) seziiert wurden. Die Tiere 22—26 waren als Ersatz für solche vorgesehen, die während des Versuches starben. Das Blut wurde vom 6. IT an täglich entnommen und auf Parasiten untersucht.

Die Auswertung der Organe und Blutbilder erfolgte nach HERBIG/FREYVOGEL (1953, 1956). Milz, Leber und Niere je eines am 6. IT seziierten Tieres der Serien ST5, ST6 und ST9 wurden histologisch verarbeitet, um Einblick in die Verteilung der Tuschepartikel bei verschiedenen Dosen (0,1, 0,5 und 2,5 ccm Tusche i.v.) zu erhalten. Paraffinschnitte von 7  $\mu$  Dicke wurden kurz mit Hämatoxylin-Delafield 1 : 4 gefärbt.

In einer ersten Gruppe von Versuchen (ST5, ST6, SU5) wurde die Wirkung der zur Blockierung verwendeten Maximaldosis (78,1 mg) mit derjenigen einer mittleren, stimulierenden Dosis (15,6 mg) verglichen (Abb. 8—10). In zwei weiteren Gruppen (ST7, ST8, SU7 und ST9, ST10, ST11, SU8 (Abb. 11—16) wurden noch geringere Dosen (0,1, 0,2 und 0,4) untersucht und gleichzeitig der Injektionstag im Verhältnis zum IT variiert, um eine möglichst wirkungsvolle Stimulierung in einem günstigen Moment des Infektionsverlaufes zu erzielen. Die verschiedenen Serien wurden wie folgt aufgeteilt und behandelt:

TABELLE 3.

Serie	Anzahl Tiere	Gewicht O. IT.	Tuscheinjektionen am x. Infektionstag i. v.								
			- 3.	- 2.	- 1.	0	+ 1.	+ 2.	+ 3.	+ 4.	
ST5	23	178			0,5						
ST6	26	179	0,5		1,0		0,5		0,5		
SU5	25	185									
ST7	21	178			0,2						0,2
ST8	22	180									0,4
SU7	21	185									
ST9	23	175		0,1 *							
ST10	23	172				0,1 *					
ST11	23	174					0,1 *				
SU8	26	175									

#### a) *Histologischer Befund.*

Die Präparate wurden absichtlich nur leicht angefärbt, um die Tuschepartikel deutlich hervortreten zu lassen. Abb. 6 zeigt bei gleicher Vergrößerung (1 : 70) Verteilung und Menge der gespeicherten Tusche in der Leber nach intravenöser Applikation von a) 3 mg, b) 15,6 mg und c) 78,1 mg Gasruß pro Tier. Abb. 7 zeigt die entsprechenden Verhältnisse in der Milz und Abb. 5 in der Niere, wobei im letzteren Falle die niederste Dosis weggelassen wurde, da die sehr geringen Tuschemengen, die gespeichert werden, bei schwacher Vergrößerung nicht sichtbar sind.

Im Falle der niederen und mittleren Dosen ist die Verteilung bei allen untersuchten Organen sehr ähnlich. Bei der Maximaldosis dagegen fällt auf, daß im Falle der Milz (7c) die gespeicherte Substanz viel weniger regelmäßig über das Gewebe verteilt ist wie bei der Leber (6c). Es entstehen so klumpige Tuscheanhäufungen, innerhalb deren die Phagocyten gar nicht mehr erkannt werden können. Nur auf Ausstrichen, d. h. wenn der Zellverband ausein-

\* Spezialtusche C 11/1431 a.



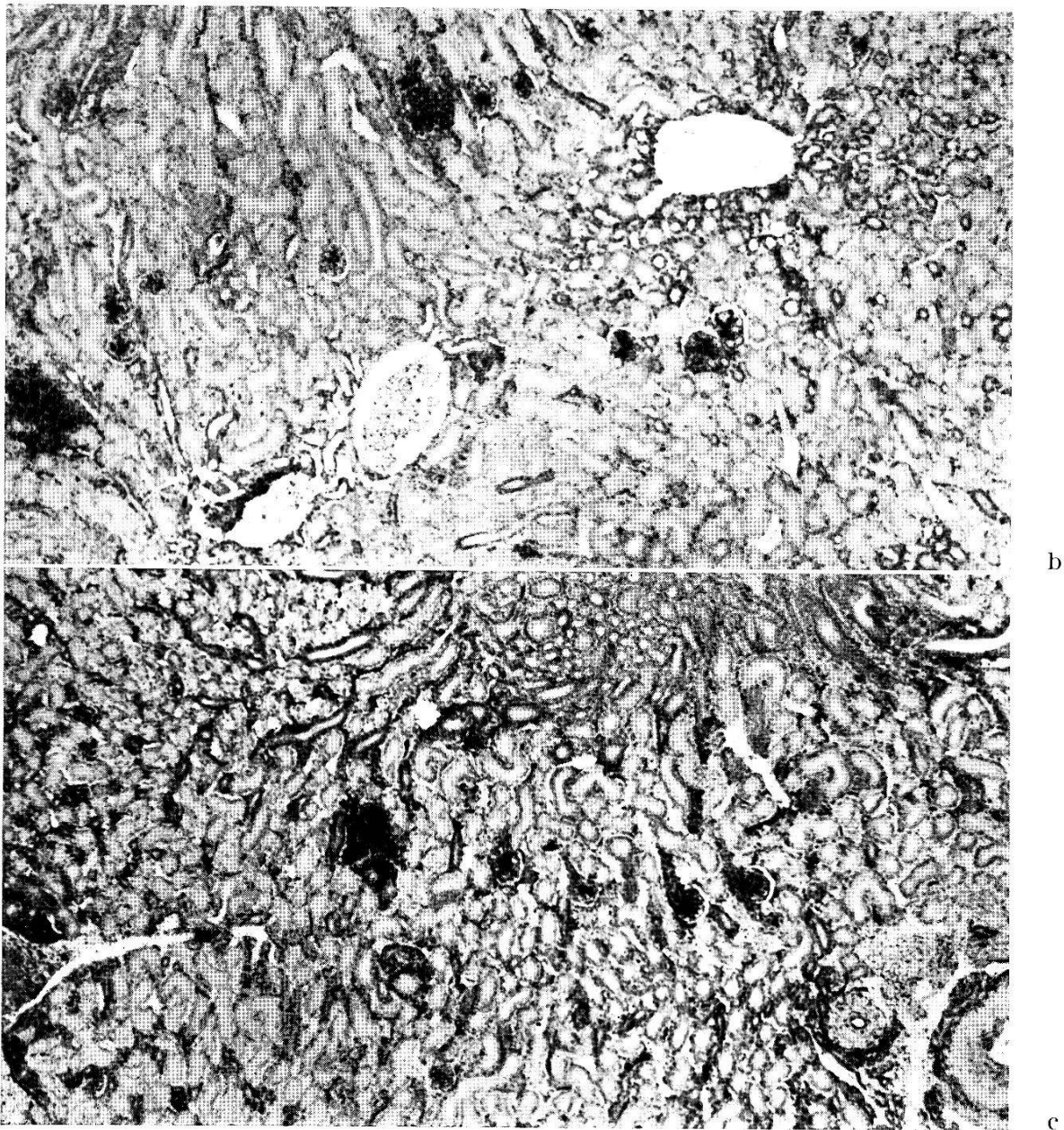


Abb. 5. Niere.

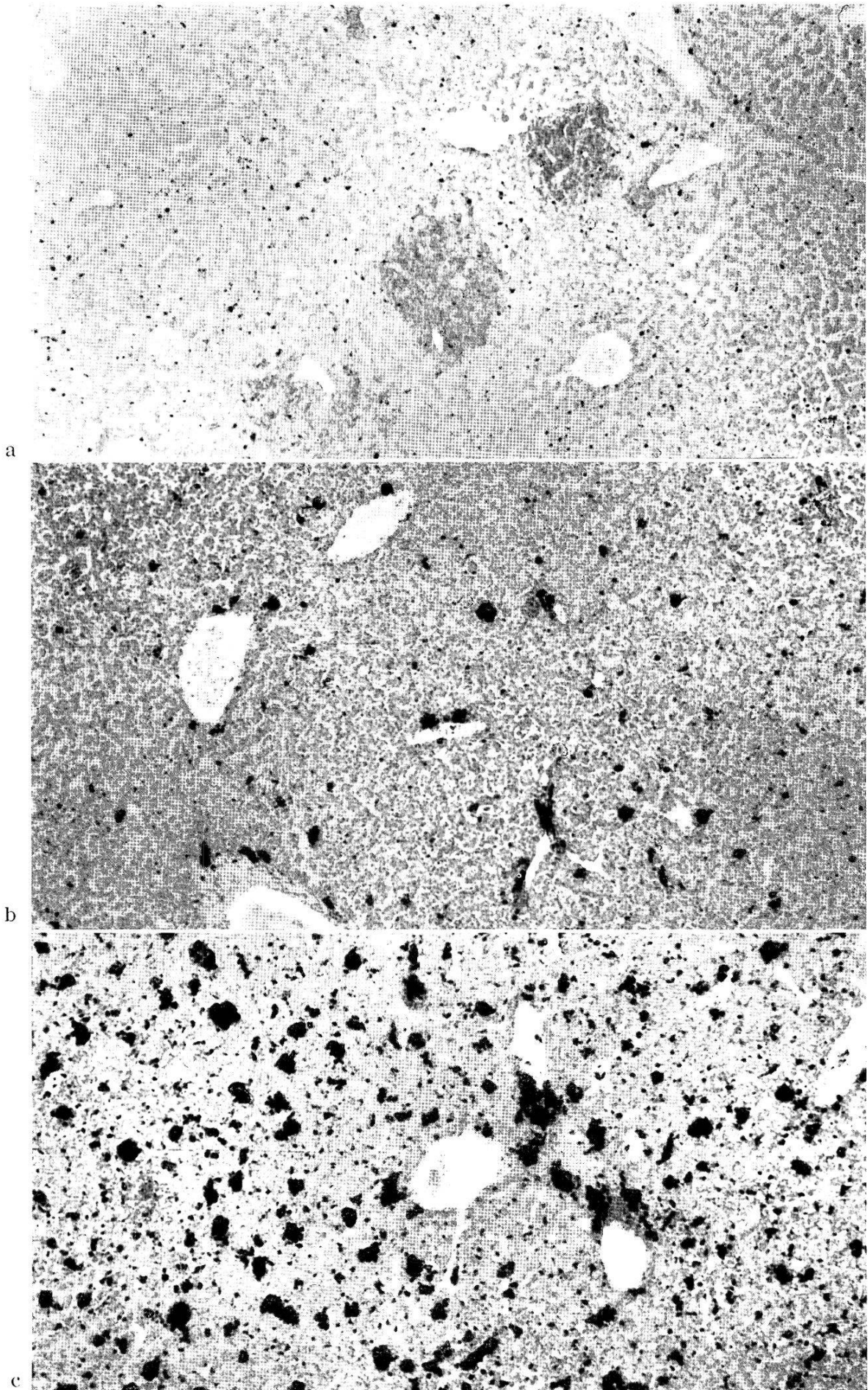
Abb. 5—7. Verteilung der in den Organen gespeicherten Tusche nach jeweiliger Verabreichung von a) 3 mg Gasruß (ST9), b) 15,6 mg Gasruß (ST5) und c) 78,1 mg Gasruß (ST6). Vergrößerung 1 : 70.

andergerissen wird, ist der Speicherzustand einer einzelnen Zelle sichtbar (Abb. 4c + d).

b) *Infektionsverlauf in den Versuchsgruppen.*

— *Serien ST5, ST6 und SU5 (Abb. 8—10).*

In den Tuscheserien (ST) wurde bei ST5 0,5 ccm Tuschelösung am —1. IT intravenös verabreicht. Bei ST6 die Maximaldosis von 2,5 ccm auf 4 Tage verteilt: 0,5 ccm am —3. IT, 1,0 ccm am —1. IT und je 0,5 ccm am +1. und +3. IT; SU5 diente als Kontrollserie.



*Abb. 6. Leber.*

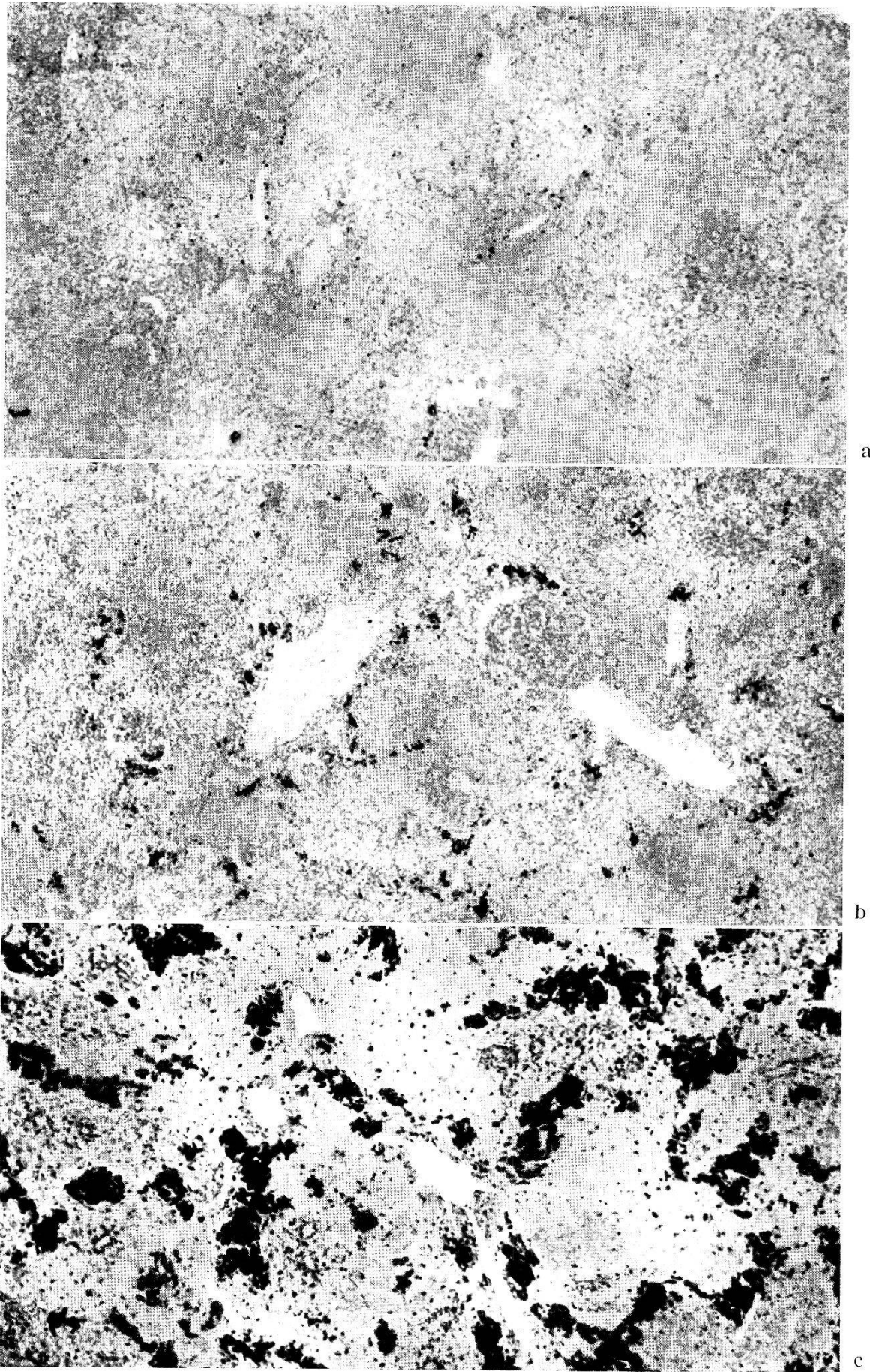


Abb. 7. Milz.

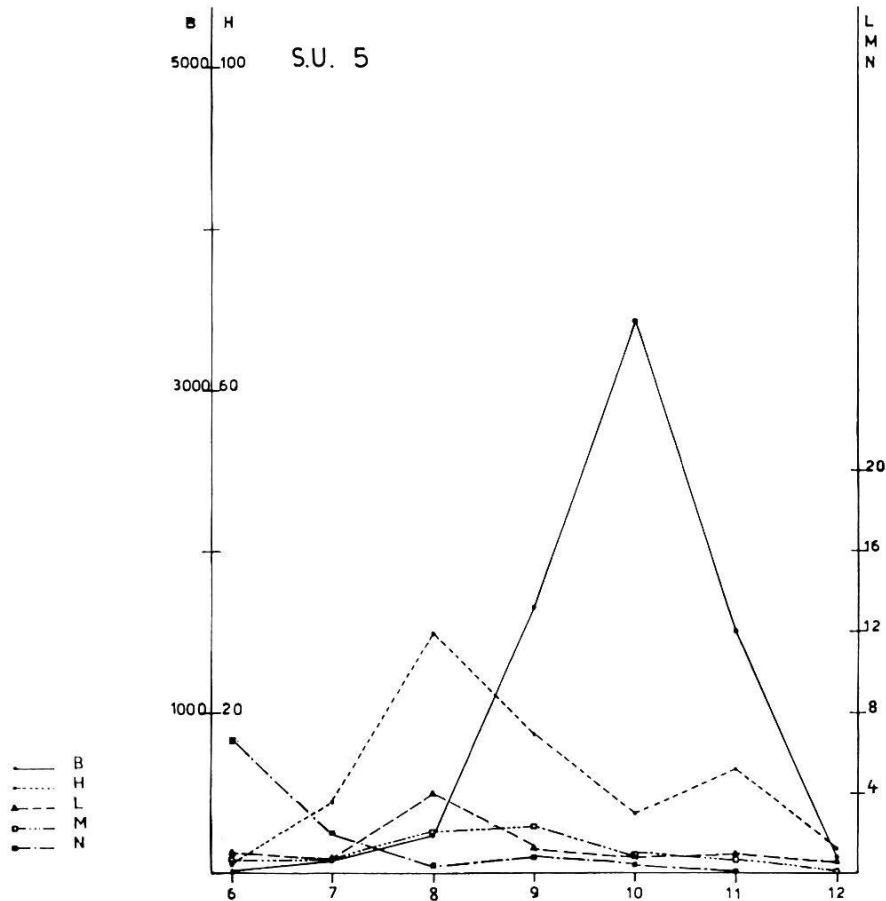


Abb. 8.

Abb. 8—10. Verlauf der Infektion bei 30tägigen Kücken. 8) Kontrollserie. 9) nach i.v. Verabreichung von 15,6 mg Gasruß (— 1. IT). 10) nach i.v. Verabreichung von 78,1 mg Gasruß (— 3., — 1., + 1., + 3. IT).

**Blutbefall:** Die Blutbefallskurve verläuft bei der Kontrollserie SU5 praktisch identisch mit derjenigen von ST5. Die Parasitaemie erreicht am 10. Tag ihren Höhepunkt und fällt bis zum 12. IT fast auf Null ab. Der Blutbefall verläuft bei ST6 ähnlich, nur wird am 10. IT ein höherer Wert erreicht.

**Hirnbefall:** ST5 zeigt einen ähnlichen Hirnbefall wie die Kontrollserie, doch ist das Maximum um einen Tag verschoben. ST6 zeigt zwar den Höhepunkt der Infektion am gleichen Tag wie SU5, aber die erreichten Werte sind hier  $2\frac{1}{2}$  mal höher als bei der Kontrollserie. Der Abfall der Befallskurve ist jedoch bei ST6 steil und kontinuierlich und zeigt bis zum 11. IT kein neues Ansteigen der Kurve.

**Leberbefall:** Der erste Anstieg der Befallskurve verläuft in ST5 etwas langsamer als bei der Kontrollserie, und das Maximum wird einen Tag später, nämlich erst am 9. IT, erreicht. Dagegen findet sich bei ST5 ein zweiter, kleinerer Gipfel am 11. IT. Die Kurve verläuft bei ST6 ähnlich wie bei SU5, nur liegt das Maximum am 8. IT fast 3mal höher.

S.T. 5

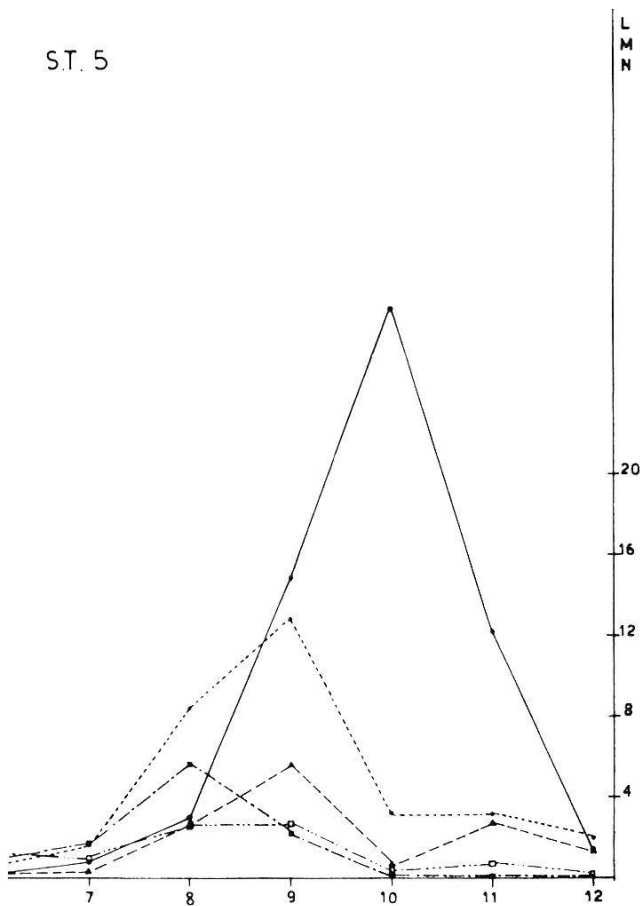


Abb. 9.

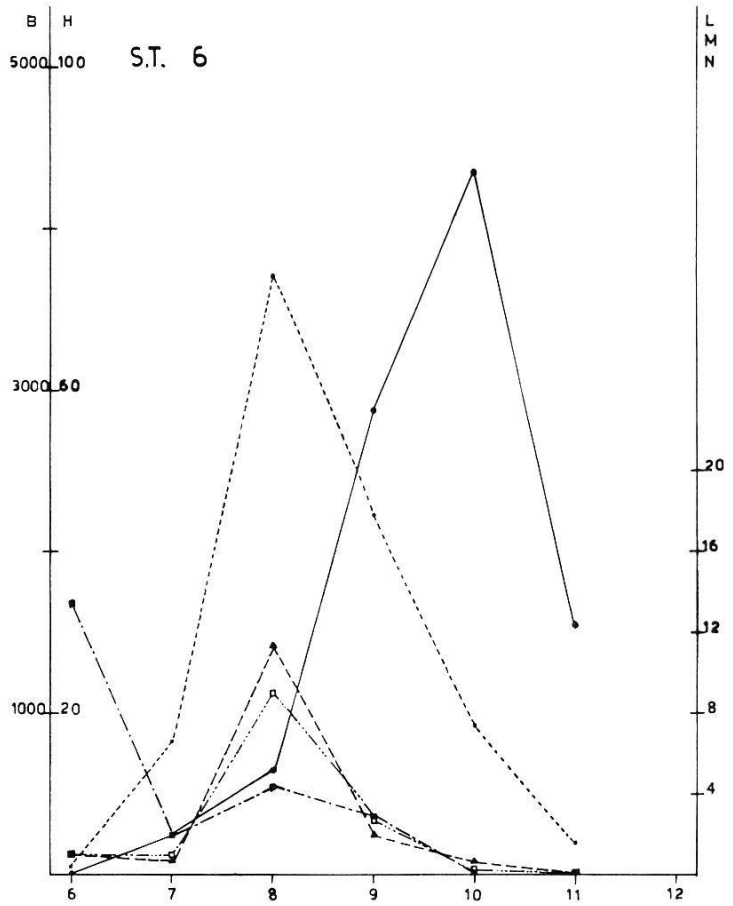


Abb. 10.

**Milzbefall:** Die Befallskurven von ST5 und SU5 sind sehr ähnlich. Das Maximum liegt zwischen dem 8. und 9. IT, und es kommt kein eigentlicher Gipfel zustande. Bei ST6 hingegen verläuft der Milzbefall gleich wie der Leberbefall, es zeigt sich ein deutlicher Gipfel am 8. IT.

**Nierenbefall:** SU5 und ST6 zeigen beide einen maximalen Befall am 6. IT und ein Absinken der Kurve zum 7. IT, doch ist der Wert für ST6 fast doppelt so hoch wie bei der Kontrollserie, und die Kurve steigt zudem vom 7. zum 8. IT nochmals leicht an. Bei ST5 verläuft der Nierenbefall etwas anders: am 6. und 7. IT finden wir sehr niedere Werte, während das Maximum am 8. IT erreicht wird.

Vergleicht man die Kurvenbilder der drei Serien ST5, ST6 und SU5, so zeigt sich deutlich im viel stärkeren Organbefall der Serie ST6, daß durch die Verabreichung von 78,1 mg Gasruß das RES vorübergehend stark beeinflußt wird. Die Wirkung der Tusche ist zwischen dem 6. IT (Nierenbefall) und dem 8. IT (Leber, Milz und Gehirn) bemerkbar. Die Regeneration des RES zeigt sich jedoch im gleichzeitigen Abfall aller Organbefallskurven vom 8. zum 9. IT. Diese Resultate stimmen mit den aus der Literatur bekann-

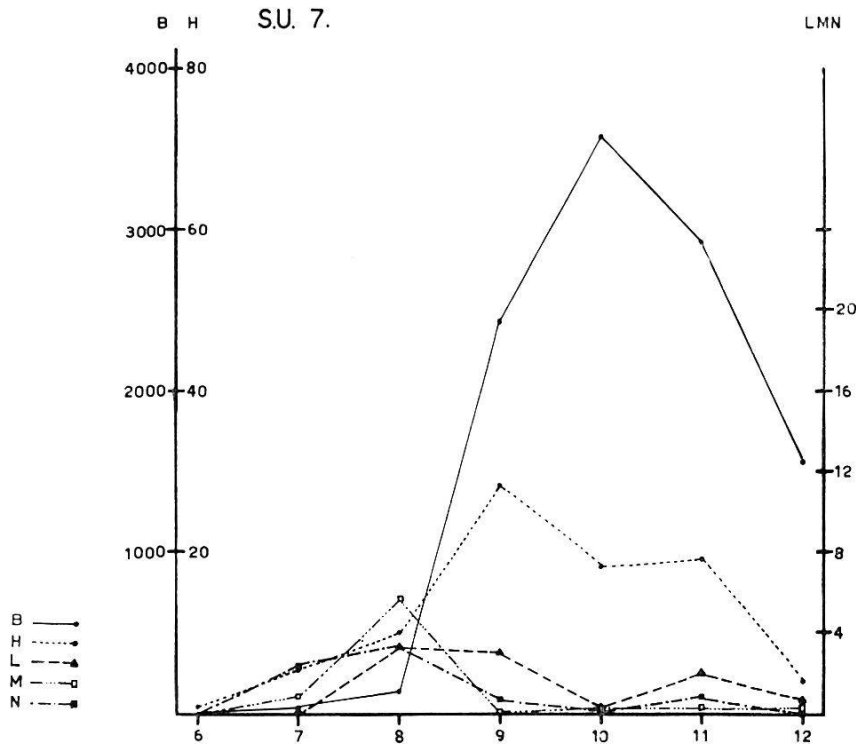


Abb. 11.

Abb. 11—13. Verlauf der Infektion bei 30tägigen Kücken. 11) Kontrollserie. 12) nach i.v. Verabreichung von 2mal 6,25 mg Gasruß (+ 1., + 4. IT). 13) nach i.v. Verabreichung von 12,5 mg Gasruß am + 4. IT.

ten Daten überein, da die meisten Autoren einen maximalen Effekt von Tuscheverabreichung nach etwa 72 Stunden beschreiben und gleichzeitig feststellen, daß es nie gelingt, das RES dauernd zu blockieren, da sich bald wieder neue RES-Zellen bilden (BIOZZI et al., 1957). Diese Regeneration zeigt sich meist in einer Vergrößerung der betreffenden Organe, vor allem von Milz und Leber. Auch wir konnten bei der Sektion jeweils ein starkes Anschwellen der entsprechenden Organe feststellen, doch ist dieses bei unseren Versuchen nicht signifikant, da sich ja schon durch die Malaria allein, auch ohne Tusche-Applikation, eine Vergrößerung feststellen läßt.

Was nun die Serie ST5 angeht, wo wir versuchten, durch eine sehr viel geringere Dosis Tusche als in ST6, nämlich 15,6 mg Gasruß, das RES zu stimulieren, so ist der Effekt nur sehr gering und zeigt sich vor allem in einem sehr niedern Befall der Niere am 6. IT und in einer Verzögerung des Hirnbefalles um einen Tag. Wir vermuteten, daß die verabreichte Tuschemenge für eine Stimulierung der Makrophagen vielleicht noch zu hoch und vor allem nicht im günstigsten Moment appliziert worden war und variierten deshalb in den folgenden Versuchsserien den Zeitpunkt der Injektion unter Verwendung noch geringerer Tuschemengen (6,25 mg bzw. 3,0 mg).

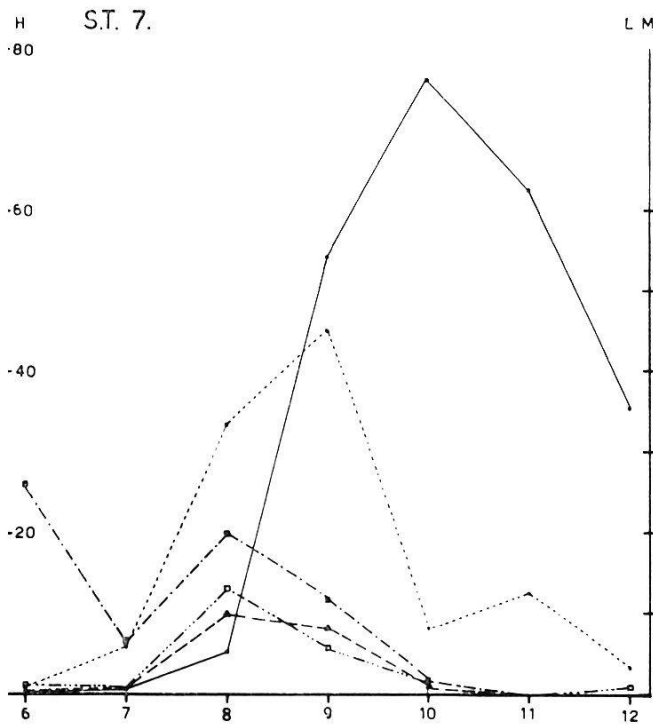


Abb. 12.

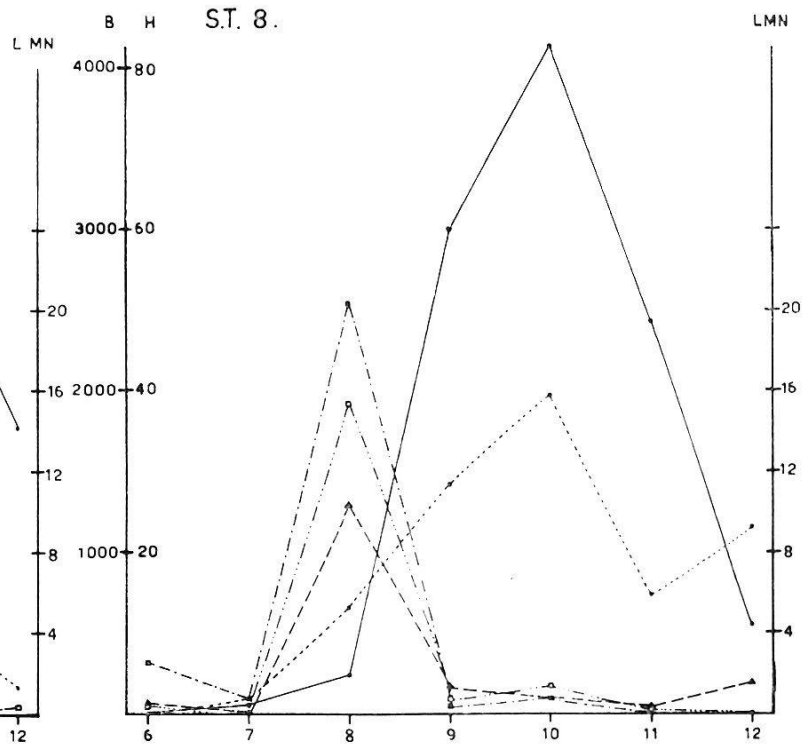


Abb. 13.

Vergleicht man die Kurven des Organbefalles von ST6 nun mit den früheren Kontrollserien von FREYVOGEL (SV<sub>30</sub> und EV<sub>30</sub>, Abb. 2b), so findet sich eine starke Ähnlichkeit des Infektionsverlaufes. Dies spricht für die von anderen Autoren vertretene Anschauung, daß das RES bei ganz jungen Kücken noch nicht voll funktionsfähig und der Infektionsverlauf deshalb viel akuter ist. Wie auf S. 308 dargelegt wurde, reagieren untergewichtige 30tägige Kücken ja nicht ihrem Alter entsprechend auf eine Plasmodieninfektion. Es scheint nun nach unseren Resultaten, daß normalgewichtige 30tägige Kücken nach vorübergehender, teilweiser Blockierung ähnlich reagieren wie solche Tiere, deren RES von Anfang an noch weniger entwickelt war.

— Serien ST7, ST8 und SU7 (Abb. 11—13).

In den zwei Tuscheserien (ST) wurde bei ST7 0,2 ccm am -1. IT und am +4. IT injiziert, bei ST8 0,4 ccm Tusche am +4. IT. SU7 = Kontrollserie.

*Infektionsverlauf:* Ein Vergleich der Kurvenbilder der beiden Kontrollserien SU5 und SU7 zeigt, daß sich die Infektiosität des Plasmodienstammes praktisch nicht verändert hat. Für die Niere wurde in SU5 am 6. IT der Maximalwert gezählt, in SU7 dagegen erst am 8. IT. Der schwache Nierenbefall in SU7 am 6. IT stellt eher eine Ausnahme dar, da in den meisten anderen Serien bereits am 6. IT ein relativ hoher Nierenbefall festgestellt werden konnte.

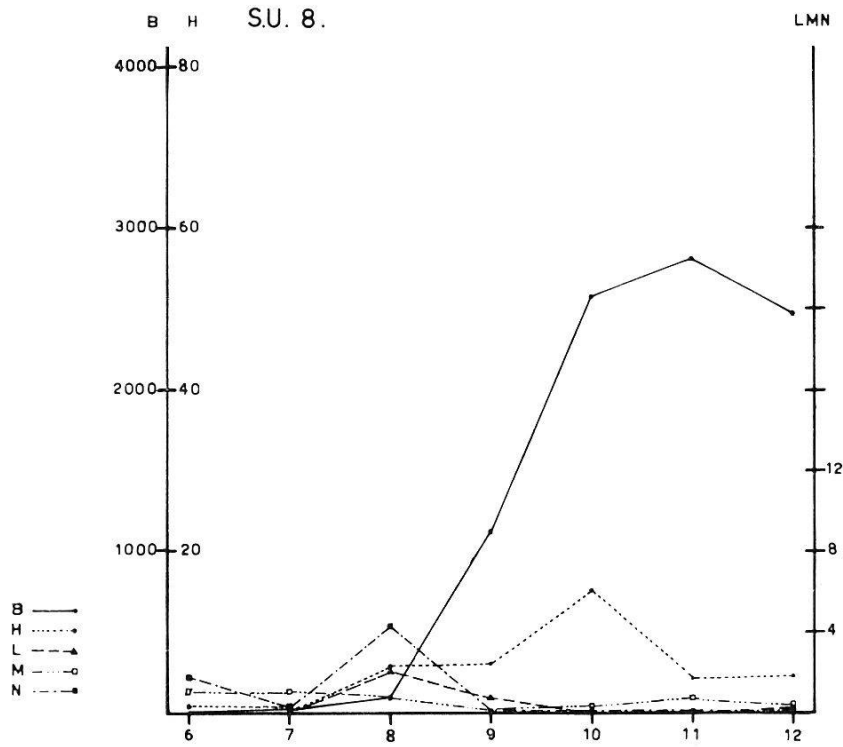


Abb. 14.

Abb. 14—16. Verlauf der Infektion bei 30tägigen Kücken. 14) Kontrollserie. 15) nach i.v. Verabreichung von 3 mg Gasruß am — 2. IT. 16) nach i.v. Verabreichung von 3 mg Gasruß am + 1. IT.

**Blutbefall:** Der Blutbefall ist bei allen drei Serien fast identisch. Ein steiler Anstieg der Kurve ist am 8. IT zu verzeichnen, und der Gipfel wird überall am 10. IT erreicht. Die Kurven des Blutbefalles dieser Serien unterscheiden sich nicht wesentlich von denjenigen der Gruppe SU5, ST5 und ST6.

**Hirnbefall:** In der Serie ST7 liegt der Höhepunkt des Hirnbefalles wie bei der Kontrollserie SU7 am 9. IT. Der Parasitenbefall ist jedoch stärker, dafür ist der Abfall am 10. IT bedeutender. Der zweite, weit schwächere Gipfel am 11. IT ist deshalb auch in ST7 etwas ausgeprägter als in SU7. In ST8 hingegen steigt der Hirnbefall vom 7. bis zum 10. IT kontinuierlich an, der Höhepunkt ist also um einen Tag verschoben und dementsprechend auch der zweite schwächere Gipfel. Eine solche Verschiebung des Maximalbefalles des Hirns um einen Tag wurde bereits bei ST5 notiert.

**Leberbefall:** Die Kurve der Leberinfektion verläuft für SU7 und ST7 ähnlich, und der stärkste Befall ist am 8. und 9. IT zu verzeichnen; es ist demnach kein eindeutiger Gipfel am 8. IT vorhanden. In ST8 hingegen fällt das Infektionsmaximum deutlich auf den 8. IT, und der Parasitenbefall ist hier wesentlich höher als in SU7 und ST7. Zu bemerken ist noch, daß in ST7 der Leberbefall bis zum 10. IT kontinuierlich abklingt bis zu 0, während in SU7



ST. 9.

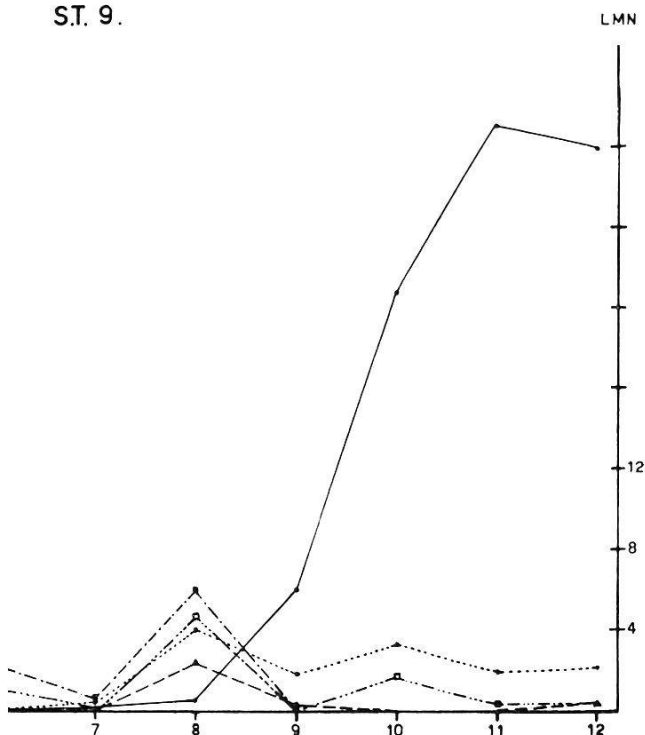


Abb. 15.

ST. 11.

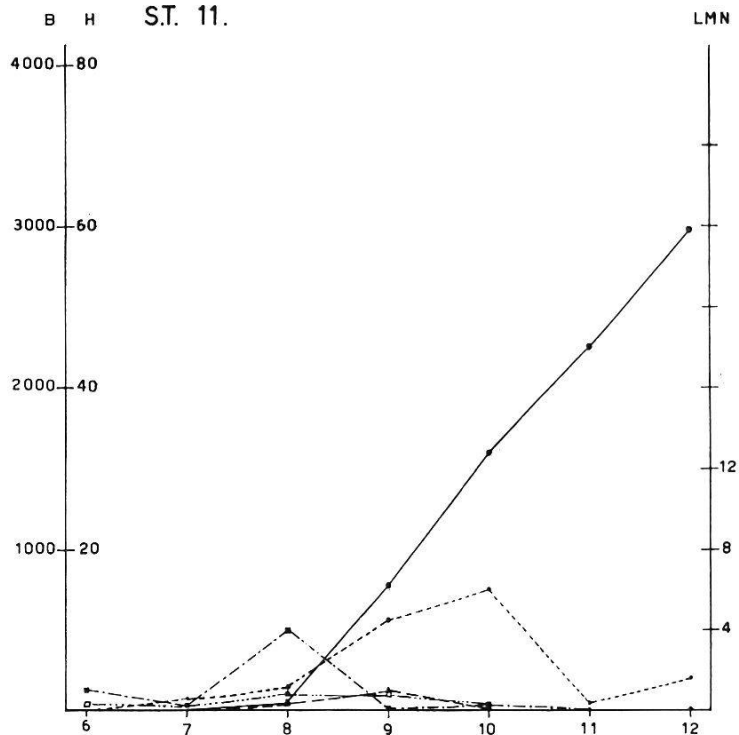


Abb. 16.

und ST8 am 11. resp. 12. IT ein zweiter, allerdings viel schwächerer Gipfel auftritt.

*Milzbefall:* Der Milzbefall ist in SU7 und ST7 sehr ähnlich, und die höchste Parasitenzahl findet sich erwartungsgemäß am 8. IT. In der Serie ST8 hingegen ist die Parasitenzahl am 8. IT beinahe dreimal so hoch wie in den beiden anderen Serien.

*Nierenbefall:* Die Niereninfektion ist in SU7 relativ schwach, und der Maximalbefall wird am 8. IT erreicht. In ST7 ist die Infektion am 8. IT doppelt so stark wie bei der Kontrollserie, wobei außerdem bereits am 6. IT ein sehr hoher Wert erreicht wurde, wie dies auch in anderen Serien der Fall war. Bei ST8 endlich ist der Befall am 8. IT 5mal so hoch wie bei der Kontrollserie, der Wert am 6. IT hingegen ist 4mal niedriger als in ST7, aber immerhin höher als bei SU7.

Der unterschiedliche Organbefall in ST7 und ST8 zeigt deutlich, daß der Zeitpunkt, an welchem die Tusche gespritzt wird, von großer Bedeutung ist. Die einmalige Injektion von 0,4 ccm am +4. IT hat eine wesentliche Steigerung der Parasitenzahl zur Folge. Dieselbe Dosis, verabreicht an zwei verschiedenen Tagen (—1. und +4. IT je 0,2 ccm), ergibt ein ähnliches Infektionsbild wie bei der Kontrolle. In ST7 wirkt sich die Tusche vor allem bei der Niere aus, deren Befallskurve von derjenigen der Kontrollserie wesentlich abweicht. Die Tusche in ST7 scheint immerhin den späteren Verlauf der Parasitaemie günstig beeinflusst zu haben, da die

Parasitenzahl vom 10. IT an innert 2 Tagen praktisch auf 0 absinkt. In der Kontrollserie ist am 11. IT ein leichter Parasitenanstieg bemerkbar, wie dies auch am 10. IT bei ST8 der Fall ist. Es wäre denkbar, daß die am +4. IT injizierte Tusche vorerst eine ganze Anzahl von Makrophagen blockiert und so einen bedeutend stärkeren Organbefall am 8. IT verursacht, während sich anschließend sehr rasch die Regeneration des RES bemerkbar macht. Diese Resultate veranlaßten uns, in den folgenden Versuchsserien noch geringere Tuschemengen, nämlich 3 mg Gasruß, zu verabreichen und zudem den Zeitpunkt der Applikation noch weiter zu variieren.

— Serien ST9, ST11 und SU8 (Abb. 14—16).

In der Serie ST9 wurden 0,1 ccm Tusche am — 2. IT, in der Serie ST11 0,1 ccm Tusche am +1. IT injiziert. SU8 = Kontrolle.

*Infektionsverlauf:* Bei der Serie SU8 ist der Parasitenbefall etwas schwächer als bei den früheren Kontrollserien, was wohl auf den guten Zustand der Kücken zurückzuführen ist (vgl. Abb. 1). Das Hirn hat seinen Maximalbefall erst am 10. IT; der Milzbefall weist keinen Gipfel am 8. IT auf, und die Infektion ist nicht so stark wie früher. Der Verlauf der Niereninfektion ist mit demjenigen von SU7 vergleichbar, wobei am 8. IT ein deutliches Maximum zu verzeichnen ist.

*Blutbefall:* Die Parasitaemie von ST9 ist etwas höher als in SU8, doch fällt das Maximum ebenfalls auf den 11. IT. In ST11 hingegen steigt der Blutbefall vom 8. IT an kontinuierlich bis zum 12. IT.

*Hirnbefall:* Bei ST11 verläuft der Hirnbefall praktisch gleich wie bei SU8, auch der Gipfel liegt am 10. IT, doch ist der Parasitenbefall in ST11 am 9. IT etwas stärker als bei SU8. Die Hirnkurve von ST9 weicht von den anderen insofern ab, als ein erster Gipfel am 8. IT und ein zweiter am 10. IT auftritt.

*Leberbefall:* Sowohl bei SU8 als auch bei ST9 liegt der Gipfel beim 8. IT, und die Infektion ist bei beiden Serien fast gleich. In ST11 hingegen ist der Leberbefall sehr gering, am 8. IT ist kein Gipfel nachzuweisen, und auch am 9. IT bleibt die Infektion schwach. Die Abwehrreaktion der Leber scheint in dieser Serie durch die Tusche positiv beeinflußt worden zu sein.

*Milzbefall:* Der Milzbefall in ST11 ist mit demjenigen von SU8 zu vergleichen. In beiden Serien ist er aber sehr nieder und zeigt kein Maximum am 8. IT. In ST9 hingegen ist ein Höhepunkt am 8. IT vorhanden.

*Nierenbefall:* Der Nierenbefall bei SU8 und ST11 ist identisch, und in beiden Serien liegt der Gipfel beim 8. IT. Auch in ST9 fin-

det sich das Maximum am 8. IT, doch ist hier die Infektion etwas stärker. In allen drei Serien ist bereits am 6. IT eine relativ starke Infektion vorhanden, doch ist sie nicht so hoch, wie dies in früheren Serien der Fall war.

#### IV. Diskussion der Resultate.

Die Resultate der Serie ST6 zeigen, daß das RES von Leber, Milz und Niere durch eine hohe Tuschedosis (78,1 mg) vorübergehend blockiert wird, und daß dadurch eine wesentlich stärkere Infektion dieser Organe zustande kommt. Andererseits läßt die Serie ST8 vermuten, daß das gleiche Resultat mit einer bedeutend schwächeren Tuschedosis (12,5 mg) ebenfalls erreicht wird, wenn diese Tuschemenge zu einem ganz bestimmten Zeitpunkt, nämlich am +4. IT, appliziert wird. Die ähnliche Dosis von 15,6 mg am -1. IT verabreicht (ST5), ergab ein ganz anderes Infektionsbild (vergl. Abb. 10 und 13). Desgleichen ist das Resultat verschieden, wenn 12,5 mg nicht auf einmal, sondern in zwei gleichen Portionen injiziert werden (ST7). Dadurch bestätigt sich, daß für die Blockierung des RES nicht nur die Tusche m e n g e, sondern ebenso sehr der Z e i t p u n k t der Verabreichung von großer Bedeutung ist.

Außerdem zeigt sich, wie aus den quantitativen Tuschebestimmungen hervorgeht, daß die einzelnen Organe (Leber, Milz und Niere) die Tusche nicht in gleichem Maße speichern; sie werden dementsprechend verschieden stark blockiert.

Es scheint aber auch für eine Stimulierung des RES eine ähnliche Abhängigkeit von Dosis und Zeitpunkt der Injektion zu bestehen. Dadurch, daß die Organe Tusche in ganz verschiedenem Maße aufnehmen, ist es kaum möglich, Leber, Milz und Niere mit ein und derselben Dosis gleichzeitig maximal zu stimulieren. So wurde z. B. in der Serie ST11 mit 3 mg Gasruß, injiziert am +1. IT, einzig eine gewisse Stimulierung der Leber erreicht, was sich im schwächeren Befall dieses Organs am 8. IT äußert (vergl. Abb. 16).

Bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse muß zudem immer der sehr komplexe Verlauf der Infektion während der präpatenten Phase berücksichtigt werden. Die erste Generation der EE-Schizonten, die Cryptozoiten, wurden bis heute nur in der Milz nachgewiesen. Die Metacryptozoiten der 2. Generation dagegen findet man bereits in einer ganzen Reihe von Organen, wenn sie auch vor allem Milz, Leber und Niere bevorzugen und erst die nachfolgenden Formen in großer Zahl über die Blutbahn in die verschiedensten Organe transportiert werden. Bei einer natürlich verlaufenden *Gallinaceum*-Infektion steigt ja der Parasitenbefall in den Kapillarendothelien, besonders von Herz und Hirn, etwa vom 7. IT

an ganz enorm und erreicht sehr hohe Werte, während die Niere ihren maximalen Befall oft schon am 6. IT durchmacht. Wenn sich also die Stimulierung der RES-Zellen je nach Dosierung auf einzelne Organe beschränkt, steht den Plasmodien eine ganze Reihe von «Ausweichmöglichkeiten» für ihre Entwicklung zur Verfügung.

Schließlich ist denkbar, daß die Wirkung der verabreichten Tusche stets eine doppelte ist, denn es könnten bei einer Blockierung der Makrophagen die betroffenen Zellen nicht nur in ihrer Funktion als Abwehrzellen, sondern auch als Wirtszellen für die EE-Schizonten ausfallen. Umgekehrt könnte eine stimulierende Dosis zwar das Abwehrvermögen der Zellen steigern, zugleich aber die Anzahl der potentiellen Wirtszellen erhöhen. Allerdings bleibt vorläufig offen, ob sich eine Stimulierung des RES allein in einer Änderung des Funktionszustandes oder auch in einer zahlenmäßigen Vermehrung der Makrophagen auswirkt.

Die Verhältnisse während der präpatenten Phase, sowie der Umstand, daß bei juvenilen Kücken das RES noch nicht voll funktionsfähig ist, mögen dafür verantwortlich sein, daß die vorübergehende Blockierung viel deutlicher zutage tritt als die Stimulierung. Außer in den Organbefunden zeigt sich letztere vor allem im Verlauf der Parasitaemie (vergl. ST9 und ST11, Abb. 15 und 16), wo sich eine ausgesprochene Abschwächung des sonst sehr konstanten «flooding effect» feststellen läßt. Während die Blutbefallskurve sonst zwischen dem 8. und 10. IT sehr steil verläuft, zeigt diese bei ST11 einen viel flacheren Verlauf mit einem kontinuierlichen Anstieg bis zum 12. IT.

Trotz all diesen Vorbehalten lassen jedenfalls die hier beschriebenen Resultate den einen Schluß zu, daß durch eine Änderung des Funktionszustandes des RES der Infektionsverlauf (*P. gallinaceum*) bei juvenilen Kücken direkt beeinflußt werden kann.

## V. Literatur.

- ALVAREZ, D. A. jr. (1952). Phagocytosis and destruction of *Plasmodium gallinaceum* by cells of the reticulo-endothelial system. — Amer. J. Hyg. 56, 31-38.
- BENACERRAF, B., et al. (1957). Physiology of phagocytosis of particles by the R.E.S. — Aus: Physiopathology of the R.E.S., Oxford: Blackwell, pp. 52—79.
- BIOZZI, G., et al. (1951). Nouvelles recherches sur l'activité granulopexique du système réticulo-endothélial. Cinétique de l'épuration sanguine du carbone après des injections intraveineuses répétées et rapprochées d'encre de chine. — C. R. Soc. Biol. 145, 499-502.
- (1957). Phagocytic activity of the reticulo-endothelial system in experimental infections. — Aus: Physiopathology of the R.E.S., Oxford: Blackwell, pp. 204-225.
- FREYVOGEL, THIERRY. (1956). Zur Frage der Wirkung des Höhenklimas auf den Verlauf akuter Malaria. — Acta trop. 13, 1-57.

- HALPERN, B. N., BIOZZI, G. & MENE, G. (1950). Technique d'étude quantitative de l'activité granulopexique du système réticulo-endothélial. — C. R. Soc. Biol. 144, 232-234.
- (1951). Degré de saturation et chronologie de la récupération fonctionnelle de l'activité granulopexique du système réticulo-endothélial après une injection intraveineuse d'une dose de charge unique de carbone chez le rat. — C. R. Soc. Biol. 145, 671-675.
- HALPERN, B. N., et al. (1951). Etude quantitative de l'activité granulopexique du système réticulo-endothélial par l'injection intraveineuse d'encre de chine chez les diverses espèces animales. I. — Ann. Inst. Pasteur 80, 582-604.
- HALPERN, B. N., BENACERRAF, B. & BIOZZI, G. (1953). Quantitative Study of the Granulopexic Activity of the Reticulo-Endothelial System. I. The Effect of the Ingredients present in India Ink and of Substances Affecting Blood Clotting *in vivo* on the Fate of Carbon Particles Administered Intravenously in Rats, Mice and Rabbits. — Brit. J. exp. Path. 34, 426-440.
- HALPERN, B. N., et al. (1954). Facteurs régissant la fonction phagocytaire du système réticulo-endothélial. — Rev. Hémat. 9, 621-642.
- HELLER, JOHN H. (1957). Physiologic stimulation and inhibition of the phagocytic function of the reticulo-endothelial system. — Aus: Physiopathology of the R.E.S., Oxford: Blackwell, pp. 43-51.
- HERBIG-SANDREUTER, ADELHEID. (1953). Untersuchungen über den Einfluß des Höhenklimas auf Hühnermalaria (*Plasmodium gallinaceum*, Brumpt). — Acta trop. 10, 1-27.
- HUFF, CLAY G. (1952). Studies on the exoerythrocytic stages of *Plasmodium gallinaceum* during the transitional phase. — Exp. Parasit. 1, 392-405.
- LOXLEY, O. J. R. (1955). Effect of Indian Ink on *P. berghei* Infections in Mice — Nature 176, 705.
- NEUKOMM, S., LERCH, P. & JALLUT, O. (1957). Physiochemical factors governing the phagocytic function of the R.E.S. — Aus: Physiopathology of the R.E.S., Oxford: Blackwell, pp. 115-127.
- POLICARD, A. (1957). The morphology and physiology of the reticulo-histocytic cell. — Aus: Physiopathology of the R.E.S., Oxford: Blackwell, pp. 12-27.
- TRAGER, WILLIAM. (1941). The effect of intraperitoneal injections of carbon ink on the course of *Plasmodium lophurae* infections in chickens. — Amer. J. Hyg. 34, 141-149.
- TULLIS, JOHN L. (1947). The distribution of exoerythrocytic parasites and the tissue reaction caused by blood-induced *Plasmodium gallinaceum* in chicks. — Amer. J. trop. Med. 27, 21-29.
- WEIL, R. (1955). Zur Frage des Einflusses des Höhenklimas auf Hühnermalaria bei Blutinokulation mit *Plasmodium gallinaceum* Brumpt. — Acta trop. 12, 53-66.

## VI. Résumé.

Le présent travail a été effectué à la suite de recherches entreprises par HERBIG (1953) et FREYVOGEL (1956) sur l'influence des hautes altitudes dans l'infection paludéenne. Comme le changement du cours de cette dernière semble être dû, d'après FREYVOGEL, à une activation du système réticulo-endothélial (SRE), des expériences ont été faites pour élucider le rôle et l'importance du SRE dans l'infection à *Plasmodium gallinaceum*. On a employé des poussins âgés de 30 jours ; on leur a inoculé à chacun les sporozoïtes de 2½ à 3 moustiques par voie intramusculaire. On a tout d'abord comparé des séries de contrôle faites entre novembre 1953 et octobre 1957. Il en est ressorti que le cours de l'infection dépendait non seulement de l'âge du poussin, mais aussi de

sa vitesse de croissance. Pour éviter des erreurs, chaque série expérimentale a été ensuite accompagnée d'une série complète de contrôle.

Le but premier était d'étudier l'effet produit par de l'encre de Chine sur le SRE, administrée par voie intravéneuse, en quantités variées et à différents stades de l'infection. Auparavant, on avait procédé à des analyses quantitatives de divers organes (foie, rate, reins) et examiné des coupes histologiques, afin de déterminer l'effet granulopexique de 78,1, 15,6 et 6.3 mg. de carbone, injectés à des poussins de 180 g. environ. Dix séries, de 21 à 26 animaux chacune, ont été infectées avec *P. gallinaceum*, dont sept ont été traitées à l'encre de Chine, à raison de 78,1, 15,6 ou 3 mg. par poussin. Le SRE s'en trouvait ou bloqué ou activé. Les résultats sont ensuite discutés en détail.

Le blocage — même temporaire — du SRE est suivi d'effets bien plus marqués que ne l'est l'activation. Ceci peut s'expliquer doublement : d'abord le SRE de poussins âgés d'une trentaine de jours ne semble pas encore avoir atteint sa maturité fonctionnelle ; en second lieu, les macrophages jouent un double rôle, servant à la fois d'hôte et de mécanisme de défense du plasmodium. Une complication de plus se présente par le fait qu'il est impossible d'influencer tous les organes concernés en même temps.

En dépit de ces difficultés, il est possible de démontrer qu'il existe une relation directe entre l'état fonctionnel du SRE et le cours de l'infection à *P. gallinaceum* chez le poussin.

#### Summary.

The present work was done as a continuation of the investigations made by HERBIG (1953) and FREYVOGEL (1956) on the influence of high altitudes on chicken malaria. As FREYVOGEL showed that the influence of high altitudes must be due to a stimulation of the RES, further experiments were carried out to elucidate the role of the RES and its influence on the course of *P. gallinaceum* infection. Chicks 30 days old were used after i.m. inoculation of sporozoites from 2½ to 3 mosquitoes each.

To begin with control series made between November 1953 and October 1957 were compared; they showed that the course of infection depends on age as well as on the growth rate. Stress was laid on the importance of a control series being carried out simultaneously for each group of experiments.

The main studies are concerned with the effect of varying doses of indian ink, applied intravenously at different times, on the course of malaria infection. Quantitative assays of the different organs (spleen, liver, kidney), and histological sections were made to ascertain the granulopexic effect of 78.1, 15.6 and 6.3 mg. carbon injected to chicks of approximately 180 g. body weight. Ten series of 21-26 animals each were infected with *P. gallinaceum* and the animals of 7 series treated with indian ink in doses of 78.1, 15.6 and 3 mg. respectively. The blocking or stimulating effect and its relation to the course of malaria infection is discussed.

Temporary depression of the RES produces much more striking effects than stimulation. This is explained first by the fact that the RES of 30-day-old chicks seems to be still functionally immature and secondly by the double role of the macrophages as defence mechanism as well as host cell for EE-forms of avian plasmodia. Further complication arises from the impossibility of influencing all organs at the same time, as demonstrated by the quantitative evaluation of carbon in the various organs concerned.

In spite of all these points it is possible to show a direct influence of the functional state of the RES on the course of *P. gallinaceum* infection in young chicks.