

ACTA MEDICA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVENTIBUS

A. BABITS, Ö. KERPEL-FRÓNIUS, I. KÖRNYEY, Ö. RAJKA,
I. RUSZNYÁK, † L. SCHMIDT

REDIGIT

G. HETÉNYI

TOMUS XII

FASCICULI 1—2



1958

ACTA MED. HUNG.

ACTA MEDICA

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
ORVOSTUDOMÁNYI KÖZLEMÉNYEI

KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY UTCA 21.

Az *Acta Medica* német, angol, orosz és francia nyelven közöl tudományos értekezéseket az orvostudomány köréből.

Az *Acta Medica* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg, több füzet alkot egy kötetet. A közlésre szánt kéziratok a következő címre küldendők:

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi levelezés.

Az *Acta Medica* előfizetési ára kötetenként belföldre 80 forint, különöldre 110 forint. Megrendelhető a belföld számára az „Akadémiai Kiadó”-nál (Budapest, V., Alkotmány utca 21. Bankszámla 05-915-111-44), a különöld számára pedig a „Kultúra” Könyv- és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Bankszámla 43-790-057-181 sz.), vagy annak különöldi képviseleteinél, bizományosainál.

Die *Acta Medica* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereich der medizinischen Wissenschaften in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die *Acta Medica* erscheinen in Heften wechselnden Umfangs. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind an folgende Adresse zu senden:

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

An die gleiche Anschrift ist auch jede für die Redaktion bestimmte Korrespondenz zu richten.

Abonnementspreis pro Band: 110 Forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Außenhandels-Unternehmen »Kultura« (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Bankkonto Nr. 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

ACTA MEDICA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

A DIUVANTIBUS

A. BABITS, Ö. KERPEL-FRÓNIUS, I. KÖRNYEY, Ö. RAJKA,
I. RUSZNYÁK

REDIGIT

G. HETÉNYI

TOMUS XII



1958

ACTA MED. HUNG.

INDEX

Tomus XII

<i>Gerlóczy, F. and Bencze, B. : Vitamin Metabolism in Infantile Atrophy.....</i>	1
<i>Petrányi, J. : Naturgeschichte des Lupus erythematosus und die klinischen Zusammenhänge der rheumatischen Erkrankungen</i>	85
<i>Hankiss, J. und Hadházy, Cs. : Resorption von Insulin und Asthmolysin von der Nasenschleimhaut</i>	107
<i>Benkő, S. : Reticuloses and Experimentally Induced Reticuloses due to Storage of Methylcellulose</i>	115
<i>Winter, M. und Rák, K. : Über die hyperglobulinämischen Purpuraformen.....</i>	137
<i>Waltner, K. jr., Tanos, B. und Kelemen, E. : Increase of Venous Oxygen Saturation after a High Salicylate Dose in Human Adults</i>	147
<i>Schreiber, Vr. : Photometric Estimation of Melanocyte-stimulating Hormone (MSH, Intermedin) or Melanophore-expanding Activity of an ACTH-Preparation, Voegtlin's Powder and Fresh Human Serum on Isolated Frog Skin in vitro</i>	153
<i>Kovács, K. and Bagdy, D. : The Use of Elastase in the Treatment of Chronic Suppurative Pulmonary Disease</i>	167
<i>Dán, S., Nagy, S. and Tóth, J. : Quantitative Determination of Serum Peptonase : its Diagnostic Value</i>	177
<i>Kovács, G. S., Kovács, B. M., Kovács, K. and Petri, G. : Effect of Preoperative Medication and Surgery on the Antidiuretic Activity of Human Blood</i>	201
<i>Szöllössy, L., Török, B. und Hübner, H. : Über die chirurgischen Behandlungsmöglichkeiten der Aorteninsuffizienz</i>	215
<i>Fischer, A., Perényi, L. und Rohny, S. : Substratspezifität und Ursprung der Serum-esterasen</i>	229
<i>Kajtor, F., Nagy, T. und Velok, Gy. : Über die Zusammenhänge der Anfälle im Schlaf und Wachzustand mit der anatomisch-funktionellen Organisation des epileptogenen Herdes</i>	239
<i>Fischer, A., Takács, L. und Molnár, G. : Parallele Bestimmung des arteriellen und portalen Kreislaufs der Leber mittels der Bromsulfaleinmethode und mit dem Rotameter</i>	255
<i>Bugár-Mészáros, K., Okos, G. und Sas, V. : Über die Endoangiitis (Thromboangiitis) obliterans auf Grund von 300 Fällen</i>	271
<i>Solti, F., Márton, I. and Takács, F. : The Role of the Central Nervous System in the Arrhythmias Caused by Strophanthin-Ephedrine</i>	285
<i>Nákó, A., Solti, F., Földi, M. and Koltay, E. : The Effect of Strophanthin on Parotid Secretion</i>	295
<i>Solti, F., Rév, J., Márton, I. and Koltay, E. : The Effect of Strophanthin on the Secretion of Sweat</i>	299
<i>Solti, F., Rév, J., Márton, I., Réfi, Z. and Koltay, E. : The Effect of Dibenamine on the Increased Excretion of Water, Sodium and Potassium in Sweat Caused by Strophanthin</i>	305
<i>Solti, F., Márton, I. and Koltay, E. : The Effect of Strophanthin on the Cerebral Circulation and on the Potassium Household of the Brain</i>	311
<i>Steiner, B. and Vécsei, A. : Symmetrical Necrosis of the Renal Cortex in Infancy.....</i>	317
<i>Gömöri, P. and Szendei, Á. : Chronic Pyelonephritis</i>	329
<i>Radnót, M., Wallner, E. und Höning, M. : Die Wirkung des Hydergins auf die durch Licht hervorgerufene Eosinopenie des Blutes</i>	341
<i>Recensio</i>	345

VITAMIN METABOLISM IN INFANTILE ATROPHY*

By

F. GERLÓCZY and B. BENCZE

Co-workers:

T. MALIK and E. UGRAY

1st DEPARTMENT OF PAEDIATRICS, UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL, BUDAPEST

(Received October 22, 1957)

CONTENTS

Introduction

Vitamin E (tocopherol)

Serum tocopherol levels in eutrophic infants.

Serum tocopherol levels in infantile atrophy.

Tocopherol tolerance tests in infantile atrophy.

Tocopherol metabolism in atrophic infants suffering from Leiner's erythrodermia.

Vitamin A

Serum vitamin A levels in infantile atrophy.

Vitamin A tolerance tests in infantile atrophy.

Vitamin A metabolism in atrophic infants suffering from Leiner's erythrodermia.

Vitamin B₁

Vitamin B₁ tolerance tests in infantile atrophy.

Vitamin C

Vitamin C tolerance tests in infantile atrophy.

Summary

Vitamin E, A, B₁ and C metabolism in infantile atrophy.

Vitamin metabolism in atrophic infants suffering from Leiner's erythrodermia

References

INTRODUCTION

The significant role of infantile atrophy in infant mortality in Hungary [113, 178] lends considerable importance to studies concerned with the conditions.

Infantile atrophy is a clinical, or pathophysiological entity of no uniform aetiology. For this reason research has to embrace all aspects of the problem; investigation into any as yet unclarified detail problem may possess significance.

In recent years, systematic research on infantile atrophy has been conducted in several institutes in Hungary.** Besides studying the aetiology [113, 114] and endocrine relations [113, 299, 7, 23] of the disease, GEGESI KISS *et al.*, of the 1st Department of Paediatrics of the University Medical School of Budapest, investigated also other detail problems,*** first of all the meta-

* This work has been sponsored by the Hungarian Academy of Sciences.

** To mention only the significant results obtained by KERPEL-FRONIUS and his associates at the University of Pécs, as well as by Kulin, at the University of Debrecen (v. References [178, 179 and 197].

*** Studies on reticuloendothelial function [372], changes in the bones [112], intestinal bacterial flora [345], meteoropathological relations [346].

bolism in atrophy. It seemed, therefore, necessary to investigate vitamin metabolism, in addition to studies on carbohydrates [24–28], proteins [29, 34, 35, 367], and fats [3].

As far as we know, such systematic studies on vitamin metabolism have not been conducted before and there are no pertaining data in the literature. Starvation has been the subject of extensive investigations, mostly in adults, and the observations made were preponderantly clinical. Exact chemical determinations of the single vitamins are lacking even in the enormous literature on the subject [180]. However, the findings obtained in starved adults cannot be applied without restrictions to infantile atrophy. Although in some respects the two conditions are closely analogous, there are important differences in pathophysiological properties. Some of these are even opposite in certain stages of infantile atrophy [178].

In the investigations to be presented we have sought answers to the following questions :

a) Does vitamin deficiency occur in infantile atrophy? If so, what is its measure (complete, severe or moderate) and in which stage of atrophy does it occur?

b) Is a lack of some vitamin or vitamins characteristic of certain stages of atrophy, or is it only a change necessarily accompanying the single special forms of atrophy?

Only after these questions has been answered will it be possible to establish whether (i) vitamin deficiency plays a role in the initiation, continuance or aggravation of atrophy; (ii) it is possible to draw practical conclusions as to the prevention, therapy (how much should be given from which vitamin, and when), and the daily requirements of single vitamins. We had to face certain difficulties, as

(i) the normal values for infants were not available for every vitamin. In the case of vitamin E, for instance, in Hungary we had to determine them.

(ii) to gain a deeper insight into the relations of vitamin metabolism, it did not suffice to make individual vitamin determinations. Tolerance tests had also to be carried out. And, as we were dealing with infants, a micro-method had to be developed to test small volumes of blood [36].

(iii) *a)* when evaluating the results, it does not suffice to speak broadly about "atrophy". One must specify its grade as exactly as possible. For this reason we were very careful when appraising the severity of the actual state. We have rejected the use of the so-called development quotient (Q , DQ), because this may lead to errors in appraisal [178]. Instead, we have computed the "loss of weight", based on a sounder principle, *i. e.* the percentage lag in weight, as compared to an eutrophic infant of the same body length. (On the basis of the "paedimetric weight index" of SIMKÓ [330, 331, 332].) On grounds of the paedimetric index (P_i) the classic three grades of severity of atrophy

(FINKELSTEIN: dystrophy, atrophy, decomposition; MARFAN: hypotrepsie I, hypotrepsie II, atrepsie; MASLOV: hypotrophy I, hypotrophy II, hypotrophy III) might be determined as follows.

	P_i
Eutrophy	107,5 to 97,5
Dystrophy (Hypotrophy I)	97,5 to 85
Atrophy (Hypotrophy II)	85 to 75
Decomposition (Hypotrophy III)	75 to —

We are, naturally, fully aware of the fact that the evidence derived from body weight and length can be used only as guide in the determination of the stages of atrophy [113].

b) It does not suffice to take into account the severity of atrophy (grade I, II, III). GEGESI KISS [113] has pointed out that the concept of infantile atrophy should be divided into two parts, notably the process of atrophy and the state of atrophy, because the final state of grave atrophy differs from the preliminary and preparatory process not only quantitatively, but also qualitatively. Thus, in this final stage the structural composition and the corresponding functions of the atrophic infant differ not only from those of the normal infant, but also from those of the infant still in the process of atrophy [113]. For this reason we have focussed attention primarily on infants in grade III of atrophy. To approximate the so-called final stage, grade III has been subdivided into further 2 groups:

	P_i
Decomposition (Hypotrophy III)	75 to —
within this III ₁	75 to 65
III ₂	65 to —

By so doing it has been attained that, *ceteris paribus*, the severest forms (FINKELSTEIN's decomposition and MARFAN's atrepsie) were included in the same group.

(iv) A precise aetiological analysis of infantile atrophy has been greatly endeavoured. In CZERNY's classical triad (*ex alimentatione, ex infectione, e constitutione*), infection has an outstanding, almost dominant role, as it has been pointed out by GEGESI KISS [113, 114] on the basis of evidence derived from a very large material. Thus, the infectious factor had to be analysed in the first place, both as a primary factor starting the process of atrophy and as a secondary one partly responsible for the continued existence and aggravation of the condition. This close relationship between atrophy and infection has made it necessary to include in the present study eutrophic infants who had contracted some infection. Although in our material faulty or deficient nutrition was rarely the primary factor initiating the process of atrophy,

and by the time the infants were admitted there was no so-called "pure" starvation atrophy encountered [113, 114] — special attention had still to be devoted to the alimentary factor (mild or severe quantitative or qualitative damage), since the actual vitamin supply to the organism is greatly dependent upon the quantity of vitamin ingested. Constitution and actual conditional factors, as aetiological and modifying agents, as well as the other conditions starting the process of atrophy (such as the various developmental disorders, premature birth, cerebral haemorrhage, haemolytic disease of the newborn with its sequalae, etc.) have all been considered.

The metabolism of fat-soluble vitamins in *Leiner's* erythrodermia and in atrophy secondary to that condition has been studied separately. The atrophy associated with that disease is namely one of the special forms of infantile atrophy, of which the characteristic feature is a pathological fat metabolism resulting from a severe disturbance of digestion, absorption or intake. (To this group belong, beside *Leiner's* erythrodermia, the cystic fibrosis of the pancreas, the congenital aplasia or occlusion of bile ducts, the so-called "Mehlnährschaden" (CZERNY) (resp. kwashiorkor). With the latter form *Leiner's* erythrodermia has many features in common (fatty degeneration of the liver, hypoproteinaemia, oedema, pancreatic failure). All these forms may be associated with multiple vitamin deficiency.

Vitamin metabolism was studied in nearly 200 atrophic and control infants. In the present report we shall discuss investigations concerning vitamins E, A, B₁, and C.

VITAMIN E (Tocopherol)

Serum tocopherol levels in eutrophic infants

When studying vitamin metabolism in pathological conditions, the knowledge of the physiological values is essential. This applies also to vitamin E studies in infantile atrophy. There have been no data as to the physiological values for vitamin E in the serum of normal infants in Hungary. The few data published in foreign countries could not be relied upon, because these relate to other climatic and dietary conditions. For this reason we have determined the normal value for vitamin E in the serum of normal infants.

I. Survey of the literature

(A survey of the literature concerning physiological tocopherol concentrations in human blood serum)

On the basis of the evidence published by KIBARDIN [181], MOYER [262], CATTANEO and MARIANI [62], WRIGHT *et al.* [392], as well as GERLÓCZY,

BENCZE *et al.* [115], the physiological level of tocopherol in the serum of the newborn infant can be presented as follows.

Days of life		Serum tocopherol mg/100 ml
1st	breast-fed	0,20 (62)
		0,24 (262)
2nd	0,38	0,31
3rd		
4th	0,81	0,52 (392)
5th		
6th	1,46	0,50 (392)
2nd—5th		0,36 (262)
2nd—6th		0,353 (115)
Newborn		0,30 (181)

In determining these data, MOYER [262], WRIGHT *et al.* [392] employed the alpha-alpha dipyridyl micromethod of QUAIFE SCRIMSHAW and LOWRY; GERLÓCZY, BENCZE *et al.* [115] used the procedure modified by BENCZE; KIBARDIN [181], the method of EMMERIE, ENGELS and MINOT.

Breast-fed newborn — nursing and non-nursing mother. WRIGHT *et al.* [392] demonstrated that the level of tocopherol changed in the opposite direction in the blood of the breast-fed newborn and decreases in the blood of the mother during the first days of postnatal life. It increases from 0,38 mg/100 to 1,46 mg/100 ml from the 2nd to the 6th day in the breast-fed infant, whereas it hardly increases (from 0,37 mg/100 to 0,50 mg/100 ml) in the artificially fed infant. This illustrates clearly what a rich source of vitamin E the colostrum is. It is remarkable that on the first days already the level of tocopherol is so much higher in the non-nursing mother's blood than in the blood of the breast-feeding mother. The difference becomes statistically significant by the 4th day, when the maternal blood level is 1,63 mg/100 in the nursing, and 1,93 mg/100 ml in the non-nursing mother. Similar observations have been made by MOYER [262] (blood tocopherol level in mature infants increases from 0,23 mg/100 ml on the 1st day to 0,36 mg/100 ml in the period of from 2 to 5 days), as well as by GERLÓCZY, BENCZE *et al.* [115] (the blood tocopherol level in the newborn increases during the first few days from 0,283 mg to 0,353 mg/100 ml and, though not significant, this increase appears to be in correlation with the start of colostrum secretion).

Mammary barrier. The level of tocopherol in the blood of newborns is reported to be as low as 0,20, 0,23, 0,30, 0,35, 0,38 mg/100 ml [62, 262, 181, 115, 392] at birth and on the first two days of extrauterine life. It has been estimated to 1/2 [115], 1/5 [392] and 1/7 [62] of the maternal level. This low level changes when feeding begins. Measure and rate of the increase depend on the tocopherol content of the food. (Human colostrum contains much tocopherol [289, 4, 62], whereas intermediate and mature human milk contains only moderate amounts [190, 62])* . It is remarkable that 240 mg of tocopherol daily given to the mother increased the tocopherol level, but this never reached the physiological concentration. Under pathological conditions we [116—118] succeeded in inducing a diuretic effect in premature babies by administering d-l-alpha tocopherol acetate (by mouth, in a total dose of 150 to 200 mg in 5 days) to the mother, but not to the baby. The diuretic effect appeared when lactation began.

Premature infants. At birth [262], or immediately after it [392] there is hardly any difference in blood tocopherol level between premature and normal newborns. Later, however, there are differences in this respect. In the first 40 days the blood level in the artificially nourished premature infant decreases gradually and is as low as 0,09 mg/100 ml at 31 to 40 days [392]. In the breast-fed premature infant the blood tocopherol level does not increase** during the first two months [262], resp. between the second and eighth weeks [272], only in the 3rd to 6th months [262], reaching a level of 0,50 mg/100 ml. According to ENGEL, the mean value is 0,19 mg/100 ml.

According to WRIGHT *et al.* [392], between the 1st and 4th months the blood level of tocopherol is 1,25 mg/100 ml in breast-fed, and 0,53 mg/100 ml in artificially fed infants. From 5 to 8 months of age these values increase to 1,35 and 0,75 mg/100 ml, respectively. According to KIBARDIN [181], the blood level of tocopherol is 0,44 mg/100 ml between 3 and 12 months of age. No significant differences have been found between boys and girls, or twins (STRAUMFJORD and QUAIFE) [343].

The average serum vitamin E level in the child has been found to be 0,83 mg/100 ml at 1 to 3 years, and 0,94 mg/100 ml at 8 to 16 years of age [181]. GUZMAN and SCRIMSHAW [70] found the blood tocopherol level to vary between 0,61 and 0,74 mg/100 ml in children aged 7 to 12 years. Accord-

* As compared to human milk, cow's colostrum [149] and milk [266, 289, 153, 4, 145* 218, 96, 149] contain less vitamin E. Even less is contained in goat's milk [388]. Artificial foods prepared with cow's milk are the poorest in vitamin E [144, 146]. Skinned cow's milk contains hardly any tocopherol [4]. There are great differences in tocopherol content according to the cows being fed green or dry fodder, and also according to seasons (summer and winter milk) [196, 289].

** In the period 1946—1948 we have observed an increase in the incidence of scleroderma in premature infants fed human milk. We believe the condition to be due to vitamin E deficiency [116—118, 119—121].

ing to MINOT and FRANK [257], the average tocopherol content of the blood in normal children aged 5 to 12 years is 0,88 (0,64 to 1,12) mg/100 ml.

Daily vitamin E requirement of the infant. The relative vitamin E requirement is the highest in infancy [341]. The optimum daily supply has been estimated to 30 mg in adults [391, 98, 49, 150], and to about 5 mg daily in infants. The reserves infants bring with them from intrauterine life are low. The physiologically low reserves are filled up when the newborn is fed milk containing about 0,900 mg/100 ml vitamin E [265]. As cow's milk is poor in tocopherol, it is advisable to enrich the food of artificially fed newborn or premature infants with vitamin E [266]. The average diet, however, will never answer the minimum requirement [290, 146]. The daily doses employed vary over a wide range (1 to 3 mg [307]; 3 to 9 mg [389]; 12,5 to 25 mg [316]; and even higher doses [339, 123, 375, 337, etc.]).

Normal adults. The blood tocopherol level in normal adults has been estimated at around 1 mg/100 ml (0,96 mg/100 ml by WECHSLER *et al.* [384]; 1,2 mg/100 ml by QUAIFE and HARRIS [287]; 1,04 mg/100 ml plasma by HARRIS *et al.* [143]; 0,73 to 1,28 mg/100 ml serum by MINOT and FRANK [258]. Others [360, 296, 224, 90, 78, 101, 342, 181, 68, 63, 205, 203, 12, 361, 58] found divergent values, the variations ranging from 0,2 mg/100 ml to 2 mg/100 ml. As already pointed out [115], the differences in the results are ascribable to differences in the technique of determination and isolation, and mainly to those in nutritional habits. The blood level of tocopherol depends mainly on the diet. It therefore varies according to seasons, geographical area and nutrition, (*i. e.* according to the occurrence of tocopherol in nature and thus in the diet [143, 1, 203, 206, 384, 360, 79, 361]). There are several data in the literature concerning this problem.

With age, the blood tocopherol level tends to increase, but only in males [68]. No diurnal and nocturnal variations have been observed [1].

Pregnant women. The blood tocopherol level is higher in pregnant women than in men or non-pregnant women [360, 362, 296, 63, 343, 361]* and increases gradually during pregnancy [343, 321, 62, 191]. The increase is so great that by the end of full term the level may be 1,5 to 2 times as high as initially. In this respect the behaviour of the tocopherol level is the opposite of the other vitamins, which decrease with the advance of pregnancy.**

According to our investigations, the mean tocopherol level in mother's blood is 0,573 mg/100 ml at the onset of labour and immediately after delivery, but before the detachment of the placenta [115].

Placental barrier. At birth and for a few days after birth the level of tocopherol is much lower in maternal blood than in the blood of the umbilical

* Only ATHANASSIU [19] found no differences,

** Other authors claim the blood tocopherol level to decrease with the advance of pregnancy [362] or that there is no relation between the two [1].

cord. (VARANGOT *et al.* [363]; STRAUMFJORD and QUAIFE, [343]; ATHANASSIU, [20]; CATTANEO and MARIANI, [62]; GERLÓCZY, BENCZE *et al.*, [115]; WRIGHT *et al.* [392]. Blood in the umbilical vein contains 1,67 mg/100 ml tocopherol [20], while arterial blood, 0,44 mg/100 ml [20, 265], indicating the high tocopherol requirement of the foetus. The tissues and organs of the foetus are poor in tocopherol [3, 88], in the mature and premature infant the level is somewhat higher [88], but still lower than in adults [288]. The placenta contains 2 to 4 times as much tocopherol as foetal tissues, but still much less than maternal blood [88]. Thus, the foetus has apparently low tocopherol reserves and the high requirement is met only partially by placental transfer. Many experiments have demonstrated that the placenta permits the passage of a small fraction of the tocopherol administered to the mother [363, 265, 350, 137, 306, 127, 251—254, 255]. The role played by the placenta is apparently not only one of storage, but also one of regulation (20 and 88, respectively): it mobilizes maternal reserves, so that the newborn gets sufficient tocopherol in the colostrum; tocopherol is namely transferred much better by the milk than through the placenta [228].

II. Experimental

Infants tested

The vitamin E studies were made in normal infants. Very strict criteria were applied to select the best-developed infants, *i. e.* those thriving best and fulfilling all other criteria of eutrophy.*

Determination of the state of development. The degree of development and nutrition has been determined by means of the paedimeter devised by SIMKÓ [330, 331, 332]. This instrument, similar in construction to a slide rule, serves for determining the so-called "paedimetric index" (P_i), composed of two, unrelated data: weight index/length index. According to SIMKÓ, the principle underlying the P_i is that the weight of an infant depends on its length and body length depends on age. The ratio of body weight percentage and body length percentage is the P_i , which, being derived not from absolute values (g, cm) but from a difference between the changes, is suitable for comparing the degree of nutrition and development of infants. If $P_i = 100/100$, the weight of the infant as related to its body length, as well as the body length related to the infant's age, are ideal. Owing to the biological variations, a baby is accepted as eutrophic if the weight index falls between 97,5 and 107,5. When the weight index is lower than 97,5, we speak of hypotrophy. In contrast with P_i , which is based on a sound principle, the so-called "developmental quotient" (Q., DQ) shows not the correlation between weight

* 11 infants were examined in a day nursery, 6 in a nursery and 1 at our department.

and length, but the increase in weight related to the weight at birth and to age. And, as it has been stressed also by other authors [288], the gain in weight by itself, without taking into account longitudinal growth, cannot express the true degree of development of an infant. For example, infants of the same age and weight, but of different growth may greatly differ in development. We have computed the P_i for the day of examination in every case.

Age. The 18 infants examined ranged in age from 1 1/3 to 13 1/2 months; 17 infants were less than 1 year old, 7 were less than 6, and 3 less than 3 months old.

Feeding. Infants Nos. 4, 6 and 14 were fed exclusively on mother's milk; the others were maintained on artificial diets, complete in all respects.

Procedure

Blood sampling. Blood was taken from a vein 4 hours after the last feeding. After clotting, the serum was separated by centrifugation.

Time of test. Except for case No. 11, the tests were made between September and February.

Estimation of vitamin E in serum. Serum vitamin E was determined by BENCZE's method [37, 38, 36], based on the following principle. Tocopherol is oxidized to tocopherol red, then condensed with o-phenylene-diamine. The condensation derivative dissolved in a mixture of methyl and butyl alcohol shows an intense yellowish-greenish fluorescence in ultraviolet light. Under appropriate experimental conditions the reaction yields quantitative results and determines even 2 to 3 micrograms of tocopherol within a 10 per cent limit of error. The reaction has the further advantage of being specific *i.e.* it is given only by tocopherol. Interfering contaminants can be removed by chromatographic purification.

Results and discussion

The serum vitamin E values estimated are tabulated in the order of magnitude. The deviations were marked, in spite of the infants having been fed practically the same diet of suitable composition and yielding calories sufficient at the respective ages. The deviations were apparently due to the fact that the vitamin E content of mother's and cow's milk depends on the vitamin E content of the food ingested by the mother and cow, respectively.

Statistical analysis showed the mean (M) to be 0,383 mg/100 ml vitamin E, with the true values ranging from 0,350 to 0,416 mg/100 ml. Thus, the serum of the normal infant contains at least 0,350 mg/100 ml of vitamin E.

A comparison of our results with the rather scarce evidence published in the literature shows that our data are closely similar to those reported

Serum vitamin E values in normal infants

No.	Exp. record No.	Date of examination	Initials	Age, months	Sex	Paedimetric index weight i/length i or DQ	Serum vit. E mg/100 ml
1.	118	Sept. 1954	P. T.	8	♂	98/99	0,150
2.	120	Sept. 1954	N. I.	11	♀	104/94	0,193
3.	141	Dec. 1954	P. E.	8	♀	98/106	0,212
4.	147	Feb. 1955	T. A.	3 ¹ / ₃	♂	105/89	0,266
5.	132	Sept. 1954	T. K.	11 ² / ₃	♀	101/110	0,300
6.	116	Sept. 1954	S. F.	1 ¹ / ₃	♂	98/104	0,316
7.	138	Dec. 1954	K. E.	7	♀	97 ₅ /101	0,328
8.	119	Sept. 1954	K. N.	6 ² / ₃	♂	97 ₅ /98	0,350
9.	121	Sept. 1954	M. I.	8 ¹ / ₃	♂	97 ₅ /97	0,350
10.	149	Feb. 1955	F. T.	2 ² / ₃	♂	98/108	0,356
11.	107	May 1954	H. A.	1 ² / ₃	♀	1,1	0,387
12.	140	Dec. 1954	T. J.	9	♀	105/99	0,433
13.	117	Sept. 1954	K. I.	7	♀	99/100	0,466
14.	148	Feb. 1955	G. I.	3 ² / ₃	♂	100/100	0,480
15.	125	Sept. 1954	M. M.	5 ¹ / ₃	♀	97 ₅ /104	0,550
16.	145	Jan. 1955	Sz. G.	13 ¹ / ₃	♂	102/107	0,569
17.	139	Dec. 1954	T. G.	11 ² / ₃	♂	100/106	0,582
18.	144	Jan. 1955	Sz. J.	5 ² / ₃	♂	103/90	0,620
						$M = 0,383$	
						$\sigma M = 0,032$	

by KIBARDIN [181] (0,44 mg/100 ml), and STRAUMFJORD and QUAIFE [343] (0,30 to 0,48 mg/100 ml), and are comparable to the values reported by WRIGHT *et al.* [392] for artificially fed infants (0,53 mg/100 ml). WRIGHT *et al.*, however, found much higher values for breast-fed babies.

On the basis of the above, we consider a serum tocopherol value of under 0,350 mg/100 ml as a sign indicative of hypovitaminosis.

This value agrees well with the 0,40 mg/100 ml one reported to be pathological (ABDERHALDEN) [1].

Summary

The serum vitamin E level has been determined in 18 normal, well-developed infants, ranging in age from 1 1/3 to 13 1/2 months. Some of the infants tested were fed exclusively mother's milk, the others were fed a complete artificial diet. Estimation of vitamin E was made by BENCZE's method. In normal infants the serum vitamin E level was found to vary widely, with

a mean level of 0,383 mg/100 ml of serum. Statistical calculations revealed that the true values varied between 0,350 and 0,416 mg/100 ml.

In these investigations we have determined the serum vitamin E level for normal infants in Hungary. Levels lower than 0,350 mg/100 ml are interpreted as indicative of hypovitaminosis.

Serum tocopherol levels in infantile atrophy

It has already been mentioned which questions we endeavoured to clarify by systematic studies on the vitamin household in infantile atrophy. In the present paragraph we shall discuss the serum level of vitamin E in infantile atrophy, as well as in infected, but eutrophic babies. The normal values have been presented in the previous section. Atrophy associated with *Leiner's* disease will be discussed separately, as in that condition fat metabolism is severely impaired.

I. Survey of the literature

Data concerning for vitamin E in infantile atrophy are lacking in the literature, nor are there exact data for children, even in the ample literature on starvation.*

For long, vitamin E was prescribed exclusively in obstetrical-gynaecological conditions, such as habitual abortion, premature birth, abruption of the placenta, menorrhagia, dysmenorrhoea, primary sterility (in both females and males), menopausal syndrome, as well as in progressive muscle dystrophy and in neurological disorders, because in these conditions, on the analogy of the deficiency symptoms in animals, an *a priori* deficiency of tocopherol had been suggested to be present. The results, however, lent very little, if any, confirmation to this view. At the 3rd International Vitamin E Congress, held 1955 in Venice, less interest has been devoted to the above conditions and entirely different fields of human pathology have been pointed out as being the main fields of vitamin E administration. Since the 1st (London, 1939) and 2nd (New York, 1949) Vitamin E Congresses this "polyfunctional" vitamin has namely been found to possess such a great number of physiological effects as is unique in the field of vitamins. Suffice here to mention that since the 1949 Congress 1600 reports have been dealing with vitamin E. When administered in certain doses, tocopherol acts not as a vitamin, but as a drug, and in this case its use represents a chemotherapeutical, rather than a substitution treatment.

* In the blood of malnourished adults the vitamin E level is 25 per cent lower [143] than in normal individuals. In the starving Germany even lower values were found [1]. During the German occupation, 0,2 mg/100 ml average values were found in France [360] and similar ones were reported for the Netherlands [79]. On the other hand, daily administration of small doses of tocopherol prolongs the life of starved rabbits [67].

First of all, the favourable results attained in the prevention and treatment of *cardiovascular diseases* should be mentioned.* These are based on the following physiological effects.

Alpha-tocopherol reduces the oxygen requirement not only of the muscles [160] and the animal as a whole [395, 276, 162, 349, 350], but also of the isolated heart [171] thus creating favourable conditions in anoxia [162], favourable influencing the function of the enzyme system of the myocardium [130, 335]. It dilates the capillaries [326], reduces capillary permeability [325] and fragility [251, 256, 254, 252, 92, 250], relieves vascular spasm [359]. In the rabbit it apparently promotes the formations of collagen fibres, preserves and protects the reticular and elastic stroma of myocardium and coronaries and dilates the coronary capillaries [245]. By virtue of its physiological antithrombin effect [171, 396, 172], it delays the formation of intravascular thrombi and by its action on fibrous tissue** it is capable of dissolving already existing thrombi [171, 327]. Likewise, it can delay the development and shrinkage of fresh and old scars [326, 327, 328, 338, 54, 13, 314]. In animals, artificial vitamin E deficiency induces oedema by increasing capillary fragility ("exudative diathesis") [80],*** produces vascular changes, thrombosis, haemorrhages [231], or even arteritis [156]). It is interesting that in man vitamin E increases the thrombocyte count [86, 275] and in the placenta it not only dilates the capillaries, but also enhances epithelization and vascularization [351].

By inducing chronic vitamin E deficiency, myocardial changes can be produced in animals [134, 229, 221, 103]. Similarly vitamin E administration may bring about regression of the spontaneously developing heart disease of the dog and cat [198], and lessen the arteriosclerosis of the hen's aorta that develops on normal diet [387]. The acid-fast ceroid pigment formed in the dystrophic muscles of animals with vitamin E deficiency is identical with the pigment found in the old-age atrophy of the human myocardium [225, 258, 268]. In the arteriosclerotic human aorta peroxide accumulates [124]**** quite as in the experimental animals with vitamin E deficiency.

These, mainly vascular, pharmacodynamic effects of vitamin E explain the good results obtained by its use in peripheral vascular diseases,***** in dis-

* We do not wish to deal here with the subject in detail. Those interested should consult the surveys [14], [354] and [324], published since 1940, 1949, and in 1954, respectively.

** The action on the vessels and on the connective tissue explains the results achieved in primary fibrosis (*Dupuytren's* contracture, *Peyronie's* disease), in myositis, fibromyositis, muscle rheumatism, bursitis, in collagenoses (*lupus erythematoses*, *granuloma annulare*, *scleroderma*).

*** Alpha-tocopherol has also some antihyaluronidase activity [61].

**** As a strong anti-oxidant, vitamin E interferes with the oxidation of unsaturated fats; this is the primary cause of pigment formation and it is by this property that vitamin E acts on proteins [61].

***** Thrombophlebitis, phlebothrombosis, thromboangiitis obliterans (*Buerger's* disease), intermittent claudication.

eases of the skin and other conditions closely related to vascular changes,* as well as in heart disease, mainly in those with coronary involvement.** Its "antidiabetic" effect*** can be ascribed mainly to a prevention and cure of progressive vascular degeneration in diabetes. The beneficial effect of vitamin E in certain ocular (retinal) changes is likewise due to its vascular effect. The prevention of cerebral and pulmonary thrombus formation by vitamin E has been made use of also in the post-operative phase of congenital heart disease.

The afore-mentioned, and more or less confirmed, pharmacological effects develop only on prolonged administration of at least 150 (to 1000) mg of tocopherol daily, *i. e.* several times the amount contained in the diet. In such cases there is apparently a failure of the organism to supply from its normal tocopherol reserves the increased demand due to certain affections of the connective tissue and capillaries associated with a disturbance of tissue metabolism or even destruction.

The only proven and principal role of tocopherol as a vitamin in the human body is its being an important intracellular antioxidant in metabolic processes. Is it then justified to speak of avitaminosis E in man?

a) As far as simple avitaminosis E, *i. e.* a condition due to an insufficient intake of tocopherol for a long period of time, is concerned, it is unlikely that it would develop in adults and there is no evidence available to show that it occurs at all. When previously the intake and storage had been normal, it may take years for the avitaminosis to develop even if the diet contains no vitamin E whatever. Vitamin E deficiency may, however, develop in newborns and infants, *i. e.* at a time when storage in tissues has not become an important factor.

b) As regards the so-called complicated avitaminosis E, *i. e.* a condition due to impaired absorption, storage, and to increased utilization, total deficiency is unlikely to occur in adults, only an unsatisfactory supply (hypovitaminosis). In infants, however, the reserves may completely be depleted and thus total avitaminosis E may develop.

The measure of vitamin E supply in the organism is reflected by the tocopherol content of tissue depots. This may be estimated (on the basis of the correlations between them) [185, 186, 291, 243] on grounds of the plasma level, although, according to MASON [232], this is unfeasible in acute experiments.

* Indolent ulcers, arteriosclerosis and early gangrene of the extremities, burns, delayed healing of wounds, kraurosis vulvae, nephritis.

** Coronary sclerosis, coronary occlusion, rheumatic heart disease, hypertensive arteriosclerotic heart disease, hypertension.

*** Diabetic arteriosclerosis, arteritis (thromboangiitis), diabetic gangrene, diabetic vulvovaginitis. Vitamin E reduces the insulin requirement in diabetics, not by potentiating the insulin effect, but by improving the glycogen metabolism of muscles.

In recent years, vitamin E deficiency has been suggested to be involved in a variety of pathologic conditions and favourable results have been observed with the use of tocopherol in a wide spectrum of diseases. In the period of from 1940 to the second half of 1950, 900 such reports have been published. The majority of these communications, however, should be eyed with criticism, because

a) most of the conclusions drawn were based exclusively on the therapeutic results obtained with vitamin E. Besides, the opinions concerning the single diseases are far from being unequivocal.

b) there has been a tendency to use vitamin E in many a condition absolutely lacking the experimentally induced manifestations of vitamin E deficiency, or any of its criteria. Thus, in human changes with no experimental equivalent, conclusions should be drawn only from investigations carried out with utmost care and controlled most meticulously [394, 95].

c) as compared to the data based on therapeutic results ("ex iuvantibus"), few reports include experiments (balance; biochemical or pathological studies; tolerance or simple tests) confirming the claims.

It should be also borne in mind that the data obtained by estimating the vitamin E level in serum or plasma do not always give unequivocal results.

For instance, in adults the tocopherol level in serum or plasma is low when the diet is deficient, fat absorption is impaired, or when intake is low (chronic steatorrhoea, coeliac disease, sprue, biliary obstruction, cystic fibrosis of the pancreas, diarrhoea [102, 82, 83, 274, 357]. In heart and liver disease [187, 188, 185], too, the level is low for alimentary reasons and not because of the disease proper [224]. Lower levels are measured in hyperthyroidism [154], in menopause associated with vasomotor disturbances [32], in *Dupuytren's* contracture [183], whereas in muscle dystrophy and pathologic pregnancy some authors observed low [385, 384, 297], others normal [258, 321] levels.

Unusually high is the tocopherol level in conditions associated with hypercholesterolaemia, for example in diabetes associated with nephrosclerosis, carotenaemia and coronary thrombosis. Moderately high levels are encountered in cardiovascular affections associated with hypertension [83]. Otherwise, the level is normal in diabetes [41], increased in nephritis, but not in nephrosis [279].

In many a condition (including pneumonia and infection) which has been reported to respond well to vitamin E administration [357, 188, 279] the blood level is normal.

Vitamin E has been observed to have a therapeutic effect in a variety of diseases of infants and children.* However, the considerations outlined above apply also to these claims.

In the following, only proved effects will be mentioned, — and a clinical picture will be described.

Table I
Atrophy (Hypotrophy II)
 Clinical data for infants ($P_i = 85-75$)

No.	Exp. record No.	Date of test	Initials	Age, months	P_i or DQ	Infection				Dietary injury	Constitution	Condition	Death				
						preceding		on admission									
						diarrhoea	other	otitis	other								
1.	88	Feb. 1954	F. Gy.	10 ² / ₃	78/104	—	+	—	—	grave	Exud.	Rickets	Developmental disorder				
2.	109	May, 1954	Sz. M.	10 ¹ / ₃	78/104	+	+	—	—	moderate	Neuropathy	Anaemia	Premature twin birth				
3.	73	Jan. 1954	F. K.	1 ² / ₃	80/93	+	+	—	—	—	—	—	—				
4.	65	Dec. 1953	B. J.	13 ¹ / ₃	76/112	—	—	—	—	—	—	—	—				
5.	54	Nov. 1953	M. M.	1 ² / ₃	77/106	—	+	—	—	—	—	—	—				
6.	72	Dec. 1953	V. E.	3 ² / ₃	77/91	—	+	—	—	—	—	—	—				
7.	21	March, 1952	J. Gy.	4 ² / ₃	0,82	+	+	—	—	—	—	—	—				

P_i = paediatric index.

Infection, preceding (in history)

diarrhoea	1
diarrhoea + pneumonia	1
diarrhoea + otitis	1
influenza, pneumonia	2
pyoderma	1
	6

Infection, on admission

otitis	1
otitis + mastoiditis + pneumonia..	1
otitis + pneumonia	1
influenza, pneumonia.....	2
	5

* Erythrocyte count: 2 480 000.

Injury during pregnancy in 1 case (No. 5).

Table II
Decomposition (Hypotrophy III)
 Clinical data for infants in subgroup III/1 ($P_i = 75-65$)

No.	Exp. record No.	Date of test	Initials	Age-months	P_i or D Q	Infection			Dietary injury	Constitution	Condition	Neuropathy	Rickets	Anæmia	Developmental disorder	Premature, twin birth	Death	Post-mortem diagnosis
						preceding	on admission	diarrhoea										
1.	26	Apr. 1952	N. I.	10 ² / ₃	67/89	—	+	+	+	—	—	grave	—	—	—	—	—	Partial atelectasis of lungs. Comp. emphysema. Congestion of liver and spleen. Cerebral oedema. Otitis m. s. l. d.
2.	95	March, 1954	B. A.	7 ¹ / ₃	70/100	—	+	+	+	—	—	moderate	—	—	—	—	—	
3.	22	March, 1952	V. M.	5 ² / ₃	70/92	+	+	+	+	+	—	Exud.	—	—	—	—	—	
4.	1K	Aug. 1952	U. I.	5 ¹ / ₃	71/91	+	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	
5.	43	Feb. 1953	J. F.	1 ² / ₃	74/93	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
6.	27	Dec. 1952	M. S.	9 ² / ₃	0,68	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	
7.	74	Jan. 1954	A. J.	4 ¹ / ₃	72/87	+	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	
8.	75	Jan. 1954	H. Zs.	6 ² / ₃	75/88	+	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	
9.	79	Jan. 1954	L. T.	4 ¹ / ₃	0,67	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
10.	41	Jan. 1953	T. I.	3 ¹ / ₃	69/93	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
11.	11	Dec. 1951	A. I.	4 ¹ / ₃	70/93	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
12.	63	Dec. 1953	Cs.F.	1 ² / ₃	66/102	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
13.	71	Dec. 1953	U. M.	4 ² / ₃	73/98	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	

Infection, preceding (in history)

diarrhoea 3
 diarrhoea + vomiting 2
 diarrhoea + tbc, syphilis 1
 otitis 2
 otitis + mastoiditis + pyoderma 1
 vomiting 1
 pertussis 1

Infection, on admission

otitis 5
 otitis + diarrhoea 3
 otitis + pneumonia 2
 otitis + mastoiditis 1
 otitis + pneumonia + diarrhoea 1
 otitis + pneumonia 1

13

*semolina in water

**1/2 milk without sugar

***vomiting since birth (Pyloric stenosis) } 38%
 ****insufficient 1/2 milk from beginning

*****1/2 milk with saccharine

° erythrocyte count 1 020 000

○ erythrocyte count 3 000 000

Injury during pregnancy in
 4 cases (No. 1, No. 3, No. 9, No. 13).

MINKOWSKI administered tocopherol to the mother during labour and could thereby prevent cerebromeningeal haemorrhage in premature babies; he supported his observations by exact studies of blood level, permeability and capillary fragility [251, 256, 254, 257, 250]. It has been proved both *in vivo* and *in vitro* that vitamin E reduced the lysis of the newborn's erythrocytes by hydrogen peroxide [128, 127, 138]. The good results we achieved by the use of vitamin E in scleroedema of premature infants in the years following World War II, have been substantiated by the untreated infants, whose pathological changes resembled those occurring in animals with vitamin E deficiency [116, 118, 120, 119, 117, 121]. As far as retroental fibroplasia is concerned, favourable or encouraging results have been mentioned [272, 263, 193, 310], but also doubtful [182] effect or even no effect at all [15, 199, 200, 298]. No correlation was detected between the blood vitamin E level and retroental fibroplasia [182, 298, 311], or the level increased significantly, in spite of the fact that the patient's condition deteriorated [200, 209].

II. Experimental

Patient material

The studies were made on 27 atrophic infants, classified according to the severity of atrophy. Of the 27 infants 7 belonged to the group of atrophy (hypotrophy II) and 20 to that of decomposition (hypotrophy III). The latter group has been divided into two subgroups. The infants with a P_i between 75 and 65 were included in subgroup III/1, those with a P_i lower than 65 were listed in subgroup III/2. In this way the infants with the severest decomposition fell into subgroup III/2. The clinical data for group II, subgroups III/1 and III/2 have been summarized in 3 Tables. Furthermore, we have determined the serum vitamin E level in 6 eutrophic infants suffering from acute febrile disease. In the following we shall discuss the serum vitamin E level studies made in these 33 infants.

Methods

Blood was taken during the first few days following admission, before any therapeutic vitamin administration had been started. Blood was

* Anorexia [42], pyloric stenosis [104, 309], postdiphtheritic palsy [243], infantile acrodynia [105, 313], enuresis [300, 223], erythroblastosis [352, 353], non-occlusive congenital hydrocephalus [364, 341], poliomelitis [341], mental retardation, mongolism [70, 341], acute glomerular nephritis [285, 286], cryptorchidism [307], myocardial lesion [208], chorea [93]. Vitamin E has been recommended for the promotion of weight gained in premature infants [312, 300, 284, 389, 16, 135] and infants [269, 157, 175, 316, 176]. Contradictory evidence has been reported for its action on lactation [148, 301, 40, 304, 50, 329].

Table III
Decomposition (Hypotrophy III)
 Clinical data for infants in subgroup III/2 ($P_i = \text{below } 65$)

No.	Exp. record No.	Date of test	Initials	Age months	P_i or D Q	Infection			Dietary injury	Constitution	Condition	Post mortem diagnosis		
						preceding	on admission							
						diarrhoea	other	otitis				grave	moderate	Exud.
1.	5	Dec. 1951	Sz. Z.	7 ¹ / ₃	55/96	+	+	+	+	-	-	+	+	
2.	7	Nov. 1951	H. L.	12 ² / ₃	64/98	+	+	+	+	-	+	+	-	
3.	25	Dec. 1952	K. J.	10	0,56	-	+	+	+	-	+	+	-	
4.	44	Feb. 1953	L. M.	5 ¹ / ₃	59/97	+	+	+	-	+*	+	+	-	
5.	91	March 1954	K. J.	2 ² / ₃	40/110	-	+	+	+	-	-	+	-	
6.	70	Dec. 1953	M. F.	8 ² / ₃	58/99	-	-	+	+	-	-	-	-	
7.	68	Dec. 1953	M. M.	9 ² / ₃	0,42	+	+	+	+	+**	+	+	+	

Infection, preceding (in history)

diarrhoea + pneumonia	1
diarrhoea + pneumonia + pyoderma	1
diarrhoea + otitis + mastoiditis	1
diarrhoea + pyoderma	1
pneumonia	1
pneumonia + otitis	1
	6

Infection, on admission

otitis	1
otitis + pneumonia	2
otitis + pneumonia + hepatitis	1
otitis + pneumonia + mastoiditis	1
otitis + pneumonia + pyoderma	1
otitis + mastoiditis + pyoderma	1
	7

* Vomiting since birth (pyloric stenosis) }
 ** Undiluted goat's milk } (28%)

^oErythrocyte count, 3 200 000

Injury during pregnancy in 2 cases (No. 1, No. 7).

taken and vitamin E content of the serum was determined as described previously.

The paedimetric index (P_i) has been calculated invariably for the day of the test. The developmental quotient was computed only if the length of the infant could not be measured accurately.

Results and discussion

The results of the vitamin E determinations for group II, subgroups III/1 and III/2, are shown in Table V.*

In the infants of group II (atrophy, hypotrophy II) the serum vitamin E level was practically the same as in normal infants. The mean level was $M = 0,434 \text{ mg}/100 \text{ ml}$, as compared to the $M = 0,383 \text{ mg}/100 \text{ ml}$ in normal babies.

The infants of subgroup III/1 exhibited a much lower level ($M = 0,253 \text{ mg}/100 \text{ ml}$), but statistical analysis showed the difference to be not significant. This means that the low levels found in subgroup III/1 cannot be interpreted as a sign of hypovitaminosis.

In subgroup III/2 the mean serum vitamin E level was $0,080 \text{ mg}/100 \text{ ml}$, significantly lower than in the normal group, showing that these infants are

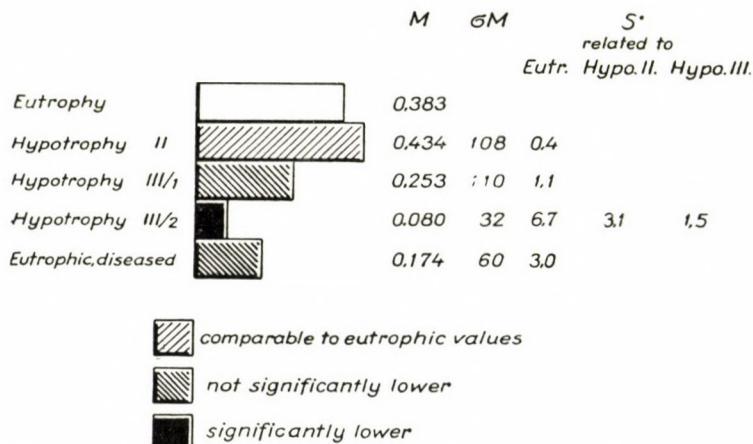


Fig. 1. Serum E vitamin levels in infantile atrophy (as determined by Bencze's method) on the basis of the mean value ($M/\text{mg}/100 \text{ ml}$)

* As our purpose was to study the vitamin E level in decomposition and atrophy, infants belonging to group I (dystrophy, hypotrophy I) were not examined. According to our previous investigations, these show vitamin E values near to normal.

Table IV
Serum vitamin E levels in eutrophic infants suffering from acute febrile disease

No.	Initials	Age, months	DQ	Diagnosis	Se. vitamin E mg/100 ml
1.	M. I.	7	1,12	Spastic bronchitis. Otitis	0,042
2.	Cs. I.	8 ¹ / ₃	1,10	Pneumonia. Otitis. Mastoiditis	0,050
3.	B. Gy.	8 ² / ₃	0,98	Pneumonia. Otitis	0,080
4.	M. J.	3 ¹ / ₃	1,1	Pneumonia. Otitis	0,226
5.	J. Gy.	6 ¹ / ₃	1,0	Bronchitis. Enterocolitis	0,226
6.	D. L.	3	0,97	Pneumonia. Otitis	0,423
					$M = 0,174$
					$\sigma M = 0,60$
					$S = 3,0$

poorly supplied with vitamin E. This fact indicates that all the 7 babies in this group suffered from hypo- or avitaminosis.

Accordingly, in infantile atrophy the serum vitamin E level decreases with the severity of atrophy. The level in group II was similar to what we had found to be normal, whereas in subgroup III/1 the level was much lower, though not significantly so. In subgroup III/2, which included the infants with the gravest decomposition, a P_i less than 65, the level was significantly below the normal. It is remarkable that in the serum of 2 cases of group III there were only traces, and in 1 case not even a trace of vitamin E. We have not found such observations in the literature. Further, the level was lower than 100 micrograms in 10 of 20 cases. These, too, are very low values comparable only to those observed by FILER *et al.* [102] and WRIGHT *et al.* [392] in cases of impaired fat absorption.

As in 6 of the 7 cases in subgroup III/2 in the history there was mentioned infection initiating atrophy and on admission all 7 cases suffered from secondary infection apparently contributing to the maintenance and progression of atrophy, the question arose whether the low vitamin E levels were due to the decomposition or to infection. Although infection was a common feature also in subgroup III/1 and group II, as a control eutrophic babies suffering from acute febrile diseases were examined. The results can be found in Table IV. Although in these eutrophic infants with acute, febrile conditions the level of vitamin E was also below normal ($M = 0,174$ mg/100 ml), the difference was not significant, only probable. This shows that, apart from being the decisive factor in the process of atrophy, infection may play a potential role in the decrease of the serum vitamin E level.

Table V
Vitamin E content of the serum in atrophic infants

A t r o p h y (Hypotrophy II)		D e c o m p o s i t i o n (Hypotrophy III)			
$P_i = 85-75$		III/1 $P_i = 75-65$		III/2 $P_i = 65 -$	
No.	Serum vitamin E m /100 ml	No.	Serum vitamin E mg/100 ml	No.	Serum vitamin E mg/100 ml
1.	0,100	1.	Ø	1.	traces
2.	0,115	2.	traces	2.	0,040
3.	0,214	3.	0,026	3.	0,040
4.	0,517	4.	0,030	4.	0,058
5.	0,605	5.	0,035	5.	0,071
6.	0,724	6.	0,044	6.	0,100
7.	0,766	7.	0,075	7.	0,252
		8.	0,080		
		9.	0,150		
		10.	0,214		
		11.	0,425		
		12.	1,000		
		13.	1,212		
$M = 0,434$		$M = 0,253$		$M = 0,080$	
$\sigma M = 0,108$		$\sigma M = 0,110$		$\sigma M = 0,032$	
$S = 0,4$		$S = 0,1$		$S = 6,7^*$	
				$S = 3,1^{**}$	
				$S = 1,5^{***}$	
$^* =$ Related to normal subjects					
$^{**} =$ Related to hypotrophy II					
$^{***} =$ « « « III/1					

It is well-known that as an aetiological factor, dietary injury acts mostly not by itself, but in association with infection. The incidence of mild dietary injury in the history was practically identical in the 3 test groups [43, 46 and 43 per cent). However, in group II there was no evidence of a grave dietary factor, whereas this occurred at about the same rate in subgroups III/1 and III/2 (28 per cent and 38 per cent, respectively). Thus, beside infection the diet may also interfere with the serum vitamin level, but, according to the present data, it is correlated first of all with the severity of the atrophy already developed.

Vitamin E being soluble in fat, a disturbance of fat absorption must also be taken into consideration as a factor lowering the serum vitamin E level.

Our material did not include cases associated with severe impairment of the intake, digestion or absorption of fat (*Leiner's* disease, fibrosis of the pancreas, congenital aplasia of biliary ducts, "Mehlnährschaden" (CZERNY) (protein deficiency disease). In no case was there steatorrhoea. In the presence, or shortly after diarrhoea no tests were made. In group III, serum cholesterol was determined in 8 cases. It was slightly less than normal in 1 case only. There are few data concerning fat absorption in infantile atrophy (apart from the mentioned diseases and some forms occurring under the tropics), but the investigations of BARTA *et al.* [30] revealed no disturbance of fat absorption even when the developmental quotient was less than 0,72. LENGYEL *et al.* [207] found a good fat utilization in infantile atrophy both at room temperature and in a climatic milieu, in spite of the fact that in $\frac{2}{3}$ of their patients the weight loss amounted from 20 to 41 per cent, *i. e.* atrophy was marked. According to KERPEL-FRONIUS and VARGA [179], apart from the above-mentioned special conditions, the absorption of fat is impaired only in the final stage of decomposition, in consequence of the general deterioration of absorption due to anhydramia and hypothermia. We have sought for a correlation between serum vitamin E level, serum proteins, and liver function, but discovered no reliable proof of that.

Summary

The fasting serum vitamin E level has been determined in 27 cases of infantile atrophy and in 6 eutrophic infants suffering from acute febrile disease. The infants were classified into 3 groups, according to the severity of atrophy. They belonged to groups II and III. The latter group was subdivided into 2 subgroups.

The serum vitamin E level was found to decrease with the severity of atrophy. In group II the value was practically the same as what had been found in normal infants ($M = 0,383$ mg/100 ml). In subgroup III/1 the level was lower ($M = 0,253$ mg/100 ml), but the difference was not significant. In subgroup III/2 significantly lower levels were found ($M = 0,080$ mg/100 ml). 10 out of the 20 cases in group III yielded values of less than 100 microg. In 2 cases traces, in 1 case no trace of vitamin E were found in the serum. These latter values are unusually low and no such levels have been reported for infantile conditions not associated with a disturbance of fat absorption. Thus, as determined on the basis of the serum level, infants with the severest grade of atrophy are very poorly supplied with vitamin E. That this is correlated mainly with atrophy and not with infection, has been proved by the vitamin E values of eutrophic infants suffering from acute infection. These values were lower than those for normal eutrophic babies, but the difference was only probably significant.

Tocopherol tolerance tests in infantile atrophy

It has been shown in the previous section that the serum vitamin E level of infants with the severest grade of atrophy is significantly lower than the level we had determined for normal infants.

None of the infants studied had been atrophied in consequence of a disturbance of fat absorption, nor were there clinical symptoms to suggest a poor absorption of fat (steatorrhoea, diarrhoea). It has been reported [30, 207] that fat absorption is unimpaired even in the severest cases of atrophy and a disturbance of fat absorption is likely to occur only in the terminal stage of decomposition, as part of the general deterioration of absorption due to anhydramia [178].

If we accept that in infantile atrophy (not including special forms) fat absorption is unimpaired, the reduced and significantly lower serum vitamin E levels found in the severe and severest forms of decomposition must have some other explanation. To elucidate this problem, tolerance studies have been carried out.

I. Survey of the literature

No evidence is available concerning the absorption of vitamin E, or vitamin E tolerance tests in infantile atrophy and for this reason we cannot present pertaining data from the literature.

Ingestion of vitamin E with food. The thesis, still to be found in most text-books, that the normal human diet contains sufficient vitamin E, is not true even for adults.* For this reason an adult may be inadequately supplied with vitamin E, in spite of the absence of clinical symptoms. Such a "biochemical hypovitaminosis", which has no clinical symptoms only laboratory ones, is known to occur in old age with other vitamins, too [295].

In infants and children hypovitaminosis, or even avitaminosis may develop since most of the tocopherol in the mother's blood cannot pass the placental barrier and the newborn has low tissue reserves at birth. The depleted stores are rapidly filled up when the baby is fed mother's milk (the low blood tocopherol level increases at a fast rate), because colostrum, and even mature

* According to tests made in the USA [143, 292, 288, 147] and in the Netherlands [98, 99], the average diet contains far less tocopherol than it should. For example, the average workman in the USA gets merely 10 to 90 per cent of the required quantity [151]. The diabetic diet contains only about 50 per cent of the tocopherol content of the normal diet [288]. It should be borne in mind that the main sources of tocopherol in the poor diet are vegetables and fruits, which contain the relatively less active gamma form instead of the more effective alpha form [326a]. In the richer diet these are milk, butter and lard, which, containing rancid fats and unsaturated fatty acids, cause a further reduction in the tocopherol content of the diet. It is also to be remembered that only a certain proportion of the tocopherol ingested will be absorbed (see later).

human milk, contain several times as much vitamin E as cow's milk. This explains the fact that in babies fed cow's milk the blood vitamin E level increases slowly or not at all and when the infant is fed a low-fat artifical diet it will continue to decrease.

Absorption and elimination of vitamin E. Vitamin E is absorbed together with, or by the same mechanism as exogenous fat [278]. The fasting blood tocopherol level does not show the rate of absorption from the intestines and therefore a low fasting blood level is indicative not of defective absorption [278], but of a depletion of tissue depots [185, 186]. The vitamin E tolerance curve is believed to reflect the relations of absorption [102, 383].

Absorption of vitamin E in infants and children has been investigated by FILER *et al.* [102] who found that age plays a very small or no role in the shape of the 12-hour curves after oral tocopherol administration and no significant differences were observed in the tolerance curve between mature infants and prematures. The tolerance curves determined in infantile diseases not associated with a disturbance of fat absorption showed the maximum 9 hours following the administration of tocopherol.

Most of the tocopherol ingested is eliminated in the faeces [186, 189, 152] and very little or no vitamin E is passed in the urine [98, 186]. A certain amount of the absorbed tocopherol is re-excreted into the intestines [186, 189]. The tocopherol content of the bile is practically the same as that of the blood. In the normal adult about 2/3 of the tocopherol introduced is excreted in the faeces [189, 291].* Recent experiments with radioactive carbon (C^{14}) labelled vitamin E [267, 333] revealed that in the guinea pig the faeces contain 2/3 of the tocopherol administered [333], and in the rat 75 per cent of the radioactivity fall to the faeces [267], 0,9 per cent to the urine and 20 per cent remain in the body. In fat tissue radioactivity was demonstrable only a few days later. Metabolic studies with radioactive isotopes lent support to the earlier view that tocopherol administered subcutaneously or intramuscularly is absorbed at a slower rate than that given by mouth.

Storage of vitamin E in tissues. Detailed studies by ABDERHALDEN [3] and others [293, 233, 88, 234, 294, 89] revealed that the quantitative state of tocopherol in the body is reflected most truly by the tocopherol concentration in fat tissue. The human organism stores tocopherol practically in fat tissue (like vitamin A is stored in the liver); muscle tissue is second to fat, but its vitamin E content is by far lower than that of fat tissue [322]. The tocopherol recoverable from tissues is preponderantly of the alpha type; gamma and delta tocopherols** are present in smaller quantities.*** Organ analyses [3]

* Others give the ratio as 4 : 1,2 [152].

** At the 1955 vitamin E Congress, GREEN [131] reported also on the new ϵ and ζ forms of tocopherol.

*** In general, the tocopherol content of tissue stores is expressed in total tocopherol content.

and tissue studies in normal subjects who had met an accidental death [293] showed that the adult human contains about 30 to 70 mg of tocopherol per kg body weight [291, 293]. DJU *et al.* [89] made tissue analyses in a great number of foetuses, placentae, premature and mature newborns, infants and children* and found that in the 2 to 6-month old foetus (as a whole or in single tissues) the concentration of vitamin E is as low as 3.1 mg/kg body weight [233, 88]. Premature and mature infants do not contain much more (5.6 mg/kg). Thus both premature and mature infants are born with very low tissue reserves and if some disease interferes with the replenishment of the stores, which may take years, hypovitaminosis or even avitaminosis may develop.

When assessing *the utilization of vitamin E in metabolism*, we must take into account not only the net absorption (the difference between intake and output), the data for tissue depots, but also other factors. Of these, the antivitamins play a significant role [334, 248, 76, 340, 33].

II. Experimental

Patient material

The tolerance tests were made in 6 decomposed infants (hypotrophy III) (3 in subgroup III/1, 3 in subgroup III/2), as well as 6 eutrophic infants suffering from acute disease. The 5 normal infants used as controls were kept constantly in a nursery, under regular medical control, and were fed a complete diet. Thus, vitamin E tolerance tests were made in a total of 17 infants.

Procedure

Twenty mg/kg body weight tocopherol acetate was administered by mouth.** Blood was taken after 4, 8 and 12 hours and the sera were tested quantitatively for vitamin E.

The initial value was the vitamin E level estimated in the serum of the blood taken 24 hours earlier (4 hours after the last meal). This was done to avoid an additional blood sampling on the day of the test.

To facilitate evaluation, curves were plotted from the mean increases observed after 4, 8 and 12 hours (Fig. 2). Also shown are the values for the areas enclosed by the curves (in square cm).

* As well as in adults of different ages (in old age the depots are depleted again).

** An exactly measured quantity of tocopherol acetate was dissolved in a few ml warm milk in a dish, the contents of which were washed several times with human milk into the feeding bottle. Prior to administration the contents of the feeding bottle were slightly warmed and shaken several times. The drained bottle was shaken again with 10 ml tea and this, too, was given to the infant, in order to eliminate loss due to dissolution or administration.

The areas enclosed by the curves were calculated by copying the curve on cardboard, cutting out the appropriate area, and weighing this on analytical scales. Knowing exactly the weight of the cardboard per square cm, the size of the area cut out was determined on the basis of its weight. The means for these values (M) were also plotted in curves (Fig. 3).

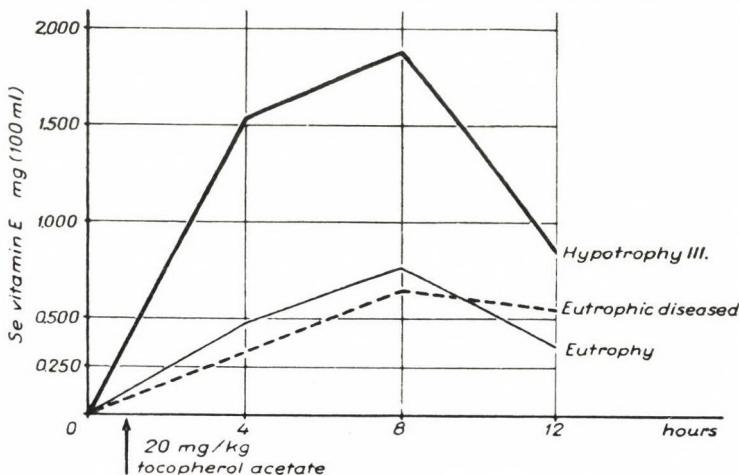


Fig. 2. Vitamin E tolerance curves, plotted from the mean increases in serum vitamin E level (mg/100 ml)

	M	GM	S related to eutrophy
Eutrophy	35.6	1.3	
Hypotrophy III.	93.2		significantly higher
Eutrophic,diseased	30.4	10.9	0.47

Fig. 3. Vitamin E tolerance tests, as evaluated on the basis of the mean area enclosed by the curves (M in square cm)

Results and discussion

The results of the tolerance tests made in normal, decomposed and acutely ill eutrophic infants have been tabulated. For the last two groups the clinical data have also been presented. The size (in square cm) of the areas enclosed by the curves is shown in the appropriate columns of the Tables.

The curves for the normal and acutely ill but eutrophic infants were practically parallel, whereas the curves for the decomposed babies ran higher. Correspondingly, in this last group the increase in the serum vitamin E concentration was greater than in the first two groups (particularly after 4 and

8 hours) (see Fig. 2), and the size of the area enclosed by the curve was also significantly greater than in the case of normal babies (see Fig. 3).

To interpret the divergent results yielded by the infants with decomposition, we must realize that the process indicated by the tolerance curve is composed of two part-processes of opposite direction. The one indicated by the ascending branch of the curve is the absorption of vitamin E from the intestines. The other, shown by the descending branch of the curve, is the flow of vitamin E from the blood into the tissues, where utilization, storage and breakdown of the excess vitamin E takes place by oxidation. Both processes may proceed at different rates. The curve is the resultant of these two processes.

Starting from the tolerance curve for normal babies, or from the process indicated by the curve and comparing with this the curve for the decomposed infants, the following can be derived on the basis of present knowledge on the subject. Absorption is unimpaired in decomposition and even the rate of absorption is about the same as in normal infants. (In this connection we again refer to the data [30, 178, 207], according to which in infantile atrophy (except, of course, its special forms) fat absorption is unimpaired).

In contrast with this, the descending branch of the curve for the decomposed infants may differ considerably from the normal, insofar as it is significantly depressed or protracted.

The slowing down of the latter process explains the fact that in decomposition the curve has a high peak. Such a high tocopherol concentration can result only if the second process has slowed down with the first being unchanged. With normal absorption, storage, utilization and breakdown this high concentration can obviously never be attained. The possible explanations of the slow rate of flow are : *a)* vitamin E is stored in tissues at a slow rate (reduction in the size of fat tissue); *b)* utilization is minimal, particularly in the muscles (reduced motility, marked muscular atrophy); *c)* tissue anoxia may result in a reduced rate of vitamin E breakdown.

Summary

Vitamin E tolerance tests have been made in 6 decomposed (hypotrophy III) and 5 normal infants and 6 eutrophic infants suffering from acute febrile disease. The sera obtained 4, 8 and 12 hours after the ingestion of 20 mg/kg body weight of tocopherol acetate were tested quantitatively for vitamin E.

Of the rises in the serum vitamin E level curves were plotted and the size of the area enclosed by the curve was given in terms of square cm.

The curves for the normal babies ran closely parallel with those for the eutrophic infants suffering from acute febrile disease, whereas those for the decomposed babies ran at a much higher level. Correspondingly, in

Table
Vitamin E tolerance tests

No.	Exp. record No.	Date of test	Initials	Age, months	P_i or DQ	Infection				Dietary injury	Condition	Constitu- tion	Rise in vit. E mg/100 ml serum			Area * square cm				
						precedent		on admission					Rickets	Anaemia	Exud.	Neuropathy				
						diarrhoea	other	otitis	other											

Eutrophic (normal) infants
 $P_i = -97,5$

1.	103	Apr. 1954	B. J.	13	Older than 1 year									0,374	0,750	0,532	34,3
2.	107/a	May 1954	H. A.	$1\frac{2}{3}$	1,18									0,725	0,760	0,312	41,7
3.	127	Sept. 1954	P. M.	$10\frac{2}{3}$	98/97									0,528	0,990	0,356	41,5
4.	128	Sept. 1954	M. Gy	5	97/102									0,345	0,633	0,237	27,0
5.	126	Oct. 1954	M. M.	$5\frac{1}{3}$	97/104									0,473	0,594	0,499	33,3

$$0,489 \quad \overline{M = 0,745} \quad 0,387 \quad \overline{M = 35,6} \\ \sigma \overline{M = 0,068}$$

Infants belonging to the group decomposition (hypotrophy III.)
 III/1 $P_i = 75-65$; III/2 $P_i = 65-\text{less}$

1.	63	Dec. 1953	Cs. F.	$1\frac{2}{3}$	66/102	+	-	+	+	+	-	III/1	-	-	-	-	+	0,773	2,160	1,060	81,2
2.	68	Dec. 1953	M. M.	$9\frac{2}{3}$	0,42	+	+	+	+	+	-	III/2	+	-	+	-	-	0,742	1,594	1,748	78,7
3.	70	Dec. 1953	M. F.	$8\frac{2}{3}$	58/99	-	-	+	+	-	+	III/2	-	-	+	-	-	5,455	3,369	1,020	231,0
4.	71	Dec. 1953	V. M.	$4\frac{2}{3}$	73/98	+	-	+	+	-	+	III/1	-	+	+	-	+	1,458	2,925	0,282	108,0
5.	79	Jan. 1954	L. T.	$4\frac{1}{3}$	0,67	-	-	+	+	-	+	III/1	+	-	+	-	-	0,369	0,760	0,533	36,9
6.	91	March 1954	K. J.	$2\frac{2}{3}$	40/110	-	+	+	+	-	-	III/2	-	+	+	-	+	0,451	-	0,143	23,8

$$\begin{array}{l} 1,546 \quad M = 1,801 \quad 0,798 \quad M = 93,2 \\ \sigma \quad M = 0,404 \\ S = 2,5 \\ (\text{As related to the normal}) \end{array}$$

Acutely ill eutrophic infants

1.	69	Dec. 1953	B. Gy.	$8\frac{2}{3}$	0,98	-	+	-	+	-	-	eutr.	-	+	+	-	-	0,186	0,053	0,000	5,6
2.	89	March. 1954	D. L.	3	0,97	-	-	-	+	-	-	eutr.	-	+	+	-	-	0,317	0,396	0,446	24,5
3.	90	March 1954	M. I.	8	1,2							eutr.						0,184	0,184	0,456	14,1
4.	87	Feb. 1954	Cs. J.	$8\frac{1}{3}$	1,1	-	+	+	+	-	-	eutr.	-	-	-	-	-	0,496	1,150	0,070	40,6
5.	67	Dec. 1953	I. G.	$6\frac{1}{3}$	1,1	+	-	-	+	-	-	eutr.	+	-	+	-	+	0,380	1,484	1,620	67,2

$$\begin{array}{l} 0,312 \quad M = 0,653 \quad 0,518 \quad M = 30,4 \\ \sigma \quad M = 0,280 \\ S = 0,31 \\ (\text{As related to the normal}) \end{array}$$

* The size of the area enclosed by the tolerance curves, in square cm

the latter group the rise of vitamin E level was more marked 8 hours following administration. There was also a significant difference between the first two groups and the third group in regard to the size of the area enclosed.

The divergent results obtained in decomposition are explained as follows. In decomposition the absorption of fat is unimpaired and the rate of absorption is at least equal to that in normal infants. In contrast with this, the rate of the flow of vitamin E from the blood into tissues is definitely reduced and this explains the high tocopherol concentration observed in decomposition. This slow rate of vitamin E flow from blood into tissue is suggested to be due to the following. Storage in the tissues is retarded (extreme wasting of fat tissue); utilization, particularly in the muscle, is greatly diminished (decreased motility, marked muscular atrophy); and, in consequence of cellular anoxia, breakdown is slow.

Tocopherol metabolism in atrophic infants suffering from Leiner's erythrodermia

On the basis of an analysis of 1081 cases of infantile atrophy admitted to our department in 6 years, GEGESI KISS [113] found that the factor primarily responsible for the initiation of the process of infantile atrophy was a deficient diet in 43 cases (3,97 per cent); infection in 793 (73,40 per cent); constitutional, actual conditional and non-infective diseases in 245 cases (22,63 per cent). In the latter group there were 65 cases (making up 6,0 per cent of the total) in which *Leiner's* disease had started the process of atrophy. For this reason, GEGESI KISS stated that in Hungary the successful therapy of *Leiner's* disease presented a special scientific problem in the fight against infantile atrophy. According to Frank [106], approximately 2 per cent of all hospitalized infants suffered from *Leiner's* disease; and *Leiner's* disease was the aetiologic factor in 10 per cent of the infants treated for atrophy in his own department in the period of from 1950 to 1954.

In vitamin metabolism studies in infantile atrophy it is reasonable to discuss separately the cases of *Leiner's* erythrodermia and those in which atrophy develops secondary to that disease. The more so, as atrophy due to *Leiner's* erythrodermia is one of the forms of which a pathological fat metabolism (impairment of digestion, absorption or intake) is characteristic. To this group belong further the congenital aplasia or occlusion of biliary ducts, the cystic fibrosis of the pancreas, protein deficiency disease ("Mehl-nährschaden") [368], resp. (kwashiorkor) [356]. *Leiner's* disease resembles protein deficiency disease (kwashiorkor) in several fundamental features (oedema, hypoproteinaemia, fatty degeneration of the liver, failure of pan-

* More recently, Hungarian authors showed that in protein deficiency disease (Mehl-nährschaden) (VÉGHELYI, [368]) and *Leiner's* disease (MESTER, [246]) pancreatic function is impaired.

creatic function)* [178, 179, 84, 219]. According to KERPEL-FRONIUS, *Leiner's* disease, protein deficiency disease and tropical atrophy would differ only in the development and quality of cutaneous changes, as well as in the manifestations of the associated vitamin deficiencies [178].

Fat absorption is severely impaired in *Leiner's* disease. According to MESTER [246], steatorrhoea is a common feature and the reduced intake due to anorexia should be also taken into consideration. MESTER *et al.* [247] found that the cause of steatorrhoea was pancreatic failure. This, in cases progressing toward death, was total. Post-mortem examination revealed cystic fibrosis of the pancreas. A similar case has been observed by BALOGH [22]. The reduction in the number of haemoconia after meals has also been interpreted as indicative of an impairment of enzyme production in *Leiner's* disease [87].

Studies on vitamin metabolism and therapeutic experiments in *Leiner's* erythrodermia have been made concerning thiamine, riboflavin [190a], biotin [139, 344, 376, 353a, 156a], pyridoxine [123, 283, 91], nicotinic acid [261], and vitamin B₁₂ [107, 108, 308].*

In order to elucidate whether in *Leiner's* disease with atrophy the serum vitamin E level and the vitamin E tolerance curves were determined primarily by the disease itself (or by its peculiar aetiology) or by the secondary atrophy, we have grouped our cases according to the clinical severity of the condition, taking into consideration all cardinal symptoms and pathophysiological criteria, as well as according to the severity of atrophy. To obtain an even clearer view of the influence of *Leiner's* disease and atrophy on the serum level of vitamin E, the investigations were extended to infants who were "eutrophic" in spite of suffering from *Leiner's* disease.** Finally, atrophy due to congenital biliary duct aplasia or occlusion was also studied, to obtain data for atrophy associated with an impairment of fat absorption due to causes other than *Leiner's* disease.

Survey of the literature

In *Leiner's* disease neither the serum vitamin E level, nor vitamin E tolerance have been investigated. In the absence of pertaining observations we shall discuss only such data from the literature as can be considered analogous with some features found in our patient material.

* Although the forms of atrophy associated with a markedly reduced absorption of fat obviously involve a multiple vitamin deficiency, neither vitamin A, nor vitamin E have been investigated in *Leiner's* disease.

** We are aware of the fact that "eutrophy", as determined on the basis of the paediatric index (Pi) [332, 330, 331] or the developmental quotient (DQ), may in some cases be misleading, owing to the presence of latent oedema.

In kwashiorkor the degeneration of striated and heart muscle suggests vitamin E deficiency [356]. The plasma vitamin E level has been found to be low in infants suffering from African kwashiorkor [356a].

As regards conditions associated with impaired fat absorption, in adults with sprue [82, 83, 102] and chronic statorrhoea [83] the serum vitamin E level was found to be low. TVERDY *et al.* [357] detected post-mortem signs of vitamin E deficiency (testicular atrophy, ceroid pigmentation of smooth muscles, muscle atrophy) in a lethal case of sprue. PAPPENHEIMER *et al.* [274] made similar observations in a case of fatal intestinal disease. In infant's and children low serum vitamin E values have been found in occlusion of the bile ducts [83, 102], in consequence of a deficient diet, in cystic fibrosis of the pancreas [83, 102], as well as in coeliac disease. In the last three conditions [102], as well as in sprue the vitamin E tolerance tests yielded flat curves. Except for one case, premature infants absorbed vitamin E just as well as normal infants [102]. (This is in contrast with the poor absorption of fat and vitamin A in premature infants.) In metabolic disturbances associated with hypercholesterolaemia (diabetes) the tolerance curve runs very high [102].

In liver disease in adults low serum vitamin E levels [185, 186] and flat tolerance curves have been found [185, 186, 279, 188, 314]. The same was found in infantile cirrhosis [102].

The administration of tocopherol proved to be beneficial in a variety of skin diseases.

II. Experimental

Patient material

In the following we shall discuss tests made in a total of 27 infants including 25 with *Leiner's* disease (20 with atrophy and 5 eutrophic babies; and 2 infants suffering from congenital bile duct aplasia). In 14 of the 25 infants with *Leiner's* disease vitamin E tolerance tests were also carried out. The infants with *Leiner's* disease were grouped according to development (or atrophy). Their clinical data are summarized in Table I. On grounds of their development the distribution of the 25 babies was

Eutrophy	5 cases
I. Dystrophy (Hypotrophy I)	5 ,,
II. Atrophy (Hypotrophy II)	6 ,,
III. Decomposition (Hypotrophy III)	9 ,,

The cardinal clinical data and symptoms of *Leiner's* disease have been comprised on Table II. On the basis of these data and on that of the general changes, of the 25 infants 14 were classified as severe, 8 as moderate and

mild. Three patients were convalescing from the disease. The grade of severity in the single cases is also shown in Table II.

Procedure

Blood was taken as described previously. Before taking blood the infants had been given no fat-soluble vitamins.

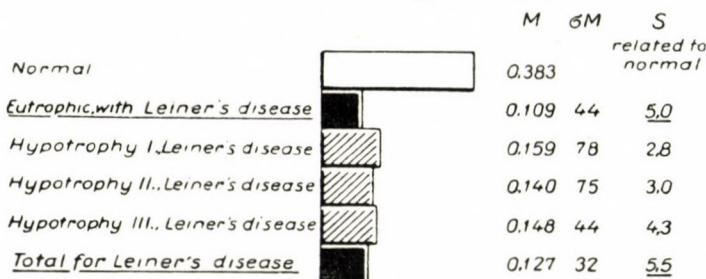
Vitamin E tolerance tests, as well as the determination of the area enclosed by the curves were carried out as previously described.

20 mg tocopherol acetate/kg body weight was administered by mouth. Vitamin E in oil was not injected, as only a fraction of the vitamin thus administered is absorbed [102, 278, 271, 125, 100, 333].

Results and discussion

The infants with *Leiner's* disease associated with group I, II and III atrophy showed practically similar serum vitamin E levels. There was no significant difference in the serum vitamin E level between these and the

According to the Severity of Atrophy



According to the Severity of Leiner's disease



Fig. 4. Serum E vitamin levels in infants suffering from *Leiner's* disease (Mean value (M) mg/100 ml)

normal infants. On the other hand, the "eutrophic" infants with *Leiner's* disease had a much less vitamin E in serum, than the atrophic infants with *Leiner's* disease and the difference between them and the normal group was significant (Table III, Fig. 4). Thus, in *Leiner's* disease no correlation was detected between the grade of atrophy and the level of vitamin E in serum.

Table I
Clinical data for atrophy

No.	Exp. record No.	Initials	Age, months	P_t or DQ	Infection			Dietary	injury	Condition	Constitution	Developmental disorder
					precedent	on admission	diarrhoea					
					other	otitis	other	rough	moderate	Rickets	Anaemia	Exud.

Dystrophy (Hypotrophy I)
($P_t = 97,5-85$)

1.	93	Z. E.	1 ¹ / ₃	85/94	—	—	+	—	—	—	—	—	—
2.	104	B. J.	2	92/103	—	—	—	+	—	—	—	—	—
3.	62	K. J.	1 ¹ / ₃	0,93	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4.	60	J. L.	1 ² / ₃	86/107	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5.	135	M. E.	1 ² / ₃	88/95	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Atrophy (Hypotrophy II)
($P_t = 85-75$)

6.	42	P. I.	1 ² / ₃	78/94	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7.	105	Z. M.	2 ² / ₃	80/97	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8.	150	D. Zs.	4 ¹ / ₃	83/108	+	—	—	—	—	—	—	—	—
9.	85	M. A.	2 ¹ / ₃	81/95	+	—	—	—	—	—	—	—	—
10.	83	B. M.	2 ¹ / ₃	0,77	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11.	61	V. J.	1 ² / ₃	80/104	—	—	—	—	—	—	—	—	—

3*

Decomposition (Hypotrophy III)
($P_i = 75 -$)

12.	46	F. B.	$4\frac{2}{3}$	55/108	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
13.	76	P. F.	$3\frac{1}{3}$	68/93	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	+
14.	26	K. A.	$9\frac{1}{3}$	0,46	-	-	+	-	-	+	-	-	+	+	+	-
15.	151	M. J.	$2\frac{1}{3}$	61/110	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
16.	96	K. K.	$2\frac{2}{3}$	0,63	+	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-
17.	84	K. F.	$2\frac{2}{3}$	69/95	-	-	-	+	-	+	-	+	+	-	-	-
18.	4	K. P.	$5\frac{2}{3}$	56/92	+	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+
19.	152	Sz. T.	$3\frac{1}{3}$	67/92	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
20.	94	Cs. P.	3	64/93	-	-	+	-	+	-	-	+	+	-	-	-

Eutrophy
($P_i = -97,5$)

21.	82	P. Zs.	$1\frac{1}{3}$	1,15	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-
22.	59	Sch. G.	$1\frac{2}{3}$	0,98	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-
23.	134	V. T.	$1\frac{1}{3}$	107/101	-	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
24.	137	K. I.	$1\frac{1}{3}$	1,0	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
25.	142	K. F.	$1\frac{2}{3}$	100/101	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+

When, however, all the infants with *Leiner's* disease, both the atrophied and the "eutrophic" ones were compared to the normals, there was a significant difference. The serum vitamin E level was much lower in the group with *Leiner's* disease (Table III). This means that the cause of the low vitamin E level should be sought for in *Leiner's* disease proper and not regarded as a sequel to atrophy.

We have analysed the 25 infants with *Leiner's* disease also on grounds of the clinical severity of the process (*i. e.* ignoring their grade of development). Comparing the statistical data for the vitamin E levels in the moderately severe and mild cases with the grave ones, it was found that in grave *Leiner's* disease the vitamin E level is significantly lower than in normal infants, whereas there is no marked difference between the moderate and mild cases and the normals (see Table III and Fig. 4). This finding lends further support to the view that the low serum vitamin E level of atrophic infants suffering from *Leiner's* disease is correlated with the disease or with its severity and not with the atrophy or its grade.

It was remarkable that only traces, or not even traces of vitamin E were present in the sera of 6 of the 25 infants with *Leiner's* disease and the serum level of vitamin E was lower than 100 micrograms in 13 infants, in about half of the material. Vitamin E levels lower than 100 micrograms have rarely been mentioned in paediatric literature,* and vitamin E was completely lacking in the serum in 1 case only.**

To facilitate comparison, we have tested also 2 cases of atrophy due to congenital aplasia of the bile ducts. Not even traces of tocopherol were detectable in the sera from these two babies.

The results of the *tolerance tests* are presented in Table IV which shows the increase in serum vitamin E values 4, 8 and 12 hours following administration, as well as the size of the area enclosed by the curves, in square cm. The serum vitamin E values determined at different points of time have been plotted (Fig. 5) presenting separate curves for the moderately severe and severe cases of *Leiner's* disease. The values for normal babies have been likewise plotted in a curve.

The planimetric data for the tolerance curves of all the infants with *Leiner's* disease were significantly lower than the normal values. The significance is even higher, if we differentiate according to the severity of *Leiner's* disease. The extent of the area enclosed by the curve was identical in the group comprising the moderately severe and mild cases and the normal

* In five premature infants aged 31 to 40 days 0,090 [392], in two infants with cirrhosis 0,090 and 0,060, respectively, and in an infant with coeliac disease 0,060 mg/100 ml [102].

** In a premature infant [102].

Table II

Clinical data for Leiner's disease

No.	Exp. record No.	Initials	Dermal symptom	Enlargement of liver (finger-breadth)	Oedema	Serum protein %	Hb. %	RBC	WBC	Diarhoea	Liver function			Duration of treatment, days	Grade of severity	Other	Outcome	Post-mortem findings
											Takata	Thymol	Se. bilirubin mg %					
Dystrophy (Hypotrophy I) (Pi = 97,5—85)																		
1.	93	Z. E.	marked	1/2	+	5,0	50	2 500 000	9,200	+	+	1	0,5	50	severe		recovery	
2.	104	B. J.	marked	2	+	3,9	—	3 760 000	5,400	—	neg.	8	0,5	14	severe		recovery	
3.	62	K. J.	mild	2	—	4,1	—	3 600 000	7,600	—	neg.	4		37	mild		recovery	
4.	60	J. L.	marked	1½	+	6,0	88	4 800 000	18,500	—				6	severe	death		
5.	135	M. E.	mild	1½	+	3,8	—	3 820 000	11,200	—	neg.	1	4,6	37	mild		recovery	
Atrophy (Hypotrophy II) (Pi = 85—75)																		
6.	42	D. J.	marked	—	+	5,3	70	3 920 000	9,400	—	+	4	0,5	87	severe		recovery	
7.	105	Z. M.	marked	1½	+	4,8	—	1 780 000	29,800	+	neg.	3	0,5	14	severe	Keratomalacia, hepatitis	death	
8.	150	D. Zs.	convalescent	1	—	5,6	95	4 540 000	7,800	—				30		recovery	Cerebral and subdural haemorrhage. Sinus thrombosis. Bronchopneumonia. Fatty degeneration of the liver	
9.	85	M. A.	marked	—	—	4,7	—	3 500 000	12,200	—	+	3		18	severe	Anaemia of pregnancy	death	
10.	83	B. M.	moderate	1½	—	5,3	68	3 360 000	18,000	+				46	moderate	nancy	recovery	
11.	61	V. J.	moderate	1½	+	5,3	70	3 600 000	8,000	—				27	moderate		recovery	
Decomposition (Hypotrophy III) (Pi = 75—)																		
12.	46	F. B.	marked	1½	+	4,8	—	2 120 000	9,600	—	+	6	0,5	3	severe	Nephropathy of pregnancy	death	
13.	76	P. F.	marked	1½	—	4,8	60	2 800 000	13,800	+	++	3	0,5	35	severe		recovery	
14.	26	K. A.	convalescent	1/2	—	7,4	85	3 940 000	11,000	—				133			recovery	
15.	151	M. I.	marked	1½	+	6,1	80	3 600 000	12,000	+				42	severe			
16.	96	K. K.	marked	3	+	3,7	—	2 300 000	10,200	+	sugg.	4		40	severe		recovery	
17.	84	K. F.	marked	1	—	5,3	87	3 900 000	11,200	+	++	7	0,5	61	severe		recovery	
18.	4	K. P.	convalescent	1	+	6,4	60	3 000 000	4,200	+	++	14	0,5	175			recovery	
19.	152	Sz. T.	marked	1	+	4,5	68	3 800 000	22,000	+	+	5	0,5	35	severe		recovery	
20.	94	Cs. P.	moderate	1½	—		56	3 200 000	9,200	—	+	5	0,5	73	moderate		recovery	
Eutrophy (Pi = —97,5)																		
21.	82	P. Zs.	marked	1	+	5,1	78	3 320 000	11,600	—	+	4		37	severe	Keratomalacia	recovery	
22.	59	Sch. G.	marked	—	—	4,1	50	2 420 000	11,800	+				51	severe		recovery	
23.	134	V. T.	mild	1½	—	3,0	80	4 000 000	11,200	—	neg.	1,5	1,7	25	mild		recovery	
24.	137	K. I.	mild	2	—	3,4	—	3 820 000	11,800	—				14	mild		recovery	
25.	142	K. F.	mild	2	—	7,0	—	3 980 000	11,200	—				20	mild		recovery	

group ($M = 35.6$ square cm, $\sigma M = 1.3$ square cm). The 7 infants with severe *Leiner's* disease exhibited significantly lower values. The results of the tolerance tests support the above view that vitamin E deficiency was a result of the disease and was closely correlated with its severity.

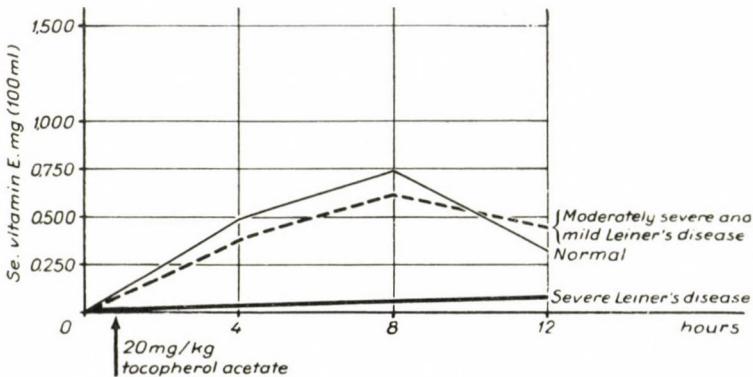


Fig. 5. Vitamin E tolerance tests in infants with *Leiner's* disease. (Mean increase = M (mg/100 ml))

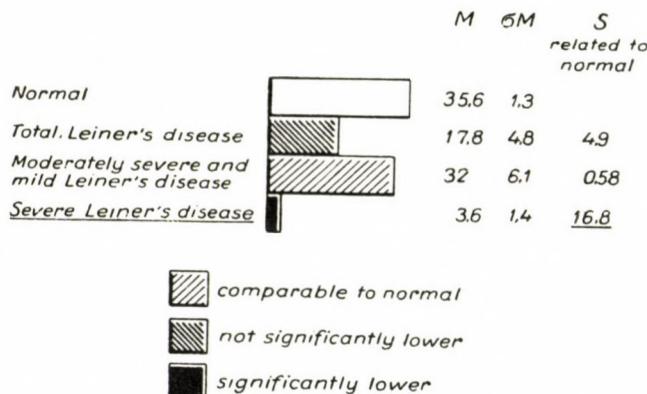


Fig. 6. Vitamin E tolerance tests in infants with *Leiner's* disease. (Mean (M) size of area enclosed by the curve, square cm)

In the two cases of jaundice due to congenital bile duct aplasia there was no absorption as indicated by the fact that in the tolerance tests not even traces of vitamin E were detected in the sera from these infants.

We explain the development of vitamin E deficiency in the following way. *Leiner's* disease is associated with severe anatomical and functional changes in the pancreas [246, 247, 22, 323, 87], resulting directly in a quantitative decrease or total absence of lipase activity. This, in turn, causes a disturbance in fat absorption. Absorption being impaired the organism, cannot get the required amount of vitamin E, even when intake is ample and there

Table III
Serum vitamin E levels in infants with Leiner's disease

No.	Exp. record No.	Date of test	Initials	Vitamin E mg/100 ml serum	
Dystrophy (Hypotrophy I) $P_i = 97,5 - 85$					
1.	93	March 1954	Z. E.	Ø	$M = 0,159 \text{ mg}$
2.	104	Apr. 1954	B. J.	0,033	$(\sigma M = 0,078)$
3.	62	Dec. 1953	K. J.	0,067	$S = 2,8$ (related to the normal)
4.	60	Nov. 1953	J. L.	0,345	
5.	135	Nov. 1954	M. E.	0,350	
Atrophy (Hypotrophy II) $P_i = 85 - 75$					
6.	42	Jan. 1953	P. I.	Ø	
7.	105	Apr. 1954	Z. M.	Ø	$M = 0,140 \text{ mg}$
8.	150	June 1952	D. Zs.	traces	$(\sigma M = 0,075)$
9.	85	Feb. 1954	M. Á.	0,033	
10.	83	Jan. 1954	B. M.	0,120	$S = 3,0$ (related to the normal)
11.	61	Nov. 1953	V. J.	0,690	
Decomposition (Hypotrophy III) $P_i = 75 -$					
12.	46	Feb. 1953	F. B.	traces	
13.	76	Jan. 1954	P. F.	0,040	$M = 0,148 \text{ mg}$
14.	26	Dec. 1952	K. A.	0,048	$(\sigma M = 0,044)$
15.	64	June 1952	M. I.	0,099	
16.	96	March 1954	K. K.	0,113	$S = 4,3$ (related to the normal)
17.	84	Jan. 1954	K. F.	0,120	
18.	4	Oct. 1952	K. P.	0,185	
19.	65	June 1952	Sz. T.	0,317	
20.	94	March 1954	Cs. P.	0,410	
Eutrophy $P_i = -97,5$					
21.	82	Jan. 1954	P. Zs.	0,033	$M = 0,109 \text{ mg}$
22.	59	Nov. 1953	Sch. G.	0,250	$(\sigma M = 0,044)$
23.	134	Nov. 1954	V. T.	0,125	
24.	137	Dec. 1954	K. I.	traces	$S = 5,0$ (related to the normal)
25.	142	Dec. 1954	K. F.	0,140	
$\overline{M = 0,127 \text{ mg}}$ $\overline{\sigma M = 0,032}$ $\overline{S = 5,5}$ (related to the normal)					

*Serum vitamin E levels according to the severity of Leiner's disease**Severe Leiner's disease (14 cases)*

$M = 0,098$

$\sigma M = 0,032$

$S = 6,3$ (related to the normal)

Moderately severe and mild Leiner's disease (8 cases)

$M = 0,237$

$\sigma M = 0,081$

$S = 1,6$ (related to the normal)

Table IV
Vitamin E tolerance tests in infants with Leiner's disease

No.	Exp. record No.	Date of test	Initials	Severity of Leiner's disease	Rise in se vit. E level mg/100 ml			Size of area, square cm
					4h	8h	12h	
1.	93	Feb. 1954	Z. E.	severe	Ø	Ø	Ø	Ø
3.	62	Dec. 1953	K. I.	mild	0,489	0,385	Ø	21,9
4.	60	Nov. 1953	J. L.	severe	Ø	Ø	Ø	Ø
5.	135	Nov. 1954	M. E.	mild	Ø	Ø	0,100	1,2
9.	85	Feb. 1954	M. A.	severe	0,067	Ø	Ø	1,0
11.	61	Nov. 1953	V. J.	moderate	0,614	0,760	0,637	40,6
13.	76	Jan. 1954	P. F.	severe	0,043	0,010	0,160	3,5
16.	96	March 1954	K. K.	severe	0,037	0,038	0,161	4,4
17.	84	Jan. 1954	K. F.	severe	Ø	0,151	0,624	11,4
20.	94	March 1954	Cs. P.	moderate	0,192	0,780	0,590	30,8
21.	82	Jan. 1954	P. Zs.	severe	0,067	0,092	0,067	4,5
23.	134	Nov. 1954	V. T.	mild	0,614	0,805	0,823	44,9
24.	137	Dec. 1954	K. I.	mild	0,694	0,852	0,741	48,0
25.	142	Dec. 1954	K. F.	mild	0,466	0,749	0,527	3,5
Average					0,235	0,330	0,316	$M = 17,8 \text{ cm}^2$

Normals (5 cases)

$M = 35,6$ square cm

$\sigma M = 4,8 \text{ cm}^2$

$S = 4,9$

$\sigma M = 1,3$

(related to the normal)

*Vitamin E tolerance results according to the severity of Leiner's disease**Moderately severe and mild cases (7)*

$M = 32,0$ square cm

$\sigma M = 6,1$ square cm

$S = 0,58$ (related to the normal)

Severe cases (7)

$M = 3,6$ square cm

$\sigma M = 1,4$ square cm

$S = 16,8$ (related to the normal)

is no anorrhexia. As a result, the tissue depots are completely depleted, the level of vitamin E in serum decreases below normal or, in extremely grave cases, disappears altogether. The flat tolerance curves obtained in such cases are obviously due to the fact that the small amount of vitamin E entering the blood stream in spite of the poor absorption, is eagerly absorbed by the depleted tissue.* The more severe is the *Leiner's* disease, the more severe is the vitamin E deficiency.

Our investigations have revealed that vitamin E avitaminosis may develop in grave *Leiner's* disease and have thereby contributed to the problem of human avitaminosis E.**

Finally, it would be difficult not to outline our hypothesis, which is as follows. Although a number of factors have been suggested to be involved, the disturbed metabolism of the liver and pancreas resulting from protein deficiency appears to play the leading role in the development of *Leiner's* erythrodermia [107, 108, 109]. The correlation with vitamin E deficiency apparently lies in the fact that the amount of free amino acids is decreased in both the serum of infants with *Leiner's* disease and the milk of their mothers. This decrease is particularly marked in the case of cystine [110], and vitamin E is known to substitute methionine and cystine in their protective action against liver injury.***

Summary

The serum vitamin E level has been determined in 25 infants with *Leiner's* disease. Of these babies 20 were atrophied and 5 "eutrophic". In 14 cases vitamin E tolerance tests were also made.

Two infants with congenital bile duct aplasia were used as the controls.

As compared to the serum vitamin E level of normal infants determined by us ($M = 0.383 \text{ mg}/100 \text{ ml}$),

(i) the serum vitamin E levels for the infants with *Leiner's* disease and group I, II, and III atrophy did not differ significantly. Likewise, no signif-

* As it has been pointed out, the deficiency in vitamin E appears to be correlated with the severity of *Leiner's* disease, and not with that of atrophy. The volume of tissue depots (first of all of fat tissue and muscle) seemed to play a minor role. In the presence of fat tissue and muscle, which is not wasted but is still depleted in vitamin E, the vitamin probably passes faster from the blood into the tissues than in normal infants and the curve will be flat also when absorption is satisfactory, but the tissue depots are depleted [185, 186]. In contrast with this, we ascribe a great significance to the extreme, progressive wasting of these tissues in the interpretation of the tolerance curves yielded by gravely atrophied infants ($P_i = \text{below } 65\%$) with no disturbance of fat absorption.

** Data for avitaminosis E occurring in adults have been supplied by TVERDY *et al.* [357], as well as by PAPPENHEIMER *et al.* [274].

*** Fatty degeneration of the liver and cystic fibrosis of the pancreas (of which the latter condition appears to be the primary one [369]) can be produced not only by infection and toxic factors, but also by qualitative protein deficiency (deficiency in methionine and cystine). Both methionine and tocopherol can equally prevent the development, or ameliorate the course, of such hepatic changes [163, 155, 177, 164, 81, 318, 140, 235, 319, 320].

icant difference was demonstrated between atrophied infants and normal ones. On the other hand, the "eutrophic" babies with *Leiner's* disease showed much lower values than those with atrophy due to *Leiner's* disease, and there was a significant difference between this group and the normals ($M = 0,109$ mg/100 ml, $S = 5$) ;

(ii) the group including all 25 babies with *Leiner's* disease showed a significantly lower vitamin E level in serum than the normal group ($M = 0,127$ mg/100 ml, $S = 5,5$). In that group the serum E vitamin level was significantly below normal in cases of grave *Leiner's* disease ($M = 0,098$ mg/100 ml, $S = 6,3$), whereas no significant difference occurred between the group of moderately severe *Leiner's* disease and the normal group ($M = 0,237$ mg/100 ml, $S = 1,6$).

In 24 per cent of the infants with *Leiner's* disease either only traces or not even traces of vitamin E were present in the serum and in 50 per cent the level was below 0,100 mg/100 ml.

As regards the size of the area enclosed by the tolerance curves in comparison with the normal infants ($M = 35,6$ square cm),

(i) the mean for all the infants with *Leiner's* disease was significantly smaller ; ($M = 17,8$ square cm, $S = 4,9$) ;

(ii) in infants with moderately severe *Leiner's* disease it was practically the same as in the normals ($M = 32,0$ square cm, $S = 0,58$), while in grave *Leiner's* disease it was significantly smaller ($M = 3,6$ square cm, $S = 16,8$).

Both the serum vitamin E and the tolerance values indicated that no correlation exists between the severity of atrophy and the vitamin E content of serum. The low serum vitamin E level in atrophic infants with *Leiner's* disease is correlated with the disease and its grade of severity, and not with the process of atrophy and its severity.

We explain the development of vitamin E deficiency by a failure of the organism to get the required supply of vitamin E, due to the disturbance of fat absorption involved in *Leiner's* disease. As a result, the tissue depots become gradually depleted or totally exhausted, the serum level of vitamin E decreases below normal. The vitamin may entirely disappear from the serum in extremely grave cases. When making the tolerance test in such a condition, it is easy to interpret the flatness of the curve : owing to poor absorption only a small amount of vitamin E enters the blood and, the flow from the blood into the tissue being faster than normal, this small amount is rapidly absorbed by the depleted tissues.

Thus, the grave impairment of vitamin E absorption in severe *Leiner's* disease may result in a depletion of the vitamin E reserves and thereby in the development of avitaminosis. Our investigations have contributed new evidence to the problem of vitamin E deficiency, as it occurs in man.

The correlation between vitamin E deficiency and protein deficiency has been discussed and it has been suggested that these factors may play a role in the pathomechanism of *Leiner's* disease.

VITAMIN A

Serum vitamin A levels in infantile atrophy

Although different from vitamin A deficiency of adults, the condition in infants is in many respects analogous to avitaminosis A in fast-growing experimental animals [77]. As the symptoms of infantile avitaminosis A include impaired development, susceptibility to infection and epithelial metaplasia in the respiratory, gastrointestinal and genitourinary tracts, a correlation has been suggested to exist between atrophy and vitamin A supply. Infection plays namely a decisive role in the initiation and maintenance of infantile atrophy [114, 113]. Also, longitudinal growth may be retarded or completely inhibited during atrophy. It seemed therefore interesting to extend our investigations into the vitamin metabolism of atrophic infants also to vitamin A. For this reason, in atrophic infants the level of vitamin A in serum has been estimated.

Is it possible to judge the vitamin A supply on the basis of the blood level?

From the serum vitamin A level diagnostic inferences must be drawn with some caution, as normal variations are wide and there is a certain tendency for individual blood levels [17]. The hepatic depot, practically the only store of vitamin A in the body, plays an important role in the maintenance of the blood level. If this depot is filled, the blood level may remain unchanged for months even on a vitamin-free diet [5]. On the other hand, in children a deficient vitamin A intake may manifest itself in the blood level within 2 to 4 months [126]. Some authors [11, 194] found no correlation between plasma vitamin A level, vitamin A intake and the symptoms ascribed to vitamin A deficiency, whereas others [7] claimed that a close correlation existed. Considering, however, that all of the vitamin A in blood is contained in the plasma [71] and that the tissue concentration is at equilibrium with the blood level [277], the vitamin A supply may be estimated indirectly on grounds of the blood level. Also in support of this view is the fact that, notwithstanding the wide range of individual variations, there still remains a considerable difference between the lowest values thus obtained and those indicative of vitamin A deficiency, as the average value for patients exhibiting the symptoms and signs of vitamin A deficiency is 6 I. U./100 ml serum (0 to 27 I. U.) [126]. Thus, *ceteris paribus*, a low blood vitamin A level indicate the presence of vitamin A deficiency, a depletion of depots or of a disease affecting vitamin A metabolism [126].

I. Survey of the literature

In the literature* we found no data concerning serum vitamin A levels in infantile atrophy.

According to WALTNER [378], in infantile atrophy the depots are not normal and one should look upon the atrophic infants as one having a vitamin A depot sufficient for not more than at the most a week.

The serum vitamin A level in normal infants is lower than in adults and children. Individual variations are wide also in infants, the value is ranging from 24 [220] to above 100 I. U. [57].

The serum vitamin A level in normal infants, I. U.

LUND <i>et al.</i> [220]	newborn (at birth)	49
LEWIS <i>et al.</i> [211]	"	76 (falls to 37 at the end of the second day and rises to 61 on the 4th)
BYRN <i>et al.</i> [57]	"	91
LEWIS <i>et al.</i> [212]	premature baby (few weeks old)	52-164
MCCREARY <i>et al.</i> [242]	infant (birth - 6 months)	20,7
MCCREARY <i>et al.</i> [242]	" (6 to 12 months)	27,6
BROCK [53]	"	50-80
MASI [227]	infant and child	52-210 (the lower values tend to occur in infants)
MC CREAMY <i>et al.</i> [242]	" " "	32

*The serum vitamin A level in infants and children suffering from diseases not associated with an impairment of fat absorption.*** Fever and infection strongly influence the serum vitamin A level. Fever by itself reduces the level, even if the rise in temperature is due not to infection, but for example to drugs [72, 18]. In such cases the low serum vitamin A level is due not to poor absorption, but to diminished mobilization. After the fever has subsided, the serum vitamin A value returns to the original level [170]. On the other hand, infection, with or without fever,*** depresses the level of vitamin A. The fall is steeper in acute, febrile infections and retarded in chronic afebrile ones. After infection the serum vitamin A level increases again, faster in the former, and slowly in the latter case [242]. In lobar

* KRETSHMER and BAYANDINA [195] include hypovitaminosis A among the causes of the dystrophy of infants with septicaemia. In one group of newborns there was no vitamin A at all in the blood during the acute and convalescent stages and the vitamin A level increased gradually after or during clinical recovery. In another group the serum vitamin A level was very high during the acute phase and decreased during convalescence and in the phase of recovery. This apparently paradoxical phenomenon has been ascribed by the cited authors to liver disease depending in its gravity on the duration of dystrophy and to a secondary impairment of the liver's ability to store and synthesize vitamin A.

** The data in the literature concerning vitamin A supply in infantile diseases associated with impaired fat absorption will be discussed in the section on vitamin A metabolism in atrophic infants suffering from *Leiner's disease*.

*** In chronic afebrile infection a serum vitamin A level of 28 I. U. was found.

pneumonia vitamin A may totally disappear from blood [71]. The serum vitamin A level is low in uncompensated mitral stenosis [336]; infantile heart disease [44, 281] associated with anoxaemia (since this interferes with the formation of vitamin A from carotene) and with hepatic congestion (since this affects storage); nutritional deficiencies [281] (owing to the insufficient intake); infected adenoid vegetation of infants; eczema and asthma of infants and children [336]. Normally, vitamin A is not excreted in the urine, or at the most traces of it are there present [355], but in pneumonia and, to a lesser extent, in skin diseases [202] vitamin A appears in the urine. In seborrhoid dermatitis vitamin A may be lost also through the skin.*

In nephrosis, especially when the condition is associated with marked lipaemia, the serum vitamin A level is high [173]. The values found in diabetes are not unequivocal [44].

Serum vitamin A in nutritional deficiency (starvation) of adults. Recent studies have revealed that *vitamin deficiencies* do not play a major role in the starvation disease of adults [180]. Among the prisoners of concentration camps admitted to Swiss hospitals only occasional cases occurred, with discrete symptoms [158] and the incidence of avitaminosis was remarkably low in the Spanish War (1936–39) [305]. During World War II, the incidence of avitaminosis (particularly in Europe) was less than in World War I [180]. This was due in part to the fact that extreme starvation leads to death so soon that there is no time for a vitamin deficiency to develop [158], and in part to the low requirement during starvation [158]. Acute starvation is not associated with vitamin deficiency because during considerable loss of weight the organism can utilize the vitamins released from its tissues. For this reason vitamin deficiencies develop only when body weight is relatively stable, or when wasting is slow.**

Deficiency in vitamin A is particularly rare.*** Keratomalacia did not occur either in Dachau [158], nor among the victims of the Bengal famine (1943–44) [43]. On the contrary, vitamin A intake sometimes even increased as, because of the lack of caloric rich food, more vegetables and green plants, or, in World War II, during the German occupation, weeds and grass rich in carotene were ingested. For example, among British and Soviet prisoners of war in a German camp the daily vitamin A intake during the severest famine has as high as 3000 I. U. [217], and carotanaemia occurred in Leningrade in 1941–42 [210]. Similar observations were made also in other areas

* The serum vitamin A level in adults is low in chronic liver disease [141, 280, 249], as well as in acute infectious hepatitis [280, 249, 282, 142].

** According to the so-called semi-starvation series of the "Minnesota Experiment" (KEYS *et al.* [180]).

*** Only the Spanish fugitives transported to France during World War II [397], and the inhabitants of the Madrid slums during the Spanish War [302, 303] developed hemeralopia (night blindness) [66] believed to be due to vitamin A deficiency, as well as an impairment of dark adaption during the German occupation of Paris [66].

during World War II [264, 236]. The serum vitamin A level was not low among subjects with chronic nutritional deficiency (weight loss of from 5 to 15 kg) in occupied Belgium in 1940–44 [94]. In the starvation phase of the "Minnesota Experiment" [180], the serum vitamin A level did not differ significantly from the control [180, 374]. In contrast with this, a definite fall (0 values in 9 out of 34 patients) was found in 1945 in Amsterdam in starved subjects with oedema [165, 166] and low levels occurred during the occupation of Paris by the Germans [201, 66].

The vitamin A requirement of the normal infant increases with the increase in body weight. It applies equally to animal [133, 129]* and man [132] that the normal vitamin A requirement is first of all the function of body weight. In infants the requirement is less than at later age. Artificial feeding usually does not cover the vitamin A demand (including storage) and for this reason the administration of vitamin A is justified as long as the baby is not given a mixed diet. In premature infants, in whom the liver depots are poor, vitamin A should be prescribed as soon as that the age of 2 weeks [71].**

The infant's requirement is changed under pathologic conditions, because the disease interferes with the absorption and metabolism of vitamin A. For this reason a high vitamin A diet, or the administration of vitamin A are important in chronic diseases [44]. The requirement is great with depleted stores, poor absorption (for example in conditions associated with an impairment of fat absorption), increased elimination through the kidneys (e. g. in pneumonia), diminished mobilization (for instance in infections).

According to WALTNER, after ample intake the normal infant has vitamin A reserves capable of meeting its requirement for about 1 month during a total lack of supply. A sick baby should be considered to have enough vitamin A for about 2 weeks [378].

II. Experimental

Patient material

Twenty-nine infants with atrophy were studied, all of them belonging to the group of gravest atrophy (decomposition, hypotrophy III). As controls were tested 5 absolutely normal infants less than 1 year old, living in a nursery

* In certain animals equal doses of vitamin A are required to avoid hemeralopia without permitting storage.

** The daily dose for infants under the age of 1 year was set at 1500 I. U. by the Food and Nutrition Board of the USA National Research Council [168]. The requirement of the infant increases from month to month; the 1500 I. U. daily applies to infants 6 to 8 months of age.

Daily vitamin A requirement of normal infants, I. U./kg body weight		
LEWIS <i>et al.</i> [213]	infant by the adaptation method	18–20
NYLUND [270]	"	19–38
LEWIS <i>et al.</i> [214]	" by blood level studies	100–200

on a diet complete also as regards vitamin A. Thus, the results published below concern a total of 34 infants. The clinical data of the atrophic infants have been tabulated (Table I).

Procedure

Blood was taken at least 4 hours after the last meal. The serum was separated by centrifugation and was tested without delay.

The method employed for the estimation of vitamin A in serum was that of BENCZE, based on the CARR—PRICE reaction.

	M	GM	S	related to eutrophy
Eutrophy			61.6	8.6
Hypotrophy III			62	9.6 0.03

█ nearly identical with the eutrophic value

Fig. 7. Serum vitamin A levels in atrophic infants (as determined by Bencze's method, based on the Carr—Price reaction) on the basis of the mean value (M) (I. U./100 ml)

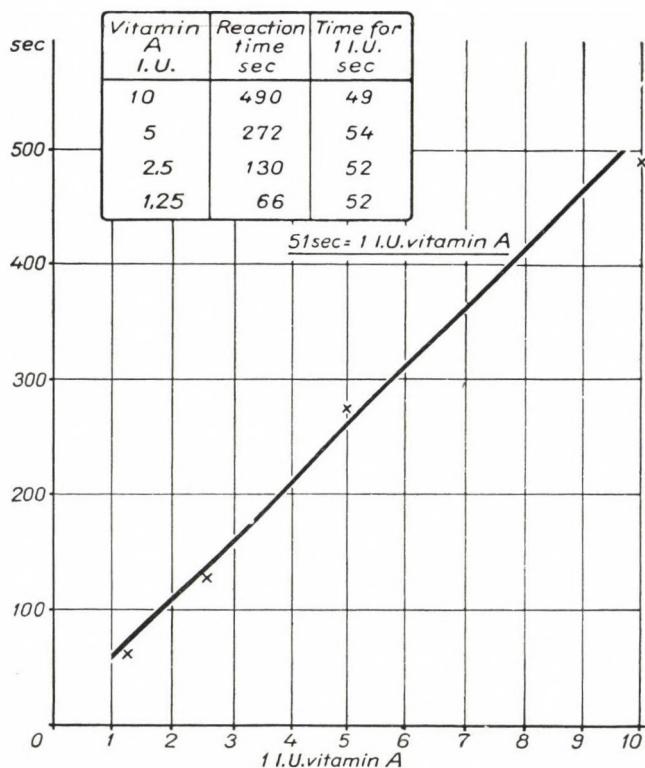


Fig. 8

Table I
Clinical data for decomposed (Hypotrophy III) infants
 $P_i = \text{below } 75$

No.	Exp. record No.	Date of test	Initials	Age, months	P_i or DQ	Infection				Dietary injury	Constitu- tion	Condition	Developmental disorder	Premar- ture, twin- birth	Death	Post-mortem diagnosis							
						preced- ing		on admis- sion															
						diar- rhoea	other	otitis	other														
1.	2	March, 1951	H. S.	20 ¹ / ₃	75/86	—	+	+	+	—	+	—	+	+	—	twin	—						
2.	37	October, 1952	V. Gy.	16	54/104	+	—	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—						
3.	86	February 1954	K. J.	1 ² / ₃	42/113	—	—	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—						
4.	Ef66	July, 1952	B. R.	15 ² / ₃	—	—	+	+	—	—	—	—	+	+	—	—	+						
5.	1	March, 1951	H. A.	20 ¹ / ₃	74/86	—	+	+	+	—	+	+	—	+	—	twin	—						
6.	43	February, 1953	J. F.	1 ² / ₃	70/92	—	—	+	—	+	—	—	+	—	—	—	+						
7.	112	June, 1954	L. L.	3	73/89	—	+	+	—	—	+	+	—	+	—	—	—						
8.	80	January, 1954	Sch. K.	2	0,59	+	+	—	+	—	+	—	—	—	—	—	—						
9.	41	January, 1953	T. I.	3 ¹ / ₃	69/93	—	—	+	—	—	+	—	—	+	—	—	—						
10.	44	February 1953	L. M.	5	59/97	+	+	+	—	+	—	—	—	+	+	—	—						
11.	39	November, 1952	Sch. L.	9	0,51	—	—	+	+	+	—	+	—	+	—	—	—						
12.	38	November, 1952	J. T.	5 ¹ / ₃	64/99	+	—	+	+	—	+	—	—	+	—	—	—						
13.	81	January, 1954	T. J.	3	74/93	+	+	+	+	+	—	—	+	—	—	—	—						
14.	26	July, 1952	N. I.	10 ² / ₃	67/89	—	—	+	+	+	—	+	—	+	—	prema- ture	—						
15.	101	April, 1954	K. L.	3 ¹ / ₃	69/88	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	prema- ture	+						
16.	14/b	February, 1952	A. A.	10	69/91	—	+	+	+	—	—	—	+	—	+	—	—						
17.	22	March, 1952	K. E.	12 ¹ / ₃	65/102	+	+	+	+	—	—	+	—	+	—	—	—						
18.	E20/e	April, 1952	K. P.	9 ¹ / ₃	0,49	+	—	+	+	—	—	+	—	—	+	—	—						
19.	E22/d	April, 1952	V. M.	5	70/92	+	+	+	+	—	+	+	—	+	—	—	—						
20.	23	March, 1952	N. E.	4	68/95	—	—	+	—	+	—	+	+	—	—	—	—						
21.	12/b	October, 1951	K. Sz. M.	7	62/98	+	—	+	—	—	+	+	—	+	—	twin	—						
22.	12/a	March, 1951	G. Z.	5 ² / ₃	70/94	+	—	+	+	+	—	—	+	+	—	—	—						
23.	14/a	March, 1951	Z. L.	11 ¹ / ₃	59/110	+	+	+	—	—	—	+	—	+	—	—	—						
24.	29	April, 1951	L. L.	11	63/96	+	+	+	+	—	—	—	—	+	+	—	+						
25.	106	April, 1954	B. K.	11 ¹ / ₃	0,64	—	+	+	—	+	—	—	—	+	—	—	—						
26.	27	March, 1952	Gy. I.	4 ¹ / ₃	58/104	+	—	+	+	+	—	+	—	+	+	—	—						
27.	28	May, 1952	T. P.	7 ¹ / ₃	0,59	—	+	+	—	—	—	+	—	+	+	—	—						
28.	45	March, 1953	L. L.	7	0,50	—	—	+	+	+	—	+	—	—	+	—	—						
29.	18	April, 1951	M. M.	2 ² / ₃	61/98	—	+	+	+	—	—	+	—	+	+	—	—						

Dilatation of the ventricles. Capillary bronchiolitis. Oedema and atelectasis in the lungs.
 Partial atelectasis and emphysema. Congestion of liver and spleen.
 Cerebral oedema. Otitis.

Capillary bronchiolitis and atelectasis. Dilatation of heart. Parenchymatous myocardial degeneration. Mastoiditis. Cerebral oedema.

Bronchopneumonia with abscess on right side.
 Suppurative bronchiolitis. Fibrinous pleuritis.
 Dilatation of heart.
 Mastoiditis.

The CARR—PRICE antimony-trichloride reaction is a time reaction. This means that the intense blue colour formed increases in intensity to a sharp maximum lasting for a few seconds, then fades gradually. The intensity of the colour depends on the amount of reagent, the concentration of vitamin A, the volume of the reaction mixture, and time. All these are factors making the determination of vitamin A technically difficult; 2 workers are needed to estimate by means of a colorimeter the depth of colour at a certain point of time which depends on the skill of the workers.

To eliminate these errors, we have discarded the colorimeter as the measuring instrument and carried out the reaction in a colourless glass tube, 8 mm in diameter and 8 to 10 cm high, observing the usual rules (avoiding moisture, etc.). At the moment of mixing the solution a stop watch is started to measure the time during which the blue colour turns into grey or definitely greyish-yellow. From the standard curve plotted from known quantities the time corresponding to 1 I. U. of vitamin A is calculated, and this value is used in further computations. The results of measurements and the standard curves presented in Fig. 8 show clearly that the procedure yields well reproducible results and by its use the errors mentioned can be eliminated. Of course, the period of time corresponding to 1 I.U. of vitamin A depends also on the concentration of antimony chloride which must therefore be determined whenever a new solution is prepared, and its value will be the factor characteristic of that solution.

Results and discussion

The mean serum vitamin A value for normal infants was found to be 61 I. U. (Table III), a value identical with those mentioned in the literature. A mean value of 62 I. U. was obtained for the 29 decomposed infants, practically the same as for the normals (Table II and Fig. 7). The division of the group of decomposed patients (hypotrophy III) into two subgroups did not alter the situation.

Unlike with vitamin E, the degree of atrophy has no bearing on the serum vitamin A level. For this reason it did not seem important to extend the studies to infants in the group of dystrophy (hypotrophy I), and in that of atrophy (hypotrophy II), and to eutrophic infants suffering from acute disease.*

On grounds of the serum vitamin A level, the decomposed infants seem to be sufficiently supplied with vitamin A. This is in contradiction with the

* Another reason why the vitamin A studies were focussed exclusively on decomposition was that our investigations concerning vitamin E, another fat-soluble vitamin, had revealed that an eventual deficiency was correlated with the grade of decomposition and would have manifested itself best in the patients with the severest decomposition.

Table II
Serum vitamin A levels in decomposed infants

No.	Experimental record No.	Date of testing	Initials	Vitamin A I. U. 100 ml
1.	2	March,	1951	H. S.
2.	37	October,	1952	V. Gy.
3.	86	February,	1954	K. J.
4.	Ef66	July,	1952	B. R.
5.	1	March,	1951	H. A.
6.	43	February,	1953	J. F.
7.	112	June,	1954	L. L.
8.	80	January,	1954	Sch. K.
9.	41	January,	1953	T. I.
10.	44	February,	1953	L. M.
11.	39	November,	1952	Sch. I.
12.	38	November,	1952	J. T.
13.	81	January,	1954	T. J.
14.	26	July,	1952	N. I.
15.	101	April,	1954	K. L.
16.	14/b	February,	1952	A. A.
17.	22	March,	1952	K. E.
18.	E20/e	April,	1952	K. P.
19.	E22/d	April,	1952	V. M.
20.	23	March,	1952	N. E.
21.	12/b	October,	1951	K. Sz. M.
22.	12/a	March,	1951	G. Z.
23.	14/a	March,	1951	Z. L.
24.	29	April,	1951	L. L.
25.	106	April,	1954	B. K.
26.	27	March,	1952	Gy. I.
27.	28	May,	1952	T. P.
28.	45	March,	1953	L. L.
29.	18	April,	1951	M. M.

$$\bar{M} = 62,0 \text{ I. U.}$$

$$\sigma M = 9,6$$

$$S = 0,03$$

(related to the normal)

statements we have made in connection with vitamin E, another fat-soluble vitamin; in the decomposed babies there was namely a marked vitamin E deficiency. (The aetiology of the atrophying process was practically the same in the decomposed infants studied with respect to vitamin E and vitamin A.

Moreover, there were 7 babies tested not only for vitamin A, but also for vitamin E. The above difference was noted also in these cases.)

The causes of the discrepancy (normal vitamin A level with vitamin E deficiency) are thought to be the following.

(i) The vitamin A requirement of the decomposed baby is presumably low as, parallel with the extreme loss in weight, the vitamin A demand also decreases. (On the other hand, the light-weight, or the young organism needs relatively much vitamin E.)

(ii) Vitamin A is stored mainly in the liver and, although the systemic atrophy involves also that organ [178], the liver loses by far not so much weight than does the fat tissue. (As well-known, vitamin E is stored almost exclusively in fat, and for this reason storage is hardly possible in the practically de-fatted decomposed body.)

(iii) In our opinion the normal vitamin A level results from the widespread consumption of provitamin A in this country.* The infants involved

Table III
Serum vitamin A levels in normal infants

No.	Experimental record No.	Date of testing	Initials	P _t — 97,5	Vitamin A I. U. / 100 ml
1.	107/b	May, 1954	H. A.		33
2.	129	November, 1954	M. P.	105/93	56
3.	131	November, 1954	M. M.	100/103	62
4.	132	November, 1954	Sz. I.	100/99	71
5.	130	November, 1954	P. M.	98/97	86
$\bar{M} = 61,6 \text{ I. U.}$					
$\sigma M = 8,6$					

in the study (except for 2 or 3 from the total of 29) were of such age in which fruits and green vegetables are widely consumed. It must be taken into account that in Hungary one of the richest sources of provitamin A is the raw carrot, which, as a substitute for fruit (and a coloured vegetable) is remarkably popular. As in nearly 60 per cent of our cases diarrhoea was the immediate factor giving rise to atrophy, carrot soup prescribed for therapeutical purposes must be also taken into consideration.

* WALTNER [379, 380, 381, 382] pointed out that the usual Hungarian diet meets easily the vitamin A requirement at any age and called attention to the ample provitamin A content of baked pumpkin and maize. According to his investigations, the cases of vitamin A deficiency among Hungarian children in the period between the two World Wars were due to an inadequate diet.

The incidence of rough dietary error was 41 per cent in our cases of atrophy. In caloric starvation, however, vitamin A supply may be satisfactory, as it has been mentioned previously in connection with nutritional deficiency disease.

(On the other hand, as it has been discussed above, not even an optimum diet meets the vitamin E requirement of adults. As regards infants on an artificial or deficient diet, intake lags far behind the demand in some cases so much that avitaminosis may develop).

No correlation has been found between serum protein, serum cholesterol, liver function tests and the serum vitamin A level.

Summary

Sera from 29 decomposed and 5 normal infants under the age of 1 year were tested for vitamin A content by the BENCZE method based on the CARR—PRICE procedure. In agreement with the data in the literature the serum vitamin A level was found to be $M = 61$ I. U. per 100 ml in normal infants. Nearly the same value ($M = 62$ I. U./100 ml) was yielded by the decomposed infants. Division of the group of decomposition into 2 subgroups ($P_i = 75-65$, and $P_i =$ below 65) disclosed no substantial difference. Thus, as determined on the basis of the serum level, even the infants with the severest atrophy appear to be well supplied with vitamin A. This is apparently in contradiction with our findings in connection with vitamin E, another fat-soluble vitamin, the deficiency of which was undoubtedly demonstrated in the severest grade of atrophy. As about the same aetiological factors were responsible for the atrophy of the infants tested for serum vitamin A and of those for vitamin E and several were tested for both vitamins, and the divergence in the values was always the same, the sufficient supply of vitamin A (as determined on the basis of the blood level) in infantile atrophy has been ascribed to the following.

(i) Vitamin A requirement in the decomposed infants presumably decreases with the excessive loss in body weight. (In contrast with this, the low-weight, and the young organism requires relatively high amounts of vitamin E.)

(ii) Vitamin A is stored mainly in the liver, but the liver loses less weight than does fat tissue. (In contrast with this, vitamin E is stored almost exclusively in fat tissue and for this reason storage is hardly possible in the practically de-fatted decomposed organism.)

(iii) Foods rich in provitamin A are popular in Hungary. The vitamin A supply may be sufficient even when the diet is low in calories. (On the other hand, infants, especially artificially or erroneously fed ones, may ingest so little vitamin E that avitaminosis may develop.)

Vitamin A tolerance tests in infantile atrophy

In the previous section it has been established that, as judged from the serum level, vitamin A supply is apparently sufficient in even the gravest form of infantile atrophy. It should, however, be borne in mind that in spite of a normal blood level the tissue depots may be more or less depleted, and, also, that the depletion of the hepatic vitamin depot in infants fed a vitamin A deficient diet may not affect the blood level for 2 to 4 months [126]. For this reason, tolerance studies were made to determine whether or not in the presence of normal blood levels the vitamin A depots are filled.

I. Survey of the literature

We have not found reports on vitamin A tolerance tests made in infantile atrophy.

In general, vitamin A supply is determined by examining vitamin A tolerance (absorption [126]). This, in view of the fact that vitamin A is absorbed parallel with fat, is considered also an indicator of fat absorption [242].* The increase of the blood vitamin A level is the greatest when the particles of the administered preparation are submicroscopic ("aqueous"); the lowest, when they are macroscopic (oil); intermediate, when they are 1 to 20 μ (emulsion) in size [215]. However, dispersants or the aqueous solution itself only accelerate, but do not improve absorption. Thus, vitamin A in an "aqueous" solution raises the blood level 2 to 3 times more than vitamin A in oil, in spite of the fact that vitamin A is completely absorbed in both cases [44]. Thus, the rise in the blood vitamin A level after oral administration does not show the measure of absorption. It indicates merely that absorption has taken place and it has temporarily surpassed storage [44]. As, except in some diseases,** vitamin A is not excreted in the urine, the quantity of vitamin A absorbed corresponds to the amount ingested minus the quantity excreted in the faeces [126]. While adults absorb it completely [377], infants absorb only 2/3 of a dose of 35 000 I. U. in oil, as judged on the basis of faecal excretion [212, 216].

According to the original tolerance method of CHESNEY and McCOORD [65], vitamin A is determined in plasma or serum 4, 7 and 24 hours following the administration of 7000 I. U. of vitamin A (ester) per kg body weight. The vitamin A tolerance test has been widely used and the number of reported tests is great. Beside the ester, the alcoholic form of vitamin A has also been used, in different doses. The oral dose for adults varies from 50 000 [17] to 500 000 [212] I. U.,*** but there is no uniform standard for children,

* Adaptation studies cannot be made in infants.

** See the literature cited in the section dealing with vitamin A levels in atrophic infants.

*** For the details the reader should consult BICKNELL and PRESCOTT's book, *The Vitamins in Medicine* [44].

(25 000 to 50 000 I. U. [194], 5000 to 6000 I. U.) per Lb (0,45 kg) body weight ([212, 227 and 192 173], respectively). In infants 35 000 I. U. was administered in tolerance tests, irrespective of the actual body weight [212]. Bigger doses produce higher blood levels, but the shape of the curve remains practically the same [194]. Blood is taken at various points of time; more frequently during the first 6 to 8 hours following administration and less frequently later. Owing to the sharp rise caused by it, when an aqueous solution is administered the blood level should be estimated also after 2 hours. In general, the peak is reached in 3 to 6 hours. Then a decline follows, sharp for 8 hours and gradual later; after 24-hours the level is still higher than initially.

II. Experimental

Patient material

Oral vitamin A tolerance tests were performed in 12 infants, 7 atrophic and 5 normal. All the atrophic infants belonged to the group of decomposition (hypotrophy III). The clinical data for the decomposed babies are presented in Table I. The normal infants were kept in a nursery, fed a complete diet with sufficient vitamin A and C, and were under permanent medical supervision.

Procedure

Neither vitamin A, nor any other fat-soluble vitamin preparation was administered to the atrophic infants after admission, or to the normal ones until the time of the tolerance test. The dose of vitamin A (25 000 I. U./kg body weight, in 0,25 ml oil, as vehicle) was then administered by mouth. This dose was precisely measured, added to 2 to 3 g rice water, homogenized and added to about 30 ml of milk, in which it was homogenized again before being administered. Subsequently, the dish was washed with milk, and this was also given to the baby. In this way losses in solution and administration were eliminated. Vitamin A was determined in the sera from blood samples taken 4, 8 and 12 hours following administration. Blood taken 24 hours earlier, not sooner than 4 hours after the last meal, was considered to yield the initial level. This was done to avoid one more blood taking on the day of the test. After clotting, the serum was separated by centrifugation and tested without delay for vitamin A content. During the tolerance test the infants were fed the prescribed diet.

The values obtained after 4, 8 and 12 hours, as well as the size of the areas enclosed by the single tolerance curves have been tabulated (Table II).

Table I
Clinical data for infants belonging to the group of decomposition
Hypotrophy III (P_i = below 75)

No.	Experim. record No.	Date of test	Initials	Age, months	P_i or DQ	Infection				Dietary injury	Consti- tution	Condi- tion	Post-mortem diagnosis
						diar- rhoea	preced- ing	on admis- sion	other				
otitis	other	other	other										
1.	86	February, 1954	K. J.	1 ² / ₃	42/113	—	—	—	+	+	+	Exud.	
2.	112	June, 1954	L. L.	3	73/89	—	+	+	+	—	—	Neuropathy	
3.	80	January, 1954	Sch. K.	2	0,59	+	+	—	—	—	—	Rickets	
4.	81	January, 1954	T. J.	3	74/93	+	+	+	+	—	—	Anæmia	
5.	101	April, 1954	K. L.	3 ¹ / ₃	69/88	+	+	+	+	—	—	Developmental disorder	
6.	110		Sz. Gy.		0,64							Death	
7.	106	April, 1954	B. K.	11 ¹ / ₃	0,64	—	+	+	—	+	—		

Bronchiolitis and pulmonary atelectasis. Dilatation of the heart and parenchymatous myocardial degeneration. Cerebral oedema.

Table II

Vitamin A tolerance tests in decomposed (hypotrophy III) infants

No.	Experi-mental record No.	Date of testing	Initials	Vitamin A absorbed I. U./100 ml			Area enclosed by curve, square cm
				4 ^h	8 ^h	12 ^h	
1.	86	February, 1954	K. J.	380	159	205	12,7
2.	112	June, 1954	L. L.	268	115	43	8,2
3.	80	January, 1954	Sch. K.	60	74	32	3,0
4.	81	January, 1954	T. J.	203	78	61	6,1
5.	101	April, 1954	K. L.	159	124	108	6,3
6.	110	May, 1954	Sz. Gy.	288	93	99	7,5
7.	106	April, 1954	B. K.	473	305	219	9,0
				270	135	109	

$$\begin{array}{c} M=9,0 \text{ sq. cm} \\ \hline \sigma M=1,9 \\ S=1,0 \\ \hline \text{(related to the normal)} \end{array}$$

To facilitate evaluation, another curve (Fig. 9) has been constructed from the mean rises. The extent of the area enclosed by the curves have been computed as earlier described.

With the normal infants the procedure was the same. These results are shown in Table III, and the united results in a curve (Fig. 9).

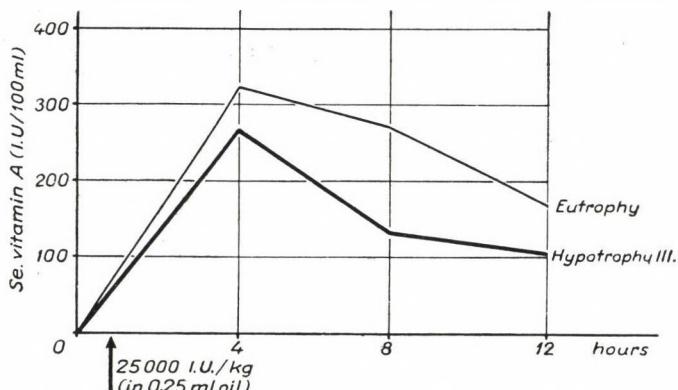


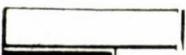
Fig. 9. Vitamin A tolerance tests in atrophic infants on the basis of the mean (M) increase in serum vitamin A (I. U./100 ml).

Table III
Vitamin A tolerance tests in normal infants

No.	Experim- ental record No.	Date of testing	Initials	Rise in vitamin A I. U./100 ml			Area enclosed by curve square cm
				4h	8h	12h	
1.	129	November, 1954	M. P.	191	205	244	12,6
2.	131	November, 1954	M. M.	199	107	98	6,9
3.	130	November, 1954	P. M.	262	178	54	9,2
4.	132	November, 1954	S. I.	358	223	74	10,7
5.	107/6	May, 1954	H. A.	616	631	347	28,8
				325	269	163	

$$M = 13,6 \text{ sq. cm}$$

$$\sigma M = 1,9$$

		M	σM	S	related to eutrophy
Eutrophy		13,6	1,9		
Hypotrophy III.		9,0	1,9	1,0	

 Not significantly lower

Fig. 10. Vitamin A tolerance tests in atrophic infants on the basis of the mean (M) size of the area enclosed by the curve (square cm)

Results and discussion

The data and curves obtained revealed that the tolerance curves of the decomposed infants ran slightly lower than those for the normal babies but the difference between the curves (or between the areas enclosed by them) was not significant. This means that in this serious stage of infantile atrophy the normal serum vitamin A level is associated with adequately filled vitamin A depots.

These results diverge from those obtained for vitamin E, another fat-soluble vitamin. The explanation has been outlined in the previous section.

Summary

Vitamin A tolerance tests have been made in 7 atrophic and 5 normal infants. All the atrophic babies belonged to the group of decomposition (hypotrophy III).

After oral administration of 25 000 I. U./kg body weight of vitamin A in 0,25 ml oil as vehicle vitamin A was estimated in the serum of blood samples taken after 4, 8 and 12 hours. From the mean values for the increase curves were plotted. The extent of the areas enclosed by the single tolerance curves was expressed in square cm.

The tolerance curves of the atrophic babies ran somewhat lower than those of the normal infants. The difference between the mean areas enclosed by the curves (13,6 square cm for the normal and 9 square cm for the decomposed infants) was not significant. These investigations confirm the view that the normal serum vitamin A level we have demonstrated to be present in this serious phase of atrophy is associated with adequately filled vitamin A depots.

Vitamin A metabolism in atrophic infants suffering from Leiner's erythrodermia

It has been pointed out that the atrophy in *Leiner's* disease is one of the special forms of infantile atrophy, one associated with disturbed fat absorption. It has been shown namely that together with cystic fibrosis of the pancreas and protein deficiency disease (kwashiorkor, "Mehlnährschaden", CZERNY) [370, 368], *Leiner's* disease [246, 247], also involves a disturbance in the exocrine function of the pancreas.

Although these forms of atrophy associated with an extreme reduction in fat absorption obviously involve a multiple vitamin deficiency, no exact data concerning *Leiner's* disease are available in the latter respect.* As far as vitamin A is concerned, this is the more astonishing, as xerophthalmia is not uncommon in *Leiner's* erythrodermia, skin changes are serious, and the infants suffering from the condition are extremely susceptible to infection, especially of the respiratory tract.

I. Survey of the literature

The serum vitamin A level in infants with *Leiner's* disease, or tolerance tests in such infants have not been discussed in the literature.

In grave kwashiorkor the serum carotene level was found low, mostly less than 10 per cent of the blood level in European children [261, 356]. Clinical signs (especially eye symptoms) have been described to occur [75, 6, 273]. The incidence of eye symptoms may attain 44 per cent [11] and in Mexico corneal dryness was revealed by the slit lamp in 90 per cent of the children

* Vitamin E metabolism in *Leiner's* disease has been discussed in a previous section.

suffering from kwashiorkor, whereas xerophthalmia associated with ulceration occurred in 7 per cent [273].

A report from the paediatric department in Kiel, Germany, described 30 cases of keratomalacia, as a complication of protein deficiency disease ("Mehlnährschaden", CZERNY [386]).

In general, avitaminosis A develops easier in infants than in children or adults. If we ignore such symptoms of avitaminosis A as may be due to other causes (for example retarded growth and a reduced resistance to infection), the main clinical symptoms of the deficiency will be xerophthalmia, hemeralopia and the specific dermatosis (keratosis).

Xerophthalmia develops easier in infants and young children than in older ones or adults. It develops at the most dramatic rate in infants [46]; it has been described to be present already at birth [237]. In India its incidence is higher among children under 5 years of age [393] and almost every case observed in Japan was less than 5 years old [242]. The cases of keratomalacia observed in Russia during the religious fast (Kursk, 1906) [238] occurred without exception in infants [315]. It is well-known that at the beginning of World War I in Denmark the incidence of infantile cases increased [47]. The incidence is the highest in infants aged from 6 to 12 months [71]. The blood of xerophthalmic children contain very little [85] or no vitamin A. In most cases of xerophthalmia there is also hemeralopia, only it passes unrecognized [71]. The incidence of hemeralopia is much higher among children, than among adults [45, 184, 169]. Low serum vitamin levels have been found in cases of keratosis of children [194].* Xerophthalmic infants are susceptible to skin infection [48].

Vitamin A deficiency may develop not only primarily (*i. e.* due to insufficient intake), but also secondarily, as a result of a disturbance in absorption, storage, in the conversion of carotene to vitamin A, or due to extreme loss. *Absorption* may be impaired by

1. a lack of pancreatic lipase (fibrosis of the pancreas);
2. a lack of bile salts (liver diseases : infectious hepatitis, congenital occlusion of the bile ducts, cirrhosis of the liver);
3. intestinal changes (sprue, coeliac disease, colitis, giardiasis). In these conditions the absorption of both the fats and vitamin A is impaired, because the absorption of vitamin A, like that of fats, is preceded by hydrolysis (by lytic enzymes), emulgeation (by the bile). Vitamin A is absorbed like fats, from the superior and medial section of the small intestine [44]. Thus, in fibrosis of the pancreas of infants and children the serum vitamin A level is low (8,4 I. U.)[17]. In premature infants there is a disturbance of the absorp-

* Others found normal values [59] or no correlation between the symptom and the serum vitamin A level [204].

tion of both fat and vitamin A [74]. In pancreatic fibrosis of infants and children the tolerance curves are quite flat [241, 239, 73, 212, 216, 240], but absorption may be accelerated by administration of pancreatic enzymes [71, 239, 73]. In pancreatic fibrosis the aqueous vitamin A solution is absorbed better than the oily solution in normal subjects [239, 212, 192]. In many cases not treated with vitamin A xerophthalmia develops [10]. In congenital aplasia of the bile ducts the tolerance curve indicates poor vitamin A absorption [240, 9]. In coeliac disease the serum vitamin A level is low (16,2 I. U.) [242], and the tolerance curves are flat [393, 242, 73, 192], or even indicate a total absence of absorption. In the coeliac syndrome the serum vitamin A level reflects the grade of steatorrhoea [238, 52]. In giardiasis the vitamin A tolerance curve is flat [174, 371].

II. Experimental

Patient material

The serum vitamin content was determined in 8 infants suffering from *Leiner's* erythrodermia. In 6 cases tolerance tests have also been made.

The 8 infants with *Leiner's* disease showed the following distribution as to grade of development :

eutrophic.....	1
dystrophic (hypotrophy I)	1
atrophic (hypotrophy II)	6

The clinical data concerning atrophy and *Leiner's* disease have been presented separately in Table I and Table II ; the latter shows also the grade of severity of *Leiner's* disease, ignoring that of atrophy.

The severity of *Leiner's* disease in the cases tested was as follows : severe, 6 cases ; moderately severe or mild, 2 cases. Four of the infants subjected to tolerance test had severe and 2 had moderately severe or mild *Leiner's* disease.

Method

Blood sampling and the tolerance test were carried out as already described.

The rises in the serum vitamin A level recorded after 4, 8 and 12 hours have been tabulated (Table IV). From the means a curve has been plotted (Fig. 12). The extent of the area enclosed by the single curves is also shown (in Table IV), expressed in square cm.

Table I
Clinical data for atrophy

No.	Experim. record No.	Date of test	Initials	Age, months	P _i or DQ	Infection				Dietary injury	Constitu- tion	Condi- tion	Post-mortem diagnosis				
						preced- ing		on admis- sion									
						diar- rhœa	other	otitis	other								
1.	114	June, 1954	R. G.	1	1,0	—	—	—	—	—	+	—	—				
2.	105	April, 1954	Z. M.	2 ¹ / ₃	80/97	—	—	—	—	—	+	—	+				
3.	113	June, 1954	F. I.	1 ¹ / ₃	81/101	—	—	+	—	—	—	—	—				
4.	115	June, 1954	L. M.	2	83/99	—	—	—	—	—	—	—	—				
5.	42	Jan., 1953	P. I.	1 ² / ₃	78/94	+	—	—	—	—	—	—	—				
6.	97	March, 1954	P. S.	1 ¹ / ₃	85/99	—	—	—	—	—	—	—	—				
7.	100	April, 1954	V. E.	2	0,86	—	—	—	—	—	—	—	—				
8.	111	May, 1954	T. A.	1	84/98	—	—	—	—	—	—	—	—				

Bronchopneumonia.
Catarrhal enteritis.
Cerebral oedema. Jaundice. Grave fatty degeneration of the liver.
Dilatation of the heart

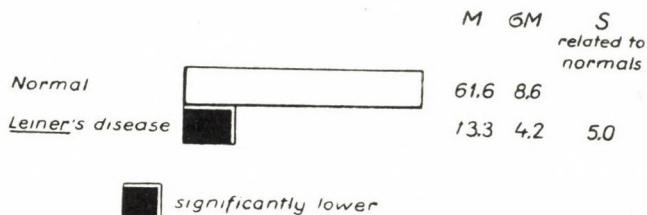


Fig. 11. Serum vitamin A levels in infants with *Leiner's* disease on the basis of the mean (M) value (I. U./100 ml)

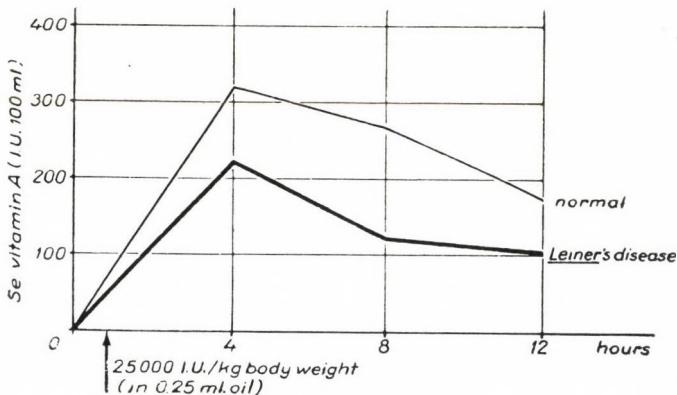


Fig. 12. Vitamin A tolerance tests on infants with *Leiner's* disease, on the basis of the mean rise (M) in the serum vitamin A level (I. U./100 ml)

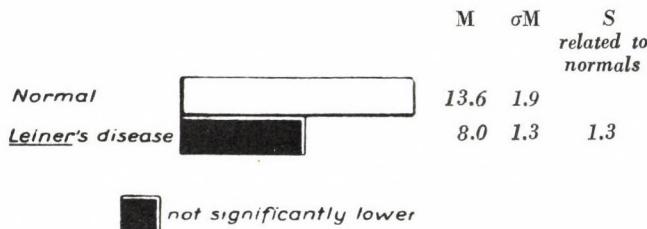


Fig. 13. Vitamin A tolerance tests in infants with *Leiner's* disease, on the basis of the mean size (M) of the area enclosed by the tolerance curves (square cm)

Results and discussion

As it can be seen in Table IV, the 8 infants with *Leiner's* disease had significantly less vitamin A ($M = 13.3$ I. U.) than the normal value we had determined ($M = 61$ I. U.) (Table III). None of the 8 infants with *Leiner's*

Table II
Clinical data for Leiner's disease

No.	Experimental record No.	Date of testing	Initials	Skin symptoms	Oedema	Serum protein %	Anaemia		Leucocytosis	Diarrhoea	Liver function			Duration of treatment days	Other	Severity of Leiner's disease	Outcome of disease	Post-mortem diagnosis
							Hb	RBC			Takata	Thymol	Se. bilirubin mg %					
1.	114	June, 1954	R. G.	marked	+	4,1	—	3,200 000	15,000	+	—	neg.	2	29	—	severe	recovery	Bronchopneumonia. Catarrhal enteritis. Cerebral oedema. Jaundice. Grave fatty degeneration of liver. Heart dilatation.
2.	105	June, 1954	Z. M.	marked	+	4,8	—	1,780 000	29,800	+	neg.	3	0,5	14	xerophthalm. hepatitis	severe	death	
3.	113	June, 1954	F. I.	moderate	—	4,6	—	3,480 000	12,000	—	1	neg.	below 0,5	57	—	moderate	recovery	
4.	115	June, 1954	L. M.	marked	+	4,9	—	3,000 000	13,400	+	—	—	—	41	—	severe	recovery	
5.	42	Jan., 1953	P. I.	marked	+	5,3	70	3,920 000	9,400	—	1	4	0,5	87	—	severe	recovery	
6.	97	March, 1954	P. S.	marked	—	5,1	—	3,800 000	7,200	—	neg.	1	—	56	—	severe	recovery	
7.	100	April, 1954	V. E.	marked	+	5,0	—	2,800 000	23,200	—	neg.	3	below 0,5	43	—	severe	recovery	
8.	111	May, 1954	T. A.	moderate	—	4,2	—	3,700 000	12,000	+	—	3	1,06	18	—	moderate	recovery	

Table III
Serum vitamin A levels in infants with Leiner's disease

No.	Experi-mental record No.	Date of testing		Initials	Serum vitamin A I. U./100 ml
1.	114	June,	1954	R. G.	Ø
2.	105	April,	1954	Z. M.	Ø
3.	113	June,	1954	F. I.	traces
4.	115	June,	1954	L. M.	traces
5.	42	Jan.,	1953	P. I.	15
6.	97	March,	1954	P. S.	21
7.	100	April,	1954	V. E.	25
8.	111	May,	1954	T. A.	46

$$\underline{M = 13,3 \text{ I. U.}}$$

$$\begin{array}{l} \sigma M = 4,2 \\ \underline{S = 5,0} \end{array}$$

(related to the normal)

Table IV
Vitamin A tolerance tests in infants with Leiner's disease

No.	Experi-mental record No.	Date of testing		Initials	Increase of se. vit. A I. U./100 ml			Area, square cm
					4 ^h	8 ^h	12 ^h	
1.	114	June,	1954	R. G.	217	100	113	7,4
3.	113	June,	1954	F. I.	140	76	36	4,8
4.	115	June,	1954	L. M.	210	109	102	7,4
6.	97	March,	1954	P. S.	212	151	103	6,7
7.	100	April,	1954	V. E.	163	113	113	7,8
8.	111	May,	1954	T. A.	446	191	166	14,3

$$\underline{231 \quad 123 \quad 105 \quad M = 8,0 \text{ sq. cm}}$$

$$\begin{array}{l} \sigma M = 1,3 \\ \underline{S = 1,3} \end{array}$$

(related to the normal)

disease reached the normal level.* In 4 cases the serum level was much lower than the normal, in 2 cases only traces and in 2 cases not even traces of vitamin A were present in the serum. One of the 2 patient completely lacking vitamin A had xerophthalmia.

The tolerance tests revealed that in *Leiner's* disease the vitamin A tolerance curves were flatter and the areas enclosed by them smaller ($M = 8,0$ square cm) than in the controls ($M = 13,6$ square cm), but neither difference was significant (Table IV).

An analysis of the vitamin A values and of the tolerance tests disclosed that in atrophic infants with *Leiner's* disease a depletion of tissue depots consequential to malabsorption is responsible for the low serum vitamin A level. Thus, these infants suffer from vitamin A deficiency.

Summary

In eight infants suffering from *Leiner's* disease the serum level of vitamin A has been estimated. Six of the infants were subjected to tolerance tests. Of the 8 infants 6 were atrophic (hypotrophy II), 1 was dystrophic (hypotrophy I) and 1 was "eutrophic". In 6 cases *Leiner's* disease was severe and in 2 it was moderately severe or mild.

As compared to the normal level we had determined ($M = 61$ I. U.), the infants with *Leiner's* disease showed significantly lower values ($M = 13,3$ I. U.). It was remarkable that the serum vitamin A level was not normal in any of the infants with *Leiner's* disease and in 4 cases either no vitamin A (one case exhibited xerophthalmia) or only traces of it were detected in the serum.

The results revealed that the vitamin A tolerance curves and the area enclosed by them were flatter and smaller, respectively, in *Leiner's* disease, than in normal infants, but the difference was not significant.

An analysis of the serum vitamin A values and the results of the tolerance tests revealed that in *Leiner's* disease a depletion of tissue depots due to impaired absorption is responsible for the low serum vitamin A level, i. e. in that condition vitamin A deficiency is present.

* In the chapter dealing with vitamin E metabolism in infants with *Leiner's* disease it has been stated that the low vitamin E level was correlated with *Leiner's* disease and its severity and not with atrophy and its grade. The vitamin A level ought therefore also to be discussed in the light of the severity of *Leiner's* disease. We have, however, not done so (in spite of the fact that 6 of the 8 infants tested had severe *Leiner's* disease), because the small number of cases did not justify such a procedure.

VITAMIN B₁**Vitamin B₁ tolerance tests in infantile atrophy***I. Survey of the literature*

Vitamin B₁ (and different members of the vitamin B complex) has been extensively studied in atrophic infants and also in the deficiency disease of adults due to starvation [158, 180]. The cases of atrophy investigated, however, were almost without exception of the oedematous type (*Leiner's disease*,* protein deficiency disease ("Mehlnährschaden", CZERNY; kwashiorkor) [356]. As far as we know, the non-oedematous, so-called "dry" forms of atrophy have not been studied systematically from the point of view of vitamin B₁ metabolism.

*II. Experimental**Patient material*

The vitamin B₁ tolerance tests involved 11 atrophic infants and, as the controls, 5 normal babies. The distribution of the atrophic infants, according to the severity of atrophy, was as follows :

Dystrophy (Hypotrophy I)	1
Atrophy (Hypotrophy II)	5
Decomposition (Hypotrophy III)	5

The clinical data for the atrophic babies have been tabulated (Table I).

The normal controls were most carefully selected from the material available and only those were subjected to tolerance tests whose development

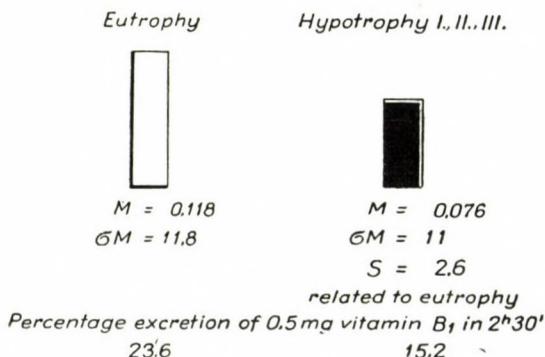


Fig. 14. Vitamin B₁ tolerance tests in atrophic infants (by the thiochrome method) on the basis of the mean total urinary excretion (M) of vitamin B₁ (mg)

* The pertaining literature has been discussed in one of the sections dealing with the vitamin metabolism of infants suffering from *Leiner's disease*.

was absolutely normal and who fulfilled all the other requirements of eutrophy.

The atrophic babies ranged in age from 3 to 12 months whereas the normals from $1\frac{2}{3}$ to $4\frac{1}{3}$ months.

Methods

Vitamin B₁ supply was studied by determining urinary excretion following a tolerance test [31]. According to the data in the literature, when the supply is normal the intramuscular injection of 0,5 mg of vitamin B₁ is followed by the appearance of at least 0,050 mg of aneurin in the urine collected for 4 hours.

Attempts have been made to develop a sufficiently precise procedure not causing severe strain in the atrophic infants.

First of all, the normal infants were subjected to the tolerance tests. They had been amply supplied with vitamin B₁ and vitamins A, D and C, being under constant medical supervision. On the day of the tolerance test the babies were given exclusively 100 or 200 ml tea. The initial value was obtained prior to the administration of the tolerance dose, which was 0,5 mg of vitamin B₁ intramuscularly. After the administration of this dose the urine was collected over several hours. After the test period had been completed the bladder was emptied by catheterization and the vitamin B₁ content of the pooled urine samples was determined by the thiochrome method [31]. The normal infants well supplied with vitamin B₁ excreted at least 0,118 mg of the 0,50 mg within $2\frac{1}{2}$ hours (Table II).

Table II
Vitamin B₁ excretion of normal infants

No.	Experi-mental record No.	Date of testing	Initials	Agemonths	P _i or DQ	Excretion, total	
						urine ml	vitamin B ₁ mg
1.	27	January 14, 1955	P. T.	$4\frac{1}{3}$	99/130	80	0,111
2.	28	January 14, 1955	M. G.	3	98/99	80	0,101
3.	32	February 18, 1955	T. A.	$3\frac{1}{3}$	105/89	77	0,085
4.	33	February 18, 1955	G. I.	$1\frac{2}{3}$	100/100	100	0,140
5.	34	February 18, 1955	F. T.	$2\frac{1}{3}$	98/108	120	0,148

$$\bar{M} = 0,118$$

$$\sigma M = 11,8$$

23,6 per cent of the 0,5 mg of vitamin B₁ injected intramuscularly was excreted in 2 hours and 30 minutes.

Table I
Clinical data for atrophic infants

Infection (in history)

Diarrhoea	1
Diarrhoea + furunculosis	1
Diarrhoea + pneumonia	1
Other : pneumonia	1
grippe	1
mastoiditis	1
	6

Infection (on admission)

Otitis	5
Otitis + furunculosis	1
Otitis + pneumonia	1
Otitis + grippe	1
Otitis + pneumonia + enteritis + abscess of the thigh	1
	9

* = RBC : 2 920 000

Infection (in history)

(In history)	
Diarrhoea	1
Diarrhoea + furunculosis	1
Other : Pneumonia	1
Otitis	1
	4

Infection (on admission)

Otitis	1
Otitis + enteritis	1
Otitis + enteritis + sepsis + absc. fem.	1
Other : grippe	1

* $\frac{1}{2}$ milk with saccharine

** Projectile vomiting since the age of two weeks
DSC 2-110-200

*** RBC : 3 140 000

The same procedure was carried out in the atrophic babies. Their vitamin B₁ supply was assessed by comparing the results obtained for the two groups.

Table III
Vitamin B₁ excretion of atrophic infants

No.	Experimental record No.	Date of testing	Initials	Excretion, total	
				urine, ml	vitamin B ₁ , mg
1.	10	December 14, 1954	K. St. K.	50	0,061
2.	19	December 23, 1954	K. Gy.	65	0,014
3.	20	December 23, 1954	J. M.	57	0,046
4.	12	December 16, 1954	G. Z.	142	0,073
5.	21	December 20, 1954	P. J.	270	0,108
6.	11	December 15, 1954	V. L.	210	0,084
7.	17	December 22, 1954	St. L.	47	0,106
8.	35	December 22, 1954	Zs. B.	45	0,044
9.	18	December 22, 1954	J. F.	60	0,054
10.	22	December 29, 1954	V. J.	147	0,112
11.	30	January 27, 1955	Sz. V.	74	0,137
				<u>M = 0,076</u>	
				<u>σM = 11,0</u>	
				<u>S = 2,6</u>	

15,2 per cent of the 0,5 mg of vitamin B₁ injected intramuscularly was excreted in 2 hours and 30 minutes.

Results

During the test period the normal infants excreted of the 0,5 mg of vitamin B₁ 0,118 mg and the atrophic infants 0,076 mg. Accordingly, vitamin B₁ retention was more marked in the atrophic than in the normal infants. However, statistical analysis showed this difference not to be significant. As the atrophic infants excreted much more than 0,050 mg of vitamin B₁, the level accepted as indicative of an adequate supply, was no vitamin B₁ deficiency in the atrophic infants. The small number of cases tested does not allow conclusions as to the correlation between the grade of severity of atrophy and the excretion of vitamin B₁.

Summary

To obtain reliable data, 11 infants with atrophy and 5 normal ones were subjected to vitamin B₁ tolerance tests under the same conditions and employing the same method. The atrophic infants showed the following distribution, according to the severity of atrophy :

Dystrophy (Hypotrophy I)	1
Atrophy (Hypotrophy II)	5
Decomposition (Hypotrophy III)	5

The amount of vitamin B₁ excreted in the urine collected for 1 1/2 hours after the intramuscular administration of 0,5 mg of vitamin B₁ was determined by the thiochrome method. The initial value was obtained prior to the administration of the test dose.

During the test period the normal infants excreted 0,118 of the 0,5 mg of vitamin B₁; the atrophic babies, 0,076 mg. Thus, the latter retained more vitamin B₁ than the former. Statistical analysis showed this difference to be not significant. In view of the fact that vitamin B₁ excretion exceeded the 0,050 mg value accepted as indicative of a sufficient supply, the atrophic infants had no vitamin B₁ deficiency. The small number of cases did not permit conclusions as to the correlation between the severity of atrophy and the amount of vitamin B₁ excreted.

VITAMIN C

Vitamin C tolerance tests in infantile atrophy

I. Survey of the literature

Systematic data on the vitamin C supply of atrophic infants are few.

No vitamin C deficiency occurred among the many atrophic babies during the siege of Budapest in 1944–1945 [368], nor among those in German-occupied Greece [69].

On the other hand, other authors, using different laboratory methods, demonstrated vitamin C deficiency in dystrophic [358, 244, 64] as well as in atrophic [64] infants.

Underdeveloped* infants excrete significantly less vitamin C than well-developed ones of the same age [167]. As judged from the 24-hour vitamin C excretion, even the mildly dystrophic infants show vitamin C defici-

* Premature infants retain about 50 per cent of the vitamin C administered [64]. The dose of vitamin C that must be administered to make vitamin C to appear in the previously vitamin C free urine is higher in infants than in children and significantly higher in children than in adults [222].

Table I
Clinical data for atrophic infants

No.	Experimental record No.	Date of testing	Initials	Age, months	P_i or DQ	Infection				Dietary injury		Constitution		Condition		Developmental disorder	Premature, twin birth	Death		
						Preceding		On admission		rough	moderate	exud.	Neuropathy	Rickets	Anaemia					
						Diarrhoea	Other	Otitis	Other											
Dystrophy (Hypotrophy I) $P_i = 97,5 - 85$																				
1.	10	December, 1954	K. St. K.	3	96/101	-	+	+	-	+	-	+	-	-	-	+	-			

Atrophy (Hypotrophy II) $P_i = 85 - 75$																	
2.	19	December, 1954	K. Gy.	12	78/83	+	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
3.	20	December, 1954	J. M.	7 ² / ₃	75/96	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-
4.	12	December, 1954	G. Z.	4 ² / ₃	78/87	-	+	+	-	-	-	+	-	+	-	-	-
5.	21	December, 1954	P. J.	9	85/98	-	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
6.	11	December, 1954	V. L.	12	77/98	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-

Infection (in history)	Infection (on admission)
diarrhea	1
diarrhea + pneumonia	1
pneumonia	1
grippe	1
	4
	3
otitis	1
otitis + pneumonia + enteritis	1
otitis + pneumonia + enteritis + abscess	1
on the thigh	1
	1

* Erythrocyte count 2 920 000

Intrauterine injury in cases Nos. 3 and 4.

Decomposition (Hypotrophy III) $P_i = \text{below } 75$																	
7.	17	December, 1954	St. L.	3 ² / ₃	62/100	+	+	+	+	-	-	+	-	-	+	**	-
8.	35	February, 1955	Zs. B.	5	70/91	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	prema-ture
9.	18	December, 1954	J. F.	3 ¹ / ₃	73/98	-	+	+	+	+*	-	+	-	+	-	+	-
10.	22	January, 1955	V. J.	6 ¹ / ₃	69/98	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11.	30	January, 1955	Sz. V.	4	68/93	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Infection (in history)	Infection (on admission)
diarrhea + furunculosis ...	1
pneumonia	1
otitis	1
	3
otitis	1
otitis + sepsis + enteritis + abscess	1
otitis + enteritis	1
	3

* Projectile vomiting from 2nd week on

** Erythrocyte count : 3 140 000

ency and those with severe dystrophy suffer from hypovitaminosis. The urine of atrophic babies contains only traces of vitamin C. Urinary vitamin C increases with the improvement of the disease and *vica versa* [365]. In the organs of dystrophic infants post-mortem examination revealed little vitamin C and there was a demonstrable parallelism between the severity of dystrophy and the vitamin C content of organs [366].

II. Experimental

Patient material

Vitamin C tolerance tests were made in 16 atrophic and 5 absolutely normal infants, using the latter as the controls. According to the severity of atrophy, the atrophic babies were grouped as follows.

Dystrophy (Hypotrophy I)	1
Atrophy (Hypotrophy II)	9
Decomposition (Hypotrophy III)	6

The clinical data for the atrophic babies can be found in Table I.

The normal babies were most carefully selected and only infants gaining weight excellently and fulfilling all other criteria of eutrophy were subjected to tolerance tests.

In age, the atrophic babies ranged from 3 to $18\frac{2}{3}$ months; the normal babies, from $2\frac{2}{3}$ to $4\frac{1}{3}$ months.

Procedure

According to the present view, the vitamin C supply can be best assessed by determining the urinary vitamin C output after the administration of a tolerance dose. The method is at the same time the one most reliable clinically [31].

Different methods have been recommended for the tolerance test. Generally, 1000 mg of vitamin C is administered intravenously [358, 244] and the vitamin C supply is estimated on the basis of the total urinary vitamin C output in 6, or even in 24 hours [8].

It has been generally accepted that if 40 per cent of the ingested vitamin C is excreted with the urine in 4—5 hours, the organism is sufficiently supplied with ascorbic acid [31].

The urinary excretion of vitamin C is influenced by renal function and may be altered by foods (proteins), drugs, infection and other factors [44].

We have endeavoured to develop a reliable method of assay not exposing the atrophic babies to great strain. The data thus obtained allowed to con-

clude to the measure to which the atrophic infants had been supplied with vitamin C.

First of all, the normal infants were subjected to tolerance tests. These infants were well-supplied with both vitamin C and other vitamins (A, D, B₁), being under constant medical control. Four hours after the last meal 1000 mg of vitamin C was administered intravenously. During the test period only tea was given. Urine was for several hours collected by means of a catheter.

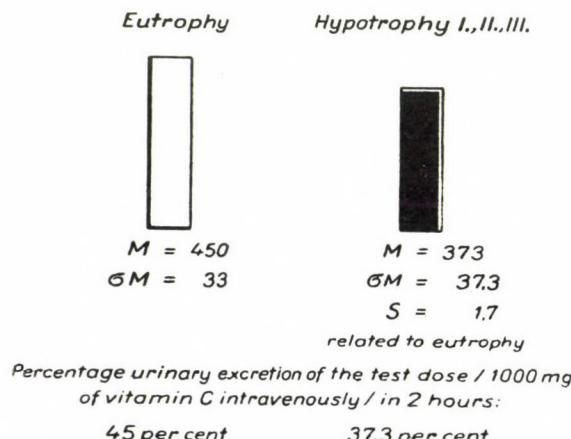


Fig. 15. Vitamin C tolerance tests (by the dichlorphenol-indolphenol method) in infantile atrophy, assessed on the basis of the mean (M) total urinary vitamin C output (mg)

The initial value was obtained from urine collected by catheterization before injecting vitamin C. The single urine portions were acidified with acetic acid (to a concentration of 10 per cent) and vitamin C was determined by means of dichlorphenol-indolphenol [31]. It has been found that the normal infants well-supplied with vitamin C excreted at least 45 per cent of the administered quantity within 2 hours. (Table II.)

The same procedure was carried out with the atrophic infants. Urine was collected for 2 hours and at the end of the test period the bladder was emptied by catheterization. To avoid loss due to breakdown, the 1-hour sample was also tested for vitamin C content. Vitamin C supply in the atrophic infants was assessed by comparing the results obtained for the two groups.

Results

A comparative analysis of the results of vitamin C tolerance tests (Table III) revealed that the atrophic infants excreted about 37 per cent of the administered quantity of vitamin C, *i. e.* slightly less than the normal babies.

Table II
Urinary vitamin C output of normal infants

No.	Experi-mental record No.	Date of testing	Initials	Age months	P _t or DQ	Total output	
						urine ml	vitamin C mg
1.	25	January 12, 1955	M. G.	3	98/99	130	377
2.	26	January 12, 1955	P. T.	4 ¹ / ₃	99/130	90	493
3.	37	February 25, 1955	T. A.	3 ² / ₃	112/95	61	450
4.	38	February 25, 1955	G. I.	2	98/100	56	380
5.	39	February 25, 1955	F. T.	2 ² / ₃	101/104	99	550

$$\bar{M} = 450 \text{ mg}$$

$$\sigma M = 33,0$$

45 per cent of the total amount injected (1000 mg of vitamin C intravenously) was excreted in 2 hours.

Table III
Urinary vitamin C output of atrophic infants

No.	Experimental record No.	Date of testing	Initials	Total output	
				urine ml	vitamin C mg
1.	8	December 7, 1954	K. St. K.	33	164
2.	2	October 14, 1954	T. L.	100	565
3.	4	November 20, 1954	H. E.	68	399
4.	16	December 21, 1954	K. Gy.	152	560
5.	15	December 21, 1954	J. M.	60	476
6.	7	December 7, 1954	G. Z.	21	354
7.	23	January 4, 1955	P. J.	190	330
8.	9	December 13, 1954	V. L.	134	485
9.	3	October 27, 1954	N. M.	51	235
10.	5	November 22, 1954	E. J.	265	385
11.	6	November 23, 1954	G. E.	50	400
12.	13	December 20, 1954	St. L.	114	331
13.	36	February 24, 1955	Zs. B.	27	297
14.	14	December 20, 1954	J. F.	102	106
15.	24	January 4, 1955	V. I.	97	444
16.	29	January 25, 1955	Sz. V.	62	444

$$\bar{M} = 373 \text{ mg}$$

$$\sigma M = 37,3$$

$$S = 1,7$$

37,3 per cent of the total amount injected (1000 mg of vitamin C intravenously) was excreted in 2 hours.

The difference was not statistically significant. When, however, the cases were studied one by one, it was found that in 6 of the 16 atrophic infants urinary excretion amounted to only 34 per cent of the injected amount and values of 10 to 16 per cent also occurred.

On this basis it seems that slight hypovitaminosis C (or in some cases, a considerable deficiency) occurs in infantile atrophy.

The number of cases was too small to allow conclusions as to the correlation between the severity of atrophy and urinary vitamin C output in the tolerance test.

Summary

Vitamin C tolerance tests have been made in 16 cases of infantile atrophy and 5 normal infants, using the latter as the controls. The distribution of atrophic infants according to the severity of atrophy was as follows:

Dystrophy (Hypotrophy I)	1
Atrophy (Hypotrophy II)	9
Decomposition (Hypotrophy III)	6

The method of examination was identical in every case. Urinary vitamin C output was estimated 1 and 2 hours after the intravenous administration of 1000 mg of vitamin C, titrating with dichlorphenol-indophenol in a 10 per cent acetic acid medium. The initial level was estimated in a sample of urine obtained before the administration of vitamin C.

The normal infants excreted an average of 450 mg from the 1000 mg injected, *i. e.* 45 per cent; the atrophic babies, 373 mg (37.3 per cent). The difference between the two groups was not significant, but it was still concluded that slight hypovitaminosis C or in some cases, a considerable vitamin C deficiency may occur in infantile atrophy. The number of cases tested was too small to allow conclusions as to a correlation between the severity of atrophy and the urinary vitamin C output.

Acknowledgements

Authors commemorate with gratitude the late Dr. L. WESZELSKY, former Director of the Nursery of the 8th District Council, Budapest, and express their thanks to his successor, Chief Physician Dr. I. MAGYARI, as well as to Head Nurse M. IVÁN for making possible to perform control tests in normal infants.

SUMMARY

Vitamin metabolism in infantile atrophy

The fact that infantile atrophy still plays a significant role in infant mortality in Hungary, lends importance to studies concerned with the condition.

Infantile atrophy is a syndrome not uniform in either aetiology or pathophysiology. For this reason, investigations concerned with it must be extended to all aspects of the problem. Thus far, the metabolism of proteins, carbohydrates and fats has been the subject of investigation. The vitamins have not been studied from this respect and pertaining evidence is lacking. Most data for starvation concern adults, and these findings cannot be applied without restriction to infantile atrophy. Reliable chemical determination of the single vitamins could not be found in the voluminous literature on the subject.

In the present investigations we sought the answers to the following questions. Does a vitamin deficiency occur in infantile atrophy and, if so, what is its measure and in which stage does it develop? Is the deficiency of some vitamin characteristic of a certain stage of infantile atrophy or is it only a persistent complication of certain special forms of the condition?

The metabolism of vitamins E, A, B₁ and C has been investigated in nearly 200 atrophic and normal infants. The studies had to be carried out with the utmost care, because

(i) normal data for infants were not available for each vitamin. For example, in the case of vitamin E we had to determine those peculiar to Hungary;

(ii) tolerance tests had to be performed and for this reason we had to develop micromethods for vitamins E and A, allowing the assay of small volumes of blood;

(iii) when appraising the grade of severity of atrophy we had to be most cautious. The use of the so-called developmental index (DQ) was discarded, because it might have led to serious error. Instead, we have employed the paedimetric index (P_i) method of SIMKÓ. This is based on the sounder principle of "loss of weight", *i. e.* the percentage difference in weight as compared to the weight of an eutrophic infant of the same body length;

(iv) great significance was ascribed to a detailed analysis of the development of atrophy. In view of the dominant role played by the infection factor, infected, but eutrophic infants were also used as controls.

Vitamin E

The serum vitamin E level in atrophic infants decreased with the severity of atrophy. In infants belonging to the group of hypotrophy II, it was practically the same as in the eutrophic babies. In group III, subgroup III/1 it was much lower, but not significantly so, while it was significantly lower in the infants with a P_i of less than 65, *i. e.* in subgroup III/2. In 10 of the 20 cases in that last group the value was below 100 micrograms. In 2 cases only traces, and in 1 case not even traces, of vitamin E were present in the

serum. Such low values have not been described to occur in diseases not associated with a disturbance of fat absorption. Thus, in the gravest cases of infantile atrophy, the vitamin E supply is very poor. That this is in correlation with atrophy and not with infection, it was shown by the vitamin E level in the infected but eutrophic infants. This was much lower than in the healthy eutrophic babies, although the difference was only probably significant. The incidence of rough dietary injury was the same in the different groups. An analysis of our material may justify us to claim that a rough dietary injury, too, may effect the serum vitamin E level, which, however, is correlated first of all with the severity of atrophy already present. What then actually accounted for the low blood level?

The tolerance test curves for the eutrophic, and for the eutrophic but acutely ill infants were parallel, while the curve for the decomposed infants ran at a much higher level. In this group the rise in the serum vitamin E level after 8 hours was also more marked and so was the area enclosed by the curve. The process indicated by the tolerance curve can be divided into two part-processes of opposite direction. The one, indicated by the ascending branch of the curve, is the absorption of vitamin E from the intestines. The other, indicated by the descending branch, is the flow of vitamin E into tissues, where it is utilized, stored and split. The rate of either process may greatly vary. The curve obtained shows that the absorption of vitamin E is unimpaired in decomposition and the rate of absorption is at least comparable to that in eutrophic infants. In contrast with this, the second part-process is slowed down considerably. This explains why in decomposition there was more tocopherol in the serum than in eutrophic babies. Such a high concentration may result only if the second part process is slowed down with the first remaining unaffected. The possible causes of the reduced rate of flow are : *a*) storage of vitamin E in tissues is retarded or impaired (wasting of fat) ; *b*) utilization, particularly in the muscles, is minimal (reduced motility, marked muscle wasting) ; *c*) cellular anoxia, resulting in a slow breakdown of vitamin E in tissues.

Vitamin A

The serum vitamin A level of decomposed infants was found to be practically the same as that of eutrophic babies. Even the subdivision of group III failed to demonstrate any substantial difference. Thus, on the basis of the serum vitamin A level, even the most severely decomposed infants were excellently supplied with vitamin A. This is apparently in contradiction with the finding that in grave atrophy there is a marked deficiency of vitamin E, another fat-soluble vitamin. As the infants tested for vitamin A and vitamin E had about the same history and as in several patients in whose serum both vitamins were determined the same difference was revealed, the satis-

factory vitamin A supply, as appraised from the normal blood level, is suggested to be ascribable to the following factors.

(i) The vitamin A requirement of the decomposed infant decreases presumably parallel with the loss of weight. (In contrast with this, the light-weight and young organism requires much vitamin E.)

(ii) Vitamin A is stored practically only in the liver, the weight of which organ is less reduced than that of the fat tissue. (In contrast with this, vitamin E is stored almost exclusively in fat tissue, so that there is, practically, no storage in the nearly completely de-fatted decomposed body.)

(iii) In Hungary, some foods containing much provitamin A are very popular. Vitamin A supply may be satisfactory even with caloric starvation. (On the other hand, baby foods — especially in case of artificial nutrition or alimentary error, — may contain so little vitamin E that deficiency may develop.)

The tolerance curve for the decomposed infants ran somewhat lower than that for the normal ones, though the difference was not significant. Thus, it could be confirmed that in this grave state of infantile atrophy the blood level of vitamin A being normal, the vitamin A depots are adequately filled.

Vitamin B₁

Athrophic infants retained more of the vitamin B₁ administered than normal babies, but the difference was not significant. Considering that the excretion of vitamin B₁ surpassed the quantity generally accepted as indicative or adequate supply, the occurrence in infantile atrophy of vitamin B₁ deficiency was excluded.

Vitamin C

Vitamin C excretion in urine was not significantly less in atrophic infants than in normal babies. It was assumed that slight hypovitaminosis C, or, in some cases, marked vitamin C deficiency may occur in infantile atrophy.

Vitamin metabolism in atrophic infants suffering from Leiner's erythrodermia

When investigating the metabolism of vitamins (especially of the fat-soluble ones) in atrophic infants, atrophy in *Leiner's* disease should be examined separately. This is justified by the fact that *Leiner's* disease is one of the forms of infantile atrophy associated with pathological fat metabolism. To this group belong the cystic fibrosis of the pancreas, atrophy due to a

congenital bile duct aplasia, the so-called protein deficiency disease ("Mehl-nährschaden", CZERNY kwashiorkor). *Leiner's* disease has many features (fatty degeneration of the liver, hypoproteinaemia, oedema) in common with the last two conditions and Hungarian authors have shown that both in protein deficiency disease and *Leiner's* disease pancreatic function is impaired. Although these forms of atrophy associated with a severe impairment of fat metabolism are obviously involving multiple vitamin deficiencies, exact studies concerning vitamin E and vitamin A in *Leiner's* disease have not been made. This is the more astonishing since in *Leiner's* disease xerophthalmia is not uncommon, dermal lesions are severe and there is an extreme susceptibility to infection, especially of the respiratory tract.

Our investigations involved nearly 40 cases. The patient material has been analysed separately on the basis of clinical severity, independently of the grade development, taking into account all the cardinal symptoms and pathophysiological features. Although it had been suspected that the vitamin supply of atrophic infants with *Leiner's* disease is determined primarily by the disease and secondarily only by the consequential atrophy, we have grouped our cases also according to the severity of atrophy. To obtain reliable information about the share of *Leiner's* disease and of atrophy in the changes demonstrated, the investigations have been extended to so-called eutrophic infants suffering from *Leiner's* disease. For the sake of comparison, with atrophy associated with a disturbance of fat metabolism due to causes other than *Leiner's* disease, atrophic infants suffering from jaundice due to congenital bile duct aplasia have been investigated.

Vitamin E

As compared to the serum vitamin E level observed in normal infants, (i) the serum vitamin E levels in infants with *Leiner's* disease and grade I, II, or III atrophy did not markedly differ;

(ii) serum vitamin E was markedly less in the "eutrophic" group with *Leiner's* disease than in the atrophic group and the former group exhibited a significant difference from the normals;

(iii) in all infants with *Leiner's* disease, including those with grade I, II and III atrophy and also in the "eutrophic" ones the serum vitamin E level was low and the difference was significant;

(iv) the serum vitamin E level was significantly lower in grave *Leiner's* disease, whereas in moderately severe cases the difference was not significant.

In 24 per cent of the patients with *Leiner's* disease the serum contained no, or only traces, of vitamin E, and in 50 per cent the serum level was below 100 micrograms.

Compared to the tolerance values yielded by normals infants and as judged by the extent of the area enclosed by the tolerance curve,

(i) the cases of severe *Leiner's* disease showed a significant difference (flat curve), whereas

(ii) the moderate ones did not.

A comparative analysis of the serum levels and of the results of tolerance tests showed unequivocally that there exists no correlation between the severity of atrophy and the serum vitamin E level. The low level of vitamin E in serum is correlated with *Leiner's* disease and its severity and not with the atrophy and its severity.

Vitamin E deficiency in these cases is believed to be due to

a) a poor absorption of vitamin E (fat absorption is impaired as a result of the lack of lipolytic enzymes); therefore

b) the vitamin E depots of the body are completely depleted;

c) the tissues storing vitamin E are wasted (progressive wasting of fat tissue and damage to the other important depot organ, the liver);

d) as a result, the serum contains less vitamin E level than normal or, in extremely grave cases, none of it;

e) exposing the infants in that conditions to the tolerance test, it will be obvious why the curve is flat: owing to poor absorption only minute amounts of the test dose reach the blood and even those amounts are rapidly absorbed by the depleted tissues. As a result of the depletion of vitamin E depots, the vitamin will flow from the blood into the tissues at a rate exceeding the normal. This explains why the curves show hardly any rise.

Thus, in grave *Leiner's* disease the impaired absorption of vitamin E and the depletion of the depots leads to real deficiency. Our investigations have thus contributed information to the problem of avitaminosis E in man.

Finally, the obvious hypothesis which presents itself is as follows. In *Leiner's* disease there is a disturbance in the pancreatic and hepatic systems, owing to protein deficiency. The correlation with vitamin E deficiency may be sought for in the fact that, as it has been demonstrated by a Hungarian author, cystine is greatly reduced in the blood of the infant with *Leiner's* disease and in the milk of its mother, and it is also known that vitamin E can substitute methionine and cystine in their effect of preventing liver damage.

Vitamin A

In *Leiner's* disease the serum vitamin A level was significantly lower than in the normal infants.

In none of the sera from infants with *Leiner's* disease was the vitamin A level normal. In 4 cases vitamin A was either totally lacking (one of these cases exhibited xerophthalmia) or only traces of it were present.

Tolerance tests in infants suffering from *Leiner's* disease yielded values lower than normal. This was shown both by the curves and by the area enclosed by the curves. The difference however, was not significant.

An analysis of the serum values and of the results of tolerance tests revealed that in infants suffering from *Leiner's* disease the low vitamin A content was due to a depletion of tissue depots resulting from poor absorption. Thus, vitamin A deficiency occurs in *Leiner's* disease.

REFERENCES

1. ABDERHALDEN, R.: Schweiz. med. Wschr. **76**, 196 (1946).
2. ABDERHALDEN, R.: Schweiz. med. Wschr. **75**, 281 (1945).
3. ABDERHALDEN, R.: Int. Z. Vitaminforsch. **16**, 309 (1945).
4. ABDERHALDEN, R.: Biochem. Z. **318**, 47 (1947).
5. Accessory Food Factors Committee: Vitamin A Sub-Committee Med. Res. Coun. Spec. Rep. Ser. N° 264, H. M. Stat. Off. London, 194.
6. ACHAR, S. T.—BENJAMIN, V.: Indian J. Child Health. **2**, 1 (1953).
7. ADAMSON, J. D.—JOLLIFFE, N.—KRUSE, H. D.—LOWRY, O. H.—MOORE, P. E.—PLATT, B. S.—SEBRELL, W. H.—TICE, J. W.—TISDALE, F. F.—WILDER, R. H.—ZAMECNÍK, P. C.: Canad. med. Ass. J. **52**, 227 (1945).
8. ALTMAN, B. M.: Klin. Med. **12**, 78 (1949).
9. ALTSCHULE, M. D.: Arch. Path. **20**, 845 (1935).
10. ANDERSEN, D. H.: Brennemann's Practice of Pediatrics. W. F. Prior, Hagerstown, 1951.
11. ANDERSON, R. K.—MILAM, D. F.: J. Nutr. **30**, 11 (1945).
12. ANT, M.—APPLETON, H. D.: Med. Record. **162**, 12 (1949).
13. ANT, M.: N. Y. St. J. Med. **45**, 1861 (1945).
14. Annotated Bibliography of Vitamin E, Vol. I (1940—1950); II (1950—51); III (1952—1953). VII). The National Vitamin Foundation, New York.
15. APPLEBAUM, A.: Calif. Med. **77**, 259 (1952).
16. ARIZ ELCARTE, A.: Acta pediatr. esp. **8**, 1161 (1950).
17. ARON, H. C. S.: Amer. J. Dis. Child. **77**, 763 (1949).
18. ARON, H. C. S. et al.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **61**, 271 (1946).
19. ATHANASSIU, G.: Zbl. Gynäk. **69**, 92 (1947).
20. ATHANASSIU, G.: Klin. Wschr. **24**—**5**, 362 (1947).
21. ATHANASSIU, G.: Klin. Wschr. **24**, 170 (1946).
22. BALOGH, E.: cit. L. RADEK, M.—KÁDÁS, L.: Gyermekgyógyászat **3**, 213 (1952).
23. BARTA, L.: Orv. Hetil. **90**, 119 (1949).
24. BARTA, L.—GYENGÉSI, L.: Paediat. Danub. **4**, 246 (1948).
25. BARTA, L.—GYENGÉSI, L.: Orv. Hetil. **90**, 86 (1949).
26. BARTA, L.—LUKÁCS, V. F.: Gyermekgyógyászat **2**, 289 (1951). Ann. paediat. (Basel) **179**, 91 (1952).
27. BARTA, L.—MOLNÁR, A.: Gyermekgyógyászat **3**, 364 (1952).
28. BARTA, L.—KOCSIS, M.: A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép, Budapest 1956.
29. BARTA, L.—VINCE, I.—MOLNÁR, A.: Gyermekgyógyászat **3**, 341 (1952).
30. BARTA, L.—NÉMETH, E.—RUPNIK, É.: Orv. Hetil. **94**, 1267 (1953).
31. BÁLINT, P.: Klinikai laboratóriumi diagnosztika. Egészségügyi Kiadó. Budapest. 1952.
32. BECKMAN, R.—BILLICH, R.—MARTIN, H. A. F.: Zbl. Gynäk. **74**, 888 (1952).
33. BECKMAN, R.: Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch. **7**, 153 (1955).
34. BENCZE, B.: A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép, Budapest. 1956.
35. BENCZE, B.: In the press.
36. BENCZE, B.: Magyar Chemiai Folyóirat. **9**, 257 (1954). — Acta Physiol. Szeged. **12**, 37 (1957).
37. BENCZE, B.: Kémikusok Lapja. **5**, 87 (1944).
38. BENCZE, B.: Hoppe-Seyl. Z. physiol. Chem. **282**, 152 (1947).
39. BENCZE, B.—GERLÓCZY, F.—MALÍK, T.—UGRAY, M.: A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép. Budapest 1956.
40. BENNHOLDT-THOMSEN, C.: Klin. Wschr. **19**, 102 (1940).
41. BENSLEY, E. H.—FOWLER, A. F.—CREAGHAN, M. V.—MOORE, B. A.—McDONALD E. K.: J. Nutr. **40**, 323 (1950).

42. BERTRAM, F.: Dtsch. med. Wschr. **73**, 36 (1948). — **73**, 68 (1948).
43. BHATTACHARYA, S.—SEN, P. C.: Ann. Biochem. exp. Med. **5**, 117 (1945).
44. BICKNELL, F.—PRESOTT, F.: The Vitamins in Medicine. Heinemann. London 1953.
45. BIRNBACHER, T.: Münch. med. Wschr. **75**, 1114 (1928).
46. BLEGVAD, O.: Amer. J. Ophthal. **7**, 89 (1924).
47. BLOCH, C. E.: J. Hyg. **19**, 301 (1920—21).
48. BLOCH, C. E.: Amer. J. Dis. Child. **42**, 263 (1931).
49. BOMSKOV, C.—KAULLA, K. N.: Klin. Wschr. **20**, 334 (1941).
50. BOTTIROLI, E.: Bol. Soc. Obstet. Ginec. B.-Aires **24**, 14 (1945).
51. BRAGDON, J. H.—LEVINE, H. D.: Amer. J. Path. **25**, 265 (1949).
52. BREESE, B. B. JR.—MC COORD, A. B.: J. Pediat. **15**, 183 (1939).
53. BROCK, J.: Biologische Daten für den Kinderarzt, Springer. Berlin. 1954.
54. BURGESS, J. F.—PRITCHARD, J. E.: Canad. med. Ass. J. **59**, 242 (1948).
55. BUTTURINI, U.: G. Clin. med. **27**, 400 (1946).
56. BUTTURINI, U.: Klin. Wschr. **21**, 609 (1942).
57. BYRN, J. N.—EASTMAN, N. J.: Bull. Johns Hopk. Hosp. **73**, 132 (1943).
58. Цацкиз, Е. Н.: Журн. Невропат. и псих. **53**, 799 (1953).
59. CARLETON, A.—STEVEN, D.: Arch. Derm. Syph. **48**, 143 (1943).
60. CARPENTER, L. E.—LUNDBERG, W. O.: Proc. 2nd Vit. E Conference, New York, 1949.
61. CASCIO, G.: G. ital. Oftal. **5**, 423 (1952).
62. CATTANEO, P.—MARIANI, A.: R. C. Ist. sup. Sanità **13**, 424 (1950).
63. CERVELATTI, L.—MASSEI, M.: Acta Vitamin (Milano) **4**, 197 (1950).
64. CHEMI, F.: Riv. Clin. Pediat. (Bologna) **40**, 239 (1942).
65. CHESNEY, J.—MC COORD, A. B.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **31**, 887 (1934).
66. CHEVALLIER, A.: cit. Bigwood, E. J.: Enseignements de la guerre 1939—1945 dans le domaine de la nutrition. Masson, Paris. 1947.
67. CHEVREL, M. L.—BELTAN, M.—CORMIER, M.: C. R. Soc. Biol. **145**, 1633 (1951).
68. CHIEFFI, M.—KIRK, J. E.: J. Geront. **6**, 17 (1951).
69. CHOREMIS, C.: Trans. 6th Internat. Cong. Ped. Zurich. 1950.
70. CIMBAL, W.: Hippokrates, **22**, 481 (1951).
71. CLAUSEN, S. W.—JOLLIFFE, N.—TISDALL, F. F.—CANNON, P. R.: Clinical Nutrition. Hoeber. New York. 1950.
72. CLAUSEN, S. W.—MC COORD, A. B.: J. Pediat. **13**, 635 (1938).
73. CLAUSEN, S. W., et al.: Fed. Proc. **5**, 129 (1946).
74. CLIFFORD, S. H.—WELLER, K. F.: Pediatrics. **1**, 505 (1948).
75. CONESA, E. G.—CAZANAS, D.: Bol. Soc. cubana Pediat. **10**, 100 (1938).
76. CORMIER, M.: Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) **30**, 921 (1938).
77. CORNFELD, D.—COOKE, R. F.: Pediatrics. **10**, 33 (1952).
78. COUPERUS, J.: Ned. T. Geneesk. **87**, 541 (1943).
79. COUPERUS, J.: Z. Vitaminforsch. **13**, 193 (1943).
80. DAM, H.—GLAVIND, J.: Nature (Lond.) **142**, 1077 (1938).
81. DAM, H.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **55**, 55 (1944).
82. DARBY, W. J.—CHERRINGTON, M. E.—RUFFIN, J. M.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **63**, 310 (1946).
83. DARBY, W. J.—FERGUSON, M. E.—FURMAN, R. H.—LEMLEY, J. M.—BALL, C. T.—MANEELY, G. R.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 328 (1949).
84. DEAN, R. F. A.—SCHWARTZ, R.: Courier **4**, 293 (1954).
85. DE HAAS, J. H.—MEULEMANS, O.: Lancet. 1110 (1938).
86. DE MATTEIS, F.—MARENZANA, C.: Minerva med. **43**, 1152 (1952).
87. DESSYLLA: Riv. Clin. pediat. **28**, 292 (1930).
88. DJU, M. Y.—MASON, K. E.—FILER, L. J.: Études néonat. **1**, 49 (1952).
89. DJU, M. Y.—MASON, K. E.—FILER, L. J. JR.: Proc. 3rd Vit. E Conference. Venice, Italy 1955.
90. D'OLIVEIRA, E. J.: Thesis Amsterdam, p. 81 (1942).
91. Домбровская:цит. Степанова, А. А.: Вопр. Педиат. **19**, 17 (1951).
92. DOTTI, F.—LEONI, R.: G. clin. Med. **35**, 179 (1954).
93. DOWD, G. C.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 419 (1949).
94. DUMONT, L.—LAMBRECHT, A.: cit. BRULL, L.: Les états de carence en Belgique pendant l'occupation allemande 1940—1944. Liège. 1945.
95. Editorial: Brit. med. J. **1**, 943 (1949).
96. EMMERIE, A.—ENGEL, C.: Z. Vitaminforsch. **13**, 259 (1943).
97. ENGEL, C.: Thesis, Hyg. Inst. Univ. Utrecht. 1941.
98. ENGEL, C.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 292 (1949).

99. ENGEL, C.: Proc. 2nd Vit. E Conference. New York. 1949.
100. EPPSTEIN, S. H.—MORGULIS, S.: J. Nutr. **22**, 415 (1941).
101. FERNÁNDEZ FLORES, E.—JOHNSON, M.—VALLEDOR, P.: Rev. cubana Pediat. **21**, 222 (1949).
102. FILER, L. J.—WRIGHT, S. W.—MANNING, M. P.—MASON, K. E.: Pediatrics. **8**, 328 (1951).
103. FILER, N. J.—RUMERY, R. E.—YU, N. G.—MASON, K. E.: Proc. 2nd Vit. E Conference. New York, 1949.
104. FORSECA, E. CASTRO : Rev. esp. Pediat. **1**, 646 (1945).
105. FORSYTH, G.: Med. J. Aust. **1**, 78 (1941).
106. FRANK, K.—MOLNÁR, S.: A Leiner kór szerepe a sorvadásban. A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép. Budapest. 1956.
107. FRANK, K.: Orv. Hetil. **93**, 1483 (1952).
108. FRANK, K.: Ann. paediat. (Basel) **180**, 172 (1953).
109. FRANK, K.: Orv. Hetil. **94**, 784 (1953).
110. FRANK, K.: Meeting of the Hungarian Dermatological Society Budapest, 1954.
111. GATZ, A. S.—HOUCHIN, O. B.; Anat. Rec. **97**, 337 (1946).
112. GEFFERTH, K.: A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép. Budapest. 1956.
113. GEGESI KISS, P.: A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép. Budapest. 1956.
114. GEGESI KISS, P.: Gyermekgyógyászat **1**, 33 (1955). — Schweiz. med. Wschr. **82**, 387 (1952).
115. GERLÓCZY, F.—BENCZE, B.—SZÉNÁSSY, J.—KUNCZ, D.: Orv. Hetil. **92**, 174 (1951). — Acta med. (Szeged) **2**, 413 (1951). — Experientia (Basel) **7**, 427 (1951).
116. GERLÓCZY, F.: Orv. Hetil. **91**, 1191 (1950).
117. GERLÓCZY, F.: Paediat. danub. **5**, 169 (1949).
118. GERLÓCZY, F.: Experientia (Basel) **5**, 252 (1949).
119. GERLÓCZY, F.—NÁVORI, C.: Paediat. danub. **2**, 266 (1947). Erratum, Paediat. danub. **3**, 58 (1948).
120. GERLÓCZY, F.: Ann. paediat. (Basel) **173**, 171 (1949).
121. GERLÓCZY, F.: Paediat. danub. **6**, 83 (1949).
122. GERLÓCZY, F.—BENCZE, B.—MALIK, T.—UGRAY, M.: A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép. Budapest, 1956.
123. GLANZMANN, E.: Einführung in die Kinderheilkunde. Springer. Wien 1951.
124. GLAVIND, J.—HARTMANN, S.—CLEMMESSEN, J.—JESSEN, K. E.—DAM, H.: Acta path. mikrobiol. scand. **30**, 1 (1952).
125. GOETTSCH, M.—PAPPENHEIMER, A. M.: J. Nutr. **22**, 463 (1941).
126. GOLDSMITH, G. A.: JOLLIFFE, N.—TISDALE, F. F.—CANNON, P. R.: Clinical Nutrition. Hoeber. New York. 1950.
127. GORDON, H. H.—DE METRY, J. P.: Proc. Soc. exp. Biol. **79**, 446 (1952).
128. GORDON, H. H.—DE METRY, J. P.—CSAPÓ, G.: Amer. J. Dis. Child. **84**, 472 (1952).
129. GOSS, H.—GUILBERT, H. R.: J. Nutr. **18**, 177 (1939).
130. GOVIER, W. M.—GANZ, V.—GRELIS, M. E.: J. Pharmacol. **88**, 373 (1946).
131. GREEN: Proc. 3rd Vit. E Conference. Venice, Italy 1955.
132. GUILBERT, H. R. et al.: J. Nutr. **19**, 91 (1940).
133. GUILBERT, H. R.—MILLER, R. F.—HUGHES, E. H.: J. Nutr. **13**, 543 (1937).
134. GULLICKSON, T. W.—CALVERLEY, C. E.: Science **104**, 312 (1946).
135. GUTIÉRREZ, A. J.: Rev. clin. esp. **8**, 422 (1943).
136. GUZMÁN, M.—SCHRIMSHAW, N. S.: Fed. Proc. **11**, 445 (1952).
137. GYÖRGY, P.—COGAN, G. M.—ROSE, C. S.: Amer. J. Dis. Child. **82**, 237 (1951).
138. GYÖRGY, P.—COGAN, G.—ROSE, C. S.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **81**, 536 (1952).
139. GYÖRGY, P.: J. Biol. Chem. **131**, 733 (1939).
140. GYÖRGY, P.—GOLDBLATT, H.: J. exp. Med. **70**, 185 (1939) and **89**, 245 (1949).
141. HAIG, C.—PATEK, A. J.: J. clin. Invest. **21**, 309 (1942).
142. HARRIS, A. D.—MOORE, T.: Brit. med. J. 553 (1947).
143. HARRIS, P. L.—HICKMAN, K. C. D.—JENSEN, J. L.—SPIES, T. D.: Amer. J. publ. Hlth. **36**, 155 (1946).
144. HARRIS, P. L.—QUAIFE, M. L.—O'GRADY, P.: J. Nutr. **46**, 459 (1952).
145. HARRIS, P. L.—SWANSON, W. J.—HICKMAN, K. C. D.: J. Nutr. **33**, 411 (1947).
146. HARRIS, P. L.—QUAIFE, M. L.—SWANSON, W. J.: J. Nutr. **40**, 367 (1950).
147. HARRIS, P. L.—QUAIFE, M. L.—SWANSON, W. J.: J. Nutr. **40**, 367 (1950).
148. HERBRAND, M.—JAEGER, K. H.: Wien. Med. Wschr. **90**, 946 (1940).
149. HICKMAN, K. C. D.: Vitamin E in Medicine. Record of Chemical Progress. **9**, 104 (1948).
150. HICKMAN, K. C. D.—HARRIS, P. L.: Advances in Enzymology. Interscience, New York. 1946.

151. HICKMAN, K. C. D.: *Lancet* **1**, 652 (1948).
152. HICKMAN, K. C. D.—KALEY, M. W.—HARRIS, P. L.: *J. biol. Chem.* **152**, 321 (1944).
153. HILDEBRANDT, A.: *Z. Vitamin-, Hormon- u. Fermentforsch.* **48**, 39 (1951).
154. HILLMAN, R. W.—NERB, I.—HERTZ, H.: *Summary*. **8**, 45 (1956).
155. HIMSWORTH, H. P.—LINDAN, O.: *Nature (Lond.)* **163**, 30 (1949).
156. HOLMAN, R. L.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **66**, 307 (1947).
- 156/a HOMOLKA, J.—RIMAN, J.: *Paediat. danub.* **6**, 181 (1949).
157. HOTTINGER, A.: *Ann. paediat. (Basel)* **156**, 129 (1941).
158. HOTTINGER, A.—GSELL, O.—UEHLINGER, E.—SALZMAN, C.—LABHARDT, A.: *Hungerkrankheit, Hungeroedem, Hungertuberkulose*. Schwabe, Basel. 1948.
159. HOUCHEIN, O. B.—SMITH, P. W.: *Amer. J. Physiol.* **141**, 242 (1944).
160. HOUCHEIN, O. B.—MATTILL, H. A.: *J. Biol. Chem.* **146**, 301 (1942). *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **50**, 216 (1942).
161. HOVE, E. L.: *Amer. J. Clin. Nutr.* **3**, 328 (1955).
162. HOVE, E. L.—HICKMAN, K. C. D.—HARRIS, P. L.: *Arch. Biochem.* **8**, 395 (1945).
163. HOVE, E. L.: *Arch. Biochem.* **17**, 467 (1948).
164. HOVE, E. L.—HARRIS, P. L.: *J. Nutr.* **34**, 571 (1947).
165. HOAGLAND, C. L.: *Rapp. Congr. internat. chimie biol. Liège*. 1946.
166. HOAGLAND, P. L.: cit. *BIGWOOD, E. J.*: *Enseignements de la guerre 1939—1945 dans le domaine de la nutrition*, Masson, Paris, 1947.
167. INGLESSI, E.—AFENDAKI, A.: *Riv. Clin. pediat.* **38**, 217 (1940).
- 167/a IVÁDY, Gy.: *Gyermekekgyógyászat* **5**, 353 (1954).
168. JEANS, P. C.: *J. Amer. diet. Ass.* **25**, 13 (1949).
169. JOACHIMOGLU, G.—LOGARAS, G.: *Dtsch. med. Wschr.* **59**, 1043 (1933).
170. JOSEPH, H. W.: *Amer. J. Dis. Child.* **65**, 712 (1943).
171. KAY, J. H.—HUTTON, S. B.—WEISS, G. N.—OCHSNER, A.: *Surgery*. **28**, 124 (1950).
172. KAY, J. H.—BALLA, G.—HUTTON, S. B.—OCHSNER, A.: *New Orleans med. surg. J.* **103**, 116 (1950).
173. KAGAN, B. M.—THOMAS, E. M.—JORDAN, D. A.—ABT, A. F.: *J. clin. Invest.* **29**, 141 (1950).
174. KATSAMPES, C. P.—MCCOORD, A. B.—PHILLIPS, W. A.: *Amer. J. Dis. Child.* **67**, 189 (1944).
175. KELLER, W.: *Z. Kinderheilk.* **64**, 339 (1947).
176. KELLER, W.: *Kinderärztl. Prax.* **15**, 105 (1944).
177. KEMÉNY, T.—VÉGHÉLYI, P.—SÓS, J.: *Kísérl. Orvostud.* **1**, 111 (1949).
178. KERPEL-FRONIUS, Ö.—VARGA, E.: *A csecsemőkori sorvadás*. Egészségügyi Kiadó, Budapest. 1953.
179. KERPEL-FRONIUS, Ö.: *A csecsemőkori sorvadás kérdései*. Művelt Nép. Budapest, 1956.
180. KEYS, A.—BROZEK, J.—HENSCHEL, A.—MIKKELSEN, O.—TAYLOR, H.: *The Biology of Human Starvation*. Minnesota Press. Minneapolis. 1950.
181. Кибардин, Ш. А.: *Вопр. Педиат.* **16**, 39 (1948).
182. KINSEY, V. E.—CHISHOLM, J. F. Jr.: *Amer. J. Ophthal.* **34**, 1259 (1951).
183. KIRK, J. E.—CHIEFFI, M.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **80**, 565 (1952).
184. KIRWAN, E. O.—SEN, K.—BOSE, N.: *Indian J. med. Res.* **31**, 49 (1943).
185. KLATSKIN, G.—MOLANDER, D. W.: *Science*. **114**, 483 (1951).
186. KLATSKIN, G.—MOLANDER, D. W.: *J. clin. Invest.* **31**, 159 (1952).
187. KLATSKIN, G.—KREHL, W. A.: *J. clin. Invest.* **29**, 828 (1950).
188. KLATSKIN, G.—KREHL, W. A.: *J. clin. Invest.* **29**, 1528 (1950).
189. KLATSKIN, G.—MOLANDER, D. W.: *J. Lab. clin. Med.* **39**, 802 (1952).
190. KOFLER, M.: *Helv. chim. Acta*. **26**, 2166 (1943).
- 190/a. KRAMÁR, J.—BLAZSÓ, S.: cit. Balló, T.: *Bud. Orv. Ujs.* **41**, 241 (1943).
191. KRAMER, M.: *Int. Z. Vitaminforsch.* **26**, 58 (1955).
192. KRAMER, B.—SOBEL, A. E.—GOTTFRIED, S. P.: *Amer. J. Dis. Child.* **73**, 543 (1947).
193. KRAUSE, A. C.: *Amer. J. Ophthal.* **34**, 1003 (1951).
194. KRAUSE, R. F.—PIERCE, H. B.: *J. Nutr.* **33**, 633 (1947).
195. Кречмер, В. В.—Баяндина, С. А.: *Педиатрия*. **6**, 12 (1948).
196. KRUKOVSKY, V. N.—WHITING, F.—LOOSLI, J. K.: *J. Dairy Sci.* **33**, 791 (1950).
197. KULIN, L.: *A csecsemőkori sorvadás kérdései*. Művelt Nép, Budapest, 1956.
198. LAMBERT, N. H.: *Vet. Rec.* **59**, 355 (1947).
199. LA MOTTE, W. O., Jr.: *Arch. Ophthal.* **47**, 556 (1952).
200. LA MOTTE, W. O., Jr.—TYNOR, G. S.: *Amer. J. Ophthal.* **33**, 1925 (1950).
201. LAROCHE, G.: *Les oedèmes par déséquilibre alimentaire*. Paris. 1942.
202. LAWRIE, N. R.—MOORE, T.—RAJAGOPALI, K. R.: *Biochem. J.* **35**, 825 (1941).

203. LEITNER, Z. A.—MOORE, T.—SHARMAN, I. M.: *Brit. J. Nutr.* **6**, 10 (1952).
204. LEITNER, Z. A.—MOORE, T.: *Lancet* **51**, 262 (1946).
205. LEMLEY, J. M.—GALE, R. G.—FURMAN, R. H.—CHERRINGTON, M. E.—MENEELY, G. R.: *Fed. Proc.* **7**, 274 (1948).
206. LEMLEY, J. M.—GALE, R. G.—FURMAN, R. H.—CHERRINGTON, M. E.—DARBY, W. J.—MENEELY, G. R.: *Amer. Heart J.* **37**, 1029 (1949).
207. LENGYEL, F.—PÓLYA, I.: *A csecsemőkori sorvadás kérdései*. Művelt Nép. Budapest, 1956.
208. LEONE, A.—SULIS, E.: *Ann. Ital. Pediat.* **6**, 1 (1953).
209. LEVINE: *Symposium on Infant Metabolism. Panel on Tocopherols*. World Health Organisation Leyden, 1950.
210. Левин, Ш. Л.: Ленинградский научно—медицинский Институт имени Павлова. р 64/1944.
211. LEWIS, J. M.—BODANSKY, O.—SHAPIRO, L. M.: *Amer. J. Dis. Child.* **66**, 503 (1943).
212. LEWIS, J. M.—BODANSKY, O.—BIRMINGHAM, J.—COHLAN, S. Q.: *J. Pediat.* **31**, 496 (1947).
213. LEWIS, J. M.—HAIG, C.: *J. Pediat.* **16**, 285 (1940).
214. LEWIS, J. M.—BODANSKY, O.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **52**, 265 (1943).
215. LEWIS, J. M.—COHLANS, Q.—MESSINA, A.: *Pediatrics* **8**, 425 (1950).
216. LEWIS, J. M.—COHLAN, S. Q.: *Pediatrics* **9**, 589 (1952).
217. LEYTON, G. B.: *Lancet* **2**, 73 (1946).
218. LIECK, H.—WILLSTAEDT, H.: *Sven. Kem. Tidn.* **57**, 134 (1945).
219. L. RADEK, M.—SZIGETHY, Gy.—MESTER, A.: *A csecsemőkori sorvadás kérdései*. Művelt Nép. Budapest, 1956.
220. LUND, C. J.—KIMBLE, M. S.: *Amer. J. Obstet. Gynec.* **46**, 207 (1943).
221. MADSEN, L. L.: *J. Nutr.* **11**, 471 (1936).
222. MAGER, E.: *Arch. Kinderheilk.* **116**, 12 (1939).
223. MALLURET-WALLERAND: *Bull. Soc. Franc. Derm. Syph.* **58**, 338 (1951).
224. MANTERO, O.—RINDI, B.: *Osped. maggiore* **38**, 297 (1950).
225. MARTIN, A. J. P.—MOORE, T.: *J. Hyg.* **39**, 643 (1939).
226. MARTIN, G. J.—FAUST, F. B.: *Exp. Med. Surg.* **5**, 455 (1947).
227. MASI, A.: *Riv. Clin. pediat.* **48**, 161 (1950).
228. MASON, K. E.—BRYAN, W. L.: *J. Nutr.* **20**, 501 (1940).
229. MASON, K. E.—EMMEL, A. E.: *Anat. Rec.* **92**, 33 (1945).
230. MASON, K. E.—TELFORD, I. L.: *Arch. Path. (Chicago)* **43**, 363 (1947).
231. MASON, K. E.: *Essays in Biology*. Berkeley. **400**, 1943.
232. MASON, K. E.: 3rd Vit. E Conference, Venice, Italy. cit. Shute, E. V.: *Summary* **7**, 59 (1955).
233. MASON, K. E.—DJU, M. Y.—FILER, L. J., Jr.: *Fed. Proc.* **11**, 449 (1952).
234. MASON, K. E.—DJU, M. Y.: *Nutrition Symposium Series*. National Vitamin Foundation. New York **7**, 1 (1953).
235. MATET, A.—MATET, J.—FRIEDENSON, O.: *C. R. Soc. Biol. (Paris)* **143**, 235 (1949).
236. MAYER, M. B.: *J. Amer. med. Ass.* **74**, 934 (1920).
237. MAXWELL, J. P.: *J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp.* **39**, 764 (1932).
238. MAY, C. D.—MCCREARY, J. F.: *J. Pediat.* **18**, 200 (1941).
239. MAY, C. D.—LOWE, C. U.: *J. clin. Invest.* **27**, 226 (1948).
240. MAY, C. D.—BLACKFAN, K. D.—MCCREARY, J. F.—ALLEN, F. H. Jr.: *Amer. J. Dis. Child.* **59**, 1167 (1940).
241. McCOORD, A. B.—KATSAMPES, C. P.—LAVENDER, C. F.—MARTIN, J. F.—ULSTROM, R. A.—TULLY, R. H.—KEENAN, A. J.: *Pediatrics*, **2**, 652 (1948).
242. MCCREARY, J. F.—TISDALE, F. F.: *Brennemann's Practice of Pediatrics*. Prior, Hagerstown, 1952.
243. DJU, M. Y.—MASON, K. E.—FILER, L. J., Jr.: Proc. 3rd Vit. E Conference. Venice, Italy. 1955.
244. MENEGHELLO, J.—RUBIO, S.—UNDURRAGA, O.—HASBUN, J.: *Rev. chil. Pediat.* **19**, 72 (1948).
245. MENSCHIK: Proc. 3rd Vit. E Conference. Venice, Italy. 1955. cit. Shute, E. V., *Summary* **7**, 59 (1955).
246. MESTER, A.: *Gyermekgyógyászat* **2**, 294 (1951).
247. MESTER, A.—L. RADEK, M.—KÁDAS, L.: *Gyermekgyógyászat* **3**, 213 (1952).
248. MEUNIER, P.—VINET, A.—JOUANNETEAU, J.: *Bull. Soc. Chim. biol.* **24**, 507 (1947).
249. MEYER, K. A.: *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **49**, 589 (1942).
250. MINKOWSKI, A.—NEUMANN, J.—CAILLEBOTTE, N.: *Neonat. Studies* **2**, 33 (1953).
251. MINKOWSKI, A.: *Arch. Franc. Pediat.* **6**, 276 (1949).

252. MINKOWSKI, A.: Symposium on Infants Metabolism. Panel on Tocopherols. World Health Organisation. Leyden. 1950.
253. MINKOWSKI, A.: Sang. **32**, 701 (1951).
254. MINKOWSKI, A.: Ann. paediat. (Basel) **174**, 80 (1950).
255. MINKOWSKI, A.—VENES, M. L.: Arch. Franc. Pédiat. **5**, 133 (1948).
256. MINKOWSKI, A.—VENES, M. L.: Arch. Franc. Pédiat. **5**, 135 (1948).
257. MINOT, A. S.—FRANK, H. E.: Amer J. Dis. Child. **67**, 371 (1944).
258. MOORE, T.—WANG, Y. L.: Brit. J. Nutr. **1**, 53 (1947).
259. MOORE, T.: Proc. Nutr. Soc. **12**, 121 (1953).
260. MOORE, T.—SHARMAN, I. M.: Brit. J. Nutr. **5**, 119 (1951).
261. MÓRITZ, D.: cit. BALLÓ, T.: Bud. Orv. Ujs. **41**, 241 (1943).
262. MOYER, W. T.: Pediatrics **6**, 893 (1950).
263. MOYER, W. T.: Nutr. Rev. **8**, 116 (1950).
264. MUSSelman, M. M.: War Med. (Chicago) **8**, 325 (1945).
265. NEUWEILER, W.: Z. Vitaminforsch. **21**, 83 (1949).
266. NEUWEILER, W.: Z. Vitaminforsch. **20**, 108 (1948).
267. NIEDNER, A. B.—CONNOR JOHNSON, B.: Proc. 3rd Vit. E Conference. Venice, Italy. 1955.
268. Note in Brit. Med. J. **2**, 562 (1946).
269. NUSSBAUMER: Med. Klin. **44**, 636 (1948).
270. NYLUND, C. E.—WITH, T. K.: Vitam. and Horm. **2**, 125 (1942).
271. OLcott, H. S.—MATILL, H. A.: J. Biol. Chem. **104**, 423 (1934).
272. OWENS, W. C.—OWENS, E. U.: Amer. J. Ophthal. **32**, 1631 (1949).
273. PAGOLA, J. G.: Trans. 5. Congr. Ass. Int. Pediat. Acta Pediat. **36**, 329 (1943).
274. PAPPENHEIMER, A. M.—VICTOR, J.: Amer. J. Path. **22**, 395 (1946).
275. PAUL, R. M.—LEWIS, J. A.—DE LUCA, H. A.: Canad. J. Biochem. Physiol. **32**, 347 (1954).
276. PERCIVAL, L.: Summary **3**, 55 (1951).
277. POLLACK, H.: in JOLLIFFE, N.—TISDALL, F. F.—CANNON, P. R.: Clinical Nutrition. Hoeber. New York 1950.
278. POMERANZ, J.—LUCARELLO, R. J.: J. Lab. clin. Med. **42**, 701 (1953).
279. POPPER, H.—DUBIN, A.—STEIGMANN, F.—HESSER, F. P.: J. Lab. clin. Med. **34**, 648 (1949).
280. POPPER, H.—STEIGMANN, F.—MEYER, K. A.—LEVIN, S. S.: Arch. intern. Med. **72**, 439—460 (1943).
281. POPPER, H.—STEIGMANN, F.—DUBIN, A.—DYNIEWICZ, H. A.—HESSER, F. P.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **68**, 676—686 (1948).
282. POPPER, H. et al.: J. clin. Invest. **22**, 775 (1943).
283. PORCELLI, T.: Pediatría **60**, 56 (1952).
284. PRANGE, L.: Klin. Wschr. **340**, 194 (1941).
285. PROSPERI, P.: Acad. Med. Fisica Florentin. Mar. **10**, 1949.
286. PROSPERI, P.: Riv. Clin. pediat. **50**, 38 (1952).
287. QUAIFE, M. L.—HARRIS, P. L.: J. biol. Chem. **156**, 499 (1944).
288. QUAIFE, M. L.—SWANSON, W. J.—DJU, M. Y.—HARRIS, P. L.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 300 (1949).
289. QUAIFE, M. L.: J. biol. Chem. **169**, 513 (1947).
290. QUAIFE, M. L.—HARRIS, P. L.: Industr. Engng. Chem. **18**, 707 (1946).
291. QUAIFE, M. L.: Ann. Rev. Biochem. **23**, 223 (1954).
292. QUAIFE, M. L.—HARRIS, P. L.: Ann. Rev. Biochem. **16**, 348 (1947).
293. QUAIFE, M. L.—DJU, M. Y.: J. Biol. Chem. **180**, 263 (1949).
294. QUAIFE, M. L.—HARRIS, P. L.: Anal. Chem. **20**, 1221 (1948).
295. RAFSKY M. A.—NEWMANN, B.: Geriatrics **4**, 358 (1949).
296. RAURAMO, L.: Acta Obstet. Gynecol. **24**, 193 (1944).
297. RAURAMO, L.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 322 (1949).
298. REESE, A. B.—BLODI, F. C.: Amer. J. Ophthal. **34**, 1 (1951).
299. RÉVÉSZ, K.—VINCE, I.—MOLNÁR, A.: Gyermekgyógyászat **4**, 20 (1953).
300. RICOTTI, O.: Boll. dell. O. P. Poliambulanze "Giuseppe Ronzoni" **16**, N°. 2 (1942).
301. ROBECHI, E.: Minerva med. (Torino) **2**, 274 (1940).
302. ROBINSON, W. D.—JANNEY, J. H.—GRANDE, F. C.: J. Nutr. **24**, 557 (1942).
303. ROBINSON, W. D.—JANNEY, J. H.—GRANDE, F. C.: J. Pediat. **20**, 723 (1942).
304. ROCA, F. J.: Ann. Soc. Puericult. **6**, 47 (1940).
305. ROCHE: cit. HOTTINGER, A.—GSELL, O.—UEHLINGER, E.—SALZMAN, C.—LABHART, A.: Hungerkrankheit, Hungeroedem, Hungertuberkulose. Schwabe. Basel. 1948
306. ROSE, C. S.—GYÖRGY, P.: Amer. J. Physiol. **168**, 414 (1952).

307. ROSINSKY, D. E.: Med. Klin. **38**, 843 (1942).
308. SALMI, L.—MARTONI, L.: Clin. Pediat. (Bologna) **32**, 628 (1950).
309. SAMAGAW, E.: Gaz. med. port. **2**, 995 (1949).
310. SAMILSON, R. L.: Arch. Pediat. **68**, 79 (1951).
311. SAMILSON, R. L.: Nutr. Rev. **9**, 336 (1951).
312. SAPUTO, V.: Atti Congr. Ital. Pediat. 356 (1941).
313. SARMA, A. V. S.: Antiseptic. **46**, 428 (1949).
314. SCARDINO, P. L.—HUDSON, P. B.: Proc. 2nd Vit. E Conference. New York. 1949.
315. SCHIELE, A.: Wschr. Ther. Hyg. Auges. **11**, 101 (1906).
316. SCHMIDT, G. W.: Arch. Kinderheilk. **138**, 178 (1950).
317. SCHWARZ, K.: Proc. 2nd Vit. E Conference. New York. 1949.
318. SCHWARZ, K.: Z. physiol. Chem. **281**, 101, 109 (1944).
319. SCHWARZ, K.—CHERNICK, S. S.—RODNAN, G. P.—MOE, J. G.—MERTZ, W.: Proc. 3rd Vit. E Conference. Venezia, Italy. 1955.
320. SCHWARZ, K.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **57**, 878 (1954).
321. SCRIMSHAW, N. S.—GREER, R. B.—GOODLAND R. L.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **52**, 312 (1949).
322. SEBRELL, W. H. JR.—HARRIS, R. S.: The Vitamins. Chemistry, Physiology, Pathology. Academic Press, New York. 1954.
323. SEIFERT: Beitr. path. Anat. **114**, 1 (1954).
324. SHUTE, W. E.—SHUTE, E. V.: Alpha Tocopherol in Cardiovascular Disease. Ryerson Press Toronto, 1954.
325. SHUTE, E. V.: Urol. cutan. Rev. **51**, 732 (1946).
326. SHUTE, W. E.—SHUTE, E. V.: Summary. **1**, 47 (1949).
- 326/a. SHUTE, W. E.—SHUTE, E. V.: Summary. **2**, 3 (1950).
327. SHUTE, E. V.—VOGELSANG, A. B.—SKELTON, F. R.—SHUTE, W. E.: Surg. Gynec. Obstet. **86**, 1 (1948).
328. SHUTE, E. V.: Proc. 2nd Vit. E Conference. New York. 1949.
329. Silva Nunes Bol. Clin. Estat. Hosp. Civis Lisboa **6**, 25 (1945).
330. SIMKÓ, I.: Gyermekgyógyászat. **5**, 377 (1954).
331. SIMKÓ, I.: Népegészségügy. **15**, 577 (1951).
332. SIMKÓ, S.: Schweiz. Med. Wschr. **83**, 492 (1953).
333. SIMON, E. J.—MILHORAT, A. T.: Proc. 3rd Vit. E Conference. Venezia, Italy. 1955.
334. SÓS, J.: Therapia Hungarica. 2 (1955).
- 334/a. SÓS, J.: Magyar Néptáplálkozástan. Budapest. Magy. Orvosi Könyvkiadó Társ. Budapest, 1942.
335. SPAULDING, M. E.—GRAHAM, W. D.: J. biol. Chem. **170**, 711 (1947).
336. SPECTOR, S.—McKHANN, F.—MESERVE, E. R.: Amer. J. Dis. Child. **66**, 376 (1943).
337. STÄHLER, F.: Ther. d. Gegenw. 433 (1941).
338. STEINBERG, C. L.: Med. Clin. N. Amer. **30**, 221 (1946).
339. STEPP, W.—KÜHNAU, J.—SCHRÖDER, H.: Die Vitamine und ihre klinische Anwendung. Enke. Stuttgart. 1944.
340. STOCK, C. CH.—REILLY, H. C.—BUCKLEY, S. M.—CLARKE, D. A.—RHOADS, C. P.: Nature. **173**, 71 (1954).
341. STONE, S.: Arch. Pediat. **66**, 189 (1949).
342. STOUT, G.—GUZMÁN, M.—SCRIMSHAW, N. S.: Amer. J. Syph. **36**, 49 (1952).
343. STRAUMFJORD, J. V.—QUAIFE, M. L.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **61**, 369 (1946).
344. ŠVEJCÁR, J.—HOMOLKA, J.: Ann. paediat. (Basel) **174**, 175 (1950).
345. SZÉKELY, Á.—VOLTAY, B.: A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép. Budapest. 1956.
346. TAKÁTS, I.—SZÉNÁSY, J.: Gyermekgyógyászat **4**, 29 (1953).
347. TAKÁTS, I.: Arch. Kinderheilk. **122**, 48 (1941).
348. TAPPEL, A. L.: Biochim. biophys. Acta **54**, 266 (1955).
349. TELFORD, I. R.—WISWELL, O. B.—SMITH, E. L.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **87**, 162 (1945).
350. TELFORD, I. R.—WISWELL, O. B.—SMITH, E. L.—CLARK, R. T., JR.—TOMASEFFSKI, J. F.—CRISCUOLO, D.: Air University School of Aviation Medicine, Project No. 21—1201—0013. Report No. 4, 1954.
351. TEN BERGE, B. S.—POLAK, R.: Summary. **5**, 89 (1953).
352. TEN BERGE, B. S.—VAN ASSEN, F. J. J.: Progr. méd. (Paris) **77**, 511, 515 (1949).
353. TEN BERGE, B. S.: Ned. T. Geneesk. **94**, 3417 (1950).
- 353/a. THÉLIN, F.: Ann. paediat. (Basel) **172**, 193 (1949).
354. The Summary. Shute Foundation. London. Canada.

355. THORBJARNASON, T.—DRUMMOND, J. C.: Biochem. J. **32**, 5 (1938).
356. TROWELL, H. C.—DAVIES, J. N. P.—DEAN, R. F. A.: *Kwashiorkor*. Arnold. London. 1954.
- 356/a. TROWELL, H. C.—MOORE, T.—SHARMAN, I. M.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **57**, 734 (1954).
357. TVERDY, G.—FROELICH, A. L.—FIERENS, B.: Acta gastro-ent. belg. **12**, 221 (1949).
358. TÖRÖK, G.—NEUFELD, L.: Klin. Wschr. **13**, 1816 (1934).
359. TUSINI; cit. FERRERO, V.: Lancet **2**, 579 (1949).
360. VARANGOT, J.—CHAILLEY, H.—RIEUX, N.: C. R. Soc. Biol. (Paris) **137**, 210 (1943).
361. VARANGOT, J.: C. R. Acad. Sci. (Paris) **214**, 691 (1942).
362. VARANGOT, J.—CHAILLEY, H.—RIEUX, N.: C. R. Soc. Biol. (Paris) **137**, 393 (1943).
363. VARANGOT, J.—CHAILLEY, H.—RIEUX, N.: C. R. Soc. Biol. (Paris) **138**, 24 (1944).
364. VAZQUEZ, H. J.: Arch. argent. Pediat. **28**, 233 (1947).
365. ВЕКСЛЕР, Г. И.: Педиатрия 18 (1940).
366. ВЕКСЛЕР, Г. И.: Педиатрия 35 (1940).
367. VÉGHELYI, P.: Gyermekgyógyászat **4**, 257 (1953).
368. VÉGHELYI, P.: Ann. paediat. (Basel) **175**, 349 (1950).
369. VÉGHELYI, P.—KEMÉNY, T.—SÓS, J.—POZSONYI, J.: Amer. J. Dis. Child. **79**, 658 (1950).
370. VÉGHELYI, P. V.: Trans. 5th Internat. Congr. Pediat., Acta Paed. **36**, 483 (1948).
371. VÉGHELYI, P. V.—LÁNCOS, F. J.: Amer. J. Dis. Child. **78**, 257 (1949).
372. VINCE, I.—RÉVÉSZ, K.—MOLNÁR, A.: Gyermekgyógyászat **2**, 363 (1951).
373. VINET, A.—MEUNIER, P.: C. R. Acad. Sci. (Paris) **213**, 709 (1941).
374. Vitamin A Subcommittee: Nature **156**, 11 (1945).
375. VOGT, E.: Med. Klin. **33**, 1437 (1937).
376. VUJASIN, J.—PETROVIC, D.: Dermatologica. (Basel) **105**, 180 (1952).
377. WALD, G.—CAROLL, W. R.—SCIARRA, D.: Science **94**, 95 (1941).
378. WALTNER, K.: A csecsemőkori sorvadás kérdései. Művelt Nép. Budapest. 1956.
379. WALTNER, K.: Z. Vitaminforsch. **3**, 245 (1934).
380. WALTNER, K.: Mschr. Kinderheilk. **60**, 361 (1934).
381. WALTNER, K.: Orv. Hetil. **78**, 323 (1934).
382. WALTNER, K.: Orv. Hetil. **78**, 579 (1934).
383. WEEK, E. F.—SEVIGNE, F. J.—ELLIS, M. E.: J. Nutr. **46**, 353 (1952).
384. WECHSLER, I. S.—MAYER, G. G.—SOBOTKA, H.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **47**, 152 (1941).
385. WECHSLER, I. S.—MAYER, G. G.—Sobotka, H.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **53**, 170 (1943).
386. WEGNER; cit. GROSZ, I.: Orvosképzés. **28**, 616 (1938).
387. WEITZEL: Proc. 3rd Vit. E Conference. Venice, Italy 1955. Cit. SHUTE, E. V.: Summary. **7**, 59 (1955).
388. WHITING, F.—LOOSLI, J. K.: J. Nutr. **36**, 721 (1948).
389. WIDENBAUER, F.: Z. Kinderheilk. **60**, 216 (1938).
390. WILLMAN, J. P.—LOOSLI, J. K.—ASDELL, S. A.—MORRISON, F. B.—OLAFSON, P.: J. Anim. Sci. **4**, 128 (1945).
391. WINKLER, H.: Zbl. Gynäk. **67**, 32 (1943).
392. WRIGHT, S. W.—FILER, L. J.—MASON, K. E.: Pediatrics. **7**, 386 (1951).
393. WRIGHT, R. E.: Brit. J. Ophthal. **6**, 164 (1922).
394. YOUNMANS, J. B.: J. Amer. Med. Ass. **144**, 34 (1950).
395. ZIERLER, K. L.—FOLK, B. P.—EYZAGUIRRE, C.—JARCHO, L. W.—GROB, D.—LILIENTHAL, J. L.: Proc. 2nd Vit. E Conference. New York. 1949.
396. ZIERLER, K. L.—GROB, D.—LILIENTHAL, J. L.: Amer. J. Physiol. **153**, 127 (1948).
397. ZIMMER, R.—WEILL, J.—DUBOIS, M.: New. Engl. J. Med. **230**, 303 (1944).

NATURGESCHICHTE DES LUPUS ERYTHEMATOSUS UND DIE KLINISCHEN ZUSAMMENHÄNGE DER RHEUMATISCHEN ERKRANKUNGEN

Von

J. PETRÁNYI

II. MEDIZINISCHE KLINIK DER UNIVERSITÄT DEBRECEN

(Eingegangen am 21. November, 1957.)

Einige Entzündungskrankheiten unbekannter Ätiologie lassen sich auf Grund histologischer Charakteristiken in eine gemeinsame Gruppe einteilen. Diese histopathologischen Charakterzüge hat zuerst KLINGE in eine logische Einheit zusammengefaßt. Der gemeinsame Charakterzug, der als typisch betrachtet wird, ist die fibrinoide Veränderung im Bindegewebe. Auf Grund der Voraussetzung, daß das Fibrinoid aus der Degeneration der Kollagenfasern des Bindegewebes stammt, haben KLEMPERER und Mitarbeiter diese Erkrankungen »Kollagenkrankheiten« benannt. Die Einreihung dieser, verschiedene klinische Bilder aufweisender, scheinbar unabhängiger Erkrankungen in eine gemeinsame Gruppe wurde vom klinischen Gesichtspunkt auch durch die Annahme rechtfertigt, daß für die gemeinsamen oder ähnlichen histopathologischen und histochemischen Veränderungen eine gemeinsame, oder ähnliche Pathogenese verantwortlich gemacht werden dürfte.

KLEMPERERS Kollagenose-Begriff, der hauptsächlich morphologisch war und den Schauplatz des pathologischen Prozesses bezeichnete, bedeutete jedoch im Vergleich mit KLINGES zugleich eine Erklärung suchender, allergisch-hyperergischer pathogenetischer Ansicht, weder vom Standpunkt der klinischen Praxis, noch von dem der allgemeinen Betrachtung der Geschehen einen Fortschritt. Es steht hingegen außer Zweifel, daß trotz den durch die Tierversuche gelieferten Beweisen, die man auch mit den menschlichen Erkrankungen in Analogie stellen kann (MASUGI, RICH usw.), KLEMPERERS Einwand berechtigt zu sein scheint, nach welchem die als typisch angenommene Fibrinoidveränderung keineswegs spezifisch ist, da sie auch dann vorkommt, wenn Sensibilisation kaum anzunehmen ist (Ulcus pepticum, Trauma usw.). Gleichzeitig erschütterten neuere Untersuchungen KLEMPERERS Benennung (Kollagenose) in ihren Gründen, da diese Untersuchungen außer Zweifel stellten, daß die fibrinoide Veränderung des Bindegewebes nicht aus der Degeneration der Kollagenfasern entsteht, sondern wahrscheinlich dadurch, daß die aus dem Plasma durchsickernden pathologischen Eiweißstoffe sich in der Grundsubstanz des Bindegewebes ablagern. Auf diese Weise wurde die mittlerweile sehr in Mode gekommene Bezeichnung: »Kollagenkrankheit« unrichtig. Nichtsdestoweniger empfiehlt sie KLEMPERER auch weiterhin; auf dem 1954 in Stockholm gehaltenen 3. internationalen medizinischen Kongreß begründete er seine Ansicht damit, daß einerseits dieser Name noch immer am klärsten darauf hinweise, daß das Grundproblem interzellulär zu suchen ist, anderseits ist — und er führte Goethes Worte an: »Doch ein Begriff muß mit dem Worte sein« — nicht der Name das wesentliche, sondern das, was man darunter versteht. Obwohl das richtig ist, wäre es doch Schade, wenn man sich wegen der unrichtigen Benennung zu einer einseitigen »inter-zellularpathologischen« Betrachtung verpflichten und die gute alte Bezeichnung »rheumatische Krankheiten« ganz verwerfen würde, die zu nichts verpflichtet und deren Begriffskreis man der wissenschaftlichen Forschung entsprechend jederzeit modifizieren kann.

Während die Pathologen die gemeinsamen Charakteristiken suchten, die die neue Erkrankungsgruppe vereint, waren die Kliniker eher bestrebt, die Einzelfragen der Erkrankungen zu klären, die scheinbar zu dieser Gruppe gehören: sie suchten nach Zeichen, die diese Erkrankungen, als auch innerhalb der Gruppe selbständige und unabhängige pathologische Einheiten charakterisieren, umgrenzen und voneinander trennen. Diese Bestrebung war sehr nützlich, brachte zahlreiche neue Erkenntnisse; doch erreichte sie, meiner Ansicht nach, den Gegensatz dessen, das sie erstrebte: sie unterstützte nicht die Selbständigkeit dieser verschiedenen Erkrankungen, sondern eben ihre Unzertrennbarkeit.

Die Beobachtung der an einer der charakteristischsten Kollagenkrankheiten, an Lupus erythematosus leidenden Patienten, die sorgfältige Auswertung ihrer Anamnesen und die weitere Verfolgung ihrer Schicksale brachte uns zur Überzeugung, daß innerhalb der »rheumatisch« — »kollagenen« Krankheitsgruppe der Lupus erythematosus (LE) das zentrale Syndrom sei, daß zur pathogenetischen Gruppenidentität der einzelnen kollagenen Erkrankungen auch von klinischer Seite überzeugende Angaben liefert.

Es konnte noch immer entschieden werden, ob der auf die Haut lokalisierte, »discoide« Lupus erythematosus und der mit anderen pathologischen Symptomen verbundene »systemische«, »disseminierte«, »viscerale« Lupus erythematosus zwei verschiedene Formen derselben Erkrankung seien (REICHES, KUSHNIRUK), oder aber zwei verschiedene Erkrankungen. Meiner Ansicht nach würde diese Diskussion schon längst entschieden, und zwar nicht nur auf Grund klinischer Beobachtungen (KAPOSI, OSLER, usw.), sondern auch auf Grund histologischer Untersuchungen (MC CREIGHT und MONTGOMERY, STAUGHTON und WELLS, ELLIS und BUNDICK). Die klinischen Zusammenhänge sind heutzutage nicht nur in der Richtung des häufig als Monosystemerkrankung auftretenden Hauterythematodes, sondern auch in derjenigen der übrigen Kollagenkrankheiten, die ebenfalls häufig als Monosystemerkrankungen aufzutreten pflegen, klar zu erkennen.

Zweck der gegenwärtigen Mitteilung ist der Nachweis — mit Hilfe der Analyse unseres eigenen Krankenmaterials — der Tatsache, daß die oft als alleine, Monosystemerkrankungen auftretenden »rheumatisch-kollagenen« Erkrankungen eigentlich nur verschieden gestalteten, bzw. lokalisierten Varianten derselben Grundprozesses sind und daß der Lupus erythematosus — cum lupo oder sine lupo — auch nur eine Manifestation dieses Krankheitsprozesses darstellt.

Nomenklatur. KAPOSI hat als erster erkannt, daß die Lupus erythematosus benannte Hauterkrankung »mit concomittierenden und allgemeinen Erscheinungen« verbunden sein kann, die »den Gesamtorganismus in Mitleidenschaft ziehen, ja dessen Existenz gefährden und vernichten«. Da dieser Lupus nicht tuberkulotischen Ursprungs ist, schlug JADASSOHN die Bezeich-

nung »Erythematodes« vor. Der Auftritt der innerorganischen Phänomene kann mit der Zerstreuung des Aussatzes in Verbindung stehen, darum gebrauchte die Literatur in bezug auf diese Erkrankungsform im allgemeinen die Benennung Lupus erythematosus »disseminatus«, gegenüber dem sich auf die Haut beschränkenden Lupus erythematosus »discoides«. Diese Bezeichnung ist jedoch unrichtig, da die Erkrankung nicht nur ohne Dissemination, sondern auch ganz sine lupo vorkommt. Nach der französischen empfehlen in der deutschen Literatur SIEGENTHALER und HEGGLIN die Benennung »visceraler LE«. Diese hat nicht nur den Nachteil, daß sie den heutzutage bereits als einheitlich betrachteten Lupus erythematosus auch weiterhin in »Hautkrankheit« und in »viscerale Erkrankung« trennt, sondern auch, daß wir das Beiwort »visceral« im allgemeinen nur bezüglich der abdominalen und thorakalen Organe gebrauchen und es z. B. auf die Gelenke und auf das Blut nicht anwenden. Die amerikanische Literatur gebraucht die Bezeichnung »systemischer« (systemic) LE. Diese Benennung ist unserer medizinischer Fachsprache darum fremd, weil diese unter »System« nicht den ganzen Organismus, sondern nur dessen einzelne Anordnungen (Knochensystem, Nervensystem, usw.) versteht. Wir werden jedoch sehen, daß das eine oder das andere System auch in sich selbst erkranken kann; anderseits können diese Systemerkrankungen sich in verschiedenen Formen kombinieren. Darum wäre nach meiner Meinung am richtigsten einstweilen den Lupus erythematosus (oder Erythematodes) als Sammelnamen anzunehmen, zugleich betonend, daß das keine Hautkrankheit bedeutet, und daß innerhalb dieses Begriffs zwei Haupttypen zu unterscheiden sind:

1. »*Monosystemische Erscheinungsform*« (Monoerythematodes), wenn die Veränderung sich hauptsächlich auf ein System, also entweder nur auf die Haut (LE cutaneus, Hauterythematodes), oder auf die Gelenke, oder aber auf die Niere, usw., d. h. nur auf ein Organ, bzw. auf eine Gewebsart (ein System) beschränkt und andere Erscheinungen zur Zeit nicht, oder kaum zu entdecken sind.

2. »*Polysystemische Form*« (Polysystemischer Lupus erythematosus : PLE, Polyerythematodes), in welcher verschiedene monosystemische Typen sich miteinander kombinieren: diese Kombinationen können sehr mannigfaltig sein und es können innerhalb dieser Kombinationen solche Erscheinungen vorkommen, die wir in sich nicht antreffen. Diese beiden Formen können in jeder Richtung ineinander übergehen.

Das untersuchte Krankenmaterial und die Kriterien der Diagnose des LE

Unsere an Lupus erythematosus erkrankten Patienten beobachten wir seit 1952 systematisch (PETRÁNYI und LEÖVEY) und verfolgen ihr Schicksal mit wenigstens halbjährlich vorgenommenen Untersuchungen. Die Anamnesen

greifen natürlich auch auf frühere Zeiten zurück, und wir benützten deren Angaben, wenn sie zuverlässig waren (schriftliche Befunde der Krankenhäuser, von Ärzten gelieferte Angaben, charakteristische Symptombeschreibungen intelligenter Patienten). In der gegenwärtigen Bearbeitung werden 33 sicher an »polysystemischem« Erythematodes leidende Patienten berücksichtigt.

Als »sicheres« Kriterium des polysystemischen Lupus erythematosus (PLE) betrachteten wir:

Tabelle 1

Klinische Erscheinungen des polysystemischen Lupus erythematosus

Gesamtzahl der Fälle: 33 (= 100%); davon Frauen: 29 (88%); Männer: 4 (12%)

S y m p t o m	Zahl der Fälle	%
Hauterythematodes	21	63
Haarausfall	7	21
Polyarthritis + Carditis	8	24
Rheumatoide Arthritis	25	75
Spondylitis (Bechterew)	1	3
Hydrops art. intermittens	1	1
Carditis : Klappenfehler	2	6
Myocardschaden	21	63
Pericarditis	6	18
Paroxysmale Tachycardie	2	2
Störungen der Menstruation	8	30
Gastrointestinale Beschwerden	13	39
Neurologische Erscheinungen	9	27
Augensymptome	3	9
Blutungen (Purpura, usw.)	3	9
Thrombophlebitis	5	15
Ulcus cruris	3	9
Lymphadenopathie	14	42
Milzvergrößerung	3	9
Lebervergrößerung	5	15
Atypische Pneumonie	9	27
Pleuritis	12	36
Polyserositis	4	4
Nierenkrankheit	9	27
Tendovaginitis	3	9
Bursitis	5	15
Fieber	30	90
Muskelerkrankheit	11	33
Abmagerung (Kachexie)	9	21

Tabelle 2
Laboratoriumsbefunde bei polysystemischem Erythmatodes

Untersuchung	Zahl der Fälle	%
LE Zellphänomen (LE-Zellen)	22	66
BSG über 50 mm/st	31	93
Leukopenie unter 4 500	26	78
Anämie unter 3 000 000	17	51
Albuminurie, Hämaturie	12	36
Pseudopositivität der WaR	6	18
Koproporphyrinurie	14	42

A. nebst einer Systemläsion oder mehrerer Systemläsionen, die nach unseren gegenwärtigen Kenntnissen mit dem polysystemischen Erythmatodes vereinbart sind und zugleich auf keine andere bekannte Ätiopathogenese zurückgeführt werden können,

B. die Anwesenheit wenigstens einer der folgenden drei Erscheinungen :

1. mit Sicherheit festgestellte positive LE-Zellerscheinung ; 2. unzweifelhaft charakteristische Hautläsion ; 3. charakteristischer bioptischer (oder autopsischer) histologischer Befund.

Die bei polysystemischem LE vorkommenden Beschwerden und Symptome wurden schon von vielen Forschern beschrieben und kategorisiert, zumeist um die diagnostischen und differentialdiagnostischen Charakterzüge des LE als Krankheitseinheit umzugrenzen. Tabelle 1 gibt die Häufigkeit der einzelnen wichtigeren klinischen Befunde bei unserem eigenen Krankenmaterial an, und Tabelle 2 die Häufigkeit der Laboratoriumsbefunde in absoluten Zahlen und in %. Jedes Symptom, bzw. jeder Laboratoriumsbefund kommt nur einmal pro Patient vor, unabhängig davon, wie oft es am selben Patienten rezidierte. 88% unserer Patienten waren Frauen und 12% Männer. Aus den Tabellen geht hervor, daß sozusagen alle in der Literatur beschriebenen Erscheinungen (HARVEY et al, DUBOIS, JESSAR, SHEARN und PIROFSKY, GOLD und GOWING usw.) in unserem Material vorkamen ; dieses kann also als typisch betrachtet werden und eignet sich deshalb auch in weiteren Schlußfolgerungen.

Schlüsse, die sich aus der Naturgeschichte des polysystemischen Lupus erythematosus ziehen lassen

Da ich den Beweis zu erbringen wünsche, daß die Kollagenkrankheiten (ob monosystemisch, oder aber in verschiedenen polysystemischen Kombinationen) keine selbständige pathologische Einheiten sind, untersuchte ich zuerst die Frage, welche Erkrankungen in unserem Material die ersten, als Kollagen-

krankheiten qualifizierbaren Affektionen waren, d. h. diejenigen, mit denen der Prozess begonnen hatte. Aus Tabelle 3 ersieht man, daß die Erkrankung in allen 33 Fällen als Monosystemkrankheit erschien. Von den Angaben dieser Tabelle ist besonders wichtig und verdient hervorgehoben zu werden, daß lediglich 18% unserer Fälle mit einer Hautläsion (Hauterythematodes, discoider Lupus erythematosus) anging. In 82% unserer Fälle begann also die Erkrankung *sine lupo*.

Tabelle 3
Beginn der Reihe der Kollagen-Krankheiten

Die erste Diagnose	Zahl der Fälle	%	Zeit bis zur Erscheinung des nächsten Symptoms
Chron. rheumat. Polyarthritis	11	33	von bis 3 Monate 13 Jahre
Unbestimmte Gelenkbeschwerden	5	15	von bis 3 Jahre 12 Jahre
Status febrilis	3	9	von bis 6 Monate 2 Jahre
Haut-Erythematodes	6	18	von bis 2 Monate 15 Jahre
Mitralstenose	2	6	von bis 4 Jahre 13 Jahre
C a r d i t i s	1	3	3 Monate
Atyp. Pneumonie	1	3	5 Monate
Pleuritis	1	3	3 Monate
Hämaturie	1	3	2 Jahre
P u r p u r a	1	3	2 Woche
M y a l g i e	1	3	4 Jahre

Tabelle 4 stellt dar, welche der drei »LE-Kriterien« die Diagnose der PLE (polysystemisches Lupus erythematosus) zuerst ermöglicht hat. Wir haben alle unsere Fälle *in vivo* diagnostiziert.

Bei unseren 33 Patienten vermochten wir im Laufe der Jahre insgesamt in 53 Fällen eine als PLE diagnostizierbare Phase zu beobachten. Darum haben wir in Tabelle 4 auch diejenigen der diagnostischen Kriterien angegeben, die während der Rezidiven gegenwärtig waren. Aus dem ersten Teil der Tabelle geht hervor, daß wir nach Auftritt des ersten Kriteriums sehr oft auch die weiteren Kriterien auffinden konnten. Biopsie nahmen wir selten vor. In keinem Fall hatte der histologische Befund den ersten Beweis zu der PLE-Diagnose geliefert. Darum fehlt auch die Histologie unter den Kriterien in Tabelle 4. Das Resultat der histologischen Untersuchungen und der Sektionen ersieht man aus Tabelle 5.

Tabelle 4

Häufigkeit der PLE-Kriterien (Hauterythematodes und LE-Zellerscheinung) von 54 PLE-Perioden die die Diagnose zuerst möglich machten und später bestätigten

Diagnostisches Kriterium	Zahl des Vorkommens		
	Z u e r s t positiv	Später auch positiv	Negativ
Hauterythematodes	31 (58%)	3 (5%)	20 (37%)
LE-Zellerscheinung	23 (42%)	13 (24%)	18 (33%)
Z u s a m m e n	54 (100%)	16 (30%)	38 (70%)

Tabelle 5

Wert der histologischen Untersuchungen bei Kranken mit polysystemischem Lupus erythematosus

	Z a h l der Fälle	d a v o n		—
		charakterist.	nicht charakt.	
B i o p s i e	Haut	3	3	—
	Lymphknoten	4	—	
	Gelenk	2	—	
	Niere			
	(Nadelbiopsie)	5	3	
A u t o p s i e	7	2	5	—

Die Therapie war eine energische. Es war aber bemerkenswert, daß obwohl bei der Sektion die Diagnose der Kollagenkrankheit in allen Fällen unterstützt wurde, ein für PLE charakteristischer Befund nur in 2 von 7 Fällen anzutreffen war.

Um zu ermöglichen, daß man die äußerst mannigfaltige Naturgeschichte des Erythematodes nicht im Lichte der in den polysystemischen Zeiten auftretenden Symptome erblicke, sondern — was zur Beurteilung der Krankheit viel wichtiger ist — auch in ihrem zeitlichen Verlauf klar erfasse, stellte ich in Tabelle 6 den Krankheitsverlauf der einzelnen Kranken in ihren Hauptdiagnosen von der ersten Kollagenkrankheit bis zum Abschluß dieser Mitteilung, bzw. bis zum Tode des Patienten dar. Die Kranken gruppierte ich nach Alter; der älteste (62 Jahre alt) steht oben und unten findet man den jüngsten (15 Jahre alt). Der Anschaulichkeit halber begnügte ich mich mit den Hauptdiagnosen, die in der fraglichen Zeit für den Patienten am charakteristischsten waren, und erwähne keine Nebensymptome, die an der Grunddiagnose nichts änderten (z. B. von Zeit zu Zeit einen Anfall paroxysmaler Tachycardie oder Vorkammerfibrillation, mäßige psychische Depression oder Unruhigkeit, leichte Albuminurie, Anämie, Leukopenie, Thrombophlebitis, Irido-

Tabelle 6
Naturgeschichte des polysystemischen Lupus erythematosus

No	Name	Geschlecht	Krankheitsgeschichte in Diagnosen									
1.	F. L.	♀	1946 III—	1954 X.—XI.	23							
	1895		?	PLE	:	Exitus						
2.	Sz. B.	♀	1945 IX.—X—	1946—1956 X—	1957 II—III.							
	1900		Pleuritis	RA	PLE	RA						
3.	R. J.	♂	1946 I—	1947—1951—1952—1953 V.—		IX—	1954 XI—	1955 I.	23			
	1900		RA	Ø	?	?	Polyserositis	RA	PLE	:	Exitus	
4.	N. I.	♀	1948 II—	1952—1954 IV.—	—VI—1955—1956 I.—	—II—	—1957 III.					
	1903		?	RA	PLE	?	PLE	?				
5.	Cs. J.	♀	1947 III—	1950 IX—	1951 I.	23						
	1906		cut. E.		PLE	:	Exitus					
6.	Sz. L.	♀	1936 II.—VI—	1946—1953—1955 IX.—	1956 III—	1957 III.						
	1909		A	Ø	?	cut. E.	PLE	?				
7.	S. J.	♀	1954 III.—V—	1955 II.—IV.—IX—	—1956 I.—	—III—	1957 II.—III.					
	1910		cut. E.	Ø	?	Ø	Nephrose	PLE	?	PLE		
8.	Cs. K.	♀	1954 XII+	1955 III.—	—V.—VIII.—	XI—	1956 III.—XII—	1957 I.—IX.—X				
	1912		RA + »pernio«	RA	Ø	RA	PLE	?	PLE	?	PLE	
9.	H. K.	♀	1943 III.—IX—	1944 V.—	—IX—	1946 II.—	—V—	1948 VI—	1953 X—	1954 V.—VII.—	X—	1957 III—
	1915		cut. E.	?	Psor.	?	Psor.	Ø	RA	PLE	RA	Psor ?

No	Name	Geschlecht	Krankheitsgeschichte in Diagnosen													
	Geb.	Jahr														
20.	B. I.	♀	1943	II—	1945—1951—1955	v.—	—xi—	1956	v.—	VII—	1957	III.				
			1928		A Ø ?	Ø	cut. E.	Ø	PLE		cut. E.					
21.	T. P.	♀	1951	I—	1956	II.—VII—	1957	II.—III.								
			1928		cut. E.	PLE	cut. E.	PLE								
22.	V. E.	♀	1947	III—	1950	VIII.—IX—	1951	IV.	VII—	1952	VI—VIII	1953—1954	IX.—XI—	1957 III.		
			1929		RA	PLE	RA	Purpura	RA	PLE	RA	PLE	RA	?		
23.	K. J.	♀	...	1952	I—	1953—1954—1955	II.—IV—	1956—1957	III.							
			1930		...Sten. o. v. s. + RA	PLE	RA + Sten. o. v. s.									
24.	S. A.	♀	1952	VIII.—X—	1953	V.—X—	1954	V.—VII.—IX	II							
			1930		cut. E	PLE	?	PLE	?		Nephrose : Exitus					
25.	Sz. J.	♀	1950	I—	1953	VII.—VIII	1955	VIII.—IX—	1956	I.—III—	1957	III.				
			1931		A	PLE	?	PLE	?	PLE						
26.	Sz. A.	♀	1947—1948—1950	III—V—	1952	IV—VI	1953	I—	1954	XII—	1955	X—	1956	II—III—	1957 III.	
			1931		Carditis	?	Pleur.	?	A	PLE	?		PLE	?	PLE	?
27.	V. K.	♀	1953	III.—VI.—IX—	1954	V—	1955	X. ₂₈								
			1931		?	Ø	RA	PLE: Exitus								
28.	O. I.	♀	1943	III.—VI—	1956	II.—III.—V—	1957	II.—III.								
			1932		Carditis	?	RA	PLE	?		PLE					
29.	T. K.	♀	1953	XI.—XIII	1954	VII—	1955	I.—II.—VIII—	1956—1957	III.						
			1932		RA	PLE	?	PLE	?		Ø					

No	N a m e Geb. Jahr	Geschlecht	Krankheitsgeschichte in Diagnosen						
30.	B. J. 1932	♀	1953 VII-VIII- 1954 VII=1955 I.-II.-VI- 1956—1957 III. cut. E. PLE ? PLE ? Ø						
31.	O. M. 1933	♀	1952 X- 1953 I.-IX.-X- 1954 I.-VIII.-XI- 1955 III.-VII- 1956 I. A + Pleuritis RA PLE ? PLE ? Ø ? PLE : Exitus						
32.	K. J. 1937	0	1952 X- 1953 XI- 1954 XII- 1955 II- 1956—1957 III. Haematurie Ø PLE Ø						
33.	B. S. 1942	0	1952 II- 1956 VII.-IX.-XII- 1957 III. ? A PLE Ø PLE						

Abkürzungen : A : Unbestimmte Gelenkbeschwerden

cut. E.: Hauterythematodes ohne andere Symptome und Beschwerden

PLE: polysystemischer Lupus erythematosus

Pleur.: Pleuritis

Ra : Rheumatoide Arthritis (primär-chronisches rheumatisches Polyarthritis)

Sten. o. v. s.: Stenosis ostii venosi sinistri

? : Beschwerden und Symptome die aber keine bestimmte Diagnose ermöglichen

Ø : Keine Symptome und Beschwerden.

cyclitis, usw.) obwohl diese den Verdacht auf eine polysystemische Erkrankung lenkten. Auch die in der Zwischenzeit aufgetretenen Prozesse von bestimmt anderer Ätiologie bleiben unerwähnt, da die das Schicksal unserer Patienten in keinem Falle wesentlich änderten (Grippe, Pneumokokken-pneumonie, mechanisches Trauma, usw.). Da, wo das klinische Bild verwirrt oder unbestimmt war und die unbestimmten Beschwerden und divergente Symptome die Diagnose jeder bestimmten Erkrankung verhinderten, bezeichnet ein Fragezeichen (?) diesen Zustand. Dort, wo eine Diagnose angeführt wird, war diese immer typisch. Die identische Diagnose bedeutet selbstverständlich nicht immer und überall dieselbe Schwere der Erkrankung. Die rheumatische Polyarthritis (RA) z. B. zeigte vom auch als akute rheumatische Polyarthritis qualifizierbaren Bilde bis zum schwachen, aber noch mit objektiver Veränderung verbundenen Arthralgie, bzw. zur symmetrisch deformierenden, charakteristischen primär-chronischen Polyarthritis alle möglichen Übergänge bei den verschiedenen Kranken und manchmal auch bei demselben Kranken. Es gehört zur Natur der kollagenen Erkrankungen, daß sie in hohem Maße fluktuieren; Remissionen und Rezidive sind häufig. Die Fluktuation nimmt in der Regel erst dann ab, wenn infolge der Irreversibilität der entstandenen Destruktion eine Remission schon kaum möglich ist. Je ausgebrannter ein Organ im Laufe der Entzündung, umso kleiner werden die Fluktionsmöglichkeiten. Auch die polysystemischen Formen waren von sehr verschiedener Gravität sowohl vom Gesichtspunkt der allgemeinen Symptome, als aus demjenigen der Organläsionen und deren Kombinationen. Die verschiedenen Krankheitsphasen trennten sich nicht scharf voneinander ab, sondern gingen gewöhnlich stufenweise ineinander über; so war die Erkrankung — besonders wenn man auch die Nebensymptome in Betracht zieht — in den Zeiten um die Trennungslinien der Tabelle di-, tri- oder polysystemisch. Die Trennungslinien wendete ich an, um damit die Tabelle trotz den verschiedenen Krankheitsprozessen übersichtlich zu machen, anderseits um die Dauer der einzelnen führenden Symptomen zu registrieren.

Die Erkrankung kommt in derselben Familie nur selten vor; darum ist es erwähnenswert, daß in Tabelle 6 die Patientin Nr. 26 die Tochter von Nr. 4 ist. Die Erkrankung hat sich zuerst bei der Tochter gemeldet, und zwar nicht nur dem Lebensalter, sondern auch dem Datum entsprechend. Die Polyarthritis, die sich bei der Mutter vor 40 Jahren abgespielt hatte, konnte wegen Mangel an Angaben nicht in Erwägung gezogen werden.

Aus Tabelle 6 ist es klar ersichtlich, daß die Perioden mit manifestem polysystemischen Erythematodes ziemlich kurz sind und sich während der Krankheit so launenhaft ablösen, daß sie beinahe als zufällige Erscheinungen wirken. Tabelle 7 zeigt, welchen Prozentsatz der in Monaten berechneten Krankheitsdauer bei den einzelnen Kranken die einzelnen — mehr oder weniger miteinander zusammenfließenden — Phasen — und unter ihnen

Tabelle 7
Dauer der verschiedenen Diagnosen während der Krankheit

Fall	Krankheitsdauer in Monaten [100%]	PLE		RA		cut. E		andere Diagnosen		?		Ø	
		Mo- nat	%	Mo- nat	%	Mo- nat	%	Mo- nat	%	Mo- nat	%	Mo- nat	%
1.	81	2	2	—	—	—	—	—	—	79	98	—	—
2.	139	5	4	132	95	—	—	2	1	—	—	—	—
3.	109	3	3	26	24	—	—	4	3	28	26	48	44
4.	110	5	4	27	25	—	—	—	—	78	71	—	—
5.	47	5	11	—	—	42	89	—	—	—	—	—	—
6.	254	7	3	—	—	32	12	5	2	96	38	114	45
7.	145	5	4	—	—	3	2	4	3	12	8	121	83
8.	28	7	25	8	28	—	—	—	—	10	36	3	11
9.	169	7	4	66	39	6	4	10	6	55	32	25	15
10.	39	3	8	3	8	—	—	20	51	12	30	1	3
11.	15	4	27	4	27	—	—	—	—	2	13	5	33
12.	147	7	5	3	2	3	2	14	10	33	22	87	59
13.	62	24	39	21	34	—	—	—	—	11	18	6	9
14.	63	5	8	58	92	—	—	—	—	—	—	—	—
15.	39	1	3	24	61	—	—	14	36	—	—	—	—
16.	23	4	17	—	—	—	—	2	9	17	74	—	—
17.	7	2	29	5	71	—	—	—	—	—	—	—	—
18.	115	17	15	15	13	11	10	—	—	7	6	65	56
19.	84	24	29	—	—	—	—	60	71	—	—	—	—
20.	170	3	2	—	—	14	8	23	14	12	7	118	69
21.	75	8	11	—	—	67	89	—	—	—	—	—	—
22.	21	8	7	82	68	—	—	3	2	28	23	—	—
23.	63	3	5	13	21	—	—	47	74	—	—	—	—
24.	26	16	62	—	—	2	8	3	11	5	19	—	—
25.	87	7	8	—	—	—	—	42	48	38	44	—	—
26.	60	21	35	—	—	—	—	—	—	39	65	—	—
27.	32	18	56	8	26	—	—	—	—	3	9	3	9
28.	169	4	2	1	1	—	—	3	2	161	95	—	—
29.	41	10	24	1	3	—	—	—	—	10	24	20	49
30.	45	12	27	—	—	1	2	—	—	8	18	24	53
31.	40	17	42	8	20	—	—	3	8	8	20	4	10
32.	54	3	6	—	—	—	—	13	24	—	—	38	70
33.	62	4	7	—	—	—	—	2	3	53	85	3	5

PLE = polysystemischer Lupus erythematosus.

cut. E = Lupus erythematosus der Haut, ohne andere Erscheinungen.

RA = Rheumatoide Arthritis, primär-chronische Polyarthritis.

? = Verschiedene unbestimmte Symptome und Beschwerden.

Ø = Dauer der beschwerden und symptomfreien Zwischenperioden.

die Phasen mit PLE ausmachten. In den nicht als PLE bezeichneten Phasen war die Erkrankung als solche nicht diagnostizierbar (da es keine Hautveränderungen gab, die LE-Probe wiederholt negativ war und Organbiopsie entweder nicht unternommen wurde, oder kein beweiskräftiges Ergebnis gab).

Obwohl es uns dem Nachweis unserer festgesetzten These nicht näher bringt, der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß die Lethalität unseres Krankenmaterials 30% war. Die auf die Lebensdauer und auf die Todesursachen bezüglichen Einzelheiten sind in Tabellen 8—9—10 zusammengefaßt.

Tabelle 8

Lethalität

Zahl der Fälle		Lebendig		Gestorben	
33	100%	23	70%	10	30%

Tabelle 9

A) *Lebensdauer von dem ersten Symptom gerechnet*

Die Lebenden						Die Gestorbenen				
Zahl der Fälle	Lebensdauer bis heute Jahre					Zahl der Fälle	Lebensdauer bis zum Tode Jahre			
	—2	3—5	6—10	11—15	16—		—2	3—5	6—10	11—
23	2	6	8	6	1	10	1	5	4	—
70%	6%	18%	24%	18%	3%	30%	3%	15%	12%	—

B) *Lebensdauer von der ersten PLE Diagnose gerechnet*

Die Lebenden						Die Gestorbenen				
Zahl der Fälle	Lebensdauer bis heute Jahre					Zahl der Fälle	Lebensdauer bis zum Tode Jahre			
	—2	3—5	6—10	11—15	16—		—2	3—5	6—10	11—
23	12	10	1			10	8	2		
70%	36%	30%	3%			30%	24%	6%		

Tabelle 10*Todesursache der Kranken mit polysystemischem Lupus erythematosus*

Diagnose	Zahl der Fälle
PLE, akuter Zustand	4
Urämie	5
Nephrose + Infektion	1
Zusammen	10

Diskussion

Die Krankheitsgeschichte unserer an Lupus erythematosus disseminatus, nach amerikanischer Nomenklatur an »systemischen« Lupus erythematosus, nach französischer, bzw. deutscher Nomenklatur an visceralen Lupus erythematosus, nach der hier empfohlenen Nomenklatur an polysystemischen Lupus erythematosus leidenden Patienten beweist, daß die Kranken fast ausnahmslos ziemlich lange an verschiedenen »rheumatisch-kollagenen« Erkrankungen litten; in der Zwischenzeit wechselten beschwerde- und symptomfreie Zeiten mit solchen, in denen der Patient verschiedene Beschwerden vorbrachte. Dann kam eine Periode, in welcher die Erkrankung den heutigen Kriterien des PLE entsprach. In dieser ersten PLE-Periode starb ein Teil (21%, 2/3 aller Verstorbenen) trotz aller therapeutischer Versuche; ein anderer Teil lebte jedoch weiter und die Erkrankung dieser Patienten kam bei der bekannten Therapie in Remission, oder wurde als »Teilerkrankung« fortgesetzt und der Patient starb mit den Symptomen dieser Teilerkrankung (z. B. Nierenkrankheit), oder wurde die Erkrankung für kürzere oder längere Zeit wieder als polysystemischer LE diagnostizierbar und die Todesursache konnte auf diesen zurückgeführt werden, oder nur eine Teilerkrankung bestand weiter, dann wurde sie wieder auf eine Zeit völlig beschwerden- und symptomfrei, oder hatte der Kranke wieder unbestimmte Beschwerden und ungewisse Symptome... und so weiter ohne jegliche Regelmäßigkeit.

Jedem unserer Patienten wurde seit 1952 eine, der LE-Diagnose entsprechende wirksame moderne Behandlung zuteil (Cortison, ACTH, Prednison, Atebrin, die der Notwendigkeit entsprechenden symptomatischen Eingriffe, wie z. B. Perikardpunktion usw. und andere moderne Verfahren der Therapie) und das trug zweifellos dazu bei, daß ein großer Teil der Patienten die heftigen akuten Perioden überlebte; aber es kam auch vor, daß die Erkrankung nebst Unverändertheit der bisher als wirksam befundener Therapie rezidierte, oder daß sie nach dauernder Wirkungslosigkeit derselben

Therapie in Remission kam. Mit der Therapie haben wir das Leben unserer Patienten verlängert, aber das bedeutete nichts anderes, nur daß die Erkrankung, die viele lebenswichtige Organe angriff, wieder zahmer geworden ist, in veränderter Form sich auf ein System oder ein paar Systeme beschränkte, oder subklinisch geworden ist. Das klinische Bild wurde durch die Therapie (die durch sie verursachten Komplikationen abgerechnet) wesentlich nicht verändert. Von Genesung können wir nicht sprechen, nur von einer Symptomfreiheit von ungewisser Dauer, woraus das Rezidiv in der ursprünglichen oder in einer veränderten Form jederzeit erfolgen kann. Die Grenze zwischen Gesundheit und Krankheit ist oft völlig verschwommen. Auf diesen Vorgang paßt der bekannte Eisberg-Vergleich vorzüglich; der bedeutende Teil dieser Erkrankung befindet sich unter dem Niveau unserer Kenntnisse.

Die Forscher, die den festen Zusammenhang des polysystemischen LE und der in ihm vorkommenden Teilerkrankungen nicht als nachgewiesen betrachten, mögen einwenden, daß es sich hier von zufälligen Begegnungen handelt. Dieser Standpunkt ist aber gänzlich unhaltbar, da die verschiedenen Formen der Kollagenkrankheiten vor unseren Augen ineinander überfließen und je stärker wir die differentialdiagnostischen Zeichen anpacken wollen, umso weniger davon in unseren Händen bleibt. Wir wissen mit Sicherheit, daß Erkrankungen wie Pneumonie, Pleuritis, Arthritis, Epilepsie, Thrombophlebitis, Nephritis, Lymphadenopathie, Leukopenie, usw. auch auf viele andere Ursachen zurückgeführt werden können. Wir wissen jedoch keineswegs, ob es selbständige rheumatoide (primär-chronische) Polyarthritis und klinisch von dieser auf keine Weise abweichende »erythematodische« Polyarthritis, — rheumatische Pneumonie und erythematodische Pneumonie, rheumatische primär-chronische Nephritis und erythematodische primär-chronische Nephritis, usw., usw. — gibt. Und da wir es nicht wissen, steht es uns natürlich frei, beide Möglichkeiten vorauszusetzen. Aber ob wir uns auf den Standpunkt der Einheiten, ob auf denjenigen der Selbstständigkeit stellen, wissen wir nicht, was die Lokalisation der Erkrankung und die Launenhaftigkeit des Verlaufs bestimmt. Wo ist der wesentliche qualitative Unterschied in den Erkrankungen, wenn sie sich auf ein einziges Organ- system lokalisieren, wenn sie mehrere Organsysteme befallen, oder wenn sie zugleich auch den LE-Kriterien entsprechen? Der Beantwortung dieser Frage können wir aus zwei Richtungen nahe kommen. Die erste besteht darin, daß wir die LE-Kriterien im Krankheitsbild des LE untersuchen; die zweite, daß wir die wegen Mangels an LE-Kriterien in diese Gruppe nicht passenden Fälle untersuchen und von beiden Richtungen ausgehend die Verbindungs- bzw. Trennungszeichen aussuchen. Betrachten wir zuerst die LE-Kriterien der Reihe nach. Im Verlauf unserer Beobachtung vermochten wir in unseren 33 Fällen mit Berücksichtigung der Rezidive insgesamt 54mal auf Grund der charakteristischen Kriterien die Diagnose des polysystemischen Erythema-

des festzustellen. Auch an demselben Patienten haben sich die Kriterien im Laufe der Rezidive verändert. So kam es z. B. oft genug vor, daß das Kriterium bei der ersten Gelegenheit die charakteristische schmetterlingsförmige Läsion auf dem Gesicht war; bei späteren Gelegenheiten rezidierte jedoch die Hautläsion nicht und das Kriterium wurde die positive LE-Probe.

Von den drei Kriterien — charakteristische Hautläsion, unbedingt positive LE-Probe, charakteristischer histologischer Befund — vermochte die Histologie am seltensten einen bestimmten Beweis für die LE-Diagnose erbringen. Das ist leicht zu verstehen, da die Histologie seiner Natur nach nicht unbeschränkt angewandt und wiederholt werden kann, gegenüber der oft untersuchbaren LE-Probe und der Haut, die vom Arzte und von Patienten selbst beständig nicht aus den Augen gelassen wird. Übrigens ist der Wert der Biopsie ziemlich ungewiss, weil sie nur selten ein bestimmtes Ergebnis ergibt. Lymphknotenbiopsie führte z. B. in jedem Falle zu der Diagnose: »nichtspezifische Entzündungszeichen«. Die Nadelbiopsie der Nieren führten wir nur in neuerer Zeit systematisch durch; so kennen wir den Wert dieses Verfahrens noch nicht genau. Auch kennen wir einerseits die Häufigkeit des Vorkommens der als charakteristisch behaupteten »Wire-Loop«-Läsion nicht, anderseits wissen wir nicht, wie früh und beständig dieses Zeichen ist und ob es verschwinden und rezidivieren kann, schließlich, wie häufig es in anderen Kollagenkrankheiten vorkommt. Unter unseren eigenen Fällen gab es einige, bei denen die Obduktion und der ausführliche histologische Befund nicht beweiskräftig waren (LEÖVEY und HARASZTI); dagegen sind Fälle bekannt, wo die Wire-Loop-Läsion der Niere das erste sichere Kriterium war, das die LE-Diagnose ermöglichte (LISTER und BAKER, MONTGOMERY und MCCREIGHT). Dabei vermindert es jedoch den Wert des Biopsiebefundes in der Richtung der »spezifischen Erkrankung«-Konzeption, und es spricht für den engen Zusammenhang der Vorgänge, dass die Wire-Loop-Läsion auch in Sklerodermie vorkommt (ALLEN, HANNIGAN *et al.*, BAEHR und POLLACK). Bei einem unserer Kranken erschienen im Laufe der polysystemischen LE auf den Vorderarmen Dermatomyositis-Symptome. Der histologische Befund zeigte ein charakteristisches Bild (Prof. SZODORAY, Dermatologische Klinik in Debrecen). Die Dermatomyositis bestand schwach fluktuierend noch für eine längere Zeit, selbst dann, als infolge der Therapie der Zustand sich bedeutend verbesserte und auch die LE-Probe negativ wurde. Einen bestimmten Übergang zur Dermatomyositis beobachteten wir auch bei zwei anderen Kranken; leider wurde bei diesen keine Biopsie vorgenommen.

Der *Hauterythematodes als diagnostisches Zeichen* ist im allgemein das wertvollste und auch das häufigste. Seine Häufigkeit wird verschieden angegeben: von SHEARN und PIROFSKY mit 91%, HARVEY *et al.* mit 85%, DUBOIS mit 52%. In unseren eigenen Fällen kam er als erste, einleitende Kollagenkrankheit in 18%, in der ganzen, 54 LE enthaltenden Periode jedoch

in 63% vor. Die abweichenden Prozentzahlen finden ihren Grund wohl darin, daß die verschiedenen Beobachter in verschiedenem Maße LE-Proben unternommen in annehmbar sine lupo-Fällen. Das Krankenmaterial ist vom statistischen Gesichtspunkt nie ohne Auswahl, da die Erkrankung meistens vom Dermatologen erkannt wird, andererseits weil die Hauterscheinung zumeist schreiend diagnostisch ist. Offenbar ist die Zahl der sine lupo-Fälle infolge des LE-Zellphänomens im Steigen begriffen.

Die Bewertung des LE-Zellphänomens ist Gegenstand einer folgenden Studie. Hier sei nur erwähnt, daß zwar 37% unserer Fälle auf Grund des LE-Zellphänomens diagnostiziert wurde, 34% der Fälle dagegen LE-negativ waren. In Hinsicht der Spezifität der Probe gehen die Meinungen noch auseinander. Es ist aber bestimmt, daß die Negativität der Probe nichts bedeutet und keineswegs ausschließend ist (BOBORY und PETRÁNYI).

Unsere Ansicht über die 3 LE-Kriterien zusammenfassend, können wir feststellen, daß ihre Negativität die Möglichkeit des LE-Vorganges selbst in den polysystemischen Fällen nicht ausschließt und ihre Negativität umso wahrscheinlicher ist, je narbiger sich der monosystemische Fall erweist. Wenn wir uns also der Einheit der Kollagenkrankheiten von seiten des polysystemischen Lupus erythematosus nähern, gewinnen wir die Überzeugung, daß die verschiedenen Kollagenkrankheiten ohne Grenzen ineinander fließen. Trennungszeichen gibt es nicht, da die »LE-Kriterien« eigentlich nur Symptome sind, die in gegebenem Falle vorhanden sein, aber auch fehlen können.

Wenn sich aus der Richtung der monosystemischen Teilerkrankungen, der rheumatoiden Arthritis, der primärchronischen Nephritis usw. uns der Frage des klinischen Zusammenhangs oder der Unabhängigkeit der verschiedenen Kollagenkrankheiten näher kommen will, gelangt man zu demselben Schluß. In keiner dieser Teilerkrankungen findet man nämlich irgendein Zeichen, das die Möglichkeit der Zusammengehörigkeit dieser Erkrankungen ausschließen würde. In bezug auf den Hauterythematodes ist der Zusammenhang heute schon zweifellos und selbst die Mitteilungen, die dies zu bestreiten versuchen, nehmen alle für die Identität, und für die Möglichkeit des gänzlichen Überganges ineinander Stellung. In der rheumatoiden Arthritis findet man bei Verfolgung des Krankheitsvorganges oft Übergänge auch zu anderen Kollagenerscheinungen und zum klassischen polysystemischen LE.

Je länger man zahlreiche, an monosystemischen Kollagenkrankheiten leidende Patienten beobachtet, desto häufiger trifft man auch bei ihnen einen Übergang zu den übrigen Kollagenerkrankungen. Unsere klinische Beobachtung beginnt heutzutage auch auf diesem Gebiet sich zu verfeinern.

Früher erkannten wir nur die extremen Varianten, z. B. den »Lupus erythematosus disseminatus acutus«. Seit der LE-Probe und der Biopsien erkennen wir auch viele »sine lupo«-Fälle. Mit der dauernden Beobachtung der Patienten (die neben der spontanen Remissionen durch die Therapie

ermöglicht wurde), haben wir auch die Tatsche erkannt, daß die Wörter wie »malignuss« »akut«, »subakut«, »chronisch« nicht zur Diagnose gehören ; sie können nicht einmal als Typen, als Erscheinungsformen, ja als Stadien akzeptiert werden, da der Krankheitsvorgang so launenhaft ausfällt, daß es keine Stadien vorkommen, und jedes Rezidiv einen anderen Grad der Heftigkeit aufweisen kann. Diese Beiwörter bezeichnen höchstens den momentanen Zustand. Sie haben nicht einmal prognostischen Wert, da viele unserer Patienten leben und arbeitsfähig sind, obwohl sie hyperakute, maligne Krankheitsphasen überstanden haben ; gleichzeitig starben mehrere Patienten in Niereninsuffizienz in verhältnismäßig kurzer Zeit und ohne heftigere Symptome.

Für die Einheit der rheumatisch-kollagenen Erkrankungen spricht noch der auf dauernde Dosierung von Hydralazin (Apresolin) eintretenden Zustand (COMENS und SCHRÖDER, HENN *et al.*, ERICKSON *et al.*, REINHARDT und WALDRON, SHAKMAN *et al.*, DUSTAN *et al.*, MORROW *et al.* PERRY und SCHRÖDER, SLO-NIM), der in einigen Fällen rheumatoide Arthritis zeigt, in anderen wieder das Krankheitsbild des Erythematodes sine oder cum lupo, mit ziemlich starker Streuung.

Bei den Kollagenkrankheiten wissen wir nicht voraus, welche Kombinationen später auftreten können ; je ausdrücklicher progressiv vernarbenden Charakter die Entzündung in irgendeinem System (Haut, Gelenk) annimmt, umso wahrscheinlicher ist, daß die Erkrankung größtenteils oder hauptsächlich monosystemisch bleibt und große polysystemischen Aufflammen nicht vorkommen.

Die klinischen Angaben beweisen also, daß die rheumatisch-kollagenen Krankheiten nicht selbständig, sondern die Teilerscheinungen desselben Krankheitsvorganges sind. Die Ätiopathogenese ist unbekannt und gleich vielen anderen Erkrankungen (z. B. der Tuberkulose) wissen wir auch hier nicht, was die Ursache der verschiedenen Lokalisationen und der Launenhaftigkeit des Verlaufs ist und was dazu führt, daß die verschiedenen Läsionen monosystemisch oder in verschiedenen Kombinationen vorkommen. Sehr bemerkenswert ist KLEMPERERS neue Beobachtung, daß das LE-Fibrinoid in ihren Färbungseigenschaften von derjenigen der anderen Kollagenkrankheiten etwas abweicht. Diese These muß noch erst bewiesen werden, aber wenn sie erwiesen wird, so spricht dies dafür, daß die Gefäßwände durchdringenden und in der Grundsubstanz des Bindegewebes eine Veränderung auslösenden Krankheitsstoffe (pathologische Proteine?) in den einzelnen Kollagenose-Manifestationen verschieden sein können. Mehrerlei pathogene Paraproteine dürften den Ursprung der verschiedenen Systemfällen erklären.

Wir wissen, daß in den Kollagenkrankheiten die die Antikörper enthaltende Gammaglobulinfraktion sich zumeist vermehrt, daß auch der LE-Faktor darin Platz nimmt und daß man gewisse autoaggressive Stoffe im Laufe der Kollagenerkrankungen im Blut nachweisen kann. Man kann jedoch anneh-

men, daß diese sich als Antikörper verhaltenden Stoffe auch ohne Antigen-einwirkung zustande kommen können, als Produkte einer Entgleisung im Eiweißstoff-Wechsel (MOESCHLIN, MIESCHER, MÜLLER, WUHRMANN).

Gegenüber den auch im normalen Stoffwechsel vorkommenden harmlosen Entgleisungen (die man Parametabolismus nennen mag), können während des Anabolismus oder des Katabolismus auch ernstere pathologische Entgleisungen stattfinden, die pathogene Metaboliten hervorbringen. Den weiteren Fortschritt erhoffen wir von der Erforschung dieser Entgleisungen.

ZUSAMMENFASSUNG

Vom Auftritt der ersten Kollagenkrankheit verfolgten wir 33 solche Kranken Schritt für Schritt, bei denen wir inzwischen die Diagnose des Lupus erythematosus (disseminatus, visceralis, polysystemisch) aufzustellen vermochten. Wir haben die beobachteten Symptome beschrieben und deren Häufigkeit berechnet. Als Kriterium der Diagnose betrachten wir — nebst entsprechenden Veränderungen, die auf keine andere Ätiologie zurückzuführen sind — die Anwesenheit wenigstens eines der folgenden drei Zeichen: charakteristischer Hauterythematodes, sicher positive LE-Zellerscheinung und charakteristischer histologischer Befund. Wenn keine dieser Charakteristiken vorhanden ist, kann man Lupus erythematosus nicht diagnostizieren, sondern es kann nur eine dem klinischen Bilde entsprechende symptomatische Diagnose aufgestellt werden. Unsere 33 Patienten entsprachen im Laufe der Jahre bei 5 Gelegenheiten diesen Bedingungen.

In Tabellen stellten wir die auf den Krankheitsverlauf bezüglichen wichtigeren Daten dar. Wir stellten fest, daß jeder Übergang zu den übrigen Kollagenkrankheiten möglich ist und daß den Kriterien entsprechende klassische polysystemische Lupus erythematosus nur ganz kurze Phasen der ganzen Erkrankung ausmacht; auch in bezug auf ihre Gravität gibt es zwischen den einzelnen LE-Rezidiven solche Abweichungen selbst bei ein und demselben Kranken, daß die früheren diagnostischen Attribute: akut, subakut und chronisch höchstens zur Bezeichnung des augenblicklichen Zustandes dienen können.

Die den LE-Kriterien entsprechenden und nicht entsprechenden Phasen fließen launenhaft ineinander. Wir besprachen den Wert der sogenannten diagnostischen Zeichen und stellten fest, dass ihr Mangel nicht gegen die LE-Diagnose spricht. So sind wir nicht imstande, die verschiedenen Kollagenose-Teilerkrankungen voneinander zu trennen. Wir wissen nicht, ob es innerhalb der Kollagengruppe eine besondere »erythematodische« und eine »nicht-erythematodische« Polyarthritis — bzw. Carditis, Nephritis, Serositis gibt. Auf Grund der dauernden Beobachtung des Schicksals der auch in den polysystemischen Perioden vom Lupus erythematosus befallenen Kranken ist der Zusammenhang zwischen den Kollagenkrankheiten nebst den histologischen Zeichen auch klinisch nachweisbar.

LITERATUR

- ALLEN: cit. HANNIGAN.
- BAEHR, G. u. POLLACK, A. D.: J.A.M.A. **134**, 1169 (1947).
- BANKS, B. M.: New England J. Med. **225**, 433 (1941).
- BOBORY, J. u. LEÖVEY, A.: Acta Med. Hung. **IX**, 173 (1956).
- CALKINS, E. u. BAUER, W.: Med. Clinics North Amer. **39**, 325 (1955).
- CHRISTIANSEN et al.: A. M. A. Arch. Dermat. **74**, 581 (1956).
- COMENS, PH. u. SCHRÖDER, H.: J.A.M.A. **160**, 1155 (1956).
- COPEMAN, W. S. C.: Acta Med. Scand. Suppl. **312**, 265 (1956).
- DUBOIS, E. L.: Ann. Int. Med. **45**, 163 (1956), **38**, 1256 (1953).
- DUBOIS, E. L. u. MARTEL, ST.: Ann. Int. Med. **44**, 482 (1956).
- DUSTAN, H. P. et al.: Circulation **8**, 829 (1953).
- ELLIS, F. A. u. BUNDICK, W. R.: Arch. Dermat. **70**, 311 (1954).
- GOLD, ST. C.: Proc. Roy. Soc. Med. **49**, 1063 (1956).
- GOLD, ST. C., GORWING, N. P. C.: Quart. J. Med. **22**, 457 (1953).
- GOLDSMITH, W. N. u. HELLIER, F. F.: Recent advances in dermatology. Churchill, London.
- GRICKSON et al.: Arch. Dermat. **74**, 640 (1956).

- HANNIGAN, C. A., HANNIGAN, M. H. u. SCOTT, L. E.: Amer. J. Med. **20**, 793 (1956).
- HARGRAVES, M. M., RICHMOND, H. u. MORTON, R.: Proc. Mayo Clin. **23**, 25 (1948).
- HARTER, F. u. DIELEGIESSEN, F.: Dtsch. Arch. Klin. Med. **200**, 202 (1953).
- HARVEY et al.: Medicine, **33**, 291 (1954).
- MUNDT, E. u. ISEKEN, G.: Dtsch. Arch. Klin. Med. **203**, 297 (1956).
- HELLWEG, G., MUNDT, E., NÜSSGENS, H. u. VORLAENDER, K. O.: Dtsch. Arch. Klin. Med. **203**; 647 (1957).
- JAKOBSON, A. S. et al.: Amer. J. Med. **20**, 490 (1956).
- JESSAR, R. A., LAMONT-HAVERS, E. W. u. RAGAN, C.: Ann. Int. Med. **38**, 717 (1953).
- KAPOSI, M.: Arch. Dermat. Syph. **4**, 36 (1872).
- KLEMPERER, P., POLLACK, A. D. u. BAEHR, G.: Arch Path. **32**, 569 (1941); J.A.M.A. **119**, 331 (1942).
- KLEMPERER, P.: Progress in fundamental medicine, Kimpton, London, 1952.
- KLEMPERER, P.: Acta Med. Scand. Suppl. 312 (1956).
- KLINGE: Ergebni. allg. Path. Anat. **27**, 1 (1953).
- KUSHNIRUK, .W.: Canad. Med. Ass. V. **76**, 184 (1957).
- LEÖVEY, A. u. HARASZTI, A.: Magy. Belor. Arch. 167 (1955).
- LISTER, L. M. u. BAKER, R. D.: Amer. J. Med. **17**, 851 (1954).
- MASUGI, M.: Beitr. path. Anat. **92**, 429 (1953).
- MC CREIGHT, W. G. u. MONTGOMERY, H.: Arch. Dermat. **61**, 1 (1950).
- MERRELL, M., SCHULMON, L. E.: J. Derm. Diseases **1**, 12 (1955).
- MORROW, J. F. et all.: Circulation **8**, 829 (1953).
- MIESCHER, P.: Bull. Acad. Suisse Sci Med. **10**, 85 (1954).
- MÖESCHLIN, S.: Sang **26**, 32 (1955).
- MONTGOMERY, H. u. MC CREIGHT, W. G.: Arch. Dermat. Syph. **60**, 356 (1949).
- MOORE, J. E. u. LUTZ, W. B.: J. Clorinic Dis. **1**, 297 (1955).
- MUEHRCKE, R. C. et al.: Ann. Rheumat. Dis. **14**, 371 (1955).
- MÜLLER, W.: Klin. Wschr. 1956, 1057.
- OSLER: cit. TURMULTY, P. A. u. HARVEY, A. Mc. G.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **35**, 47 (1949).
- PETRÁNYI, Gy., LEÖVEY, A.: Orv. Hetil. **94**, 1045. (1953).
- REICHES, A. J.: Ann. Int. Med. **46**, 678 (1957).
- RICH, A. R.: The Harvey Leet, **42**, 106 (1947).
- ROSS, S. W. u. WELLS, B.: J. clin. Path. **23**, 139 (1953).
- ROBINSON, W. D. et al.: Ann. Int. Med. **45**, 1059 (1956).
- REINHARDT, D. J. u. WALDRON, G. M.: J.A.M.A. **155**, 1491 (1954).
- SCACKMAN, N. H., SWILLER, A. J., MORRISON, M.: J.A.M.A. **155**, 1492 (1954).
- SHEARN, M. A., PIROFSKY, B.: A.M.A. Arch. Int. Med. **90**, 9790 (1952).
- SIEGENTHALER, W., HEGGLIN, R.: Ergebni. inn. Med. Kinderh. **7**, 373 (1956).
- SLONIM, N. B.: J.A.M.A. **154**, 1419 (1954).
- SMITH, J. F.: J. Path. **70**, 41 (1955).
- STANGTON, R. u. WELLS, G.: J. invest. Dermat. **14**, 37 (1950).
- SNAPPER, I. u. NATHAN, D. J.: Blood **10**, 718 (1955).
- SICKLEY, J. F., FRIEDMAN, I. A. FELDHAKE Ch., SCHWARTZ, ST O.: J. Lab. Clin. Med. **46**, 624 (1954).
- TALBOTT, J. H., FERRANDIS: Collagen Diseases, Grune & Stratton, New York 1956.
- TUMULTHY, P. A.: J.A.M.A. **156**, 947 (1954).
- WUHRMANN, F. F.: cit. MIESCHER, P.
- ZIMMER, R. E. u. HARGRAVES, M. M.: Proc. Mayo Clin. **27**, 434 (1952).
- ZINKHAM, W. H. u. CONLEY, C. L.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **98**, 102 (1956).

RESORPTION VON INSULIN UND ASTHMOLYSIN VON DER NASENSCHLEIMHAUT

J. HANKISS und Cs. HADHÁZY

I. MEDIZINISCHE KLINIK UND ANATOMISCH-HISTOLOGISCH-EMBRYOLOGISCHES-INSTITUT
DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT DEBRECEN, UNGARN

Eingangen am 20. December 1957.

Die Ursache des bei Novokaininfiltration vorkommenden Kollapses suchend, fand VENDÉG an Leichen [20], daß das in die Nasenscheidewand injizierte Methylenblau an der Gehirnbasis nachweisbar ist. KROMPECHER und Mitarbeitern machen die Verbindung der Nasenhöhle mit der Schädelhöhle zum Gegenstand eingehender Untersuchung [10] und stellten fest, daß bei der weißen Ratte zwischen der Nasenschleimhaut, des Näheren dem mittleren Dritteln des *septum nasi*, und der Schädelhöhle, bzw. dem Liquorraum eine unmittelbare Verbindung besteht [8]. Das unter die Nasenschleimhaut des *septum nasi* injizierte Methylenblau war in der Gegend des *lobus frontalis*, olfactorius und des Hypothalamus nachweisbar. Die Versuche wurden auch durch radioaktive Isotope ergänzt und bestätigt [14]. In größter Menge hat sich das Thorium B. im Hypothalamus angehäuft. Ferner stellten sie fest, daß, wenn Kindern ein mit Streptomycin durchtränkter Tampon in die Nasenhöhle eingelegt wurde, im Liquor ein viel höherer Streptomycinspiegel zu erzielen war, als durch intramuskuläre Verabreichung. Ein ähnliches Verhältnis fanden sie auch bei Meningitiskranken, wo die Permeabilität der Blutliquorschanke erhöht ist [10].

In der Pathologie und dem Klinikum sind zahlreiche Tatsachen bekannt, die diese Versuche zu bestätigen scheinen. Wir wissen, daß bei Diabetes insipidus-Kranken das Hypophysenhinterlappenhormon-Pulver von der Nase aus resorbiert wird. Die Anwendung von Glanduitrin durch Nasentampon ist in der Geburtshilfe wohlbekannt [9]. Endlich wissen wir, daß nach Inokulation einiger, das zentrale Nervensystem angreifender Virusarten (Encephalitis, Influenza, Heine-Medinsche Krankheit usw.) in die Nasenschleimhaut die entsprechenden Krankheitsbilder hervorgerufen werden können. Nach den Untersuchungen von REAGEN und Mitarbeitern [17] verursacht z. B. der intranasal instillierte Newcastle Virus ähnliche Symptome, wie nach intrazerebraler Infizierung.

Mit unseren gegenwärtigen Versuchen hatten wir die Absicht, die im vorigen erwähnten Untersuchungen auszubreiten, und verwandten dazu Stoffe, deren Wirkung leicht erkennbar ist.

Zuerst untersuchten wir die Resorption des Insulins von der Nasenschleimhaut. Seit der Entdeckung, bzw. Erzeugung dieses Mittels [1] suchten zahlreiche Forscher eine Möglichkeit um die Injektionsbehandlung zu vermeiden. Sie beobachteten die Wirkung des an verschiedenen Schleimhäuten und an der Haut angewandten Insulins, während andere Forscher sich bemühten, die Resorption des enteral gegebenen Hormons zu fördern — ohne jedes nennenswerten Ergebnisses. (Die diesbezüglichen Literaturangaben haben wir in Tab. I zusammengefäßt.)

Tabelle I

*Versuche zur Substitution der Insulinverabreichung in Injektionsform
(Zusammenfassung der Literaturangaben)*

Name des Verfassers	Art und Weise der Verabreichung	Ergebnis	Anmerkung
HARRISON [7]	oral	in einem Falle wirksam, in den übrigen nicht	ungeeignet
BERNHARDT [2]	oral	schwache Wirkung	Tierversuch
MILLER [12]	oral	unbefriedigend	—
SALÉN [18]	oral	minimale Wirkung	—
PAULESCO [15]	oral und rektal	ohne Wirkung	—
BLUM [3]	perlingual	schwache Wirkung	—
WINTER [22]	aus dem Magen	wirkt nur bei mit Alkohol behandeltem Hund, in Alkohol verabreicht	—
HACHEN [6]	intestinal	wird im Darm schnell abgebaut	Tierversuch
FISCHER [5]	intestinal	wirkungslos	—
STENSTRÖM [19]	rektal	wirkungslos	Fermentabbau?
PESKIND [16]	rektal	wirkungslos	—
MAURIAC [11]	intratracheal	bei Tieren gute, bei Menschen schwache Wirkung	—
COLMANT [4]	Aerosol	in der Hälfte der Fälle Verminderung des Blutzuckers, in der anderen Steigerung desselben	—
FISCHER [5]	vaginal	schwache Wirkung	—
MÜLLER [13]	intrakutan	Hypoglykämie bei Kaninchen	schwächere Wirkung, als bei subkutaner Verabreichung
WALLGREN [21]	perkutan Salbe	wird bei kleinen Kindern resorbiert	kostspielig

Unser Zweck war eigentlich kein therapeutischer : wir richteten unser Bestreben darauf, den Weg der in die Nase eingeführten Stoffe zu verfolgen. Dazu schien sich das Insulin zu eignen, dessen Wirkung auf den Blutzucker-

spiegel gut registrierbar ist. Wir probierten auch das Asthmolysin durch Nasentampon aus, da sich hier die Resorption des Mittels an klinischen Symptomen (Beseitigung des Anfalls) abmessen ließ.

Methode

Unsere Beobachtungen wurden einerseits an gesunden Menschen, anderseits an an Diabetes mellitus leidenden Patienten unternommen. Die Wirkung wurde durch Insulinbelastungskurven dargestellt. Nach Feststellung des nüchternen Blutzuckerwertes injizierten wir den Untersuchungspersonen 20 E. kristallinisches Insulin subkutan; dann bestimmten wir 1,5—2 Stunden hindurch viertelstündlich die Blutzuckerwerte nach Hagedorn—Jensen. Nach einigen Tagen gaben wir 20 E. kristallinisches Insulin denselben Patienten durch Nasentampon, und bereiteten, wie oben, eine Blutzuckerkurve, und verglichen die beiden Kurven. Die Reihenfolge war nicht immer die hier beschriebene: in anderen Gruppen führten wir den Nasentampon-Versuch früher aus, als denjenigen der subkutanen Injektion. In wieder anderen Fällen injizierten wir dieselbe Quantität von Insulin unter die Nasenschleimhaut des mittleren Drittels der Scheidewand. Als Kontrolle stellten wir auch Blindversuche mit physiologischer Lösung ein.

Auf dieselbe Weise führten wir an insgesamt 18 Hunden Untersuchungen durch. Bei 12 Hunden wurde das Insulin subkutan und in Nasentampon verabreicht; bei den weiteren 6 injizierten wir es unter die Schleimhaut der Nasenscheidewand, bzw. in die Zisterne.

Nebst Insulin führten wir auch Versuche mit Asthmolysin durch. Bei Anfällen von an Asthma bronchiale leidenden Patienten befeuchteten wir dünn zusammengedrehte Watte mit $\frac{1}{2}$ —1 Ampulle Asthmolysin und führten sie tief in die Nase hinein, der mittleren Nasenmuschel entsprechend. Nun forderten wir den Patienten auf, ein paarmal zu schnupfen. Das Maß der Resorption haben wir auf Grund der Lösung des Anfalls geschätzt.

Ergebnisse

Die Zusammenfassung unserer Hundversuche zeigt Abb. 1. Je eine Kolonne enthält die Angaben von 12—12, bzw. 6—6 Tieren. Wie ersichtlich, hat das subkutan gegebene Insulin (20 E.) den Blutzuckerspiegel um etwa 55% reduziert, die durch den Nasentampon eingeführte gleiche Menge von Insulin um 33%, d. h., daß die Wirkung des Nasentampons ungefähr 60% der subkutanen Wirkung ausmacht.

Abb. II gibt die individuellen Kurven eines Hundes an.

Wir versuchten die Resorption des in die Nase eingeführten Insulins auf verschiedene Weisen zu fördern. Mit dem aus der Ophthalmologie als ein die Lymphströmung förderndes Mittel bekannten Dionin vermochten wir die Resorption nicht wesentlich zu steigern. Da versuchten wir es mit Hyase, jedoch ohne Erfolg.

Als wir das pH des Insulins untersuchten, fanden wir es zwischen 5.1 und 5.3, d. h. sauer. Da die Flimmerbewegungen in saurem Medium abnehmen, neutralisierten wir die Lösung mit Natriumhydrocarbonat, doch vermochten wir damit keine Wirkungssteigerung zu erzielen.

Tabelle II zeigt die an gesunden Personen und an Diabetikern gewonnenen Werte. Die Kolonne des Nasentampons wurde auf Grund der Kurven von Diabetikern zusammengestellt. Die Wirkung des nasal injizierten Insulins betrug durchschnittlich 77% (von 58% zu 92%, in drei Fällen untersucht)

der subkutanen. Bei weiteren 7 Kranken probierten wir auch das mit Natriumhydrocarbonat neutralisierte Insulin, doch vermochten wir die Resorption in diesen Fällen auch nicht zu steigern.

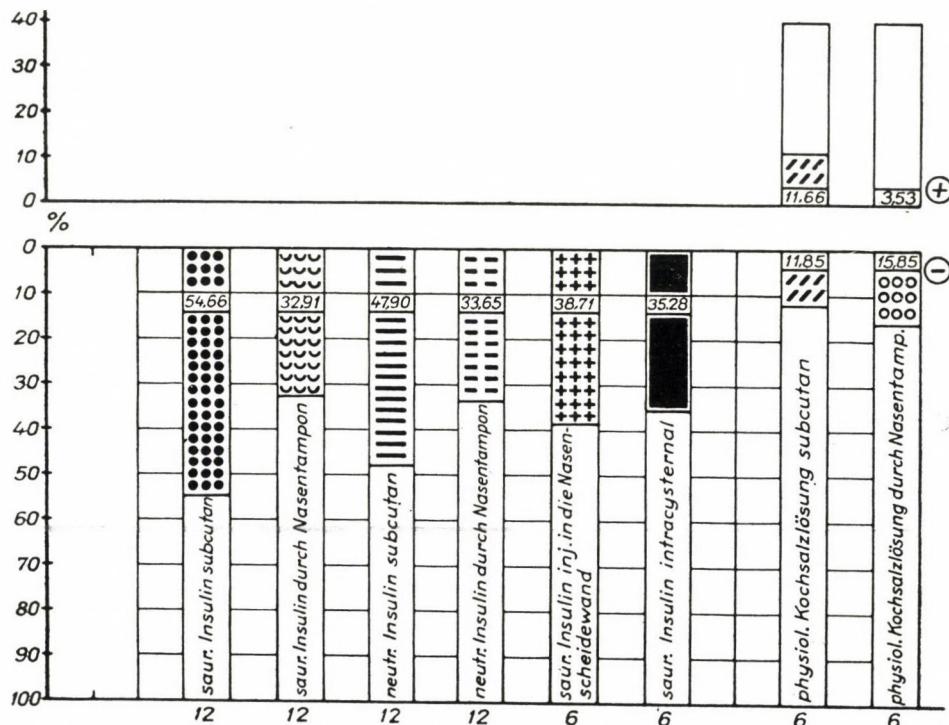


Abb. 1. Zusammenfassende Darstellung unserer mit Insulin an Hunden erreichten Ergebnisse. Erklärung der Zeichen: Der Blutzuckerwert vor Verabreichung des Insulins wurde für „0“ genommen. Die Blutzuckersenkung bzw. Steigerung wurde prozentuell angegeben. (—) bedeutet Blutzuckersenkung, (+) Blutzuckersteigerung. Die Zahlen unter der Ordinate geben den Zahl der Versuchstiere der einzelnen Serien an. Der Durchschnittswert der Prozentzahlen der Tieren ist in den Kolumnen sichtbar

Es sei noch darauf aufmerksam gemacht, daß eine große Schwankung in der Wirkung des Nasentampons je nach Individuen besteht (von 17 bis 110% in 22 Fällen).

Die Ergebnisse unserer mit Asthmolysin unternommenen Versuche zeigt Tabelle III.

Diskussion

Unsere, mit Insulin und Asthmolysin durchgeführten Untersuchungen zeigen, daß diese Mittel von der Nasenschleimhaut resorbiert werden. Die Wirkung des in Nasentampon gegebenen Insulins erreicht bei Diabetikern etwa 53% derjenigen des subkutan verabreichten, bei Hunden etwa 60%.

Das unter die Schleimhaut der Nasenscheidewand injizierte Insulin hat die Wirkung des subkutan verabreichten nicht ganz erreicht, diejenige des Nasentampons jedoch übertroffen. Zweifellos bleibt ein Teil des Insulins im Nasentampon zurück. Die Unterschiede dürften auch durch den komplizierteren Weg der Resorption erklärt werden.

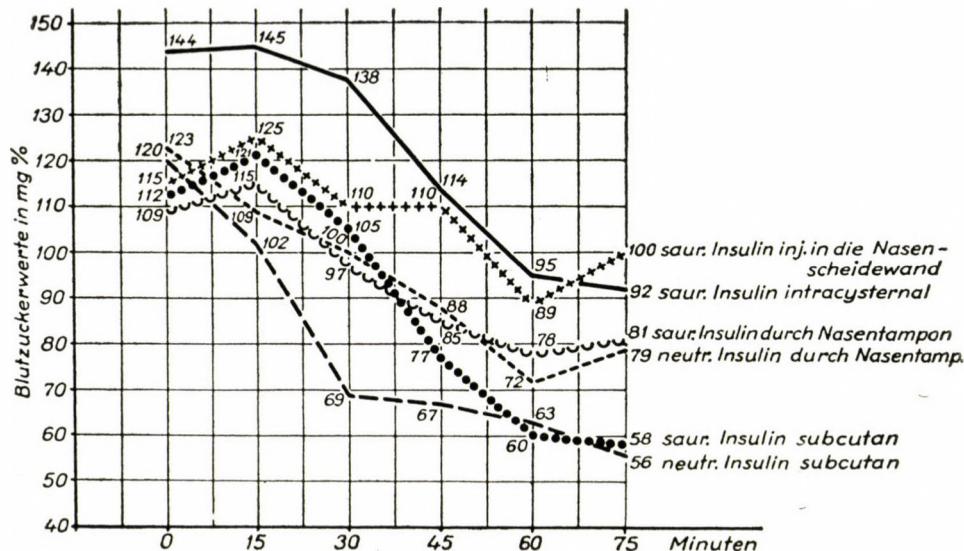


Abb. 2. Belastungskurven eines Hundes nach verschiedenen Anwendungsformen von Insulin

Wir vermögen auf die Frage, wie viel Einheiten von Insulin aus dem Tampon resorbiert worden sind, keine Antwort zu geben, da wir die zurückgebliebenen Menge nicht bestimmen konnten.

Die Vergleichung der Blutzuckerwerte nach Verabreichung von Insulin durch die Nasenschleimhaut und mittels zisternaler Injektion kann uns in

Tabelle II

Insulinresorptionsversuche an Menschen, in % der durchschnittlichen Blutzuckersenkung ausgedrückt
Die Blutzuckersenkung wurde prozentuell ausgedrückt: der Blutzuckerwert vor Anwendung des Tampons diente als Grundwert und der tiefste Punkt der Blutzuckerkurve als zweiter Wert. Erklärung z. B. zur Kolumne IV: 15 an Diabetes mellitus leidenden Patienten wurde Insulin im Nasentampon verabreicht und es erfolgte eine Blutzuckersenkung von 20%

I.	II.	III.	IV.	V.
Insulin			Insulin und Hyase	
subkutan injiziert		nasal injiziert	Nasentampon	Nasentampon
Gesunde	Diabetiker	Diabetiker	Diabetiker	Diabetiker
16 Fälle	21 Fälle.	3 Fälle	15 Fälle	6 Fälle
38%	34%	26%	20%	15%

Tabelle III

Wirkung von in Nasentampon gegebenen Asthmolysin auf den Asthmaanfall

Asthmaanfall	Zahl der Fälle	Anmerkung
gelöst.....	8	an 1 Patienten 8mal wiederholt
nahm stark ab	4	bei 1 Patienten 4mal wiederholt
nahm ab.....	5	bei 2-en davon wiederholt
linderte sich.....	4	
kaum beeinflußt	3	bei 1 Kranken wiederholt
unverändert	3	
insgesamt	27 Fälle	

Physiologisches NaCl in Nasentampon:

wirkungslos	6	
schwache subjektive Wirkung	1	(an demselben Krankenmaterial angewendet)

dieser Hinsicht gewisse Stützpunkte liefern. Weitere Versuche mit einer neuen Methodik sollen diese Frage genauer beantworten.

Mit der zisternalen Verabreichung bezweckten wir einerseits die Klärung der Frage, ob der Weg des aus dem Nasentampon resorbierten Insulins durch den Liquorraum führt, und anderseits beabsichtigten wir Angaben über den Wirkungsmechanismus des von der Nasenschleimhaut resorbierten Insulins zu gewinnen. Da die auf diese Weise erreichten Werte zumeist niedriger waren als die nach subkutaner Injektion gewonnenen, kann das Insulin wohl kaum einen direkten Einfluß auf das Nervensystem ausüben.

Auf Grund unserer Untersuchungen dürfen wir wohl behaupten, daß die nasale Anwendung des Insulins therapeutisch — wenigstens in klinisch-spitalmäßiger Beziehung — nicht in Frage kommen kann. Die Wirkung ist halb so groß wie nach Injektion, und dazu noch sehr veränderlich; sie wird außer der Stelle des Tampons auch durch den Zustand der Schleimhaut in großem Maße beeinflußt.

Das Asthmolysin hat sich gut bewährt und in einigen Fällen unbedingt wertvolle Hilfe geleistet. Es ist geeignet die Hausapotheke des Kranken zu ergänzen. Diese Art der Anwendung dürfte bei *status asthmaticus* — besonders wenn die schnell eintretende gefäßverengernde Wirkung unerwünscht ist (bei Coronarsklerose) — geeigneter sein, als die Injektionsmethode.

Unsere Versuche haben den Weg der Resorption der in die Nase gelangenden Wirkstoffe noch nicht geklärt. Auf Grund der uns zur Verfügung stehenden Angaben haben wir mit folgenden Möglichkeiten zu rechnen. Der Stoff

1. gelangt unmittelbar in das Gefäßnetz;

2. wird durch die submandibularen, sublingualen, zervikalen, bzw. retropharingealen Lymphknoten in den *truncus lymphaticus dexter* bzw. *sinister* befördert;
3. gelangt durch unmittelbare Lymphwege in das *cavum subarachnoidale*;
4. perivascular, bzw. perineural in das *cavum subarachnoidale*.

Wir möchten die Aufmerksamkeit besonders auf diese letzte Möglichkeit lenken. Die Ergebnisse von KÓSA, FÖLDES und OROSZ [8] eröffnen die Perspektive, auf diesem Wege den Effekt solcher Stoffe messen zu können, die ihre Wirkung unmittelbar an den Hypothalamus ausüben.

Von therapeutischem Gesichtspunkt ist es aber nicht ausgeschlossen, daß bei nasaler Anwendung dieser Mittel mit Fraktionen der üblichen Dosen Ergebnisse erzielt werden können (Sedativa, Hypophysen-Hemmittel, Mittel, die auf das Vaguszentrum wirken, usw.). Anderseits werden die Gehirnzentren mit solchen Stoffen erreichbar, deren periphere Wirkung nicht erwünscht ist oder toxische Symptome hervorrufen kann.

In weiteren Versuchen beabsichtigen wir die Resorption biologischer Stoffe von der Nasenschleimhaut zu verfolgen. Wir wollen den Weg der Resorption untersuchen und auch die eventuelle Anhäufung der resorbierten Wirkstoffe in den verschiedenen Gebieten des Gehirns. Diese Versuche sollen auch die Frage klären, ob der von der Nasenschleimhaut resorbierter Stoff in den Liquorraum gelangt, oder nicht. Auch die Entscheidung der Frage, auf welchem Wege die zisternal gegebenen Wirkstoffe in den peripheren Kreislauf gelangen, wird von Wichtigkeit sein. Diese Untersuchungen sind im Gange.

ZUSAMMENFASSUNG

An gesunden Personen und an Diabetikern vorgenommene, dann durch Hundevereuche ergänzte Untersuchungen zeigen, daß Insulin und Asthmolysin in wirksamer Menge von der Nasenschleimhaut resorbiert werden. Mittels Verabreichung von 20 E. kristallinischen Insulins durch Nasentampon erreichten wir bei Hunden durchschnittlich 60%, bei Menschen 53% der subkutanen Wirkung.

Die Resorption vermochten wir mit Dionin, Hyase, oder der Änderung des pH des Insulins nicht zu steigern.

Das Verfahren ist für Zwecke der Insulintherapie nicht geeignet.

Das Asthmolysin wird aus der Nase resorbiert, ja es lindert oder behebt den typischen Asthmaanfall, darum ist die Methode auch im Klinikum verwendbar.

LITERATUR

1. BANTING F. G., BEST C. H.: Amer. J. Physiol. **59**, 479 (1922).
2. BERNHARDT H.: Ztschr. Klin. Med. **104**, 767 (1926).
3. BLUM L.: C. R. Soc. Biol. **91**, 199 (1924).
4. COLMANT H. J.: Medizinische, No. **45**, 1510 (1954).
5. FISCHER N. F.: Amer. J. Physiol. **67**, 65 (1923).
6. HACHEN D. S., MILLS A. C.: Amer. J. Physiol. **65**, 395 (1923).
7. HARRISON G. A.: Brit. Med. J. No. 3286, 1204 (1923).

8. KÓSA Cs., FÖLDES I., OROSZ A.: *Acta Morph. Hung.* **7**, 361 (1957).
9. KOVÁCS F.: Gyakorlati és műtétes szülészet. Debreceni Egyet. Nyomda, S. 117, (1944).
10. KROMPECHER I., FORNET B., FÖLDES I., HADHÁZY Cs., OROSZ Á., KÓSA Cs., TÓTH G., HANKISS J., FILIPP G., KÖVÉR B., KECKSÉS J.: *Acta Physiol. Hung.* **6**, 56 (1954).
11. MAURIAC P., GANDY A.: *C. R. Soc. Biol.* **93**, 1524 (1925).
12. MILLER H. R.: *Arch. Int. Med.* **38**, 779 (1926).
13. MÜLLER E. F.: *Münch. med. Wschr.* **71**, 813 (1924).
14. OROSZ Á., FÖLDES I., KÓSA Cs., TÓTH G.: *Acta Physiol. Hung.* **9**, 55 (1957).
15. PAULESCO N. C.: *Arch. Internat. Physiol.* **21**, 215 (1923).
16. PESKIND S.: *Journ. metab. res.* **6**, 207 (1924).
17. REAGEN R. L. et al: *Proc. Soc. exp. Biol.* **71**, 293 (1949).
18. SALÉN E.: *Acta Med. Scand.* **60**, 74 (1924).
19. STENSTRÖM TH.: *C. R. Soc. Biol.* **90**, 518 (1924).
20. VENDÉG V.: Cit. Rusznyák I., Földi M. und Szabó Gy.: *Physiologie und Pathologie des Lympfkreislaufes*. Ungarische Akademie der Wissenschaften. Budapest, S. 173 (1957).
21. WALLGREN A.: *Münch. med. Wschr.* **71**, 10 (1924).
22. WINTER L. B.: *J. Physiol.* **58**, 18 (1923).

RETICULOSES AND EXPERIMENTALLY INDUCED RETICULOSES DUE TO STORAGE OF METHYLCELLULOSE

By

S. BENKŐ

1st DEPARTMENT OF MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY,
SZEGED, HUNGARY,

(Received January 31, 1958)

I

The concept of the reticuloendothelial system has been created by ASCHOFF [3]. This system is composed of multipotential mesenchymal cells scattered in the organism. They stain vitally by acid dyes; they are able to phagocytize and store colloidal, corpuscular foreign substances. The system consists of the reticulum cells, histiocytes, the sinus endothelial cells of the bone marrow and spleen, the red pulp cells of the spleen, the endothelial sinuses of the lymph nodes, the Kupffer cells, and the endothelial cells of the adrenals and the pituitary. Later it has been observed that these different cells are not quite equivalent as regards storage and other functions. The histiocytes, which are derivatives of the less differentiated reticulum cells, possess in the first place the capacity of storing. In addition, the different cells do not respond in the same way to various stimuli. Sometimes it is the enhanced function and proliferation of the reticulocytes, sometimes that of the endothelial cells and another time that of the histocyte-system which predominates. Accordingly, the terms reticuloses, endotheliosis and histocytosis should be used. Considering the relation between the reticulum cells and the histiocytes, ROHR [5] does not approve of the tripartition, and advocates to denote the system in question reticulo-histiocyte-system instead of reticulo-endothelial system. In the present study we abide by Aschoff's original concept, considering that in our experiments the reticulum cell, histiocyte, and endothelial cell systems have been equally involved.

The reticulo-endothelial system exerts a very complicated function. This follows from its complexity and extremely high potency, as well as the activity of its cells. Of its functions, the defensive one recognized by METSCHNIKOFF [1, 2] is the most important. The reticulo-endothelial system integrates the defense mechanism taking place in the organism (HEILMEYER, 6), by cellular and humoral defense against the infectious agents and foreign corpuscular substances gaining access to the body (DOAN, 7). Cellular defense manifests itself with local and general inflammatory reactions and with phagocytosis. Storage, *i. e.* the accumulation of the foreign or superfluous or reserve substances of the organism, is in close connection with phagocytosis. Humoral

defense is related to protein formation. The reticulo-endothelial cells form the immune globulins. Not only foreign corpuscles, but also the obsolete, injured erythrocytes and leukocytes are phagocytized and completely decomposed by the system. The same system exerts an intense cell forming function, the cellular components of the bone marrow, of the spleen and of the lymph nodes being also of reticular origin. Its further functions are protein- and bilirubin formation, the decomposition of haemoglobin, the production of heparin, the storage of iron and copper, and, finally, its supporting structural function as connective tissue (HALPERN et al., 8; JANCSSÓ, 9).

The proteins in the body are contained both in the cells and extracellularly. The extracellular proteins are those of the blood plasma. According to shape, there are globular proteins — like albumin and globulin — and structural proteins with a fibrillar structure — like the fibrinogen in the plasma and elsewhere keratin, collagen, elastin (KENDREY, 10; HUGHES, 11). The proteins of the plasma are built up by the cells of the reticulo-endothelial system [11, 12]. The formation [12, 13] of some of the albumins, of prothrombin, the accelerating factors of coagulation and part of the fibrinogen takes place in the liver, presumably in the Kupffer cells. Fibrinogen is also produced by the bone marrow [14]. Most of the globulins are formed outside the liver, in the bone marrow, spleen and lymph nodes [13, 15]. The immune globulins — gamma globulins — originate in the plasma cells [16, 16, 18, 19, 20] and in the lymphocytes [21, 22]. To build up the protein molecules, amino acids, protein forming enzymes, energy and a pattern of the structure (templat) are needed. After the incorporation of amino acids, protein forming enzymes carry out their linkage by means of suitable co-factors. The energy for the process is supplied by ATP, and ribonucleic acid serves as a pattern for the structure [23, 24, 25]. Protein formation in the cells takes place in the micro-somes. A change of the plasma colloid-osmotic pressure is an important stimulus for the substitution of plasma protein. The formation of immune globulins is elicited by the access of antigen into the circulation. It may be assumed that the centre of regulation of protein formation is in the hypothalamus [26].

A pathologic function and change in the reticulo-endothelial system can be brought about in two ways. There may arise in the organism processes which set increased tasks for the system, such as extensive intravasal haemolysis initiating a rapid decomposition of haemoglobin and enhanced bilirubin formation; massive bacterial infection inducing an enhanced defense reaction; the access of great amounts of corpuscular or colloidal substances giving rise to increased phagocytosis and storage. Haemochromatosis, a disorder in the absorption of iron, may lead to massive pigment storage. Extensive haemorrhage mobilizes cell formation. All these processes may lead secondarily to an increased, possibly pathological, function of the corresponding cells of the reticulo-endothelial system.

There are irritants, *e. g.* viral and other infections, toxic agents and unknown aetiological factors which affect primarily the reticulo-endothelial elements, bringing about in them proliferative, or degenerative changes. In consequence, the function of the damaged reticulo-endothelial system will be disturbed, causing further injury to the whole organism, or to some of its parts. The proliferative and degenerative change of the system may be termed reticulo-endotheliosis, or, briefly — perhaps not quite correctly — reticulositis. In this sense reticulositis is a general pathologic concept including all degenerative and proliferative diseases of the reticulo-endothelial system. In the case of a degenerative reticulositis, even if it is transient, a decreased, or deficient function of the corresponding reticulo-endothelial elements must be taken into account. Proliferative reticulositis may involve increased and pathological function. If the proliferating cells suppress the normal elements, a diminished, and possibly a pathologic function of the system ensues.

So far, the concept degenerative reticulositis has not been used in the literature, although the destruction of the reticulo-endothelial system by various noxious influences has long been known. The main morphological sign of proliferative reticulositis is a proliferation of the reticulo-endothelial elements. This may occur in different infectious diseases, such as virus infection, tuberculosis, syphilis, brucellosis, kala-azar, subacute bacterial endocarditis, rheumatic fever, etc., and in chronic inflammation of unknown aetiology, such as collagen diseases. In such cases the reticulositis is associated with a well defined disease. The origin of reticuloses accompanied by accumulation of lipids or glycogen is unknown, quite as of those associated with tumorous haematologic proliferation and leukaemia. According to extension, circumscribed and diffuse, according to the course, acute and chronic, types may be distinguished. From the patho-histologic aspect there are hyper-, meta- and neoplastic reticuloses. According to the type of the proliferating cells there are reticular, plasmacytary, histiocytary, monocytary and basophil reticuloses (BARTA J. 27). OBERLING [28] mentions pure reticulositis and an associated form; MEYER [29], autochthonous and secondary ones. ROHR [4] distinguishes reactive, accumulative, tumorous and leukaemic reticuloses; BARTA [27], reticuloses connected with pathologic storage, granulomatous disease, systemic generalised disease, leukaemia, and with bone marrow tumours.

In reticulositis the physiological functions, of the reticulo-endothelial system undergo a change. They may weaken. Defense, antibody production, the inflammatory reaction, protein and cell formation decrease and become manifest as aplastic anaemia and pancytopenia. Bilirubin formation and the storage of iron may also diminish. It may also occur that the function of some of the components of the reticulo-endothelial system is enhanced. Phagocytosis, storage, protein and blood cell formation may be increased and a leukaemia-like proliferation appears. One of the manifestations of the increas-

ed function is hypersplenism which may inhibit the function of the bone marrow or lead to haemolysis, to "total" or "partial" cytopenia in the blood. Another manifestation of the damaged reticulo-endothelial system is a considerable change in the composition of plasma proteins, — dysproteinaemia, — or the appearance of pathologic protein in the plasma, — paraproteinaemia, — and the formation of irregular antibodies.

The changes of the plasma proteins which are due to protein deficiency, disorders of digestion and absorption, or to increased loss of protein, are not included among the dysproteinaemias; they may cause hypalbuminaemia or hypoproteinaemia.

The different elements of the reticulo-endothelial system are responsible for the formation of various protein fractions. Hence the protein pattern which appears may be very variable. Instead of going into details we refer to the monograph of WUHRMANN and WUNDERLY [12].

One of the ways of the intense proliferation of the immune globulins is that the responding reticulo-endothelial system is exposed to a strong antigenic stimulus. The antigen alters the enzyme system responsible for the formation of the immune globulin. (SEVAG, 30; McBURNET, 31; PAULING, 32). One of the large groups of the dysproteinaemias is that of hypo- and a-gamma-globulinaemia, the other is Waldenström's hyperglobulinaemia. In the first group a considerable congenital or acquired damage of the reticulum is assumed, in the second group reticulosclerosis, associated with enhanced globulin formation, may be involved. Pathologic proteins are: macro-, kriko-, pyroglobulins, Bence-Jones protein, myeloma protein, amyloid and paraamyloid. Krioglobulins have been described by WINTROBE and BUELL [35], and the macroglobulinaemias by WALDENSTRÖM [34]. According to MACKAY [36] et al, the macro- and krioglobulins form in some way in the damaged reticulo-endothelial system. It is conceivable that some virus, foreign substance, toxic agent, gaining access into the reticuloendothelial cells change the protein forming enzyme system, or the surface determining the structure, so that pathologic protein molecules will be formed.

It is known that the so-called immune haematologic diseases are caused by autoantibodies (TZANCK, DUSSET 37, BENKŐ 38). The autoantibodies are pathologic, irregular antibodies, according to HENNEMANN [39, 40], pseudo-antibodies, which are closely related to the paraproteins. SCHUBOTE [41] even considers them to be paraproteins. In the opinion of STEFANINI [42], the auto-antibodies are formed by a pathologic reticulo-endothelial system on the action of a pathologic stimulus due to the autoantigen.

We believe that the dysproteinaemias, paraproteinaemias and the irregular autoantibodies are produced by degenerative or proliferative reticulosclerosis. The appearance of pathologic proteins points to a pathologic reticulo-endothelial system, and in this sense it has a diagnostic importance.

If it is accepted that pathologic functions bring about the described changes, it may be assumed that their appearance in patients points to the presence of some kind of reticulososis. Thus, a pathologic plasma protein pattern, a reduced defense against infection, certain forms of deficient haematopoiesis, cytopenias, hypersplenism, etc., may result from reticulososis, and if they are considered as syndromes they may constitute the basis for the functional diagnostic of reticuloendothelial diseases. The morphological detection of reticulososes is rendered possible by biopsy of the bone marrow, spleen, liver and lymph nodes (BARTA, 27).

For experimental pathophysiologic studies of the reticulo-endothelial system two methods are generally used. One consists of stimulation with some substance, such as histamine, acetylcholine, an extract of bacteria (*Salmonella* extract), a small dose of Bogomolets' serum. The other method paralyzes the system with electrocolloidal copper, thorotrust, radioactive carbon particles, cortisone, dyes. In a stimulated or blocked condition the changes in the function of phagocytosis, storage, immune substance formations and cell formation, etc. are examined (JANCSÓ, 9; HALPERN, 8).

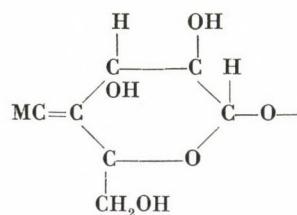
II

Some dyes like trypan blue, Congo red, etc., and some substances such as heparin, carbon hydrate polymeres, gum-arabic, dextran, methylcellulose, polyvinyl-alcohol, polyvinyl-pirrolidone, protein substances, furthermore gelatine and foreign proteins accumulate permanently in the reticuloendothelial system, bringing about partly its degenerative destruction and partly its considerable hyperplasia and proliferation (JANCSÓ 9, HALPER 8). Degeneration and proliferation due to experimental storage should be looked upon as reticulo-endotheliosis — reticulososis. Experimentally induced reticulososes are most significant and interesting from the pathologic and clinical point of view as they show many characteristics of the reticulososes developing spontaneously in the human and animal organism. Numerous authors have dealt with experimental storage reticulososes, although this term is used for the first time in the present paper. Among others, HUEPER [43, 44] established in his experiments with polyvinyl pyrrolidone, acacia, gelatine and other macro molecules that these substances are generally stored in the reticuloendothelial system and cause its considerable hypertrophy, proliferation and destruction. In addition to the changes of the vessels, anaemia, leukocytosis, enhanced erythrocyte sedimentation and a decrease in the serum protein level occur. This syndrome was termed by HUEPER [43, 44] macromolecular haematologic syndrome.

Thus, macromolecular storage brings about reticulososis and a syndrome resulting from it, a pathologic process very similar to spontaneous human reticulososis.

The purpose of the experiments described below was to study reticulosis induced by macromolecular storage. The examinations were carried out in rats treated with methylcellulose. This substance was chosen for two reasons. In the first place, because, according to our own experience, it is stored excellently and causes hyperplasia of the reticulo-endothelial system, and also, as the pathologic consequences of its storage have so far received little attention and only a few details of this problem were studied. The morphology of methylcellulose storage and the effect it exerts on the haemopoietic system, the plasma proteins, the formation of immune substances and on the coagulatory factors was examined.

The chemical structure of the methylcellulose carbon hydrate polymer is :



Methylcellulose consists of the ether polymer of the above complex, its molecular weight is 82 000 and its degree of polymerization 480. In a dry state it is a yellowish-white, granular, fibrous substance, which in water is well soluble forms a gel and yields after 48 hours a homogeneous, mucous substance which can be injected. It should be stored cold. For injecting, an aqueous solution of 2,5 per cent is the one most suitable.

JUNG and BRIZIARELLI [46], RÖSSLÉ [47], HUEPER [45] and others [48, 49, 50] found that methylcellulose is rapidly stored in the reticulo-endothelial system and causes considerable reticulo-endothelial proliferation. The substance is also stored by the pulmonary vessels and the renal capillaries.

The morphological examinations were performed by Kovács. In the course of the experiments about 600 rats treated with methylcellulose were examined. The animals were of both sexes and weighed 180—200 g each. One ml of a 2.5 per cent solution of methylcellulose was injected intraperitoneally twice a week for 4—5 weeks. The animals which had died or had been sacrificed at the end of the experiment were dissected and histological examinations were carried out. On gross examination the following changes were observed.

The omentum was thickened, the peritoneum in some places had lost its smoothness, the size of the spleen was double or three times the normal, on the capsule of the spleen and the liver signs of perisplenitis and perihepatitis were present. Histology revealed pronounced storage in the reticulum cells of the spleen and in the red pulp. These cells were swollen and in some

places decomposed. Simultaneously, the follicles atrophied (Photo 1). In the spleen, giant cells, of the foreign body cell type were also seen.

In the liver the number of Kupffer's cells was significantly increased. The reticulo-endothelial cells of the adrenal and the cells of the glomerular capillaries also contained methylcellulose. In the lumen of the tubules there were methylcellulose casts. The glomerules of the kidney reminded one of the

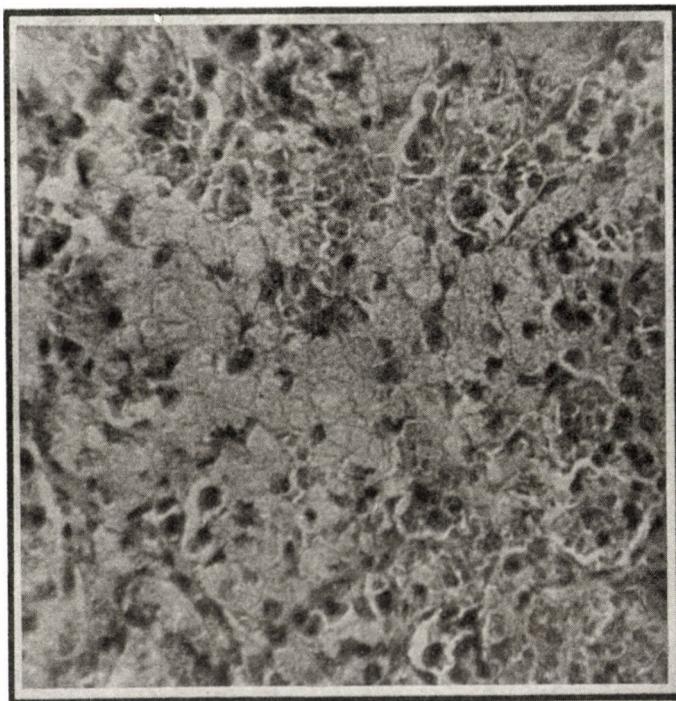


Photo 1. Spleen of rat treated with methylcellulose

pattern in the Kimmelstiel—Wilson syndrome. The experiments performed with cortisone (KOVÁCS, HORVÁTH and BENKŐ, 52) revealed an enhanced storage in the renal glomerules.

Histologically, methylcellulose was easily demonstrated by means of Congo red, according to the method of HORVÁTH and Kovács [51], when the stored substance stained a vivid red (Photo 2.).

The extent of methylcellulose storage is best expressed by the weight of the spleen calculated for 100 g body weight. Table 1. shows that, on treatment with methylcellulose, the weight of the spleen increased gradually. The quotient spleen weight per body weight increased after 8 days' treatment to more than double the original.

These data indicate that the reticulo-endothelial system stores considerable amounts of methylcellulose. Simultaneously, signs of hyperplasia, proliferation and degeneration develop in the system, so that the phenomenon may be termed storage reticulososis.

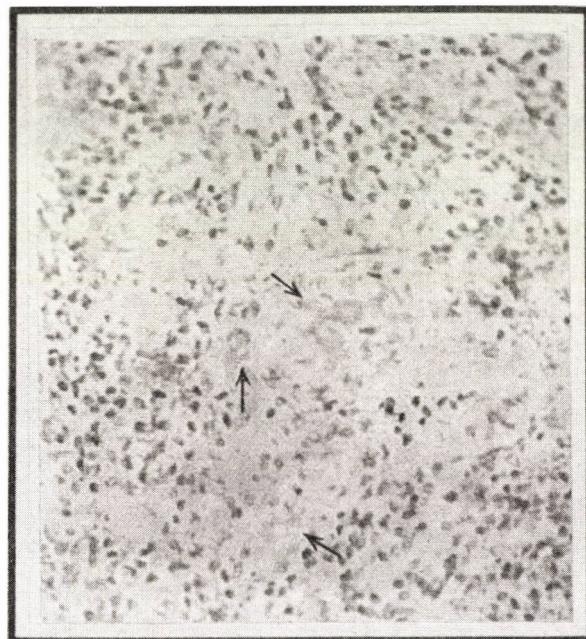


Photo 2. Spleen of rat treated with methylcellulose, stained with Congo red.
The stored methylcellulose shows a vivid red colour

Next, the functional consequences of reticulososis due to methylcellulose storage were investigated.

The haematological effect of storage was studied by ANDRÁSI, CSAPÓ and KECSE-NAGY [53] on the basis that PALMER et al. [48], as well as GIBLETT

Table I

The extent of methylcellulose storage expressed in spleen weight calculated for 100 g body weight

No.	Group	No. of animals	Average body weight g	Spleen weight mg calculated for 100 g body weight		Probability
I.	Controls	17	178.5 ± 11.0*	270.7 ± 16.8	—	—
II.	Methylcellulose one day	10	152.5 ± 1.7	331.6 ± 13.3	I/II.	0.02 > p > 0.01
III.	Methylcellulose 8 days	14	160.4 ± 5.6	592.1 ± 44.4	I/III.	p < 0.001
IV.	Methylcellulose 33 days	11	162.3 ± 8.1	572.9 ± 60.1	I/IV.	p < 0.001

* Mean error.

et al. [49], observed splenomegaly, marked anaemia and leukocytosis in rats treated with methylcellulose.

Blood and bone marrow counts were studied in 15 animals treated with methylcellulose, in 15 splenectomized animals treated with methylcellulose and in 10 control animals. Methylcellulose was administered for 5 weeks.

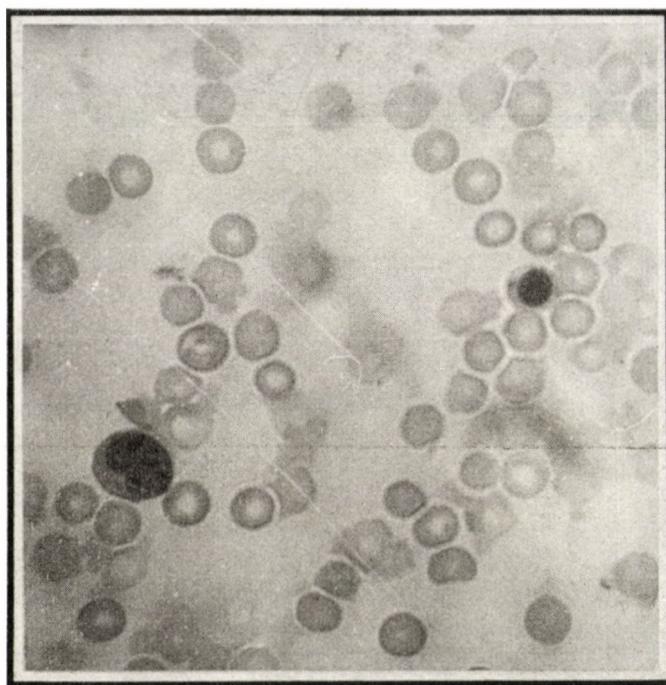


Photo 3. Blood smear of a rat treated with methylcellulose. Normoblasts in the peripheral blood

The findings will be reported in detail elsewhere, now only the final results will be described in brief. In the first and second groups there was a moderate decrease (by about 1.5 million) of the erythrocyte count. The leukocyte count rose from an average of 10 000 to 40 000.

The qualitative count showed a moderate shift to the left. There was a considerable rise in the reticulocyte count, from 1.5 per cent to 12.6 per cent in the first group, and from 1.5 per cent to 7.7 per cent in the second. In the peripheral blood normoblasts appeared in both groups (Photo 3.). In the bone marrow erythropoiesis was enhanced (Photos 4., 5.). Whereas in normal animals the myelopoietic cells amount to 52—56 per cent and the erythropoietic ones to 42—44 per cent, in the first group the erythropoietic cells numbered 64 per cent; in the splenectomized group, 49 per cent; whereas

in the controls, 42 per cent. The osmotic resistance of the erythrocytes decreased significantly in the first and second groups, the Coombs-test carried out with anti-rat globulin rabbit serum was negative.

Thus, administration of methylcellulose resulted in haemolysis, a decrease of the erythrocyte count, reticulocytosis, increased erythrocyte forma-

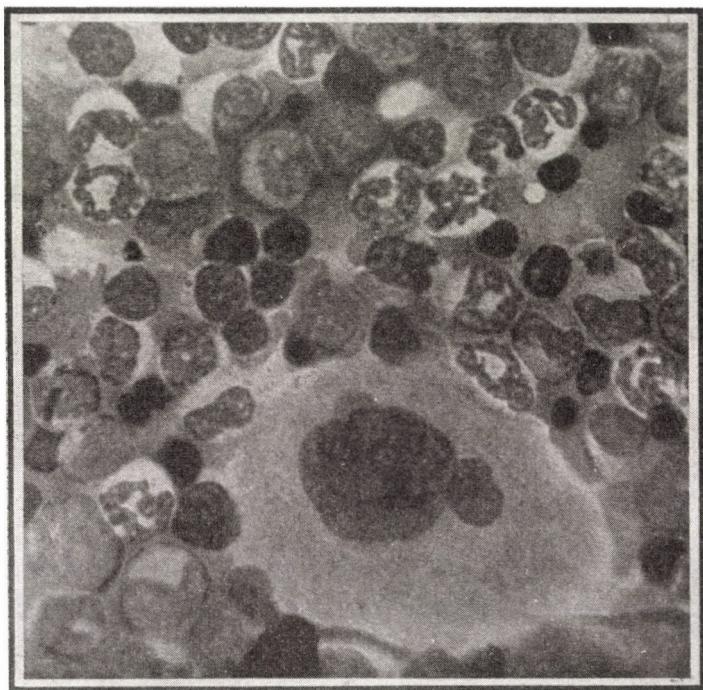


Photo 4. Normal bone marrow of a rat

tion and decreased osmotic resistance. The same took place in the splenectomized group, but to a smaller extent. It is believed that haemolysis was due not only to the storage hypersplenism, but also to other factors, perhaps to a change in plasma protein, the more so as splenectomy did not inhibit the effect.

In recent years, numerous authors have studied the alterations of plasma protein following administration of macro molecules [54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61]. Considering the significant morphological changes brought about by methylcellulose in the reticulo-endothelial, the protein-forming system, — it has been thought necessary to study the plasma proteins following administration of methylcellulose. These examinations were carried out by FRÖHLICH and BALÁZS [62]; Kovács and TISZAI [62a].

Rats weighing 170—200 g each were treated twice a week with 1 ml of a 2.5 per cent solution of methylcellulose intraperitoneally for 5 weeks. In each case significant storage resulted. The composition of serum proteins was examined before and after treatment both in the treated animals and in the controls, by paper electrophoresis. As compared with the controls, the

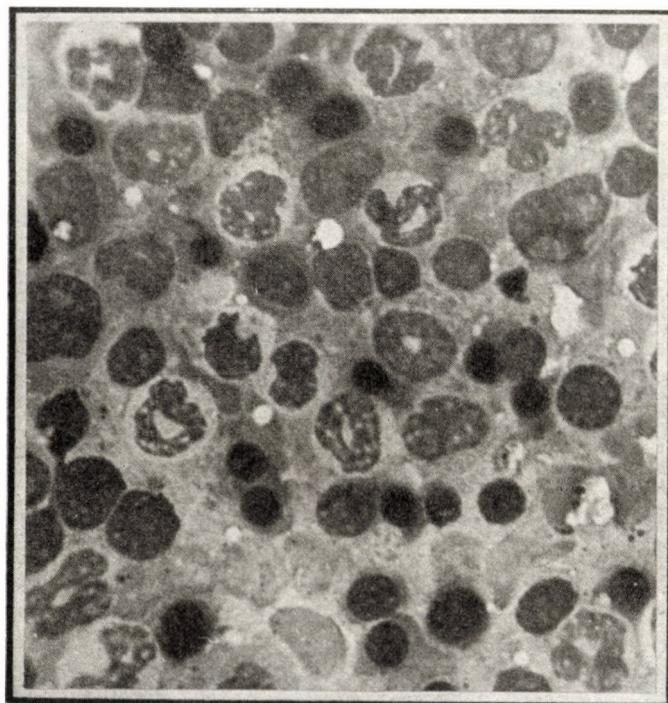


Photo 5. Bone marrow of rat treated with methylcellulose. Increased erythropoiesis

Table II
The quantitative change of the protein fraction

Protein	Average value of the protein fraction in g per 100 ml		Average difference	Probability
	before treatment	after MC administration		
alb.	2.56	2.03	-0.52 ± 0.148*	
α	1.37	0.85	-0.55 ± 0.104	
β	1.05	0.59	-0.46 ± 0.080	<i>p</i> < 0.01
γ	2.33	2.85	+0.59 ± 0.185	
total protein	7.31	6.32	-1.12 ± 0.192	

* Mean error Time of treatment: 33 days, No. of animals 26.

sera of the treated animals showed at the end of the experiment a significant difference. Total protein content, albumin, alpha and beta globulin fractions decreased significantly, whereas gamma globulin was increased (Fig. 1 and Table 2). The most striking qualitative deviation was a distinct new band between the beta and gamma globulin zones (Photo 6). This band was eluted

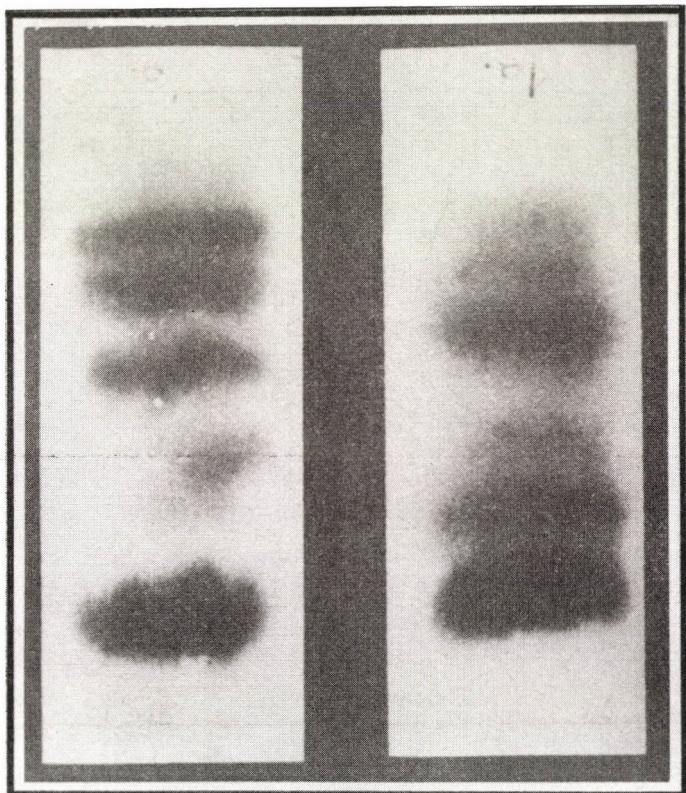


Photo 6. The effect of methylcellulose storage on plasma proteins. Paper electrophoresis. On the left, before treatment with methylcellulose. On the right, after treatment

and estimated together with gamma globulin. The increase in the gamma globulin value was due to this new fraction. If electrophoresis was carried out with Antweiler's method, a new fraction was observed on the descending branch of the gamma globulin, which was better separated in this way from gamma globulin than by paper electrophoresis and consisted probably either of T or β_2 globulin. By the apparatus of Tiselius a similar picture was obtained. If the methylcellulose had been added *in vitro* to the rat sera and incubated for 2 hours, the above change was not exhibited by paper electrophoresis.

In view of the fact that, beside a decrease in the gamma globulin and albumin fractions, the new fraction reminds one of the electrophoretic change of the hyperimmunized horse serum [63], it was examined whether or not methylcellulose possesses antigenic characteristics. It was found that the sera of treated rats precipitated at a dilution of 1:8 and the methylcellulose solution at 1:8. This raised the possibility of an antigenic character of the substance and also that the new protein fraction was simply an anti-methylcellulose antibody. Furthermore, we examined by means of the agar-gel diffusion method of Oudin and Grabar whether the new fraction does possess

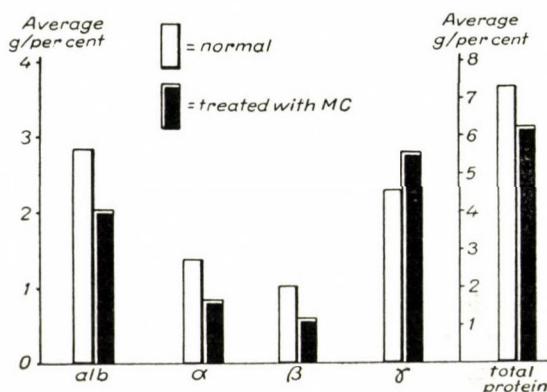


Fig. 1. The effect of methylcellulose storage on the plasma proteins

an antigenic property which differs from the protein of the normal rat serum, *i. e.* whether the fraction is a paraprotein. In the serum of rats treated with methylcellulose no new antigen component was found. For the analysis of the new protein component, further immune-electrophoretic and ultracentrifugal examinations are needed.

In view of the fact that the antigenicity of methylcellulose has been made most probable the new protein fraction is believed to be in the first place an anti-methylcellulose antibody due to a hyperimmunization mechanism following prolonged administration. It cannot, however, be ruled out that methylcellulose storage causes hyperplasia of the reticulo-endothelial system, associated with disorders in protein formation and that this might have a role in the formation of the new protein fraction. In rats treated with methylcellulose no formation of heterogenous antibodies was observed.

It has already been pointed out that the reticulo-endothelial system plays an important part in antibody formation. Although many authors believe that the immune-globulins form in the plasma cells and lymphocytes [16, 17, 18, 19, 20, 21, 22], this does not contradict the role played by the reticulo-endothelial system, considering that these cells originate from the

reticulum. Recently, the eosinophil cells are also considered to produce antibodies [54]. Literary data confirm that a depression of the reticulo-endothelial system by irradiation of the organism, cortisone, or by other means is associated with a reduction of antibody formation [55, 56, 57]. In some proliferative diseases originating in the reticulo-endothelial system, such as chronic myeloid leukaemia, antibody formation is decreased. On the other hand, in Hodgkin's disease and lymphosarcoma antibody formation remains normal [68, 69, 70]. RICE observed a decrease in the complement titre and antibody formation following administration of macromolecular substances (acacia) [71]. STERN [75] found a depression of haemolysin formation only in one strain of mice treated with polyvinyl pyrrolidone. LEWIS [77] reported a transitory decrease in the formation of immune substances in rabbits treated with thorotrust, and JUNGEBLUT et al. [76] also noted a diminution of antibody formation after treatment with India-ink. Other authors hold opposite views.

The effect of methylcellulose on the formation of haemolysin has been examined by BALÁZS, KovÁcs and TÍSZAI [72]. The experiments were carried out on male rats weighing 160–180 g each. Part of the animals was treated for 8 and another part for 31 days with methylcellulose in the above specified doses. For immunisation a freshly prepared suspension of erythrocytes from the same sheep was used. The controls were treated simultaneously with physiological saline. In the first experimental series an erythrocyte suspension of 2 per cent was injected intravenously and in the second and third series a suspension of 1 per cent. The haemolysin titre in the blood was determined on the 6th and 12th days following immunisation. The estimation of immune haemolysin was performed in 167 animals, according to the procedure modified by TAKÁTSY [73], HORVÁTH and BALÁZS [74]. A considerable increase in the weight of the spleen was observed. If the results of the haemolysin titration are expressed in \log_2 , in the first experimental group the haemolysin titre of the treated animals was lower on the 6th and 12th days than that of the controls. The first difference was -1.02 ($0.1 > P > 0.05$), the second -1.38 ($P < 0.01$). In the second experimental series the haemolysin titre of the treated animals was also lower, in the 6th day the difference against the controls was -3.81 ($P \ll 0.01$) ; on the 12th day, -2.0 ($P \ll 0.01$) (Table 3., Fig. 2.).

Table III
The effect of methylcellulose storage on the formation of immune-haemolysis

Group	On the 6th day after immunisation				On the 12th day after immunization			
	Number of animals	Average $-\log_2$	Mean error \log_2	P	Number of animals	Average $-\log_2$	Mean error \log_2	P
Treated with MC	22	4.50	0.34	$p \ll 0.01$	10	3.40	0.25	$p \ll 0.01$
Controls	40	8.31	0.04		23	5.40		

* \log_2 means the logarithm of basis two of the degree of the dilution.

Finally, the values obtained in the third experimental series after 8 days of methylcellulose administration were approximately the same as in the second series. Accordingly, in the case of a considerable methylcellulose storage the formation of haemolysin was consistently and significantly less in the treated animals than in the normal ones.

The question of the correlation between storage and blood coagulation was raised by JANCSÓ [78] in 1931. Whether storage exerts an effect on blood coagulation was examined by RÁK and Kovács [79]. An increasing number

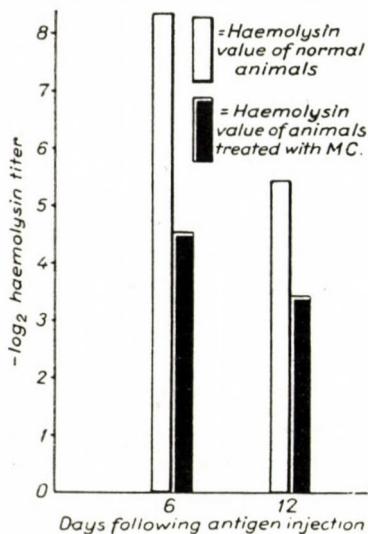


Fig. 2. The effect of methylcellulose storage on the formation of immune haemolysin.
Antigen: 1 per cent sheep blood suspension, 1 ml, intravenously

of literary data suggest that part of the specifically functioning proteins of the blood, the so-called coagulatory active substances are formed in the reticulo-endothelial system [12, 78, 80, 81]. Furthermore, it has been reported that in diseases involving disturbances in reticulo-endothelial function reticulosis, leukaemia, para- and dysproteinæmia, different kinds of coagulatory disorders may occur [82, 83, 84, 85].

Coagulation was studied in 66 rats treated with methylcellulose for 1, 8 and 33 days. The recalcination time of the plasma, the activity of prothrombin, the consumption of the latter, as well as the coagulation time of thrombin were determined. The time or recalcination was prolonged in all the treated groups, exceeding the average of the controls (58 seconds). It was the highest in the animals treated for 8 days in which the average amounted to 113 seconds (Fig. 3 group subacute, II).

The prothrombin activity of the plasma is illustrated on Fig. 4. Taking the values of the controls to be 100 per cent, the greatest deviation was found in the group treated for 8 days, where the average prothrombin activity was

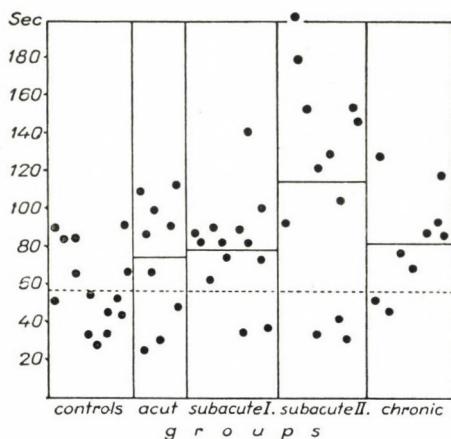


Fig. 3. Recalcination time in controls and treated animals

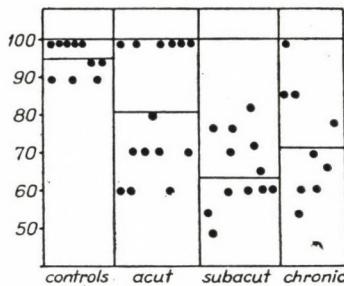


Fig. 4. Prothrombin activity of controls and treated animals

65 per cent (Fig. 2). On examining the prothrombin consumption, no evaluable difference between the controls and the treated animals was found.

The thrombin coagulation time was shorter in the treated groups than in the controls. A standard solution coagulated without exception the plasma of the methylcellulose treated animals 2–4 seconds earlier than that of the controls. On examining the direct effect of the Mc in experiments *in vitro* it was found that it does not influence prothrombin activity, prothrombin consumption and recalcination time. In the presence of methylcellulose the thrombin time was — like *in vivo* — always shorter. Methylcellulose, probably, shortens the thrombin time by its fibrinolytic effect [78, 87].

On the basis of the above, it was concluded that the disturbance resulted in the first phase of coagulation, and that the decrease of coagulability may

be mainly attributed to this fact. However, the coagulation disturbance was not considerable. Yet, between the extent of storage and the change in coagulation — as can be seen in Table I. — there was a certain relationship. Taking into account the average values of the groups, the more intensive the storage, the greater the shift of the values. This was not valid for the chronic group where values approached more those of the controls.

The above experiment suggest that in the case of reticulo-endothelial storage the coagulation mechanism — in the first place the prothrombin complex — undergoes a certain change which is, however, moderate.

The question may arise whether in addition to methylcellulose some infection also played a role in bringing about the phenomena described above. We attempted to carry out the experiments so cautiously that the role of infection may be ruled out.

Discussion

According to the literature, macro molecules are extensively stored in the reticulo-endothelial system and bring about its hyperplasia. This hyperplasia may be considered analogous with the clinical and pathological processes termed reticuloses. HUEPER [43, 44] in his report on the storage of polymers described the consecutive haematologic macromolecular syndrome. GILLMAN [88] observed after administration of trypan blue reticuloses and consecutive haemolysis, followed by tumour-like proliferations in the liver, spleen and lymph nodes. He explained these phenomena by a change in the reticulo-endothelial function and a disturbance in protein formations. The haemolysis might be due to the effect of the macromolecules : trypan blue combines with the plasma protein and the molecular complex produces erythrocyte agglutination and haemolysis. AMMON and DEPNER [99] observed an amyloidosis-like phenomenon following polyvinyl pyrrolidone storage. PALMER et al. [48] and GIBLETT et al. [49] suggested that consecutive haemolytic anemia was due to the reticulo-endothelial hyperplasia and hypersplenism resulting from storage of the macromolecular substance. Recently, ESS and FRIEDERICH [92] have carried out with trypan blue the same kind of examinations as we did and obtained similar results. We also succeeded in producing significant storage and consequential reticuloses. In addition, particularly following cortisone administration, in the glomeruli a change resembling Wilson—Kimmelstiel's syndrome was observed. Also, the morphological changes in the reticulo-endothelial system were associated with very characteristic haematologic and blood protein alteration. Haemolytic anaemia and dysproteinæmia resulted. This latter phenomenon was obviously due to a damage of the protein forming function of the reticulo-endothelial system, in conse-

quence of considerable methylcellulose storage. Beside the γ globulins a protein fraction with a new motility was observed. The formation of this fraction was interpreted in two ways. One, methylcellulose plays the role of an antigen and this stored antigen would elicit through a hyperimmunity mechanism the appearance of the new globulin fraction [63]. Two, methylcellulose may bring about a structural change of the globulin forming enzyme system.

In the course of methylcellulose storage, haemolysis occurred. This was partly accounted for by the consecutive reticulo-endothelial hyperplasia and hypersplenism and partly the new protein fraction might have played in some way a part in damaging the erythrocytes. Although the presence of antierythrocytic autoantibodies could not be proved, it is conceivable that the methylcellulose and the anti-methylcellulose antibody together compose a giant molecule and that this complex injures the erythrocytes [89, 90]. KOPELOFF and KOPELOFF [89], MIESCHER and STRESSLE [90] suggested allergic haemolysis to result in this manner. According to GILLMAN [88], a similar mechanism underlies the haemolysis.

Prothrombin reduction was presumably due to the methylcellulose storage reducing somehow the formation of prothrombin. Also in this case there were signs of a change in protein formation.

The significant decrease of immune haemolysin production points to the fact that macromolecular storage inhibits the production of certain immune bodies.

The reticulos brought about by methylcellulose seems to be analogous with those due to storage or infection in humans and with other reticulos associated with disproteinæmia and paraproteinæmia, such as Waldenström's disease. The immune haematologic diseases in the origin of which the proliferation of the reticulo-histiocyte system may play a role (STEFANINI, 85; BENKÖ, 91) should also be mentioned.

Conclusions

On the basis of the experiments the following working hypothesis has been set up.

The course of some, especially secondary, reticulo-endothelioses and that of the consecutive diseases associated with them may take place as follows. The whole process can be divided into 3 phases. In *phase 1*, some disease, virus, bacterial infection, or intoxication initiates degenerative and proliferative alterations of the reticulo-endothelial system, i. e. the reticulos. In *phase 2* the symptoms resulting from the reticulo-endotheliosis dominate, with characteristic proliferation of the reticulo endothelial system, hepatosplenomegaly, swelling of lymph nodes, and consequential changes. In *phase 3*

pathologic proteins are formed : macroglobulins, kyroglobulins, pyrrolglobulins, irregular antibodies, amyloid etc. These pathologic proteins bring about other processes ; such as macroglobulinaemic purpura, fever, degenerative changes in the vessels, some kind of immune haematologic process, and, finally, amyloidosis.

Accordingly, on the action of the pathologic proteins, the reticuloses bring about secondary syndromes ; these may be termed *pathologic protein diseases*. The mechanism resembles that of autoaggression in a wider sense than TZANCK AND DAUSSET used it in the case of the so-called autoallergic diseases. This hypothesis is also confirmed by recent literary data : DAVIES and WEBER [93] described in the case of a patient suffering from multiple myeloma the occurrence of rheumatoid arthritis as the consequence of a disorder of protein metabolism. We also observed rheumatoid arthritis associated with reticulosis.

We believe that the storage of methylcellulose represents a model of the above pathologic processes. In this experimental reticulosis induced by us, the first phase was the storage of methylcellulose ; the second phase the reticulo-endothelial proliferation associated with hepatosplenomegaly ; the third phase the alteration of the blood proteins, dysproteinaemia and consecutive haemolysis. The course of the three phases may be shorter than with spontaneous reticuloses.

The above observation might promote recognition of the genesis of certain diseases correlated with the pathologic state of the reticular system, such as the pathologic protein disease, immune-haematologic syndromes and, probably, the collagenoses, the origin of which is so far unknown.

SUMMARY

By means of methylcellulose storage, a reticulosis associated with dysproteinaemia and haemolysis has been induced. A model has been created for the study of reticuloses inducing paraproteinaemia and dysproteinaemia, which also afforded an explanation for the development of protein- and immune-haematologic diseases.

REFERENCES

1. METSCHNIKOFF, E.: *Leçons sur la pathologie comparée de l'inflammation*, Masson, Paris (1892).
2. METSCHNIKOFF, E.: *L'immunité dans les maladies infectieuses*. Masson, Paris (1901).
3. ASCHOFF, L.: *Das Reticulo-endotheliale System*. Ergeb. inn. Med. **26**, 1 (1926).
4. KYONO, K.: *Die vitale Carminspeicherung*. Fischer, Jena (1914).
5. ROHR, K.: *Das Menschliche Knochenmark*. Thieme, Stuttgart (1955).
6. HEILMEYER, L.: cited by C. W. MEYER : *Dtsch. Arch. klin. Med.* **203**, 677 (1957).
7. DOAN, CH. H.: Halpern B. N., Benacerraf B., Delafresnaye F. F.: *Physiopathology of the Reticulo Endothelial System*. Blackwell, Oxford (1957).
8. HALPERN, B. N., BENACERRAF, B., DELAFRESNAYE, F. F.: *Physiopathology of the Reticulo Endothelial System*. Blackwell, Oxford (1957).
9. JANCSÓ, N.: *Speicherung*. Akadémiai Kiadó, Budapest (1955).

10. KENDREY, J.: H. Neurath, Kenneth, Bailey: Protein chemistry. Biological Activity and Methods. Vol. IV. Part. 3. Academic Press, New York (1954). p. 756.
11. HUGHES, W.: H. Neurath et al. Protein Chemistry. New York (1954).
12. WÜHRMANN, F., WUNDERLY, CH.: Die Bluteiweißkörper des Menschen. Schwabe, Basel (1950).
13. ROBERTS, S., WHITE, H.: Biol. Chem. **180**, 505 (1949).
14. JÜRGENS, R., TRAUTWEIN, B.: Dtsch. Arch. Klin. Med. **169**, 47 (1930).
15. WEISE, H., LOHSE, H.: Blut. **2**, 108 (1956).
16. SABIN, F.: J. exper. Med. **70**, 67 (1932).
17. FAGRAEUS, A.: Acta Med. Scand. Suppl. 204., 205 (1947).
18. BJORNEBOE, A.: Congr. Internat. Allergie **30**, 235 (1952).
19. MOESCHLIN, S., DEMIRAL, B.: Klin. Wschr. **30**, 827 (1952).
20. WESSLEN, T.: Acta Dermatovener. **32**, 265 (1952).
21. EHRICH, W. E.: Klin. Wschr. **33**, 315 (1955).
22. HARRIS, T. N., HARRIS, S.: Amer. J. Med. **20**, 114 (1954).
23. BRACHET, J.: Ist. Lombard Sci. **89**, 116 (1955).
24. GAVOSTO: cited by Brachet, J.: Ist. Lombard Sci. **89**, 116 (1955).
25. TRAVERS, H.: cited by H. Neurath, K. Bailey. Protein Chemistry. Academic Press, New York (1954). Vol. II/3. p. 1199.
26. LOMAX, P.: Lancet **1**, 904 (1957).
27. BARTA I.: Orv. Hetil. **94**, 30 (1953).
28. OBERLING, L.: Sang, **8**, 8 (1937).
29. MEYER, W. C.: Dtsch. Arch. klin. Med. **203**, 677 (1957).
30. SEVAG, M. G.: Immunocatalysis. Thomas, Springfield (1951).
31. PAULING: cited by Sevag (30).
32. BURNET, F. F.: cited by Sevag (30).
33. WALDENSTRÖM, J.: cited by MacKay et al.
34. WALDENSTRÖM, J.: cited by H. Dörken. Acta Haemat. **10**, 340 (1953).
35. WINTROBE, M. M., BUELL, M. V.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **52**, 156 (1933).
36. MACKAY, J. R., ERIKSEN, N., MOKELSKY, A. G., VOLWILER, W.: Amer. J. Med. **20**, 564 (1956).
37. TZANCK, A., DAUSSET, J.: Sem. Hôp. Paris. **28**, 793 (1952).
38. BENKŐ A.: Über Autoaggressionskrankheiten. Ztschr. ges. Inn. Med. **2**, 7 (1956).
39. HENNEMANN, H. K.: Fol. Haematol. **73**, 236. 1955. Ztschr. klin. Med. **154**, 68 (1956).
40. GELLÉRT K. E., HENNEMANN, H. H.: Atti del IV. Congr. Internat. Microbiol. Roma. **2**, 293 (1952).
41. SCHUBOTHE, H.: Schweiz. Med. Wschr. **43**, 1041 (1953).
42. STEFANINI, M.: Proc. Inst. Med. Chicago, **20**, 535 (1955).
43. HUEPER, W. C.: Arch. Path. **28**, 510 (1939).
44. HUEPER, W. C.: Amer. J. Path. **18**, 895 (1942).
45. HUEPER, W. C.: J. Nat. Cancer Inst. **16**, 447 (1955).
46. JUNG, H. D., BRIZARELLI, G.: Virch. Arch. **326**. 1 (1954).
47. RÖSSLE: cited by Jung et al. Virch. Arch. **326**. 1 (1954).
48. PALMER, J. G., EICHWALD, G. L., CARTWRIGHT, G. E., WINTROBE, M. M.: Blood. **8**, 72 (1953).
49. GIBLETT, E. R., MOTULSKY, A. G., CASSERD, F., HOUGHTON, B., FINCH, C. A.: Blood, **11**, 418 (1957).
50. BRANDENBERGER, H.: Helv. Chem. Acta **37**, 1 (1954).
51. HORVÁTH É., KOVÁCS K., BENKŐ S.: Acta Histochem. **3**, 273 (1950).
52. KOVÁCS K., HORVÁTH É., BENKŐ S.: Arch. exper. Path. Pharm. **231**, 401 (1957).
53. ANDRÁSI L., CSAPÓ G., KECSE N. J., BENKŐ S.: Kiérl. Orvostud. In the press.
54. KENDRICK, A. B., KELTON, R. N., FOLEY, E. F.: Proc. Soc. Exp. Biol. **39**, 465 (1953).
55. HECKEL, G. P., ERICKSON, C. C., YUHL, C. L., KNUTTI, R. W.: J. exper. Med. **67**, 345 (1938).
56. CARBONE, J. V., UZMAN L. L., PLOUGH, I. C.: Proc. Soc. exp. Biol. **90**, 68 (1955).
57. AMMON, R., ZAPP, E.: Ergebnisse der Bluttransfusionsforschung, Karger—Basel (1955) p. 103.
58. ABERG D.: Some experiments on partly hydrolysed bacterial dextran Ab. Bennel and Co. Boktryckeri. Stockholm (1952).
59. AMMON, R., DEPNER, E.: Zeitschr. ges. exp. Med. **128**, 607 (1957).
60. MORRISON, A. B.: Quart. J. Exper. Physiol. **41**, 51 (1956).
61. PIRAM, C. L., JUSTER, R., TRAEB, H. F., CONSALAZIO, C. F., INGRAHAM, R. C.: J. Appl. Physiol. **8**, 193 (1955).

62. FRÖHLICH, M., BALÁZS, V., BENKŐ, S.: Nature 180, 1474 (1957).
- 62/a FRÖHLICH, M., BALÁZS, V., KOVÁCS K., TISZAI A., BENKŐ A.: Effect of Methylcellulose Storage on the Plasma Proteins. Kongr. Internat. Haemat. Kopenhagen (1957).
63. DOERR, R.: Immunitätsforschung Bd. I. Antikörper. Part. 1. Springer, Wien (1957).
64. SPEISS, R., WENCK, W., DREISBUCH, M. E.: Brit. J. Haematol. **9**, 56 (1956).
65. HELLER J.: Science **118**, 353 (1953).
66. JAKOBSON, L. O., ROBSON, M. J., MARK, E. K.: Proc. Soc. exp. Biol. **75**, 145 (1950).
67. NAGAREDA, S.: J. Immunol. **73**, 88 (1954).
68. LARSON, D. L., TOMKINSON, L. J.: J. Clin. Invest. **32**, 312 (1953).
69. GELLER, W.: J. Lab. Clin. Med. **42**, 232 (1952).
70. SCHIER, W., ROTH, A., OSTRUFF, G., SCHRIFT, M. H.: Amer. J. Med. **20**, 94 (1954).
71. RICE, C. E.: J. Immunol. **73**, 375 (1954).
72. BALÁZS V., TISZAI A., KOVÁCS K., BENKŐ S.: Kísér. Orvostud. In the press.
73. TAKÁTSY Gy.: Kísér. Orvostud. **4**, 60 (1952).
74. HORVÁTH J., BALÁZS V.: Acta Microbiol. **3**, 241 (1956).
75. STERN, K.: Proc. Soc. exp. Biol. **79**, 618 (1952).
76. JUNGEBLUT, C. W., BERLOT, J. A.: J. Exp. Med. **43**, 613 (1934).
77. LEWIS: cited by Jancsó N.
78. JANCSÓ N.: Klin. Wschr. **10**, 537 (1931).
79. RÁK K., KOVÁCS K., BENKŐ S.: Kísér. Orvostud. In the press.
80. LESSLER, A., PAULICKY, L.: Ztschr. Exper. Med. **91**, 86 (1933).
81. JÜRGENS, R.: Acta Haematol. **7**, 143 (1952).
82. WITTE, S., DIRNBERGER, P.: Klin. Wschr. **31**, 936 (1953).
83. BURGSTEDT, H. J., MARX, R.: Klin. Wschr. **1**, 31 (1956).
84. KOVÁCS E., GESZTI O.: Orv. Hetil. **23**, 669 (1952).
85. STEFANINI, M.: Bull. N. Y. Acad. Med. **30**, 239 (1954).
86. HEUSTELL, H. H.: Science **123**, 118 (1956).
87. BURNSTEIN, M., GUINAND, A.: Rev. d'Hémat. **10**, 567 (1955).
88. GILLMAN, TH.: Acta Haematol. **15**, 354 (1956).
89. KOPELOFF ET KOPELOFF: cited by Miescher P.: Ergebn. Inn. Med. **7**, 170 (1956).
90. STRAESSLE, R., MIESCHER, P.: Schweiz. Med. Wschr. **88**, 1461 (1956).
91. BENKŐ S.: Magyar Belorvosi Arch. **7**, 161 (1954).
92. ESS, H., FRIEDRICH, L.: Ztschr. ges. Exp. Med. **129**, 264 (1957).
93. DAVIS, Z. S. JR., WEBER, F. C., BARTFIELD, H.: Ann. Int. Med. **47**, 10 (1957).

ÜBER DIE HYPERGLOBULINÄMISCHEN PURPURAFORMEN

Von

M. WINTER und K. RÁK

I. INNERE KLINIK DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, SZEGED

(Eingegangen am 24. Februar 1958)

WALDENSTRÖM beschrieb zwischen 1943 und 1952 in mehreren Mitteilungen Purpuraformen, die mit den bisher bekannten Krankheitsbildern nicht übereinstimmten und mit wesentlichen Veränderungen in der Serumweißzusammensetzung einhergingen. Obwohl sich im letzten Jahrzehnt zahlreiche Abhandlungen mit diesem Symptomenkomplex befaßten, hat er noch nicht die seiner Bedeutung entsprechende Beachtung gefunden. Die hyperglobulinämische Purpura zählt nämlich nicht zu den Seltenheiten. Wahrscheinlich stand die Purpura bei einem Teil der früher mit der Diagnose „idiopathische“ oder »vaskuläre« Purpura entlassenen Kranken mit Hyperglobulinämie im Zusammenhang. Das Syndrom wird auch in den größeren Lehrbüchern nur ganz kurz behandelt, und in der ungarischen Literatur fanden wir außer der 1955 erschienenen Beschreibung eines Falles von KLINGHOFER, SZABÓ und PINTÉR [9] keine einschlägige Mitteilung. Nach Abschluß vorliegender Arbeit erschien die kasuistische Abhandlung von BOROVICZÉNY und Mitarbeiter [3] mit kurzer Charakterisierung des Krankheitsbildes. Drei unserseits beobachtete Fälle gaben uns Veranlassung, die Frage eingehender zu untersuchen.

WALDENSTRÖM hatte, nachdem die elektrophoretische Untersuchung der Serumweiße bekannt geworden war, die sog. essentielle Hyperglobulinämie beschrieben und 1944 von Kranken berichtet, bei denen seit Jahren Hautblutungen bestanden und der Serumglobulinspiegel beträchtlich erhöht war. Die Symptome von multiplen Myelom oder anderen Krankheiten fehlten, weshalb er für den Zustand die Benennung Purpura hyperglobulinaemica empfahl [22, 23]. In den folgenden Jahren beobachtete man derartige Fälle auch in Dänemark, Norwegen und Deutschland. Bald aber erschienen Mitteilungen, nach denen im Hintergrund der hyperglobulinämischen Purpura auch eine mehr oder minder schwere Grundkrankheit nachgewiesen werden kann. Hiernach schien es fraglich, ob es sich bei der Purpura hyperglobulinaemica um ein besonderes Krankheitsbild oder nur um einen Symptomenkomplex handelte. Nach Mitteilung der Krankengeschichte unserer 3 Fälle und Beprechung der Literatur wollen wir versuchen, die Frage zu beantworten.

Kasuistik

1. G. A., 51 J., Angestellter, wurde im Juli 1954 wegen einer seit 5 Jahren an den unteren Extremitäten bestehenden Purpura aufgenommen. Die Blutungen traten von einem Tag zum anderen plötzlich auf, verursachten keine besonderen Beschwerden und nur zuweilen leichtes Jucken. An anderen Körperteilen kamen Hautblutungen nicht vor. An den unteren Extremitäten verblaßte die Purpura zeitweise und trat dann, hauptsächlich nach schwerer Körperarbeit, wieder in Erscheinung. Gelegentlich hatte der Kranke wenig blutiges Sputum entleert und war deshalb wiederholt in der Lungenfürsorge untersucht worden, wo man jedoch keine pulmonalen Veränderungen fand. Anlässlich der früheren Krankenhausaufenthalte wurde die Natur der Krankheit nicht geklärt, und die angewandten therapeutischen Maßnahmen führten keine dauerhafte Besserung herbei. Pat. war nervös, appetitlos, schwach und hatte in der letzten Zeit etwas abgenommen. Andere erwähnenswerte Angaben fanden sich nicht in der Anamnese.

Bei der Untersuchung des Kranken sahen wir ausgedehnte Purpura an den unteren Extremitäten. Vergrößerte Lymphknoten waren nicht vorhanden, die Leber war nicht tastbar. Die kompakte Milz reichte 2 querfingerbreit über den Rippenbogen hinaus. Über dem normal grossen Herzen blasendes Systolengeräusch. Die Röntgenuntersuchung ergab eine mächtige Dilatation des linken Vorhofes mit mäßiger Vergrößerung der rechten Kammer. Wichtigere Befunde: SG wiederholt 75 mm/h: Rbk 3,5 Millionen, Leuko- und Thrombozytentzahl, qualitatives Blutbild, Blutungs-, Gerinnungs- und Prothrombinzeit normal. Serum-eiweißspiegel 8,65 g%, Gammaglobulin 3,2%, Thymol 14 E., Formolgel-Probe (Kürten) binnen 2 Stunden positiv. Im Harn zeitweilig minimale Eiweißmengen, je Gesichtsfeld 2–3 Erythrozyten. Hämokultur steril. Auf multiples Myelom deutende Knochenveränderungen waren auch bei wiederholter Röntgenuntersuchung nicht nachweisbar. Im Knochenmark neben normaler Hämapoiese Plasmazellenvermehrung. Leberbiopsie: geringe periportale Bindegewebsvermehrung mit mononukleärer Infiltration und herdartiger Verfettung. Zur Annahme einer Zirrhose besteht keine Grundlage. Milzbiopsie: ausgeprägte Plasmazytose, einige Lymphblasten. Dg. auf Grund dieser Befunde: Mitralsstenose und hyperglobulinämische Purpura. Die zeitweilige Hämoptoe war vermutlich durch die Stenose bedingt.

Den Kranken vermochten wir im Laufe des folgenden Jahres noch dreimal zu beobachten. Die Purpura trat — wahrscheinlich infolge schonender Lebensweise — seltener in Erscheinung, die Hyperglobulinämie nahm jedoch eher zu: neben dem 8,5–9,0 g%igen Eiweißspiegel war der Gammaglobulinwert ständig über 4,0 g%. SG 50–100 mm/h, Thymol 10–15 E., die Formolgelprobe stets positiv. Über dem Herzen war auch Diastolengeräusch hörbar geworden, bei der Röntgenuntersuchung weitere Zunahme der Erweiterung des linken Vorhofes und gestaute Hili. Die Leber war tastbar. Bei regelmässiger Digitalisverabreichung war der Zustand des Kranken zufriedenstellend, er klagte nur über leichte Ermüdbarkeit. Die letzte Kontrolluntersuchung erfolgte im August 1955: Leber- und Milzvergrößerung waren unverändert, auch die Laboratoriumsbefunde zeigten keine Abweichungen von den früheren Untersuchungsresultaten.

Ein diagnostisches Problem bedeutete in diesem Fall der eventuelle Zusammenhang der neben dem Mitralfehler beobachteten Hyperproteinämie und Purpura mit der Herzkrankheit. In erster Linie mußte man an bakterielle Endokarditis denken, aber auch Leberzirrhose und multiples Myelom kamen in Frage. Die entsprechenden histologischen, radiologischen, hämatologischen bzw. bakteriologischen Befunde vermochten jedoch keine dieser Möglichkeiten in ausreichender Weise zu stützen.

2. Bei N. J., einem 65j. Mann, trat zuerst im Januar 1957 Purpura an den unteren Extremitäten, später nach schwerer Körperarbeit auch an den Armen auf. Nach Angabe des Kranken vermehrten sich die roten Flecke nach Fleisch- oder Alkoholgenuß. Nach längerer Arbeit schwollen die Knöchel etwas an, sonst keine auf Kreislaufinsuffizienz hinweisende Beschwerden. Bei einer Untersuchung im Jahre 1950 fiel die Komplementbindungsreaktion positiv aus. Deswegen wurde der Kranke jahrelang systematisch gegen Syphilis behandelt (Wismut, Salvarsan, Penicillin), was aber an der Positivität der Reaktionen nichts änderte. Von einer syphilitischen Infektion weiß er nichts, auf unsere Klinik wurde er nach einjährigem Bestehen der Purpura aufgenommen.

Bei der Untersuchung sind an den unteren Extremitäten sowie in geringerem Maße am unteren Abschnitt der Bauchhaut und an den Unterarmen zahlreiche punktartige Blutungen sowie pigmentierte Gebiete zu sehen. An den Knöcheln mäßiges Ödem. Die Leber ist 3 querfingerbreit unter dem Rippenbogen tastbar, mittelmäßig kompakt, nicht empfindlich. Vergrößerte Lymphknoten sind nicht vorhanden, die Milz ist nicht tastbar. Die linke Pupille ist lichtstarr, die rechte reagiert schwach. Achillesreflex fehlt, Rombergsches Phänomen positiv. Neurologische Dg.: Tabes dorsalis. Wichtigere Untersuchungsbefunde: Wassermann-,

Kahn- und Meinicke-Reaktion +++, SG 40 mm/h, Rbh 4 000 000, Hämoglobin 14,0 g%, Wbr 3300—4100, qualitative Zusammensetzung normal. Die Untersuchungsergebnisse der Blutungs- und Gerinnungsverhältnisse haben wir zusammen mit den Angaben des 3. Falles in Tabelle I vereinigt. Serumweißspiegel 7,0 g%, Gammaglobulin 3,0 g%, Thymol 11 E., Formolgelprobe nach 2 Stunden positiv. Sia-Probe positiv (Trübung auch nach Erwärmung). Harn negativ. Im Knochenmark normale Hämopoese, mäßige Plasmazellenvermehrung. Leberbiopsie: die Kupfferschen Zellen sind vermehrt, geschwollen, das periportale Bindegewebe ist mäßig vermehrt. Periportal, aber auch in den Lobuli intensive herdartige Infiltration. Die Zellen entsprechen Fibroblasten, Lymphozyten, Retikulumzellen. Auffallend ist die Anwesenheit der zahlreichen Plasmazellen. Dg.: Fibrose mit intensiver retikuloendothelialer Proliferation. — An den Schädelknochen keine auf multiples Myelom deutende Veränderungen. — Liquorbefund in jeder Hinsicht negativ.

Im Laufe einiger Monate wurde der Kranke zweimal untersucht; weder im Allgemeinzustand noch in den Untersuchungsergebnissen waren Veränderungen festzustellen. Die Purpura verschwand beim Liegen, trat aber wieder auf, wenn der Kranke aufstand. Alkohol oder Fleisch allein riefen — im Gegensatz zu den anamnestischen Angaben — keine Purpura hervor. Es sei hervorgehoben, daß bei dem Kranken Schleimhautblutungen niemals auftreten.

3. Frau Sz. L. hatte im Jahre 1951, im Alter von 52 Jahren, zum erstenmal beobachtet, dass an ihren unteren Extremitäten nach längerem Gehen oder Stehen punktartige Blutungen erschienen. Außerdem entwickelten sich an ihren Ober- und Unterschenkeln schmerzhafte kleine Knötchen. Anlässlich einer Anstaltsuntersuchung im Jahre 1952 wurden die Hautblutungen auf Grund der negativen Untersuchungsbefunde als idiopathische Purpura diagnostiziert. Auffallend war nur die SG von 40—60 mm/h. 1953 wurde die Kranke wegen derselben Beschwerden in einer anderen Anstalt behandelt und dort mit der Diagnose vaskuläre Purpura entlassen. Die SG war auch hier 64 mm/h. Ihr Zustand blieb in den folgenden Jahren im wesentlichen unverändert. Im Sommer 1957 traten gelegentlich Gelenkschmerzen auf, ferner klagte sie über Mundtrockenheit; im Bauch spürte sie Stiche unter den Rippenbogen, und die Hautblutungen traten häufiger in Erscheinung. Im Januar 1958 wurde sie bei uns aufgenommen.

An den unteren Extremitäten der in gutem Allgemeinzustand befindlichen Kranken waren zahlreiche punktartige Blutungen, ferner linsen bis hellergroße braune, pigmentierte Gebiete zu sehen. Letztere entsprachen den Resten früherer Blutungen. Vergrößerte Lymphknoten waren nicht vorhanden, die Leber war nicht tastbar. Die Milz war kompakt und reichte 3 querfingerbreit über den Rippenbogen hinaus. Wichtigere Untersuchungsbefunde: SG 55 mm/h, Rbh 3,4 Millionen, Hämoglobin 11 g%, Leuko wiederholt 3100, mit Lymphopenie. Serumweißspiegel 7,2 g%, Gammaglobulin 2,8 g%, Thymol 12 E., Formolgelprobe negativ. Sia-Probe positiv (Trübung auch nach Erwärmung). Im Harn minimales Eiweiß. Die Züchtung ergab *E. coli*, Harn nach Terramycinbehandlung steril. — Knochenmark schwach hyperzellulär, Hämopoese normal. Geringe lymphoretikuläre Hyperplasie. Leberbiopsie: Kupffersche Zellen etwas geschwollen und vermehrt. Periportal intensive herdartige Infiltration mit Lymphozyten, Plasma- und Retikulumzellen, Fibroblasten. Dg.: retikuloendothelia Hyperplasie. (Abb. 1. u. 2.) An den Schädelknochen keine pathologischen Veränderungen.

Im Liegen verschwindet die frische Purpura völlig, nach längerem Aufsein erscheint sie wieder an den unteren Extremitäten. Durch Alkoholgenuss oder Kälteinwirkung ließ sich die Purpura nicht provozieren. Schleimhautblutungen fehlten auch bei dieser Kranken. Es sei noch bemerkt, daß sich die Purpura seit mindestens 7 Jahren ständig wiederholte und während dieser Zeit eine wesentliche Veränderung im Allgemeinzustand der Kranken nicht festgestellt werden konnte.

Besprechung

Als gemeinsame Züge waren bei den beschriebenen 3 Fällen die ohne Schleimhautblutungen auftretenden und hauptsächlich auf die unteren Extremitäten lokalisierte Purpura und die beträchtliche Vermehrung der Gammaglobuline zu beobachten. Auf Grund der in den letzten Jahren erschienenen kasuistischen und zusammenfassenden Mitteilungen läßt sich diese Krankheitsform gut definieren. Die Kranken haben zumeist keine allgemeinen Beschwerden und wenden sich nur der Hautblutungen wegen an den Arzt.

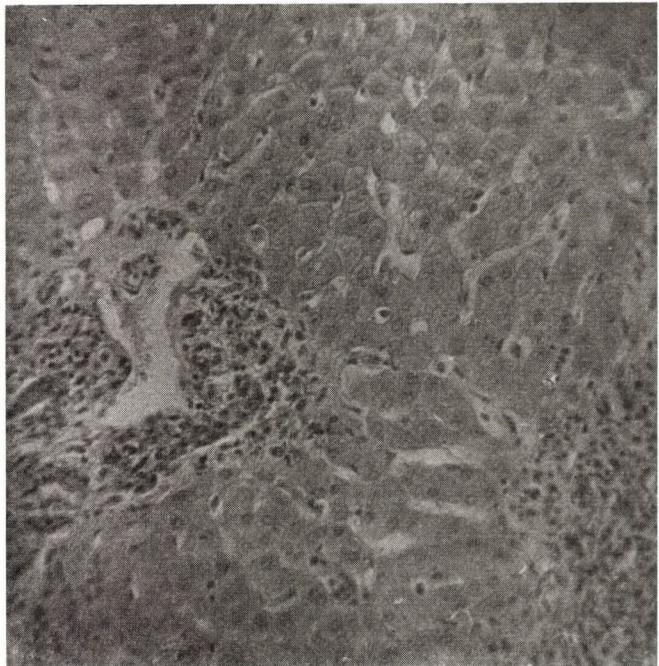
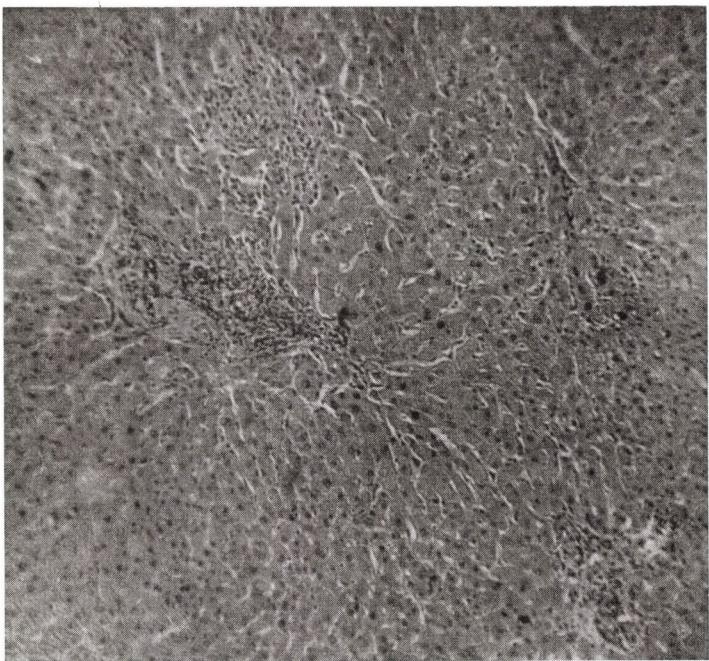


Abb. 1. und 2. Histologisches Bild der Leber (Biopsie). Vergrößerung 180 bzw. 400

Tabelle I
Untersuchungsergebnisse der hämostatischen Verhältnisse

Untersuchung	Sz. L.	N. J.	Normal
Rumpel-Leedesche Probe	pos.	pos.	
Blutungszeit (Duke).....	1 Min.	3 Min.	1—3 Min.
Thrombozytenzahl (Fonio)	170 000	180 000	
Retraktion	norm.	norm.	
Gerinnungszeit (Lee—White)	6 Min.	8 Min.	5—10 Min.
Rekalzinierungszeit (Howell)	107 Sek.	103 Sek.	90—120 Sek.
Thrombokinasebildung (Biggs—Douglas)	norm.	norm.	
Prothrombinkonsumption (modif. Quick)	norm.	norm.	
Prothrombinaktivität (Quick)	80%	70%	
Fibrinogen (gravimetrisch)	420 mg%	480 mg%	
Thrombinzeit	25 Sek.	30 Sek.	20 Sek.
Thrombinzeit mit Toluidinblau (Horn) .	20 Sek.	24 Sek.	16 Sek.
Serumantithrombin (Gerendás)	norm.	norm.	
Thrombelastogramm (Hartert)	norm.	norm.	

Die Purpura bleibt auf die unteren Extremitäten beschränkt, dehnt sich gegebenenfalls auf die Haut der Bauchwand aus und tritt an den Armen nur nach größerer Belastung in Erscheinung. Im Liegen verschwindet sie rasch, doch bleibt eine charakteristische braune Pigmentation zurück. Laut WALDENSTRÖM ist diese so kennzeichnend, daß die Diagnose bereits auf Grund dieses Bildes mit großer Wahrscheinlichkeit gestellt werden kann. Schleimhautblutungen kommen niemals vor, ebensowenig wesentliche Lymphknotenvergrößerungen, wohl aber die Vergrößerung der Leber oder Milz bzw. beider Organe. An einzelnen Kranken wurden mäßiges Unterschenkelödem und Venenerweiterungen beobachtet. Unter den Laboratoriumsbefunden sind die Veränderungen in der Serumweißzusammensetzung am wichtigsten. Der Serumweißspiegel ist normal oder erhöht — selbst bis zu 10% —, der Gamma-globulinspiegel aber in allen Fällen stark erhöht. Mit der heute allgemein angewandten papierelektrophoretischen Untersuchung läßt sich diese Veränderung leicht nachweisen. Die vermehrte Eiweißfraktion ist nicht pathologisch, durch immunchemische Untersuchungen waren Abweichungen vom Gammaglobulinspiegel des Normalserums nicht nachzuweisen [2]. Der Globulinvermehrung entsprechend gibt die Thymol- oder Zinksulfat-Trübungsprüfung ein stark positives Resultat, oft ist auch die Formolgelreaktion positiv. Die Blutsenkungsgeschwindigkeit ist gewöhnlich stark erhöht, auch Werte über 100 mm/h kommen oft vor. Außerdem fällt in einem beträchtlichen Teil der Fälle auch die Euglobulin- (Sia-) Probe positiv aus. Ihrer einfachen Durch-

führbarkeit wegen ist dieses Untersuchungsverfahren sehr verbreitet: zu 5 ml destilliertem Wasser gibt man 1–2 Tropfen Serum; Opaleszenz mit anschließender Sedimentbildung gilt als positives Resultat. Der chinesische Forscher SIA hatte die Probe in seiner Kala-Azar-Diagnostik zum Nachweis der Globulinvermehrung eingeführt [18], doch nahm WALDENSTRÖM später an, sie sei auch zum Makroglobulinnachweis geeignet. Diese Ansicht hat sich jedoch als irrtümlich erwiesen. Laut SANDKÜHLER [16] beruht die Trübung nur dann auf der Anwesenheit von Makroglobulin, wenn sie nach Erwärmung oder Zugabe von isotonischer Salzlösung verschwindet. Die Vermehrung der normalen Gammaglobuline führt ebenfalls zu Opaleszenz, die sich indessen nach Erwärmung eher noch verstärkt. Trotz der scheinbaren Positivität der Sia-Probe dachten wir also in unseren Fällen Nr. 2 und 3 nicht an die Anwesenheit von Makroglobulinen.

Bei den hämatologischen Untersuchungen ist mäßige normozitäre Anämie ziemlich häufig zu beobachten, ebenso Leukopenie. Bei beträchtlicher Thrombozytopenie glauben wir naturgemäß, die Hämorrhagie eher auf diese Veränderung zurückführen zu müssen. Unter den mit der Hämorrhagie zusammenhängenden Untersuchungen ist die Positivität der Rumpel-Leedeschen Probe erwähnenswert. Im Gerinnungsmechanismus bestehen keine wesentlichen Störungen. Bei unseren Fällen stellten wir lediglich eine mäßige Senkung der Prothrombinaktivität und eine geringe Verlängerung der Thrombin-gerinnungszeit fest. Letztere dürfte eine Folge der Dysproteinämie sein; in Übereinstimmung mit den Literaturangaben sahen wir nämlich ähnliche Abweichungen in zahlreichen Fällen, wo der Albumin-Globulin-Quotient — unabhängig von der Grundkrankheit und klinisch von der Natur der Hämorrhagie — nicht normal war. Die in derartigen Fällen vorausgesetzte Fibrinogen-Fibrin-Konversionsstörung dürfte wahrscheinlich im Zustandekommen der Blutungsneigung eine gewisse Rolle spielen. Dennoch glauben wir, und zwar gerade auf Grund des obigen, daß die mäßige Störung der Fibrinogen-Fibrin-umwandlung bei Purpura hyperglobulinaemica eher eine Begleiterscheinung der Dysproteinämie als einen wesentlichen Faktor im Zustandekommen der Purpura darstellt [7, 10, 21]. Im Knochenmark fanden wir normale Blutbildung, nur die Plasmazellen und Histiozyten waren etwas vermehrt. Über die histologische Untersuchung der Milz hatten WALDENSTRÖM [23] und BRUNS [4] im Anschluß an je eine Splenektomie berichtet. Sie fanden lymphoide und plasmazellige retikuläre Hyperplasie. BRUNS beobachtete außerdem den Gaucherschen Zellen ähnliche Zellformen, ferner Arteriitis und Gewebe-eosinophilie. Diese Veränderungen wurden auch von DÖRKEN [5] bei der histologischen Untersuchungen der Haut beschrieben. Histologische Leberbefunde haben wir in der Literatur nicht angetroffen. Die unserseits beobachtete intensive lymphozytäre, retikulumzellige Infiltration steht im Einklang mit den früher beschriebenen Veränderungen im Knochenmark und in der Milz.

Auf Grund der Literatur gibt es zweifellos Fälle von hyperglobulinämischer Purpura, bei denen trotz 8—10jährigen Bestehens eine Grundkrankheit nicht nachgewiesen werden konnte. Dennoch gehen die Meinungen sehr auseinander, ob wirklich eine »primäre« Form existiert oder ob jede Purpura als sekundär betrachtet werden muß. BERTHOUD und Mitarbeiter [2] halten nur 1 ihrer 8 Fälle für primär, WEISE [26] nur 11 der aus der Literatur gesammelten 28 Fälle. SCHMENGLER und ESSER [17] setzen sich entschieden dafür ein, daß die Krankheit immer sekundär auftrete, und wo sich die Genese nicht ermitteln läßt, führen sie die Entwicklung des Symptomenkomplexes auf eine reaktive Funktionsstörung des Retikulo-Histiozytensystems zurück. Es ist jedenfalls beachtenswert, daß der Verlauf in diesen scheinbar primären Fällen ungewöhnlich gutartig war und der Zustand der Kranken Jahre oder Jahrzehnte hindurch unverändert blieb.

»Sekundäre« hyperglobulinämische Purpura kann bei folgenden Grundkrankheiten auftreten: multiples Myelom, lymphozytäre Leukämie, Sarkoidose, rheumatoide Arthritis, Zirrhose und maligner Tumor. Der primäre oder sekundäre Charakter der Purpura ist bisweilen sehr schwer zu entscheiden. ROGERS und WELCH [15] teilten unlängst einen Fall mit, bei dem 10 Jahre lang eine gutartig erscheinende Purpura hyperglobulinaemica bestand und erst dann ein in wenigen Monaten zum Tode führendes Plasmozytom diagnostiziert wurde. Sie halten es für möglich, daß einige Plasmozytomherde bereits seit längerer Zeit vorhanden waren und Hyperglobulinämie (und Purpura) verursachten, aber im Organismus keine anderen Veränderungen hervorriefen, die zur Erkennung der Krankheit hätten führen können. Offensichtlich hätte jeder Beobachter den Fall jahrelang als primär bezeichnet.

In unserem 1. und 2. Fall war neben Purpura Mitralfehler bzw. latente Syphilis nachweisbar. Diese kann man vom Gesichtspunkt der Purpura hyperglobulinaemica nicht entschieden als »Grundkrankheit« ansehen, wenn sie auch in der Hinsicht zur Vorsicht zwingen, die Purpura als »primär« zu akzeptieren. Interesse verdient die Mitteilung von BENDER und GERLACH [1], die neben Syphilis + Endocarditis lenta Purpura beschrieben, sowie die von WEISE [26], in dessen Fall bei einem an Polyarthritis leidenden Kranken nach der wegen Gallenwegsinfektion eingeleiteten Chloronitrinbehandlung typische hyperglobulinämische Purpura auftrat. Im Zusammenhang mit der Arzneimittelschädigung ergibt sich von selbst die Frage: in welcher Beziehung steht die akute, sog. SCHÖNLEIN—HENOCHSche Purpura zum WALDENSTRÖM-schen Typus? Die Frage ist noch nicht ganz geklärt; nach einigen Autoren ist die Hyperglobulinämie auch bei dieser Krankheitsform anwesend, DÖRKEN [5] hat dagegen in einem typischen Fall normale Gammaglobulinwerte festgestellt. Auch wir beobachteten einen Kranken, bei dem mehrere Monate hindurch am ganzen Körper Purpura in Begleitung von Ödem und mit sehr ausgeprägter Hyperglobulinämie in Schubform auftrat. Seit 10 Monaten ist

keine Purpura mehr vorhanden, aber im Eiweißbild ist keinerlei Veränderung eingetreten.

Im Pathomechanismus der Purpura kommt der gesteigerten Gamma-globulinbildung unbedingt eine entscheidende Rolle zu. Wir wissen jedoch nicht, worauf diese Überproduktion beruht. Die von SCHMENGLER und ESSER [17] betonte, das Retikulo-Histiozytensystem betreffende reaktive Funktionsstörung bietet in dieser Frage eigentlich keinen näheren Anhaltspunkt, wenn auch eine Klärung des Problems vielleicht vor allem aus dieser Richtung zu erwarten ist.

WALDENSTRÖM [22] hatte in seinen ersten Mitteilungen die Möglichkeit einer chronischen Virusinfektion vorgelegt, diese Annahme war aber später von anderen Forschern nicht unterstützt worden. Deutsche Autoren [19] haben versucht die pathologische Eiweißproduktion durch einen allergischen Mechanismus zu erklären.

Die andere wichtige Frage ist, ob ein Zusammenhang zwischen Hyperglobulinämie und Purpura besteht? Hier sind allerdings gewisse Zweifel berechtigt, weil in vielen Fällen eine wesentliche Gammaglobulinvermehrung ohne Purpura zu beobachten ist. Es wurde schon erwähnt, daß die vermehrte Eiweißfraktion nicht pathologisch ist, also eine qualitative Veränderung im Serum eiweißbild nicht stattgefunden hat [2]. WALDENSTRÖM denkt daran, daß infolge der vermehrten Gammaglobulinproduktion ein Mangel an irgend-einer anderen — zur intakten Kapillarfunktion benötigten — Globulinfraktion zustandekommt. Andere Verfaßer [14, 20] sind der Meinung, daß die pathologisch vermehrte Eiweißfraktion die Schädigung der Kapillarwand direkt zustande bringt, wieder andere [17] versuchen die Erscheinung mit einer allergisch-hyperergischen Schädigung der Gefäße zu erklären. Sehr interessant ist die Beobachtung von MARTINI und ENGELKAMP [13], nach welcher die Kapillarresistenz bei Leberkranken auch bei normaler Thrombozytenzahl und Prothrombin-Aktivität abnimmt, wenn Globulinvermehrung vorhanden ist. Zwischen Serum eiweißkörpern und Kapillarfunktion besteht zweifellos ein enger Zusammenhang, dessen Einzelheiten aber nicht geklärt sind. Es sei hier erwähnt, daß laut den Tierversuchen von KELEMEN und Mitarbeitern [8] eine gewisse Beziehung zwischen dem Eiweißstoffwechsel und der Permeabilität besteht. MILES und WILHELM [12] vermochten aus frischem Meerschweinchenserum eine permeabilitätssteigernde Globulinfraktion herzustellen. Bei der Aufstellung der verschiedenen Theorien muß man unserer Ansicht nach auch berücksichtigen, daß Ödem bei Purpurakranken im allgemeinen nicht vorkommt und die Purpura meist nur nach Stehen oder Gehen entstehen, so daß also auch diese Eigentümlichkeiten eine Erklärung erfordern.

Wie schon erwähnt, verläuft die Purpura hyperglobulinaemica, wenn keine Grundkrankheit vorhanden ist, gutartig und dauert Jahrzehntelang an. Indessen kommen auch spontane Remissionen vor; FILIP und Mitarbeiter [6]

teilten einen seit 3 Jahren beschwerdefreien Fall mit, in dem sich auch das Eiweißbild besserte. Die Beurteilung der therapeutischen Ergebnisse wird dadurch sehr erschwert. ACTH und Cortison wurden von mehreren Autoren erfolglos angewandt. In einigen Fällen hat man, nicht wegen der Purpura, sondern wegen der auf Hypersplenie zurückgeführten Anämie und Leukopenie, die Splenektomie vorgenommen, ohne jedoch eine wesentliche Besserung der Purpura jemals beobachten zu können.

ZUSAMMENFASSUNG

Im Zusammenhang mit 3 eigenen Fällen von Purpura hyperglobulinaemica wird die Frage besprochen, wann die Purpura als »primär« oder »sekundär« angesehen werden kann. In einem Fall blieb der Zustand des Kranken 7 Jahre unverändert, eine Grundkrankheit war nicht nachweisbar, weshalb der Fall als primär betrachtet wird. In den beiden anderen Fällen lag keines der als Grundkrankheit in Frage kommenden Krankheitsbilder vor, da jedoch gleichzeitig ein Mitralfehler bzw. latente Syphilis anwesend waren, erscheint es dennoch zweifelhaft, ob die Purpura als primär angesehen werden kann.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zur Klärung der Blutgerinnungsverhältnisse, ebenso die histologischen Befunde der Leberbiopsien werden in Verbindung mit einer Literaturübersicht eingehend besprochen.

LITERATUR

1. BENDER, F., GERLACH, U.: Hautartz., **6**, 456 (1955).
2. BERTHOUD, E., FALLET, G., SCHEIDECKER, J. J.: Sem. Hôp., Paris, **32**, 2135 (1956).
3. BOROVICZÉNY K. G., LUKITS E., BENCZUR GY.: Orv. Hetil. **99**, 237 (1958).
4. BRUNS, G.: Klin. Wschr., **31**, 169 (1953).
5. DÖRKEN, H.: Acta Haematol., **10**, 340 (1953).
6. FILIP, J., FRIEDMANN, B., SUCHAN, M.: Čas. Lek. Čes., **93**, 1370 (1954).
7. JIM, R. T.: J. Lab. Clin. Med., **50**, 45 (1957).
8. KELEMEN, E., TANOS, B., HAJDU, L., FORGÁCS, P.: Nature, **175**, 122 (1955).
9. KLINGHOFER, L., SZABÓ, R., PINTÉR, L.: Orv. Hetil. **96**, 107 (1955).
10. LÜSCHER, E., LABHARDT, A.: Schweiz. Med. Wschr., **79**, 598 (1949).
11. MACKAY, I. R., ERIKSEN, N., MOTULSKY, A. G., VOLWILER, W.: Amer. J. Med., **20**, 564 (1956).
12. MILES, A. A., WILHELM, D. L.: Brit. J. exp. Path., **36**, 71 (1955).
13. MARTINI, G. A., ENGELKAMP, H.: Dtsch. med. Wschr., **77**, 833 (1952).
14. MIELKE, H. G.: Ärzt. Wschr., **8**, 241 (1953).
15. ROGERS, W. R., WELCH, J. D.: Arch. Int. Med., **100**, 478 (1957).
16. SANDKÜHLER, ST.: Klin. Wschr., **33**, 536 (1955).
17. SCHMENGLER, F. E., ESSER, H.: Klin. Wschr., **30**, 30 (1952).
18. SIA, R. H. P., WU, H.: Chin. Med. J., **38**, 35 (1924) zit. 11.
19. SIEMS, O. H., RAUSCH-STROOMANN, J. G.: Ärzt. Wschr., **10**, 647 (1957).
20. TAYLOR, F. E., BATTLE, J. D. JR.: Ann. Int. Med., **40**, 350 (1954).
21. UEHLINGER, E.: Helv. Med. Acta, **16**, 508 (1949).
22. WALDENSTRÖM, J.: Acta med. Scand., **117**, 216 (1944).
23. WALDENSTRÖM, J.: Acta med. Scand. **142** (Suppl. 266), 931 (1952).
24. WALDENSTRÖM, J.: Schweiz. med. Wschr., **78**, 927 (1948).
25. WALDENSTRÖM, J.: Presse med., **57**, 213 (1949).
26. WEISE, H. J.: Acta Haematol., **15**, 23 (1956).

Dr. K. Kovács danken wir auch an dieser Stelle für die Durchführung der histologischen Untersuchungen.

INCREASE OF VENOUS OXYGEN SATURATION AFTER A HIGH SALICYLATE DOSE IN HUMAN ADULTS

By

K. WALTNER JR., B. TANOS and E. KELEMEN

1st DEPARTMENT OF MEDICINE, UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL, SZEGED

(Received March 26, 1958)

Although pharmacological textbooks agree in that, particularly in febrile patients, a drop of peripheral resistance results from vasodilatation, if therapeutical doses of salicylate are applied, SAYEN et al. (1951) observed in the 2nd hour after the intravenous injection of 1,8 g salicylate to 4 normal individuals no essential change in the arterial blood pressure, pulse rate, cardiac output and digital cutaneous blood flow. On the other hand, ALEXANDER and JOHNSON (1956) found in 4 patients suffering from myxedema that, in the course of salicylate treatment with daily 8 g, the temperature of the limbs was higher also to touch, circulation time was shortened by 25 per cent and cardiac output increased.

In the present experiments the change in the arteriovenous oxygen difference, i. e. the resultant of circulatory and metabolic patterns was investigated in 18 adult subjects, 16 of whom were afebrile and practically normal.

Methods

Sodium salicylate was administered orally on an empty stomach in the morning. The serum salicylate level was determined by the ferric chloride colour reaction with Loberg's technique. Skin temperature was taken with a thermistoric thermometer. Oxygen consumption and carbon dioxide production were estimated with a Noyons diaferometer.

30 minutes before the experiment the patients were asked to lie in a comfortable position on the experimental table, where their arms were immobilized. Venous oxygen saturation was determined from the blood of the cubital vein sampled without stasis. Arterial blood was drawn from the femoral artery. Oxygen saturation was measured with a Millikan type oxymeter. The observations lasted up to 4 hours after the ingestion of the salicylate dose.

Results

The results are summarized in Tables I and II. As Table I shows, the results of the skin temperature determinations were not uniform. The metabolic increase was not closely parallel with the change of skin temperature, although a considerable metabolic effect, an increase of 31 per cent or more, was associated with the rise of the skin temperature.

Table I

Changes of venous oxygen saturation in the forearm, of oxygen consumption and of skin temperature in acute salicylate treatment of adult humans

	Salicylate dose by mouth, given within 2 hrs, g	Serum salicylate level after 4 hrs in mg per 100 ml	Maximum change in skin temperature, °C	Oxygen consumption in ml/min, RQ and CO ₂ production		Change in metabolic rate in per cent of the value before the experiment	Venous oxygen saturation %		O ₂ saturation in femoral artery at the 4th hour	Body weight
				before	after		before	after		
3	19			180 0,84	210 0,90	+19	54	55		51
				151	189					
3	17			193 0,98	212 0,88	+ 2	56	52		58
				189	186					
7	25					+14	60	67	98	60*
7	35	Hand +0.7	215	286	+31	57	73			54*
		Thigh +1.0	0,93	0,89						
		Jugulum no change	200	255						
7	29	Hand -0.9	250	295	+18	56	78	98,5		83*
		Forearm -0.5	0,91	0,91						
		Thigh no change	227	269						
9	31	Forearm -2.1	230	275	+19	57	69			61
		Shank -1.2	0,90	0,82						
		Jugulum -0.9	207	225						
9	55	Forearm +2.0	210	256	+35	47	66	97		54
		Shank +1.7	0,82	0,95						
		Jugulum +2.4	172	243						
9	32	Forearm -1.4	229	250	+ 9	70	72			66
		Shank -3.2	0,92	0,94						
		Jugulum -1.7	211	235						
9	40	Forearm +2.4	200	315	+57	56	72	98		63
		Shank +1.4	0,91	0,90						
		Jugulum +2.0	182	284						
7	22	Forearm -1.2	264	284	+10	56	54			98**
		Shank -2.1	0,94	0,97						
		Abdomen -1.8	248	280						
6	28	Forearm -1.5	289	339	+19	37	58			98***
		Shank -1.7	0,64	0,78						
		Jugulum -0.9	185	264						

Note

Blood haemoglobin in all the subjects examined was above 13 g per 100 ml.

Determinations took place at a temperature of 19° to 21° C. Skin temperature changes not exceeding 0,5° C were designed as "no change". Parallel determinations were made at symmetric skin areas in all cases.

The metabolic rate was determined 4 hours after salicylate administration; in the cases marked with*, 2 hours after salicylate administration.

** Rheumatoid arthritis, Body temperature 37,5° C. Initial metabolic rate, +25 per cent.

*** Myelocytic leukaemia, Body temperature 38,3° C. Initial metabolic rate, +52 per cent.

Table I (continued)

		Maximum change in skin temperature, °C	Oxygen consumption in ml/min, RQ and CO ₂ production		Change in metabolic rate in per cent of the value before the experiment	Venous oxygen saturation %		O ₂ saturation in femoral artery at the 4th hour	Body weight
			before	after		before	after		
5	32		172 0,75	239 0,97	+45	62	71		52
			129	232					
7	37		180 0,86	238 0,90	+34	63	68		52
			155	214					
7	40		148 0,88	210 0,98	+35	57	69		53
			130	206					
9	48		172 0,93	262 0,92	+52	64	79		62
			160	241					
10	43		222 0,88	310 0,92	+44	66	81		70
			195	285					
10	40		249 0,83	331 0,95	+47	62	71		75
			207	314					
10	48		228 0,90	345 0,87	+50	70	78		80
			205	300					

The metabolic increase caused by salicylate was investigated by COCHRAN (1952, 1954). In the present experiments we measured the metabolic rate only to evaluate the change of venous oxygen saturation. In any case, at the same salicylate level the increase in metabolic rate varied.

Of our results, the change in venous oxygen saturation should be emphasized as a newly recognized fact. Saturation of the blood of the cubital vein may increase by 20 per cent during the acute salicylate effect. Then, if metabolism increased with 14 to 57 per cent, blood flow must have been accelerated to such an extent that the venous oxygen saturation remained 20 per cent above normal, in spite of the greatly increased oxygen consumption. The operation of peripheral arteriovenous shunts in this phenomenon remains an

Table II
Oxygen saturation in the blood of the ventricles under acute salicylate effect in rats

Arterial oxygen saturation in the left ventricle		Venous oxygen saturation in the right ventricle	
before	2-3 hours after	before	2-3 hours after
550 mg/kg salicylate subcutaneously			
95	94	46	56
96	96	47	58
97	96	51	60
		52	63
		53	67
		58	

The values "before" and "after" belong to different adult rats.

open question. Arterial oxygen saturation did not change under our conditions, i. e. the arteriovenous oxygen difference diminished under the acute salicylate effect*.

Discussion

According to animal experiments, an important site of the metabolic effect of salicylate is the muscle. It is possible, therefore, that the change in the forearm fraction of oxygen consumption is greater than that of the whole body. The increased venous oxygen saturation thus becomes more remarkable.

To complete our observations, we examined mixed blood of the right ventricle in acute salicylate injury in unanaesthetized rats. As Table II. shows, the percentual increase in the oxygen saturation of mixed venous blood occurred similarly.

MILLER and TENNEY (1956) observed after the intraperitoneal administration of 200 mg/kg/day of salicylate to rats that carbon dioxide and oxygen tension in tissues was diminished. This effect was attributed to increased alveolar ventilation and the greater oxygen consumption of the tissues as compared with their perfusion. TENNEY and MILLER (1955) found a 50 per cent increase in arteriovenous oxygen difference in the salicylate treated dog. ROWE et al. (1956) confirmed this observation. We suggest that the explanation of our divergent results lies in that the observations cited were performed in nembutal anaesthesia and oxygen saturation was estimated 22 to 60 minutes after administering the salicylate.

The advantage of high salicylate doses vs. lower ones is known from clinical literature. As Table I. shows, venous oxygen saturation did not change either in the first two subjects treated with lower doses, or in two other cases where the metabolic increase was less than 14 per cent. KELEMEN et al reported in 1950 that small doses of salicylate hardly inhibited the acute experimental inflammatory oedema in rat limb oedema test.

* WEGRIA et al. (1955) reported that the diminished arterial oxygen saturation of patients with chronic emphysema increased during treatment with salicylate.

Later we demonstrated that a significant increase in metabolic rate, increased peripheral blood flow and vasodilation accompany the anti-inflammatory effect of high salicylate doses. Therefore, circulation, metabolism and arteriovenous oxygen difference exhibit similar changes during acute salicylate treatment both in human subjects and in rats.

SUMMARY

A metabolic increase of more than 14 per cent in the first 4 hours, induced by 6 to 10 g sodium salicylate given orally to human subjects, is accompanied by an approximately 20 per cent increase of oxygen saturation in the blood of the cubital vein. Although skin temperature rose only if the metabolic increase had surpassed 19 per cent, the higher oxygen content of the venous blood means that a remarkable increase of blood flow had occurred in 16 out of the 18 cases.

REFERENCES

- ALEXANDER, W. D. and JOHNSON, K. W. M.: *Clin. Sci.* **15**, 593 (1956).
COCHRAN, J. B.: *Brit. Med. J.* **II**, 964 (1952).
COCHRAN, J. B.: *Brit. Med. J.* **I**, 773 (1954).
KELEMEN, E., MAJOROS, M., IVÁNYI, J. and KOVÁCS, K.: *Experientia* **6**, 435 (1950).
LOBERG, K.: *Biochem. Ztschr.* **170**, 173 (1926).
MILLER, R. M. and TENNEY, S. M.: *Proc. Soc. Exp. Biol.* **92**, 791 (1956).
ROWE, G. G., MAXWELL, G. M., CASTILLO, C., EMANUEL, D. A., BROWN, J. F. and SCHUSTER, B.: *Circulation* **14**, 991 (1956).
SAYEN, A. O., HORWITZ, O. and STOUD 3rd, M. W.: *Amer. J. Med. Sci.* **221**, 667 (1951).
TENNEY, S. M. and MILLER, R. M.: *Amer. J. Med.* **19**, 498 (1955).
WEGRIA, R., CAPECI, N., KISS, G., GLAVIANO, V. V., KEATING, J. H. and HILTON, J. G.: *Amer. J. Med.* **19**, 509 (1955).

PHOTOMETRIC ESTIMATION
OF MELANOCYTE-STIMULATING HORMONE (MSH,
INTERMEDIN) OR MELANOPHORE-EXPANDING
ACTIVITY OF AN ACTH-PREPURATION, VOEGTLIN'S
POWDER AND FRESH HUMAN SERUM ON ISOLATED
FROG SKIN IN VITRO

By

VR. SCHREIBER

With the technical assistance of VLASTA KMENTOVÁ

LABORATORY FOR ENDOCRINOLOGY AND METABOLISM, 3RD DEPARTMENT OF MEDICINE,
CHARLES UNIVERSITY, PRAGUE

(Received March 29, 1958)

I. Introduction

In recent years it has been demonstrated that the melanocyte-stimulating hormone of the hypophysis (MSH, Intermedin) is not only important as the regulator of skin pigmentation in amphibians, but that it is also formed in higher vertebrates and man, that it is excreted in the urine, and that its excretion undergoes marked changes in certain clinical syndromes (SULMAN 1956, BEERMAN 1956, DEUTSCH and MESCON 1957, LERNER 1955). The questions of the mechanisms leading to its secretion have not yet been solved, and little is known of the physiological significance of MSH in man. A marked relationship between the formation and excretion of MSH and certain endocrinopathies (Addisonism, postadrenalectomy states) and pregnancy shows the need for determining MSH in biological material (urine, blood) in endocrinological diagnosis.

Methods of determining MSH all record changes in the skin of amphibians following application of the hormone and can be divided into two groups according to whether they are based on determination *in vivo* or *in vitro*. Methods determining MSH *in vivo* require usually more complex apparatus (reflectometry), and although some authors prefer them (DEUTSCH *et al.* 1957), we decided to use an *in vitro* method. We had two reasons for making this choice — we used the skin of one frog for simultaneous determination of MSH activity in eight samples, we compared a standard and unknown preparation in the skin of the same individual at the same time (thus excluding individual differences), and, finally, we needed no special apparatus. Our method was based on the same principle as that of FRIEDEN *et al.* (1948), i.e. on the registration of changes in light passed through isolated frog skin after adding a solution of MSH to the medium.

II. Method

Experiments were performed in October and November. Female frogs (*Rana temporaria*) were kept in aquaterraria with continuously running tap water, the room was continuously lighted. The animals weighed 50–70 g each. One day before titration they were hypophysectomized under urethane anaesthesia (0,5 ml 20% urethane solution per 50 g body weight, administered subcutaneously into the dorsal lymph sac) by the buccal route. The bone opening

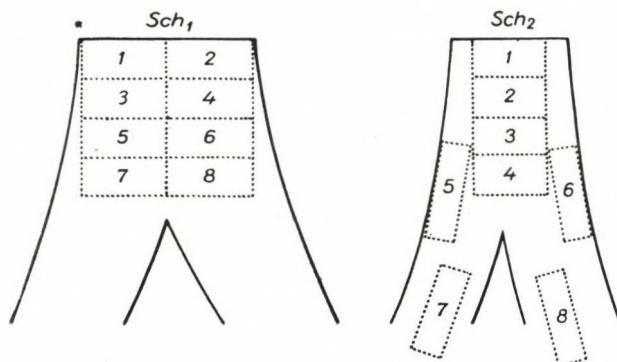


Fig. 1. Drawing of division of skin from the back of large individuals of *R. temporaria* (Sch₁) and from the back and thighs of smaller individuals (Sch₂)

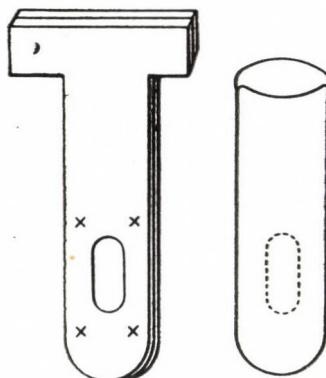


Fig. 2. Drawing of plates, between which the skin samples are stretched and the adapted cuvette of Coleman-Junior spectrophotometer

was closed with bone wax and the mucous membrane was sutured. The commencement and degree of loss of pigmentation varied considerably, although hypophysectomy was complete. We carried out the test in all completely hypophysectomized animals, without paying attention to the development or degree of loss of pigmentation. The frogs were decapitated and the skin was stripped from the back and thighs and immediately placed in frog-Ringer solution. The skin was then pinned out on filter paper moistened with Ringer solution, residua of subcutaneous connective tissue were removed and the skin was divided into eight pieces measuring 1 cm by 2 cm, according to the diagrams in Fig. 1. The pieces of skin were immediately placed in test-tubes, containing 5 ml. of Ringer solution. Then they were successively stretched out between two polyamide plates, joined by brass screws, with an oval opening in the middle corresponding to the aperture of the photocell of a Coleman-Junior spectrophotometer (Fig. 2). We always divided the skin in the same way, paying no attention to the localization of dark blotches, etc. As described below, there was no correlation between the localization of the skin piece and the reaction to the dose of MSH, but there was a correlation between the localization

of the skin and initial extinction. This correlation was due to the thickness of the skin rather than to pigmentation (the skin on the lower part of the back and on the thighs is thinner). The plates containing the taught skin were placed in adapted cuvettes of the Coleman-Junior spectrophotometer (Fig. 2), containing 18–20 ml. of frog-Ringer solution.

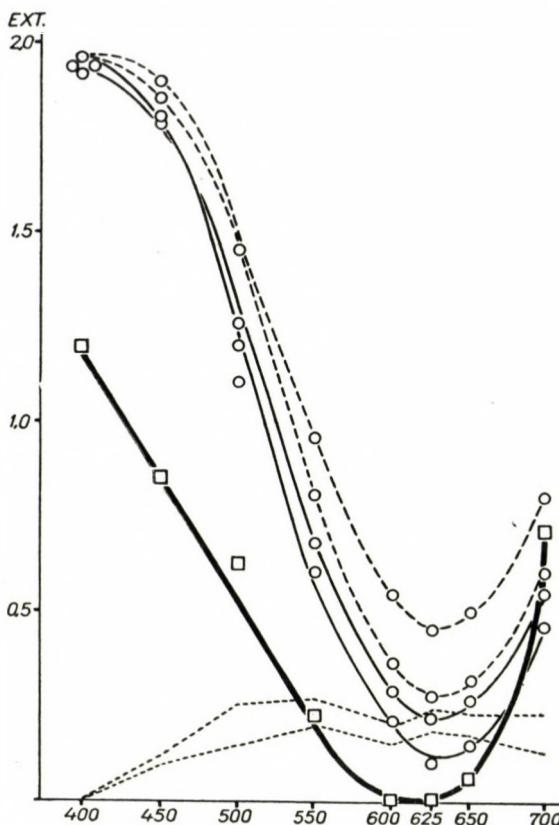


Fig. 3. Absorption spectra of two samples of isolated frog skin before adding MSH to the medium (continuous lines) and after (broken lines). The thick line denotes the absorption spectrum of the chosen standard. Below : increase in extinction of both specimen after adding 0.025 "vairon" units MSH/ml. $x = \text{wave-length in } m\mu$

Absorption spectra of frog skin

In preliminary experiments we determined the absorption spectrum of the isolated parts of frog skin. The results are shown in Fig. 3. We then prepared a standard from brown waxed paper, stretched between the same plates as the frog skin, with an absorption spectrum approximately the same as that of skin. On adding NSH to the incubation medium, extinction of the frog skin increased, the maximum occurring between 525–575 $m\mu$ and 600–650 $m\mu$. (Fig. 3). We therefore measured constantly at 625 $m\mu$, which is at the same

time the wavelength, at which can be the extinction of the standard most easily adjusted to the 0 point of the scale of the spectrophotometer. With every measurement we checked adjustment of the sensitivity of the colorimeter (after inserting the standard, extinction equalled 0) and then read the extinction of the skin sample.

Measurement

After inserting the plates, with the piece of skin, in cuvettes containing Ringer's solution, we measured the extinction at half-hourly intervals, until the change was no more than 0.02. This took 1½ to 2 hours. We then made up the contents of the cuvettes to 20 ml by adding known quantities of MSH in Ringer's solution, so as to obtain a final concentration of 0,0125—0.05 "vairon" units MSH/ml. We used a lyophilized preparation of MSH (Intermédiaire Choay, Paris), containing 16.000 "vairon" units per ampoule. The amount of readily soluble powder in each ampoule is 6 mg, one mg. therefore contains 2.666 "vairon" units.

Immediately after adding the standard solution (or other material), we checked the extinction of the sample, regarding as the initial value. We measured extinction at half-hourly intervals, recording these readings as the change from initial extinction, which was taken as zero. For example, if the initial extinction was 0.200, and after half an hour 0.240 was measured, this was recorded as 0.040. After the addition of MSH to the medium, extinction of the skin samples was higher. We expressed the degree of the reaction as the maximum increase in extinction as compared with initial extinction, and simultaneously in terms of the area enclosed by the curve of the reaction for four hours after the application of the test material. The area of the reaction was determinated by dividing by 0.02 the sum of all extinction changes, obtained at half-hourly intervals for four hours after adding MSH (eight values altogether). In our graphical recording of the course of the reactions, 1 cm² corresponds to an extinction of 0.02 we therefore express the area of the reaction in cm². Expression of the reactions as an area has the advantage that we can evaluate both the maximum change in extinction and also the rate of increase. As seen below, this is important, particularly for differentiating the quality of the effect of MSH, Voegtlín's powder and ACTH.

III. Results with the standard preparation of MSH

The results of 76 titration tests, using different concentrations of the standard MSH preparation (Intermédiaire Choay) are given in Tab. I and the average curves of the reactions in Fig. 4. Average reactions to the individual

Table I

Dose of MSH/m "vairon" units	0.0125	0.025	0.0375	0.05
Number of tests	17	25	17	17
maximal increase of the extinction .	m 0.111 σ 0.059 σ_m 0.0149	0.216 0.072 0.0147	0.298 0.083 0.0207	0.372 0.087 0.0217
Area of the reaction cm. ²	m 27 σ 16.6 σ_m 4.1	59 20.5 4.2	75 19.4 4.8	112 30.5 7.6

m = arithmetical mean; σ = standard deviation; σ_m = s. d. of mean

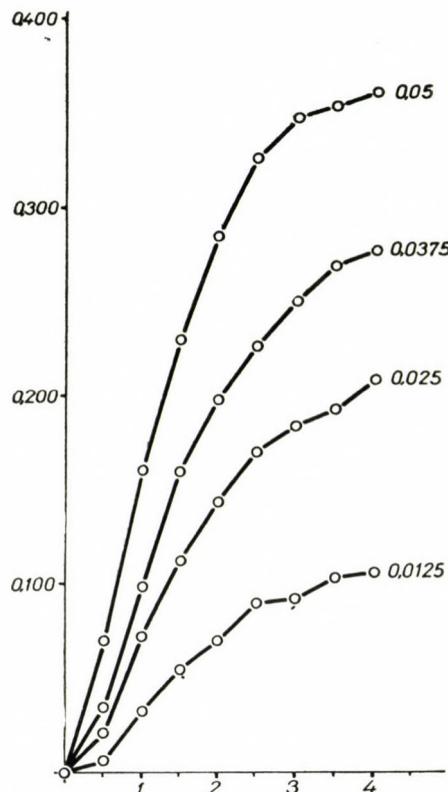


Fig. 4. Average curves of the reaction to the given concentrations of MHS in the medium
 x = time in hours; y = absolute increase in extinction of the skin as compared with the initial value

doses of MSH are given in Fig. 5, together with some statistical values. Individual reactions to the various concentrations of MSH can be seen in Fig. 6. The method reliably demonstrates a concentration of 0.0125 "vairon" units per ml of the preparation, i. e. 0.0046 $\mu\text{g}/\text{ml}$.

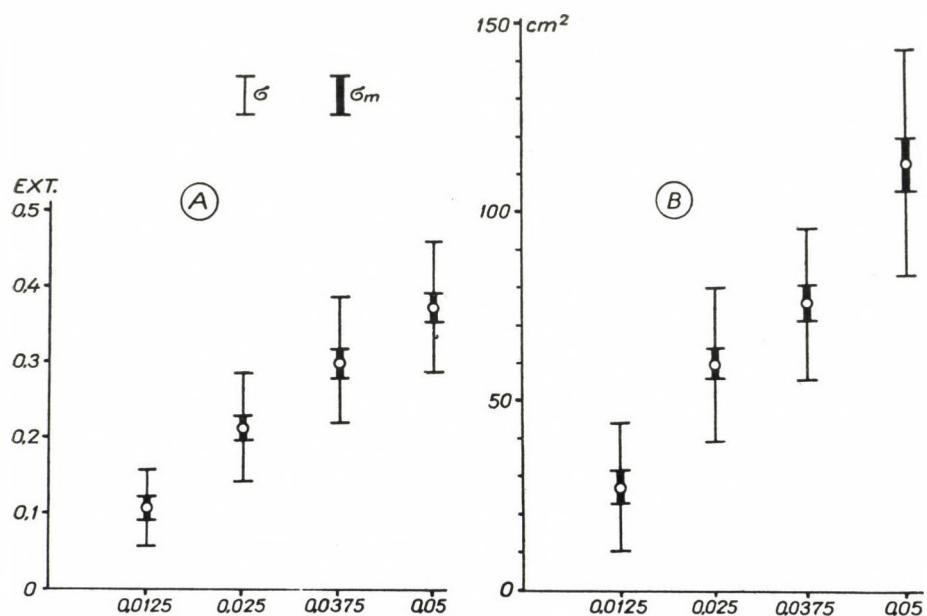


Fig. 5. A. Relationship between the dose of MSH ($x =$ "varion" units/ml) and maximum extinction increase (y)
 B. Relationship between the dose of MSH ($x =$ "varion" units/ml) and the area of the reaction in cm^2 after 4 hours (y) circles = average values, σ = standard deviation, σ_m = s. d. of mean

IV. Analysis of the method

In order to be able to use all eight skin samples from every completely hypophysectomized frog without the danger of distortion of the results through any relationship between the reaction and the original localization of the skin, it was necessary to exclude the possibility of any such correlation. Rank correlation coefficients (ρ) were therefore calculated (May 1957) for relationships between the number of the skin sample (Fig. 1, Nos. 1 and 2, 3, and 4, etc. were always regarded as one group) and initial extinction, and for relationships between the number of the sample and the reaction to a given dose of MSH. Finally, the usual correlation coefficients (r) were calculated for relationships between initial extinction and the magnitude of the reaction, expressed as the maximum in extinction and the area of the reaction curve. The results are given in Table II.

Table. II shows that the correlation between the number of the skin sample and initial extinction may be statistically significant, but that there is no correlation between initial extinction and the reaction, whether the latter is expressed as the extinction maximum ($p > 0.05$), or as the area of

Table II

Correlation between	Skin sample division (Fig. 1.)	MSH conc. "vairon" units/ml	ρ	r	n	p
Number of skin sample and initial extinction	Sch ₁		-0.42		14	>0.1
	Sch ₂		-0.44		38	>0.01
Initial extinction and reaction (maxima)		0.0125		-0.41	17	>0.05
		0.025		-0.09	23	>0.05
		0.0375		+0.02	17	>0.05
		0.05		-0.38	17	>0.05
Initial extinction and reaction (area cm ²)		0.0125		0.26	17	>0.05
		0.025		-0.21	23	>0.05
		0.0375		-0.21	17	>0.05
		0.05		-0.38	17	>0.05
Number of skin sample and reaction (area cm ²)		0.0125	+0.56		14	0.08
		0.025	-0.04		14	>0.1
		0.0375	+0.28		12	>0.1
		0.05	+0.12		11	>0.1

 ρ = rank correlation coefficient n = number of tests r = correlation coefficient p = probability

the reaction ($p > 0.05$). It follows from this that the reaction of the skin to MSH must be expressed in absolute values of the increase of the extinction, and not in relative values (i. e. not the increase of extinction as a percentage of initial extinction). Finally, the rank correlation coefficients for the relationships between the number of the skin sample and the reaction to a given dose of MSH show no statistically significant relationship between the degree of the reaction and the number of the skin specimen, or its localization on the frog's body: in every case p was higher than 0.1, and approached the limits of statistical significance, i. e. 0.08, only with the dose of 0.0125 "vairon" units/ml.

In concluding the above statistical analysis, it should be noted that it is possible to use any sample of skin, whatever its original localization on the frog's body (in the limits of Fig. 1). We nevertheless always use adjacent samples (e. g. 1 and 1, 3 and 4, etc.) when comparing a standard and unknown solution.

V. The melanocyte-expanding activity of an ACTH-preparation

It is generally known, that ACTH preparations have a melanocyte-stimulating activity, and it has been stated that this effect is a property of part of the ACTH molecule. We were therefore interested as to what reaction the Czechoslovak ACTH preparation, Corticotrophin SPOFA, would produce

under the above experimental conditions. We used batch No. 110257/5A. The result can be seen in Table III.

On comparing with the curve of the effect of lyophilized MSH (Fig. 5.), it can be seen that the melanocyte expanding activity of one milliunit ACTH SPOFA corresponds approximately to one "varion" unit of MSH (Intermédia Choay, Paris).

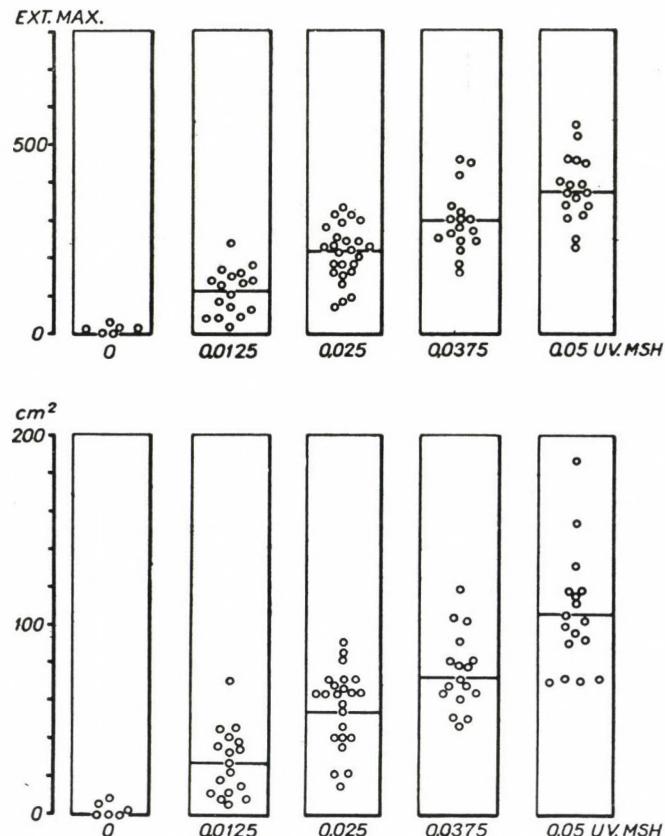


Fig. 6. Individual reactions (above maximum increases of extinction, below areas of reactions) to the concentrations of MSH in medium (UV MSH = "varion" units/ml). In the first groups, marked O, the skin was incubated in Ringer solution without adding MSH

VI. The melanocyte-expanding activity of the Voegtlin's powder

When determining MSH activity, some authors used extracts of the neurohypophysis (or the international standard preparation, Voegtlin's powder) as the standard. This was employed by FRIEDEN *et al.* (1948), whose principle we used in elaborating our own method. It is important that these authors

Table III

Dose of ACTH in milliunits/ml	0.0125	0.025	0.0375	0.05
Number of tests	4	6	5	5
Average reaction (maxima)	0.105	0.153	0.302	0.312
Average reaction (area cm ²)	29	44	102	106

did not succeed in finding a quantitative relationship between the dose of neurohypophyseal extract and the reaction of isolated frog's skin, and were therefore obliged to resort to a more complicated titration method (determination of the increase in extinction after adding the test solution to the standard solution). In our own experiments we were unable to find a quantitative relationship between the concentration of Voegtlín's powder extract in the medium and the degree of darkening of the skin. The result of 21 titrations is given in Table IV.

Table IV makes it clear that Voegtlín's powder cannot be used as a standard in our method of titrating MSH activity in isolated frog's skin, as there was not the slightest correlation between the dose (concentration) and the reaction. At the same time, however, Voegtlín's powder possesses a high degree of MSH activity; a concentration of 0.625 milliunits/ml (corresponding to 0.31 µg/ml) still produced a strong reaction.

Table IV

Voegtlín U/ml	0.000625	0.00125	0.001875	0.0025	0.00375	0.005
No. of tests	5	6	3	3	2	2
Average reaction (maxima)	0,424	0,265	0,433	0,250	0,285	0,325
Average reaction (area cm ²)	151	93	146	97	101	115

The absence of a relationship between the dose and the reaction was not the only characteristic feature of the action of neurohypophyseal extract in our experiments. There was also a very marked difference in the course of the reaction, the commencement of the reaction being much steeper than with MSH. The ratio of the area enclosed by the curve of the reaction for the first two hours to that of the second two hours was 1 : 1.92 for MSH and only 1 : 1.16 for neurohypophyseal extract. A comparison of the individual values (17 tests with 0.05 "vairon" units/ml. from Table I. and all concentrations of Voegtlín's powder extract from Table IV) of the relationships between

the two halves of the reaction is given in Fig. 7. The character of the reaction to whole pituitary extract (rats) was the same as that of the reaction to Voegtlin's powder. We could not, therefore determine the MSH-activity in whole pituitary glands of rats.

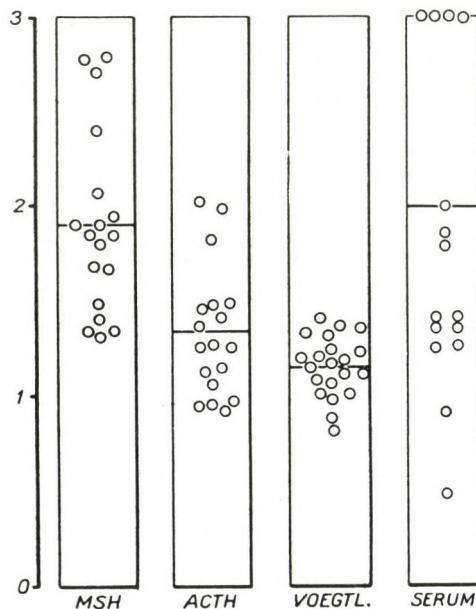


Fig. 7. Individual values of the ratio "area of the reaction for the first two hours": "area of the reaction for the second two hours"

VII. Application of the method for estimation of MSH-activity in fresh human serum and the results of titration in serum from pregnant women

Most clinical studies dealing with pathological pigmentation, etc. have described the determination of MSH in urine extracts. SULMAN (1956) examined the MSH content in the blood of a considerable number of patients, but also used the extraction method. The ideal method for the serial investigation of MSH-activity in human blood would be to work with fresh serum. The method described above is sufficiently sensitive for this purpose.

We used the following procedure for estimating MSH-activity in fresh human serum. We prepared 18 ml Ringer's solution in a cuvette with the skin sample, and after extinction had stabilized we added 2 ml fresh human serum, mixed with the medium and immediately read the initial extinction. Then we proceeded as with the standard preparation. We usually added the serum within 15 minutes of collecting the blood, but found that blood from pregnant women produced a reaction after an even longer period (1–2 hours).

We evaluated the reaction in the usual way, i. e. by the extinction maximum and by the area of the reaction curve. A simple comparison with the curve of the effect of MSH shows how many MSH units are represented by the MSH-activity of the given blood specimen. Sera from normal subjects or from patients convalescing from mild bronchopneumonia gave no reaction in these experiments (extinction of the skin sample did not change, or varied only in the limits of ± 0.02). The results of 16 titrations of serum MSH-activity in pregnant women are illustrated in Fig. 8. This shows that the level of MSH-activity in the serum of pregnant women is quite high; in our cases it amount-

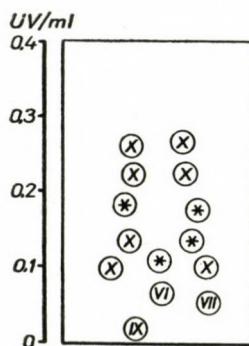


Fig. 8. MSH-activity in fresh serum from pregnant women, expressed in "vairon" units/ml (UV/ml). The roman figures in the circles denote the month of pregnancy; asterisks denote that blood was collected during labour or immediately after delivery

ed in the tenth month of the gravidity to 0.1–0.25 "vairon" units/ml. The determination of MSH-activity in pregnancy serum was intended only for verification of whether our method was sufficiently sensitive to demonstrate MSH-activity in fresh serum. We had no intention of analysing the relationship between MSH-activity and the month of pregnancy. The character of the reaction was the same as after adding MSH, the ratio of the first half of the reaction to the second half being : 2.08 (Fig. 7).

VIII. Discussion

The method described in present paper is characterised by a high degree of sensitivity. It demonstrates a concentration of only 0.0125 "vairon" units ml of MSH (Intermédia Choay), i. e. 0.0046 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of this lyophilized preparation, or 0.0125 milliunits/ml of ACTH-SPOFA, i. e. 0.0125 $\mu\text{g}/\text{ml}$ of the preparation used. In titrating MSH-activity by FRIEDENS (1948) method, DEUTSCH *et al.* (1956) found sensitivity to only 0.125 μg ACTH/ml, the activity being 1.56 IU/mg, so that required amount corresponds to about 0.2 milli-

units/ml. This amount is 16 times more than in our method, not taking, however, into account the fact that different preparations were used and that there might therefore have been an unequal relationship between ACTH and MSH activity.

It is difficult to compare the sensitivities of the *in vivo* and *in vitro* methods. DEUTSCH *et al.* (1956) found that their *in vivo* method (which they regard as more sensitive than the titration *in vitro*) is sensitive to a minimal amount of 0.064 µg of an ACTH preparation, containing 1.56 IU/mg, so that 0.064 mg corresponds to 0.0998 milliunits of ACTH, i. e. approximatively 0.1 milliunit. The given amount in DEUTSCH's method is administered to the living frog in 0.1 ml solution.

The causes of these differences in sensitivity are probably due to the different species of frogs (FRIEDEN used *Rana pipiens* while we used *Rana temporaria*), and to the fact that we worked with hypophysectomized animals (in which, according to Collip's principle, greater sensitivity may be expected) and finally, in our opinion, to the fact that we did not determine extinction changes either globally, through the whole spectrum, by a densitometer, like DEUTSCH *et al.* (1956), or only using a filtre, like FRIEDEN *et al.* (1948), but we measured the reaction at its spectral maximum, i. e. at 625 mµ.

A further characteristic feature of our method is the differentiation between the effect of lyophilized MSH (Intermédiaine, Choay) and that of Voegtlin's dried neurohypophyseal powder. Two extreme types of reaction can be distinguished — a reaction with a slow onset, which is characteristic of MSH, and a reaction with a rapid onset, characteristic of Voegtlin's powder. In the latter type of reaction, which is also characteristic of whole rat pituitary extract, we found no quantitative relationship between the dose and the reaction, whereas with a slowly developing reaction a relationship was clearly evident. As mentioned above, the application of fresh pregnant serum produced a reaction with slow onset (characteristic of MSH), although the ratio of the first to the second half varied considerably (Fig. 7). The ACTH preparation used (Corticotrophin SPOFA) produced reaction with an average ratio of 1 : 1.34 (average from all tests in Table III), i. e. between the values for MSH and Voegtlin's powder. There was, however, a clearly evident quantitative relationship between the dose and the reaction. It should be noted that the preparation in question possesses marked vasopressin activity.

We can give no opinion on the cause of the differences between the course of the reaction to MSH and Voegtlin's powder; we can only draw attention to the communication of SULMAN and EVIATOR (1956), demonstrating the existence of two MSH, which can be separated chromatographically. One of these was isolated from the adenohypophysis and its formation is blocked by corticoids, the other was isolated from the neurohypophysis and the intermediate lobe and its formation is not dependent on corticoids.

SUMMARY

1. Female frogs (*R. temporaria*) were hypophysectomized under urethane anaesthesia and next day the skin of their back and thighs was used in the titration of MSH (MSH-activity) by a photometric method *in vitro*. Absolute increase of the extinction of the skin after adding MSH to the incubation medium was then registered at 625 m μ . on a Coleman Junior spectrophotometer. Experiments were performed in October and November.

2. A correlation was found between the original localization of the skin and its initial extinction, but this was due to the thickness of the skin rather than to its pigmentation. There was no statistically significant correlation between initial extinction and the reaction to the given dose of MSH, and hence no correlation between the original localization of the skin and its sensitivity.

3. The method is sensitive for as little as 0.0125 "vairon" units MSH/ml., using the preparation Intermédine Choay (i. e. 0.0046 μ g/ml.), or for 0.0125 milliunits ACTH/ml., using the preparation Corticotrophin SPOFA (i. e. 0.0125 μ g/ml.).

4. The method reliably demonstrates MSH activity in fresh serum from pregnant women, diluted with Ringers solution in the proportion of 18 ml. Ringer solution : 2 ml. serum. Using this method, a concentration of 0.1–0.25, "vairon" units/ml. serum was found during the tenth month of pregnancy or during labour.

5. Using a standard neurohypophyseal preparation (Voegtlín's powder), no relationship was found between the dose of extract and the reaction. The character of the reaction to a Voegtlín's powder extract (a rapid onset of the reaction) differed from the character of the reaction to MSH, to serum from pregnant women and partially to ACTH.

LITERATURE

- BEERMAN, H.: Some aspects of pigmentation of the skin. Amer. J. Med. Sci., **231**, 451 (1956).
DEUTSCH, S., ANGELAKOS, E. T. and LOEW, E. R.: A quantitative method for measuring melanophore expanding activity. Endocrinology **53**, 33 (1956).
DEUTSCH, S., ANGELAKOS, E. T. and LOEW, E. R.: Comparison of methods for quantitating melanophore responses. Proc. Soc. exp. Biol. **94**, 576 (1957).
DEUTSCH, S. and MESCON, H.: Melanin pigmentation and its endocrine control. New England J. Med. **257**, 222 (1957).
FRIEDEN, E., H., FISHBEIN J. W. and HISAW, F. L.: An *in vitro* bioassay for intermedine. Arch. Biochem. **17**, 183 (1948).
LERNER, A. B.: Melanin pigmentation. Amer. J. Med. **19**, 902 (1955).
MALÝ, V.: The importance and use of rank in medical statistics. Sborník lékařský **59**, 155 (1957).
SULMAN, F. G.: Chromatophorotropic activity of human blood. Review of 1200 cases. J. Clin. Endocrin. **16**, 755 (1956).
SULMAN, F. G. and EVIATOR, A.: The existence of two chromatophore hormones in the pituitary gland. Acta Endocrin. **23**, 120 (1956).

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki felelős: Farkas Sándor

A kézirat nyomdába érkezett: 1958. VII. 2. — Terjedelem: 14,50 (A/5) iv, 37 ábra, 5 melléklet

Akadémiai nyomda, Bp. V., Gerlóczy-u. 2. — 46123/58 — Felelős vezető: Bernát György

The *Acta Medica* publish papers on medical science in English, German, French and Russian.

The *Acta Medica* appear in parts of varying size, making up volumes.

Manuscripts should be addressed to :

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same address.

The rate of subscription to the *Acta Medica* is 110 forints a volume. Orders may be placed with "Kultura" Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

Les *Acta Medica* paraissent en français, allemand, anglais et russe et publient des mémoires du domaine des sciences médicales.

Les *Acta Medica* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en volumes. On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction à l'adresse suivante :

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix de l'abonnement est de 110 forint par volume. On peut s'abonner à l'Entreprise du Commerce Extérieur de Livres et Journaux «Kultura» (Budapest, VI.. Népköztársaság útja 21. — Compte-courant No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

«*Acta Medica*» публикуют трактаты из области медицинских наук на русском, немецком, английском и французском языках.

«*Acta Medica*» выходят отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи следует направлять по адресу:

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

По этому же адресу направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписная цена «*Acta Medica*» — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет «Kultura» (Budapest VI. Népköztársaság útja 21. Текущий счет № 43-790-057-181) или его заграничные представительства и уполномоченные.

INDEX

<i>Gerlóczy, F. and Bencze, B.: Vitamin Metabolism in Infantile Atrophy</i>	1
<i>Petrányi, J.: Naturgeschichte des Lupus erythematosus und die klinischen Zusammenhänge der rheumatischen Erkrankungen</i>	85
<i>Hankiss, J. und Hadházy, Cs.: Resorption von Insulin und Asthmolysin von der Nasenschleimhaut</i>	107
<i>Benkő, S.: Reticuloses and Experimentally Induced Reticuloses due to Storage of Methylcellulose</i>	115
<i>Winter, M. und Rák K.: Über die hyperglobulinämischen Purpuraformen.....</i>	137
<i>Waltner, K. jr., Tanos, B. und Kelemen E.: Increase of Venous Oxygen Saturation after a High Salicylate Dose in Human Adults.....</i>	147
<i>Schreiber Vr.: Photometric Estimation of Melanocyte-stimulating Hormone (MSH, Intermedin) or Melanophore-expanding Activity of an ACTH-Preparation, Voegtlín's Powder and Fresh Human Serum on Isolated Frog Skin in vitro.....</i>	153

ACTA MEDICA

ACADEMIAE SCIENTIARUM HUNGARICAE

ADIUVENTIBUS

A. BABITS, Ö. KERPEL-FRÓNIUS, I. KÖRNYEY, Ö. RAJKA,
I. RUSZNYÁK

REDIGIT

G. HETÉNYI

TOMUS XII

FASCICULI 3—4



1958

ACTA MED. HUNG.

ACTA MEDICA

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
ORVOSTUDOMÁNYI KÖZLEMÉNYEI

KIADÓHIVATAL: BUDAPEST V., ALKOTMÁNY UTCA 21.

Az *Acta Medica* német, angol, orosz és francia nyelven közöl tudományos értekezéseket az orvostudomány köréből.

Az *Acta Medica* változó terjedelmű füzetekben jelenik meg, több füzet alkot egy kötetet. A közlésre szánt kéziratok a következő címre küldendők:

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

Ugyanerre a címre küldendő minden szerkesztőségi levelezés.

Az *Acta Medica* előfizetési ára kötetenként belföldre 80 forint, külföldre 110 forint. Megrendelhető a belföld számára az „Akadémiai Kiadó”-nál (Budapest, V., Alkotmány utca 21. Bankszámla: 05-915-111-34), a külföld számára pedig a „Kultúra” Könyv és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Bankszámla 43-790-057-181), vagy annak külföldi képviseleteinél, bizományosainál.

Die *Acta Medica* veröffentlichen Abhandlungen aus dem Bereich der medizinischen Wissenschaften in deutscher, englischer, französischer und russischer Sprache.

Die *Acta Medica* erscheinen in Heften wechselnden Umfangs. Mehrere Hefte bilden einen Band.

Die zur Veröffentlichung bestimmten Manuskripte sind an folgende Adresse zu senden:

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

An die gleiche Anschrift ist auch jede für die Redaktion bestimmte Korrespondenz zu richten.

Abonnementspreis pro Band: 110 Forint. Bestellbar bei dem Buch- und Zeitungs-Außenhandels-Unternehmen »Kultura« (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Bankkonto Nr. 43-790-057-181) oder bei seinen Auslandsvertretungen und Kommissionären.

THE USE OF ELASTASE IN THE TREATMENT OF CHRONIC SUPPURATIVE PULMONARY DISEASES

By

K. KOVÁCS and D. BAGDY

DEPARTMENT OF TUBERCULOSIS, 4th DISTRICT HOSPITAL, AND BIOCHEMICAL DEPARTMENT, PHARMACO-INDUSTRIAL RESEARCH INSTITUTE, BUDAPEST

(Received March 28, 1958)

In the treatment of chronic suppurative pulmonary conditions it is common practice to subject the aspirated bronchial contents to bacteriological and sensitivity tests and then to prescribe antibiotic therapy on grounds of the sensitivity thus determined. In this way some of the chronic pulmonary diseases (abscess, chronic pneumonia, bronchiectasis, etc.) can be cured or rendered symptom-free [1, 2]. However, the response to antibiotic therapy is not invariably favourable, because the necrosed pulmonary tissue, even if it has become sterile, may maintain aseptic suppuration in the bronchi.

In order to liquify the pus and to promote the ejection of necrosed tissue, several authors administer intrabronchially pyolytic enzymes after bronchoscopic suction. The first experiments along these lines were made with streptokinase-streptodornase, administered intrabronchially through the bronchoscope for the treatment of atelectasis and chronic pneumonia by KOFMAN *et al.* [3], MUENSTER *et al.* [4], and for the treatment of bronchiectasis by KOVÁCS and DÉVÉNYI [5]. BETHGE and HERZER [6] prescribed inhalation of streptokinase-streptodornase in cases of pulmonary abscess, and aspirated the liquified discharge by bronchoscopy. Since the use of streptokinase-streptodornase gave rise to toxic side effects and high fever, preference has been given to trypsin. PECK and LEVIN [7], as well as STEIGMAN and SCOTT [8], treated atelectasis in poliomyelic infants by the intrabronchial administration of trypsin. CRAVEN [9] has recommended the use of trypsin spray. Trypsin aerosol has been advocated by GERRITS and MUNTINGHE [10] in asthma, by ROBEL [11] in asthma, bronchiectasis and chronic pulmonary tuberculosis. BERGSMANN and KARLHUBER [12] obtained good results by intrabronchial trypsin treatment in cases of atelectasis and extensive tuberculosis.

We, too, achieved favourable results with trypsin in the treatment of suppurative conditions of the lung and pleura [13]. Two kinds of preparation were used, the crystalline, dialysed and lyophilized trypsin of Novo Industri A/S, København, and the amorphous product of Merck, Inc. The latter

product contains about 80 per cent of lactose to ensure better solubility. Of this amorphous trypsin we gave about the same effective dose as of the crystalline one, *i. e.* 50 mg of the crystalline, or 250 mg of the amorphous preparation were administered at bronchoscopy into the orifice of the appropriate segmental bronchus. As a result, the pus was liquified and could be aspirated, inflammation became circumscribed and in most cases recovery ensued, so that there was no need for lung resection. Even if the patient had to be operated upon, favourable conditions were ensured for surgery. In cases of empyema the administration of trypsin through the puncturing cannula produced excellent therapeutic results.

Crystalline trypsin having at first not been available, the experiments were started with amorphous trypsin. Later, we used the crystalline preparation. The two preparations were found to differ in action. The response to amorphous trypsin was protracted and expectoration was more ample. 48 hours after administration the enzyme had to be aspirated from the bronchus, because the mucosa became hyperaemic; some minor haemorrhages also occurred.

A comparison of the two preparations suggested that amorphous trypsin may contain some agent which is not present in the crystalline one. This assumption has led to the use of elastase, the enzyme discovered by BALÓ and BANGA [14].

As it is known, elastase prepared from the pancreas splits elastin, the special protein of elastic fibres. In recent years the chemical and biological properties of the new enzyme have been studied extensively both in this country and abroad. HALL *et al.* [15] investigated into the favourable preparation of the enzyme. PARTRIDGE *et al.* [16] studied in detail the biochemistry of the enzyme and its substrate. LANSING [17] reported that by feeding elastase to rabbits he succeeded in preventing the development of cholesterol atherosclerosis and of the fatty degeneration of the liver. BALÓ and BANGA [18] were the first to point out the correlation between the elastase content of the human pancreas and the development of arteriosclerosis. Whereas in normal young men and adults the elastase content of the pancreas varies, within a well-defined range, in individuals with arteriosclerosis it is very low, on the average 5 to 6 per cent of the physiological level.

One of the main problems in elastase research was to develop a method facilitating the economical production of large quantities of the enzyme in chemically pure and possibly homogeneous form. BANGA, in 1952 [18], succeeded in obtaining a crystalline enzyme preparation, but this did not meet the above requirements. Owing to the fact that there was a demand for elastase in various fields of therapy, the research laboratories of several pharmaceutical works have been investigating the isolation of elastase. In Hungary BAGDY and BANGA [20] developed a simple adsorption method by

which a highly-active (30 to 100 elastase units/mg)* enzyme preparation was obtained from dry pancreas powder. As far as its specific elastolytic activity is concerned, this preparation is at least equivalent to the one made by Light & Co., Great Britain. The lyophilized, slightly yellowish dried elastase contains very little salt and its moisture content is below 0.5 per cent.

According to the present view, elastase is a special proteolytic enzyme, with elastin, the protein of elastic fibres, as its specific substrate. Elastase is capable of dissolving not only elastin, but also a series of other proteins. For example, it digests haemoglobin denatured by urea, serum albumin, casein and also certain synthetic substrates. Trypsin also splits these substrates, but is unable to lyse elastin. In comparative studies with haemoglobin as the substrate, PARTRIDGE and DAVIS [21] found that elastase was about twice as active as crystalline trypsin. This finding, which has been confirmed from other sides, is not only of theoretical significance, but calls attention also to the circumstance that elastase may successfully replace trypsin in therapy. Like trypsin, elastase can best split denatured protein (necrosed tissue), its activity on live tissue being inhibited by the elastase inhibitor (BALÓ and BANGA, [22]).

There being no data available as to the clinical use of elastase, we carried out animal experiments to determine the eventual toxicity. Through the bronchoscope, 10, 20, 50, 100, 200, then 500 mg of elastase (33 elastase units/mg) in 5 ml of M/15 Na₂HPO₄ · 2 H₂O were administered into the right main bronchus of rabbits, under chlorethyl anaesthesia. No untoward effect was noted, the rabbits remained active, fed well and neither X-rays, nor repeated bronchoscopy revealed any pathological change. It has been concluded that when applied locally in the bronchial system, elastase is not noxious to live, normal tissue and may be used without risk also in man. We have in fact used the enzyme in 13 human subjects.

Procedure

After clinical and X-ray examination, bronchoscopy was performed. The discharge in the bronchus of the lobe or segment corresponding to the site of the lesion was aspirated, examined bacteriologically and the sensitivity to antibiotics of the isolated agent was established. The antibiotic found effective *in vitro* was then prescribed. After 1 to 2 weeks of antibiotic treatment, X-ray examination and bronchoscopy were repeated to find out whether the bronchus had become sterile and whether the shadows showed any sign of becoming less intense or smaller in size.

* One elastase unit = 1 E.U. = the quantity of enzyme which is capable of dissolving 1 mg of elastin in 30 minutes, under the given experimental conditions.

In the absence of substantial improvement and also when bronchial suppuration (even if sterile) persisted, 100 mg of elastase (33 elastase units/mg) were injected into the affected lobe or bronchus. The elastase was prepared and assayed at the Pharmacoindustrial Research Institute. The tryptic activity of the elastase preparation used was 16 Anson units pro g. Treatment was repeated twice a week. The number of treatments varied between 3 and 10.

Patients

a) Elastase was administered in 8 cases of pulmonary abscess, in which bronchoscopy had revealed purulent bronchorrhoea. The abscesses were invariably surrounded by infiltrated tissue, their shape was characteristic and they contained fluid.

Of the patients, 6 had an abscess in one lobe and 2 had abscesses in two lobes.

Two of the 6 patients with abscesses localized to one lobe had also Koch-positive pulmonary tuberculosis.

Pulmonary abscesses are known to have a tendency to spontaneous healing. In the pre-antibiotic, or pre-chemotherapeutical literature the incidence of spontaneous healing had been estimated to 2 to 40 per cent. According to SPECTOR [23], postural drainage resulted in a cure in 58 per cent of solitary abscesses; patients with multiple abscesses, however, died without exception. Similar data have been reported by SCOTT-PINCHIN and MORLOCH [24]. According to STOICHITZA [25], medical treatment is effective in all the cases that have a tendency to spontaneous healing. Since the advent of antibiotics the overwhelming majority of the patients with pulmonary abscess were cured by adequate therapy and only a small percentage had to be operated upon. — In our cases we resorted to endobronchial elastase treatment only after antibiotic therapy had rendered the bronchial system sterile, but pus formation had failed to stop even after repeated bronchoscopic suction. Thus, we employed elastase treatment before or instead of surgery, in cases of chronic sterile abscess.

Technique of elastase treatment

Bronchoscopy is performed and suction is applied to the orifice of the lobar or segmental bronchus corresponding to the site of lesion. After the suction, 100 mg of elastase (33 E. U./mg) dissolved in 5 ml of 1/15 M disodium hydrophosphate is injected into the orifice.

The latter solution is prepared by dissolving 11,876 g of $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in 1000 ml distilled water and is then sterilized. The pH is 8,3.

Table I

No.	Initials, age	Localization	Bacteriology of bronchial discharge, at first bronchoscopy	Interval between onset of symptoms and onset of elastase treatment	Duration of anti-biotic and chemotherapeutic treatment before elastase administration	Number and duration of elastase treatments	Therapeutic result
1.	V. S. 52 yrs.	Right superior lobe	Sterile	2 months	4 weeks (penicillin, terramycin, sulphathiazole)	5 weeks 10 treatments	Complete clinical and radiological recovery
2.	K. Gy., 38 yrs.	Right superior lobe	Sterile	6 weeks	4 weeks (penicillin, sulphathiazole)	1 week 2 treatments	Complete clinical and radiological recovery
3.	K. J., 32 yrs.	Apex of left inferior lobe	Haemolytic streptococcus	6 months	5 months (penicillin, streptomycin, terramycin, chloramphenicol)	4 weeks 7 treatments	Complete clinical and radiological recovery
4.	V. J., 35 yrs.	Left superior lobe and apex of inferior lobe	B. proteus	14 months	14 months (penicillin, streptomycin, terramycin, aureomycin, chloramphenicol, sulphathiazole, with interruptions)	6 weeks 10 treatments	Clinically recovered, purulent bronchorrhoea ceased. Tomography reveals bundles, scars in place of the cavities
5.	Cs. K., 50 yrs.	Apex of left inferior lobe	Sterile	2 months	6 weeks (penicillin, streptomycin)	2 weeks 3 treatments	Symptom-free, no purulent bronchorrhoea. X-ray: thin-walled cavity reduced to half the original size
6.	Gy. J., 58 yrs.	Tuberculous abscess of apex right inferior lobe	Pneumococcus, M. tuberculosis	3 months	4 weeks (penicillin, streptomycin, INH)	5 weeks 6 treatments	No complaints, bronchorrhoea ceased. Tomography shows cavity to have shrunk
7.	S. J., 52 yrs.	Abscess of apex of right inferior lobe + fibrous tuberculosis of both superior lobes	Ps. pyocyanea + M. tuberculosis	TB since 4 years. Symptoms of abscess 6 weeks	2 years INH 5 weeks streptomycin 2 weeks terramycin	6 weeks 5 treatments	Sears, bundles in the place of the abscess. No pus in sputum. TB unchanged
8.	D. J., 54 yrs.	Multiple abscesses in both lobes of left lung	Ps. pyocyanea + anaerobic streptococcus + candida albicans	18 months	18 months (penicillin, streptomycin, terramycin, chloramphenicol, with interruptions)	3 months 18 treatments	Foetid, purulent bronchorrhoea ceased completely. No complaints. Gained 11 Kg. X-rays, no change in size of cavities, but they contain no fluid

The diluted bronchial discharge is subsequently expectorated by the patient and bronchoscopy is required only when sputum is very copious or in the rare instance when fever appears. The first treatment should be carried out through the bronchoscope, whereas subsequent treatments may be made with a soft rubber catheter, under X-ray control.

Results of treatment

Complete clinical and radiological recovery, normal bronchial pattern, 3 cases. Cavity disappeared and X-ray revealed in its place fasciculate spots of condensation. The bronchus is free from discharge. Healing (by fibrosis), 2 cases. Tomography revealed the presence of a shrunk cavity; the patient has no complaints, bronchoscopy shows normal conditions, 2 cases. The cavity did not change in size, contains no fluid, its environment is atelectatic, bronchoscopy shows no purulent bronchorrhoea, the patient put on 11 kg in weight, 1 case.

For the detailed data, *Table I* should be consulted.

b) One of our patients with suppurative putrid bronchorrhoea due to bronchiectasis became free of toxic symptoms in response to elastase treatment. Now the bronchi contain but little odourless pus; X-rays show the areas of atelectasis to have cleared up; the bronchogram is unaltered. (Significant symptomatic improvement.)

c) Two cases of pneumonitis involving one lobe recovered completely in response to 3 intrabronchial elastase treatments.

d) In one of our patients there were extensive tuberculosis cavities in both superior lobes. There was copious purulent-putrid bronchorrhoea; about 200 ml of pus was discharged daily. Intrabronchial elastase + streptomycin introduction alternatingly into the right and left superior lobe bronchi stopped the toxic symptoms and the suppuration ceased. There was naturally no radiological improvement.

d) In one case of cavernous tuberculosis involving the left inferior lobe and the apex, the administration of 1 g of streptomycin and 100 mg of elastase (33 E. U./mg) twice a week into the dorsal I. bronchus resulted in the disappearance of the cavity in 3 weeks time. As, however, the patient was treated in addition with streptomycin and INH by mouth, it cannot definitely be declared that the remarkably fast rate of healing was due to elastase treatment. Nonetheless, good results might be expected in this field, and further studies should be carried out to lend support to this view.

All in all, a positive therapeutic effect has been ascertained in every single one of our 13 patients.

In the following we present a few case histories.

(i) V. S. (604/1957), a locksmith 52 years of age, weighing 60 kg, 173 cm in height, had been ill for months and had been treated with penicillin and sulphathiazole. At admission he was in a toxic state, with dyspnoea and cyanosis. ESR, 100 mm in 1 hour. Blood count : leucocytosis, toxic granulation, shift to the left. X-ray : In the right superior lobe there was a density of the size of a man's fist (*Fig. 1*). No Koch bacilli were demonstrated in the sputum. Bronchoscopy : purulent bronchorrhoea from the bronchus of the oedematous right superior lobe. The mucosa of the right bronchial system was purple in colour.

The bronchial aspirate was sterile. (Before admission the patient had received ample doses of antibiotics.) Elastase, 100 mg (33 E. U./mg), was injected twice weekly into the right lobe bronchus. As a result, cavities had appeared in the dense area which then decreased in size and finally disappeared. After the first bronchoscopy, the volume of sputum increased to 500 ml, then decreased gradually. After 10 treatments the patient was symptomless, put on 5 kg, had no complaints. ESR : 5 mm in 1 hour. X-ray : practically normal (*Fig. 2*). Even tomography failed to reveal cavities. The patient recovered completely in 5 weeks.

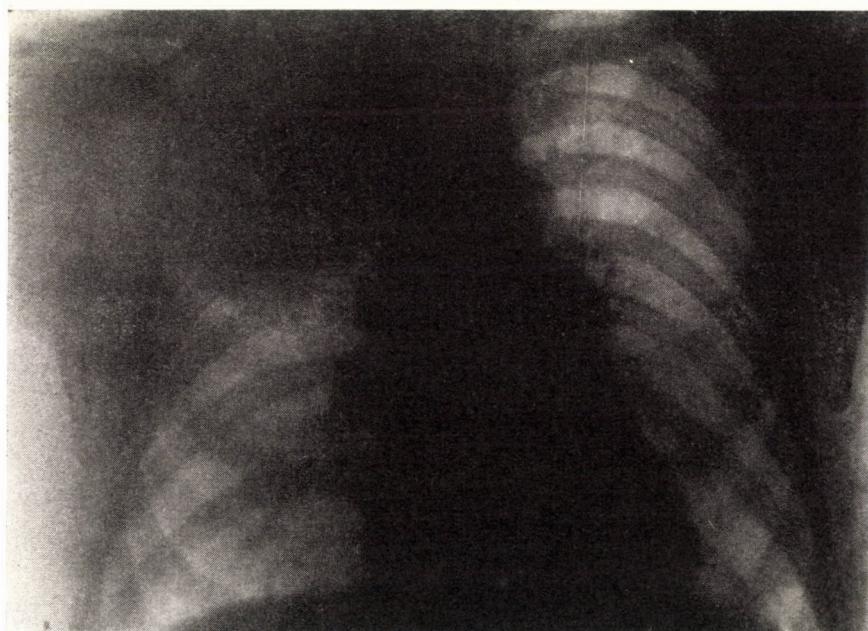


Fig. 1

(ii) V. J. (366/1958), a shepherd, 35 years of age, 177 cm in height, 70 kg in weight, had been treated for pulmonary abscess for 14 months. He had had no fever. ESR : 84 mm in 1 hour. Sputum : Koch negative. X-ray : in the centre of the left lung there was a child's palm-sized shadow with fluid levels, localized to the apex of the inferior lobe and to the posterior segment of the superior lobe (*Fig. 3*). He had halitosis, the daily volume of sputum was about 180 ml. Bronchoscopy showed the left bronchial system to be filled with dense, foetid pus. With the cough the pus came from the orifice of the dorsal I. bronchus. *B. proteus*, sensitive to chloramphenicol, was isolated from the bronchial discharge. On chloramphenicol treatment the pus became sterile, but its formation did not cease. Ten elastase treatments brought about substantial radiological and clinical improvement, no cavity was formed, only fascicles marked the site of the former process. At the last bronchoscopic examination there was no more suppuration and the bronchial system was free from inflammation. The patient put on 6 kg weight, had hardly any sputum. ESR : 30 mm in 1 hour.

(iii) Cs. K. (3808/1957), a boiler-smith aged 50, 176 cm tall, 66 kg in weight, had little sputum, which was Koch negative. ESR : 47 mm in 1 hour. In the blood count there was

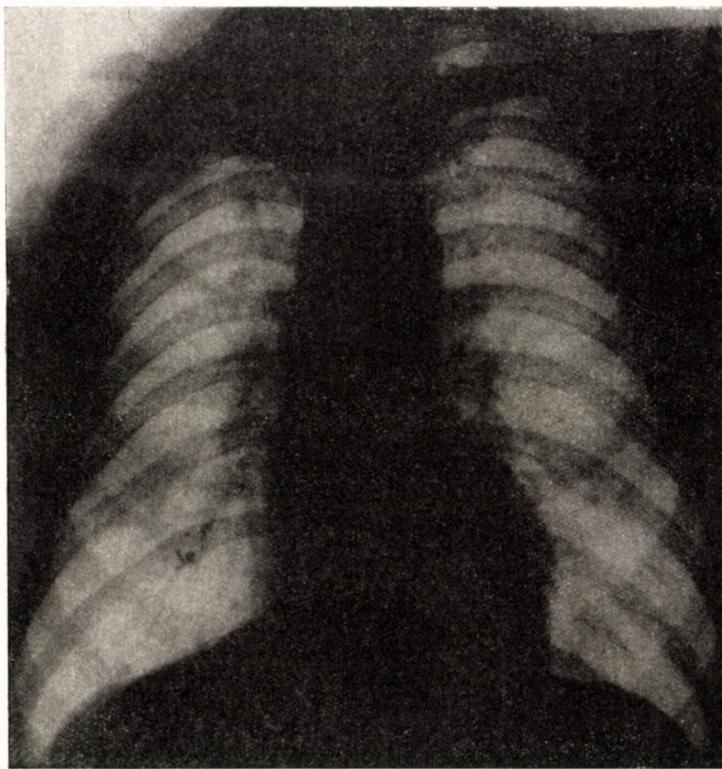


Fig. 2

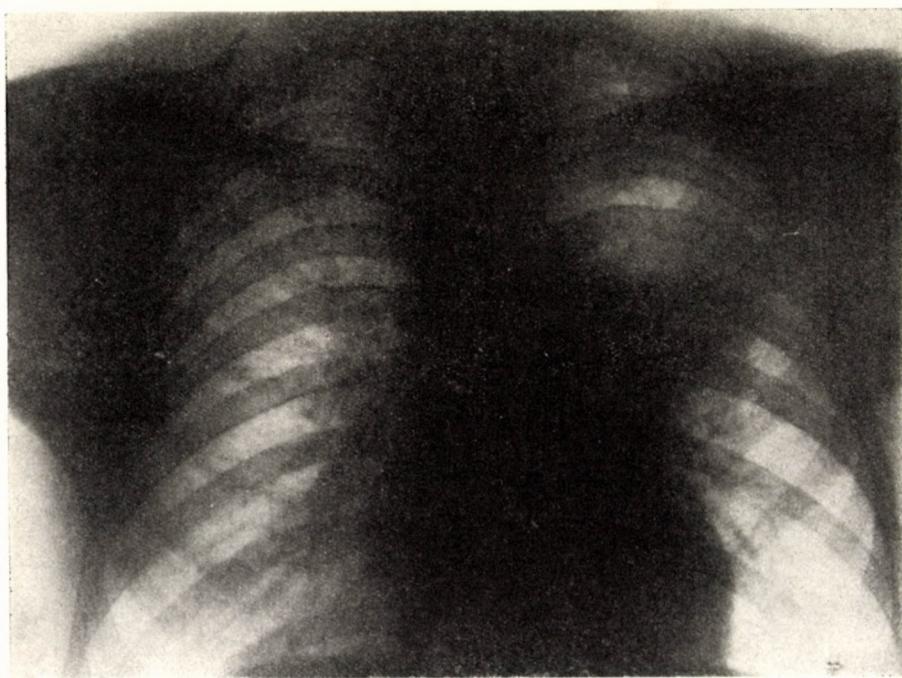


Fig. 3

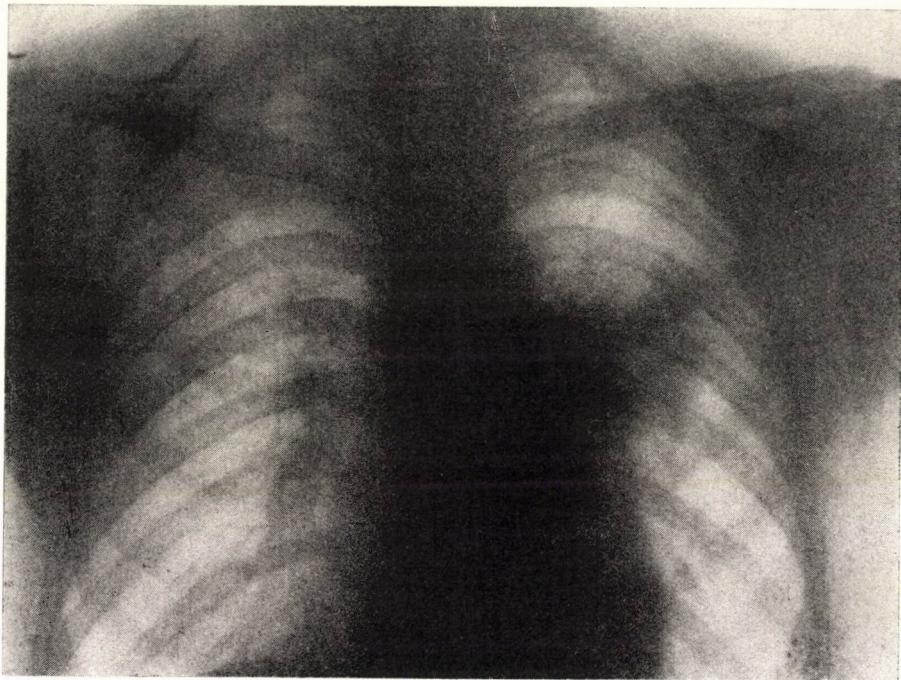


Fig. 4

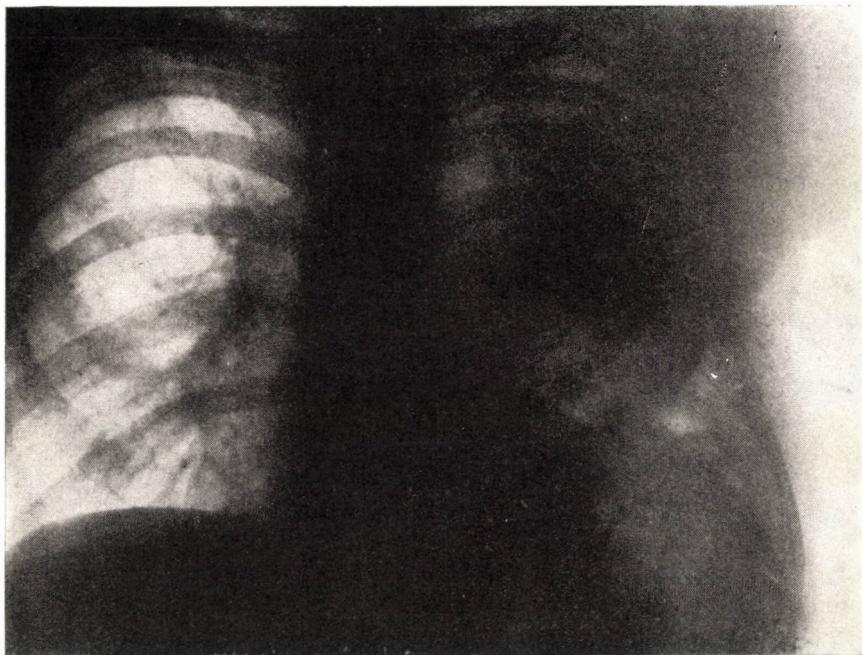


Fig. 5

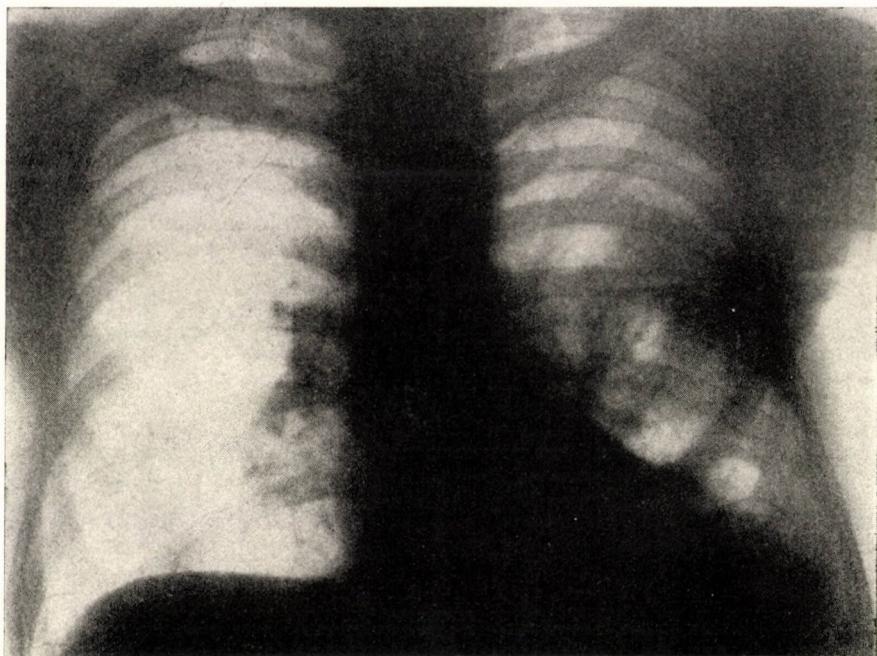


Fig. 6



Fig. 7

a slight shift to the left. X-ray revealed in the superior 4/5 of the left lung a massive shadow (Fig. 5). Bronchoscopy: the left bronchial system was filled by foetid, sterile pus. After suction, with the cough pus came from the dorsal I. bronchus. On the administration of 100 mg (33 E. U./mg) of elastase intrabronchially, the daily volume of sputum increased to 300 ml and apple-sized cavity appeared in the left dorsal I. segment (Fig. 6), the environment of which became less dense. Elastase treatment was repeated on two more occasions. Subsequently, X-rays showed the cavity to have been reduced to half its original size and to contain no fluid (Fig. 7). The patient gained 10 kg in weight, had no complaints, ESR was 5 mm in 1 hour.

SUMMARY

In 13 patients, the intrabronchial administration of elastase, the proteolytic enzyme discovered by BALÓ and BANGA, ensured favourable results in the treatment of suppurative lung disease and made surgery avoidable. Elastase was found to be a perfect substitute for trypsin.

In the applied doses the toxicity of elastase was negligible, the enzyme caused no fever, neither side effects. Extensive therapeutic trials with the new enzyme preparation are urged.

REFERENCES

- FERENCZY, S., NYIREDY, G.: 31st Hungarian Tuberculosis Congress, Budapest 164 (1957).
- KOVÁCS, K., SZÉCSEY, G., DÉVÉNYI, R.: *Tuberkulózis kérdései* **6**, 184 (1955).
- KOFMAN, S., LEPPER, M. H., JACKSON, G. G., DOWLING, H. F.: *Amer. J. Med. Sci.* **228**, 432 (1954).
- MUENSTER, I. I., FLUANCE, I. I., SVEENEY, B.: *Amer. J. Med.* **12**, 376 (1952).
- KOVÁCS, K., DÉVÉNYI, R.: *Tuberkulózis kérdései*, **4**, 156 (1956).
- BETHGE, J., HERZER, H.: *Beitr. klin. Chir.*, **4**, 487 (1956).
- PECK, M. E., LEVIN, S.: *J. Thorac. Surg.* **24**, 619 (1952).
- STEIGMAN, A. J., SCOTT, C. H.: *J. Amer. Med. Ass.* **150**, 1403 (1952).
- CRAVEN, J. F.: *J. Pediat.* **52**, 228 (1953).
- GERRITS, J. C., MUNTINGHE, O. G.: *Acta allerg.*, **9**, 147 (1955).
- ROBEL, G.: *Ztschr. Aerosolforsch.*, **3**, 248 (1956).
- BERGSMANN, O., KARLHUBER, F.: *Wien. klin. Wschr.*, **16**, 322 (1956).
- KOVÁCS, K.: *Tuberkulózis* **5—6**, 137 (1957).
- BALÓ, J., BANGA, I.: *Schweiz. Z. allg. Path. Bakt.* **12**, 360 (1949).
- HALL, D. A.: *Biochem. J.* **54**, 459 (1955).
- PARTRIDGE, S. M., DAVIS, H. F., ADAIR, G. S.: *Biochem. J.* **61**, 11 (1955).
- LANDSING, A. I.: *J. Gerontology* **9**, 362 (1954).
- BALÓ, J., BANGA, I.: *Acta Physiol. Hung.* **4**, 187 (1953).
- BANGA, I.: *Acta Physiol. Hung.* **3**, 317 (1952).
- BAGDY, D., BANGA, I.: *Acta Physiol. Hung.* **II**, 371 (1957).
- PARTRIDGE, S. M., DAVIS, H. F.: *Biochem. J.* **61**, 21 (1955).
- BALÓ, J., BANGA, I.: *Orvosi Hetilap* **2**, (1949).
- SPECTOR, H. I.: *J. A. M. A.* **95**, 789 (1930).
- SCOTT-PINCHIN, A. J., MORLOCH, H. V.: *Lancet* **2**, 842 (1930).
- STOICHITZA, N.: *Rev. Štiint. med.* **20**, 1943 (1931).

QUANTITATIVE DETERMINATION OF SERUM PEPTONASE: ITS DIAGNOSTIC VALUE

By

S. DÁN, S. NAGY and J. TÓTH

2nd DEPARTMENT OF MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY OF DEBRECEN

(Received May 18, 1958)

DASTRE in 1893 was the first to demonstrate the proteolytic activity of human serum. Since then, evidence has been accumulating to show that both main groups of protease are present in blood: the proteinases (plasmin [41], pepsin [27], cathepsin [25], trypsin [12]) and the peptidases (the enzyme breaking down peptone [17, 31], polypeptidase [1, 3], di- and tripeptidases [16, 26]). From among the proteinases the pathophysiological and diagnostic significance of plasmin [4] and of pepsinogen [5, 29, 39, 45] has been chiefly elucidated whereas in the peptidase group almost exclusively the di- and tripeptidases have been investigated [8, 13, 14, 15, 21, 28, 37, 38, 40]. Studies on the ability of the serum to break down peptone have been scarce. This is indicated also by the fact that time diagnostic tests have been developed for the quantitative determination of almost every one of the serum proteases, whereas for the detection of peptonase in serum it was only recently that a qualitative test has come into use (SCHIERGE).

The impulse to carry out the investigations to be described below was supplied not only by the above methodical deficiency or by the insufficient attention devoted to serum peptonase, but first of all by the fact in our comparative enzyme studies in patients with chronic hepatitis [9] we strongly felt the need for a quantitative test for serum peptonase. The quantitative data yielded by our examinations, as well as our paper chromatographic studies of the details of enzyme effect, might be of assistance in interpreting the diagnostic value of the serum level of this enzyme and also in assessing the pathophysiological significance of the enzymes demonstrable in blood.

The terminology used in the literature on serum peptidases is not uniform. Earlier, terms such as "peptolytic effect" [2], "erepsin" [30], "peptidase" had been used, irrespective of the substrate being a di-, tri- or polypeptide, or peptone. After the identification of di- and tripeptidases we do not any more use these terms if peptone is employed as the substrate. At first, SCHIERGE denoted the enzyme breaking down peptone by the name protease [36], but has recommended the term peptase recently [36/a]. In

his studies on cellular proteases, ITO called the enzyme breaking down peptone erepsin [23], but more recently has referred to it as peptonase [24].

Peptonase appears to be the best term to denote the enzyme breaking down peptone, but the term polypeptidase cannot be rejected, either, because it has not been decided whether one specific enzyme (peptonase, peptase) or a combination of several polypeptidases is responsible for the breakdown of peptone.

It is justified to speak about the "level" or "activity" of serum peptonase, because it is unknown what is the role of changes in the absolute quantity of the enzyme, in the ratio of inhibitors to activators, or in the normal or pathological breakdown of peptone.

In the first studies on the ability of human serum to break down peptone, GRUBER used peptone Hoffmann—La Roche as the substrate. SAXL recommended the use of Witte peptone, employed regularly by SCHIERGE. However, even the latter author has made but a few quantitative determinations (by SØRENSEN titration) in his studies on the properties of the enzyme breaking down peptone [32, 33, 34]. He has recommended and is using a qualitative test for diagnostic purposes [35], based on the colour reaction given by tryptophane liberated on incubating peptone and serum with bromine water. The intensity of the resulting colour, denoted by crosses, is used for appraising the peptonase activity of serum.

Methods

For the quantitative determination of serum peptonase we have investigated the possibilities offered by the biuret and ninhydrin reactions. In addition, paper chromatographic studies have been made in order to elucidate the details of peptone breakdown.

I. Biuret reaction. Principle : the enzyme reduces the number of biuret bonds in the substrate and thus from the decrease in intensity of the biuret colour the quantity of peptonase may be estimated.

One ml of serum and 1 ml of 5 per cent Witte peptone are incubated at 37° C for 24 hours, followed by deproteinization with acetic acid-saline according to SCHIERGE. To 4 ml of the filtrate 4 ml of biuret reagent [45] are added. The resulting colour reaction is associated with some opalescence and 3 to 4 hours later a grayish-white precipitate is formed. This can be readily separated by centrifugation, after which the result is read in a Pulfrich photometer (S 53 filter, 20 mm layer thickness) against a reagent blank (4 ml acetic acid + NaCl solution + 4 ml biuret reagent). Peptone blank test : One ml of serum is incubated at 37° C for 24 hours and 1 ml of incubated peptone is added immediately before deproteinization.

The results are summarized in *Table I*. Breakdown is expressed in per cents ; the biuret colour of the peptone blank test is taken to be 100 per cent and the colour of the incubated peptone is related to that.

Although the peptonase activity expressed in per cents is considerable, this method is not suitable for routine work, because *a)* even when the activity is relatively high, the difference in extinction corresponding to the enzymatic

Table I
Determination of the peptonase content of serum by the biuret test

No.	Name	Diagnosis	Peptone blank	Incubated peptone	Diff.	Peptonase activity %
			E x t i n c t i o n			
1	T. S.	Normal	0,47	0,34	0,13	27,7
2	Zs. I.	,,	0,48	0,35	0,13	27,1
3	B. I.	,,	0,47	0,33	0,14	29,8
4	Z. K.	Vegetative neurosis	0,48	0,36	0,12	25,0
5	B. A.	Chronic gastritis	0,48	0,39	0,09	18,7
6	V. Gy.	Chronic nephritis	0,47	0,35	0,12	25,5
7	M. I.	Diabetes mellitus	0,48	0,39	0,09	18,7
8	G. G.	Acute hepatitis	0,48	0,30	0,18	37,5
9	V. L.	,, ,,	0,48	0,28	0,20	41,7
10	M. J.	,, ,,	0,48	0,34	0,14	29,2
11	V. G.	,, ,,	0,48	0,30	0,18	37,5
12	M. L.	,, ,,	0,50	0,29	0,21	42,0
13	Sz. I.	,, ,,	0,49	0,32	0,17	34,7
14	K. L.	,, ,,	0,47	0,36	0,11	23,4
15	Sz. L.	,, ,,	0,49	0,39	0,10	20,4
16	V. E.	,, ,,	0,49	0,28	0,21	42,9
17	G. G.	,, ,,	0,48	0,36	0,12	25,0
18	M. J.	,, ,,	0,48	0,33	0,15	31,3
19	M. L.	,, ,,	0,49	0,39	0,10	20,4
20	V. E.	,, ,,	0,47	0,32	0,15	31,9
21	Sz. I.	,, ,,	0,50	0,34	0,16	32,0
22	J. A.	,, ,,	0,47	0,27	0,20	42,5
23	G. M.	,, ,,	0,48	0,35	0,13	24,0

action is small; *b*) the difference in extinction is particularly small between normal and pathological sera; *c*) deproteinization often makes the solution opalescent and difficult to filtrate; *d*) parallel testing requires at least 4 ml of each serum.

II. Ninhydrin test. With due regard to the conditions required in an enzyme test, we have investigated which method of deproteinization and which of the different ninhydrin techniques for amino-N determination were the most suitable for the quantitative determination of liberated amino-N. The following procedure has proved to be the most reliable.

Principle: serum and 5 per cent Witte peptone are incubated in sterile tubes at 37°C for 24 hours. Deproteinization by alcohol is followed by the deter-

mination of amino-N according to TROLL and CANNAN in the alcoholic filtrate, starting with 0,2 ml of serum. Peptonase activity is computed for 100 ml of serum. One unit of activity is shown by the serum 100 ml of which liberates 1 mg of amino-N in 24 hours. This is called one *peptonase unit (PU)*.

Reagents.

1. Witte peptone. Keep in dry place, sterile.
2. Absolute alcohol.
3. 60 per cent alcohol.
4. Ninhydrin solution : 500 mg ninhydrine (analytical purity) dissolved in 10 ml absolute alcohol.
5. Phenolalcohol : To 80 g distilled ammonia-free phenol 20 ml of absolute alcohol is added.
6. Pyridine potassium cyanide : Two ml of a 0,01 M KCN solution is made up to 100 ml with ammonia-free pyridine.
7. Amino-N stock solution. 100 µg amino-N/ml. May be made from any of the following amino acids. Leucine or isoleucine (46,78 mg), phenylalanine (58,93 mg), valine (43,22 mg), glycine (26,78 mg); dissolve any of these in 20 ml of bidistilled water and adjust the volume to 50 ml with absolute alcohol.

Reagents 4, 5, and 6 keep for 4 weeks. Reagents 5 and 6 are readily contaminated by ammonia and it is advisable to free them from ammonia by the use of permuthit.

Incubation. 0,2 ml of serum and 0,2 ml of 5 per cent peptone solution are added to sterilized Wassermann tubes. To avoid foaming, the mixture is shaken gently, one drop of toluol is added, the tubes are air-tight with rubber-stoppers and placed in an incubator of 37° C for 24 hours. Peptone blank test : 0,2 ml of serum with one drop of toluol in it is incubated in a sealed tube at 37° C for 24 hours, when, immediately before deproteinization, 0,2 ml of similarly treated peptone is added.

Deproteinization. About 0,5 ml of a total of 1,6 ml of absolute alcohol is added dropwise under shaking. The rest is added rapidly to the mixture. The tubes are then stoppered and shaken a few times. The precipitate appears as soon as the first portion of alcohol is added and can be centrifuged after 10 minutes of standing.

Colour reaction. Into each of a series of dry test tubes, 0,1 ml of the protein-free alcoholic solution is added above precipitate. After adding 0,5 ml pyridine-KCN and 0,5 ml phenol alcohol to each tube and shaking, the tubes are placed into a hot water bath. One to 2 minutes are allowed for the tubes to take up the temperature of the bath, then exactly 0,1 ml (6 drops) of ninhydrin is added. Boiling is continued for further 5 minutes. After cooling with running water, the volumes are adjusted to 10 ml with 60 per cent alcohol. The resulting dark violet colour remains constant for 24 hours or

more. The extinction is read in a Pulfrich photometer (5 mm layer thickness, S 57 filtré), against a reagent blank (0,1 ml 60 per cent alcohol + 0,5 ml reagent 5 + 0,5 ml reagent 6), making the colour test simultaneously with the above procedure.

Calculation. The extinction of the peptone blank is subtracted from the extinction of the incubated tubes and the quantity of amino-N corresponding to the difference is read from the extinction curve. Owing to the dilutions, 0,1 ml of the alcoholic solution is equivalent to 0,01 ml of serum. Computed for 100 ml of serum,

$$PU = \frac{\gamma 10.000}{10^3} = \gamma 10 = \text{mg amino-N/100 ml serum}$$

γ = amino-N corresponding to the difference in extinction.

Plotting of the extinction curve. Of the amino-N stock (standard) solution 0,01, 0,02, 0,05, 0,10, 0,15 and 0,20 ml, respectively, is added to test tubes

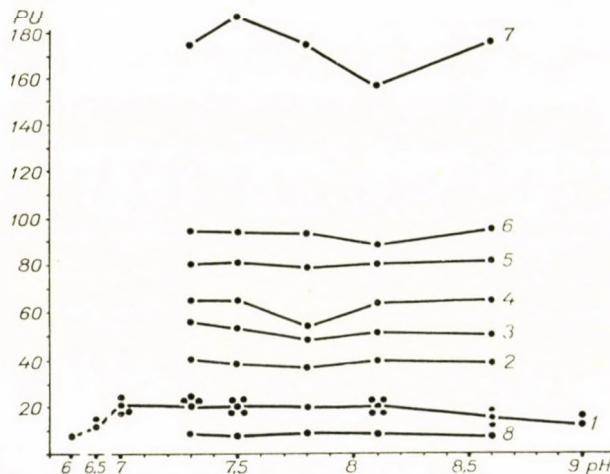


Fig. 1. Effect of pH on the peptonase activity of serum. 1: normal sera, 2, 3, 4, 5, 6: sera with high peptonase activity. 7: hepatic bile (obtained at operation for obstructing jaundice)

and the volumes are adjusted to 0,2 ml with 60 per cent alcohol. The colour reaction is carried out as described above. The Lambert—Beer law being valid, it suffices to plot the curve once. Repeated plotting is required only when a fresh preparation of ninhydrin comes into use.

The effects of pH on the activity of the enzyme were investigated first by SCHIERGE (1953) who found the optimum pH between 7 and 7,5 for serum-peptone mixtures incubated for two weeks. We investigated the influence of the pH on the peptonase activity during 24 hours of incubation. The pH of the peptone solution was adjusted with n/10 NaOH, under the control of a pH meter. The results are presented in Fig. 1.

The 5 per cent Witte peptone prepared as described below has a pH varying between 7.2 and 7.3 and for this reason its pH need not be adjusted. Exactly 2 g of Witte peptone is suspended in 40 ml of bisdistilled water. The granules are homogenized by means of a glass rod. After gentle heating and subsequent boiling for 5 minutes, the solution is cooled with running water, filtered and centrifuged. The clear filtrate is made up to 40 ml with bisdistilled water. It can be stored under refrigeration for 2 to 3 days when sealed in a sterile vessel in the presence of toluol.

The data in Table II, obtained in some of our cases, are presented in order to demonstrate that (i) the results of parallel tests on the same serum are closely comparable; (ii) the difference in extinction between the colour of the peptone blank and of the incubated peptone can be well measured even in a 5 mm layer. This applies to sera with both normal and pathological peptonase activity; (iii) in serial tests it suffices to use a peptone blank made of a single serum, since different sera give the same extinction. This greatly simplifies the procedure.

Chronological course of peptone breakdown

Using sera of low and high peptonase activity, the quantity of amino-N liberated was repeatedly determined in 24-hour (Fig. 2) and 5-day (Fig. 3) experiments.

The data in Figs. 2, 3 and 4 prove that (i) peptone is broken down at a constant rate for several days; (ii) at the same substrate concentration

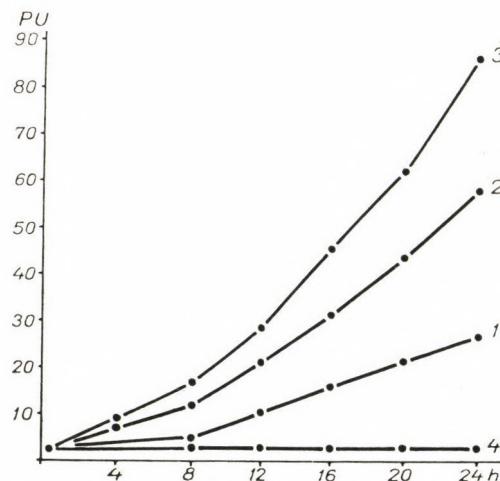


Fig. 2. The course of enzyme action in 24 hours. 1: normal, 2 and 3: highly active sera, 4: peptone blank test

there is a linear correlation between the quantity of enzyme and the quantity of amino-N liberated; (iii) the quantity of amino-N released in 24 hours is suitable for expressing the peptonase activity (peptonase content) of serum.

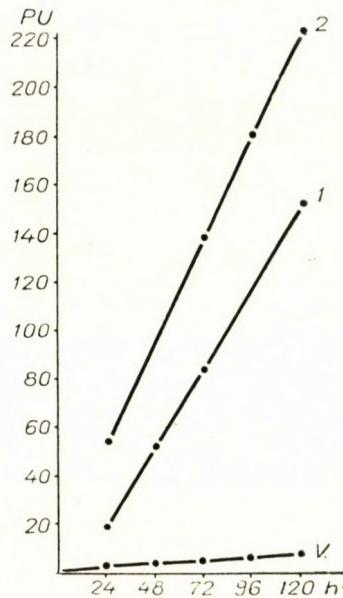


Fig. 3. The course of enzyme action in 5 days. 1: normal, 2: highly active sera. v: blank test

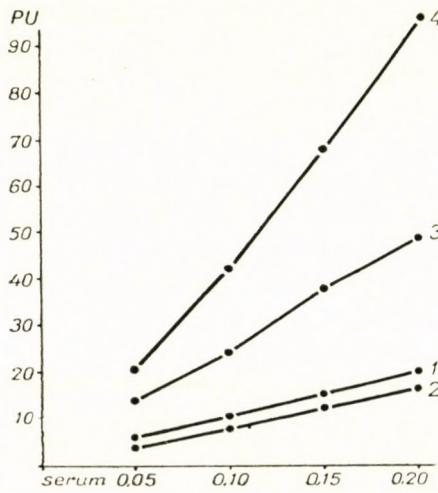


Fig. 4. Correlation between the amount of serum or enzyme and peptonase activity. 1 and 2: normal, 3 and 4: highly active sera

No activator was made use of. Agents inhibiting or activating serum peptonase have not yet been isolated. (According to SCHIERGE [1923, 1924],

Table II
Determination of peptonase content of serum by the ninhydrin test

No.	Name	Diagnosis	Peptone	Incubated	Diff.	PU mg amino-N/100 ml serum
			blank	peptone	Extinction	
1	D. J.	Normal	0,38	0,58	0,20	27
			0,38	0,58	0,20	27
2	K. J.	,,	0,37	0,57	0,20	27
			0,38	0,57	0,19	26
3	S. I.	,,	0,38	0,61	0,23	31
4	Z. S.	,,	0,38	0,56	0,18	24
5	K. Z.	Pneumonia	0,37	0,80	0,43	60
			0,38	0,82	0,44	61
			0,37	0,81	0,44	61
			0,38	0,81	0,43	60
6	B. L.	Acute hepatitis	0,39	0,83	0,44	61
7	M. L.	,, ,..	0,38	0,84	0,46	63
8	P. E.	,, ,..	0,38	0,80	0,42	59
9	T. K.	,, ,..	0,37	0,97	0,60	84
10	H. J.	,, ,..	0,38	0,66	0,28	38
11	F. I.	,, ,..	0,39	0,99	0,60	84
12	K. I.	,, ,..	0,39	1,23	0,84	120
13	Sz. R.	,, ,..	0,38	1,13	0,75	106
14	Cs. J.	Compression amidice ...	0,38	0,82	0,44	61

the albumin fraction of serum contains an inhibiting substance, while Ito has shown that liver peptonase can be activated with Mn^{++} .)

Three parallel series of sera were set up. In the first the serum was incubated alone, in the second in the presence of $MnCl_2$ ($2 \cdot 10^{-3}$ M) and in the third with Komplexon III ($5 \cdot 10^{-4}$ M), for 2 hours at $37^\circ C$. Subsequently was the 5 per cent peptone added to each series, and the peptonase content determined.

III. Paper chromatography. Some of the fractions resulting from the breakdown of peptone can be separated well by one-dimensional chromatography (CsoBÁN). Macherey — Nagel 214 paper is used, and as a solvent, butanol-water-acetic acid (5 : 4 : 1). On paper strips 4 cm wide and 40 cm long, 0,06 ml of the serum-peptone mixture, or 0,3 ml of the deproteinized alcoholic filtrate is placed on a 3 cm long line. After the first run the paper is allowed to dry at room temperature for 2 hours, then it is placed back into the same solvent. It is essential that in the second run the front

of the solvent should pass beyond that of the first run. In our experiments this distance was 26,5 and 28,5 cm, respectively. Drying is followed by development according to BODE in a mixture of 90 parts of 0,5 per cent acetonic ninhydrin solution, 5 parts of distilled water and 5 parts of glacial acetic acid. The paper strip is pulled through this mixture, then it is suspended for 15 minutes in an exsiccator of 90° C.

The zones of varying thickness, appearing on the paper, were numbered in succession. The R_f values calculated for the centre of the single zones were

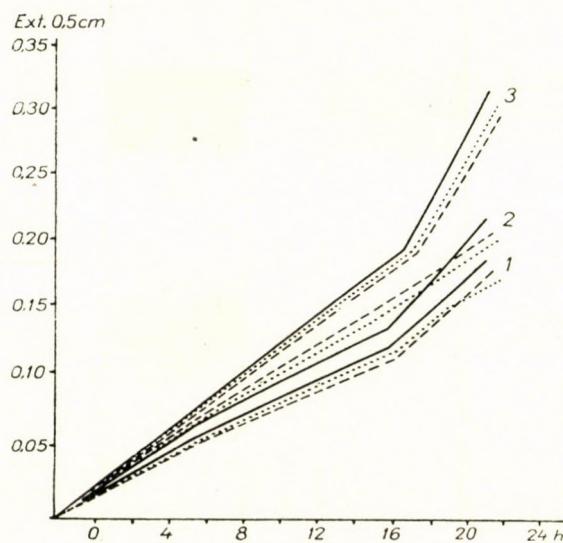


Fig. 5. Preincubation of serum with $MnCl_2$ or Komplexon III has no influence on the rate and measure of peptone breakdown. 1 and 2: normal, 3: highly active sera. ——serum alone, serum + $MnCl_2$, - - - serum + Komplexon III.

the following, from zone 1 downward : 0,60, 0,50, 0,42, 0,37, 0,32, 0,27, 0,22, 0,19, 0,17, 0,16, 0,14, 0,11, 0,08, 0,07, 0,06, 0,05 and zone 17 under 0,03.

At different points of time of the enzymatic effect, the following patterns appeared (see Fig. 7).

It seems from Fig. 7 as if the colour intensity of the single zones were increasing gradually during the 24 hours of incubation. In fact, the more intensive colour of some zones is clearly visible if sera of great peptonase activity are chromatographed. Moreover, not only quantitative, but qualitative differences are also noticeable in the different sera. This is indicated by Fig. 8, showing the peptonase effect of the serum from a patient with hepatitis, at different intervals during incubation. At the marked site there is an intense spot which is absent in the paper chromatogram of the normal serum shown in Fig. 7.

In the zones of the one-dimensional chromatogram, peptides and amino acids are overlapping: these may be further differentiated by the two-dimensional method using as a solvent first butanol : acetic acid, and then [22] amylalcohol : pyridine : water (35 : 30 : 30).

In this way the time of appearance of certain degradation products

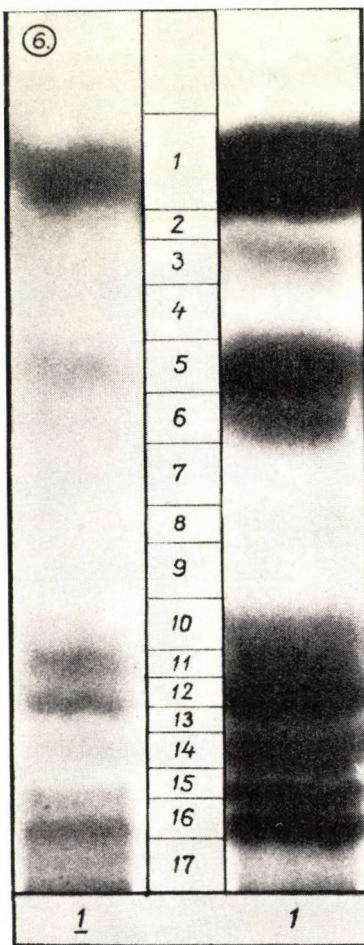


Fig. 6. One-dimensional paper chromatogram of peptone breakdown. 1: peptone blank test, 1: result of 24 hours of incubation

can also be established. Some appear during the first 12 hours of incubation (those designated by the letters a, b, c, d, e, f). These continue to increase in intensity throughout the whole incubation period, whereas others appear only after 12 to 24 hours' incubation (e. g. those designated h and i). The

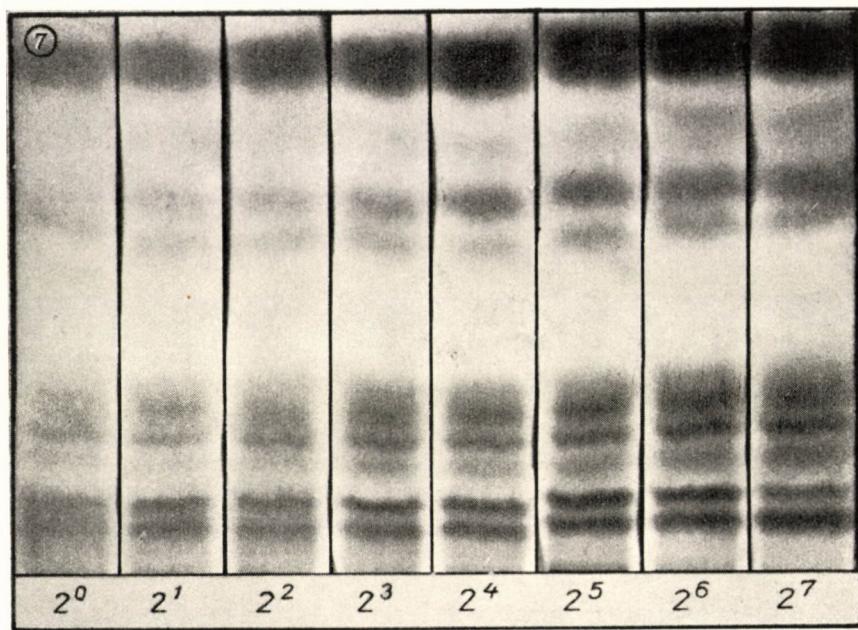


Fig. 7. Paper chromatograms at different points of time (0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, and 48 hours) during incubation

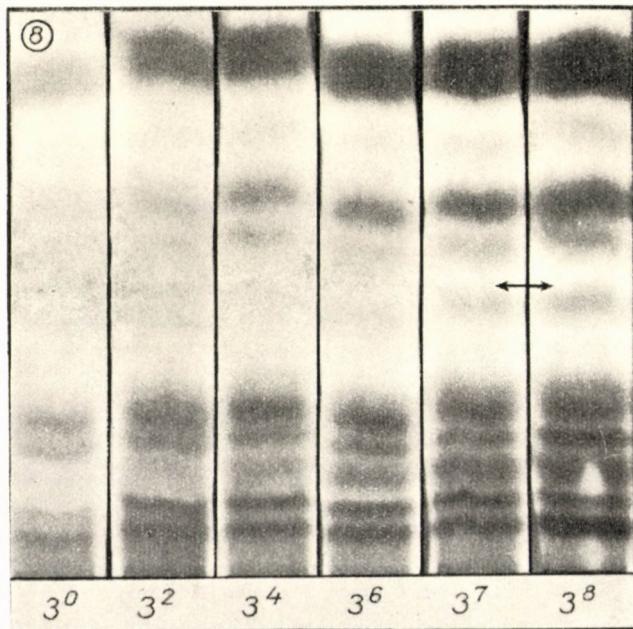


Fig. 8. Peptone breakdown in serum, in a case of hepatitis, after 0, 8, 16, 20, 24, and 48 hours of incubation

pattern is different in the area with low values, but separation here requires the use of other solvents.

The above refer exclusively to the method of paper chromatography for studying the enzymatic effect. The further analysis of the single fractions

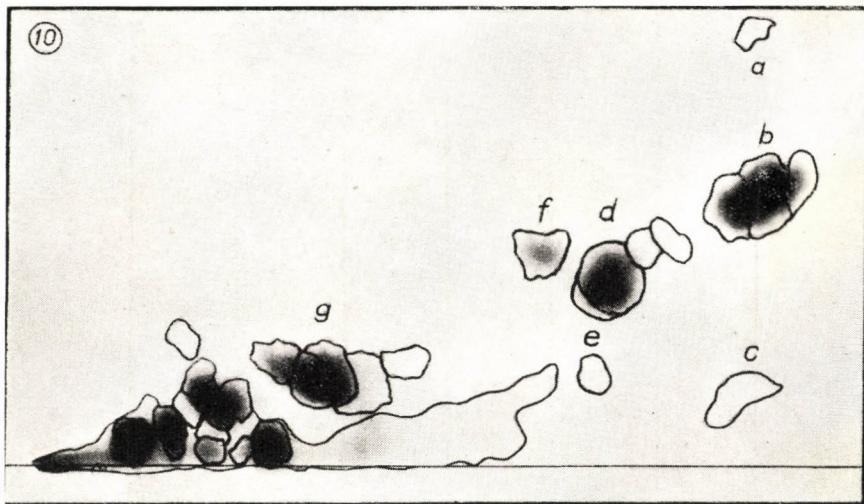
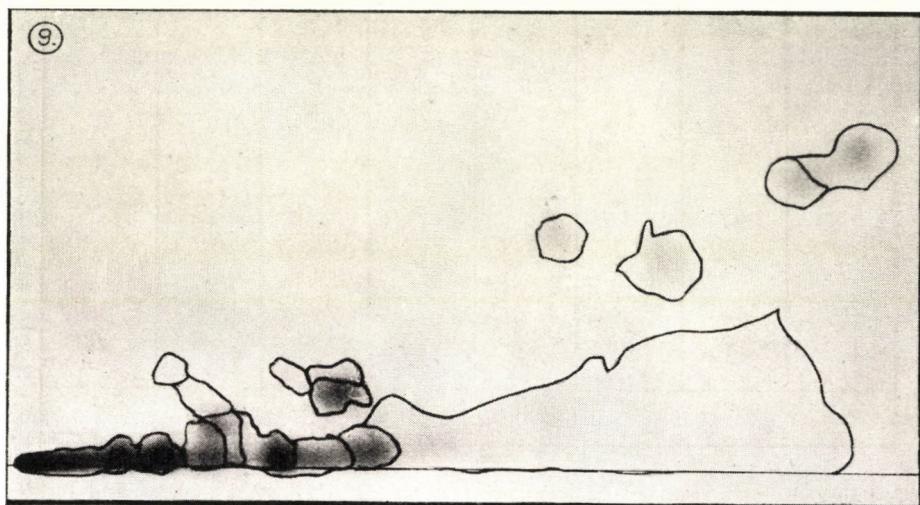


Fig. 9 and 10, Two-dimensional paper chromatograms after different lengths of incubation
Fig. 9 : 0 hour, Fig. 10 : 10 hours

and their quantitative determination will be dealt with in another report. Thus far, the following evidence has been obtained.

(i) The paper chromatographic patterns of the peptone blank and of the incubated peptone are readily reproducible. The fractions designated by numerals appear in every case.

(ii) The single fractions are composed of peptides and amino acids. The intensity of their colour is correlated with the peptonase content of the serum.

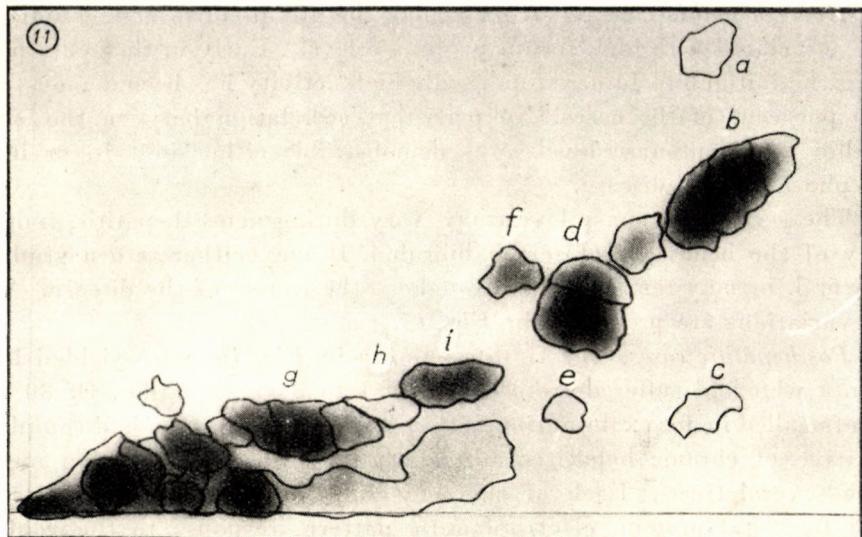


Fig. 11. Two-dimensional paper chromatography after 24 hours of incubation

(iii) The spot designated by the numeral 1 (Fig. 6) in the one-dimensional chromatogram contains leucine and isoleucine. These can be isolated readily and determined quantitatively (by the copper nitrate method of BODE) and their quantity is directly proportional to the peptonase content of the serum.

(iv) The leucine zone is followed in the order of colour intensity by the zones corresponding to tryptophane, valine, methionine, glutamic acid, threonine, glycine, aspartic and acid arginine, as determined by comparison with amino acid mixtures.

(v) It is only the 17th zone the colour of which fades during incubation. This zone includes the area to which the test substance has been applied.

Peptonase content of sera from normal subjects and from patients

Blood was taken from fasting subjects and the determination was carried out within 48 hours, although the sera kept under aseptic circumstances in the refrigerator retained their peptonase activity for at least 5 days.

Nearly 400 sera have been tested (50 from normal subjects and 343 from patients). The results are presented in *Fig. 12*.

The serum peptonase level has been found to vary from 20 to 35 PU, independently of age (20 to 70 years) and sex.

The serum peptonase level of the same subject showed no major variations.

Acute hepatitis emerged from among the groups of diseases studied by being associated with high serum peptonase levels. Early in the acute phase, during the initial 8 to 14 days, markedly high activity has been demonstrated in 10 per cent of the cases. No persistent correlation between the serum bilirubin and peptonase levels was demonstrable either in this, or in the later phases of the disease.

The serum peptonase level may vary during acute hepatitis, independently of the behaviour of serum bilirubin. It may either return gradually to normal, or may remain high throughout the course of the disease. A few such variations are presented in *Fig. 15*.

Posthepatitic cases. The findings shown in *Fig. 16* were yielded by 50 patients who had suffered from hepatitis 1 to 3 years earlier. Of 80 such patients called in for examination, 50 answered the call. Ten had complaints indicative of chronic hepatitis, for which they had been seeking medical advice several times. Each of the sera obtained from these patients was tested for total protein, electrophoretic pattern, response to the gold sol, thymol and enzyme tests shown in *Fig. 16*. The results are presented in their relations to the ratio of protein fractions, α_2/γ and albumin/globulin (A/G) quotients. According to biopsy and electrophoretic studies (CESCHKA, RISSEL and WEWALKA), the α_2/γ quotient shows a characteristic behaviour in chronic hepatitis; a quotient lower than 0,20 indicates cirrhosis and one ranging from 0,20 to 0,40, chronic inflammation.

The serum peptonase level was elevated in 33 per cent of the post-hepatitic cases (*Fig. 12*), and in nearly 50 per cent of the cases included in *Fig. 16*. At the same time, the levels of some enzymes showed either very little change (alkaline phosphatase, phenylbenzoateesterase) or no change at all (cholinesterase, phosphohexoisomerase). The peptonase level was elevated mainly in that group in which the α_2/γ quotient indicated the presence of chronic inflammation, though there was no correlation between the peptonase level and the absolute quantity of the α_2 fraction.

The eventual correlation between the serum peptonase level and the "activity" of chronic hepatitis, as well as the significance of the changes in the peptonase level in acute hepatitis (*Fig. 15*) with respect to severity, recovery and prognosis, will be dealt with in another report [9] where the clinical and histological analysis of the cases will also be discussed.

The peptonase values found in different diseases and tabulated in Fig. 12 may be completed with the following data.

Acute febrile conditions. The peptonase level was elevated in all of the 8 cases of lobar pneumonia and in 3 of 5 cases of influenza.

Leukaemia. Of the 3 cases of chronic myelosis and 3 cases of chronic lymphadenosis only 1 case of lymphadenosis showed an elevated peptonase level.

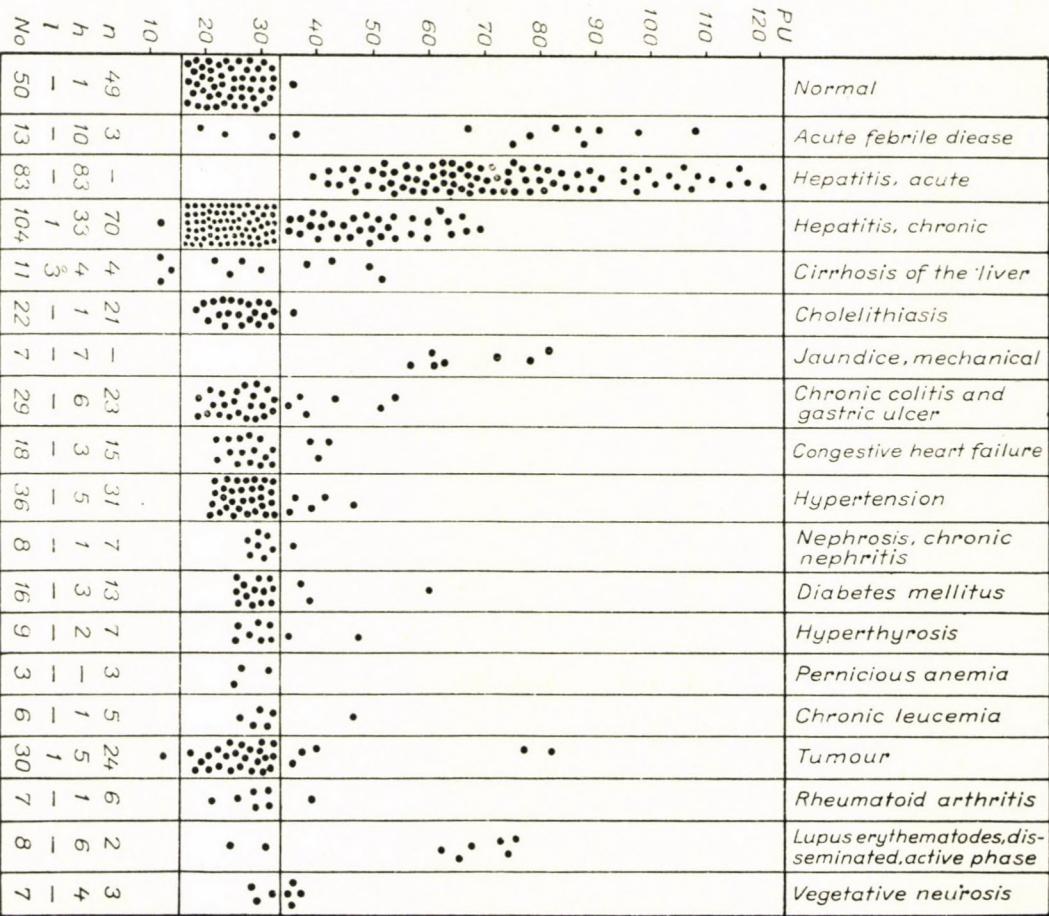


Fig. 12. Peptonase content of normal and pathologic sera. No.: total number of cases in the single disease groups. n = normal, h = high and l = low serum peptonase content

The origin of the di- and tripeptidases demonstrable in the serum under both normal and pathological conditions is still unknown. Particular significance has been attributed to hepatocellular lesion (FLEISHER 13, 14, 15), and to the disintegration of the corpuscular elements of the blood, first of

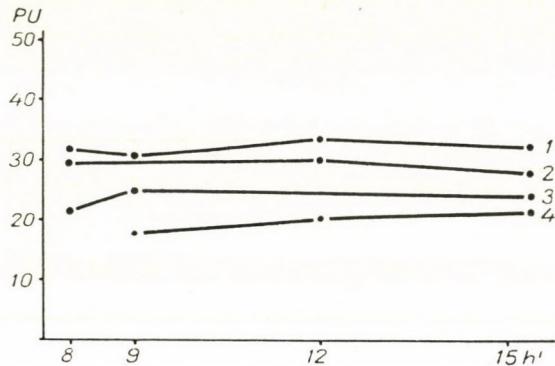


Fig. 13. Variation of the serum peptonase level in a normal subject from 8 a. m. until 3 p. m.

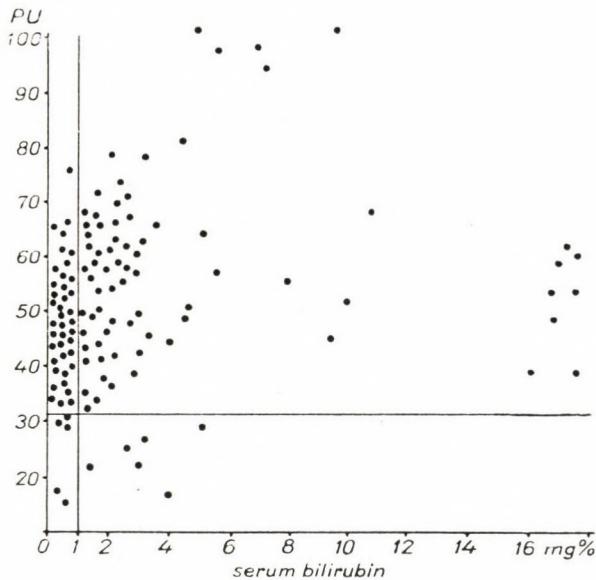


Fig. 14. Serum bilirubin level and peptonase content in acute hepatitis

all of the lymphocytes (CULLEN) and erythrocytes (SMITH). To our best knowledge, experimental studies on the origin of peptonase have not been carried out. We found the peptonase content of erythrocytes 80 to 100 times higher than that of the serum [10]. In connection with these open questions, it is deemed necessary to cite some clinical data. In the group of diseases other than hepatic we studied the eventual correlation between the changes in

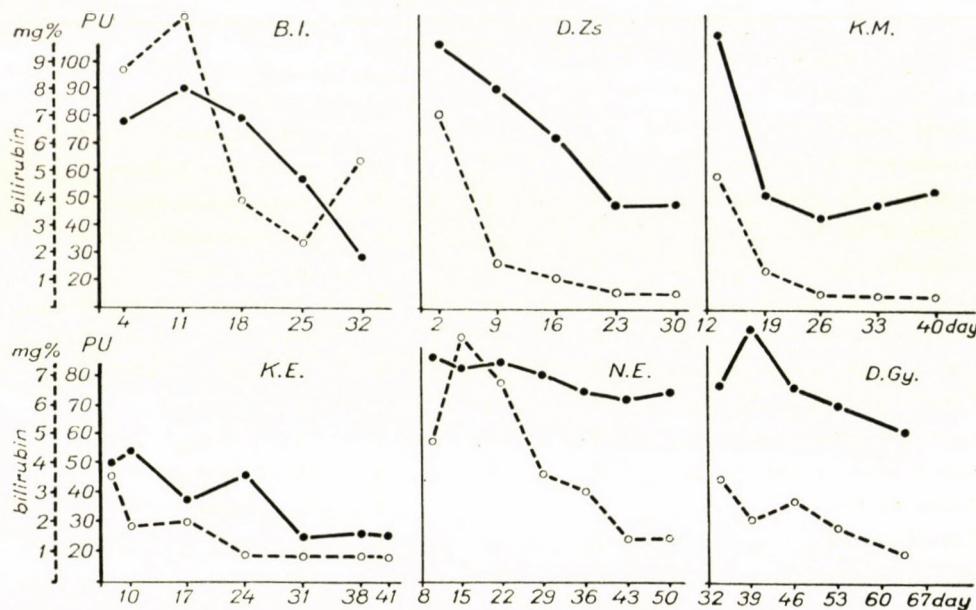


Fig. 15. Behaviour of the serum peptonase level during acute hepatitis

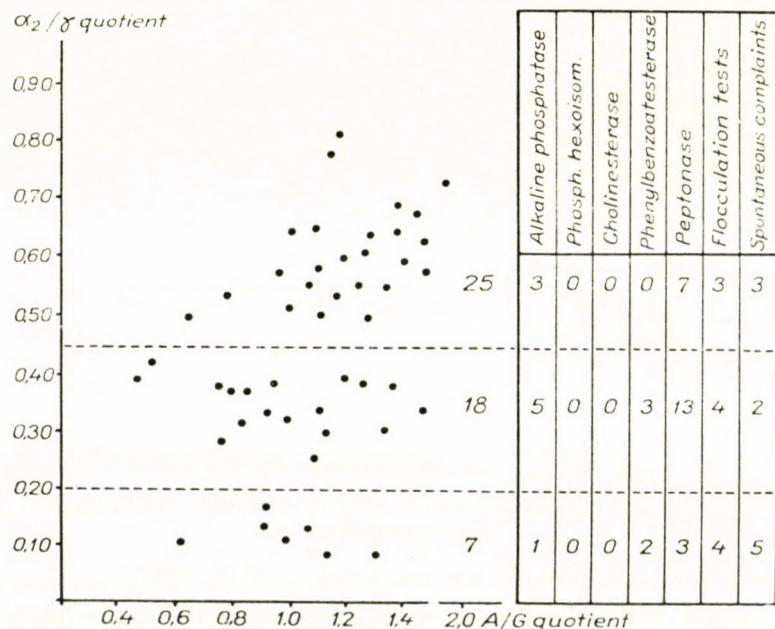


Fig. 16. Data for 50 posthepatitis patients. The numerals in the columns indicate the number of cases in which enzyme activity was pathological, in which the flocculation tests were positive, and in which characteristic spontaneous complaints were present within the groups set up according to the quotient α_2/γ

Tumourous patients

Diagnosis	Number of cases	Peptonase level		Note
		high	normal	
Gastric cancer	4	—	4	no metastasis
Gastric cancer	3	2	1	metastasis in liver
Cancer of the pancreas	2	1	1	metastasis in liver
Cancer of the lung	4	—	4	no metastasis
Cerebral tumour	1	—	1	no metastasis
Cancer of the bladder	1	—	1	metastasis + X-ray therapy
Ovarian cancer	2	—	2	metastases + X-ray ther.
Cancer of the uterus	3	1	2	metastases + X-ray ther.
Lymphosarcoma	3	1	2	X-ray therapy
Lymphogranulomatosis	3	—	3	X-ray therapy
Cancer of the larynx	1	—	1	X-ray therapy
Ewing sarcoma	1	—	1	metastases
Kaposi sarcoid	1	—	1	
Ovarian cancer	1	low	—	metastases

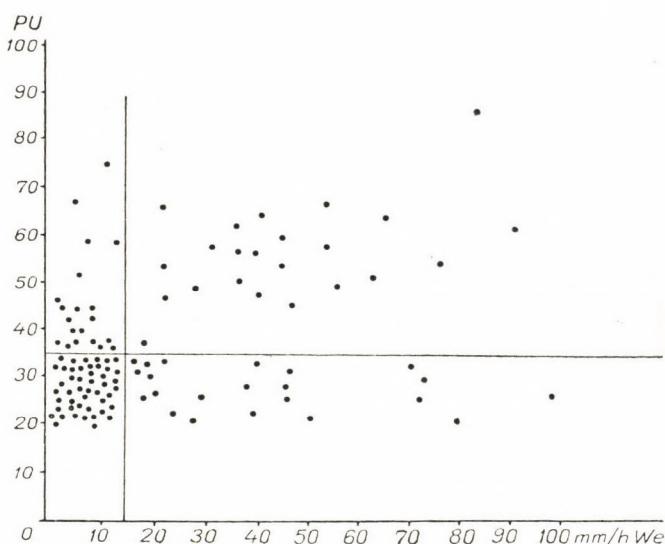


Fig. 17. Relation of serum peptonase content to erythrocyte sedimentation rate in different diseases

the serum peptonase level, on the one hand, and the ESR, erythrocyte and leucocyte count, differential count and, in chronic disease, the body temperature, on the other hand.

No correlation was demonstrable between the serum peptonase and any of the above-mentioned data.

Discussion

Evidence concerning the peptonase content of human serum is scarce. No other quantitative data are available than those reported by GRUBER for 7 cases and by SAXL for 14 cases. SCHIERGE used the qualitative test in all of his studies but those concerned with the properties of the enzyme, in which a few quantitative determinations were also made [32, 33, 34].

The lack of data is due to several factors. (i) In earlier test for estimating the peptic or ereptic effects of serum and, in general in those determining the peptidase-like enzymes of serum, the synthetic di- and tripeptides were accepted as suitable substrates and the peptones were left unconsidered. With the improvement of synthetic methods, in clinical medicine attention was devoted exclusively to the diagnostic significance of serum di- and tripeptidases [8, 13, 14, 15, 16, 22, 26, 28, 30, 37, 38, 40]. (ii) Technical facilities and favourable conditions for enzyme kinetical studies have made the use of synthetic peptide as the substrate even more attractive. (iii) Peptone was neglected owing to the hope that by the use of synthetic peptides such specific peptidases would be demonstrable in the serum the presence or increase of which might be characteristic of the involvement of certain organs. According to MERTEN and WINSCHUH, the peptidase activity of erythrocytes changes differently in different diseases, as determined by the use of such substrates as D- and L-leucoglycine, D- and L-alanylglycine, D- and L-glycylalanine. The investigations in progress at the Mayo Clinic since 1948 [13, 14, 15] showed that the increase of dipeptidase activated by Mn (leucylglycinase) was a characteristic sign in hepatitis. HERKEN, MERTEN and SCHMITZ ligated the renal artery and the ureter in animals and found an increase in the activity of a specific tripeptidase particularly active on D-alanylglycylglycine and very slightly active on leucoglycylglycine.

The objections to the use of peptones are usually supported by the following arguments. 1. Peptones are unreliable as substrates. 2. Their breakdown is the result of complex enzymatic actions. The resulting peptides of lower amino acid content may serve as new substrates for the different peptidases present in the normal or pathological sera. 3. Peptones are unsuitable for use in the search for specific peptidases.

On the basis of our own investigations, the following may be stated.

1. Witte peptone as the substrate offers significant advantages in quantitative peptonase determination.

a) The reaction of its 5 per cent solution is always between pH 7,2 and 7,3.

b) Its colour reaction with the biuret reagent (Table I) or with ninhydrin (Table II) gives always the same extinction value.

c) Its paper chromatogram is reproducible and shows always the same fractions (Fig. 6).

2. According to our data for the chronological (Fig. 2 and 3) and quantitative relations (Fig. 4) of the breakdown of peptone, there is a linear correlation between the quantity of enzyme and peptonase activity, as expressed in peptonase units (PU).

3. Beside the serum di- and tripeptidases it is justified to study the theoretical and practical significance of peptonase.

a) Peptonase is not identical with the di- and tripeptidases.

b) If peptonase is a complex of different peptidases, paper chromatography and other modern techniques allow to analyse the details of peptone breakdown and also to investigate qualitative differences in the enzymatic activity of different sera (Fig. 8).

c) The fact must not be ignored that Witte peptone is prepared by peptic hydrolysis of fibrin, so that it represents a substrate closely related to the *in vivo* metabolites of fibrin.

(iv) Even if it is not certain that peptonase is one enzyme or a complex of several enzymes, it is unquestionable that in normal subjects its serum level is stable which in certain diseases it may undergo characteristic changes.

As to the diagnostic value of the serum peptonase level, SCHIERGE has shown by extensive qualitative studies that the increase in the peptonase activity is correlated first of all with the affection of liver parenchyma. His data have been confirmed by WEISBACH, who compared the results of the test with those of other liver function tests. He found that the qualitative test is positive in the same percentage as the Takata-Ara and thymol tests in acute hepatitis, and as the thymol and the Weltmann tests in chronic hepatitis, whereas in liver cirrhosis its diagnostic value is inferior to that of the cadmium and Takata tests.

Thus far, our quantitative tests have permitted the following statements to be made.

1. Our data yielded by systematic quantitative studies, are the first to express the serum peptonase content in units. The quantitative values for serum peptonase among the proteolytic enzymes of serum are not known in an order similar to that for the digestive tract (pepsin, cathepsin, trypsin, peptonase, di- and tripeptidases).

2. In the sera of normal subjects, the peptonase level varies within narrow ranges (20 to 33 PU), thus representing a standard value. Daily individual variations are small (Fig. 13).

3. In the early phase of acute hepatitis the serum peptonase level is elevated in 100 per cent of the cases (45 to 160 PU). During the acute phase the changes in the peptonase level do not depend on those of the serum

bilirubin. Serum peptonase may return to normal or stay high, irrespective of the behaviour of serum bilirubin (Fig. 14 and 15).

4. In posthepatitic states, even when subjective complaints are slight, the peptonase level was elevated in a considerable percentage of cases, independently of the positivity of the flocculation tests, which were positive much less frequently, and from the intensity of other enzymatic activities (Fig. 16). In these cases the elevation of the serum peptonase level coincided first of all with the electrophoretic pattern indicating the presence of chronic inflammation, but was independent of the quantity of the fraction alpha₂.

5. Very high serum peptonase levels occur in acute febrile disease.

6. The peptonase level is elevated in but a small percentage of patients with tumour, with or without metastasis. X-ray therapy has no influence on the peptonase level.

7. The serum peptonase level is independent of the grade of anaemia, leucocyte count, differential blood count, erythrocyte sedimentation rate and, in chronic diseases, of body temperature.

In order precisely to outline the diagnostic value of the serum peptonase level, we ought to know apart from these empirical data also the following points : is peptonase a homogeneous enzyme ; from where does it come into the blood stream ; what mechanism controls its normal serum level ; and what pathological events may cause its elevation or decrease? At present we are unable to answer these questions. The results of research on the origin and function of other proteolytic enzymes in the serum cannot be applied without reservations to serum peptonase. Not only enzymological differences but also the different behaviour of the serum level of different proteolytic enzymes in various diseases compel us to make this distinction. For example, SCHIERGE [35] found no parallelism between the serum tryptase level and the ability to break down peptone. Or, in liver disease, fibrinolysis may show an opposite behaviour than the peptonase level : in almost 100 per cent of the cases of cirrhosis fibrinolysis is increased, whereas in acute hepatitis it is only slightly different from normal (SCHULTZ and KNOBLOCH). In contrast with this, we found the peptonase level to be elevated in 100 per cent of the cases of acute hepatitis, whereas in cirrhosis, normal or even decreased. MERTEN and WINSCHUH found increased tripeptidase concentrations in erythrocytes in various pathological conditions, including liver disease. On the other hand, the peptonase content of erythrocytes is significantly reduced in acute hepatitis [10], even when the serum level is elevated. These few examples show clearly that from the results of experiments proving the origin of other kinds of proteinases one cannot yet conclude to the origin of peptonase.

Further investigations should decide the cause of these differences, which may be ascribed to differences in the origin of the enzymes, to an

increase in their absolute quantity or to the influence of known and unknown activators and inhibitors in different diseases.

According to SCHIERGE [35], serum peptonase is not a homogeneous enzyme, but, like intestinal erepsin, a complex of several polypeptides. He further suggested that, mainly as a result of hepatocellular lesion, considerable quantities of peptonase enter the serum. This view is supported by the finding that the optimum pH of the peptonase activity of minced liver tissue is nearly identical with that of the peptonase activity of serum.

In addition to this view of SCHIERGE, other points of view should also be taken into consideration, first of all the data yielded by the few experiments in which peptone had been used as the substrate.

According to ABDERHALDEN and PINCUSOHN, the parenteral administration of proteins or their metabolites results in a great increase of serum peptonase activity. This phenomenon is demonstrable as early as 2 days after protein administration and is still demonstrable 3 to 4 weeks later. GRUBER found a parallelism between the titres of haemolysin, precipitin and agglutinin produced against erythrocytes, foreign proteins and bacteria on the one hand, and the increase in peptonase level resulting in response to these immunizations, on the other. ITO reported the activity of hepatic proteolytic enzymes including peptonase to change in response to the injection of adrenaline, insulin, or to adrenalectomy, even in the absence of a primary hepatic lesion.

It must, therefore, be assumed that numerous factors are involved in the changes of the serum peptonase level and that peptonase level and activity may be influenced not only by primary liver disease, but also by the neuroendocrine regulation and immunobiological events. We found the concentration of peptonase in serum to be independent of body temperature, erythrocyte and leucocyte counts, erythrocyte sedimentation rate, metastasis formation and X-ray therapy of neoplastic disease, and thus we support the view that the increase of the serum peptonase level may be an accompanying symptom of various pathophysiological events and is not necessarily correlated with "tissue destruction". It is possible, however, that the various pathophysiological events influence the serum peptonase level first of all through an action on the liver. Thus, an elevation of the serum peptonase level in some disease might be a sensitive sign of a lesion of the liver parenchyma. This problem should be decided in experimental studies.

SUMMARY

Few data were available concerning peptonase, one of the proteolytic enzymes of serum, and no quantitative ones. A method has been elaborated for the quantitative determination of the enzyme. Witte peptone was used as the substrate. According to the results obtained for the pH relations of peptone breakdown, for the correlations between the quantity of enzyme and peptonase activity, for the chronological course of enzyme action, as well as for the paper chromatographic pattern, Witte peptone is a suitable substrate and the peptonase content can be expressed by the amount of amino-N released during 24 hours of incubation. The test is made in 0.2 ml of serum. The peptonase content is expressed in peptonase units (PU). One PU is equivalent to 1 mg amino-N liberated by 100 ml serum.

In normal serum, 20 to 33 PU are demonstrable. High values were found in acute hepatitis and in acute febrile disease. In the early phase of acute hepatitis the serum peptonase level was elevated in all the cases examined, to 45 to 160 PU. In the course of the acute phase the serum peptonase level either returned to normal or remained high for a longer period of time, independently of the bilirubin content of serum.

In posthepatitic conditions, even when complaints were apparently insignificant, the serum peptonase level was often high. The elevated level showed no correlation either with the results of flocculation tests or with the activity of other enzymes.

The serum peptonase level was elevated only in a small percentage of patients with neoplastic disease.

In non-hepatic conditions, the serum peptonase level was independent of the grade of anaemia, leucocyte count, differential count, erythrocyte sedimentation rate and, in chronic diseases, from body temperature.

REFERENCES

1. ABBERHALDEN, E., TERUCHI, T.: *Ztschr. physiol. Chem.* **49**, 11.
2. ABBERHALDEN, E., DEETJEN: *Ztschr. physiol. Chem.* **51**, 334 (1907).
3. ABBERHALDEN, E., OPPLER, T.: *Ztschr. physiol. Chem.* **53**, 294.
- 3/a. ABBERHALDEN, E., PINCUSOHN: *Ztschr. physiol. Chem.* **61**, 200; **62**, 243; **64**, 102; **66**, 88.
4. ASTRUP, T.: *Blood* **11**, 781 (1956).
5. BASIL, J., HIRSCHOWITZ, J.: *Lab. Clin. Med.* **56**, 568 (1955).
6. BODE, F.: *Biochem. Z.* **326**, 433 (1955).
7. CSÓBÁN, Gy.: *Magyar Kémiai Folyóirat* **50**, 449 (1950).
- 7/a. ČESCHKA, J., RISSEL, E., WEWALKA, F.: *Klin. Wschr.* **34**, 241 (1956).
8. CULLEN, A. M., BARBER, V. T., BIRMINGHAM, M. K., STERN, K.: *Canad. J. Med. Sci.* **29**, 114 (1951).
9. DÁN, S., NAGY, S., TÓTH, J.: Unpublished data.
10. DÁN, S., HORVÁTH, J., TÓTH, J.: Unpublished data.
11. DASTRE, M. A.: *C. R. Soc. Biol.* **45**, 995 (1893).
12. DELEZENNEM, Z., POZERSKI, E.: *C. R. Soc. Biol.* **55**, 327, 690, 693 (1903).
13. FLEISHER, G. A., BUTT, H. R.: *J. Clin. Invest.* **32m** 674 (1953).
14. FLEISHER, G. A.: *J. Biol. Chem.* **206**, 637 (1954).
15. FLEISHER, G. A., BUTT, H. R., HUIZENGA, K. A.: *Proc. Mayo Clin.* **32**, 410 (1957).
16. GRASSMANN, W., HEYDE, W.: *Ztschr. physiol. Chem.* **188**, 69 (1930).
17. GRUBER, G. B.: *Ztschr. Immunitätsforsch.* **7**, 762 (1910).
18. HANSON, H., WENZEL, M.: *Klin. Wschr.* **31**, 24 (1953).
19. HEYNES, K., ANDERS, G.: *Ztschr. physiol. Chem.* **287**, 16 (1951).
20. HEDIN, S. G.: *Ztschr. physiol. Chem.* **112**, 252 (1920).
21. HERKEN, H., MERTEN, R., SCHMITZ, A.: *Ztschr. ges. exp. Med.* **112**, 262 (1943).
22. JOHANSEN, A., THYGESEN, J. E.: *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **3**, 66 (1951).
23. ITO, F.: *Tohoku J. exp. Med.* **61**, 365, 389, 399 (1954).
24. ITO, F.: *Tohoku J. exp. Med.* **62**, 1 (1955).
25. KLEINMANN, H., SCHARR, G.: *Biochem. Z.* **252**, 145 (1932).
26. LENK, R., POLLAK, L.: *Dtsch. Arch. klin. Med.* **109**, 350 (1913).
27. LOEPER, M., BAUMANN, J.: *C. R. Soc. Biol.* **86**, 730 (1922).
28. MERTEN, R., WINSCHUH, M.: *Ztschr. Vit. Hormonforsch.* **1**, 351 (1947—48).

29. MIRSKY, A., FUTTERMAN, P., KAPLAN, ST.: *J. Lab. Clin. Med.* **40**, 188 (1952).
30. OELKERS, H. A., FISCHGOLD, H.: *Klin. Wschr.* **31**, 205 (1931).
31. SAXL, P.: *Berl. Klin. Wschr.* **64**, 824 (1914).
32. SCHIERGE, M.: *Ztschr. ges. exp. Med.* **32**, 142 (1923).
33. SCHIERGE, M., KÖSTER, O.: *Ztschr. ges. exp. Med.* **34**, 313 (1924).
34. SCHIERGE, M., SOLTI: *Ztschr. ges. exp. Med.* **39**, 313 (1924).
35. SCHIERGE, M.: *Ztschr. ges. inn. Med.* **8**, 957 (1952).
36. SCHIERGE, M.: *Ztschr. ges. inn. Med.* **7**, 563 (1952).
- 36/a. SCHIERGE, M.: *Ztschr. ges. inn. Med.* **12**, 38 (1957).
37. SCHWARTZ, TH. D., MEYERS, J. B.: *J. Clin. Invest.* **33**, 337 (1954).
38. SMITH, E. L., CARTWEIGHT, G. E., TYLER, F. H., WINTROBE, M. M.: *J. Biol. Chem.* **185**, 59 (1950).
39. SPIRO, H. M., RYAN, A. E., JONES, C. N.: *Gastroenterology* **30**, 563 (1956).
40. STERN, K., CULLEN, A. M., BARBER, W. T.: *J. Clin. Invest.* **28**, 419 (1949).
41. TILLET, W. S., GARNER, L. L.: *J. exper. Med.* **58**, 48 (1933).
42. TROLL, W., CANNAN, R. K.: *J. Biol. Chem.* **803**, (1952).
43. VARRO, V., FAREDIN, J., NOVASZEL, F.: *Acta med. Scand.* **153**, 211 (1956).
44. WEISBACH, H. G.: *Ztschr. ges. inn. Med.* **9**, 324 (1954).

EFFECT OF PREOPERATIVE MEDICATION AND SURGERY ON THE ANTIIDIURETIC ACTIVITY OF HUMAN BLOOD

By

G. S. Kovács, B. M. Kovács, K. Kovács and G. PETRI

INSTITUTE OF EXPERIMENTAL AND OPERATIVE SURGERY AND THE 1st MEDICAL CLINIC, UNIVERSITY
SCHOOL OF MEDICINE, SZEGED, HUNGARY

(Received January 2, 1958)

The fact that surgical operations are followed by a diminished output of urine of high specific gravity had been recognized about half a century ago [1, 2], but its explanation dates from the last few years only. As a consequence of major surgical trauma, water is retained [3] and the kidney is unable to excrete dilute urine [5, 6]; during this period urine flow is determined by solute output [4, 5, 6]. This phenomenon still persists if excessive water administration results in dilution of the body fluids [4, 5, 6, 7] which finally may lead to water intoxication [7, 8]. In view of the fact that all these phenomena closely resemble the effect exerted by the antidiuretic hormone (ADH) and that all the findings can fully be reproduced by the administration of a posterior pituitary preparation [3, 4, 6], it has been assumed that they may be due to an enhanced ADH activity [3, 4, 5]. This latter is probably induced by "a non-osmotic stimulation of the posterior pituitary" [4]. CLINE [9] and EISEN [10] were the first to demonstrate an increased amount of antidiuretic substance in the urine voided after surgery. According to MIRSKY [11], surgical operation induces a marked augmentation in the antidiuretic activity of the plasma of patients.

Considering the leading part played by the ADH mechanism in these events, the question arose whether the lytic cocktail or its main potent component, chlorpromazine, — which exerts an inhibitory effect on endocrine reactions [12, 13, 14, 15, 16] — might be able to influence the activation of the ADH system initiated by surgical stress. Recent observations, showing that in patients premedicated with these drugs the postoperative urine output exceeded the usual volume [17, 18], had prompted us to examine how surgical stress affected the serum antidiuretic activity (SADA) in a group of patients premedicated with the lytic cocktail. Partly for the sake of comparison and partly to provide further data concerning the role of ADH in surgical antidiuresis, another group of patients was premedicated with morphine.

Material and methods

The examinations were carried out in 27 surgical patients of both sexes, suffering from various diseases. Patients subjected to major surgery were selected. Endocrine cases as well as patients with clinical signs of dehydration were excluded.

The operations were performed partly under general (ether) and partly under local anaesthesia (using a 0,5 per cent procaine solution without epinephrine). In two cases a short acting barbiturate* was applied in drip infusion; in another, local anaesthesia was combined with spinal anaesthesia.

Blood samples were taken from the cubital vein of fasting patients:

I. 2 days prior to operation;
II. on the morning of surgery, 1 hour before the operation was started. Premedication was applied immediately after blood sampling;

III. one hour after premedication. This sampling was carried out in the ward and surgery commenced within 10 minutes;

IV. one hour after the operation had been started;

V. on the morning following surgery;

VI. on the morning of the fifth postoperative day. The blood samples were immediately centrifuged and injected within 10 minutes to water loaded rats for assay.

In the three days preceding surgery no infusion, no blood transfusion or drug therapy was applied to the patients and except for the premedication the same holds good for the day of operation until blood sample IV had been taken. No further blood samples were taken from patients in which these criteria could not be observed. After blood sampling IV, however, fluid and drug therapy was applied according to the individual requirements of the patients.

The patients had been admitted at least a week before the operation and by the time of blood sampling I they were accustomed to their environment and to venipunctures. They were only informed about the time of the operation after blood sample I had been taken. The degree of psychic tension was defined and semi-quantitatively denoted with crosses on the day of operation immediately before blood sampling II.

According to the type of premedication, the patients were divided into two groups at random. One hour before blood sampling III, 13 patients were given an intramuscular injection of 20 mg morphine hydrochloride and 0,5 mg atropin sulphate. To the other group of 14 patients lytic cocktail, a mixture of 25 mg chlorpromazine,¹ 20 mg Synopen² and 50 mg pethidine³, was administered intramuscularly three times, *viz.*:

1. immediately after blood sampling II, *i. e.* 60 minutes before blood sampling III;
2. 30 minutes prior to blood sampling III; and
3. immediately after blood sampling III.

(Thus the full dose was 75 mg chlorpromazine, 60 mg Synopen and 150 mg Dolargan.) At the time of blood sampling III the psychic depressant action of the premedication was recorded, according to a semi-quantitative scale. The blood pressures of the patients premedicated with lytic cocktail were measured prior to premedication and just before blood sampling III and the decreases presented as the percentage of the initial systolic blood pressures. Blood sampling and recording of the degree of psychic tension and psychic depressant action of the premedication was done by one person, blood pressure measuring by another and the assay of SADA by a third person — the latter was not informed which blood sample was which. *Assay of SADA*. For this purpose a modification of Burn's test [19] was employed. White rats of both sexes averaging 200 g in weight were used. All animals were deprived of food for 16—18 hours before the assay, but water was given *ad libitum*. Two hours before the assay each animal was placed into a separate metabolism cage and hydrated orally with 5 per cent body weight of tap water. Two hours later urine output was measured and the animals which did not excrete at least 50 per cent of the water load were discarded.

The assay was then started. The animals received the same water load and simultaneously an intraperitoneal injection of the serum (0,5 ml per cent 100 g body weight). Each serum was injected into three rats. In each instance three saline controls were used.

* Intranarcon, Chinoim, Budapest. (2-thio-5-cyclohexenyl-5-allyl-barbiturate).

¹ Largactil, Specia, Paris.

² Synopen, Geigy, Basel. A potent antihistaminic agent.

³ Dolargan, Chinoim, Budapest.

The total urinary excretion of each rat was first measured 30 minutes after the second water load and the measurement was repeated every 15 minutes for three hours. The area under the curve representing the cumulative urinary excretion of a rat was calculated by the formula

$$A = \frac{1}{H} \cdot (1,5 Z_{30} + Z_{45} + Z_{60} + \dots + Z_{165} + 0,5 Z_{180}) \quad 1.$$

where H is the quantity of the second water load in ml and Z_{30} , Z_{45} , Z_{60} , etc. the quantity of urine excreted in 30, 45, 60, etc. minutes (given to an accuracy of 0,1 ml).

The assay value of each serum was calculated according to the formula

$$S = 10 \cdot \left(1 - \frac{E_1 + E_2 + E_3}{C_1 + C_2 + C_3} \right) \quad 2.$$

where E_1 , E_2 , E_3 are the areas under the cumulative urinary excretion curves of the rats treated with serum (calculated according to formula 1) and C_1 , C_2 , C_3 those of the controls.

For details of calculations and assay method, see Appendix.

The mathematical analyses were performed by means of Student's *t*-test.

Results

The results are summarized in Table I and II.

Two days before the operation (at the time of blood sampling I) all but three patients were apparently unworried. These exceptions are mentioned in the Tables. The antidiuretic activity of the sera taken at this time exceeded somewhat the normal value; namely, the average SADA of 22 normal persons [20] — determined in the same way and under similar conditions of blood sampling — was 2,76, with a standard deviation of $\pm 1,07$ (range, 0,90—4,58).

On the morning of surgery when the blood samples II were taken, the majority of the patients was in a state of increased psychic tension and related SADA values were considerably increased as compared to the values obtained two days before. Summarizing the two groups, the mean of SADA I was 4,03, and that of II, 5,47, the averages of the differences being highly significant ($P < 0,001$). These results were dealt with in a previous paper in detail [21].

Generally, the lytic cocktail did not influence these values (average of the differences between I and II = $\bar{d} = -0,12$; $0,70 < P < 0,80$). Morphine-atropine, on the other hand, unexpectedly reduced the SADA values, but the difference was not significant ($d = -1,10$, $0,05 < P < 0,10$). However, a glance at Fig. 1 shows that all but one of the SADA values exceeding the normal range decreased considerably; the patients involved revealed appreciable psychic tension at the time of blood sampling II. Whereas the two values within the normal range increased, these two patients did not show any signs of anxiety. Hence, if only the SADA values exceeding the normal range are taken into account in the calculations, the obtained difference is highly significant ($\bar{d} = -1,66$; $0,001 < P < 0,01$). A similar rearrangement of the values obtained in the cocktail-treated group did not change the results.

Table I

Serum antidiuretic activity in patients premedicated with morphine and atropine

Two days prior to operation (I); on the morning of the operation, before premedication (II); one hour after premedication (III); one hour after operation had started (IV); 24 hours following the operation (V); and 5 days after the operation (VI).

Nr.	Name	Sex	Age	Diagnosis	Operation	Anaesthesia	S A D A						Psychic depression after premedication	
							I.	II.	III.	IV.	V.	VI.		
1.	P. B.	♀	47	Gastric cancer	Partial gastrectomy	ether	5,08	3,19	—	5,54	6,35	3,82	+	
2.	A. Á.	♂	69	Cholelithiasis	Choledochoduodenostomy	ether	3,42	4,06	—	6,96	4,79	3,64	+	
3.	B. Zs.	♂	56	Gastric ulcer	Partial gastrectomy	ether	5,24	5,26	3,71	2,95	2,97	0,30	+	
4.	M. F.	♂	54	Duodenal ulcer	Partial gastrectomy	ether	6,89	7,52	5,95	7,62	6,18	4,67	++	
5.	K. W.	♀	45	Hypertrophy of the breast	Mammaplasty	ether	2,75	5,64	5,60	6,85	1,97	2,29	+	
6.	I. D.	♂	49	Pericardial cyst	Extirpation	ether	2,60	0,98	1,65	4,55	6,93	6,65	+	
7.	I. H.	♂	67	Gastric cancer	Partial gastrectomy	local	1,91	6,78	3,93	7,35	3,26	2,54	+	
8.	J. D.	♂	55	Gastric cancer	Exploration	local	1,05	3,06	5,21	6,53	6,58	3,13	+	
9.	E. R.	♀	71	Cholelithiasis	Cholecystectomy	local	7,68*	9,24	7,75	7,51	6,17	3,75	+	
10.	P. K.	♂	47	Duodenal ulcer	Partial gastrectomy	local	5,95	8,51	5,32	8,45	8,22	3,06	+	
11.	I. P. K.	♂	56	Gastric cancer	Gastro-enterostomy	local	5,00	6,08	3,71	4,48	4,04	4,59	+	
12.	J. T.	♀	59	Cholelithiasis	Cholecystectomy Choledochotomy	local	3,50	6,51	3,74	4,60	—	—	+++	
13.	P. K.**	♀	24	Empyema of the gall bladder	Cholecystectomy	Intra-narcon	8,46	6,38	7,28	8,24	7,75	9,47	+	
							mean	4,59	5,64	4,89	6,34	5,44	3,99	

* At the time of blood sampling very excited and crying.

** Very sensitive patient, reacting with extraordinary excitement to every manipulation throughout the whole period.

Table II
Serum antidiuretic activity in patients premedicated with lytic cocktail
(Blood sampling as in Table I)

Decreases in blood pressure, recorded at the time of the second blood sampling, are expressed as the percentage of the initial systolic blood pressure

Nr.	Name	Sex	Age (years)	Diagnosis	Operation	Anaesthesia	S A D A						Fall of blood pressure after preme- dication	Psychic depression after pre- medication
							I.	II.	III.	IV.	V.	VI.		
1.	I. M.	♂	50	Duodenal ulcer	Partial gastrectomy	ether	1,60	3,22	4,76	4,26	2,70	1,45	50%	++
2.	A. D.	♀	54	Hypernephroma	Nephrectomy	ether	5,64*	5,41	8,45	7,31	6,30	8,10	81%	+
3.	I. B.	♂	53	Gangrene of the foot	Amputation	ether	2,40	4,03	5,20	5,05	1,12	2,89	75%	++
4.	I. M.	♀	34	Cholelithiasis	Cholecystectomy	ether	3,84	6,42	6,72	7,36	6,57	2,92	96%	++
5.	M. Gy.	♂	19	Subclavian arterio-venous fistula	Extirpation	ether	3,79	6,60	5,30	5,45	4,40	5,64	85%	++
6.	M. K.	♀	71	Cholelithiasis	Cholecystectomy	ether	0,90	6,02	3,35	4,55	2,19	3,55	96%	++++
7.	I. T.	♂	63	Gastric ulcer	Vagotomy + Gastro-enterostomy	local	4,02	3,75	2,43	5,04	3,39	6,14	69%	++++
8.	I. A.	♀	63	Cholelithiasis	Cholecystectomy	local	2,11	5,17	5,63	8,01	7,59	8,77	95%	++++
9.	L. K.	♀	54	Gastric cancer	Total gastrectomy	local	7,02	6,23	7,07	7,93	3,19	7,86	86%	++++
10.	J. P.	♀	54	Cholelithiasis	Cholecystectomy	local	3,64	2,71	1,98	3,70	2,19	2,71	62%	++
11.	I. H.	♀	64	Gastric cancer	Partial gastrectomy	local	6,59	5,42	3,90	7,19	6,65	4,21	91%	+++
12.	L. G.	♀	65	Gastric ulcer	Partial gastrectomy	local	2,58	4,78	4,52	5,74	5,42	7,99*	64%	++++
13.	K. B.	♂	57	Sigmoid cancer	Resection of the sigmoid colon	local+spinal	3,40	7,70	7,92	8,61	2,90	—	70%	++
14.	P. K.	♂	54	Gastric cancer	Gastro-enterostomy	Intra-narcon	1,15	6,50	4,39	6,58	2,31	5,94	60%	++
						mean	3,48	5,28	5,16	6,20	4,07	5,25		

* Retrograde pyelography the day before. At the time of blood sampling the patient complained of intense pain.

** At the time of blood sampling extremely excited.

Premedication with morphine had but a slight tranquilizing effect as compared to that of the lytic cocktail. The latter exerted a pronounced psychic depressant action the degree of which, however, varied from patient to patient. As a result of premedication with lytic cocktail a few patients fell asleep, did not wake up throughout the operation carried out in local anaesthesia

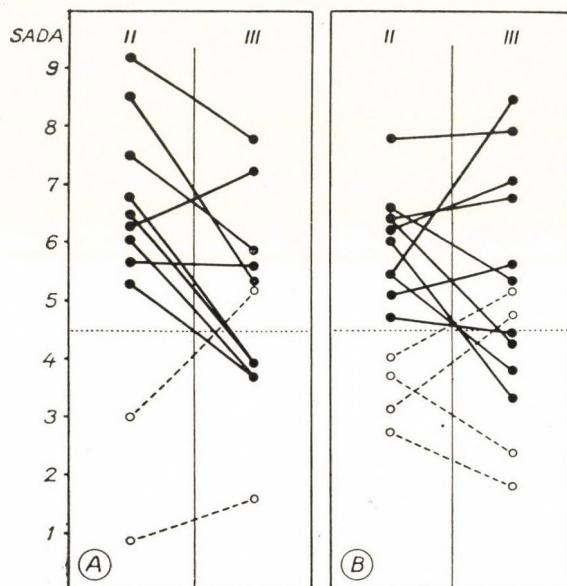


Fig. 1. Effect of premedication on serum antidiuretic activity. The effect of premedication with morphine-atropine is plotted on the left (A), that of the lytic cocktail, on the right (B). Two SADA values are presented for each patient; one blood sample (II) was taken on the morning of the operation before premedication, and the other (III) 1 hour later. The horizontal dotted line denotes the upper normal limit. The dots represent high SADA values of excited patients, whereas the circles show the lower values of relatively quiet patients. The corresponding values are connected

(No. 7 and 9) and could not later remember anything that had happened. Two others, on the other hand, though they seemed to be asleep during the operation, reported the next day that they remembered everything, but had been unable to speak or move. The degree of blood pressure decrease varied individually over a wide range. One patient (No. 1) exhibited such a great drop that it did not seem advisable to administer the third dose, whereas in others blood pressure hardly showed any change. No relation could be found between the reduction of blood pressure and the psychic depressant action of the drugs.

As a result of surgical stress, SADA rose considerably in both groups (morphine-treated group : $\bar{d} = +1.43$, $0.001 < P < 0.01$; cocktail-treated group : $\bar{d} = 1.05$, $0.001 < P < 0.01$). In both groups the SADA of all but

one patient exceeded the normal range during the operation, irrespective of the type of anaesthesia applied ; SADA increased during surgery even in the two patients who, owing to the depressant action of premedication with lytic cocktail, slept throughout the operation (No. 7 and 9).

Up to the time of blood sampling IV the trauma to which the patients were subjected was nearly identical. Subsequently, however, they could not be treated identically, since the extent and duration of the intervention varied from patient to patient, thus appropriate fluid and drug therapy had to be applied. SADA determined 24 hours following surgery was still elevated, but the individual values scattered over a wide range. Five days after the operation the SADA was normal in the greater part of the patients, although in some it was still considerably increased. Owing to the differences in individual treatment, these values (V and VI) were not subjected to mathematical analysis.

Discussion

The results show that, probably owing to psychic tension, SADA of surgical patients increases even during the preoperative phase. This elevated SADA is not affected by the lytic cocktail, but declines after premedication with morphine-atropine. Surgery *per se* elicits a marked increase of SADA which, however, cannot be inhibited by means of either of the two types of premedication.

It is still an open question which substance or substances are responsible for the antidiuretic action of human sera. These substances, however, are very similar in nature to the antidiuretic hormone [22]. Exposure to injury results in a rapid rise of the antidiuretic substance in the blood [22], whilst a simultaneous loss of hypophyseal and hypothalamic neurosecretory material [23] and of the ADH content of the neurohypophysis [24] has been described. Very probably rapid changes in SADA closely parallel changes in the ADH content of serum [25]. Thus the results obtained may be interpreted as changes of the ADH activity.

The pronounced rise of SADA on the morning of surgery is attributed to preoperative psychic tension. This problem has been dealt with in detail in a previous paper [21].

The fact that surgical stress, as well as ether anaesthesia itself, causes antidiuresis of the same pattern as does ADH is well known [1, 3, 4]. GINSBURG and HELLER [26], as well as EVERSOLE and GIERE [27] found in the rat increased titres of circulating antidiuretic hormone following ether administration and a loss of the neurosecretory material in the neurohypophysis was also demonstrated [23]. MIRSKY [11] found that surgical operation induced

a marked augmentation in the antidiuretic activity of the plasma. Our results support these data.

The action exerted by morphine on the ADH mechanism has been thoroughly reexamined recently. DEBODO [28], DUKE [29], WINTER [30] and GIARMAN [31] concluded that the antidiuretic action of morphine is mediated by the neurohypophyseal antidiuretic hormone. However, KRAUSHAER [32] noted morphine antidiuresis to occur also in patients suffering from diabetes insipidus. BACHMAN observed the same in dogs with their pituitary stalk transected. Finally, CRAWFORD solved the problem by means of a more specific method of assay [34], and established that morphine (even in pharmacological doses) does not induce ADH release, but is able to potentiate the effect of the ADH simultaneously present in the circulation [35]. PAPPER [36] demonstrated in humans that, though therapeutical doses of morphine reduce urine flow by altering renal haemodynamics, the osmolality of urine excreted does not change, hence ADH is not involved in morphine antidiuresis. According to our observations, morphine-atropine administration moderates hyperadiuretinaemia due to psychic tension, although this premedication apparently does not exert a strong depressant action. This finding has been supported by our observation [37] that following morphine-atropine pre-medication urinary osmolal concentrations decrease in patients who earlier had excreted concentrated urine. It is therefore assumed that morphine diminishes the irritability of the hypothalamic centres controlling ADH secretion. (A similar action of morphine on the ACTH [38] and gonadotrophic [39] system has been reported.) Naturally, it cannot be ruled out that atropine had a role in bringing about the above changes, as in certain conditions atropine may inhibit ADH release [40].

The high SADA values due to psychic tension were not influenced by the lytic cocktail, although the psychic depressant action of the drug combination was far more pronounced than that of morphine. Even in patients responding to the cocktail with most marked psychic depression, no considerable change in SADA occurred. A few observations seem, however, to contradict our results. MEYER [41] found following administration of chlorpromazine to dogs a dilution of urine and an increase of urine flow. According to PARRISH [22], chlorpromazine administration to patients results in an augmented urine output; at the same time tubular reabsorption of water and urinary excretion of antidiuretic substance diminished. He, accordingly, suggested that chlorpromazine inhibits ADH secretion. It must, however, be recalled that his patients were not under the influence of psychic stress, as was the case with our patients. The fact that in our experiments the lytic cocktail had failed to reduce hyperadiuretinaemia induced by psychic stress may be interpreted as an inadequacy of its depressant action to affect the hypothalamic centres regulating ADH secretion.

ADH release induced by surgical stress cannot either be inhibited by the lytic cocktail; this holds good also for the patients who, owing to the depressant action of the drug combination, were sleeping throughout the surgical procedure. Similar observations were made in rats [43] in which chlorpromazine did not inhibit endogenous ADH release produced by nicotine; on the contrary, the drug even exerted a potentiating effect on the activity of both the endogenous and the exogenous ADH. Also, SCULTÉTY [44] arrived in demonstrating that the lytic cocktail did not inhibit the development of morphological changes associated with hyperfunction of the hypothalamic ADH centres following tourniquet shock. According to other observations [37], premedication with lytic cocktail did not prevent the formation of concentrated urine in patients exposed to surgical stress.

Most of the authors dealing with the diuretic action of the lytic cocktail or chlorpromazine observed increased urine output following administration of these drugs [17, 45, 46, 47], but did not refer to the changes in osmolality of the urine excreted. An increase in urine output may, however, occur independently of the ADH mechanism, as a consequence of an augmented solute output [6]. Several authors reported that the lytic cocktail or chlorpromazine enhanced the excretion of Na and Cl [41, 48], of the ions representing the majority of urinary solutes. In a previous paper [18] it has been shown that the lytic cocktail unquestionably inhibited the enhanced tubular NaCl reabsorption and consequent oliguria elicited by surgical stress in untreated dogs; similarly, these drugs moderated the development of alterations in renal haemodynamics due to surgery. It may be assumed that the diuretic action of the lytic cocktail or of chlorpromazine is exerted through these mechanisms and the apparent augmentation of postoperative urine output in surgical patients might be explained by these facts.

SUMMARY

The antidiuretic activity of the serum (SADA) from 27 surgical patients was determined by Burn's test. One group of the patients received 20 mg morphine and 0,5 mg atropine as a premedication; the other group was premedicated with a "lytic cocktail" containing 75 mg chlorpromazine, 60 mg Synopen and 150 mg pethidine.

On the morning of the operation, SADA of the patients was significantly increased as compared to the value obtained two days previously. This increase has been attributed to the preoperative psychic tension.

The augmented SADA decreased on morphine administration, whilst the lytic cocktail caused no essential change, although the psychic depressant action of the latter was far more pronounced than that of morphine.

Surgical stress resulted in a marked rise of SADA. This rise, however, was not affected by either type of premedication.

Appendix

The antidiuretic activity of different samples — evaluated by means of Burn's test or similar methods — are usually characterized in two different ways:

(i) by the time in which the experimental animal excretes 50 per cent of the ingested water; or

(ii) by the percentage of water excreted in a certain period.

However, for determining the SADA of various sera — the antidiuretic activities of which extend over a wide range — neither of the two above-mentioned means are suitable. This is strikingly illustrated by Fig. 2. In certain cases namely, SADA is so high that during the 180 minutes of assay the rats do not excrete 50 per cent of the water ingested. (The rate

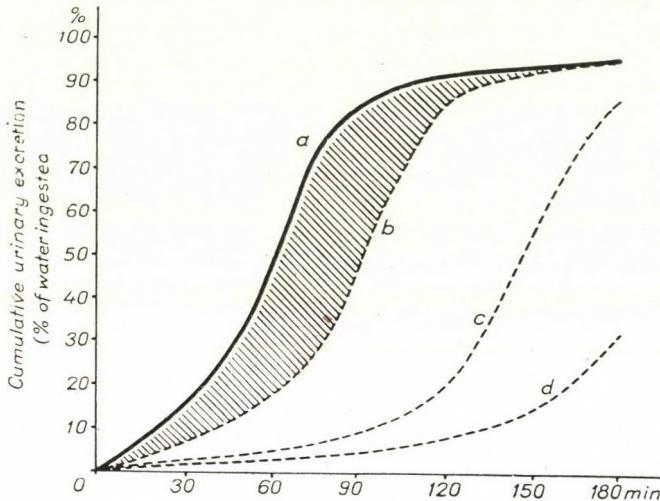


Fig. 2. Cumulative urinary excretion of hydrated rats injected with a) physiological saline ; b) small, c) moderate, d) large doses of Piton. The hatched area represents the difference between the areas under curve a) and b)

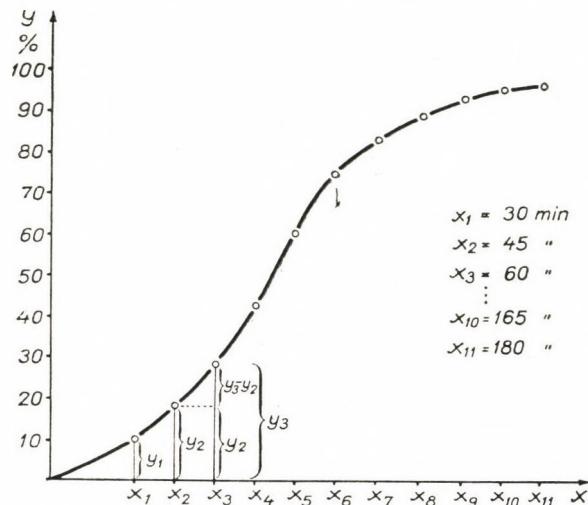


Fig. 3. The area under the polygon denoting cumulative urinary excretion is divided up into triangles and quadrangles

of dilution of the samples cannot be relied on, as the extent of SADA is not known in advance). If, on the other hand, the second method is employed, no suitable point can be found on the x axis (time) where the corresponding y values (cumulative urinary excretion) of the sera with various activities could be distinctly differentiated. Fig. 2 implies a better way for the interpretation of the actual SADA by taking the area lying between the curves for the

control rat and for the rat treated with serum. Thus, SADA is represented by the difference between the areas under the two curves.

The area under the curve, more accurately under the polygon can be calculated if it is previously divided up into triangles and quadrangles. According to Fig. 3 the area under the polygon is

$$A = \frac{x_1 \cdot y_1}{2} + (x_2 - x_1) \cdot y_1 + \frac{(x_2 - x_1) \cdot (y_2 - y_1)}{2} + \dots \\ + (x_{11} - x_{10}) \cdot y_{10} + \frac{(x_{11} - x_{10}) \cdot (y_{11} - y_{10})}{2} \dots \dots \dots \quad (a)$$

$$\text{But } x_2 - x_1 = x_3 - x_2 = \frac{x_1}{2} = 15 = k \text{ (constant)} \dots \dots \dots \quad (b)$$

Substituting (b) into (a) and reducing the equation, we have

$$A = k \cdot (1,5 \cdot y_1 + y_2 + y_3 + \dots + y_{10} + 0,5 \cdot y_{11})$$

y is expressed here in the percentage of water ingested, whilst urinary excretion was measured in absolute figures. Let H be the quantity in ml of water ingested at the second hydration, and Z_{30} , Z_{45} , Z_{60} , etc. the amount in ml of urine excreted up to the 30th, 45th, 60th, etc. minute. Thus,

$$y_1 = \frac{100 \cdot Z_{30}}{H}, \quad y_2 = \frac{100 \cdot Z_{45}}{H}, \quad \text{etc.}$$

After substitution and reduction we obtain

$$A = \frac{100 \cdot k}{H} \cdot (1,5 \cdot Z_{30} + Z_{45} + Z_{60} + \dots + Z_{165} + 0,5 \cdot Z_{180})$$

Since $100 \cdot k$ is the same constant in every case, there is no loss of generality in assuming that $100 \cdot k = 1$. Thus we get the formula

$$A = \frac{1}{H} \cdot (1,5 \cdot Z_{30} + Z_{45} + Z_{60} + \dots + Z_{165} + 0,5 \cdot Z_{180}) \dots \dots \dots \quad 1.$$

Calculation of the assay value. As mentioned above, the assay value represents the difference between the curve denoting the cumulative urinary excretion of the controls and that of the rats treated with serum. Let the areas of the controls be C_1 , C_2 , C_3 and their mean \bar{C} , and those of the rats treated with serum E_1 , E_2 , E_3 and their mean \bar{E} ; then the assay value would be $\bar{C} - \bar{E}$. It must, however, be taken into account that the diuretic response of the rats varies from day to day [49,50]. Hence the results gained on various days should be related to an "ideal control" to render possible a comparison of the different assay values. Since the areas of the controls (calculated according to formula 1) fluctuate about 10,0, the "ideal control" area was considered arbitrarily to be 10,0. Thus, to get the "ideal control" value the daily control values had to be multiplied by a factor F.

$$\bar{C} \cdot F = 10,0 \quad \text{hence } F = \frac{10}{\bar{C}}$$

(The value of \bar{C} and F is changing daily.) The area of the animals treated with serum should also be multiplied by F. Thus, the assay value for SADA is

$$S = F \cdot \bar{C} - F \cdot \bar{E} = F(\bar{C} - \bar{E}) = \frac{10}{\bar{C}} (\bar{C} - \bar{E}) = 10 \left(1 - \frac{\bar{E}}{\bar{C}}\right)$$

After reduction, the formula

$$S = 10 \cdot \left(1 - \frac{E_1 + E_2 + E_3}{C_1 + C_2 + C_3} \right) \dots \dots \dots \dots \quad 2.$$

is obtained.

The validity of the assay method was tested, using known solutions of a posterior pituitary extract ("Piton", Organon, Oss, Holland).* To 25 groups (each consisting of 3 to 6 rats) Piton was administered at doses of 1,0 to 2000 milliunits per 100 g body weight. The response showed a log-dose relationship which is defined by the equation,

$$Y = 0,862 + 1,899 \cdot \log x$$

where x is the dose in milliunits of Piton per 100 g body weight, and y is the assay value calculated according to formula 2.

The index of precision (λ) has been calculated using groups consisting of 3 to 6 rats. In the case of groups of three rats $\lambda = 0,362$, but if the extreme doses (2000 mU per 100 g body wt.) are neglected, $\lambda = 0,306$. If larger groups are used the method becomes more precise. On using

- groups of 4 rats $\lambda = 0,287$
- groups of 5 rats $\lambda = 0,254$
- groups of 6 rats $\lambda = 0,228$

To present the SADA values as above seems more appropriate than to use international units as, on the one hand, not only ADH is responsible for the antidiuretic activity of the blood and, on the other, the values expressed in international units do not follow the normal distribution, thus not being suitable for statistical analysis.

REFERENCES

1. PRINGLE, H., MAUNSELL, R. C. B. and PRINGLE, S.: Brit. Med. J. **2**, 542 (1905).
2. CUTHBERTSON, D. P.: Glasg. Med. J. **121**, 41 (1934).
3. LEQUESNE, L. P. and LEWIS, A. A. G.: Lancet, **1**, 153 (1953).
4. DUDLEY, H. F., BOLING, E. A., LEQUESNE, L. P. and MOORE, F. D.: Ann. Surg., **140**, 354 (1954).
5. HAYES, M. A., WILLIAMSON, R. J., and HEIDENREICH, W. F.: Surgery, **41**, 535 (1957).
6. SCHLEGEL, J. U., ELDRUP—JØRGENSEN, S., and STONE, H.: Ann. Surg., **145**, 12 (1957).
7. ZIMMERMANN, B., and WANGENSTEEN, O. H.: Surgery, **31**, 654 (1952).
8. WINN, V., and ROB., C. G.: Lancet, **1**, 587 (1954).
9. CLINE, T. M., COLE, J. W., and HOLDEN, W. D.: Surg. Gyn. Obst. **96**, 674 (1953).
10. EISEN, V. D., and LEWIS, A. A. G.: Lancet, **2**, 361 (1954).
11. MIRSKY, I. A.: Arch. Neurol. Psychiat., **73**, 135 (1955).
12. GEORGES, C., and CAHN, J.: Anest. et Analg., **13**, 712 (1956).
13. HAMBURGER, CH.: Acta Endocrinol., **20**, 383 (1955).
14. KOVÁCS, K., HÓRVÁTH, É., KOVÁCS, B. M., KOVÁCS, G. S., and PETRI, G.: Arch. int. pharmacodyn., **108**, 170 (1956).
15. OLLING, CH. C. J., and DE WIED, D.: Acta Endocrinol., **22**, 283 (1956).
16. SHIBUSHAWA, K., SAITO, S., FUKUDA, M., KAWAI, T., YAMADA, H., and TOMIZAWA, K.: Endocrinol. japon., **2**, 189 (1955).
17. DOBKIN, A. B., WEHLING, B., GROSS, G., and MENDELSON, H.: Anesthesiol., **10**, 328 (1955).
18. KOVÁCS, G. S., KOVÁCS, B. M., KOVÁTS, T., KOVÁCS, K., and PETRI, G.: Ann. Surg., **147**, 375 (1958).
19. BURN, J. H.: Quart. J. Pharm. Pharmacol., **4**, 517 (1931).
20. KOVÁCS, G. S., KOVÁCS, K., and KOVÁCS, B. M.: Unpublished observations.
21. KOVÁCS, K., KOVÁCS, G. S., KOVÁCS, B. M., and PETRI, G.: Acta Med. Hung., **11**, 337 (1958).
22. MIRSKY, I. A., STEIN, M., and PAULISH, G.: Endocrinology, **54**, 491 (1954).

* Supplied by the courtesy of N. V. Organon, Oss, Holland.

23. ROTHBALLER, A. B.: *Acta neuroveget.*, **13**, 179 (1956).
24. KOVÁCS, K., and BACHRACH, D.: *Acta Med. Scand.*, **141**, 137 (1951).
25. ITOH, S.: *Jap. J. Physiol.*, **4**, 185 (1954).
26. GINSBURG, M., and HELLER, H.: *Endocrinology*, **55**, 274 (1953).
27. EVERSOLE, W. J., and GIERE, F. A.: *Fed. Proc.*, **13**, 42 (1954).
28. DEBODO, R. C.: *J. Pharm. Exp. Ther.*, **82**, 74 (1944).
29. DUKE, H. N., PICKFORD, M., and WATT, J. A.: *Quart. J. Exp. Physiol.*, **36**, 149 (1951).
30. WINTER, C. A., GAFFNEY, C. E., and FLATAKER, L.: *J. Pharm. Exp. Ther.*, **III**, 360 (1954).
31. GIARMAN, N. J., MATTIE, L. R., and STEPHENSON, W. F.: *Science*, **117**, 225 (1953).
32. KRAUSHAER, O. F., BRADBURY, J. T., WONG, Y. K., and BROWN, W. E.: *Amer. J. Obst. Gyn.*, **57**, 303 (1949).
33. BACHMAN, L.: *Anesthesiol.*, **16**, 939 (1955).
34. CRAWFORD, J. D., and PINKHAM, B.: *Endocrinology*, **55**, 521 (1954).
35. CRAWFORD, J. D., and PINKHAM, B.: *J. Pharm. Exp. Ther.*, **133**, 431 (1955).
36. PAPPER, S., SAXON, L., BURG, M. B., SEIFER, H. W. and ROSENBAUM, J. D.: *J. Clin. Invest.*, **36**, 918 (1957).
37. KOVÁCS, G. S., KOVÁCS, B. M., and PETRI, G.: In preparation.
38. BRIGGS, F. N., and MUNSON, P. L.: *Endocrinology*, **57**, 205 (1955).
39. BARRACLOUGH, C. A., and SAWYER, C. H.: *Endocrinology*, **57**, 329 (1955).
40. CHARVÁT, J., and HOLEČEK, V.: *Endokrinologie*, **34**, 162 (1957).
41. MOYER, J. H., KENT, B., KNIGHT, R., MORRIS, G., HUGGINS, R., and HANDLEY, C. A.: *Amer. J. Med. Sci.*, **227**, 283 (1954).
42. PARRISH, A. E., and LEVINE, E. H.: *J. Lab. Clin. Med.*, **48**, 264 (1956).
43. KOVÁCS, K., Kovács, G. S., Kovács, B. M., and Petri, G.: *Arch. int. pharmacodyn.*, **109**, 1 (1957).
44. SCULTÉTY, S.: Personal communication.
45. COURVOISIER, S., FOURNEL, J., DUCROT, R., KOLSKY, M., and KOETSCHET, P.: *Arch. int. pharmacodyn.*, **92**, 305 (1953).
46. LABORIT, H., and HUGUENARD, P.: *Pratique de l'hibernothérapie en chirurgie et en médecine*. Masson, Paris (1954).
47. MENON, M. K. K.: *J. Obst. Gyn. Brit. Emp.*, **63**, 847 (1956).
48. JAULMES, C., DELGA, J., BÉNITTE, A., and RICHARD, S.: *C. R. Soc. Biol.*, **149**, 1386 (1955).
49. GAUNT, R.: *Methods in Medical Research*, **5**, 209 (1952).
50. KOVÁCS, G. S., KOVÁCS, K., and KOVÁCS, B. M.: Unpublished observations.

ÜBER DIE CHIRURGISCHEN BEHANDLUNGSMÖGLICHKEITEN DER AORTENINSUFFIZIENZ

(EXPERIMENTELLE STUDIE)

Von

L. SZÖLLŐSSY, B. TÖRÖK und H. HÜBNER

INSTITUT FÜR CHIRURGISCHE ANATOMIE UND OPERATIONSLEHRE DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT,
PÉCS

(Eingegangen am 10. Juni 1958)

Als Folge der insuffizienten Aortenklappe führt die in die linke Kammer zurückströmende Blutmenge, die in ernsten Fällen die Hälfte des Herzschlagvolumens ausmachen kann (BAILEY und LIKOFF, NEWMAN und Mitarbeiter), zur Erweiterung der linken Kammer und zur Hypertrophie ihrer Muskulatur. Wegen der Rückströmung eines Teiles der ausgestoßenen Blutmenge vermag das Herz die erforderliche Blutquantität nur durch Frequenz- und Blutdruckerhöhung an die Peripherie zu befördern. Mit fortschreitender Erkrankung hat die Herzmuskelatur eine immer umfangreichere Mehrarbeit zu bewältigen. Infolge der Regurgitation ist der diastolische Druck in der Aorta sehr niedrig, nach jeder Herzkontraktion kommt es im Gefäßsystem zu großen Druckschwankungen, die sich naturgemäß auch auf das Kranzgefäßsystem ausdehnen. Die Blutströmung im Kranzgefäßsystem geht abschnittweise vor sich, die Blutversorgung der ohnehin stark in Anspruch genommenen Herzmuskelatur verschlechtert sich. Je größer die Regurgitation, um so größer ist die Mehrarbeit des Herzens und um so schlechter seine Blutversorgung. In der Mehrzahl der Fälle führt dieser Circulus vitiosus innerhalb einiger Jahre zu völliger Erschöpfung der Herzmuskelatur.

Die Aufgabe der inneren Medizin besteht in der Prophylaxe bzw. Behandlung der zur Insuffizienz führenden Grundkrankheit; bei der schon zur Entwicklung gekommenen Aorteninsuffizienz aber kann sich die internistische Therapie lediglich auf die Schonung der Reservekraft des Herzens und auf die Stimulation der im Erschöpfungszustand befindlichen Herzmuskelatur beschränken.

Die zunehmende Erschöpfung der Herzmuskelatur beruht auf der fehlerhaften, unvollenkommenen Klappenfunktion, so daß ihre radikale Behandlung ebenso wie die jeder anderen auf anatomischer Veränderung beruhenden Herzerkrankung nur chirurgisch erfolgen kann.

Als nächstliegende Methode der chirurgischen Korrektion wird die Transplantation eines intakte, funktionsfähige Klappen enthaltenden Aorten- (oder A. pulmonalis-) Abschnitts empfohlen (BENCINI und BELLINAZZO, 1949; LAM, ARAM und MUNNEL, 1952). Das transplantierte Klappensystem funktioniert anfangs einwandfrei, im Laufe der Zeit erleidet es aber das Schicksal

aller Transplantate: die Zellelemente gehen zugrunde, an ihre Stelle tritt Narbengewebe, das ganze Klappensystem schrumpft zusammen und wird allmählich insuffizient.

Dasselbe Schicksal erleiden alle Methoden, bei denen man mit Hilfe geschickter technischer Verfahren aus transplantierten Geweben (Venewand, Arterienwand, Perikard) Klappen zu bilden sucht (LITWAK, GADBOYS, SCOTT und FERRARA, 1952; SERVELLE, SOULIÉ, SIMMONET und BOUCHARD, 1954).

Seit Einführung der Kunststoffe lag daher der Gedanke nahe, das Klappensystem nicht aus transplantiertem Gewebe, sondern aus einem der Schrumpfungsgefahr nicht ausgesetzten Kunststoff herzustellen. Bahnbrechende Arbeit leistete auf diesem Gebiet HUFNAGEL (1951), der die Regurgitation mit einem in die Aorta eingesetzten Kugelventil aus Kunststoff behob. Er hat sein Verfahren in hunderten von Tierversuchen erprobt, und die Brauchbarkeit der Methode hat sich seither in zahlreichen klinischen Fällen erwiesen.

BENJAMIN, TURBAK, HANNON, SHUMWAY und LEWIS (1957) sowie ROE, NAJARIAN und MOORE (1957) stellten aus Kunststoff eine Nachbildung der normalen Aortenklappe her und implantierten sie in die Aorta.

BAILEY und LIKOFF (1955) setzten über die geschädigte Klappe ein an die Aortenwand fixiertes Kunststoffimplantat, das während der Diastole die von den unvollkommen schließenden Klappen freigelassene Öffnung gleichsam »tamponiert«. Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß diese Autoren auch eine andere, von den bisher beschriebenen Verfahren abweichende Methode erprobten, indem sie den Verschluß der geschrumpften Klappen durch Einengung des Aortenostiums herbeizuführen suchten.

Die aus homogenem Kunststoff hergestellten Klappen weisen den Nachteil auf, daß sie niemals zum organischen Bestandteil des Wirtsorganismus werden können. Diese Transplantate werden vom umgebenden Bindegewebe lediglich abgekapselt, woraus sich verschiedene Komplikationen ergeben: Aneurysma-falsum-Bildung zwischen der Kunststofftransplantatwand und dem umgebenden Bindegewebbett (LORD und STONE, 1955; WOLCOTT und ELLISON, 1957), Thrombose der aus Kunststoff hergestellten Klappentaschen oder ihr Anhaften an die Wand (BENJAMIN und Mitarbeiter, 1957).

Diese Nachteile der Kunststoffplatten beeinträchtigen kaum ihren Gebrauchswert, da es ja wenige chirurgische Verfahren gibt, die nicht mit irgendeinem Risiko verbunden sind. Indessen müssen uns diese Nachteile dennoch veranlassen, nach Verfahren zu suchen, die imstande sind, die Wirksamkeit der oben erwähnten und gegenwärtig angewandten Methoden mit geringerem Risiko zu gewährleisten.

EISEMAN und MALETTE hatten 1953, BURDETTE 1954 ihre Methode mitgeteilt, mit der sie in größeren Venen eine die Einwegigkeit des Kreis-

laufs sichernde Klappe in der Weise bildeten, daß sie die Venenwand an einem gewissen Abschnitt zirkulär intussuszipierten. Sie bildeten eine Klappe, die aus der Gefäßwand selber bestand, ohne daß die Kontinuität der Klappengewebe unterbrochen wurde. Bei dieser Klappe handelt es sich also nicht um ein Transplantat, eine Schrumpfung oder Destruktion des Gewebes ist demnach weniger zu befürchten als bei den aus Gewebstransplantaten bestehenden Klappen.

Die EISEMANSche Methode wurde von SILEN, MAWDSLEY, MILLER und McCORKLE 1956 experimentell auch an der Aorta erprobt. Mit Nähten bildeten sie in der Aortenwand einen zum Lumen eigenstülpften kleinen Saum, der das Lumen der Aorta einengte. In zweiter Sitzung wurde das normale Klappensystem der Aorta transventrikulär durchtrennt. Die Kreislaufverhältnisse der überlebenden Tiere untersuchten sie angiographisch und oszillometrisch. Bei der retrograden Aortographie beobachteten sie minimale Regurgitation durch die gebildete Randklappe. Oszillometrisch stellten sie zentral von der Randklappe große, peripher von dieser nahezu normale Amplituden fest. Ihre Methode hatte also offenbar die Kreislaufssfolgen der Aorteninsuffizienz behoben. Es tauchte indessen der Gedanke auf, ob die Einengung der Aorta durch eine einfache Ligatur nicht zum gleichen Ergebnis führen würde.

WILDER und Mitarbeiter haben angiographische Untersuchungen an Hunden mit Aorteninsuffizienz vorgenommen und zugleich den Blutdruck in den Herzhöhlen und in der Aorta registriert. Peripher von den insuffizienten Aortenklappen engten sie die Aorta mit einer Ligatur ein. In dem peripher von der Stenose befindlichen Aortenabschnitt fanden sie trotz der Insuffizienz annähernd normalen Druck, während die Druckkurve des linken Ventrikels durchaus nicht normal verlief, ja im Vergleich zu den Druckkurven der nur insuffizienten Tiere etwas größere Schwankungen zeigte, wobei auch der durchschnittliche Kammerdruck erhöht war. Die Einengungsverfahren vermögen also die Kreislaufssfolgen der Aorteninsuffizienz an der Peripherie zu beheben, können aber den Zustand der geschädigten Herzmuskulatur eventuell noch verschlechtern.

Bei unseren Versuchen waren wir bestrebt, ein Klappenbildungsverfahren auszuarbeiten, bei dem die Klappe aus der Gefäßwand besteht und ihre gewebige Kontinuität bewahrt, aber keine wesentliche Stenose verursacht.

Wir untersuchten die Funktionsfähigkeit von zwei Klappentypen. Der erste besteht aus einem dreieckigen, aus der Aortenwand gebildeten Lappen (Abb. 1), dessen Spitze zur Peripherie blickt, während die Basis im Zusammenhang mit dem zentralen Gefäßabschnitt bleibt. An der Lappenbasis suchten wir mit in die Gefäßwand applizierten U-Nähten zu erreichen, daß der Lappen etwas zum Lumen neige und auf diese Weise, indem er sich

auf Wirkung des regurgitierenden Blutes an die gegenüberliegende Gefäßwand legt, den Weg der retrograden Strömung verschließe. Den in der Aortenwand entstandenen rhombusförmigen Defekt ersetzten wir mit einem Gefäßwandsstückchen von entsprechender Form und Größe.

Der zweite Klappentypus (Abb. 2) wurde folgendermaßen hergestellt. Vom peripheren Stumpf der quer durchtrennten Aorta schnitten wir in Richtung der Längsachse des Gefäßes im Winkel von 180° zueinander zwei

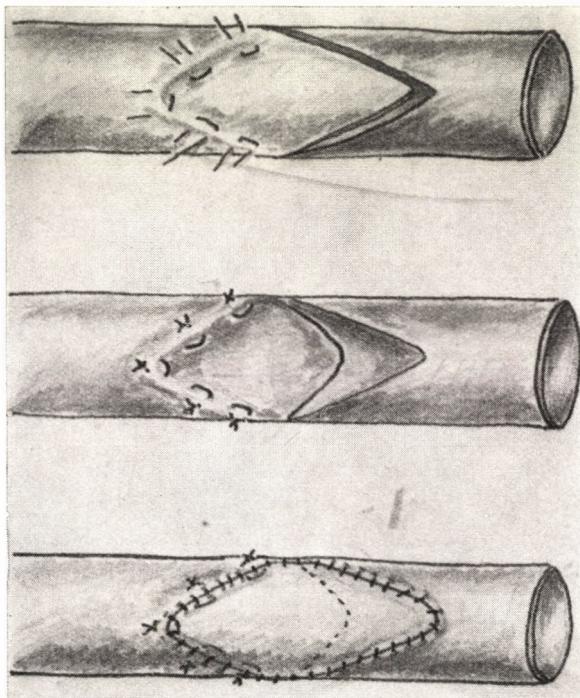


Abb. 1

1—1,5 cm lange Dreiecke mit schmaler Basis heraus, wodurch wir zwei sich zum Ende verjüngende Lappen gewannen. Am selben peripheren Gefäßstumpf bildeten wir — 1,5—2 cm vom Ende — mit zirkulär geführten U-Nähten vorher einen Rand und invaginierten die beiden »Klappenlappen« in den peripheren Gefäßstumpf. Zwischen dem zentralen Gefäßstumpf und dem Rand des peripheren Gefäßstumpfes wurde sodann eine Gefäßnaht angelegt.

Die Strömungseigentümlichkeiten der beiden Klappen hatten wir vorher in Modellversuchen untersucht. Die thorakale Aorta wurde getöteten Tieren entnommen. Wir bestimmten den Strömungswiderstand des entfernten

Gefäßabschnitts, und indem wir die zu untersuchenden Klappen an demselben Gefäßabschnitt herstellten, untersuchten wir erneut ihren Widerstand. Die Differenz zwischen den beiden Werten orientiert über den eigenen Strömungswiderstand der Klappe, d. h. über den Einengungsgrad. Ebenso bestimmten wir in Modellversuchen die Verschlußfähigkeit der Klappen gegenüber der retrograden Strömung bzw. die Regurgitationsmenge.

Bei der Feststellung des durch die Klappe verursachten Strömungswiderstandes stützten wir uns auf das POISEUILLESche Gesetz, wonach der

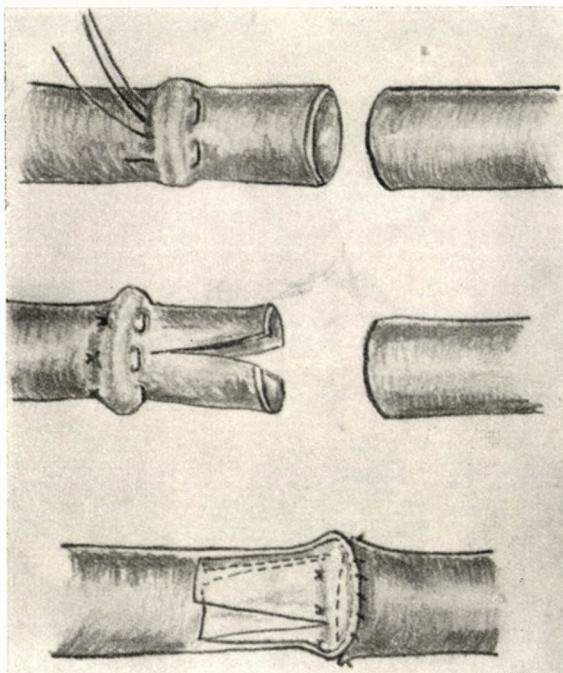


Abb. 2

Widerstand eines Röhrensystems zur Differenz des an den beiden Endpunkten gemessenen Drucks im geraden und zur durchströmenden Flüssigkeitsmenge im umgekehrten Verhältnis steht. Den Widerstand errechneten wir nach der von FRANK (1928) aufgestellten Formel :

$$R = \frac{(P_1 - P_2) 1332}{V \text{ cm}^3/\text{sec}} \text{ dyn sec cm}^{-5}$$

P_1 und P_2 entsprechen dem am Anfangs- und Endpunkt des Systems gemessenen Druck, $V \text{ cm}^3/\text{sec}$ dem auf 1 Sekunde entfallenden Anteil des Minutenvolumens (der je Minute durchströmenden Flüssigkeitsmenge).

Die zur Errechnung des Widerstandes benötigten Angaben wurden in dem auf Abb. 3 schematisch dargestellten System gemessen. Die Flüssigkeitsströmung wurde so reguliert, daß der Druck am Anfangspunkt des untersuchten Gefäßabschnitts 120 mm Hg sei, und der Flüssigkeitsdruck mit einem angeschlossenen Manometer kontrolliert. Wir bestimmten die bei 120 mm Hg Druck in 1 Minute durchströmende Flüssigkeitsmenge und stellten an dem am Endpunkt des untersuchten Gefäßabschnitts angeschlossenen Manometer den Flüssigkeitsdruck fest. Aus diesen Resultaten läßt sich der Widerstand des Gefäßabschnitts errechnen.

Mit dem auf Abb. 3 dargestellten System bestimmten wir auch die Schließfähigkeit der Klappen, indem wir den Druck ermittelten, bei dem

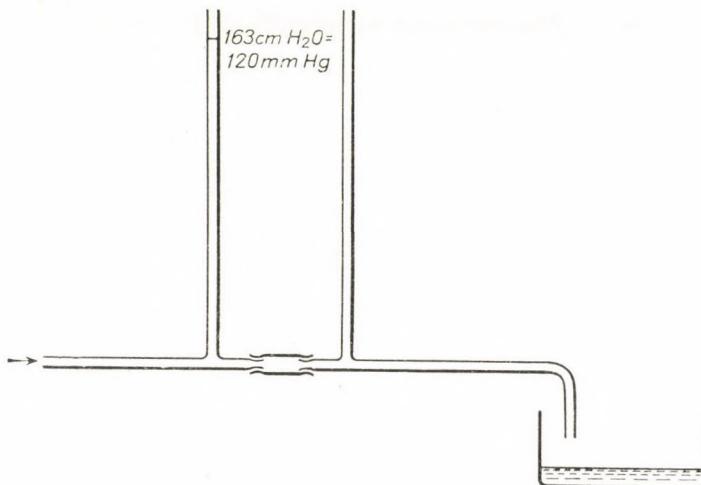


Abb. 3

die Klappen dem Flüssigkeitsdruck ohne wesentliche Regurgitation und ohne Umschlagen widerstehen.

Das Ausmaß der Regurgitation prüften wir in einem die Herztätigkeit nachahmenden System mit periodischer Flüssigkeitsströmung, das auf Abb. 4 schematisch wiedergegeben ist. In einem der beiden großen Gefäße wurde ständig ein Druck von 200, im anderen ein solcher von 80 mm Hg aufrechterhalten. Durch rhythmischen alternativen Verschluß bzw. Öffnung der Punkte 1 und 2 des Röhrensystems mit der Frequenz von 70/min erreichten wir, daß die Klappen abwechselnd mit 120 bzw. 80 mm Hg Druck belastet wurden. Wird der 2. Hahn bei offenem 1. Hahn verschlossen (Systole), so strömt Flüssigkeit mit 120 mm Hg Druck durch den die Klappe enthaltenden Gefäßabschnitt. Bei Verschluß des 1. Hahnes und gleichzeitiger Öffnung des 2. Hahnes (Diastole) gelangt die gegebenenfalls regurgiterende Flüssigkeits-

menge durch das Reserverohr in einen Meßzylinder. Auf diese Weise kann man die Menge der auf eine Diastole entfallenden Regurgitation feststellen.

Bei der Untersuchung des ersten Klappentypus (aus der Aortenwand gebildeter dreieckiger Lappen) stellte sich heraus, daß die Klappe bei Gegenströmung nur dann zu schließen vermag, wenn ein großer Flüssigkeitsdruck (120—140 mm Hg) jäh auf sie einwirkt. Infolge seiner Elastizität legt sich der Lappen an seinen ursprünglichen Platz, so daß er bei normalem diastolischem Druck unvollkommen schließt. Hier sei bemerkt, daß wir mit diesem Klappentypus auch einige akute Tierversuche vorgenommen haben, bei denen ebenfalls festgestellt wurde, daß die Klappe bei dem im Gefäßsystem herrschenden Gegendruck nicht imstande ist, die Regurgitation zu verhindern.

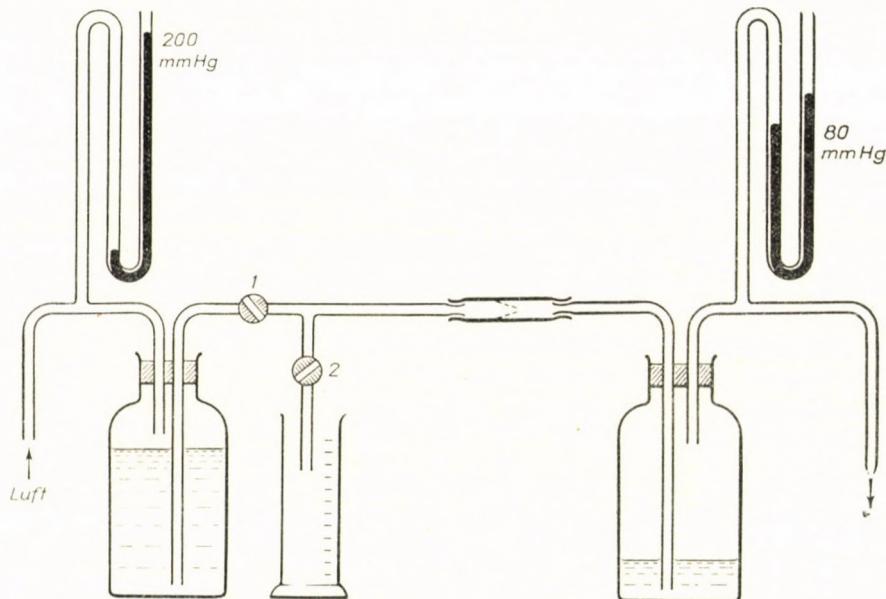


Abb. 4

Die Untersuchung des anderen Klappentypus im Modellversuch ergab, daß der Widerstand des die Klappe enthaltenden Gefäßabschnitts um 450—550 dyn sec cm^{-5} größer ist als der Widerstand im gleichen Abschnitt ohne Klappe, d. h. der eigene Widerstand der Klappe in der einen durchschnittlichen Durchmesser von 1,3 cm aufweisenden Hundeaorta 450—550 dyn sec cm^{-5} ausmacht. Die durch die Klappe herbeigeführte Widerstands erhöhung ist gering, was auch aus dem Umstand hervorgeht, daß die durch den klappentragenden Gefäßabschnitt bei 120 mm Hg Druck strömende Flüssigkeitsmenge lediglich um 6—8% weniger beträgt als die durch denselben Gefäßabschnitt vor der Klappenbildung fließende Flüssigkeitsquantität.

Die in Modellversuchen erprobten Klappen widerstanden einem Gegendruck von 120 mm Hg ohne Regurgitation und Umschlagen. In dem auf Abb. 4 dargestellten System konnte keine Regurgitation gemessen werden.

An menschlichen, kurz nach dem Tode entnommenen Aortenabschnitten haben wir gleichfalls Modellversuche durchgeführt. Die Wand der menschlichen Aorta ist annähernd so dick wie die der Hundeaorta, da ja beide ungefähr dem gleichen Druck Widerstand leisten müssen. In beiden Fällen wird demnach der Durchmesser von den invaginierten Klappenlappen in gleichem Ausmaß eingeengt. Wird ein Rohr von 1 cm Durchmesser zirkulär um 1 mm eingeengt, so reduziert sich sein Querschnitt auf das 0,6fache des ursprünglichen Querschnitts. Bei derselben Querschnittsreduktion (d. h. um 1 mm) eines Rohres von 2 cm Durchmesser ergibt sich nur noch eine 0,9fache Einenung. Die durchströmende Flüssigkeitsmenge steht bei gleichem Druck im geraden Verhältnis zum Rohrdurchschnitt. Da der Widerstand des Röhrensystems im umgekehrten Verhältnis zur durchströmenden Flüssigkeitsmenge steht, war bei der ein erheblich größeres Kaliber aufweisenden menschlichen Aorta im Falle der Klappenbildung ein noch geringerer Widerstand zu erwarten.

Die Modellversuche ergaben, daß der eigene Widerstand der an der menschlichen Aorta gebildeten Klappe lediglich $20-40 \text{ dyn sec cm}^{-5}$ beträgt. Einem konstanten Flüssigkeitsgegendruck von 120 mm Hg vermochten die Klappen ohne Regurgitation und Umschlagen zu widerstehen. Im System mit periodischer Flüssigkeitsströmung (Abb. 4) stellten wir je Diastole 3–5 ml Regurgitation fest. Hier sei erwähnt, daß bei den an der menschlichen Aorta gebildeten Klappen die Lappen eine Länge von 3–3,5 cm aufwiesen.

Es hat sich demnach herausgestellt, daß die aus der Aortenwand gebildete, in den peripheren Gefäßstumpf invagierte zweilappige Klappe keine wesentliche Widerstandserhöhung (Stenose) verursacht und der retrograden Blutströmung gut widersteht. Im weiteren suchten wir die Funktionsfähigkeit der Klappe in Tierversuchen zu ermitteln. Um den Effekt der Klappen beurteilen zu können, mußte jedoch vorher das normale Klappensystem der Tiere insuffizient gestaltet werden.

Die Insuffizienz der Aortenklappen wurde nach Thorakotomie über das linke Ventrikel herbeigeführt. Am gefäßfreien Gebiet der Herzspitze legten wir in der Herzmuskulatur eine Tabaksbeutelnahrt an und führten durch die in der Mitte der Naht angebrachte kleine Inzisionsöffnung ein langstieliges, in einer Schlinge endendes Instrument in die linke Kammer ein. Unter Anziehen der Tabaksbeutelnahrt wurde das Ende des Instruments unter Kontrolle des an der Aorta ruhenden Fingers in diese hineingeschoben. Nach entsprechender Einstellung der Schlinge zogen wir das Instrument zurück. Beim Passieren des Aortenostiums blieb die Schlinge in der gewünschten Klappentasche stecken. Durch vorsichtiges ruckartiges Anziehen des Instruments wurde die Klappe durchlöchert und dann durch Drehen des

Stiels ganz abgerissen. Der an der Aorta liegende Finger tastete sogleich Huschen an der Aorta descendens, und wegen der Regurgitation dilatierte auch das linke Ventrikel sofort beträchtlich. Durch vorsichtiges Zurückziehen wurde die Schlinge des Instruments aus der Wunde der Kammermuskulatur herausgenommen und die Kammeröffnung mit Verknotung der Tabaksbeutelnäht verschlossen.

Vom sicheren Zustandekommen der Insuffizienz überzeugten wir uns oszillometrisch und in einigen Fällen angiographisch. Schon am Anfang der

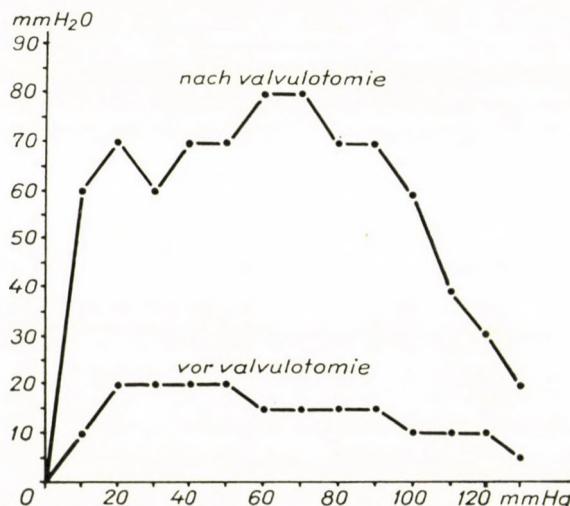


Abb. 5

Operation hatten wir einen kleinen Abschnitt der Aorta descendens freigelegt und um das Gefäß einen sterilisierbaren dünnwandigen Gummiballon fixiert. Die Luftleitung des Ballons wurde mit dem Oszillometer verbunden. Die an der Aorta festgestellten oszillometrischen Amplituden stiegen nach Entfernung der Klappe sogleich auf das durchschnittlich Vierfache der vor der Valvulotomie gemessenen Werte (Abb. 5).

Die angiographischen Kontrolluntersuchungen erfolgten mit Hilfe eines durch die linke A. subclavia in die Aorta ascendens eingeführten Katheters. Wenn die Klappen intakt sind, gelangt das Kontrastmittel nicht in das linke Ventrikel, während es bei Insuffizienz auch die linke Kammerhöhe anfüllt (Abb. 6 a, b, c).

Die Mehrzahl der insuffizient gemachten Tiere tolerierte nicht die infolge der Regurgitation plötzlich zur Entwicklung gekommene Herzdilatation und ging einige Stunden nach der Operation zugrunde. Bei der Sektion wurde in allen Fällen lediglich die hochgradige Dilatation der linken Herzhälfte beobachtet. Unsere Wahrnehmungen entsprechen der von SILEN u.

Mitarb. nach Valvulotomie festgestellten Mortalität. Im Hinblick darauf führten wir im weiteren die Valvulotomie zu gleicher Zeit mit dem Klappenbildungseingriff oder — in zweiter Sitzung — 10—14 Tage nach der Klappenbildung aus.

Die Operation der Klappenbildung wurde nach im 5. Interkostalraum vorgenommener Thorakotomie ausgeführt. Einen 15—20 cm langen Abschnitt



Abb. 6/a. Bei normalen Aortenklappen gelangt das Kontrastmittel aus der Aorta nicht in das linke Ventrikel (postmortale Bariumsulfatfüllung)



Abb. 6/b. Nach Valvulotomie durch die linke A. subclavia in die Aorta eingeführtes Kontrastmittel gelangt durch die insuffiziente Klappe in das linke Ventrikel

der Aorta descendens legten wir, vom Ursprung der linksseitigen A. subclavia ausgehend, durch Unterbindung und Durchtrennung der Seitenzweige frei und 3 cm distal vom Ursprung der A. subclavia zirkuläre U-Nähte in der Gefäßwand an. Nach Verschluß des freigelegten Gefäßabschnitts mit Gefäßklemmen durchtrennten wir die Aorta unter dem Ursprung der A. subclavia und bildeten am peripheren Gefäßstumpf durch Verknotung der U-Nähte einen Saum (Abb. 2). Die Adventitia vom Ende des peripheren Gefäßstumpfes sorgfältig entfernend, schnitten wir aus ihr in Richtung der Längsachse des Gefäßes zwei dreieckige Streifen heraus und invaginierten die entstandenen Klappenläppchen in den peripheren Stumpf. Das Ende beider Gefäßstümpfe wurde auf eine mit Saum versehene Glasröhre gezogen

und auf dieser mit Körperbändern festgebunden. Nach Entfernung der Gefäßklemmen kam der Kreislauf durch das in die Lumina gebundene Glasrohr in Gang (JOHNSON u. Mitarb.). Zwischen dem zentralen und peripheren Gefäßstumpfe legten wir nach Ansetzen von Richtungsnähten eine Gefäßnaht an. Vor Abschluß der Gefäßnaht wurden die Gefäßenden wieder abgeklemmt, das Glasmehrchen durch die noch anwesende Öffnung der

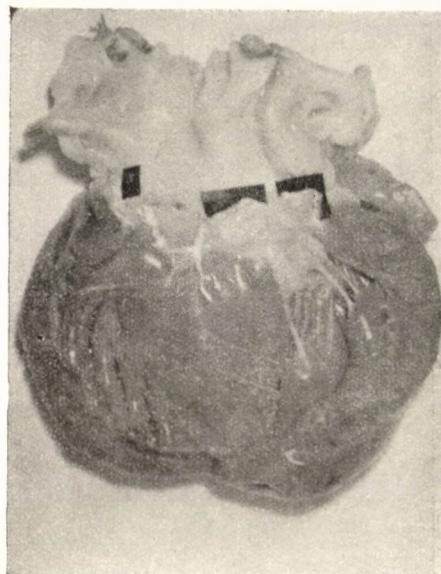


Abb. 6/c. Das Herzpräparat des Versuchstieres von Abb. 6/b nach dem Verenden. Die rechte hintere Klappentasche ist ganz abgerissen. (Die linke vordere Klappentasche wurde beim Aufschneiden des Herzens durchtrennt)

Gefäßnaht entfernt, sodann die Gefäßnaht mit einigen Stichen beendet, die Klemmen abgenommen und so der Kreislauf wiederhergestellt. Dieses Verfahren ermöglichte, daß die Aorta nicht allzu lange abgeklemmt zu bleiben brauchte. Ischämische Medullärschädigungen kamen bei den überlebenden Tieren nicht vor.

Infolge der Invagination der Klappenläppchen in den peripheren Gefäßstumpf entsteht bei der Klappenbildung ein etwa 2 cm langer Gefäßdefekt, doch vermochten wir die Gefäßnaht durch Annäherung der Gefäßenden in allen Fällen ohne Schwierigkeit auszuführen.

Bei einem Tier, bei dem Klappenbildung und Valvulotomie in einer Sitzung vorgenommen wurden, führten wir durch die A. femoralis einen bis zum Niveau des Zwerchfellmuskels reichenden Katheter in die Aorta ein und spritzten mit starkem Druck eine große Kontrastmittelmenge unter

die Klappe, wobei eine Röntgenaufnahme gemacht wurde (Abb. 7). Das Kontrastmittel gelangte nicht über das Niveau der Klappe, obwohl wir in dem zentral von ihr gelegenen Aortenabschnitt als Resultat der valvulotomischen Regurgitation eine bedeutende oszillometrische Amplitude beobachteten. An dem unter dem Platz der Klappenbildung befindlichen Aortenabschnitt stell-

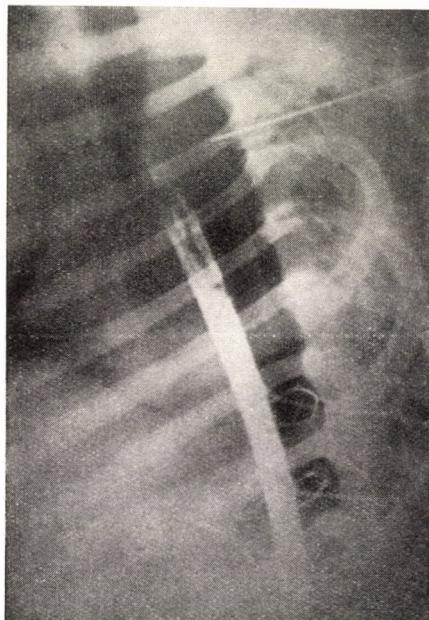


Abb. 7

ten wir gleichzeitig etwas unter dem Normalwert liegende oszillatorische Abweichungen fest.

Wie Abb. 7 zeigt, sind die »Taschen« der künstlich gebildeten Klappe mit Kontrastmittel gefüllt. Der in der Mitte des Gefäßes sichtbare längliche Schattenausfall zeigt die Lokalisation der verschlossenen Klappenläppchen an. (Die auf dem Bilde wahrnehmbare Injektionsnadel zeigt auf den zentralen Gefäßstumpf.)

Bei sämtlichen überlebenden Tieren war zum Zeichen dafür, daß der periphere Kreislauf durch den Klappenwiderstand nicht geschädigt wird, ein kräftiger femoraler Puls tastbar.

Einige Tage nach der Klappenbildung verendeten die Tiere, die längste Überlebensdauer betrug 13 Tage. Bei der Sektion fanden wir in allen Fällen, daß an der Gefäßwand sowohl des zentralen wie des peripheren Stumpfes dünne Fibrinfäden ausgeschieden und die Klappenläppchen in diesen Fibrin-niederschlag gleichsam eingebettet waren. Da sich die Klappenläppchen auf

diese Weise einander nicht zu nähern vermögen, verlegen sie in der Diastole dem regurgitierenden Blut nicht den Weg. Die Tiere waren demnach ebenso infolge Insuffizienz der künstlichen Klappe zugrunde gegangen wie jene Versuchstiere, bei denen einfach nur die Insuffizienz des Aortenklappensystems herbeigeführt worden war.

Die Klappenläppchen erschienen bei der Sektion intakt. Selbst in den Klappenläppchen des 13 Tage überlebenden Tieres vermochten wir keine histologischen Anzeichen einer Nekrose zu entdecken.

Antikoagulantien wurden in unseren Fällen nicht angewandt. Weitere Versuche sind im Gange, um festzustellen, ob eine energische Antikoagulantienbehandlung nicht imstande wäre, die Ausfällung des erwähnten Fibrin niederschlages und das Anhaften der Klappenläppchen zu verhindern.

Wie aus den Versuchen zur chirurgischen Korrektion der Aorteninsuffizienz hervorgeht, gewährleisten die bisherigen Verfahren wegen des Zugrundegehens der Gewebe der aus transplantierten Geweben hergestellten Klappen und der Schrumpfung ihrer Substanz keine dauerhaften Resultate. Nach unseren bisherigen Versuchen scheint es, daß die auf Ausmerzung der Transplantationsmängel gerichteten Bestrebungen, die eigenen Untersuchungen eingerechnet, bei denen man aus der Gefäßwand selbst *in situ* eine Klappe zu bilden versuchte, ebenfalls nicht als geeignete Methoden zu betrachten sind, und zwar teils wegen der zustande kommenden Einengung, teils — wie in unseren Fällen — wegen des Anhaftens der Klappenläppchen.

Als sicher erfolgreiches Verfahren hat sich unter den bisherigen Versuchen zur chirurgischen Korrektion der Aorteninsuffizienz allein die Implantation des aus Kunststoff hergestellten Kugelventils erwiesen. Im Hinblick auf den erwähnten Fehler bedürfen jedoch die Kunststoffimplantate unserer Meinung nach einer Modifikation. Die Zellelemente der Umgebung vermögen in die homogenen Kunststoffimplantate nicht einzuwandern, so daß sich zwischen Implantat und Umgebung keine organische Verbindung entwickelt. Diese Prothesen werden vom benachbarten Bindegewebe eingekapselt, doch bleibt zwischen den umgebenden Geweben und der Prothesenwand immer eine virtuelle Spalte bestehen. Auch die Gefäßenden können sich mit der Prothese im biologischen Sinne nicht einigen. Diese Umstände ermöglichen die Aneurysma falsum-Bildung zwischen Prothese und Umgebung. Es wäre daher wünschenswert, wenn man die Klappenprothesen aus einer porösen Substanz herstellen könnte, in welche die Zellelemente des benachbarten Bindegewebes einzudringen imstande sind. Dadurch würde sich die Prothese — ähnlich wie die zum Ersatz der Gefäßdefekte erfolgreich angewandten gewobenen Gefäßprothesen — gleichsam zu einem organischen Bestandteil des Wirtsorganismus gestalten, und vielleicht kämen dann die auf der Zellundurchlässigkeit der homogenen Kunststoffprothesen beruhenden Komplikationen nicht mehr vor.

ZUSAMMENFASSUNG

Nach einer Übersicht der auf die chirurgische Korrektion der Aorteninsuffizienz gerichteten Versuche wird eine eigene Klappenbildungsmethode besprochen. Die aus der Gefäßwand *in situ* gebildete Aortenklappe hat sich in Modellversuchen als geeignet erwiesen. Tierversuche mit dieser Klappe sind im Gange.

LITERATUR

- ADAM, A., BLANCO, G., RAFFUCI, F. L., FERNANDEZ, A.: J. Thorac. Surg. **31**, 359 (1956).
 ANFOSSI, D., CATOLLA-CAVALCANTI, A.: Minerva Cardioangiolog. **3**, 607 (1955).
 BAILEY, C. P., CLOVER, R. P., O'NEILL, TH. J. E., REDONDO RAMIREZ, H. P.: J. Thorac. Surg. **20**, 516 (1950).
 BAILEY, D. P., LIKOFF, W.: Ann. Intern. Med. **42**, 388 (1955).
 BENCINI, A., BELLINAZZO, P.: Atti Soc. Lombard Sci. med. biol. **5**, 151 (1949—1950); **6**, 190 (1950—1951).
 BENJAMIN, R. B., TURBAK, C. E., HANNON, D. W., SHUMWAY, N. E., LEWIS, F. J.: Ann. Surg. **145**, 509 (1957).
 BURDETTE, W. J.: Amer. Surgeon **20**, 499 (1954).
 DONHOFFER, Sz.: Körélettan. Medicina, Budapest, 1957.
 EISEMAN, B., MALETTE, W.: Surg. Gynec. Obstet. **97**, 731 (1953).
 HUFNAGEL, C. A.: Bull. Georgetown Univ. Medical Center **4**, 128, 1951; Mod. Conc. Cardio-vasc. Dis. **24**, 287 (1955).
 HUFNAGEL, C. A., HARVEY, W. P., RABIL, P. J., McDERMOTT, T. F.: Surgery **35**, 673 (1954).
 JOHNSON, J., KIRBY, C. K., LEHR, H. B.: Surgery **37**, 54 (1955).
 LAM, C. R., ARAM, H. H., MUNNELL, E. R.: Surg. Gynec. Obstet. **94**, 129 (1952).
 LITWAK, R. S., GADBOYS, H. L., SCOTT, G. B., FERRARA, J. F.: J. Thorac. Surg. **24**, 165 (1952).
 LORD JR., J. W., STONE, P. W.: Surgery **38**, 593 (1955).
 MARAGLIANO, G., FERTITTA, S., COSENTINO, G.: Minerva Chir. **11**, 358 (1956).
 MARAGLIANO, G., FERTITTA, S., COSENTINO, G., TRAPANI, G.: Minerva Chir. **11**, 365 (1956).
 MCKUSICK, V. A., HAHN, D. P., BRAYSHAW, J. R., HUMPHRIES, J. O.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **95**, 322 (1954).
 NEWMAN, M. M., BAY, E. E., KOLIN, A., ADAMS, W. E.: Postgrad. Med. Surg. 304 (1951).
 ROE, B. B., NAJARIAN, J. S., MOORE, D.: Ann. Surg. **145**, 338 (1957).
 ROSE, J. C., HUFNAGEL, C. A., FREIS, E. D., HARVEY, W. P., PARTENOPE, E. A.: J. Clin. Invest. **33**, 891 (1954).
 RUFFO, A., LANG, E., ROSSOTTO, P.: Minerva Cardioangiolog. **2**, 192 (1954).
 SERVELLE, M., SOULIE, P., SIMMONET, H., BOUCHARD, F., LAURENS, P.: Rev. Path. Gen. Comp. **54**, 738 (1954).
 SILEN, W., MAWSLEY, D. L., MILLER, E. R., McCORKLE, H. J.: Surgery **40**, 78 (1956).
 WILDER, R. J., MOSCOVITZ, H. L., RAVITCH, M. M.: Surgery **40**, 86, 1956; J. Thorac. Surg. **33**, 147 (1957).
 WOLCOTT, M. W., ELLISON, R. G.: J. Thorac. Surg. **34**, 111 (1957).

SUBSTRATSPEZIFITÄT UND URSPRUNG DER SERUMESTERASEN

Von

A. FISCHER, L. PERÉNYI und S. ROHNY

III. MEDIZINISCHE KLINIK DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, BUDAPEST

(Eingegangen am 1. August 1958)

In einer früheren Mitteilung [1] berichteten wir über mit 4 verschiedenen Substraten vorgenommene vergleichende Untersuchungen von Esterasen im Blutserum von Hepatitiskranken. Auf Grund von 700 Bestimmungen der Fermentaktivität wurde geschlossen, daß obwohl sich die Durchschnittsaktivität der Serumesterasen gleichmäßig ändert, in den einzelnen Fällen kein Parallelismus im Verlauf der Erkrankung besteht; in vielen Fällen wurde eine deutliche Dissoziation der einzelnen Fermentaktivitäten beobachtet. In weiteren Versuchen wurde festgestellt, daß das Serum bei Gelbsucht keinen esterasehemmenden Stoff enthält, so daß die Abnahme der Aktivität auf mangelhafte Fermentbildung zurückgeführt werden muß.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit von CZYŻIK [2] wird die Ansicht vertreten, daß die verschiedenen Esterasen »höchstwahrscheinlich dasselbe wenig spezifische Ferment seien, welches verschiedene mikromolekulare Esterverbindungen spaltet«. Diese Ansicht beruht auf dem auch von uns beobachteten Parallelismus der Durchschnittswerte bei verschiedenen Lebererkrankungen; obwohl unsere Beobachtungen durch die Annahme der Einheitlichkeit der Esterasen nur schwer zu erklären waren, hielten wir es für angezeigt, das Verhalten der Esterasen gegenüber verschiedenen Inhibitoren und Aktivatoren zu prüfen, um auf diese Weise Anhaltspunkte für ihre Spezifität zu gewinnen. In weiteren Untersuchungen haben wir die Bestimmung der Fermentaktivitäten in Leberhomogenisaten gesunder und mit CCl_4 behandelter Ratten durchgeführt, um die Zusammenhänge der Fermentaktivität in Serum und Lebergewebe zu untersuchen. Ferner führten wir Untersuchungen über das Vorkommen der Esterasen in der Galle aus und suchten die etwaigen Zusammenhänge zwischen Glutathion und Fermentaktivität zu klären.

Methodik

Die Bestimmung der alkalischen Phosphatase erfolgte nach KING und ARMSTRONG [3], die der Cholinesterase von HUERGA und POPPER [4]; unsere Normalwerte betrugen 180—330 $\mu\text{mol}/\text{ml}$. Die Bestimmung der Procainesterase erfolgte nach HAZARD [5]; bei letzterer Methode wird bei Abbau von 100 μg Procain 56 μg p. Aminobenzoësäure gebildet; das Maß der Fermentaktivität wird durch die gefundenen μg p. Aminobenzoësäure ausgedrückt. Die Bestimmung der Phenylbenzoatesterase erfolgte nach DÁN und VAJDA [6]: das bei der

Tabelle I
Wirkung von Inhibitoren auf Serumesterasen

Name der Verbindung	Dosis	Inkubations-dauer	H e m m u n g i n %			
			Cholin-estarase	Procain-esterase	Phenyl-benzoat-esterase	Alkalische Phosphatase
Atropin	0,05 mg zu 2 ml Serum		0	0	0	0
Prostigmin	0,005 mg zu 2 ml Serum		48 45	77 85	100 85	0 0
Coffein. Natr. benz.	0,4 mg zu 2 ml Serum		0	0	0	0
Chinin	0,1 mg zu 2 ml Serum		0 10	0	0 21	0 0
p Cl-mercuribenzoat	0,1 mg zu 1 ml Serum	30 Min.	0	0	0	0
BeSO ₄	10 mg zu 1 ml Serum		11 23	44 37	0 10	100 100
BeSO ₄	50 mg zu 1 ml Serum		23 39	44 42	25 50	100 100
BeSO ₄	100 mg zu 1 ml Serum		56 47	50 60	25 70	100 100
Monojodessigs. K	0,3 ml einer m/20 Lösung zu 0,7 ml Serum	60 Min.	35 16	17 16	0 0	0 0
NaF	2 mg zu 1 ml Serum	15 Min.	0 0	75 68	46 11	0 0
Komplexon II	1 mg zu 1 ml Serum	15 Min.	0 3 7	0 0 7	0 0 0	13 0 27
DFP	0,1 mg zu 1 ml Serum			100	100	0
DFP	1 mg zu 1 ml Serum			100	100	0

Spaltung freiwerdende Phenol wird mit Permanganat oxydiert und der Überschuß des Permanganats jodometrisch zurücktitriert. Es wurde eine Serumverdünnung von 1 : 30 verwendet; die nach 1 St. Inkubation nachweisbare Menge von Phenol in $\mu\text{mol}/\text{ml}$. ergibt die Fermentaktivität; wir erhielten Normalwerte zwischen 14—33 $\mu\text{mol}/\text{ml}$.

Die Ratten wurden mittels Nackenschlag getötet. 2 g frisches, auf Filtrierpapier getrocknetes Lebergewebe wurde sofort in 5 ml phys. NaCl-Lösung unter Eiskühlung im Apparat von POTTER 3—4 min. homogenisiert. Bloß zur Bestimmung der Cholinesterase haben wir Lebergewebe unverdünnt homogenisiert. Die Bestimmung des Glutathions erfolgte in denselben Homogenaten mit der Methode von GRUNERT und PHILLIPS [7].

Ergebnisse der Versuche

1. Beeinflussung der Fermentaktivität *in vitro*

Die Ergebnisse der Versuche mit 10 verschiedenen Inhibitoren zeigt Tabelle I. Die angegebene Hemmung bezieht sich auf die Fermentaktivitäten, welche in denselben Seren *ohne* Inhibitoren gemessen worden sind. Der Mittelwert von je 3 Bestimmungen wird angegeben.

Wie aus Tab. I ersichtlich, besteht bei den meisten untersuchten Inhibitoren ein deutlicher Gegensatz zwischen der Alkaliphosphatase einerseits, den anderen Esterasen andererseits; während BeSO_4 die Phosphatase ganz und Komplexon II zum Teil hindert, werden die übrigen Esterasen durch BeSO_4 nur schwach und durch Komplexon II so gut wie gar nicht gehindert; andererseits hemmen Prostigmin und DFP stark die Esterasen, während die Phosphatase nicht gehemmt wird. Besonders interessant sind die Ergebnisse mit monojodessigsäurem K und NaF; die erste Verbindung hemmt mäßig stark die Cholinesterase und die Procainesterase, während die Phenylbenzoat-esterase unbeeinflußt bleibt; NaF hemmt stark die Procain- und die Phenylbenzoatesterase, läßt dagegen die Cholinesterase unbeeinflußt.

Da sowohl das p-Cl-mercuribenzoat wie die Monojodessigsäure die aktiven SH-Gruppen der Fermente binden, ist anzunehmen, daß die Alkaliphosphatase und Phenylbenzoatesterase nicht zu den Thiolfermenten gehören und auch bei der Cholin- und Novokainesterase dürfte die SH-Gruppe keine entscheidende Rolle bei der Fermentaktivität spielen. NaF wirkt hauptsächlich durch Bindung der Mg oder Ca-Ionen, welche die Fermentwirkung aktivieren; die Cholinesterase bedarf anscheinend keiner solchen Aktivierung, während die übrigen Fermente durch NaF mehr oder weniger gehemmt werden.

Zusammenfassend ergaben unsere Versuche mit verschiedenen Inhibitoren, daß die 4 untersuchten Esterasen wohl kaum identische Fermente sein dürften.

Zur Ergänzung dieser Untersuchungen haben wir versucht, die 4 Fermente durch Zusatz von Glutathion *in vitro* zu aktivieren. Je $3 \times 1 \text{ ml}$ Serum haben wir mit je 1 mg Glutathion 90 Min. bei 37° stehen lassen, nachher wurde die Fermentaktivität in Vergleich mit Kontrollen ohne Zusatz von Glutathion bestimmt. Es ergaben sich keine Unterschiede zwischen den Kontrollen und den Seren mit Glutathionzusatz.

2. Fermentaktivität in der Leber

Da die Aktivitätsänderungen der Serumesterasen meist mit Lebererkrankungen in Verbindung stehen, haben wir zunächst parallele Aktivitätsbestimmungen der Fermente in Leberhomogenaten und im Serum von normalen Ratten durchgeführt. Die Ergebnisse gibt Tab. II wieder.

Tabelle II
Fermentaktivität und Glutathiongehalt normaler Rattenleber

No.	Glutathion mg %	Cholinesterase μmol/g	Procainesterase μg/g	Phenylbenzoat- esterase μmol/g	Alkali- phosphatase E.
1.	210	—	176	285	90
2.	172	—	119	335	17
3.	172	—	184	305	49
4.	80	—	95	290	104
5.	218	—	170	275	49
6.	153	—	189	287	45
7.	149	—	70	315	84
8.	140	—	136	325	146
9.	167	—	154	320	115
10.	100	—	203	295	46
Durchschnitt	156	137*	152	304	75
Normale Serumakti- vität		74	12,5	52	23

* Durchschnittswerte von unverdünnt homogenisierten Lebern.

Wie aus Tab. II ersichtlich, enthält die Leber wesentlich mehr Esterasen als das Rattenserum: die Verteilung ist allerdings sehr verschieden, das Verhältnis der Aktivität der Leber und der Serumfermente beträgt

bei der Cholinesterase	2 : 1
Alkaliphosphatase	3 : 1
Phenylbenzoatesterase	6 : 1
Procainesterase	12 : 1

Was die Aktivität der Serumfermente betrifft, so finden sich wesentliche Unterschiede zwischen den Rattenserien und den von uns früher [1] bestimmten Menschenserien (Tabelle III).

Wir haben sodann mehrere Gruppen von Ratten mit CCl_4 vergiftet; Gruppe A erhielt 0,5 ml/100 g s. c. und wurde 48 St. später getötet; die histologische Untersuchung ergab nur bei der Ratte No. 5 ausgedehnte Leberzellnekrosen, sonst nur acinozentrale Degeneration und periportale

Tabelle III,
Durchschnittswerte der Serumaktivität von Mensch und Ratte

	Cholinesterase μmol/ml	Procainesterase μg/ml	Phenylbenzoat- esterase μmol/ml	Alkali- phosphatase E.
Norm. Menschen serum	180—300	50	14—33	5—10
Norm. Rattenserum	74	12,5	52	23

Tabelle IV
Fermentaktivität und Glutathiongehalt von Rattenlebern nach CCl_4 -Vergiftung

No.	Glutathion mg %	Cholinesterase μmol/g	Procainesterase μg/g	Phenylbenzoat- esterase μmol/g	Alkali- phosphatase E.
<i>Gruppe A</i>					
1.....	210	—	94	385	38
2.....	163	—	152	351	49
3.....	163	—	59	378	119
4.....	172	—	70	378	45
5.....	135	—	84	379	170
<i>Gruppe B</i>					
1.....	176	—	105	310	154
2.....	140	—	87	315	154
3.....	130	—	66	310	270
4.....	195	—	63	300	118
<i>Gruppe C</i>					
1.....	214	—	38	287	174
2.....	135	—	66	275	156
3.....	163	—	42	275	143
<i>Gruppe D</i>					
1.....	—	—	—	235	—
2.....	—	—	—	207	—
3.....	—	—	—	249	—
4.....	—	—	—	263	—
5.....	—	—	—	242	—
Durchschnitt	166	32,5*	77	302	160
Serum nach CCl_4 Vergiftg.	—	35	13,5	30	42

* Durchschnitt von unverdünnt homogenisierten Lebern, 24 St. nach intraperit. Injektion von 1 ml/100 g CCl_4

Infiltration. Gruppe B erhielt 1 ml/100 g CCl₄ s. c. und wurde nach 24 St. getötet; stärkere acinozentrale Nekrosen zeigten die Leber der Ratten No. 1 und 4. Gruppe C erhielt 7 Wochen lang insgesamt 20 × 0,1 ml CCl₄ s. c., ferner 4 und 1 Tag vor der Tötung 0,2 ml CCl₄ peroral. 3 Ratten sind im Laufe der Vergiftung eingegangen, die Leber der Überlebenden zeigten histologisch das Bild der Atrophia rubra mit gleichzeitig beginnender Fibrose. Gruppe D von 5 Ratten wurde mit 0,5 ml/100 g CCl₄ intraperitoneal vergiftet und nach 24 St. getötet; die Lebern dieser Tiere zeigten bereits makroskopisch schwerste Veränderungen, sie wurden zur Bestimmung der Aktivität der Phenylbenzoatesterase benutzt. Eine letzte Gruppe von 5 Ratten wurde mit 1 ml/100 g CCl₄ intraperitoneal vergiftet, die schwer veränderten Lebern wurden 24 St. später unverdünnt homogenisiert und zur Bestimmung der Cholinesterase benutzt. Die Ergebnisse gibt Tab. IV wieder.

Wie aus Tab. IV hervorgeht, sind die Durchschnittswerte der Aktivitäten der Cholin- und Procainesterase in den Lebern stark gesunken, die der Alkaliphosphatase haben dagegen stark zugenommen; die Aktivität der Phenylbenzoatesterase zeigte nur bei den letzten zwei Gruppen mit stark veränderten Lebern eine Senkung. Die Fermentaktivität im Serum war bei der Cholin- und Phenylbenzoatesterase verringert, bei der Alkaliphosphatase erhöht, bei der Procainesterase unverändert.

3. Fermentaktivität in der Galle, die Rolle des Glutathions

In der Galle ist bis jetzt nur die Alkaliphosphatase nachgewiesen worden (FISCHER u. SZÉCSEI [8]); da wir über die anderen Esterasen keine Angaben in der Literatur gefunden haben, haben wir Fermentbestimmungen in der Blasengalle lebergesunder Menschen durchgeführt. Das Untersuchungsmaterial wurde durch Duodenalsondierung gewonnen, der Blasenreflex wurde mit Hypophysin ausgelöst. Die Ergebnisse gibt Tab. V wieder.

Tabelle V
Esterasegehalt im Serum und in der Galle

Fall No.	1.		2.		3.		4.		5.		6.	
	Galle	Serum	Galle	Serum	Galle							
Cholinesterase	0	150	0	245	0	0	0	0	0	0	0	
Procainesterase	0	—	0	—	0	0	0	0	0	0	0	
Phenylbenzoatesterase	69	16	71	19	58	38	67	48				

Wie aus Tabelle V ersichtlich, konnte in der Galle weder Cholinesterase, noch Procainesterase nachgewiesen werden, dagegen war in allen

6 untersuchten Gallen die Aktivität der Phenylbenzoatesterase wesentlich höher, als in den entsprechenden Seren. Dieses Ferment, welches von DÁN und VAJDA [6], GÖMÖRI [9] sowie von GOLDNER und Mitarb. [10] im Blut nachgewiesen worden ist, wird daher ebenso wie die Alkaliphosphatase auch mit der Galle ausgeschieden.

Es blieb noch die Frage zu untersuchen, ob die Änderungen der Fermentaktivität in der Leber mit Änderungen des Glutathiongehaltes parallel verlaufen. BINET und WELLER [11] haben bekanntlich gefunden, daß der Glutathiongehalt der Leber nach Chloroformvergiftung beim Hund auf die Hälfte, beim Kaninchen auch um etwa 50% sinkt und es war naheliegend, die toxische Wirkung der Halogenderivate des Methans auf Schädigung der Leberfermente zurückzuführen, welche dadurch zustandekommt, daß das zur Reduktion der SH-Gruppen der Fermente erforderliche Glutathion nicht in genügender Menge zur Verfügung steht. Unsere eigenen Untersuchungen (vgl. Tab. II und IV) ergaben, daß der Glutathiongehalt der Leber selbst bei schwerster CCl_4 -Vergiftung nicht abnimmt, so daß die beobachtete Abnahme der Fermentaktivität nicht auf Glutathionmangel zurückgeführt werden kann.

Besprechung der Versuchsergebnisse

1. Der Umstand, daß sich die Aktivität der Alkaliphosphatase einerseits, die der übrigen Esterasen anderseits bei Leberschäden in entgegengesetzter Richtung ändert, spricht an sich schon dafür, daß es sich um zwei Gruppen von wesensverschiedenen Enzymen handelt. Daß die alkalischen Phosphatasen substratspezifisch sind, beweist das Vorhandensein einer eigenen Glukose-6-Phosphatase (SWANSON [12]); bezüglich der anderen Esterasen wird vielfach angenommen, daß es sich um ein wenig spezifisches Ferment handelt, welches verschiedene mikromolekuläre Esterverbindungen spaltet.

Gegen die Richtigkeit der letzteren Ansicht sprechen die folgenden experimentellen Beobachtungen:

a) Unsere früher [1] durchgeföhrten Paralleluntersuchungen im Serum von Hepatitispatienten ergaben in vielen Fällen eine deutliche Dissoziation der Fermentaktivitäten im Laufe der Erkrankung.

b) In der Galle konnte außer Alkaliphosphatase nur Phenylbenzoatesterase nachgewiesen werden; Cholin- und Procainesterase werden nicht mit der Galle ausgeschieden.

c) In Beziehung auf verschiedene Inhibitoren ergibt sich ein deutlicher Gegensatz zwischen der Alkaliphosphatase einerseits, den anderen Esterasen anderseits. Monojodessigsäures K und NaF wirken verschieden auf die Cholin-

esterase und die Phenylbenzoateesterase. NaF hemmt die Fermente, die durch Mg- oder Ca-Ionen aktiviert werden; die Cholinesterase bedarf anscheinend keiner solchen Aktivierung.

d) Das Verhältnis der Aktivität der Fermente in der Leber und im Serum der Ratte zeigt Schwankungen von 2 : 1 bis 12 : 1, was ebenfalls gegen die Einheitlichkeit der Fermente spricht.

Aus alledem folgt, daß die untersuchten Esterasen wahrscheinlich substratspezifisch sind; ihre Tendenz, unter gewissen pathologischen Bedingungen gleichmäßig abzunehmen, ist daher kein Beweis der Identität der Fermente, sondern ein Zeichen dafür, daß für die Abnahme der Aktivitäten eine gemeinsame Ursache vorliegen muß. Nach Abschluß unserer Untersuchungen erschien die Arbeit von AUGUSTINSSON [17], in welcher über die elektrophoretische Isolierung von Serumesterasen berichtet wird; es gelang, aus menschlichem Serum 2, aus Rattenserum 3 verschiedene, substratspezifische Esterasen getrennt nachzuweisen.

2. Was den Ursprung der Serumesterasen betrifft, so unterliegt es keinem Zweifel, daß die Alkaliphosphatase von der Leber gebildet und ausgeschieden wird (KOCH-WESER [13]). Was die Cholinesterase betrifft, haben BRAUER und Root [14] nachgewiesen, daß nach CCl_4 -Vergiftung die Serumaktivität sowohl bei der Ratte wie beim Hund abnimmt; KOCH-WESER [15] fand nach CCl_4 -Vergiftung Abnahme der Cholinesterase sowohl in der Leber wie auch im Serum, während gleichzeitig die Aktivität der Alkaliphosphatase erhöht war.

In unseren eigenen Untersuchungen haben wir gefunden, daß die Aktivität sämtlicher Esterasen in der Leber höher ist als im Serum; nach schwerer CCl_4 -Vergiftung kam es zur Erhöhung der Aktivität der Alkaliphosphatase sowohl in der Leber, wie auch im Serum, während die Aktivität der übrigen Esterasen in der Leber meist parallel mit der Schwere der Veränderungen abnimmt. Auch im Serum kam es zur Abnahme der Aktivität der Cholinesterase und der Phenylbenzoateesterase, während die Aktivität der Procainesterase — vielleicht infolge der kurzen Überlebenszeit — unverändert blieb; nach unseren früheren Erfahrungen [1] ist das Sinken der Aktivität der Procainesterase im Serum ein diagnostisch und prognostisch wertvolles Zeichen bei der akuten Hepatitis. Das gleichzeitige Sinken der Esteraseaktivitäten in der Leber und im Serum ist wohl kaum anders zu erklären, als durch verringerte Fermentsynthese in der Leber, während die erhöhte Aktivität der alkalischen Phosphatase teils auf die Behinderung der Gallenausscheidung, teils auf regeneratorische Prozesse in der Leber (SULKIN [16]) zurückzuführen ist.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Bestimmung der Fermentaktivität der Cholinesterase, Procainesterase, Phenylbenzoatesterase und alkalische Phosphatase im Serum in Gegenwart von 10 verschiedenen Inhibitoren ergab abweichende Hemmungen bei den geprüften Fermenten, was gegen ihre Identität spricht.

2. Das Verhältnis der Aktivität der Leber- und der Serumfermente von Ratten zeigte bei den untersuchten Esterasen Abweichungen von 2 : 1 bis 12 : 1, doch war die Aktivität in den Leberhomogenaten stets höher als im Serum.

3. Nach CCl_4 -Vergiftung erhöht sich die Aktivität der Alkaliphosphatase sowohl in der Leber wie im Serum, während die Aktivität der übrigen Esterasen in verschiedenem Ausmaß abnimmt.

4. Der Glutathiongehalt der Leber bleibt selbst bei schwerer CCl_4 -Vergiftung unverändert, daher kann die Aktivitätsabnahme der Esterasen nicht auf Glutathionmangel zurückgeführt werden.

5. In der Galle ist neben alkalischer Phosphatase nur Phenylbenzoatesterase nachweisbar, die übrigen Esterasen werden nicht mit der Galle ausgeschieden.

6. Es wird der Schluß gezogen, daß die Serumesterasen wahrscheinlich substratspezifisch sind und aus der Leber stammen.

LITERATUR

1. FISCHER, A.—KÜRTHY, L.—ROHNY, S.: Magy. belov. Arch. **10**, 24 (1957).
2. CZYŻYK, A.: Z. ges. inn. Med. **II**, 1065 (1956).
3. KING, E. J.—ARMSTRONG, A. R.: Canad. med. Ass. J. **31**, 376 (1934).
4. HUERGA, J. DE LA—POPPER, H.: Amer. J. clin. Path. **22**, 1126 (1952).
5. HAZARD, R.: Presse méd. 113, 1949 und 529, 1948.
6. DÁN, S.—VAJDA, I.: Kísérl. Orvostud. **1**, 118 (1948).
7. GRUNERT, R.—PHILLIPS, PH.: Arch. biochem. **30**, 217 (1951).
8. FISCHER, A.—SZÉCSEY, G.: Kísérl. Orvostud. **2**, 428 (1950).
9. GÖMÖRI, G.: J. lab. clin. Med. **34**, 275 (1949).
10. GOLDNER, M. G.—MORSE, M.: J. lab. clin. Med. **34**, 858 (1949).
11. BINET, C.—WELLER, G.: C. R. Soc. Biol. (Paris) 1924, 1144 (1937).
12. SWANSON, M. A.: J. biol. Chem. **184**, 647 (1950).
13. KOCH-WESER, D.: J. lab. clin. Med. **38**, 825 (1951).
14. BRAUER, R. W.—ROOT, M. A.: Fed. Proc. **5**, 168 (1949).
15. KOCH-WESER, D., Fed. Proc. **9**, 336 (1950).
16. SULKIN, N. S.: Anat. Rec. **100**, 143 (1948).
17. AUGUSTINSSON, K. B.: Nature (London) **181**, 1786 (1958).

ÜBER DIE ZUSAMMENHÄNGE DER ANFÄLLE IM SCHLAF UND WACHZUSTAND MIT DER ANATOMISCH-FUNKTIONELLEN ORGANISATION DES EPILEPTOGENEN HERDES

Von

F. KAJTOR, T. NAGY und GY. VELOK

KLINIK FÜR NEUROLOGIE UND PSYCHIATRIE DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, DEBRECEN

(Eingegangen am 12. August 1958)

Bei der systematischen Befragung der Epileptiker stellt sich heraus, daß Anfälle im Schlaf (in der Nacht) nicht selten vorkommen. Es gibt Kranke, bei denen die epileptischen Anfälle nur nachts auftreten, während sie bei anderen nur tagsüber, im Wachzustand, vorkommen. Häufiger aber ist zu beobachten, daß Nacht- und Tagesanfälle abwechseln, wobei die Anfälle oft anfangs nur im Schlaf oder nur im Wachzustand in Erscheinung treten.

Über die Faktoren, die in diesem abweichenden Verhalten der Anfälle eine Rolle spielen können, finden sich in der Literatur nur wenige Angaben. Einige Autoren weisen auf die mögliche krampfauslösende Wirkung der Synchronisation bzw. langsamen Rhythmen der elektrischen Tätigkeit im Schlaf [37, 18] oder der Hypoglykämie [34] hin. FUSTER, CASTELLS und ETCHEVERRY [16] versuchten indessen eine Gruppe der nächtlichen Anfälle mit neuralen, zerebralen Formationen in Beziehung zu bringen. Von 81 Kranken, die über nächtliche, mit Bewußtlosigkeit und Amnesie einhergehende anfallartige Angstzustände klagten, registrierten sie im natürlichen oder künstlichen Schlaf das Elektroenzephalogramm. In 94,5% der Fälle fanden sie pathologische elektrische Erscheinungen im Grenzgebiet des Parietal-, Temporal- und Okzipitallappens. Sie nahmen daher an, daß diese Art von Unwohlsein immer aus der epileptischen Aktivierung des parieto-okzipitalen Rindengebietes stammt.

Auf die strukturellen Beziehungen des nächtlichen Auftretens der epileptischen Anfälle wurde unsere Aufmerksamkeit anlässlich der Aktivierung der Krampfpotentiale mit Evipan, insbesondere aber bei der Untersuchung der Krampftätigkeit des menschlichen Hippocampus im Evipanschlaf gelenkt [28, 29, 30, 31]. Auf Grund dieser Befunde begannen wir den Zeitpunkt des Auftretens der Anfälle zu registrieren und Zusammenhänge zwischen ihrem Auftreten im Schlaf und den anatomisch-funktionellen Eigentümlichkeiten der als epileptogener Herd zu betrachtenden Gehirnsubstanz zu suchen.

Material und Methoden

Vorliegender Bericht stützt sich auf die Untersuchung von 200 epileptischen Kranken, die ebenso wie ihre Angehörigen in bezug auf ihre nächtlichen Anfälle ausführlich befragt wurden. Besonderen Wert legten wir auf die Feststellung, ob die ersten Anfälle im Schlaf aufgetreten waren. Sämtliche Kranke wurden neurologisch, serologisch, pneumoenzephalographisch und elektroenzephalographisch eingehend untersucht. In 45 Fällen erfolgte auch eine neurochirurgische Behandlung (J. HULLAY, P. TÖRÖK, L. FARAGÓ), hauptsächlich durch Entfernung des Schläfenlappens und seiner mediobasalen Teile, außerdem durch Resektion von meningeal Verwachsungen, kortiko-subkortikalen Narben und Atrophien sowie in

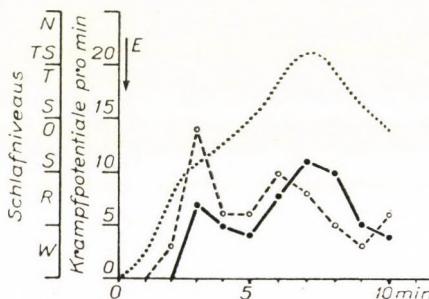


Abb. 1a. Von einem mit Evipannarkose aktivierten EEG hergestelltes Komplexdiagramm. — Die punktierte Linie zeigt die Entwicklung des Schlafniveaus; die gestrichelte Linie gibt die Anzahl der mit der Rachenelektrode, die fortlaufende Linie die mit der Kopfhautelektrode an der temporalen Spitze der gleichen Seite aufgenommenen Krampfpotentiale je Minute wieder. E = Beginn der Evipaneinspritzung, Tempo: 25 mg/15 sec. W = Wachzustand; R = Rausch; OS = oberflächlicher Schlaf; TS = Tiefschlaf; NTS = narkotischer Tiefschlaf.

Fall von Ammonshornsklerose; die ersten Anfälle traten nachts im Schlaf auf, später kam es aber auch am Tage, im Wachzustand, zu Störungen. — Die Anzahl der Rachen-(mediobasalen) Krampfpotentiale ist etwas größer als die der temporalen Spitzen; mediobasal entfällt der Höhepunkt der Aktivierung auf die Initialphase des Schlafes, über der temporalen Rinde jedoch auf die Dauer des Tiefschlafes.

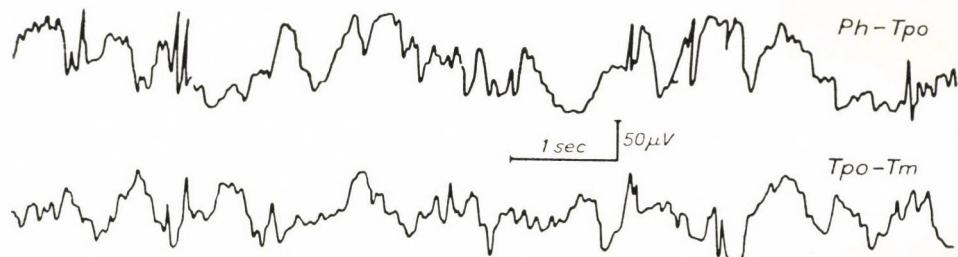


Abb. 1/b. Ein Teil desselben EEG, der das Übergewicht der pharyngealen Krampftätigkeit über der der temporalen Spitze in der 3. Minute der Narkose zeigt. — Ph = Elektrode (E) in der Pharynx; Tpo = E am temporalen Pol; Tm = mittlere temporale E

Form der Resektion raumeinengender Prozesse (8 Fälle) und Gefäßentwicklungsanomalien (2 Fälle), die wir zwecks Beseitigung des epileptogenen Herdes vornahmen.

Elektroenzephalographische (EEG) Aufnahmen, deren Methode wir früher mitgeteilt haben [27], wurden sowohl im Wachzustand wie in Evipan-Natrium-Schlaf hergestellt. In einigen Fällen wurde wegen erfolgloser Narkose auch die Cardiazol- und Photocardiazol-

belastung durchgeführt. In der Mehrzahl der Fälle wurden zwei oder mehr EEG aufgearbeitet und bei 30 Kranken auch unmittelbare Elektrogramme von der Gehirnrinde (ECG) aufgenommen; in 7 Fällen wurden Kortikogramme auch vom Hippocampus registriert [28, 29, 30].

Die EEG und ECG von 70 Kranken, einschließlich derjenigen, deren epileptischer Herd auch morphologisch nachgewiesen werden konnte, wurden sehr gründlich aufgearbeitet. Hierbei zählten wir mit Ausnahme der von weitem geleiteten sämtliche an den wichtigsten Kopfhaut-(kortikalen) und basalen (hippocampalen) Elektroden wahrnehmbaren Krampfpotentiale. Die Resultate wurden parallel mit den Veränderungen der Schlaftiefe in jeder Minute der EEG-Aufnahme in Diagrammen dargestellt.

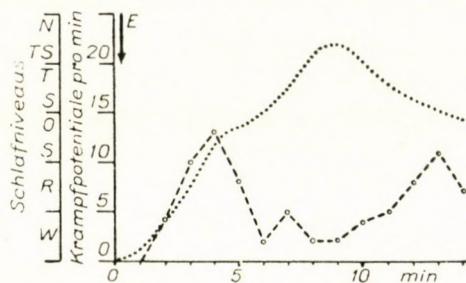


Abb. 2/a. Komplexdiagramm von einem Kranken mit geschlossener Septumzyste, bei dem die Anfälle nur nachts im Schlaf auftraten. — Bezeichnungen wie auf Abb. 1/a; Tempo der Epipaneinspritzung 25 mg/10 sec. — Nur aus der Rachenelektrode lassen sich Krampfpotentiale aufnehmen, die vom Schlummer und oberflächlichen Schlaf aktiviert, vom tiefen Schlaf zurückgedrängt werden

Die herausgeschnittene Gehirnsubstanz untersuchten wir histologisch. Vom Schläfenlappen wurden Frontalschnitte hergestellt. Die Auswertung geschah auf Grund der mit Hämatoxylin-Eosin, nach NISSL und nach der MALLORYSchen Gliafärbung hergestellten Präparate (HABERLAND, 22].

Ergebnisse

Auf Grund der Krankengeschichten teilten wir die Kranken in 5 Gruppen ein. (Die Bezeichnung »nächtlicher Anfall« wurde auf jedes Unwohlsein angewandt, wenn es im Schlaf auftrat.)

1. Ausschließlich nächtliche Anfälle waren bei 28 Kranken aufgetreten.
2. Anfangs waren die Anfälle nur im Schlaf, später aber auch im Wachzustand, tagsüber, bei 60 Kranken erschienen.
3. Die nächtlichen Anfälle waren häufiger als die am Tage vorkommenden in 26 Fällen, in denen jedoch nicht geklärt werden konnte, ob die ersten Anfälle im Schlaf oder im Wachzustand aufgetreten waren.
4. Ausschließlich tagsüber, im Wachzustand, wurden die Anfälle von 43 Kranken beobachtet.
5. Die Erkrankung hatte mit Tagesanfällen begonnen, doch waren später neben diesen auch nächtliche Anfälle in 43 Fällen zu beobachten.

Manche Kranke hätten in zwei Kategorien aufgenommen werden müssen, wurden aber in die Gruppe eingereiht, zu der sie auf Grund der ersten Anfälle gehörten.

*Zusammenhänge zwischen der anatomischen Lokalisation des Herdes
und der Häufigkeit der nächtlichen Anfälle*

Umschriebene makro- oder mikroskopische Gehirnschädigung vermochten wir durch chirurgischen Eingriff oder histologische Untersuchung bei 37 Kranken und mit Hilfe der Pneumoenzephalographie in weiteren 12 Fällen nachzuweisen. Von diesen verglichen wir in 10 Fällen zwei in Abständen von 2 Monaten bis 3 Jahren aufeinander folgende, mit Evipanaktivierung her-

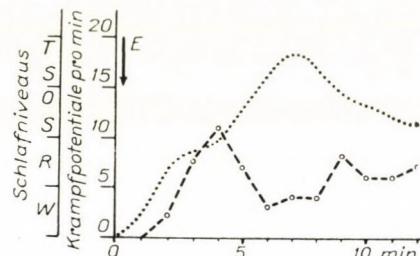


Abb. 2/b. Vier Monate später zur Kontrolle aufgenommenes EEG vom selben Kranken; die Aktivierung der Krampfpotentiale stimmt im wesentlichen mit dem vorigen Bild überein

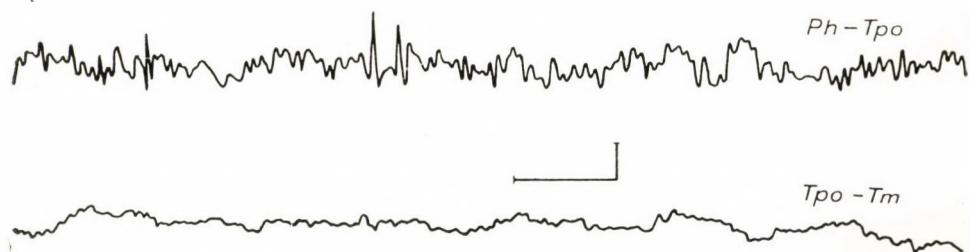


Abb. 2/c. Die Kurve stammt aus der 5. Minute des dem Diagramm der Abb. 2/b entsprechenden EEG. — Bezeichnungen wie auf Abb. 1/b. — Aus der lebhaften elektrischen Rachenaktivität ragen hohe, negative Entladungen hervor, während von der temporalen Spitze keinerlei Krampftätigkeit abgeleitet werden kann

gestellte EEG in komplexen Diagrammen und stellten fest, daß sich das Verhältnis der von basalen Regionen mit Nasen-Rachenelektroden aufgenommenen Krampfentladungen im Vergleich zu den von der Kopfhaut aufgenommenen auf den späteren Aufnahmen nicht wesentlich veränderte.

a) Eine anatomische Veränderung am *Hippocampus* konnte in 9 Fällen nachgewiesen werden; in 6 dieser Fälle erwies sich der Temporallappen — die typische Sklerose des Ammonshorns ausgenommen — als völlig intakt. Bei einem Kranken erstreckte sich der durch Geburtstrauma verursachte schwere sklerotische Prozeß auf die ganze größere vordere Hälfte des Schläfenlappens, und in 2 anderen Fällen war die gliomatöse Infiltration und Destruktion

tion des Hippocampus und vorderen Temporallappens festzustellen. Den Kranken mit ausgedehnter Sklerose ausgenommen, haben alle anderen nächtliche Anfälle schon in der Initialphase der Krankheit beobachtet, und 6 Kranke behaupteten, die ersten Anfälle wären ausschließlich im Schlaf erschienen.

Die EEG-Aufnahmen zeigten basale und temporale Zacken und steile Wellen, zumeist mit dem Übergewicht der basalen (Rachen-) Ableitung.

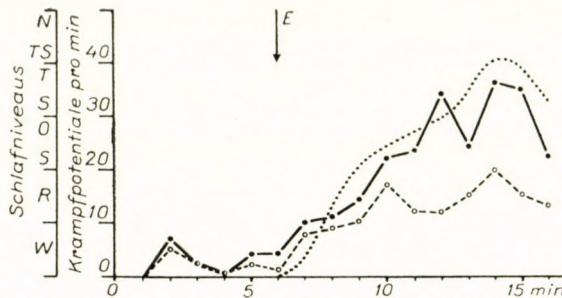


Abb. 3/a. Durch tangentiale Kopfschußverletzung verursachte zystische Narbe in der äußeremittleren Temporallappenrinde. Die Anfälle traten anfangs nur tagsüber, später häufig auch nachts auf. — Die Evipanaktivierung erreicht ihren Höhepunkt im tiefen Schlaf, in dem die Entladungen über der temporalen Rinde viel häufiger erscheinen als die mediobasalen

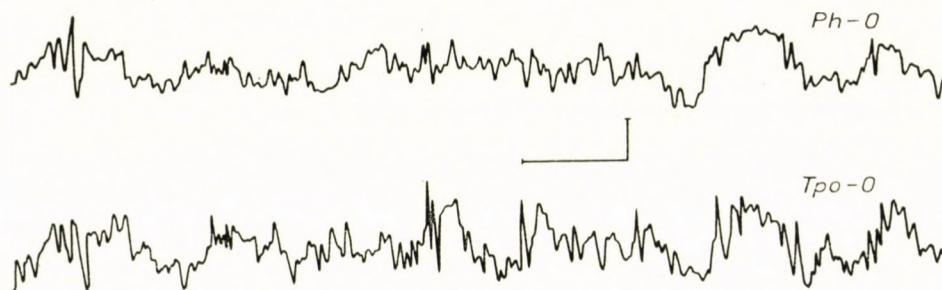


Abb. 3/b. Dasselbe EEG wie auf Abb. 3/a. — In der 12. Minute des Schlafes traten über der temporalen Spur mehr Zacken und steile Wellen auf als im Rachen. O = monopolare Ableitung

Die Anzahl der Entladungen über dem Temporallappen kam in einem Fall der der basalen nahe; das Übergewicht der hinteren Temporalregion war bei der lobären Sklerose und bei einer Temporallappengeschwulst zu beobachten. Die basalen Zacken und steilen Wellen wurden vom leichten Schlummer und oberflächlichen Schlaf aktiviert, aber vom tiefen Schlaf unterdrückt.

b) Die Gruppe unserer Epileptiker mit *nicht kommunizierender Zyste des Septum pellucidum* zeigte in ihrer Gesamtheit weder für Tages- noch für Nachtanfälle spezielle Neigung. In allen 7 Fällen wies das EEG eine gewisse

Ähnlichkeit mit dem EEG der Kranken mit Hippocampusherd auf. So ergaben die komplexen Diagramme, daß die Krampftätigkeit von der basalen und vorderen Temporalregion aufgenommen werden kann und daß die Aktivität der Rachenelektrode immer größer ist als diejenige der temporalen. Weiterhin entfiel der Höhepunkt der basalen Aktivität auf den Schlummer und oberflächlichen Schlaf und nur in einem Fall auf den tiefen Schlaf. Wegen der

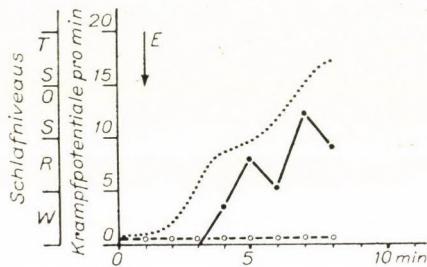


Abb. 4/a. Nach Entfernung eines rechtsseitigen präzentralen Meningeoms ausschließlich am Tage auftretende linksseitige fokale motorische Anfälle. — In der Narkose Krampfpotentiale hauptsächlich in der hinteren Frontalregion (fortlaufende Linie), ohne basale Krampftätigkeit

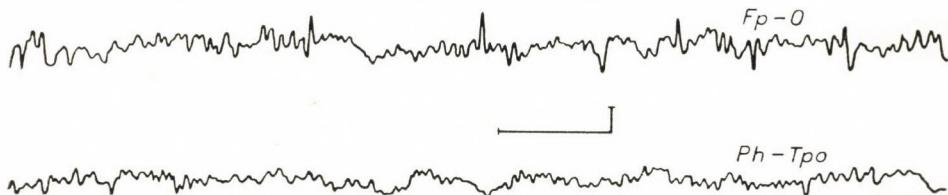


Abb. 4/b. In der 7. Minute der in Abb. 4/a dargestellten EEG-Untersuchung negative steile Wellen und Zacken in der rechten hinteren Frontalelektrode (Fp), während sich aus der Rachenelektrode keine Entladungen ableiten lassen

Ähnlichkeit des klinischen und elektrographischen Bildes nahmen wir unseren einzigen Fall von Agenesis corporis callosum in diese Gruppe auf.

c) Die Läsionen im äußeren Temporallappen trennten wir von denjenigen, welche andere Gebiete der Konvexität betrafen, und zwar wegen der Häufigkeit der basalen Krampftätigkeit. Bei 9 der 14 Kranken traten die anfänglichen oder sämtliche Anfälle tagsüber im Wachzustand auf. Ihr EEG enthielt zwar zahlreiche basale Entladungen, aber basales Übergewicht war nur bei 4 Kranken festzustellen. Die Vorherrschaft der temporalen Krampfpotentiale war bei 9 Kranken offensichtlich, und zugleich kamen beinahe im selben Verhältnis Entladungen an den Rachen- und Schläfen-Kopfhautelektroden vor.

d) *Frontale, zentrale, parietale und frontotemporale* kortikale epileptogene Anomalien fanden wir bei 14 Personen, für welche die verhältnismäßige Seltenheit der nächtlichen Anfälle und — mit Ausnahme eines Falles — die Ärmlichkeit der basalen Krampfpotentiale kennzeichnend war. Erwähnenswert ist noch, daß bei den beiden Kranken, bei denen wir eine die frontale Spitze bedeckende traumatische Narbe entfernt hatten, Anfälle nur nachts vorkamen.

e) Ein Patient, bei dem ein suprasellares Meningoem den Boden der III. Kammer in voller Ausdehnung komprimierte, litt ausschließlich an Tagesanfällen. Sein EEG zeigte zahlreiche beidseitige vordere frontale und temporale Zacken im Evipanschlaf, und die Rachenelektrode nahm verhältnismäßig spärliche Krampfpotentiale auf.

Das Verhältnis der intensivsten bioelektrischen Krampftätigkeit zum Nacht- oder Tagesübergewicht des Auftretens der Anfälle im gesamten Material

Bei 70 (61%) der in die 1., 2. und 3. Gruppe aufgenommenen 114 Kranken stammten die Krampfentladungen hauptsächlich aus der Rachen- (in gewissen Fällen aus der hippocampalen) Elektrode, während sie in 44 Fällen (39%) über einem anderen Bereich der Konvexität im Übergewicht waren. Außerordentlich hoch war die Anzahl der basalen Entladungen bei einigen Kranken, deren Anfälle hauptsächlich am frühen Morgen, vor dem Erwachen, auftraten. Die Anzahl der Entladungen zeigte im evipanbedingten Schlummer und oberflächlichen Schlaf auffallende Vermehrung und sank im tiefern Schlaf jäh ab.

Die zur 4. und 5. Gruppe gehörenden 86 Kranken verhielten sich entschieden entgegengesetzt. Von diesen produzierten die schwerste Krampftätigkeit in der basalen Region lediglich 22 (25,5%), während sich bei 48 Kranken (56%) die intensivste Evipanaktivierung auf irgendein Gebiet der Hemisphärenwölbung lokalsierte. Außer diesen zeigten 16 Personen über beiden Hemisphären 3 cps Zacken- und Wellengruppen oder Petit mal-Varianten. Es dürfte von besonderem Interesse sein, daß wir den bilateralen 3 cps Zacken- und Wellenformen sowie den Petit mal-Varianten bisher nur bei Epileptikern begegneten, deren Anfälle ausschließlich am Tage oder zumindest anfangs tagsüber aufgetreten waren.

Weiterhin bestand bei nahezu $\frac{1}{3}$ der Kranken der 4. Gruppe die Krampftätigkeit aus bilateralen negativen steilen Wellen oder Zacken. Oft entluden sich die beiden Hemisphären ungleich, aber auch unabhängige Krampfpotentiale waren zu beobachten: bei gewissen Kranken war die Krampftätigkeit hauptsächlich über der frontalen, bei anderen eher über der basalen und bei wieder anderen besonders über der vorderen temporalen Region

aktiviert. Die bilateralen elektrischen Erscheinungen ähnlichen Charakters kamen in der 1.—3. Gruppe in wesentlich geringerem Verhältnis vor.

Die elektrographischen Herde der temporo-parieto-okzipitalen Region zeigten große Neigung zur Auslösung von Anfällen im Schlaf. Diese Beobachtung stimmt mit der Auffassung von FUSTER und Mitarbeitern [16] überein, die diesem Bereich bei den epileptischen nächtlichen Anfällen spezielle Bedeutung zuschreiben. Demgegenüber umfaßten die 1—3. Gruppen nur weniger als die Hälfte der vorderen und mittleren Temporallappenherde.

Die epileptischen Störungen derjenigen Kranken, bei denen wir die intensivste Krampftätigkeit über dem frontalen Pol oder dem vorderen fronto-temporalen Gebiet nachzuweisen vermochten, wurden überwiegend von nächtlichem Übelsein eingeleitet. Im Gegensatz dazu traten die Störungen bei den meisten Kranken mit hinterem frontalem, zentralem oder parietalem Herd in der Initialphase oder im ganzen Verlauf ihrer Erkrankung nur im Wachzustand in Erscheinung (einen okzipitalen Fokus vermochten wir noch nicht zu beobachten).

Einige unserer Beobachtungen deuten darauf hin, daß die später, sekundär erscheinenden nächtlichen oder Tagesanfälle als Folgen der Entstehung eines sekundären bzw. neuen Herdes betrachtet werden müssen. Wir stellten fest, daß der primäre Hippocampus herd in der Rinde des vorderen Temporallappens leicht einen sekundären funktionellen Herd bildet, der dann die Tagesanfälle verursacht. Der temporale Rindenherd aber kann einen sekundären Hippocampus herd gestalten und dieser die nächtlichen Störungen hervorrufen [28, 29]. Aber eine enge Beziehung zwischen dem Auftreten der Anfälle im Schlaf und dem Erscheinen eines neuen temporalen Herdes konnten wir auch im Falle eines frontalen primären Herdes beobachten (Abb. 5).

Besprechung

Wie aus den beschriebenen Beobachtungen geschlossen werden darf, kann es von der Lokalisation des anatomischen bzw. elektrischen Herdes abhängen, ob der Schlaf oder das Wachsein den günstigsten physiologischen Zustand darstellen wird, um die konvulsiven Tendenzen bis zu klinischen Anfällen zu steigern. Indessen ist es möglich, daß manche Autoren einige unserer Befunde nicht als zuverlässig genug betrachten werden, um daraus Schlußfolgerungen zu ziehen.

Die epileptogene Natur der Ammonshornsklerose ist beispielsweise umstritten [22], obwohl sie durch zahlreiche Tatsachen gestützt wird. So liegt sowohl bei Tieren [26, 4, 32] wie bei Menschen [33] die Schwelle des Hippocampus zur Auslösung der lokalen und weiterdringenden elektrischen Anfälle verhältnismäßig niedriger als die der Isocortex. Weiterhin beweisen

gewisse histopathologische, klinische und experimentelle Beobachtungen, daß die Sklerose des Ammonshorns als primärer epileptogener Herd zu wirken imstande ist, ohne daß die Teilnahme anderer Strukturen als des Hippocampus nötig wäre [12, 9, 21, 7, 22]. In einer Studie über 6 Kranke wiesen wir gewisse gemeinsame Erscheinungen nach, auf Grund welcher wir in unseren Fällen die primäre epileptogene Rolle der Ammonhornsklerose voraussetzen [31]. Eine ähnliche Ansicht äußerten in dieser Frage auch die Forschungsinstitute für Epilepsie in Montreal und Marseille [17].

Die Bedeutung der nicht kommunizierenden Septumzyste und der Corpus callosum-Agenesie als epileptogene Abnormalität geht in erster Linie

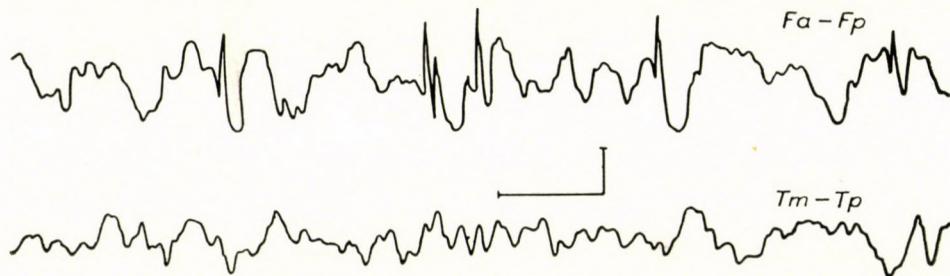


Abb. 5/a. Seit einem halben Jahr bestehen — nur im Wachzustand — kleine, mit Bewußtseinsverlust verbundene Störungen mit Adversion nach rechts. — Im Sedationszustand zahlreiche steile Wellen über dem linken Frontallappen; im mittleren-hinteren temporalen Elektrodenpaar sind jedoch nur selten hingeleitete Entladungen zu beobachten. Fa = vordere frontale; Fp = hintere frontale; Tp = hintere temporale

daraus hervor, daß die meisten Zysten Epilepsie verursachen [23, 6], ja die Attacken nach Öffnung der Zyste zuweilen sogar ausbleiben können [13, 23a]. Als eine epileptogene Mittellinienstruktur des vorderen Temporalappens wurde die Septumzyste bereits von AJMONE-MARSAN und auch von STOLL erwähnt [3]. Außerdem haben die Krankengeschichten und pneumo-enzephalographischen Befunde in unseren 8 Fällen eine andere epileptogene Gehirnanomalie als die Zyste bzw. die Agenesie nicht ergeben.

Ferner müssen wir darauf hinweisen, daß es ausschließlich auf Grund der elektrographischen Befunde nicht leicht ist, die Neuronenpopulation zu bestimmen die primär für die Anfälle verantwortlich ist. Dies geht z. B. daraus hervor, daß die Septumzysten ähnliche basotemporale Krampfpotentiale bilden wie die primären Herde des Ammonshorns. Die Lokalisierung des Primärherdes kann auch dann problematisch sein, wenn es gelingt, einen epileptischen Fokus über irgendeiner Region der Konvexität zu umreißen. Dieser Fokus kann nämlich lediglich die Projektion der Entladungen des in einem subkortikalen Kern befindlichen echten Herdes sein. Derartige Verhältnisse hat man in Tierversuchen beobachtet, z. B. fokale Entladungen

über der Rinde der zentralen Region aufgenommen als man den künstlichen Herd in irgendeinem Kern der strio-pallidaren Kerngruppe oder im Thalamus anlegte [10, 11].

Die sorgfältige Analyse verhilft aber auch ohne Anwendung der intrazerebralen Multielektrode zur Klarstellung des Ursprunges der Krampfpotentiale. Mit dieser Methode vermochten wir festzustellen, daß die medio-basalen (Rachen-) Entladungen in ihrer Aktivierbarkeit und in ihrem Ver-

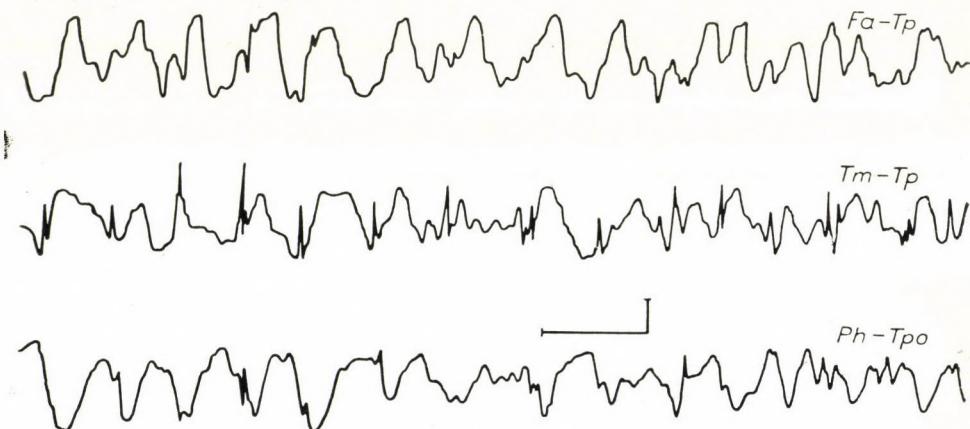


Abb. 5/b. Im Laufe von 4 Jahren ergab die mehrmals wiederholte elektrographische Untersuchung immer frontale Krampfpotentiale, aber das hier gezeigte letzte EEG zeigt die Verschiebung des elektrischen Herdes in den mittleren-hinteren Temporallappen. Seit einem Jahr meldeten sich auch in der Nacht und am frühen Morgen Anfälle, die in den Wochen vor der letzten EEG-Aufnahme bereits häufiger waren als die Tagesanfälle. Es liegt nahe, diese klinisch und im EEG beobachteten auffallenden Veränderungen in kausalem Zusammenhang zu bringen

lauf kein einheitliches Bild zeigen. Bei zahlreichen Kranken entwickelt sich der Höhepunkt der Schlafaktivierung im Schlummer und im oberflächlichen Schlaf, bei anderen jedoch im tiefen oder in manchen Fällen im sehr tiefen Schlaf. Die auf diesen verschiedenen Schlafniveaus aktivierte Krampfpotentiale weichen zumeist in ihrem Gehalt und in ihrer Form voneinander ab. Zu Beginn der Einschlafung erscheinen in den Rachenelektroden im allgemeinen verhältnismäßig niedrige, schnelle negative Zacken. Die vom tiefen Schlaf aktivierten Entladungen entsprechen größtenteils langsamem Zacken (steilen Wellen) mit höherer Spannung, die bei gewissen Kranken auch positiv sein können. Diese langsamem Zacken können zu gleicher Zeit auch über der vorderen temporalen oder selbst über der frontalen Region auftauchen und neigen mehr zum bilateralen Erscheinen als die schnellen Zacken. Bei manchen Kranken vermag man im selben EEG die Entladungen beiden Typs je nach der Veränderung des Schlafniveaus deutlich zu erkennen.

In bezug auf den Ursprung der von der Rachenelektrode stammenden schnellen Zacken haben wir eine begründete Theorie. Diese Potentiale konnten wir nämlich im Schlummer und oberflächlichen Schlaf in Fällen, wo der Hippocampus einen pathologisch-anatomischen Herd aufwies, reichlich wahrnehmen. Auch in den simultan von der Oberfläche des Hippocampus und der temporalen Neocortex aufgenommenen Kortikogrammen konnten wir beobachten, daß diese durch die Vertiefung des Schlafes immer zurückgedrängt wurden [29, 30]. So erachten wir es per analogiam als erwiesen, daß die vom Schlummer und oberflächlichen Schlaf aktivierten schnellen Rachenentladungen hauptsächlich aus dem Hippocampus und der mit diesem eng zusammenhängenden inferomedialen temporalen Rinde stammen [1, 2]. Der primäre Herd muß naturgemäß nicht immer im Hippocampus sein. Wie unsere Kranken mit Septumzyste beweisen und auf Grund von Tierversuchen [9] als wahrscheinlich betrachtet werden darf, können diese Krampfpotentiale aus den Kernen der Mittellinie, vor allem aus den primären Herden der septalen, mamillären und intralaminären thalamischen Zellgruppen, stammen.

Tabelle I

Auftreten der Anfälle	Anzahl der Fälle	Lage der anatomischen epileptogenen Läsion					
		Hippocampus	Septum pell. (Zyste), Corpus callosum (Agenesie)	Außere temporale Rinde	Frontale, zentrale, parietale, fronto-temporale Rinde	Orbitotemporale, basale Rinde	Subkortikale Heterotopie (im vorderen Temporallappen)
Nur im Schlaf	4	—	2	—	2	—	—
Anfänglich im Schlaf, später im Wachzustand	10	6	—	3	—	1	—
Zumeist im Schlaf	6	2	2	2	—	—	—
Nur im Wachzustand	12	—	2	1	7	2	—
Anfänglich im Wachzustand, später im Schlaf	17	1*	2	8	5	—	1
	49	9	8	14	14	3	1

Der Ursprung der von tiefem Schlaf aktivierten basalen Entladungen konnte nicht erklärt werden. Bei diesen dürfte es sich um Potentiale handeln, die wahrscheinlich aus irgendeinem der subkortikalen dienzephalischen Kerne weiterdringen oder propagiert werden. Darauf können wir lediglich aus den 4 Fällen schließen, in denen sich hypothalamo-hypophyseale Störungen (auffallende, progressive Fettleibigkeit, Hypertension, Menstruationsanomalien, fluktuiierendes Ödem, Somnolenz usw.) zur Epilepsie gesellten. Bei diesen Kranken waren die Anfälle anfangs mehrere Jahre lang nur am Tage (im Wachzustand) aufgetreten; in dem EEG hatte der tiefe Schlaf bilaterale

6*

Tabelle II

Auftreten der Anfälle	Anzahl der Fälle	Hauptlokalisation der Krampfpotentiale					
		Mediobasale u. hippocampale	Vordere u. mittlere tempora-le	Temporoparieto-ozipitale	Frontotempora-le	Frontale, zentrale, parietale	Beidseitige 3 cps wave-and-spike Aktivität u. ihre Variante
Nur im Schlaf	28	18	2	3	—	5	—
Anfänglich im Schlaf, später im Wachzustand	60	34	10	4	9	3	—
Meistens im Schlaf	26	18	2	3	2	1	—
Nur im Wachzustand	43	13	5	—	1	12	12
Anfänglich im Wachzustand, später im Schlaf	43	9	13	2	4	11	4
	200	92	32	12	16	32	16

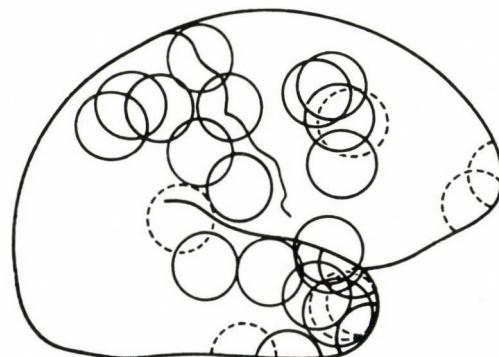


Abb. 6. Die Lokalisation der epileptogenen Läsionen der Konvexität von 27 Kranken, auf einer Hemisphäre zusammengefaßt. — Die zusammenhängenden Kreise bezeichnen die Fälle, in denen die Anfälle ausschließlich oder anfangs im Wachzustand aufgetreten waren (4. und 5. Gruppe), während die unterbrochenen Kreise denjenigen entsprechen, die spezielle Neigung für Anfälle im Schlaf zeigten (1.—3. Gruppe). Der eine Fall von diffuser meningealer Infiltration an der Außenfläche des vorderen Temporallappens (5. Gruppe) ist nicht angeführt. Die beiden gestrichelten Kreise an der Spitze des Temporallappens bezeichnen ausgedehnte Spitz- und mediobasale Atrophie

basale, vordere temporale und frontale steile Wellen aktiviert. Dieses Zusammentreffen der Symptome läßt die Annahme zu, daß die gemeinsame Ursache der vegetativen Störungen und der epileptischen Anfälle eine Hypothalamus-schädigung war, die wir allerdings pneumoenzephalographisch nicht entschieden zu bestätigen vermochten.

Auf Grund unserer histologischen Befunde können wir behaupten, daß die epileptogenen Schädigungen des Hippocampus eine spezielle Disposition zur Auslösung von Anfällen im Schlaf zeigen. Eine ähnliche Neigung läßt sich auch in der Hälfte der Fälle feststellen, die morphologische Anomalien

der septalen Region aufweisen, sowie im Zusammenhang mit den Herden der frontalen Spitze und der temporo-parieto-okzipitalen Zone. Demgegenüber bewirkt die große Mehrzahl der Läsionen der Konvexität — zumindest am Anfang des epileptischen Prozesses — Tagesanfälle. Diese eigentümlichen Zusammenhänge ergaben sich auch bei der Analyse der viel zahlreicheren elektrographischen Befunde.

Die spezielle Fähigkeit der temporalen inferomedialen Substanz, nächtliche Anfälle hervorzurufen, war auch bei einigen unserer Kranken zu beobachten, bei denen eine partielle Polresektion vorgenommen wurde. Bei diesen aktivierte die Einschläferung mediobasale und vordere temporale Krampfpotentiale, und präoperativ traten sowohl nächtliche wie Tagesanfälle auf. Durch die Resektion des vorderen Temporallappens unter Erhaltung des Hippocampus und der anderen inferomedialen Gebilde wurden jedoch nur die Tagesanfälle für längere Zeit behoben, während die nächtlichen weiter auftraten. Diese konnten nach dem postoperativen EEG nur von der nicht entfernten mediobasalen Substanz verursacht worden sein.

Aus unseren Untersuchungsergebnissen folgern wir schließlich daß die günstigste Assoziation der präkonvulsiven Bedingungen für gewisse Neuronpopulationen vom Schlaf gewährleistet wird, für andere Populationen hingegen von den Geschehnissen des bewußten Wachzustandes. Die präzipitierende Rolle des Schlafes kommt vor allem in den epileptogenen Zellgruppen der Allocortex (Hippocampus) und der mit ihr unmittelbar zusammenhängenden Kerne zur Geltung. Der konvulsive Einfluß des Wachseins erstreckt sich hauptsächlich auf die Isocortex und die mit ihr eng verbundenen Kernsysteme mit Ausnahme der frontalen Spitzens- und temporo-okzipito-parietalen Zone. Zwischen den Systemen der Isocortex und des Hippocampus besteht also ein gewisser Antagonismus, ein ähnlicher, wie man ihn im Zusammenhang mit dem Aufmerken [19] beschrieben hat.

Die Ursache dieses Unterschiedes muß man unserer Ansicht nach vor allem in der anatomisch-funktionellen Organisation der epileptogenen Struktur suchen. Vielleicht kommen wir einer Lösung der Frage näher, wenn wir uns mit den Beziehungen beschäftigen, die zwischen unseren Beobachtungen und einigen neueren Ergebnissen der Neurophysiologie zu erkennen sind.

Laut Tierversuchen stehen gewisse kortikale Regionen in unmittelbarer funktioneller und anatomischer Beziehung zur Formatio reticularis des Gehirnstamms [14, 15, 35, 36]. Die elektrische Reizung dieser »kortikoretikulären Regionen« löst bei Tieren elektrische und Verhaltenseigentümlichkeiten des beobachtenden Wachseins (»arousal«) aus. Diese kortikalen Gebiete umfassen die sensorisch-motorische Area, das frontale okulomotorische Feld, die hintere parietale-paraoxzipitale Rinde, die obere temporale Windung und temporale Spitze sowie die orbitofrontale und zinguläre Oberfläche.

Betrachten wir Abb. 6, so sehen wir, daß die »kortiko-retikulären« Oberflächen im großen ganzen mit jenen Gebieten der Konvexität übereinstimmen, in denen die überwiegende Mehrzahl der Herde Anfälle anfangs oder stets im Wachzustand (am Tage) hervorrief. Man kann daher annehmen, daß die Zellgruppen, die auf die Aufrechterhaltung des wachen Zustandes über die Formatio reticularis unmittelbaren Einfluß ausüben, spezielle Neigung zur Auslösung von Tagesanfällen zeigen. Auch der enge Zusammenhang der mit bilateraler 3 cps wave-and-spike-Aktivität oder der ihrer Varianten einhergehenden Anfälle mit dem Wachzustand läßt sich damit erklären. Das Auftreten derartiger Petit mal-Attacken erfordert nämlich irgendwie die Beteiligung des aspezifischen afferenten Gehirnstammsystems [25].

Der Hippocampus hängt dagegen mit der Formatio reticularis auf ganz andere Weise zusammen als die erwähnten »kortiko-retikulären« Areas. Die Teilnahme des Hippocampus an den zum Wachzustand oder Schlaf führenden neuralen Prozessen ist noch ungeklärt, und ebensowenig vermochte man seine unmittelbare Verbindung zu den retikulären Systemen des Gehirnstamms bisher zu ermitteln [1, 2, 20]. Die nächtlichen Anfälle unserer Kranken mit Ammonshornsklerose traten ohne Erwachen auf, während die Anfälle von nächtlichem Unwohlsein, soweit diese überhaupt auftraten, bei den Kranken mit Herd in der zentralen Region von Erwecken eingeleitet wurden. Es erscheint daher nicht ausgeschlossen, daß die auffallende Bereitschaft des hippokampalen Systems zur Auslösung von Anfällen im Schlaf auf einem eigenartigen Verhältnis zur Formatio reticularis und zum Wachsein beruht.

Naturgemäß hängt es nicht lediglich von der Struktur und Funktion ab, ob der epileptische Anfall tagsüber oder nachts auftritt. Andere Faktoren, z. B. extraneuronale und humorale Wirkungen, welche auf die Elektrogenese des Gehirns wesentlichen Einfluß ausüben können, die Entwicklung der Synchronisations- und Desynchronisationserscheinungen [5, 24, 34], Konditionierung usw., können fallweise in der Vorbereitung der nächtlichen Auslösung der Anfälle eine entscheidende Rolle spielen.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen bringen uns nicht nur der Klärstellung des Mechanismus der epileptischen Anfälle einen Schritt näher, sondern können auch in der medikamentösen Behandlung der Epilepsie praktische Bedeutung gewinnen. In den letzten Jahren hat die Auffassung, daß die Epileptiker unter Berücksichtigung der Klinik und Lokalisation der Herde sowie der EEG-Befunde medikamentös individuell behandelt werden müssen, immer mehr Anhänger gefunden. Mit dieser auf Spezifität gerichteten Tendenz steht unsere Feststellung im Einklang, daß für die Anfälle im Schlaf zumeist andere Neurongruppen verantwortlich sind als für die Tagesattacken.

ZUSAMMENFASSUNG

An 200 ausgewählten Epileptikern wurden elektroklinische Untersuchungen durchgeführt, um festzustellen, ob zwischen dem Auftreten der Anfälle im Schlaf und der anatomisch-funktionellen Organisation der epileptogenen Struktur ein Zusammenhang nachgewiesen werden kann.

Die Lokalisation der als epileptogene Schädigung betrachteten pathologisch-anatomischen Gehirnanomalien wies einen entschiedenen Einfluß auf die Häufigkeit der nächtlichen Anfälle auf. Die Hippocampusherde zeigten die größte Neigung zur Auslösung der im Schlaf erscheinenden Anfälle, danach folgen die in der septalen Region und in der frontalen Spitze liegenden Herde. Die Herde der hinteren frontalen, sensorisch-motorischen, parietalen und I-II. temporalen Windungen verursachten dagegen zum überwiegenden Teil Anfälle anfangs oder ausschließlich im Wachzustand.

Die elektrographische Lokalisation der vorherrschenden fokalen Krampfpotentiale beweist, daß die mediobasalen, temporo-parieto-okzipitalen und vorderen frontalen Herde in überwiegender Mehrheit im Schlaf auftretende Anfälle aufrechterhalten, während für andere Gebiete der Konvexität Anfälle im Wachzustand kennzeichnend sind. Die bilaterale 3 cps wave-and-spike-Aktivität oder ihre Varianten produzierenden Epileptiker zeigen ebenfalls spezielle Disposition für Tagesanfälle.

Zur Deutung der beschriebenen strukturellen Beziehungen der im Schlaf auftretenden Anfälle wird eine Hypothese aufgestellt.

LITERATUR

1. ADEY, W. R., MERRILLEES, N. C. R. u. SUNDERLAND, S.: Brain **79**, 414 (1956).
2. ADEY, W. R., SUNDERLAND, S. u. DUNLOP, C. W.: EEG Clin. Neurophysiol. **9**, 309 (1957).
3. AJMONE-MARSAN, C. u. STOLL, JR., J.: Arch. Neurol. Psychiat. **66**, 669 (1951).
4. ANDY, O. J. u. AKERT, K.: J. Neuropath. exper. Neurol. **14**, 198 (1955).
5. BONVALLET, M., DELL, P. u. HIEBEL, G.: EEG Clin. Neurophysiol. **6**, 119 (1954).
6. CARPENTER, M. B. u. DRUCKMILLER, W. H.: Arch. Neurol. Psychiat. **69**, 305 (1953).
7. CORSELLIS, J. A. N.: Brain **80**, 193 (1957).
8. DE JONG, R. N.: Neurology **7**, 1 (1957).
9. CREUTZFELDT, O.: Schweiz. Arch. Neurol. Psych. **77**, 163 (1956).
10. FAETH, W. H., WALKER, A. E. u. WARNER, W. A.: Arch. Neurol. Psychiat. **75**, 548 (1956).
11. FAETH, W. H. u. WALKER, A. E.: Arch. Neurol. Psychiat. **78**, 562 (1957).
12. FALCONER, M. A., MEYER, A., HILL, D., MITCHELL, W. u. POND, D. A.: Lancet **1**, 827 (1955).
13. FELD, M.: Rev. Neurol. **92**, 65 (1955).
14. FRENCH, J. D., HERNANDEZ-PEON, R. u. LIVINGSTON, R. B.: J. Neurophysiol. **18**, 74 (1955).
15. FRENCH, J. D.: J. Neurosurg. **15**, 97 (1958).
16. FUSTER, B., CASTELLS, C. u. ETCHEVERRY, M.: Neurology **4**, 531 (1954).
17. GASTAUT, H.: IV. Congrès International d'Electroencephalographie et de Neurophysiologie clinique. Ed. Acta Med. Belg. (Bruxelles), S. 13 (1957).
18. GELLHORN, E.: Physiological Foundations of Neurology and Psychiatry. Minnesota Press. Minneapolis. S. 170 (1953).
19. GREEN, J. D. u. ARDUINI, A. A.: J. Neurophysiol. **17**, 533 (1954).
20. GREEN, J. D. u. ADEY, W. R.: EEG Clin. Neurophysiol. **8**, 254 (1956).
21. GREEN, J. D., CLEMENTE, C. D. u. DE GROOT, J.: Arch. Neurol. Psychiat. **78**, 259 (1957).
22. HABERLAND, K.: Psychiat. Neurol. **135**, 12 (1958).
23. HUGHES, R. A., KERNOHAN, J. W. u. CRAIG, W. MCK.: Arch. Neurol. Psychiat. **74**, 259 (1955).
- 23a. HULLAY, J.: Orv. Hetil. **98**, 592 (1957).
24. INGVAR, D. H.: Acta Physiol. Scand. **33**, Prepr. III. (1954).
25. JUNG, R.: IV. Congrès International d'Electroencephalographie et de Neurophysiologie clinique. Ed. Acta Med. Belg. (Bruxelles), S. 296 (1957).
26. KAADA, B. R.: Acta Physiol. Scand. **24**, Suppl. 83, S. 115, 220 (1951).
27. KAJTOR, F.: Arch. Psychiat. **194**, 238 (1956).
28. KAJTOR, F.: Arch. Psychiat. **196**, 135 (1957).

29. KAJTOR, F., HULLAY, J., FARAGÓ, L. u. HABERLAND, K.: EEG Clin. Neurophysiol. **9**, 441 (1957).
30. KAJTOR, F., HULLAY, J., FARAGÓ, L. u. HABERLAND, K.: Arch. Neurol. Psychiat. **30**, 25 (1958).
31. KAJTOR, F., HABERLAND, K. u. HULLAY, J.: Excerpta Med. Sect. VIII, Ist International Congress of Neurological Sciences, Brussels, July, S. 183 (1957).
32. LIBERSON, W. T. u. AKERT, K.: EEG Clin. Neurophysiol. **7**, 211 (1955).
33. PASSOUANT, O., GROS, C., VAN BOGAERT, L. u. CADILHAC, J.: Rev. Neurol. **92**, 96 (1955).
34. PENFIELD, W. u. JASPER, H.: Epilepsy and the Functional Anatomy of the Human Brain. Little, Brown & Co, Boston, S. 565 (1954).
35. ROSSI, G. F. u. ZANCHETTI, A.: Arch. Ital. Biol. (Pisa) **95**, 199 (1957).
36. SEGUNDO, J. P., NAQUET, R. u. BUSER, P.: J. Neurophysiol. **18**, 236 (1955).
37. WALTER, G. W.: J. Ment. Sci. **96**, 1 (1950).

PARALLELE BESTIMMUNG DES ARTERIELLEN UND PORTALEN KREISLAUFS DER LEBER MITTELS DER BROMSULFALEINMETHODE UND MIT DEM ROTAMETER

Von

A. FISCHER, L. TAKÁCS und G. MOLNÁR

III. MEDIZINISCHE KLINIK DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, BUDAPEST

(Eingegangen am 4. September 1958)

Während die Bromsulfaleinmethode zur Bestimmung der gesamten, die Leber passierenden Blutmenge allgemein Eingang gefunden und als zuverlässig anerkannt ist [1], beruhen die wenigen Untersuchungen, welche die relativen Anteile des portalen und arteriellen Kreislaufs nebeneinander bestimmt haben, auf Anwendung der Reinschen Thermostromuhr. Mit Hilfe dieses Verfahrens fanden GRAB und Mitarb. [2], daß der arterielle Anteil der Leberdurchblutung in der Ruhe 12—22% beträgt. SCHWIECK [3] fand unter denselben Bedingungen einen arteriellen Anteil von 20—25%, der sich jedoch nach mechanischer Drosselung der Pfortader um 50—100% erhöhte. Orale Darreichung von Pepton, Olivenöl und Glukose hatte einen alleinigen Anstieg des portalen, i. v. Injektion von Decholin, Glukose und Insulin einen alleinigen Anstieg des arteriellen Anteils zur Folge, während Darreichung von Natriumlaktat einen Anstieg in beiden Kreislaufgebieten bewirkte. Es scheint daher, daß die Regulation der beiden Kreislaufgebiete unabhängig voneinander erfolgen kann. SOSKIN und Mitarb. [4] fanden mit demselben Verfahren Variationen des arteriellen Anteils zwischen 10—90%.

Die Verlässlichkeit der Werte, welche mit Hilfe der Thermostromuhr gewonnen wurden, sind von vielen Nachuntersuchern in Zweifel gezogen worden [5, 6, 7, 8]. Dagegen besteht weitgehende Übereinstimmung darüber, daß die arterielle Durchblutung mit Hilfe des Rotameters mit einer Fehlerquelle von etwa 10% bestimmt werden kann [9]. Wir haben demnach die Bromsulfaleinmethode mit der rotametrischen Bestimmung der arteriellen Durchblutung kombiniert, und die Kreislaufsgrößen unter Ruhebedingungen sowie nach verschiedenen pharmakologischen und anderen Einwirkungen bestimmt. Die Versuche haben wir an 63 Hunden durchgeführt.

Methodik

Die Bestimmung der gesamten Leberdurchblutung erfolgte nach der von BRADLEY [10] beschriebenen Methode. Ein Katheter wurde bei den mit Chloralose narkotisierten Hunden in eine Jugularvene eingeführt, sodann unter Röntgenkontrolle in eine Lebervene geführt. Wir überzeugten uns von der richtigen Lage des Katheters mit Hilfe einer Probebestimmung von Bromsulfalein im Katheter- und arteriellen Blut; die Extraktion mußte mehr als 25%

betrugen. Anschließend an die Katheterisierung wurden bei einem Teil der Versuche einige Vorperioden von 5—10 Min. bestimmt, nachher erfolgte die Eröffnung der Bauchhöhle und Präparation der Leberarterie. Sodann erhielten die Hunde 8 mg/kg Heparin i. v. Die A. hepatica communis wurde mit dem vorher in die A. femoralis eingebundenen Rotameter verbunden, nachdem die distal von den Leberzweigen weiterführende A. pancreatico-duodenalis abgebunden wurde. Nach erfolgter Einbindung wurde der Versuch in Perioden von 5—10 Minuten fortgesetzt. Der Rotameter wurde nach jedem Versuch kalibriert; die Bestimmung der gesamten Leberdurchblutung erfolgte auf Grund der ermittelten Hämatokritwerte nach der üblichen Formel. Die Bestimmung des Bromsulfaleins wurde mittels dem Beckman B. Spektrophotometer durchgeführt.

Versuchsergebnisse

1. Normalwerte und Änderung der Leberdurchblutung nach Laparatomie

Die erste Frage, die geklärt werden mußte, war die Wirkung der Laparatomie und der Einbindung des Rotameters auf die gesamte Leberdurchblutung. Es war von vornherein zu erwarten, daß dieser, etwa 20 Minuten dauernde, Eingriff für den Kreislauf nicht gleichgültig sei; tatsächlich kam es in 9 von den in Tab. I zusammengestellten 10 Versuchen zu einem mehr oder weniger starken Blutdrucksturz, der im Durchschnitt 52 mm Hg betrug, aber in einzelnen Fällen von 25 bis 80 mm schwankte. Nur in 2 Fällen sank der Blutdruck tiefer als 100 mm Hg, doch konnte auch bei höheren absoluten Blutdruckwerten ein leichter Schockzustand nicht ausgeschlossen werden. Es ist demnach nicht überraschend, daß der Durchschnittswert der gesamten Leberdurchblutung in den Vorperioden 40,5 ml/Min./kg, nach Einbinden des Rotameters jedoch bloß 25,6 ml/Min./kg betrug. Merkwürdigerweise war auch im Versuch 46, dem einzigen, bei welchem der Eingriff keine Senkung des Blutdrucks zur Folge hatte, die Leberdurchblutung nach der Laparatomie um 41% gesunken, also um ca. ebensoviel, wie im Durchschnitt aller Versuche (38%). Es hat den Anschein, daß das Ausmaß der Abnahme der gesamten Leberdurchblutung sowohl von den absoluten Blutdruckwerten, wie auch von der Größe des Blutdrucksturzes während der Laparatomie abhängt; auf jeden Fall muß damit gerechnet werden, daß die Einbindung des Rotameters bereits eine, im Einzelfall unberechenbare Abnahme der gesamten Leberdurchblutung zur Folge haben kann, und so die erhaltenen Werte nicht immer als physiologisch betrachtet werden können.

Der Durchschnittswert der absoluten arteriellen Durchblutung betrug 5,4 ml/Min./kg, mit Schwankungen zwischen 2,5 und 9,3 ml/Min./kg. Der prozentuelle Anteil der arteriellen Durchblutung schwankte zwischen 10 und 58%, er betrug im Durchschnitt 26%. Es besteht jedoch ein bemerkenswerter Unterschied zwischen den Perioden, bei welchen die Leberdurchblutung 30 ml/Min./kg erreicht, bzw. überschreitet, und den Perioden, wo diese weniger als 30 ml/Min./kg beträgt. Der prozentuelle Anteil der arteriellen Durchblutung in den ersten 10 Perioden beträgt in Durchschnitt 14,4%, während er bei der zweiten Gruppe (18 Perioden) 33% ausmacht. Die graphische Registrierung

Tabelle I
Normalwerte des Leberkreislaufs vor und nach Laparatomie

Hund No.	EHBF ml/Min.	EHBF ml/Min. kg	A. hep. ml/Min.	A. hep. ml/Min. kg	Art. Anteil %	Blutdruck	
44	720	36,0	—	—	—	135	Vorperiode
20 kg	900	45,0	—	—	—	130	„
	680	34,0	120	6	18	90	Rotameter
	450	22,5	90	4,5	20	90	„
	395	20,0	80	4,0	20	85	„
	640	32,0	72	3,6	11	60	„
46	873	43,5	—	—	—	150	Vorperiode
20 kg	980	49,0	—	—	—	160	„
	600	30,0	109	5,5	18	170	Rotameter
	510	25,5	74	3,7	18	150	„
	490	24,5	50	2,5	10	150	„
47	560	45,0	—	—	—	170	Vorperiode
12,5 kg	560	45,0	—	—	—	170	„
	610	49,0	—	—	—	170	„
	360	29,0	82	6,6	22,5	90	Rotameter
	215	17,0	82	6,6	38,0	105	„
	205	16,5	72	5,8	35,0	105	„
48	580	29,0	—	—	—	170	Vorperiode
20 kg	660	33,0	—	—	—	170	„
	750	37,5	—	—	—	170	„
	600	30,0	100	5,0	17	125	Rotameter
	690	34,5	100	5,0	15	130	„
	820	41,0	85	4,2	10	125	„
	670	33,5	85	4,2	13	120	„
49	430	30,0	—	—	—	195	Vorperiode
14,5 kg	660	45,5	—	—	—	195	„
	810	55,0	—	—	—	195	„
	340	24,0	96	6,6	28	135	Rotameter
	255	17,5	77	5,3	30	130	„
	130	9,0	65	4,5	50	125	„

Tabelle I
(*Fortsetzung*)

Hund No.	EHBF ml/Min.	EHBF ml/Min. kg	A. hep. ml/Min.	A. hep. ml/Min. kg	Art. Anteil %	Blutdruck	
52 15 kg	570	37,0	—	—	—	165	Vorperiode
	510	34,0	—	—	—	165	„
	245	16,0	117	7,8	47	85	Rotameter
	285	19,0	117	7,8	40	95	„
54 17 kg	760	44	—	—	—	155	Vorperiode
	570	34	—	—	—	155	„
	390	23	100	5,9	25	130	Rotameter
	285	17	100	5,9	35	125	„
55 16 kg	365	23	—	—	—	200	Vorperiode
	265	17	—	—	—	200	„
	265	17	60	3,7	22	150	Rotameter
	490	30,5	66	4,1	14	140	„
56 14,5 kg	700	48	—	—	—	200	Vorperiode
	760	52	—	—	—	200	„
	590	40	—	—	—	200	„
	175	12	90	6,2	52	120	Rotameter
	154	11	90	6,2	58	115	„
	200	14	90	6,2	45	115	„
	500	36	—	—	—	150	Vorperiode
57 14 kg	920	65	—	—	—	160	„
	720	51	130	9,3	18	115	Rotameter
	840	60	83	5,9	10	115	„

Durchschnitt der 24 Vorperioden: 40,5

Durchschnitt der 28 Nachperioden: 25,6

EHBF: Gesamte Leberdurchblutung.

der Ergebnisse (Abb. 1) zeigt einen deutlichen Zusammenhang zwischen der Größe des arteriellen Anteils und der gesamten Leberdurchblutung. In der Annahme, daß die erste Gruppe den physiologischen Verhältnissen nahekommt, kann daher geschlossen werden, daß der arterielle Anteil nicht mehr als 10–18% der gesamten Durchblutung der Leber beträgt, und nur bei aphysiologisch niedrigen gesamten Durchblutungswerten sich auf über 20%, ja selbst bis 50% oder mehr erhöht. Das bedeutet, daß nach der Lapara-

tomie die portale Blutzufuhr zur Leber meist abnimmt, während die arterielle Zufuhr erhöht wird oder unverändert bleibt. Eine strenge Korrelation zwischen dem Ausmaß des Blutdrucksturzes einerseits, des prozentuellen Anteils (Abb. 2) bzw. der absoluten Höhe der arteriellen Durchblutung (Abb. 3)

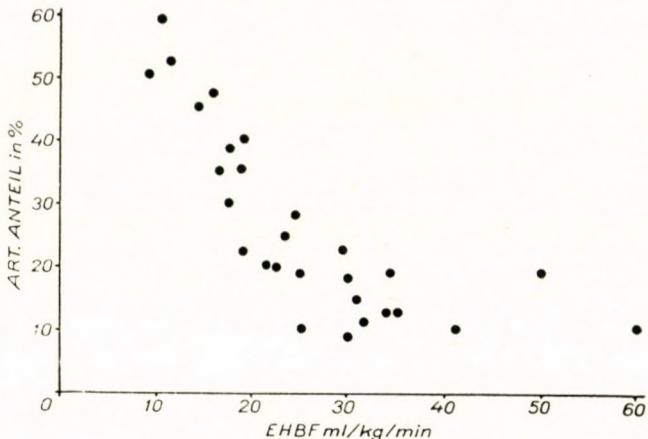


Abb. 1. Prozentuales Verhältnis des arteriellen Anteils bei verschiedenen Werten der gesamten Leberdurchblutung (EHBF)

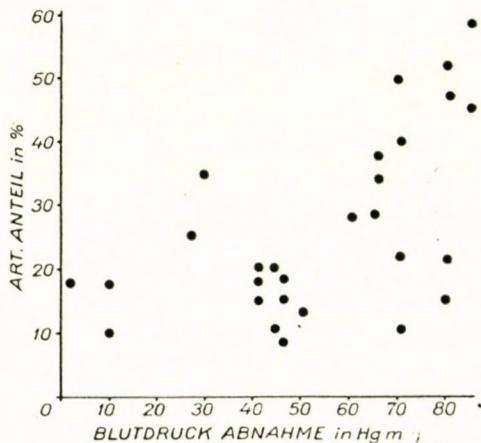


Abb. 2. Prozentuelles Verhältnis des arteriellen Anteils bei verschiedenen hohem Blutdrucksturz

anderseits ließ sich zwar nicht nachweisen, doch geht aus den Abbildungen hervor, daß bei stärkerem Blutdrucksturz eine Tendenz zur Erhöhung der absoluten und prozentuellen arteriellen Durchblutung besteht. Offenbar sind auch in dieser Hinsicht die absoluten Blutdruckwerte nicht belanglos; eine gewisse Tendenz zur Erhöhung der absoluten Werte der arteriellen Durchblutung bei niedrigen absoluten Blutdruckwerten geht aus Abb. 4 hervor.

2. Änderungen des Leberkreislaufs auf gefäßwirksame Stoffe

Wir untersuchten zunächst die Wirkung einiger gefäßwirksamer Substanzen auf die einzelnen Abschnitte des Leberkreislaufs; nach einigen

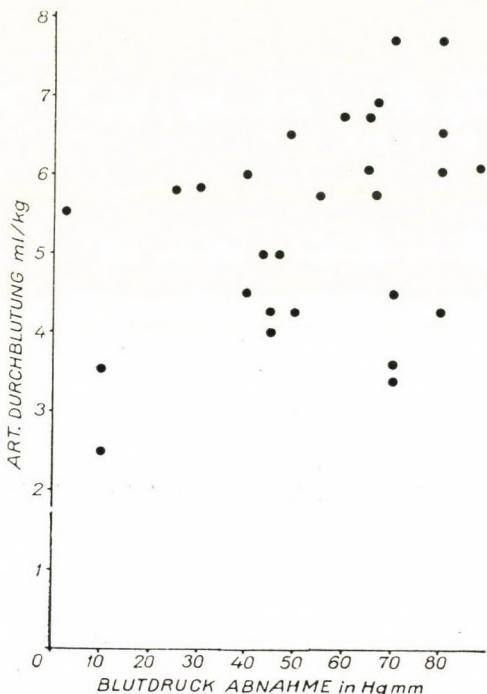


Abb. 3. Absolute Werte der art. Durchblutung im Verhältnis zur Höhe des Blutdrucksturzes

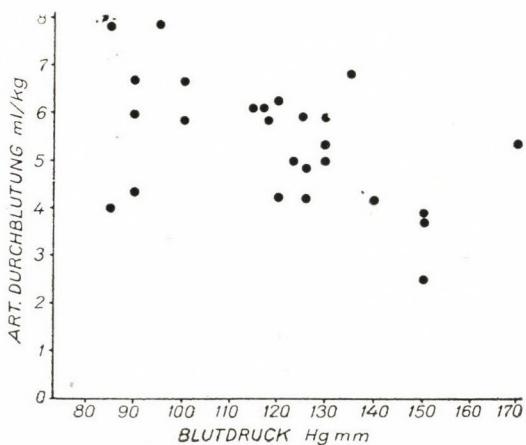


Abb. 4. Absolute Werte der arteriellen Durchblutung im Verhältnis zu dem absoluten Blutdruckwert

Tabelle II
Änderungen des Leberkreislaufs auf vasoaktive Stoffe

Hund No.	EHBF ml/Min.	A. hep. ml/Min.	Art. Anteil %	A. hep. Resistenz 10^3 dyn/sec/cm $^{-5}$	Blutdruck	Behandlung
46 20 kg	600	109	18	124	170	—
	510	74	15	160	150	—
	490	50	10	239	150	—
	550	163	30	122	150—250	100 µg Adrenalin/Min.
	530	27—42	7	—	130—60	—
	680	100	15	88	110	—
	450	134—186	35	107	100—250	100 µg Noradren./Min.
	550	80—100	16	—	140—65	—
	500	162	32	49	100	—
	530	126	23	64	90	—
42 13 kg	400	126	25	70	110	60 µg Noradrenal./Min.
	250	80	32	—	55	—
	530	120	23	—	140	—
	630	120	19	—	130	—
41 19,5 kg	610	100	16	104	130	—
	400	180	45	90	120—200	60 µg Adrenal./Min.
	460	—	—	—	70	—
	400	—	—	—	140—200	60 µg Noradr./Min.
	460	—	—	—	100	—
	220	65	29	92	75	—
	172	65	37	68	55	—
	340	92	27	112	130	60 µg Adrenal./Min.
39 18 kg	460	60	13	66	50	—
	320	120	37	73	110	60 µg Noradr./Min.
	260	70	35	68	60	—
	360	130	36	—	110	—
	360	140	39	63	110	—
	370	100	27	80	100	—
	340	120	35	63	95	—
19 17 kg	320	150	47	107	90—200	60 µg Noradr./Min.
	310	40	13	—	60—45	—
	—	—	—	—	—	—

Tabelle II
(Fortsetzung 1)

Hund No.	EHBF ml/Min.	A. hep. ml/Min.	Art. Anteil %	A. hep. Resistenz 10^3 dyn/sec/cm $^{-2}$	Blutdruck	Behandlung
18 22 kg	450	70	16	—	110	—
	460	42	9	190	100	—
	415	40	10	200	100	—
	215	40	19	200	100	—
	245	70	29	171	90—150	80 μ g Adrenal./Min.
	385	52	14	115	75	—
12 19 kg	220	73	33	131	120	—
	220	46	21	217	125	—
	195	60	30	—	115	—
	265	?	?	?	95—140	30 μ g Adrenal./Min.
	155	46	30	—	75	—
	145	50	30	112	70	—
13 24 kg	147	73	50	153	60—140	60 μ g Adrenal./Min.
	138	50	35	—	70	—
	600	160	26	—	150	—
	740	100	14	100	125	—
	300	120	40	126	110—190	30 μ g Noradqr./Min.
	240	120	50	60	85—70	—
14 14 kg	620	205	33	70	105—180	70 μ g Adrenal./Min.
	—	37	—	—	110	—
	—	27	—	—	120	—
	—	44	—	200	110	—
	310	56	12	200	110—140	80 μ g Adrenal./Min.
	255	50	12	103	65	—
40 16 kg	425	72	11	176	60—160	50 μ g Noradrenal./Min.
	—	56	—	—	60—80	—
	500	90	18	—	110	—
	490	110	22	83	115	—
48 20 kg	440	80—36	8	133	60—100	60 μ g Acetylcholin/Min.
	600	100	17	—	125	—
	690	100	15	—	130	—
	670	85	13	112	120	—

Tabelle II
(Fortsetzung 2)

Hund No.	EHBF ml/Min.	A. hep. ml/Min.	Art. Anteil %	A. hep. Resistenz $10^3 \text{ dyn/sec/cm}^{-5}$	Blutdruck	Behandlung
48 20 kg	670	65	10	129	105	60 µg Acetylcholin/Min.
	830	85	10	—	85	100 µg Acetylcholin/Min.
47 12,5 kg	360	82	22	—	90	—
	215	82	38	—	105	—
	205	72	55	116	105	—
	295	22—44	74	174	50—60	60 µg Acetylcholin/Min.
	260	54	21	—	70	—
	300	62	21	—	80	—

EHBF : Gesamte Leberdurchblutung.

Vorperioden wurden die Mittel in Form kontinuierlicher Infusion während der angegebenen Periode intravenös verabreicht. Die Ergebnisse mit Adrenalin, Noradrenalin und Acetylcholin gibt Tab. II wieder.

Wie aus Tab. II ersichtlich, ist in allen Perioden, in welchen Adrenalin oder Noradrenalin verabreicht wurde, der Blutdruck mehr oder weniger stark angestiegen.

In den Perioden, in welchen Adrenalin verabreicht worden ist, kam es in 5 Fällen zur Erhöhung der gesamten Leberdurchblutung, in 1 Fall blieb letztere unverändert, in 1 Fall war sie gesunken. In allen 7 untersuchten Fällen kam es zu einer deutlichen Erhöhung der arteriellen Durchblutung (Abb. 5); der prozentuelle Anteil der arteriellen Durchblutung zeigte keine eindeutigen Veränderungen. Die berechnete Resistenz der Leberarterie hat sich während der Adrenalinwirkung nur unwesentlich und nicht gleichsinnig verändert. Die Erhöhung der Leberdurchblutung dürfte daher nicht so sehr auf eine Erweiterung der Leberarterie, als auf die Erhöhung des Blutdrucks zurückzuführen sein.

In den Perioden, in welchen Noradrenalin verabreicht wurde, war nur in 1 Fall die gesamte Leberdurchblutung erhöht; in 4 Fällen war diese herabgesetzt, in 1 Fall unverändert. Die arterielle Durchblutung war dagegen in allen 6 Fällen erhöht (bei No. 42 war die arterielle Durchblutung vor Noradrenalin 100 ml/Min., vgl. Tab. IV), daher war der prozentuelle Anteil der arteriellen Durchblutung nach Noradrenalineinwirkung in der Regel höher. Die berechnete Resistenz der Leberarterie war in allen Fällen mehr oder weniger stark erhöht, daher ist die Erhöhung der arteriellen Durchblutung allein auf die Erhöhung des Blutdrucks zurückzuführen.

Acetylcholin bewirkte in jedem Fall ein Sinken des arteriellen Blutdrucks. Die gesamte Leberdurchblutung zeigte keine eindeutigen Veränderungen, dagegen ist die arterielle Durchblutung in den 3 Fällen der Tab. II deutlich gesunken. Bei einem weiteren Hund (No. 62) von 17 kg haben wir allein die arterielle Durchblutung untersucht; nach i. v. Infusion von 40 g/Min. Acetylcholin sank der Durchblutungswert von 77 ml/Min. auf 24 ml/Min. Gleichzeitig sank auch der Blutdruck von 150 auf 110 mm Hg, während die Resistenz

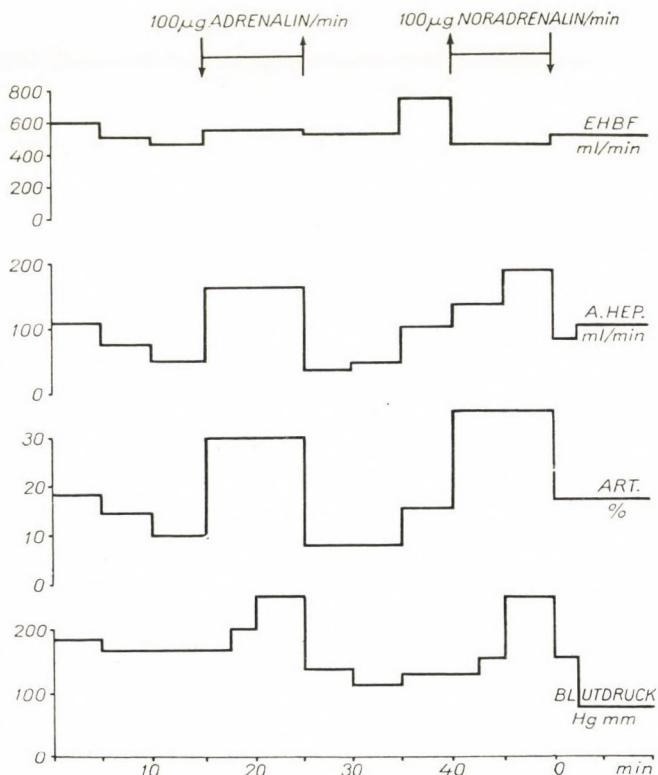


Abb. 5. Änderungen des Leberkreislaufs bei einem 20 kg schweren Hund auf Adrenalin und Noradrenalin

der Leberarterie von 180 auf 350 anstieg. Wir fanden in 3 Fällen einen deutlichen, in 1 Fall einen geringeren Resistenzanstieg. Es kann daher angenommen werden, daß die Abnahme der arteriellen Durchblutung z. T. auf Gefäßkonstriktion beruht, obwohl die Abnahme des Blutdruckes im selben Sinne wirken konnte (Abb. 6).

Dibenamin (vergleiche Tab. III) hat den Blutdruck nur in 2 von insgesamt 6 untersuchten Fällen gesenkt. (In den Versuchen 52 und 54 betrug die Dibenaminperiode 20 Min., in den übrigen Versuchen 10 Min., gefolgt

von einer Kontrollperiode von 10 Min.) Die gesamte Leberdurchblutung zeigte in 2 Fällen eine leichte Erhöhung, in 3 Fällen war sie deutlich gesunken; die arterielle Durchblutung erlitt in allen untersuchten Perioden eine kurz-dauernde, aber meist hochgradige Senkung. Die berechnete Resistenz der Leberarterie zeigte beim tiefsten Stand des Rotameters in allen Fällen einen kleineren oder größeren Anstieg; es kann daher die Abnahme der arteriellen

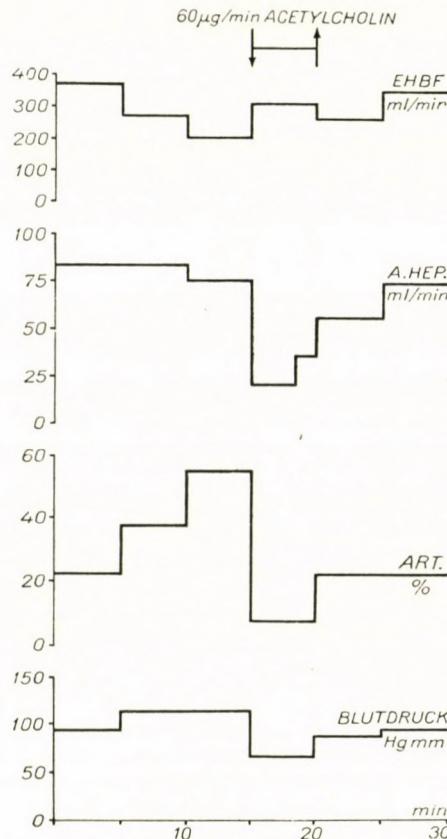


Abb. 6. Änderung des Leberkreislaufs bei einem 13 kg schweren Hund auf Acetylcholin

Durchblutung auf kurzdauernde Vasokonstriktion der Leberarterie zurückgeführt werden, zumal der Blutdruck in 4 von insgesamt 6 Fällen unverändert geblieben war.

3. Änderungen des Leberkreislaufs auf i. v. verabreichte Stoffwechselprodukte

In Anbetracht des Umstandes, daß Abbau bzw. Ausscheidung vieler physiologischer Substanzen allein oder überwiegend durch die Leber erfolgt,

Tabelle III
Änderungen des Leberkreislaufs auf 8 mg/kg Dibenamin i. v.

Hund No.	EHBF ml/Min.	A. hep. ml/Min.	Art. Anteil %	A. hep. Resistenz $10^3 \text{ dyn/sec/cm}^{-5}$	Blutdruck	Behandlung
52 15 kg	245	117	47	—	85	—
	285	117	40	61	95	—
	305	33	11	265	110	Dibenamin
53 20 kg	—	140	—	—	120	—
	—	140	—	68	120	—
	—	100—72	—	130	120	Dibenamin
	—	120	—	—	120	—
54 17 kg	390	100	25	—	130	—
	285	100	35	96	125	—
	245	100—53	33	100	120—70	Dibenamin
44 16 kg	490	66	14	165	140	—
	520	54	11	188	130	Dibenamin
	490	72	15	—	115	—
56 14,5 kg	174	90	52	—	120	—
	154	90	58	—	115	—
	200	90	45	100	115	—
	150	90—42	28	167	115—90	Dibenamin
	128	100	78	—	110	—
57 14 kg	720	130	18	—	115	—
	840	83	10	107	115	—
	380	31	8	300	115	Dibenamin
	360	56	16	—	125	—

EHBF : Gesamte Leberdurchblutung.

war es naheliegend, zu untersuchen, ob Belastung mit solchen Stoffen zu Änderungen des Leberkreislaufs führe.

Wir haben wegen der unsicheren Resorptionsbedingungen in kurzfristigen Versuchen auf orale Belastungen verzichtet und bloß intravenöse Belastungen mit Glukose, Glykokoll, Natriumlaktat und Decholin durchgeführt (Tab. IV).

Wie aus Tab. IV ersichtlich, haben Glukose, Glykokoll und Natriumlaktat weder die gesamte Leberdurchblutung, noch deren arteriellen Anteil nennenswert geändert. Nach Decholininjektion hat sich die gesamte Leberdurchblutung in 2 Fällen erhöht und war in 2 Fällen niedriger geworden;

Tabelle IV

Änderungen des Leberkreislaufs auf intravenöse Belastung mit Stoffwechselprodukten

Hund No.	EHBF ml/Min.	A. hep. ml/Min.	Art. Anteil %	Blutdruck	Behandlung
26 14,5 kg	—	90	—	140	—
	—	93	—	130	5 g Na laktat + 5 g Glykokoll
	—	90	—	130	—
28 15 kg	345	180	52	110	—
	340	180	52	130	3 g Na laktat + 3 g Glykokoll
	265	180	68	140	—
	350	135	38	130	—
29 11 kg	—	110	—	120	—
	—	100	—	110	3 g Glykokoll
	—	95	—	100	—
42 13 kg	500	162	32	100	—
	530	126	23	90	—
	450	126	28	90	8 g Glukose
	540	100	18	60	1 g Decholin
43 14,5 kg	225	90	40	120	—
	210	105	50	120	—
	200	105	55	110	—
	255	105	41	95	1 g Decholin
	360	105	29	100	4 g Glukose
	320	105	33	90	—
	255	110	43	90	2 g Decholin
44 20 kg	680	120	18	90	—
	395	80	20	85	—
	285	70—40	25—14	70	1 g Decholin
45 15 kg	—	70	—	100	—
	—	70	—	90	—
	—	64	—	90	—
	—	29—43	—	80—40	1 g Decholin
	—	57	—	80	—

EHBF : Gesamte Leberdurchblutung.

die arterielle Durchblutung zeigte in 3 Fällen eine deutliche Senkung und blieb in 2 Perioden unverändert. In keinem Fall konnten wir daher die mittels Thermostromuhr gewonnenen Ergebnisse mit unserer Methodik bestätigen.

Besprechung

Aus unseren Untersuchungen geht zunächst hervor, daß es prinzipiell sehr schwierig ist, den »physiologischen« Anteil der A. hepatica an der Leberdurchblutung zu bestimmen, da die erforderliche Laparatomie und Präparation der Gefäße das Verhältnis der beiden Kreislauffaktoren wesentlich verändert. Vor der Laparatomie fanden wir mit der Bromsulfaleinmethode eine durchschnittliche Leberdurchblutung von 40,5 ml/Min./kg, was mit den Angaben der Literatur gut übereinstimmt; dieser Wert sank nach Einbinden des Rotameters auf durchschnittlich 25,6 ml/Min./kg, also auf Werte, welche früher mit Hilfe der Thermostromuhr gefunden worden sind [2, 11, 12], deren Anwendung ja ebenfalls Laparatomie und Präparation der Gefäße voraussetzt. Es muß jedoch betont werden, daß es sich um Durchschnittswerte handelt; in 10 von insgesamt 28 Perioden erhielten wir nach der Laparatomie Werte über 30 ml/Min./kg, welche den gesamten Durchblutungswerten vor der Laparatomie nahekommen. Wir haben bei der Beschreibung der Versuche bereits erwähnt, daß die Abnahme der gesamten Durchblutung nach der Laparatomie sowohl von der Größe des Blutdrucksturzes, wie von den nach der Laparatomie erreichten absoluten Blutdruckwerten abhängen dürfte.

Der prozentuelle Anteil des arteriellen Faktors betrug in den Perioden mit annähernd normaler gesamter Leberdurchblutung 10–18%, im Durchschnitt 14,4%; obwohl auch dieser Wert natürlich nach Laparatomie gewonnen wurde, kann er als annähernd physiologisch betrachtet werden. Dieser Wert ist wesentlich niedriger, als der von BARCROFT und SHORE [13] auf blutigem Wege nach Abklemmung der Pfortader erhaltene Wert von 39% und auch niedriger, als der von SCHWIEGK [3] mit Hilfe der Thermostromuhr gefundene Wert von 20–25%. In der Literatur finden sich vielfach schwankende und hohe Werte für den arteriellen Anteil an der Leberdurchblutung, so bei WAKIM [14] von 12–44% und im Lehrbuch von EVANS [15] von »wenigstens 25%«; in den meisten Lehrbüchern und Monographien wird die eingangs erwähnte Arbeit von SOSKIN und Mitarb. [4] mit Schwankungen des arteriellen Anteils von 10–90% angeführt. Nun unterliegt es keinem Zweifel, daß recht oft tatsächlich höhere Werte des arteriellen Anteils gefunden werden; so betrug unser Durchschnittswert 33% in den Perioden mit erniedrigter gesamter Durchblutung. Diese hohen Werte werden, wie bereits erwähnt, durch Senkung der gesamten Durchblutung verursacht, wobei der arterielle Anteil unverändert bleibt oder zwar etwas erhöht wird, der Anstieg der prozentuellen Beteiligung ist aber wahrscheinlich in erster Reihe auf Abnahme des portalen Anteils des Leberkreislaufs zurückzuführen. Wir haben gezeigt, daß bei niedrigen Blutdruckwerten die absoluten Werte der arteriellen Durchblutung eine Tendenz zum Ansteigen zeigen (Abb. 4) und eine ähnliche Tendenz besteht bei größeren Blutdrucksturzen (Abb. 3). Für

eine »kompensatorische« Erhöhung der arteriellen Durchblutung im Falle sinkender Gesamtdurchblutung haben wir jedoch keine Beweise; die graphische Registrierung des Gesamtwertes einerseits, der absoluten Werte der arteriellen Durchblutung anderseits zeigte keine gesetzmäßigen Zusammenhänge.

Was die Wirkung der vasoaktiven Stoffe betrifft, so sind unsere Ergebnisse mit Adrenalin und Noradrenalin auf die gesamte Durchblutung in gutem Einklang mit den Resultaten von SHERLOCK [16]. Die *arterielle Durchblutung* wird, wie wir gesehen haben, sowohl durch Adrenalin, wie durch Noradrenalin erhöht, was jedoch nicht auf Gefäßerweiterung beruht, da die Resistenz der Leberarterie nach Adrenalin keine eindeutige Änderung zeigte und sich nach Noradrenalin deutlich erhöhte. Die i. v. Darreichung von Acetylcholin hat zur Abnahme der arteriellen Durchblutung und gleichzeitiger Resistenzverhöhung geführt; die Abnahme der Durchblutung kann sowohl durch die gleichzeitige Senkung des Blutdrucks, wie durch die Kontraktion der Leberarterie verursacht worden sein. Auch nach i. v. Verabreichung von Dibenamin ist es zu kurzdauernder Abnahme der arteriellen Durchblutung gekommen, während die Resistenz der Leberarterie gleichzeitig anstieg.

Intravenöse Belastung mit Glukose, Glykokoll und Natriumlaktat haben weder die gesamte Leberdurchblutung noch den arteriellen Anteil nennenswert geändert. Nach Injektion von Decholin war die arterielle Durchblutung — im Gegensatz zu früheren Literaturangaben [3] — in der Mehrzahl der Fälle verringert, was wohl auf die gleichzeitige Blutdrucksenkung zurückgeführt werden dürfte.

Über das Verhalten der beiden Kreislauffaktoren der Leber bei arterieller Hypoxie wird später berichtet.

ZUSAMMENFASSUNG

Zwecks getrennter Bestimmung der arteriellen und der Gesamtdurchblutung der Leber wurden an 63 Hunden kombinierte Untersuchungen mit Hilfe des Bromsulfaleinverfahrens und mittels Rotameter durchgeführt. Die Untersuchungen ergaben folgende Resultate.

1. Wir fanden, daß die Gesamtdurchblutung der Leber nach Laparatomie und Einbindung des Rotameters in die Leberarterie von durchschnittlich 40,5 ml/Min./kg auf durchschnittlich 25,6 ml/Min./kg, also um 38% gesunken ist; der für die Messung unerlässliche Eingriff hat daher in der Mehrzahl der Fälle eine Abnahme der Gesamtdurchblutung zur Folge.

2. Der absolute Wert der arteriellen Durchblutung der Leber betrug durchschnittlich 5,4 ml/Min./kg; der prozentuelle Anteil war im Durchschnitt 26%. Es ergab sich jedoch ein deutlicher Zusammenhang zwischen der arteriellen Beteiligung und der Höhe der gesamten Durchblutung; bei annähernd physiologischen Werten von 30 ml/Min./kg oder darüber war der arterielle Anteil im Durchschnitt 14,4%, bei niedrigerer Gesamtdurchblutung 33%. Der Anstieg ist wahrscheinlich in erster Reihe auf Abnahme des portalen Anteils, in manchen Fällen auch auf absolute Erhöhung des arteriellen Faktors zurückzuführen, jedoch haben wir keine Beweise für eine gesetzmäßige Erhöhung der arteriellen Durchblutung bei fallender Gesamtdurchblutung.

3. Die arterielle Durchblutung der Leber wird sowohl durch Adrenalin, wie durch Noradrenalin erhöht, was jedoch nicht auf Gefäßerweiterung, sondern auf die gleichzeitige Blutdruckerhöhung zurückgeführt werden muß. Acetylcholin bewirkt Abnahme der arteriellen Durchblutung der Leber durch Gefäßkontraktion; ebenso wirkt, wenn auch kurz-dauernd, die i. v. Injektion von Dibenamin.

4. Intravenöse Belastungen mit Glukose, Glykokoll und Natriumlaktat haben weder die gesamte Leberdurchblutung, noch deren arteriellen Anteil nennenswert geändert; nach i. v. Injektion von Decholin war die arterielle Durchblutung in der Mehrzahl der Fälle vermindert, wohl als Folge der gleichzeitigen Blutdrucksenkung.

Für die wertvolle technische Hilfe bei unseren Versuchen sind wir Frau V. VAJDA und Herrn A. KARAI zu Dank verpflichtet.

LITERATUR

1. FISCHER, A., Physiologie und experimentelle Pathologie der Leber, Akademieverlag Budapest und Berlin, 1959.
2. GRAB, W., JANSSEN, S. und REIN, H., Klin. Wsch. **8**, 1539 (1929).
3. SCHWIEGK, H.: Arch. exp. Path. Pharmak. **168**, 693 (1932).
4. SOSKIN, S., ESSEX, H., HERRICK, J. F., MANN, F. C.: Amer. J. Phys. **124**, 558 (1938).
5. BENNETT, H. S., SWEET W. H. und BASSETT, D. L.: J. Clin. Invest. **23**, 200 (1944).
6. GREGG, D. E.: Amer. J. Phys. **136**, 250 (1942).
7. SCHMIDT, C. F., HENDRIX, J. P.: Proc. Res. Nerv. Dis. **18**, 229 (1937).
8. SHIPLEY, R. E., GREGG, D. E., WEARN, J. T.: Amer. J. Phys. **136**, 263 (1942).
9. SHIPLEY, R. E.: Methods in Medical Research, I, 96 (1948).
10. BRADLEY, S. E.: J. clin. Invest. **24**, 890 (1945).
11. GRODINS, F. S.: Amer. J. Phys. **132**, 375 (1941).
12. GRINDLAY, J. H.: Amer. J. Phys. **132**, 489 (1941).
13. BARCROFT und SHORE: J. Physiol. (Lond.) **45**, 296 (1912).
14. WAKIM, K. G.: Amer. J. Med. **16**, 256 (1954).
15. EVANS, C. L.: Principles of Human Physiology, London, S. 222, 1949.
16. SHERLOCK, S.: Ciba Found. Symp. on Liver Disease, 1951.

ÜBER DIE ENDOANGIITIS (THROMBOANGIITIS) OBLITERANS AUF GRUND VON 300 FÄLLEN

Von

K. BUGÁR-MÉSZÁROS, G. OKOS und V. SAS

I. INNERE ABTEILUNG DES ISTVÁN-KRANKENHAUSES, BUDAPEST

(Eingegangen am 8. September 1958)

Obwohl man als ersten Beschreiber der Endoangiitis obliterans im allgemeinen WINIARTER (1879), den Schüler BILLROTHS, betrachtet, sind Angaben über die Erkrankung schon in der früheren Literatur anzutreffen. In seiner 1841 erschienenen Monographie beschrieb HECKER 16 jüngere (20—40jährige) Kranke, deren Gangrän von Arteriitis verursacht worden war. SKEGG (1851) berichtete über die Gangrän eines 35jährigen, JAESCHE über die eines 30jährigen Mannes unter dem Titel »Spontane Nekrose der Extremitäten«. WINIARTER gebührt das große Verdienst, im Anschluß an einen pathologisch-anatomisch und histologisch sorgfältig aufgearbeiteten Fall als erster erkannt zu haben, daß das Wesen der Krankheit in der primären entzündlichen Veränderung und sekundären Thrombose der Gefäßwand besteht und daß ferner am Krankheitsprozeß neben den Arterien auch die Venen teilnehmen. Bis zu den 1908 und 1910 erschienenen Mitteilungen BUERGERS wurden weitere Fälle noch von zahlreichen Autoren beschrieben. Die Benennung »Thromboangiitis obliterans« stammt von BUERGER, der die Aufmerksamkeit auf die Erkrankung der Arterien oft begleitende Thrombophlebitis migrans lenkte. Unter den späteren Monographien verdienen vor allem die von BROWN, ALLEN, MAHORNER (1928), HASSELBACH (1939) und LLAVERO (1948) Erwähnung. Der letztere Autor behandelt die Gehirnlokalisation der Erkrankung. Neben den Erkrankungen der Extremitäten- und Hirngefäße wurden auch noch die mehrerer anderer Organe beschrieben, so daß die Krankheit nach heutiger Auffassung nicht mehr als periphere, sondern als allgemeine Gefäßerkrankung betrachtet werden muß.

Die Ätiologie und Pathogenese der Krankheit ist trotz der in der Literatur dargestellten sehr zahlreichen Fälle noch immer ziemlich unklar, und auch die Angaben über den Krankheitsverlauf bedürfen der Ergänzung.

Es schien uns daher lohnend, das verhältnismäßig große Krankenmaterial unserer Abteilung aufzuarbeiten und unsere Erfahrungen mitzuteilen.

Von den seit November 1950 an unserer Abteilung behandelten 300 Kranken waren 297 Männer und 3 Frauen, welches Verhältnis ungefähr mit

den Literaturangaben im Einklang steht. Von BUERGERS 500 Kranken waren nur 2, von SILBERTS 1200 Patienten ebenfalls nur 2, von den 948 Kranken der Mayo-Klinik (laut HORTON) 2, unter den 550 Fällen von HERREL und ALLEN nur 1, von KOGAS 120 Kranken 1, von OPPELS 122 Fällen 2, von KUKINS 70 Kranken 2, von HASSELBACHS 217 Kranken nur 1 weiblichen Geschlechtes.

Das Alter unserer Kranken war zu Beginn der Erkrankung zwischen 16 und 46, das durchschnittliche Lebensalter 37 Jahre, was ebenfalls mit den Literaturangaben übereinstimmt.

Was den Beruf der Kranken anlangt, so leisteten 112 (37%) schwere körperliche, 114 (38%) leichte körperliche Arbeit, während 71 (25%) Geistesarbeiter waren. Die geistigen Arbeiter waren unter unseren Kranken in höherem Prozentsatz vertreten als unter der erwachsenen männlichen Bevölkerung des Landes. In der Gruppe der schwere Körperarbeit Leistenden waren lediglich 18, d. h. 6% aller Kranken, Landarbeiter. Das dürfte aber größtenteils darauf zurückzuführen sein, daß in der Provinz verhältnismäßig weniger Fälle erkannt werden und nur ein Teil der Kranken unserer Spezialabteilung zugeführt wird. Dieser Umstand trägt indessen in hohem Maße zum höheren Prozentsatz der geistigen Arbeiter bei, so daß man auf Grund unserer Angaben keineswegs feststellen darf, die Morbidität der geistigen Arbeiter sei größer als die der Handarbeiter. BROWN, ALLEN und MAHORNER haben zwischen der Morbidität der verschiedenen Berufe gleichfalls keinen Unterschied feststellen können. Dasselbe ergibt sich auch aus den Angaben von RATSCHOW.

Aus den anamnestischen Angaben sei folgendes erwähnt :

In der Familienanamnese von 15 Kranken kamen periphere Gefäßkrankheiten, in der von 61 andere Gefäßerkrankungen (z. B. Koronarthrombose, Apoplexie usw.) vor, unzweifelhafte allergische Erkrankungen in der Familie von 7 Kranken.

In der Anamnese der Kranken waren Infektionskrankheiten im Kindesalter in 120, im Erwachsenenalter in 98 Fällen festzustellen. Diese Zahlen überschreiten wahrscheinlich nicht die Häufigkeit des Auftretens in der Gesamtbevölkerung. Typische allergische Krankheiten ergab die Anamnese von 9 Kranken (3%). Die jungen, an peripherer Arterienverengerung leidenden Kranken, bei denen Syphilis festgestellt wurde, schlossen wir aus dieser Gruppe aus, um die Vermengung mit Fällen von Arteriitis syphilitica zu vermeiden. Das Zustandekommen dieser Krankheit durch einen spezifischen Krankheitserreger konnte bekanntlich nicht nachgewiesen werden. Auch BUERGERS Überimpfungsversuche hielten der Kritik nicht stand.

Die Mehrzahl unserer Kranken wurde auf Infektionsherde untersucht, und zwar 228 in bezug auf stomatologische, 234 auf laryngologische und 213 auf urologische Herde. Insgesamt erfolgten 675 Herduntersuchungen, von

denen 234 positiv ausfielen. Von den positiven Befunden waren 106 stomatologische, 123 laryngologische und 5 urologische Herde. Negativen Ausgang nahmen 122 stomatologische, 111 laryngologische und 208 urologische Untersuchungen. Aus der geringen Zahl der urologischen Herde darf geschlossen werden, daß diese pathogenetisch sehr wahrscheinlich keine Rolle spielen. Die Anzahl der laryngologischen Herde übertrifft die der negativen Befunde, während die Zahl der stomatologischen Herde der negativen Befunde nahekommt. Bei den 188 Kranken, die nach allen drei Richtungen untersucht wurden, war das Ergebnis nur in 6 Fällen völlig negativ. Obwohl also die ausschließliche Rolle der Herde in der Pathogenese der Krankheit nicht festgestellt werden kann, dürften diese in einzelnen Fällen doch sicher eine Rolle spielen, nämlich in jenen, in denen nach Entfernung der Herde Besserung eintritt, sowie in denjenigen, in denen es unmittelbar nach der Entfernung zu kurzer Exazerbation (Herdreaktion) kommt. In diesen Fällen dürfte ein allergischer Pathomechanismus mitwirken (BOSHAMER, SCHORCHER, SUNDER-PLASSMANN, ALBERTINI).

Viel häufiger als die Infektionsherde kam in der Anamnese der Kranken das Rauchen vor. Lediglich 14 der 300 Kranken waren Nichtraucher. Von den 286 Rauchern konsumierten nur 40 täglich bis zu 10 Zigaretten, 50 jedoch mehr als 30. 196 Kranke rauchten täglich 11—30 Zigaretten.

Zur Bewertung dieser Angaben hielten wir es für richtig, eine ohne Auswahl zusammengestellte Kontrollgruppe von 300 männlichen Krankenhauspatienten unserem Krankenmaterial gegenüberzustellen. Von dieser Gruppe waren 70 Nichtraucher, während 72 täglich 1—10, 127 täglich 11—30 und 31 mehr als 30 Zigaretten rauchten. Die Kontrollgruppe wies demnach 5mal so viele Nichtraucher auf, und die Anzahl der starken Raucher war erheblich niedriger als in der Gruppe der an Endoangiitis obliterans Leidenden. Diese Angaben sprechen dafür, daß in der Pathogenese der Endoangiitis obliterans dem Rauchen eine Rolle zugeschrieben werden muß, was im übrigen auch in der Literatur betont wird. In vielen Fällen wurde auch beobachtet, daß der Verzicht auf das Rauchen zur Besserung des Zustandes, die Wiederaufnahme aber zur stürmischen Verschlechterung führte. Das haben wir auch am eigenen Krankenmaterial wahrgenommen. Einige Autoren führen das Zustandekommen der Tabakschädigung ebenfalls auf einen allergischen Pathomechanismus zurück. HARKAVY nahm an 140 Kranken mit Thromboangiitis mit 5 verschiedenen Tabakextrakten intrakutane Hautproben vor und fand bei 78% positive Reaktion, in der aus 400 Rauchern bestehenden Kontrollgruppe jedoch nur bei 9% und in der Gruppe der an Arteriosclerosis obliterans Leidenden bei 45%. In 44% seiner Fälle mit positiver Hautprobe vermochte er durch passive Übertragung auch Tabakreagine im Serum nachzuweisen. Da andere (TRASOFF, BLUMSTEIN und MARKS, ALLEN, BARKER und HINES) die Ergebnisse HARKAVYS nicht zu

bestätigen vermochten, kann man die ätiologische Rolle der Tabakallergie noch nicht als vollkommen erwiesen betrachten. Sofern man die ätiopathogenetische Rolle des Rauchens akzeptiert, dürfte es sich keinesfalls nur um einen pharmakologischen bzw. toxikologischen, sondern hauptsächlich um einen allergischen Pathomechanismus handeln, da ja die überwiegende Mehrzahl der starken Raucher von der Krankheit nicht befallen wird. Daß Tabakrauch im Gefäßsystem wirklich eine allergische Reaktion auslösen kann, beweist der Fall jenes Kranken von MORAWITZ, bei dem das Rauchen »nahezu mit mathematischer Sicherheit« Ödem verursachte und der auch ödematos wurde, wenn jemand Tabakrauch auf ihn blies. Als einzige Ursache der Endangiitis obliterans ist jedoch das Rauchen auch im Falle der Mitwirkung eines allergischen Pathomechanismus nicht zu betrachten, da die Krankheit auch bei Menschen vorkommt, die niemals geraucht haben.

Aus der Beobachtung unseres Krankenmaterials und den Literaturangaben schließen wir, als Antigene können sowohl Tabakrauch als auch Infektionsherde eine Rolle spielen. Hierfür spricht auch, daß unter unseren Kranken nur 3 vorkamen, die weder rauchten noch einen nachweisbaren Herd aufwiesen. In diesen Fällen kann sich natürlich die Frage ergeben, ob nicht unzugängliche Herde vorhanden waren.

Die Krankheitsdauer betrug bis zum Zeitpunkt der Untersuchung bei 101 Kranken bis zu 12 Monate, in 100 Fällen 1—5 Jahre, in 99 Fällen mehr als 5 Jahre.

Im Zeitpunkt der Untersuchung fanden wir Arterienverengerung bei 142 der 300 Kranken nur an einer Extremität, bei 158 an zwei oder mehr Extremitäten. In 9 der letzteren Fälle beobachteten wir die Manifestation der Krankheit auch an den oberen Gliedmaßen. Um zu klären, welchen Einfluß die Krankheitsdauer auf die Manifestation der Arterienverengerung an mehreren Extremitäten hat, stellten wir folgende Angaben zusammen :

Tabelle I

Auf wieviele Extremitäten erstreckte sich und seit wieviel Jahren bestand die Krankheit?

Krankheitsdauer in Jahren :	0—1	2—5	6—10	11—15	16—20	21—25	Mehr als 25	Insgesamt
Eine untere Extremität	56	54	17	12	3	—	—	142
Zwei untere Extremitäten ...	42	40	39	23	3	2	—	149
Zwei untere + eine obere Extremität	—	—	—	—	—	—	1	1
Zwei untere + zwei obere Extremitäten	2	2	—	—	—	—	—	4
Nur 1 obere Extremität	1	1	—	—	—	—	—	2
Nur 2 obere Extremitäten	—	2	—	—	—	—	—	2

Nach den Angaben von Tabelle I ist der Prozeß bei einer Krankheitsdauer bis zu 5 Jahren häufiger auf eine untere Extremität beschränkt, während bei längerer Krankheitsdauer als 6 Jahre die Ausdehnung auf beide untere Extremitäten häufiger vorkommt. Die Teilnahme der großen Arterien der oberen Extremitäten beobachteten wir nur in 9 Fällen, und in 4 dieser 9 Fälle fanden wir Arterienverengerung nur an den oberen Gliedmaßen (1,3%).

Zur Klarstellung der Frage, in welchem Verhältnis die Höhe der Arterienverengerung zur Krankheitsdauer steht, stellten wir Tabelle II zusammen:

Tabelle II
Die Höhe der Arterienverengerung im Verhältnis zur Krankheitsdauer

Anzahl der seit Krankheitsbeginn verstrichenen Jahre	Fuß	Unterschenkel	Höhere Lokalisation	Unterarm	Oberarm	Insgesamt
0—1	10	24	66	1	—	101
1—5	6	19	71	2	1	99
5—10	2	10	44	—	—	56
10—15	—	5	29	1	—	35
15—20	—	—	6	—	—	6
20—25	—	—	2	—	—	2
über 25	—	—	1	—	—	1

Wie aus Tabelle II hervorgeht, zeigt der Prozeß parallel zur Krankheitsdauer eine Tendenz zum Höherdringen.

Von unseren 300 Kranken litten 114 an Gangrän bzw. Ulcus gangraenosum. Die Verteilung dieser Fälle nach der Krankheitsdauer zeigt Tabelle III.

Tabelle III
Zwischen dem Krankheitsbeginn und dem Auftreten der Gangrän verstrichene Zeitspanne

Krankheitsdauer in Jahren:	0—1	2—5	6—10	11—15	16—20	21—25	Mehr als 25	Insgesamt
An einer Extremität	38	35	20	10	—	—	1	104
An zwei Extremitäten	3	—	3	—	3	—	—	9
An mehr als zwei Extremitäten	—	—	1	—	—	—	—	1

Wie es Tabelle III zu entnehmen ist, hat sich die Gangrän bei 41 der 300 Kranken innerhalb 1 Jahres, bei 76 binnen 5 Jahren und bei 100, d. h. einem Drittel aller Kranken, binnen 10 Jahren entwickelt. Ein Vergleich der Tabellen I und III ergibt, daß bei einigen Kranken Gangrän auch nach 21—25jähriger Anwesenheit des Prozesses nicht auftrat. Hier sei ein 57jähriger

Patient erwähnt, bei dem die Gangrän im 38. Jahre der Krankheit in Erscheinung trat, wobei auch bereits der sich auf den Grundprozeß auflagernden Arteriosklerose eine Rolle beigemessen werden muß. Beachtenswert erscheint auch das Resultat, daß sich nur bei 10 der 114 Kranken mit Gangrän der Prozeß auf zwei oder mehr Extremitäten erstreckte.

Tabelle IV enthält die Angaben der Amputierten, unter besonderer Berücksichtigung der zwischen dem wahrscheinlichen Krankheitsbeginn und dem Amputationszeitpunkt verstrichenen Zeit.

Tabelle IV

Zeitspanne zwischen dem Krankheitsbeginn und dem Zeitpunkt der Amputation

Krankheitsdauer in Jahren :	0—1	2—5	6—10	11—15	16—20	21—25	Mehr als 25	Insgesamt
Eine Extremität	12	10	3	1	1	—	—	27
Zwei Extremitäten	—	—	—	1	1	—	—	2
Mehrere Extremitäten	—	—	1	—	—	—	—	1
Insgesamt	12	10	4	2	2	—	—	30

Tabelle IV enthält auch die Kranken, die wir schon nach der wegen Gangrän vorgenommenen Amputation deshalb aufgenommen haben, weil sich die Krankheit auf eine andere Extremität ausgedehnt hat. Aus dem Vergleich der Tabellen II und III läßt sich feststellen, daß die große Amputation nur bei 12 der innerhalb eines Jahres entwickelten 41 Gangränfälle, nur bei 22 der binnen 5 Jahren zur Entwicklung gekommenen 76 gangränösen Fälle und lediglich bei 26 der innerhalb von 10 Jahren entwickelten 100 Gangränfälle nötig geworden war, d. h. die Amputation wurde nur bei 30 (26,3%) der 114 Gangrärankranken durchgeführt. Die Anzahl der konservativ mit Erfolg behandelten Kranken ist demnach sehr beträchtlich. Aber selbst dieser günstig erscheinende Prozentsatz spiegelt nicht die Ergebnisse der fachgemäßen konservativen Therapie getreu wider, da in den Tabellen der Gangränen und der Amputierten, wie oben schon erwähnt wurde, auch jene Fälle enthalten sind, die wir bereits im amputierten Zustand aufgenommen haben. Die nach Abzug dieser Fälle gewonnenen Angaben veranschaulicht Tabelle V.

Tabelle V

Krankheitsdauer in Jahren :	0—1	1—5	5—10	10—15	15—20	20—25	Mehr als 25	Insgesamt
Anzahl der Gangränfälle	32	29	20	9	3	—	1	94
Amputierte	3	4	—	1	2	—	—	10
Erfolgreich konservativ Behandelte	29	25	20	8	1	—	1	84

Nach Tabelle V war die Amputation nur bei 10,5% der Kranken mit Gangrän notwendig geworden; bei 89,5% war die konservative internistische Therapie von Erfolg begleitet. Es muß indessen bemerkt werden, daß in den Amputationstabellen nur die sog. großen Amputationen (Unterschenkel, Oberschenkel, Unterarm, Oberarm) angeführt und die Amputationen bzw. die spontane Abstoßung von Fingern, Zehen bzw. Phalangen nicht enthalten sind. Diese machten weitere 9,5% aus (9 Fälle). In 80% der Gangränfälle kam es demnach weder zum Verlust von Fingern, Zehen oder Phalangen.

Unter unseren gangränösen Kranken halten wir den 59jährigen Patienten für erwähnenswert, dessen Erkrankung im Alter von 31 Jahren mit einer Kreislaufstörung der rechten Hallux begann, die allmählich auch auf das rechte Bein übergriff und infolge Gangränisierung binnen 2 Jahren zur Amputation der rechten unteren Extremität über dem Knie führte. 10 Jahre später war auch die Amputation der linken unteren Extremität über dem Knie infolge Gangrän notwendig geworden. Nach weiteren 5 Jahren entstand Gangrän am Zeigefinger der rechten Hand, der deshalb amputiert wurde. Wiederum 5 Jahre später trat Gangrän an der linken Hand auf, die nach einiger Zeit die Amputation über dem Ellbogen notwendig machte, obwohl man diese Extremität mit linksseitiger thorakaler Sympathektomie zu retten versucht hatte. Im 26. Jahr der Erkrankung, als Pat. 57 Jahre alt war, nahm man die thorakale Sympathektomie auch rechtsseitig vor, aber auch hiernach war der Kreislauf der rechten oberen Extremität noch immer schwer gestört, was auch in dem oszillometrischen Index von 0,1 Pachon-Einheiten zum Ausdruck kam. Uns wurde der Kranke erst im 29. Jahre seiner Erkrankung zugewiesen.

Bei der Untersuchung des arteriellen Kreislaufs der Extremitäten führten wir in allen Fällen auch oszillometrische Messungen durch, und in 44 Fällen haben wir auch die Untersuchung der statischen Tonusveränderung der Arterien nach dem Verfahren von BUGÁR-MÉSZÁROS und OKOS vorgenommen. Unter normalen Verhältnissen fanden wir bei Anwendung dieses Verfahrens, daß der oszillometrische Index sinkt, wenn die Extremität aus waagerechter in senkrechte Lage verbracht wird. Diese Veränderung nannten wir positive statische Tonusreaktion. Bleibt der Index unverändert, so sprechen wir von fehlender, d. h. negativer, wenn er ansteigt, von paradoxe statischer Tonusreaktion. Sowohl die negative, wie die paradoxe Reaktion ist pathologisch.

Bei 17 der diesbezüglich untersuchten 44 Kranken fanden wir positive, bei 22 negative und bei 5 paradoxe statische Tonusreaktion an einer der Extremitäten. In der Mehrzahl der Fälle (27 : 17) war demnach die statische Tonusreaktion einer Extremität pathologisch.

Um die Teilnahme der Arteriolen festzustellen, untersuchten wir bei 40 Kranken die reaktive Erwärmung eines Fingers nach der Methode von

BUGÁR-MÉSZÁROS und OKOS. In 32 Fällen waren die Werte normal, in 8 krankhaft verlängert. Daraus kann geschlossen werden, daß sich in einem Teil der Fälle auch die Arteriolen auf organischer oder funktioneller Grundlage in verengertem Zustande befinden. Diese Wahrnehmung erscheint auch deshalb interessant, weil wir die Untersuchung an den Fingern bei Kranken vorgenommen haben, bei denen an den großen Arterien der oberen Extremität mit dem Oszillometer keine Verengerung nachzuweisen war. Die Beteiligung der Arteriolen kann man jedoch selbst in den positiven Fällen nicht als generell betrachten, da die Einengung der Arteriolen sonst auch zu Blutdruckerhöhung hätte führen müssen. Von den erwähnten 8 Kranken war aber keiner hypertonisch. Nur 41 aller 300 Kranken (13,6%) zeigten erhöhten Blutdruck. Dieser Befund weicht von dem von REINIŠ und Mitarbeitern mitgeteilten 7%igen ab.

Gefäßveränderungen im Augenhintergrund, nämlich Kaliberschwankungen, engere Arterien und gefülltere Venen, wiesen 69 der in dieser Hinsicht untersuchten 223 Kranken auf. Von diesen waren nur 19 hypertonisch, bei 50 war der Blutdruck normal. In letzteren Fällen bestand also wahrscheinlich ein Zusammenhang zwischen der Augenhintergrundsveränderung und der Endoangiitis, wie es auch in der Literatur angegeben wird. In 3 Fällen fanden wir auch Chorioretinitis mit pigmentierten Herden, wie sie von MARCHESANI und einem von uns beschrieben wurden.

Kapillarmikroskopische Untersuchungen haben wir bei 42 Kranken am Nagellimbus der Finger und Zehen, am Hand- und Fußrücken, an der Lippenschleimhaut und an der bulbären Bindegewebe vorgenommen. Morphologisch zeigten die Kapillaren von 28 Kranken keine Abweichungen, am Fingernagellimbus dominierte die Haarnadelform, während wir ein dysplastisches (vasoneurotisches) kapillarmikroskopisches Bild nur in 14 Fällen sahen, und zwar in 1 Fall hochgradige, in 6 mittelmäßige und in 7 Fällen nur leichte Dysplasie. Ausgeprägt spastisch-atonische Erscheinungen waren bei 38 der 42 Kranken zu beobachten. Vor allem am arteriellen Schenkel der Kapillaren war Spasmus anzutreffen. Am Schaltstück und am venösen Schenkel waren deren Erweiterung und Atonie häufig wahrzunehmen. In 2 Fällen fanden wir auch aneurysmaartig erweiterte Kapillaren, und zwar bei einem Kranken am Fußrücken, bei einem an der bulbären Bindegewebe.

Die Blutströmungsgeschwindigkeit untersuchten wir bei 33 Kranken in den Kapillaren des Fingernagellibus, wobei wir mit dem Okularmikrometer-Kapillarmikroskop beobachteten und mit der Stoppuhr feststellten, in welcher Zeit das Blut eine Kapillare von normaler Länge (400μ) durchströmt. Bei 32 der 33 Kranken ergab die auf diese Weise gemessene Durchströmungszeit einen höheren Wert als den normalen von 1,6 Sekunden. In 7 Fällen erreichte bzw. überschritt die Durchströmungsdauer sogar 5 Sekunden. In 9 Fällen war bei langsamer Strömung auch die Diskontinuierlichkeit der Blut-

säule zu beobachten. Am Hallux der Kranken sahen wir im allgemeinen sehr langsame Strömung, in mehreren Fällen auch längere Stasen. Im Endergebnis fanden wir also in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle auch an den Kapillaren Anomalien, die sich hauptsächlich in spastisch-atonischen Erscheinungen und in verlangsamter Strömung äußerten.

Die Kapillarresistenz untersuchten wir in 28 Fällen nach RUMPEL—LEEDE. In 7 Fällen war das Resultat negativ, in 21 positiv. Auch dieser Befund deutet auf eine Teilnahme der Kapillaren am Krankheitsprozeß. Hier wollen wir die Untersuchungen von HILLENBRAND, HEITE und SCHMANDT erwähnen, die bei 20 Kranken die Kapillarresistenz an 16 Punkten der Hautoberfläche mit dem Saugverfahren untersuchten und pathologische Abweichungen auch auf Gebieten feststellten, an denen klinisch noch keine krankhafte Veränderung anzutreffen war. Auf Grund ihrer Ergebnisse erachteten sie die Stellungnahme von BORCHARDT und JÄGER, daß es sich bei der Endoangiitis um eine allgemeine Systemerkrankung des Gefäßendothels handle, als bestätigt.

Eine ausgesprochene Gehirnlokalisierung der Krankheit kam bei 5 Kranken vor. In 3 dieser Fälle war im Zustandekommen der Gehirnsymptome auch der aufgelagerten Arteriosklerose bzw. der Hypertonie eine Rolle zuzuschreiben. Bei 2 Kranken mit normaler Tension vermochten wir jedoch die Gehirnsymptome ausschließlich auf die Endoangiitis obliterans zurückzuführen. Einer dieser Patienten war ein 37jähriger Maschinenarbeiter mit 2jähriger Anamnese, bei dessen Gehirnsymptomen Vergeßlichkeit und Schwindelgefühl im Vordergrund standen. Bei dem anderen, einem 43jährigen Kesselschmied, waren nach halbseitiger lumbaler Sympathektomie rechtsseitige Hemiparese und Aphasie aufgetreten, die auf Gehirnthrombose zurückgeführt werden konnten. Gehirnlokalisierung kam demnach bei 1,7% unserer Kranken vor, ganz ähnlich der Angabe von REINIS und Mitarbeitern, die sie bei 1% von 826 ambulanten Kranken beobachteten.

Eine eingehendere kardiale Untersuchung wurde bei 283 der 300 Kranken vorgenommen. Von diesen hatten nur 31 kardiale Beschwerden, die sich hauptsächlich in Stichen und Schmerzen in der Herzgegend äußerten. Die Herzbeschwerden waren in 13 Fällen innerhalb 1 Jahres nach dem Erscheinen der ersten Krankheitssymptome, in 10 Fällen nach 2—5 Jahren, in 4 Fällen nach 6—10 Jahren, in 1 Fall nach 10—15 Jahren und in 2 Fällen nach 15—20 Jahren aufgetreten. Koronarthrombose kam in der Anamnese von 2 Kranken vor, in 1 Fall 2 Jahre, im anderen 8 Jahre nach der peripheren Manifestation der Krankheit. Bei einem dritten Kranken beobachteten wir selber 1—2 Jahre nach Krankheitsbeginn Koronarthrombose mit letalem Ausgang. Klappenfehler fanden wir in 5 Fällen; dieser ließ sich aber nicht mit der Endoangiitis in Zusammenhang bringen. Die Röntgenuntersuchung zeigte in 48 Fällen einen nach links etwas größeren Herzschatten. Niedrigerer Tonus war in 8,

ein abgeflachter linker Kammerbogen in 16, eine weitere Aorta in 9 Fällen zu beobachten.

Die elektrokardiographische Untersuchung ergab in 160 Fällen eine elektrische Hauptachse in Mittelstellung, während diese in 65 Fällen nach rechts, in 58 nach links deviiert war. Reizbildungsstörungen sahen wir in 4 Fällen in Form ventrikulärer Extrasystolen, Reizleitungsstörungen in 5 Fällen, von denen 2 in einer atrioventrikulären Überleitungszeit von 0,20 sec und 3 als Verbreiterung des QRS-Komplexes in Erscheinung traten. Auf aktive Karditis hinweisende Symptome waren bei keinem dieser Kranken anwesend. Bei einem 29jährigen Kranken mit verlängerter Überleitungszeit fanden wir auch ausgesprochen gewölbte ST₂₋₃. Einen vom Normalen abweichenden Verlauf der ST-Strecke beobachteten wir in 172 Fällen, d. h. bei mehr als der Hälfte aller Kranken, in Form von Depression, Elevation oder ausgeprägter Wölbung. Die T-Wellen zeigten in 51 Fällen als pathologisch zu bezeichnende Abweichungen. Low voltage kam in 12 Fällen vor.

Aus unseren Untersuchungsergebnissen darf geschlossen werden, daß die am Herzen der an Endoangiitis obliterans leidenden Kranken beobachteten Veränderungen größtenteils vaskulärer Herkunft sind und — wenn auch bei den älteren Kranken mit arteriosklerotischen Auflagerungen gerechnet werden muß — in erster Linie auf die endoangiitische Veränderung der Kranzgefäße zurückgeführt werden müssen. Die festgestellten Veränderungen bedingten in vielen Fällen zur Zeit der Untersuchung noch keine subjektiven Beschwerden, zumindest nicht solche, welche die Kranken bei der Aufnahme der Anamnese spontan angaben.

Unsere Beobachtungen stehen im Einklang mit den Angaben von ROSSIER und GIAMPALMO, die bei 53 bzw. 55% ihrer Kranken Ekg-Veränderungen fanden, weiterhin mit den Beobachtungen von SZIGAL und LASCHTSCHEWKER, die bei 65% ihrer Kranken auf eine Erkrankung der Kranzgefäße deutende Symptome festgestellt hatten. Letztere Autoren erwähnen beachtenswerterweise bei 27 ihrer 155 Patienten ein auf Herzmuskelinfarkt hinweisendes Ekg bzw. Kurven infarktoiden Typs. Die große Zahl ihrer Kranken mit derartigen Veränderungen läßt sich offenbar damit erklären, daß 50 ihrer 155 Kranken mehr als 50 Jahre alt waren und auch an Arteriosklerose litten. MOLL und SCHWARZBACH fanden bei $\frac{1}{3}$ ihrer 50 Fälle ein für Koronarläsion charakteristisches Ekg.

Die Beteiligung der Kranzgefäße am Krankheitsprozeß hatte im übrigen bereits PERLA (1925) beschrieben. Anschließend teilten CAVADIAS, HANSER, JÄGER, TEILUM, BARRON und LINENTHAL Fälle mit. AVERBUCK und SILBERT berichteten von 18 Kranken, die infolge Endoangiitis der Kranzgefäße verstorben waren. HAUSNER und ALLEN sammelten 56 Fälle von Thromboangiitis obliterans, in denen klinisch oder pathologisch-anatomisch Koronarthrombose festzustellen war, während die zweifellos entzündliche Verände-

rung der Kranzgefäße lediglich in 7 Fällen pathologisch-anatomisch bestätigt werden konnte. DE VEGA, MAGRI und BURIANI beschrieben Fälle von Infarkt, in denen der Exitus durch die Perforation eines Dünndarmgeschwürs verursacht worden war. Die Teilnahme der Kranzgefäße am Krankheitsprozeß vermochte JÄGER in 7 von 11 sezierten Fällen, JULITZ in 11 seiner 14 sezierten Fälle nachzuweisen.

Die Teilnahme des Venensystems in Form von Thrombophlebitis migrans war in 32 unserer 300 Fälle, d. h. bei etwa 11% des Materials festzustellen. Die einschlägigen Literaturangaben zeigen ziemlich starke Abweichungen. Von SCUPHAM und TAKÁTS wurde die Beteiligung des Venensystems bei sämtlichen Kranken, von BARRON und LINENTHAL jedoch nur bei 30%, von BUERGER bei 20—30%, von HASSELBACH bei 16%, von TELFORD und STOPFORD bei mehr als 10% des gesamten behandelten Krankenmaterials beobachtet. Demgegenüber vermochte sie KOYANO nur bei einem von 120 Kranken festzustellen. In unserem Material erschien die Thrombophlebitis migrans immer an den oberflächlichen Venen der Extremitäten, meistens an den unteren, seltener auch an den oberen.

Was die *Laboratoriumsbefunde* betrifft, so fanden wir die Blutsenkungsgeschwindigkeit nur in 35 Fällen erhöht. In 10 dieser Fälle konnten wir diesen Befund mit der aktiven Phase des Grundprozesses in Zusammenhang bringen, während die Erhöhung in 25 Fällen wahrscheinlich durch Ulcus, Gangrän oder andere Veränderungen verursacht war.

Die Albumin- und Globulinfraktion im Blutserum untersuchten wir in 196 Fällen; in 74 war der A/G-Quotient höher als 1,5; in 85 zwischen 1,5 und 1,0; in 37 Fällen niedriger als 1.

In der Gruppe der 74 Patienten mit höherem A/G-Quotienten als 1,5 war der Gesamteiweißwert in 68 Fällen, d. h. in der überwiegenden Mehrzahl, normal und nur in 4 Fällen erhöht bzw. in 2 niedriger. In der Gruppe der 122 Kranken mit niedrigerem A/G-Quotienten als 1,5 war der Gesamteiweißwert in 29 Fällen erhöht, in 91 normal und in 2 subnormal. Als normal betrachteten wir die Werte zwischen 6,0 und 8,0%.

In der Mehrzahl der Fälle war demnach eine Verschiebung des A/G-Quotienten festzustellen. Von den Albumin- und Globulinfraktionen vermochten wir leider nur das Gammaglobulin nach der VERHAGENSchen Methode zu bestimmen. Von den untersuchten 107 Kranken zeigten 48 normale (21% nicht übersteigende) Werte, während das Resultat in 35 Fällen zwischen 21 und 24%, in 24 Fällen höher als 24% war.

Die Untersuchung des Cholesterinspiegels im Blutserum erfolgte in 192 Fällen. Werte unter 160 mg% erhielten wir nur in 16, zwischen 161 und 200 mg% in 61 Fällen. Auffallenderweise war der Wert bei 115 Kranken, d. h. bei der Mehrzahl, höher als 200 mg%, bei 83 höher als 240 mg%. Dieser Befund steht jedoch im Einklang mit den Angaben von PAGLIARDI und

MAROSSERO, die bei ihren Kranken ebenfalls höhere als normale Cholesterinwerte festgestellt hatten.

Den Prothrombinspiegel im Blut untersuchten wir nach der QUICK-schen Methode in 50 Fällen; in 45 war der Wert normal (90—110%), in 2 Fällen höher (120%), in 3 niedriger (78, 83 und 84%). Diese Ergebnisse stimmen ungefähr mit den Angaben von FONTAINE und Mitarbeitern überein, die den Prothrombinspiegel bei ihren 16 Kranken in allen Fällen normal gefunden hatten. Für Endoangiitis obliterans ist demnach eine Veränderung des Prothrombinspiegels nicht charakteristisch.

ZUSAMMENFASSUNG

Von den Untersuchungsbefunden und Beobachtungen bei 300 Fällen von Endoangiitis obliterans sei folgendes hervorgehoben:

1. Nur 3 der 300 Kranken waren Frauen.
2. Für die prädisponierende Rolle irgendeiner Beschäftigung ergaben sich keine überzeugenden Anhaltspunkte.
3. Es fanden sich nur 3 Kranke, die weder rauchten noch einen Herd aufwiesen, woraus unter Berücksichtigung der anderen erwähnten Umstände und der Literaturangaben wahrscheinlich auf die pathogenetische Rolle des Rauchens bzw. der Infektionsherde geschlossen werden kann. Für einen allergischen Pathomechanismus zeugen viele Angaben, wenn auch entscheidende Beweise fehlen.
4. Die Arterienverengerung erstreckte sich nur in 9 Fällen, d. h. in 3% aller Fälle, auf eine obere Extremität.
5. Wenn die Erkrankung bis zu 5 Jahren anwesend ist, bleibt sie häufiger auf eine untere Extremität beschränkt, bei längerem als 5jährigem Bestehen kommt sie häufiger an beiden unteren Extremitäten vor.
6. Gangrän bzw. Exulzeration können schon im 1. Jahr, aber auch Jahrzehnte später, z. B. im 38. Jahr auftreten.
7. Nur bei 10 der mit Gangrän aufgenommenen 94 Kranken, d. h. in 10,5% aller Fälle, war große Amputation nötig, in 9 Fällen (9,5%) lediglich eine Zehenamputation bzw. heilte die Gangrän mit spontaner Abstoßung der Zehe. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle konnte also die Gangrän erfolgreich konservativ behandelt werden.
8. Bei der Untersuchung der statischen Tonusveränderung der Arterien zeigten 27 von 44 Kranken pathologische Reaktion.
9. Bei der Untersuchung der Arteriolen durch reaktive Erwärmung wurden in 20% der Fälle an den Fingern krankhafte Abweichungen festgestellt. Die Arteriolen nehmen demnach — zumindest an dieser Stelle — nicht sehr häufig am Prozeß teil.
10. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle wurden mit dem Kapillarmikroskop Anomalien an den Kapillaren ermittelt, und zwar hauptsächlich spastisch-atonische Erscheinungen und verlangsame Strömung.
11. Die Kapillarresistenz war in $\frac{3}{4}$ der Fälle niedriger.
12. Eine Gehirnlokalisation wurde in 5 Fällen (1,7%) beobachtet.
13. Auf eine Erkrankung der Kranzgefäße hinweisende Symptome wurden bei 172 von 283 Kranken wahrgenommen. Koronarthrombose kam in 3 Fällen vor.
14. Eine Beteiligung des Venensystems wurde in 32 Fällen (11%) festgestellt.
15. Von den Ergebnissen der Laboratoriumsuntersuchungen sei die häufige Senkung des Albumin/Globulin-Quotienten und Erhöhung des Gammaglobulinwertes erwähnt, ferner die Erhöhung des Cholesterinspiegels im Blutserum bei einem großen Teil der Kranken und schließlich die Normalität des Prothrombinspiegels in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle.

LITERATUR

1. v. ALBERTINI, A.: Schweiz. Arch. Neurol. **57**, 2 (1946).
2. ALLEN, E. B., BARKER, N. W., HINES, E. A. JR.: Peripheral Vascular Diseases. 2. Ausg. Saunders. Philadelphia, 1955.

3. AVERBUCK, S., SILBERT, S.: Arch. int. Med. **54**, 436 (1934).
4. BARRON, LINENTHAL: Arch. Surg. **19**, 735, 1929.
5. BORCHARD: Dtsch. Z. Chir. **44**, 131 (1897).
6. BOSHAMER, K.: Chirurg. **12**, 661 (1940).
7. BROWN, G. E., ALLEN, E. V., MAHORNER, H. R.: Thromboangiitis obliterans. 1928, Saunders, Philadelphia.
8. BUERGER, L.: Amer. J. Med. Sci. **136**, 567 (1908).
9. BUERGER, L.: Mitt. Grenzgeb. Med. Chir. **21**, 353 (1910).
10. BUERGER, L.: The circulatory disturbances of the extremities. Saunders, Philadelphia, 1924.
11. BUGÁR-MÉSZÁROS, K., OKOS, G.: Magy. Belorv. Arch. **5**, 49 (1952); Acta Med. Hung. **4**, 35 (1953).
12. BUGÁR-MÉSZÁROS, K., OKOS, G.: Orv. Hetil. **93**, 1447 (1952); Acta Med. Hung. **5**, 47 (1954).
13. CAWADIAS, A.: Brit. Med. J. **3605**, 234 (1930).
14. FONTAINE, R., MANDEL, P., BUCK, P., APRILL, G.: Gaz. Hôp. Paris, **121**, 439 (1948).
15. GIAMPALMO, V.: Arch. Pat. Chir. Genoa, **4**, 399 (1949).
16. HANSEN, R.: Beitr. Klin. Chir. **159**, 390 (1934).
17. HARKAVY, J., KALLÓS, P.: Progress in Allergy. Bd. III, Karger, Basel, 1952.
18. HASSELBACH, H.: Die Endangiitis obliterans. Thieme, Leipzig, 1939.
19. HAUSNER, E., ALLEN, E. V.: Proc. Mayo Clin. **15**, 7 (1940).
20. HECKER: Über die brandige Zerstörung durch Behinderung der Zirkulation des Blutes. 1841 (zit. von K. DENECKE) Zbl. Chir. **65**, 2304 (1938).
21. HERREL, W., ALLEN, E. W.: Amer. Heart. J. **12**, 105 (1936).
22. HILLENBRAND, H. J., HEITE, H. J., SCHMANDT, W.: Ärztl. Wschr. **10**, 246 (1955).
23. HORTON, B. T.: J. Amer. Med. Ass. **III**, 2184 (1938).
24. JAESCHKE, G.: Arch. klin. Chir. **6**, 694 (1865).
25. JÄGER, E.: Virchows Arch. **284**, 526 (1932); **288**, 833 (1933).
26. JULITZ, R.: Ztsch. ges. Inn. Med. **8**, 343 (1953).
27. KOGA, G.: Dtsch. Ztschr. Chir. **121**, 371 (1913).
28. KOYANO, K.: Acta Scholae med. Kyoto, **4**, 489 (1922).
29. KUKIN, N.: Ref. Zentralorg. Chir. **36**, 557 (1938).
30. LLAVERO, F.: Thromboendangiitis obliterans des Gehirns. Schwabe, Basel, 1948.
31. MAGRI, B., BURIANI, F.: Bull. Schweiz. Akad. Wiss. Suppl. **1**, 64 (1950).
32. MARCHESANI, O.: Arch. Augenheilk. **109**, 124 (1935).
33. MÉSZÁROS (BUGÁR-MÉSZÁROS), K.: Dtsch. Arch. klin. Med. **180**, 526 (1937).
34. MOLL, A., SCHWARZBACH, W.: Dtsch. Arch. klin. Med. **203**, 162 (1956).
35. MORAWITZ, P.: Fortschr. Ther. **2**, 13 (1926).
36. OPPEL, W. A.: zit. nach HASSELBACH.
37. PAGLIARDI, E., MAROSERO, F.: Minerva Med. **1**, 461 (1948).
38. PERLA: Surg. **41**, 21 (1925).
39. REINIŠ, Z., POKORNÝ, L., MESTAN, J. F.: Čas. Lék. Čes. **90**, 709 (1951).
40. ROSSIER (1947): zit. nach GIAMPALMO.
41. SCHORCHER, E.: Münch. Med. Wschr. **39**, 166 (1942).
42. SCUPHAM, G. W., de TAKÁTS, G.: Arch. int. Med. **58**, 531 (1936).
43. SILBERT, S.: Ann. Surg. **101**, 324 (1935).
44. SKEGG, R.: Schmidts Jahrb. **70**, 73 (1851).
45. SUNDER-PASSMANN, P.: Durchblutungsschäden und ihre Behandlung. Enke, Stuttgart, 1943.
46. SZIGAL, A. M., LASCHTSCHEWKER, M. V.: Ter. Arch. (Moskau) **24**, 28 (1952).
47. TEILUM, G.: Ref. Kongrzb. inn. Med. **III**, 94 (1942).
48. TELFORD, E. D., STOPFORD, I. S. F.: Brit. Med. J. **1140** (1927).
49. TRASOFF, A., BLUMSTEIN, G., MARKS, M.: J. Allergy **7**, 250 (1936).
50. DE VEGA Y FERNANDEZ, R. C.: Angiologia, Barcelona, **1**, 278 (1949).
51. v. WINIWARTER, F.: Arch. klin. Chir. **23**, 202 (1879).

THE ROLE OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM IN THE ARRHYTHMIAS CAUSED BY STROPHANTHIN- EPHEDRINE

By

F. SOLTI, I. MÁRTON and F. TAKÁCS

1st DEPARTMENT OF MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY, BUDAPEST

(Received October 15, 1958)

One of us [1] has observed in crossed dog experiments that the injection of strophanthin into the isolated head circulation often resulted in arrhythmia (chiefly ventricular extrasystoles). Other data also indicate that the nervous system often has a role to play in the development of arrhythmia. It is known that transection of the vagal or sympathetic fibres running to the heart, lessens the tendency to cardiac arrhythmia. At cerebral operations, CHAPMAN *et al.* [2] found that the stimulation of various parts of the brain, but mainly that of the *n. amygdalae*, frequently gave rise to arrhythmia. Vagal stimulation considerably enhances the arrhythmia-inducing action of various drugs (aconitine, acetylcholine, calcium, etc.) [3]. According to HAYNAL and MATSCH [4], a disturbance in the function of the hypothalamo-pituitary system plays a significant role in the genesis of supraventricular tachycardia. WEINBERG and HALEY [5, 6] injected strophanthin into the third ventricle of the brain and found that arrhythmia was a common response. It may therefore be surmised that the drugs causing arrhythmia act in part through the central nervous system.

The crossed dog experiment involving isolated perfusion of the recipient animal's head, is a method eminently suitable for studying this problem. The ECG curves of the donor and the recipient may be examined simultaneously.

SEEVERS and MEEK [7] induced lasting arrhythmia in dogs by the combined administration of strophanthin and ephedrine in acute experiments, without lesioning the heart or stimulating the vagus, etc., thus, by a purely pharmacological action.

In the present study we have analysed the mechanism of the development of cardiac arrhythmias in response to strophanthin-ephedrine.

Methods

Isolated head (brain) perfusion was carried out in crossed dog experiments. In the recipient animal we ligated bilaterally the vertebral arteries, the two vertebral veins, as well as the spinal vein. Then the vascular branches running in the skin of the neck and in the superficial cervical muscles (some of which anastomose with the blood vessels of the head) were ligated bilaterally with thin wire. The common carotids, as well as the two external

jugular veins were prepared bilaterally in both dogs. After ligating these, the circulatorily isolated head of the recipient dog was perfused from the common carotid of the donor dog. The venous blood from the head was conducted back into the internal jugular vein of the donor.

Clotting was prevented by the use of heparin. Thus, the method was essentially that described by Kováč [8, 9]. The control experiments revealed that dyes (Evans' blue), NaSCN or radioactive iodine injected into the head circulation did not appear in the circulation of the torso of the recipient animal.

Dogs of both sexes were used. The recipients weighed from 7 to 12 kg, the donors from 15 to 40 kg. Operation was performed under chloralose anaesthesia.

During the experiments we recorded continuously the cranial blood flow by mean of a rotameter; the arterial blood pressure (from the cannulated femoral arteries of both dogs); the venous pressure of the recipient dog (by means of a polyethylene tube in the inferior vena cava, using a Moritz-Tabora apparatus). The heart rate was recorded in both dogs by electrocardiography, using an Elmquist Triplex apparatus with needle electrodes.

Our method has the advantage that the strophanthin-ephedrine injected into the head circulation of the recipient reaches the circulation in the torso of the donor animal so that the actions of the drugs in the isolated cranial circulation and in the systemic circulation can be studied simultaneously.

Procedure

At the beginning of the experiment, ECG tracings were taken from both anaesthetized dogs. The next ECG was made during perfusion of the brain (crossed circulation). Perfusion itself caused no change in the ECG or arrhythmia in either dog. Subsequently, 0,5 mg strophanthin and 20 mg per kg body weight of ephedrine were injected slowly (in 2 minutes) into the head circulation of the recipient (*i. e.* into the rubber tube inserted into the carotid). The ECG was recorded from both dogs 2, 5, 8, 10, 15, 20, 30, and 50 minutes following administration of the drugs, recording at the same point of time also the other values mentioned above.

We present below the results obtained in successful experiments on seven dogs. In further six recipients we transected the trunk of the vagus and the accompanying sympathetic fibres bilaterally, in the middle of the neck, in order to eliminate the majority of the vagus fibres and some of the sympathetic fibres running to the heart.

Results

The donor dog responded to the injection of strophanthin-ephedrine by tachycardia and extrasystoles, mainly ventricular. In all seven cases there was extrasystolia, in one case the ventricular extrasystoles appeared *en salvę*. Paroxysmal tachycardia, auricular fibrillation did not occur.

In the recipients, marked arrhythmia was noted in every case. In three animals arrhythmia perpetua, in three others massed ventricular extrasystoles and in one dog auricular and ventricular extrasystoles were observed.

In addition to the arrhythmia, both the donors and the recipients exhibited the characteristic ECG changes caused by strophanthin (shortening of QT, prolongation of PQ, flattening or inversion of T, depression of ST). These strophanthin-induced changes in the ECG, as they occurred in crossed dog experiments, have already been described [1].

The heart rate was invariably increased in response to strophanthin-ephedrine, less markedly in the recipient than in the donor animal.

The changes in ECG and heart rate are summarized in *Table I*.

Table I
ECG changes caused by strophanthin-ephedrine

No.	Donor dog	Recipient dog
1.	Depression of ST ₁ , ST ₂ , inversion of T ₁ . Frequency : 106—142. Ventricular extrasystoles.	Depression of ST ₁ , ST ₂ . Inversion of T ₁ , T ₂ . Frequency : 98—100. Auricular and ventricular extrasystoles.
2.	Depression of ST ₂ , ST ₃ . Inversion of T in leads I—III. Frequency : 124—148. 1 ventricular extrasystole.	Depression of ST in leads I—III. Inversion of T. Frequency : 136—152. Bigeminy and massed ventricular extrasystoles.
3.	Slight elevation of ST ₂ , ST ₃ . Frequency : 100—136. Ventricular extrasystoles.	Depression of ST and inversion of T in leads I—III. Frequency : 100—116. Auricular extrasystoles, fibrillation.
4.	Depression of ST ₂ , ST ₃ , inversion of T ₂ , T ₃ . Frequency : 90—140. Ventricular extrasystoles (sometimes en masse)	Depression of ST ₁ , ST ₂ , inversion of T ₁ , T ₂ , T ₃ . Widening of QRS. Fibrillation, ventricular extrasystoles. Frequency : 116—120.
5.	Depression of ST ₁ , ST ₂ , inversion of T ₁ . Shortening of QT. Frequency : 124—148. Auricular extrasystoles.	Depression of ST ₂ , ST ₃ , inversion of T ₁ , T ₂ , T ₃ . Shortening of QT. Frequency : 136—140. Fibrillation.
6.	Depression of ST ₂ , inversion of T ₃ . Frequency : 110—130. Occasional ventricular extrasystoles.	Depression of ST ₁ , ST ₂ , inversion of T ₁ , shortening of QT. Frequency : 102—114. Ventricular extrasystoles, transient paroxysmal tachycardia.
7.	Depression of ST in leads I—III. Inversion of T ₁ , T ₂ . Shortening of QT. Frequency : 110—130. Ventricular extrasystoles.	Depression of ST ₁ , ST ₂ . Inversion of T ₁ , T ₂ . Frequency : 102—110. Massed ventricular extrasystoles. Occasional auricular extrasystoles.

The ECG tracings in a few characteristic experiments are presented in *Fig. 1 to 3*.

In general, the blood pressure slightly increased during the experiment, being elevated in the donors and practically unchanged in the recipients. There was hardly any change in the rotameter value, which showed a tendency to increase slightly with the increase in the donor's blood pressure. Thus, cerebral vascular resistance remained essentially unchanged during the experiment. The venous pressure of the recipients did not change significantly. The changes in the circulation are summarized in *Table II*.

In three further experiments we transected the vagal trunk and the concomitant sympathetic fibres bilaterally in the recipient dog, in order to obtain further information as to the mode of development of the changes

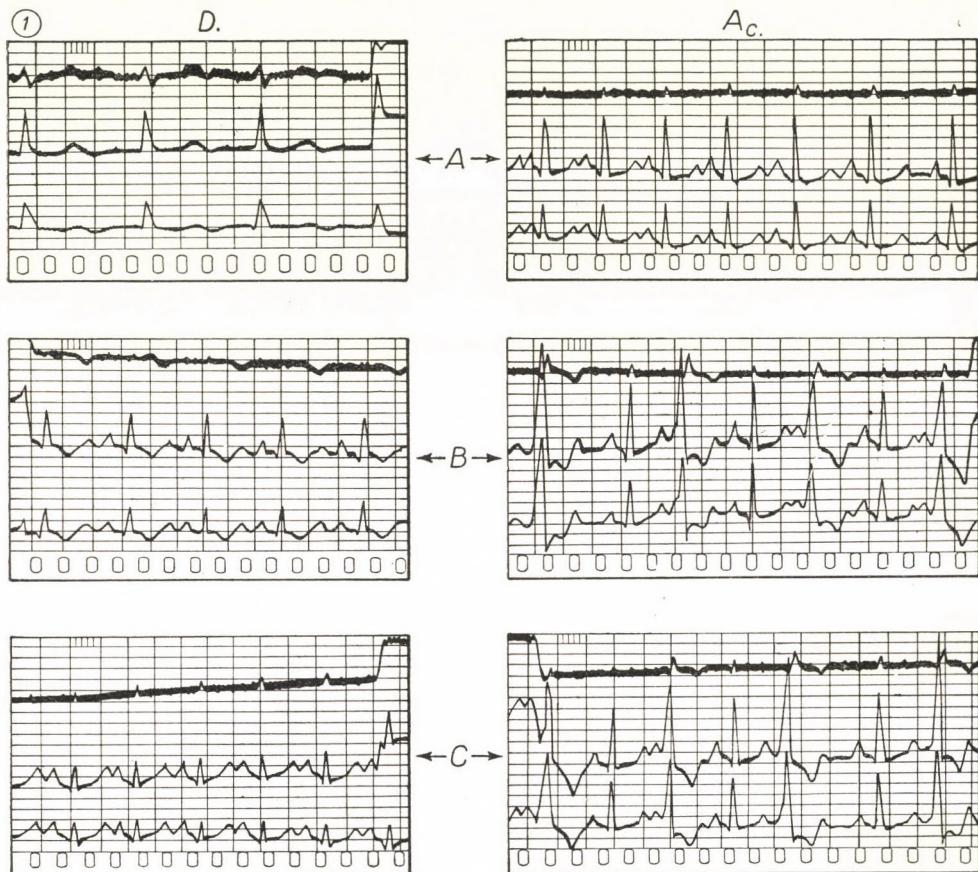


Fig. 1. Experiment No. 5.

D : ECG of donor

Ac : ECG of recipient

A : ECG before experiment, during perfusion of the brain.

B : ECG 10 minutes after the injection of strophanthin-ephedrine.

In the ECG of the recipient dog, depression of ST in leads II—III and ventricular extrasystoles in the form of bigeminy are visible.

The donor dog shows depression of ST in leads II—III and tachycardia.

C : ECG 30 minutes after the injection of strophanthin-ephedrine.

No change in the ECG of recipient.

ECG of donor : tachycardia increased.

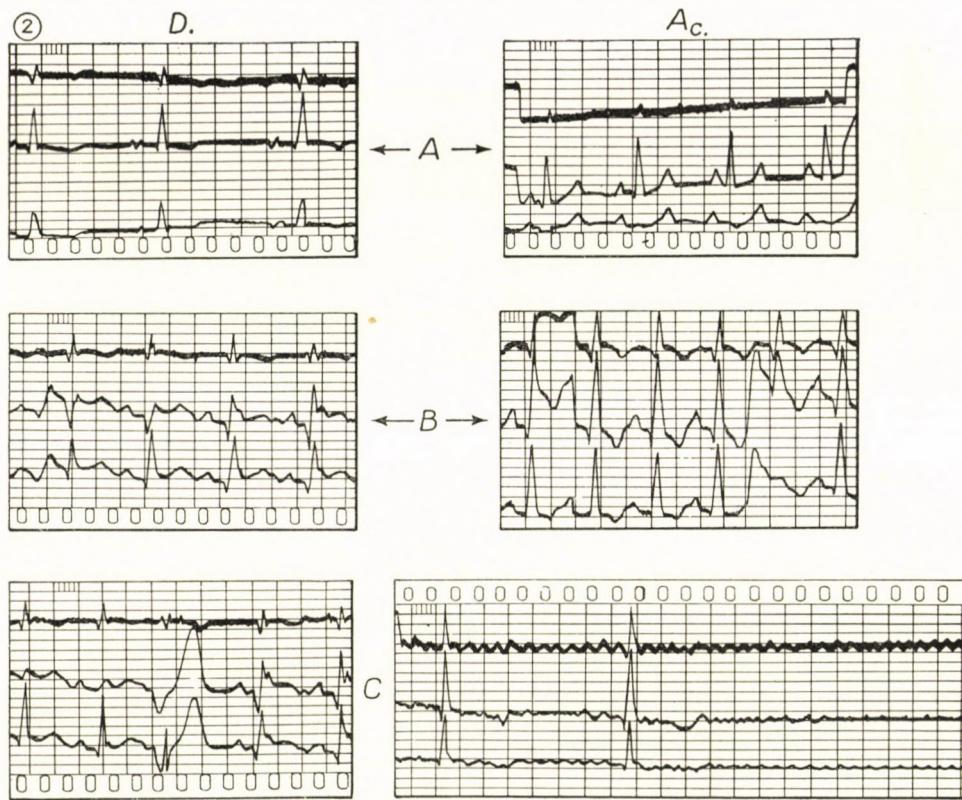


Fig. 2. Experiment No. 7.

D : ECG of donor

Ac : ECG of recipient

A : ECG before experiment, during perfusion of the brain.

B : ECG 10 minutes after the injection of strophanthin-ephedrine.

Recipient : ST depression in leads I—III. Tachycardia.

Donor : Tachycardia.

C : ECG 30 minutes after strophanthin-ephedrine

Recipient : fibrillation

Donor : One ventricular extrasystole.

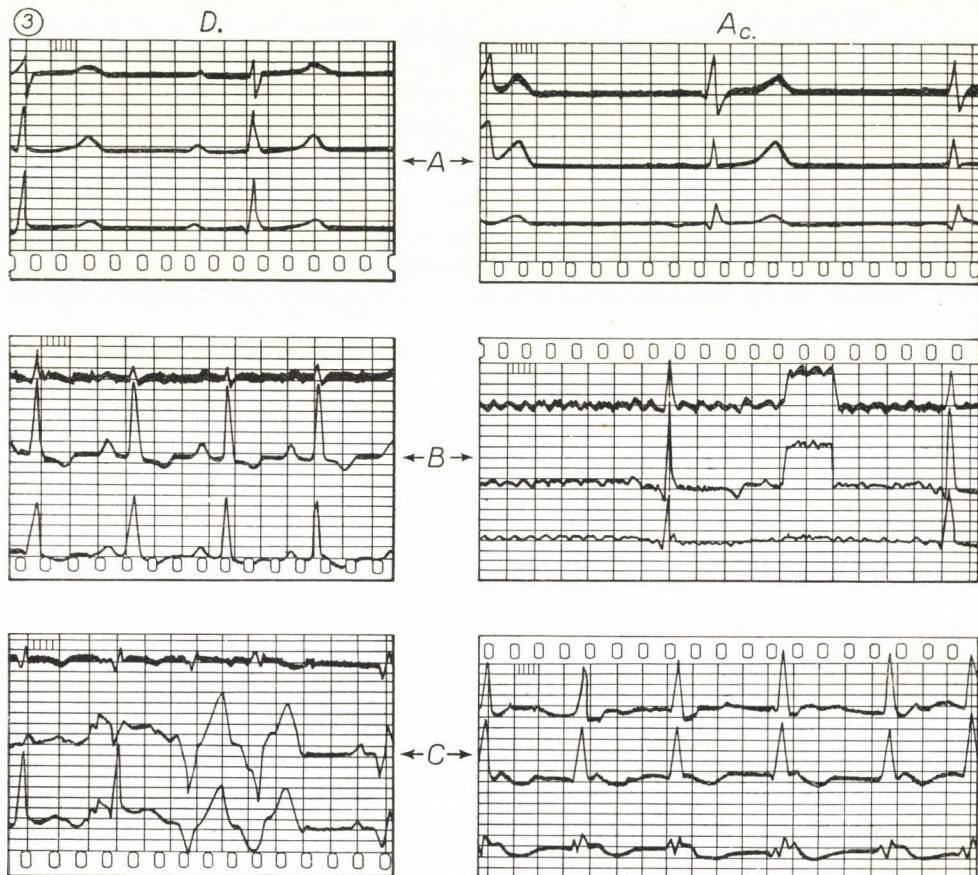


Fig. 3. Experiment No. 2.

- D : ECG of donor
- A_c : ECG of recipient
- A : ECG before experiment, during perfusion of the brain.
- B : ECG 10 minutes after strophanthin-ephedrine.
Recipient : fibrillation.
- Donor : Depression of ST₂, ST₃, tachycardia.
- C : 30 minutes after strophanthin-ephedrine.
Recipient : depression of ST. Fibrillation persists.
Donor : two ventricular extrasystoles.

Table II
Circulatory changes caused by strophanthin-ephedrine

No.	P	R _m	T _d	T _r	V _p	P _d	P _r
1.	B	9,0	80	90	20	106	98
	5'	9,5	85	95	24	140	100
	10'	10,0	90	90	26	142	90
	20'	9,5	85	85	18	110	90
2.	B	10,0	100	85	40	66	68
	5'	10,0	95	90	44	110	110
	10'	11,0	105	90	48	142	98
	20'	9,5	95	75	38	140	70
3.	B	12,5	90	110	32	106	100
	5'	12,0	90	115	30	126	110
	10'	14,0	120	120	38	132	98
	20'	13,0	100	105	36	130	116
4.	B	13,0	90	80	48	90	116
	5'	16,0	165	85	56	110	120
	10'	17,0	110	75	50	140	120
	20'	16,5	105	80	40	140	110
5.	B	8,0	80	100	30	124	136
	5'	12,0	90	110	38	138	140
	10'	11,0	95	105	28	148	132
	20'	10,0	85	100	32	140	126
6.	B	9,5	100	65	48	110	102
	5'	12,5	120	75	52	120	110
	10'	12,5	120	70	44	116	114
	20'	14,0	125	65	42	130	98
7.	B	11,0	100	90	50	100	120
	5'	12,0	120	100	44	130	130
	10'	12,5	115	95	48	136	160
	20'	12,0	115	100	50	110	108

Abbreviations :

No.: No. of experimental animals

T_d: blood pressure of donor

R_m: rotameter value

V_p: venous pressure of recipient

T_r: blood pressure of recipient

P_r: pulse rate of recipient.

P_d: pulse rate of donor

P: period

B: before experiment

5': 5 min. after the administration of strophanthin-ephedrine

10': 10 min. after the administration of strophanthin-ephedrine

20': 20 min. after the administration of strophanthin-ephedrine

noted. This operation was performed after the development of arrhythmia, which did not impose or disappear in response to bilateral vago- and sympatheticotomy.

In the next three experiments the recipient animal was subjected to bilateral cervical vago- and sympatheticotomy before the administration of strophanthin-ephedrine. In two cases no arrhythmia developed and in the third case the ECG of the recipient animal showed occasional ventricular extrasystoles only.

Finally, in three experiments strophanthin and ephedrine were injected exclusively into the circulation of the torso of the recipients. No arrhythmia was noted in any of these dogs.

The ECG changes are illustrated in *Fig. 4*.

Discussion

Our findings suggested that the arrhythmia caused by strophanthin-ephedrine develops mainly through a nervous mechanism, mediated by the central nervous system.

The experiments of KovÁCH *et al.* and our own prove that the dyes injected into the isolated head circulation do not reach the torso of the recipient. We have shown in other investigations that phlorhizine, NaSCN, and radioactive I do not reach the trunk of the recipient, either.

Thus, the arrhythmia observed in the recipient dogs could arise exclusively through the central nervous system. The mode of administration of the drugs by itself could not be the cause of the arrhythmia, because an identical amount of physiological saline injected into the head circulation gave rise neither to arrhythmia nor to changes in the ECG. Likewise, Novurit (a mercurial diuretic), Dibenamine, reserpine, which were injected into the cerebral circulation in other experiments, had no effect on the ECG of the recipient dog.

It must be emphasized that the arrhythmia developed earlier and was more marked in the recipient dog than in the donor animal. It is conceivable, therefore, that strophanthin and ephedrine influence the irritability of the heart principally through a cerebral site of action. As a certain concentration of the drugs is reached sooner in the recipient's brain, it is only logical that arrhythmia should be more marked in the recipient.

Changes in the circulation do not explain the development of these arrhythmias. There were hardly any changes in arterial and venous pressure, cerebral blood flow and heart rate.

Likewise, transection of the cervical vagus and the concomitant sympathetic fibres (bilateral cervical vagotomy and sympatheticotomy) had no influence on the arrhythmias, but if performed prior to their development, this operation prevented the appearance of arrhythmia. It seems that the

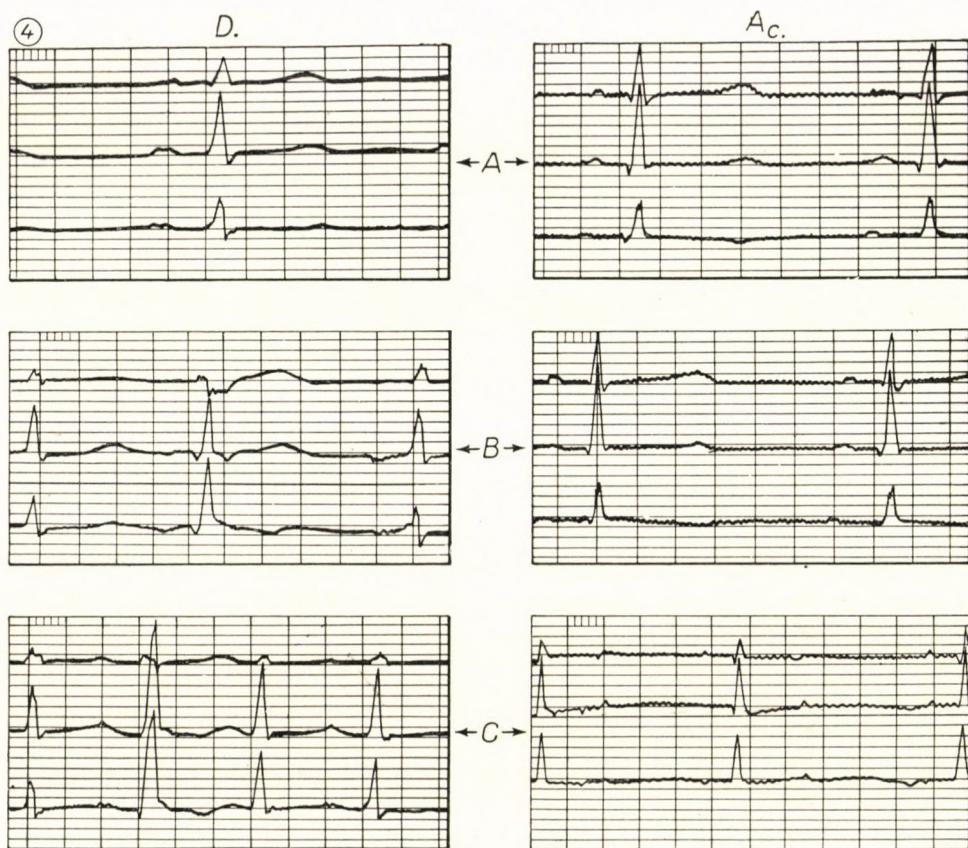


Fig. 4

D : ECG of donor

Ac : ECG of recipient

A : ECG before experiment, during perfusion of the brain, after transection of cervical vagus trunk and accompanying sympathetic fibres.

B : 10 minutes after strophantin-ephedrine.

Recipient : No significant change.

Donor : Arrhythmia.

C : 30 minutes after strophantin-ephedrine

Recipient : No sign of arrhythmia.

Donor : Arrhythmia increased.

central nervous system influences cardiac irritability partly through these pathways. In 3 of 7 experiments auricular fibrillation also developed in the recipient dogs, indicating that our method may be suitable for analysing the mechanism of auricular fibrillation. This fibrillation developed namely in the intact heart and the drugs had no direct influence on cardiac activity. Paroxysmal auricular fibrillation is known to occur in young subject not having any demonstrable heart lesion. It appears that functional changes in the central, first of all in the autonomic, nervous system play a role in its induction.

SUMMARY

- (i) In crossed dog experiments with perfusion of the recipient animal's head the circulatory response to the injection of strophanthin and ephedrine into the isolated cerebral circulation has been studied. The recipient dog developed lasting arrhythmia, while in the doses employed these drugs induced no arrhythmia when injected into the circulation of the torso of the recipient dog.
- (ii) The arrhythmia following injection of the drugs into the isolated head circulation was more marked in the recipient dog than in the donor after injection into the systemic circulation.
- (iii) Previous bilateral cervical vagotomy and sympatheticotomy inhibited the development of arrhythmia in the recipient dog.
- (iv) During the experiment, arterial and venous pressure, cerebral vascular resistance and heart rate remained practically unchanged.
- (v) The mode of development of the arrhythmia induced by strophanthin-ephedrine has been discussed in the light of the experimental evidence obtained.

REFERENCES

1. SOLTI, F.: Thesis, Budapest, 1957.
2. CHAPMAN, W. P., SOLOMON, H. C., SCHROEDER, H. R., BRAZIER, A. G., GEYER, G., FAGER, CH., POPPEN, J., YAKOVLEV, P.: *Acta med. scand. Suppl.* **312**, 66 (1956).
3. SCHERF, D., SCHAFFER, I. M., BLUMENFELD, S.: *Arch. int. Med.* **91**, 33 (1953).
4. HAYNAL, E., MATSCH, E.: *Wien. Z. inn. Med.* **37**, 76 (1956).
5. WEINBERG, S. J., HALEY, TH. J.: *Circulation Res. (N. Y.)* **3**, 103 (1955).
6. WEINBERG, S. J., HALEY, TH. J.: *Arch. int. Pharmacodyn.* **105**, 209 (1956).
7. SEEVERS, J., MEEK, A.: *J. Pharmacol.* **33**, 295 (1935).
8. KOVÁCH, A.: *A kísérletes orvostudomány vizsgáló módszerei*. Budapest, Akadémiai Kiadó (1954).
9. GÖMÖRI, P., KOVÁCH, A., TAKÁCS, L., FÖLDI, M., SZABÓ, Gy., NAGY, Z., WILTNER, W.: *Magy. belorv. Arch.* **5**, 129 (1954).

THE EFFECT OF STROPHANTHIN ON PAROTID SECRETION

By

A. NÁKÓ, F. SOLTI, M. FÖLDI and E. KOLTAY

1st DEPARTMENT OF MEDICINE AND DEPARTMENT OF OTO-RHINO-LARYNGOLOGY,
MEDICAL UNIVERSITY, BUDAPEST

(Received October 15, 1958)

It is known that in response to the acute effect of strophanthin, the renal excretion of water, sodium and potassium increases significantly [1]. Likewise, the secretion of sweat also increases: the excretion of potassium, and to a lesser extent that of water and sodium are enhanced [2]. As to the effect of strophanthin on the function of salivary glands, however, we have been unable to find data in the literature at our disposal.

The purpose of the present study was to investigate the influence of strophanthin on salivation. Such a study seemed to be the more interesting, because the parotid saliva is known to contain about five times more potassium than sodium [2, 3]. Another interesting aspect of these investigations was whether the eventual action of strophanthin on the secretion of saliva bore any resemblance to its action on renal function and sweating.

Methods

Saliva secretion was studied by examining the activity of the parotid. This largest salivary gland produces about $\frac{1}{4}$ of the total saliva output and has a long wide duct, the duct of Stennon. After inserting a probe, this duct was cannulated, inserting a polyethylene tube to a depth of about 4 or 5 cm. This was sometimes difficult to carry out, because of the bend at the anterior margin of the masseter muscle. The test subjects were exclusively adult males, because the Stennon's duct of females and children is too thin. The saliva thus obtained was collected in 15-minute periods in test tubes. In some cases salivation was enhanced by painting the tongue with vinegar. There were two collection periods in each experiment. First, the secretion of saliva was determined without treatment, then, on the next day, it was determined again 1 hour after the intravenous injection of 0,25 mg of Strophoside. The experiments were carried out in the morning, on fasting patients. After the exact determination of the volume of saliva, sodium and potassium excretion was determined by flame photometry.

Results

The results of the experiments are to be found in *Table I*, those for the statistical analysis in *Table II*.

It can be seen that strophanthin caused a significant increase in the secretion of saliva and a considerable rise in the excretion of potassium. In most cases the excretion of sodium also increased slightly. The increase in

Table I
Effect of strophanthin on the secretion of saliva by the parotid gland

No.	Initials	Period	Sodium excretion mg/h	Potassium excretion mg/h	Saliva output by the parotid ml/h
1.	F. A.	A	1,14	9,0	10,20
		B	1,68	13,4	16,40
2.	A. J.	A	4,38	9,36	14,00
		B	5,34	22,30	12,00
3.	S. Gy.	A	2,04	5,04	7,20
		B	2,22	18,00	11,40
4.	M. K.	A	2,16	8,17	6,78
		B	0,60	22,44	6,90
5.	Sz. V.	A	1,15	7,14	7,62
		B	2,88	11,70	13,62
6.	Sz. V.	A	0,72	8,10	7,62
		B	2,88	6,36	7,99
7.	J. S.	A	2,10	14,30	12,30
		B	2,64	28,10	20,00
8.	K. M.	A	5,94	9,90	11,12
		B	1,74	11,70	11,22
9.	Z. E.	A	0,44	9,00	9,18
		B	1,02	10,00	10,00
10.	Z. E.	A	0,26	5,76	5,76
		B	0,32	11,58	10,02
11.	S. J.	A	7,20	16,80	24,80
		B	4,98	21,48	27,60
12.	M. F.	A	0,78	1,87	1,92
		B	0,32	2,04	1,92
13.	M. F.	A	2,16	4,80	5,22
		B	1,20	2,40	2,40

A : before strophanthin

B : after strophanthin

saliva secretion and potassium excretion was definitely significant according to the statistical analysis. The increase in the excretion of sodium did not prove significant.

Table II
Effect of strophanthin on parotid saliva secretion

	Sodium excretion	Potassium excretion	Saliva output
n	13	13	13
\bar{x}	— 0,20	5,56	2,13
s	1,71	6,03	3,30
t	0,43	3,32	2,33
p%	60	1	1
Significant	No	Highly	Yes

Discussion

Our method has the disadvantage that it determines the saliva secretion by the parotid only. However, the techniques for studying total salivation have serious sources of error. STEIN *et al.* [3] collected saliva by making the subjects to spit, a most unreliable method. SCHREIER and LEVIN [4] collected saliva from different salivary glands by means of small suction bells. This method is rather cumbersome and is difficult to reproduce. The method we employed has the advantages that the experiment can be repeated without difficulty and collection of saliva is precise.

It appears that the function of the parotid and of the other salivary glands is influenced by mastication and deglutition more markedly than by the intake of food (SCHEUNERT *et al.* [5], ANDERS [6]). This may be another source of error with the methods involving spitting and the use of suction bells.

It has been observed [7, 8] in salivary gland perfusion experiments that the composition of the saliva practically does not change in response to significant alterations in the sodium and potassium concentration of the perfusion fluid. The significant increase found by us in the salivary potassium concentration, therefore, does not appear to be ascribable to the slight increase in the blood potassium level following the administration of strophanthin.

Accordingly, our experiments suggest that parotid secretion changes in response to strophanthin. The secretion of water, and especially the excretion of potassium, increase and to a lesser degree also the excretion of sodium was increased in most cases. The action of strophanthin on salivation is similar to that on the kidney and sweat glands [1]. In the latter case the excretion of water and potassium are namely increased significantly, with the difference that in urine and sweat the increase in the concentration of sodium is more marked.

SUMMARY

Strophanthin was found to cause a significant increase in the excretion of potassium and water in the secretion of saliva by the parotid gland. In most cases the excretion of sodium was also slightly increased, but this increase was not significant.

A method has been described for studying parotid secretion in man.

Acknowledgements

The authors express their thanks to Dr. I. JUVANCZ, of the Medical Statistics Department, Institute of Applied Mathematics, Hungarian Academy of Sciences, for the mathematical-statistical analyses.

REFERENCES

1. SOLTI, F.: Thesis. Budapest, 1957.
2. HAMMERBACHER, cit.: H. REIN, Einführung in die Physiologie des Menschen. J. Springer, Berlin, 1936.
3. STEIN, J. A., FEIGE, Y., HOCHMANN, A.: J. labor. clin. Med. **49**, 842 (1952).
4. SCHREYER, L. H., LEVIN, L. K.: J. appl. Physiol. **7**, 609 (1955).
5. SCHREYER, L. H., LEVIN, L. K.: J. appl. Physiol. **7**, 508 (1955).
6. SCHEUNERT, A., KRYZWANEK, FR. W., ZIMMERMANN, K.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **223**, 462 (1930).
7. TITAJEW, A. A., UNIK, W. J.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **223**, 92 (1930).
8. NIKOLAJEW, O.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **223**, 103 (1930).

THE EFFECT OF STROPHANTHIN ON THE SECRETION OF SWEAT

By

F. SOLTI, J. RÉV, I. MÁRTON and E. KOLTAY

1st DEPARTMENT OF MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY, BUDAPEST

(Received October 15, 1958)

The actions of strophanthin and digitalis on renal function and on the salt and water household have extensively been studied. However, we have not found evidence in the literature concerning the action of these drugs on the secretion of sweat, though the problem is interesting for many a reason. Sweating has an important role to play in the water and electrolyte household. The total fluid output resulting from sweat gland secretion and insensible perspiration approximately equals the volume of urine (depending on the temperature and humidity of the environment). Working at high temperatures may cause excessive sweating, amounting to 5 or 6 litres in 6 hours (KALMUKOW and ERENIN [1]). In addition, considerable amounts of salts (chiefly Na and K) are excreted in sweat. According to SCHWARTZ and THAYSEN [2], the concentration of sodium in sweat averages 39.5 ± 18.5 mEq/L; of potassium, around 9.4 ± 2.5 mEq/L. BLAHD and BASSET [3] estimated the daily potassium output in sweat at 4 to 8 mEq/L. The daily sodium excretion has been reported by GOCHBERG *et al.* [4] to amount to 18 to 20 mEq/L. Although differences in the composition of the sweat in different areas of the body, the influence of temperature and humidity, difficulties in collection, etc. make precise determination of the water, sodium and potassium excretion very difficult, it is apparent that the daily excretion of salts is considerable. The activity of the sweat glands must therefore obviously be taken into consideration in studies concerned with the water and electrolyte household.

It was deemed interesting to study the effect on sweating of strophanthin, a drug known to have a considerable influence on water and electrolyte excretion. Other data indicate that the excretory function of the kidney is correlated with, or bears resemblance to, the secretion of sweat. According to CONN and ARBOR [5], the sodium and chloride concentration of sweat decreases in response to ACTH or DCA, like that of urine. The sodium chloride concentration of sweat was found to be extremely high in Addison's disease and less than normal in Cushing's disease. CONN *et al.* [6] found a decrease in the sodium concentration of sweat in response to steroids of DCA-like action. REYNOLDS [7] did not find any change in the sodium concentration

of sweat on treatment with mercurial diuretics (Mercurhydrin), whereas our own investigations [8] showed that Novurit (another mercurial diuretic) significantly enhanced sweat secretion in patients with chronic congestive heart failure. In these cases Novurit caused a marked increase in the sodium content of sweat and a slight one in its potassium content. In patients with no circulatory disorder the excretion of water and sodium increased insignificantly. These data and the fact that strophanthin exerts a considerable influence on renal function, suggested that comparative studies of the changes in sweat secretion and renal function evoked under the acute effect of strophanthin might yield interesting evidence.

Methods

In order to obtain correct results, two factors were obviously decisive, *viz.* to eliminate as effectively as possible interference by changes in temperature, humidity of the air, action by other drugs, etc., and to collect sweat precisely, in volumes suitable for exact chemical analysis. In view of these requirements the following procedure was adopted.

Sweat was collected from both hands, by means of tight-fitting rubber gloves. A small piece of filter paper was placed on the palm, under the glove, to absorb sweat. The increase in the weight of the gloves and filter papers gave the quantity of sweat secreted. To enhance the secretion of sweat and to ensure constant temperature, the palms were heated with a Sollux lamp, from a distance of 50 cm. The experiment was carried out in a room with a temperature between 20 and 24°C. For a few days before the experiment the patients were given a low-salt diet containing about 6 g sodium chloride a day. No food or drink was allowed for 10 to 12 hours before the experiment.

Our method offered the following advantages. The secretion of sweat is most intense in the palm, from which considerable volumes can be collected, an essential requirement of exact determination. No drug is needed to increase sweating (BECKER *et al.* [9] administered mecholyl, which may alter the results). The rubber glove prevents the entry of air and loss of fluid by evaporation, and thus sweating is little influenced by changes in the environment. CRAIG [10], as well as KAUFMANN *et al.* [11], showed that changes in air humidity and temperature had a significant influence on the secretion of sweat.

Preliminary experiments. In these we examined the reproducibility of the test. It was found that the secretion of sweat showed great variations from subject to subject, but was more or less constant in the same individual. The amount, the sodium and potassium concentration of sweat, as determined under identical conditions, did not vary greatly in any of the test subjects. Changes comparable to those caused by strophanthin were never noted in the preliminary experiments. We could confirm the data by COHEN [12] that the secretion of sweat by the right palm did not significantly differ from that by the left and for this reason we determined the output of both hands together.

Procedure. The experiments were carried out in the morning, on fasting patients. In a thin-walled dish with cover the two rubber gloves and the two chemically pure filter papers were measured accurately on analytical scales. The patient washed his hands and dried them gently with a clean towel. The pieces of filter paper were applied to the palm and gloves were put on. After heating the palms with a Sollux lamp from a distance of 50 cm for exactly 30 minutes, the gloves were pulled off, dried with filter paper and weighed again in the same dish. To remove residual sweat and salts, the hands were rinsed with distilled water, which was collected in 50 ml flasks. The weighed gloves and filter papers were soaked in the same distilled water, then the flask was filled up to 50 ml with distilled water. After thorough shaking, the sodium and potassium concentration of this fluid was estimated by flame photometry. Immediately after the first collection period 0,25 mg Strophoside (Sandoz) was injected intravenously and after one hour of bed rest the experiment was repeated under the same conditions. These experiments involved 14 patients with chronic circulatory insufficiency and 8 subjects with no circulatory disturbance. Before and during the experiment no drug other than strophanthin was given.

Table I

Effect of strophanthin on sweat secretion in patients with circulatory failure

No.	Initials, age, diagnosis		Sweat output mg/h	Sweat E_{Na} mg/h	Sweat E_K mg/h
1.	O. F.	62 years	A	206,8	0,70
		Myodeg. cordis	B	1067,2	2,04
2.	Z. S.	62 years	A	80,0	0,20
		Cardiosclerosis	B	460,0	0,50
3.	D. J.	36 years	A	160,0	0,34
		Mitral insuff. & sten.	B	183,0	0,44
4.	V. L.	33 years	A	151,8	1,35
		Mitral insuff. & sten.	B	1000,0	4,50
5.	B. L.	46 years	A	248,0	0,84
		Mitral insuff. & sten.	B	290,0	1,50
6.	H. A.	28 years	A	149,6	1,44
		Mitral insuff. & sten.	B	480,0	2,10
7.	V. J.	40 years	A	382,6	0,50
		Coronary sclerosis	B	480,0	1,60
8.	U. Gy.	58 years	A	110,0	0,15
		Hypertension	B	288,0	2,10
9.	G. J.	44 years	A	51,0	0,45
		Insuff. aortae	B	94,0	1,10
10.	Sz. J.	36 years	A	145,8	0,70
		Myodeg. cordis	B	260,0	1,60
11.	N. B.	32 years	A	502,0	0,45
		Sten. ost. ven. sin.	B	1211,0	0,86
12.	J. I.	34 years	A	524,2	0,70
		Sten. ost. ven. sin.	B	1220,0	1,60
13.	B. N.	22 years	A	420,0	0,50
		Mitral insuff. & sten.	B	680,0	0,62
14.	Cs. I.	48 years	A	100,0	0,50
		Mitral insuff.	B	150,0	1,60
					0,49
					2,71

Abbreviations:

A = before the administration of strophanthin

B = after the administration of strophanthin

 E_{Na} = sodium excretion E_K = potassium excretion

Table II.
Effect of strophanthin on sweat secretion in patients with no circulatory disorder

No.	Initials, age, diagnosis		Sweat output mg/h	Sweat E_{Na} mg/h	Sweat E_J mg/h
1.	K. K.	28 years	A	207,4	1,20
	Duodenal ulcer		B	300,0	1,30
2.	Cs. P.	36 years	A	160,8	0,40
	Neurosis		B	228,0	0,60
3.	P. J.	40 years	A	370,0	1,60
	Bronchitis		B	900,0	2,50
4.	U. J.	27 years	A	270,0	0,90
	Chronic gastritis		B	250,0	1,10
5.	V. L.	36 years	A	400,0	1,30
	Cholecystopathy		B	1020,0	2,30
6.	H. N.	50 years	A	300,0	1,34
	Osteoarthrosis		B	400,0	2,80
7.	K. J.	49 years	A	763,1	2,30
	Anaemia		B	1410,0	2,50
8.	B. N.	50 years	A	500,0	1,80
	Neurosis		B	680,0	2,40

Abbreviations:

A = before strophanthin
 B = after strophanthin
 E_{Na} = sodium excretion
 E_K = potassium excretion

Results

In the group of patients not suffering from circulatory disease, the secretion of sweat and the excretion of sodium and potassium were higher even at rest than in the patients with heart disease. In the normal subjects the average rate of sweat secretion was 370 mg/h; the excretion of sodium, 1.48 mg/h; of potassium, 1.28 mg/h; as compared to the 216 mg/h, 0.53 mg/h and 0.60 mg/h values obtained for the patients with heart disease. This was in agreement with our earlier findings (FÖLDI, SOLTI, RÉV, KOLTAY [8]), according to which in circulatory failure the resting sweat secretion was lower than normal. In response to strophanthin, sweat secretion and within it the excretion of sodium and potassium increased significantly. The increase was more marked in the group of cardiac patients, but was demonstrable

in the normal controls as well. In the normal group sweat secretion increased from 370 to 770 mg/h, sodium excretion from 1.48 to 2.10 mg/h, potassium excretion from 1.28 to 2.30 mg/h. The cardiac patients showed a relatively greater increase, the corresponding values were from 216 to 570 mg/h, from 0.53 to 1.80 mg/h and from 0.60 to 2.05 mg/h. The results of statistical analysis are presented below.

Strophanthin increased significantly the rate of sweat secretion in normal subjects and cardiac patients alike. The increase was more marked in circulatory insufficiency, but the difference was not significant.

Response to strophanthin in cardiac patients and normal subjects difference (patients — normals)

	Sweat	E_{Na}	E_K
$n_1 + n_2$	8 + 14	8 + 14	8 + 14
diff.	53,72	0,38	0,46
s	301,82	0,71	1,17
t	0,40	1,21	0,89
p%	~70	>20	>30
significant	no	no	no

Effect of strophanthin on the secretion of sweat

	No circulatory disorder			Circulatory disorder		
	Sweat	E_{Na}	E_K	Sweat	E_{Na}	E_K
n	8	8	7	14	14	14
\bar{x}	227,09	0,57	0,96	330,81	0,95	1,42
s	273,98	0,48	1,11	315,80	0,81	1,19
t	2,86	3,55	2,46	3,92	4,43	4,45
p%	2	1	5	1	1	1
significant	yes	highly	yes	highly	highly	highly

Discussion

In response to strophanthin the secretion of sweat, as well as the excretion of sodium and potassium, increased significantly in every case. In circulatory insufficiency both increases were relatively greater. The changes were marked and exceeded (always in the same direction) the spontaneous variations found under the experimental conditions employed.

There still remains the problem, how far these findings apply to the total sweat secretion. MICKESEN and KEYS [13], LADELL [14], KLEEMAN *et al.*

[15] found no significant differences in the composition of sweat originating from various parts of the body. According to WATKINS [16], there are certain variations in sweat secretion in the different skin areas, but the same response is given to the same effect everywhere. Although our results did not supply exact data as to the total sweat secretion, it can nevertheless be postulated that in response to strophanthin the secretion of sweat, as well as the excretion of sodium and potassium increase significantly. The increased sweating found after the administration of strophanthin by VEIL and HEILMEYER [17] corroborates our observations.

The changes in the secretion of sweat in response to strophanthin bear resemblance to the acute changes in renal function induced by that drug. In the latter case, too, the increase in water excretion (increase in the secretion of sweat) is associated with a significant increase in sodium and potassium excretion and the response develops rapidly.

We wish to add that in 4 subjects (3 cardiac and 1 normal) the above experiments were repeated with administering 0.5 mg of digitoxin intravenously, instead of strophanthin. As expected, the results were comparable to those obtained with strophanthin.

SUMMARY

- (i) In response to strophanthin a significant increase has been found to occur in sweat secretion, and in the excretion of sodium and potassium in sweat.
- (ii) The increase was more marked in patients with chronic circulatory failure.
- (iii) The effect of strophanthin on sweating has been found to resemble the action of the drug on renal function.

Acknowledgements]

The authors express their thanks to Dr. I. JUVANČ and J. FISCHER, of the Biometric Department, Mathematical Research Institute, Hungarian Academy of Sciences, for the statistical calculations.

REFERENCES

1. KALMUKOV, P. E., ERENIN, F. T.: *Fiziol. Z.* **4**, 547 (1955).
2. SCHWARTZ, I. L., THAYSEN, J. H.: *J. clin. Invest.* **35**, 114 (1956).
3. BLAHD, W. H., BASSET, S. H.: *Metabolism* **2**, 218 (1953).
4. GOCHBERG, S. H., COOKE, R. E.: *Pediatrics* **18**, 701 (1950).
5. CONN, J. W., ARBOR, A.: *Arch. int. Med.* **83**, 416 (1949).
6. CONN, J. W., LUIS, L. H., JOHNSTON, M. W., JOHNSON, B. J.: *J. clin. Invest.* **27**, 529 (1947).
7. REYNOLDS, T.: *Proc. Soc. exp. Biol.* **79**, 118 (1952).
8. FÖLDI, M., SOLTI, F., KOLTAY, E., RÉV, J.: *Orv. Hetil.* **98**, 676 (1957).
9. BECKER, B. R., GENKINS, G., BRAUNWALD, E.: *Proc. Soc. exp. Biol.* **86**, 60 (1955).
10. CRAIG, F. N.: *J. appl. Physiol.* **8**, 473 (1956).
11. KAUFMANN, W., THAUER, R., ZÖLLNER, G.: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **261**, 189 (1955).
12. COHEN, M. E.: *Amer. J. med. Sci.* **220**, 496 (1950).
13. MICKELSEN, O., KEYS, A.: *J. biol. Chem.* **149**, 479 (1953).
14. LADELL, W. S. S.: *J. Physiol.* **107**, 465 (1948).
15. KLEEMAN, CH. R., BASS, D. E., QUINN, M.: *J. clin. Invest.* **32** (1953).
16. WATKINS, E. S.: *Quart. J. exp. Physiol.* **41**, 263 (1956).
17. VEIL, W. H., HEILMEYER, L.: *Dtsch. Arch. klin. Med.* **147**, 22 (1925).

THE EFFECT OF DIBENAMINE ON THE INCREASED EXCRETION OF WATER, SODIUM AND POTASSIUM IN SWEAT CAUSED BY STROPHANTHIN

By

F. SOLTI, J. RÉV, I. MÁRTON, Z. RÉFI and E. KOLTAY

1st DEPARTMENT OF MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY, BUDAPEST

(Received October 15, 1958)

Previously it has been shown that in acute experiments strophanthin produces marked changes in the secretion of sweat. The amount of sweat secreted and the excretion of potassium in sweat increase significantly and sodium excretion is also enhanced. These changes are more marked in patients with chronic heart failure, but occur also in the absence of circulatory disorders. Thus, the changes in the secretion of sweat in response to strophanthin are apparently not ascribable to eventual changes in circulation.

In other studies [1] we found that Dibenamine, a sympatholytic agent, prevented the acute changes in renal function, *i.e.* the increase in the excretion of sodium and potassium, caused by strophanthin or digitalis.

It was, therefore, suggested that Dibenamine might influence the strophanthin-induced changes in the secretion of sweat as well.

Methods and procedure

Sweat was collected by means of rubber gloves from both palms, as described in detail elsewhere. The volume of sweat, as well as the concentration of sodium and potassium in sweat were determined, the latter by flame photometry.

The experiments were carried out in the morning, on fasting patients. For a few days before the experiment the patients had been given a low-salt diet containing about 6 g of sodium chloride daily.

Dibenamine was administered in slow intravenous drip infusion, at a rate of 5 mg/kg of body weight in 30 minutes. One hour later sweat was collected by the usual method from both palms and immediately after that 0,25 mg of strophanthin (Kombetin) was injected intravenously. The experiment was repeated after one hour of complete rest, under the same conditions. Ten patients with no evidence of circulatory disorder were involved in the study.

Results and discussion

The results are presented in *Table I*. As it is clear from the data, Dibenamine had a considerable inhibitory action on the changes caused by strophanthin. Without Dibenamine, the excretion of sodium and potassium increased markedly one hour after the administration of strophanthin even in the patients with a normal circulation, whereas of the ten cases treated with Dibenamine the excretion of sodium and potassium decreased in 2, was unchanged in 5 and rose slightly in 5. An increase so marked as is usual without

Table I
Effect of strophanthin on sweat secretion after previous treatment with Dibenamine

No.	Initials, age, diagnosis		Sweat output mg/h	Sodium excretion mg/h	Potassium excretion mg/h
1.	B. L., 26 years colitis	A	320	1,10	0,50
		B	345	1,05	1,45
2.	C. A., 32 years hyperthyroidism	A	450	1,30	0,60
		B	500	1,45	0,50
3.	T. B., 40 years gastric ulcer	A	300	0,80	0,70
		B	280	0,70	0,55
4.	N. L., 40 years gastric ulcer	A	250	1,10	0,40
		B	360	1,50	0,60
5.	B. J., 32 years hyperthyroidism	A	500	0,80	0,60
		B	580	0,88	0,50
6.	K. L., 44 years neurosis	A	220	1,50	0,70
		B	300	1,88	0,95
7.	J. N., 28 years neurosis	A	700	1,60	1,10
		B	820	1,48	1,20
8.	S. B., 30 years cholelithiasis	A	800	1,50	1,00
		B	900	1,60	0,95
9.	K. T., 28 years neurosis	A	290	1,20	1,50
		B	280	1,10	1,60
10.	B. Gy., 48 years chronic gastritis	A	350	1,70	1,20
		B	300	1,60	1,30

A = before strophanthin ; B = after strophanthin.

Dibenamine did not occur in any of the patients treated with sympatholytic agent.

The increase in the volume of sweat was also less marked after administering Dibenamine ; an increase was noted only in 5 of the 10 patients, and even in these the increase was smaller than without Dibenamine.

The effect of strophanthin on the secretion of sweat was diminished by Dibenamine, although the amount of sweat showed a statistically just significant increase. There was, however, no demonstrable increase in the excretion of potassium or sodium.

*Effect of strophanthin on the secretion of sweat
after treatment with Dibenamine*

	Sweat	E_{Na}	E_K
n	10	10	10
\bar{x}	48,5	0,064	0,030
s	59,5	0,197	0,138
t	2,58	1,03	0,69
p%	< 5	>30	>50
Is it significant?	Yes	No	No

Summing up, the changes in sweat secretion caused by strophanthin in patients both with and without heart disease are significantly reduced following treatment with Dibenamine.

*Effect of strophanthin on the secretion
of sweat, without and with Dibenamine treatment*

	Sweat	E_{Na}	E_K
n_1 ; n_2	10 ; 8	10 ; 8	10 ; 8
diff.	— 2,29	— 0,51	— 0,93
t	2,58	3,03	2,64
p%	< 5	~ 1	< 5
Is it significant?	Yes	Highly	Yes

We wish to point out two important features in the response of sweating to strophanthin. First, the rapid development of the changes (under the experimental conditions employed, marked changes were noted within 1 hour after administration of the drug). Second, although the increase in the excretion of water and chiefly of potassium and sodium was more marked in patients with chronic heart failure, changes occurred also in subjects with no circulatory disorder. These findings, *ceteris paribus*, indicate that strophanthin acts on the secretion of sweat not alone by influencing the circulation. We found that in the ECG the acute changes caused by strophanthin arose through the mediation of the central nervous system, and in part through that of the sympathetic nervous system. The changes in renal function which follow the administration of strophanthin are mediated mainly by the sympathetic nervous system [1]. The results of our Dibenamine experiments indicate that such a nervous effect may be involved also in the response of the sweat glands.

The central nervous system has, of course, a far-reaching influence on the secretion of sweat. Nervous excitation is known markedly to increase the perspiration, especially on the palms and soles. This arises mainly through the mediation of the parasympathetic nervous system and can be blocked by the administration of atropine. SONNENSCHEIN *et al.* [2] and GREVILLE YOUNG [3] found a significant increase of sweating and salivation in response to the stimulation of the extrapyramidal nervous system. BECHTEREW [4] reported that stimulation of the precruciate gyrus resulted in an increase of perspiration on the contralateral side. The nerve fibres supplying the sweat glands are mainly cholinergic (DALE and FELDBERG [5]). However, adrenaline and nor-adrenaline, these mediators of the sympathetic nervous system and sympathetic nerve endings, also have a marked influence on sweating. The increased outflow of adrenaline or nor-adrenaline is known to be accompanied by increased perspiration (for example, the attacks occurring in patients with phaeochromocytoma). EVANS *et al.* [6] observed that in horses perspiration was increased parallel with the increase in the serum adrenaline level. HAIMOVICI [7] reported that the intravenous administration of Dibenamine blocked the increase of sweat secretion due to the local application of adrenaline. Digitalis is known to have a significant influence on the tone of the autonomic nervous system, increasing the vagal and decreasing the sympathetic tone, and it is also known that strophanthin lessens the effect of adrenaline. According to SELVINI *et al.* [8], digitalis prevents the development of cardiac hypertrophy induced by adrenaline or ephedrine. SIMON [9] found that digitalis and adrenaline antagonized each other's actions on the frog heart. On the other hand, digitalis may at sites probably stimulate the sympathetic nerves. For example, WOLFF [10] ascribed the effect of strophanthin on the blood sugar level to sympathetic stimulation and inhibited that effect by the administration of dihydroergotamine. SARRE and HERZIG [11], studying the positive inotropic action of digitalis, attributed in this some role to an increase in the sympathetic tone.

At any rate, our present experiments with Dibenamine suggest that strophanthin acts on the sweat glands, at least in part, through the autonomic (chiefly the sympathetic) nervous system. There is another interesting similarity between renal function and sweat secretion, in that strophanthin enhances the excretion of water, sodium and potassium, and Dibenamine markedly inhibits the development of these changes in both cases [1].

Our experiments, naturally, do not allow numerical conclusions as to eventual changes in total sweat secretion. Strophanthin most probably significantly increases the excretion of water, sodium and potassium all over the body surface, especially in patients with chronic heart failure, and the sweat glands might contribute to the loss of cardiac oedema in the course of digitalis treatment.

Finally, it must be pointed out that the action of strophanthin on the sweat glands may not merely consist in increase of sweat production. BERENSON and BURCH [12] have shown that some of the sodium and potassium excreted with sweat was reabsorbed from the skin. It may be surmised that strophanthin inhibits this reabsorption process.

SUMMARY

(i) The action of strophanthin on sweat secretion has been examined following pre-treatment with Dibenamine.

(ii) Dibenamine almost completely blocked the action of strophanthin. The increase in the excretion of sodium and potassium did not take place and the increase in the volume of sweat was also reduced.

(iii) Strophanthin may act on the secretion of sweat, at least in part, through the autonomic nervous system.

Acknowledgement

The authors express their thanks to Dr. I. JUVANCZ, of the Mathematical Research Institute, Hungarian Academy of Sciences, for the statistical analysis.

REFERENCES

1. SOLTI, F.: Thesis, Budapest, 1957.
2. SONNENSCHEIN, R. R., KOBIN, H., JANOWITZ, H. D., GROSSMAN, M. I.: *J. appl. Physiol.* **3**, 573 (1951).
3. GREVILLE YOUNG, A.: *Brit. med. J.* **2**, 476 (1956).
4. BECHTEREW, W.: *Arch. Anat. Physiol.* **00**, 297 (1905).
5. DALE, H. H., FELDBERG, W.: *J. Physiol.* **82**, 121 (1934).
6. EVANS, L. C., SMITH, D. F. G., WEIL-MALHERBE, H.: *J. Physiol.* **132**, 542 (1956).
7. HAIMOVICI, H.: *J. appl. Physiol.* **2**, 12 (1950).
8. SELVINI, A., PILOTTI, A., BREGANI, P.: *Folia cardiol. (Milano)* **10**, 419 (1951).
9. SIMON, I.: *Athena (Roma)* **20**, 3 (1954).
10. WOLFF, G.: *Med. Mschr.* **9**, 514 (1955).
11. SARRE, H. J., HERZIG, W.: *Klin. Wschr.* **24—25**, 321 (1947).
12. BERENSON, G. S., BURCH, G. E.: *J. lab. clin. Med.* **42**, 58 (1953).

THE EFFECT OF STROPHANTHIN ON THE CEREBRAL CIRCULATION AND ON THE POTASSIUM HOUSEHOLD OF THE BRAIN

By

F. SOLTI, I. MÁRTON and E. KOLTAY

1st DEPARTMENT OF MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY, BUDAPEST

(Received November 6, 1958)

In the effect of the digitalis glycosides a central nervous site of action is apparently also involved. For this reason it was deemed important to investigate whether digitalis would produce changes in the circulation and metabolism of the brain. This problem has not been studied in any detail and very little is known about the above effect of digitalis. MEURER and OSTERWALD [1] determined in dogs the blood flow in the internal carotid artery and found no change in response to the intravenous injection of 0,5 mg of strophantin. According to DOULL *et al.* [2], *in vitro* the digitalis glycosides enhance the O_2 uptake of the brain, but have no effect on liver and kidney tissue. Likewise, WOLLENBERGER [3] found that digitalis glycosides increased the O_2 uptake of brain tissue *in vitro*. It is remarkable that brain tissue binds very little digitalis. Chronic digitalis treatment may produce histological changes in the brain (DEARING *et al.*, [4]; ROTHLIN and BIRCHER, [5]).

Knowing that in the heart, skeletal and smooth muscles digitalis acts primarily on the potassium metabolism, we investigated, besides the changes in the cerebral blood flow, those that may occur in the potassium metabolism of the brain in response to strophantin.

Methods

Isolated perfusion of the head was carried out in crossed dog experiments, by the technique described in detail in a previous report [6]. After starting the perfusion we waited until the perfusion pressure (the mean arterial pressure of the donor animal) and the rate of flow had become constant. The mean of 3 readings made at 5 minute intervals was accepted as the initial value. Then 0,5 mg of strophantin (Kombetin) was injected very slowly (in 5 minutes) into the cranial circulation of the recipient animal. Rotameter readings, arterial pressure of the recipient, venous pressure of both donor and recipient, as well as ECG tracings were recorded continuously for one hour. Of these, only the data pertaining to cerebral blood flow will be presented below.

Before the experiment, samples of blood were withdrawn from the carotid artery (the arterial branch of the isolated head circulation) and from the internal jugular vein (the venous branch of the isolated head circulation), to determine the potassium concentration and the cerebral arterio-venous potassium difference. These tests were repeated 30 minutes and 2 hours after the administration of strophantin. The 30 minute interval was chosen because preliminary experiments had shown that it was at that time that the changes were the most marked, and also that after 2 hours the effect was about to cease.

Ten dogs were used in these investigations. In six of them the cerebral arterio-venous oxygen difference was also determined; having found no appreciable changes, we shall not present these results. Control studies (Evans blue, radioactive iodine) showed that during the experiment the head circulation of the recipient was completely separated from the trunk circulation.

The blood samples were centrifuged and the sera were tested for K by flame photometry. We did not establish the numerical value of the cerebral (cranial) vascular resistance, having been interested only in the changes of resistance caused by strophanthin and accepted the ratio: perfusion pressure mm Hg per blood flow in ml/min, as the measure of resistance. To control the results, the experiments were repeated in 4 dogs, using this time a smaller dose (0,25 mg) of strophanthin. These results, being practically identical with those obtained with the larger dose, will not be presented.

Results

The changes in cerebral blood flow and cranial (cerebral) vascular resistance caused by strophanthin are summarized in *Table I*. Cerebral blood flow changed very little after the injection of strophanthin into the isolated circulation of the head. In most cases, however, there was a slight, yet persistent, change, *viz.* cerebral (cranial) vascular resistance decreased. Cerebral blood flow increased, although the perfusion pressure was unchanged.

The changes in potassium metabolism are shown in *Table II*. In response to strophanthin the concentration of potassium increased significantly in venous blood, but was virtually unchanged in arterial blood. This finding suggests that in response to strophanthin the brain cells release potassium.

The changes in O₂ metabolism induced by strophanthin were not unequivocal and for this reason were not evaluated.

Critical analysis. Discussion

The process what the experimental conditions employed have allowed to determine is the change induced by strophanthin in the isolated circulation of the head. The circulation of the brain, however, preponderates over that of the rest of the head to such an extent, that the latter seems to have very little, if any, influence on the changes in the isolated head circulation. According to data in the literature, cerebral blood flow may be estimated at 10 to 16 per cent of the cardiac output, and the value for the total head circulation is only slightly higher [7, 8, 9]. Cerebral vascular resistance apparently decreases somewhat in response to strophanthin. The shift is not considerable, since several precise and complex mechanisms are keeping the cerebral blood flow at a possibly constant level. Of all cells, those of the brain require the most O₂, of which the mechanism controlling cerebral blood flow provide for a continuous supply, independently of the changes in the systemic circulation. This explains why, as compared to other organs, the circulation of the head

Table I
Effect of strophanthin on cranial (cerebral) blood flow

No.	Mean values for pressure and blood flow	Ep.	2	5	10	20	30	60
		minutes						
1.	T :	100	105	100	105	110	110	90
	Rm :	13	13,5	13,5	14	14	14	13
2.	T :	95	90	80	85	85	85	80
	Rm :	12	13	11,5	12,5	12	12	12
3.	T :	80	80	85	80	90	95	75
	Rm :	13	14	14,5	14,5	14	14,5	13,5
4.	T :	100	100	90	100	100	90	95
	Rm :	15	16	15	14,5	16	15,5	15
5.	T :	80	80	75	80	85	80	75
	Rm :	10	10,5	11	10,5	10	11	11
6.	T :	110	105	100	95	105	100	95
	Rm :	11	11,5	12	12,5	10,5	11	11
7.	T :	90	95	95	100	105	100	95
	Rm :	11,5	12	11,5	13	11,5	11	12,5
8.	T :	90	80	85	100	95	90	95
	Rm :	11,5	12	11,5	13	11,5	11	12,5
9.	T :	75	80	85	80	75	80	70
	Rm :	13	16	16,5	15	15	15,5	16
10.	T :	120	125	120	120	115	115	100
	Rm :	11,5	12,5	13	12,5	12	12,5	11,5

Abbreviations:

T : mean arterial pressure.

Rm : rotameter reading.

Ep : mean of three readings before experiment.

The minutes mean the time elapsed after the administration of strophanthin.

is but slightly diminished in chronic heart failure [10, 11, etc.], and why drugs (such as theobromine, adrenaline, caffeine, alcohol, hexamethonium bromide, papaverine, etc.) have so little influence on it [12, 13, 14, 15]. PAGE [16] has made the remarkable observation that the effect of drugs on the cerebral vessels often differs from their action on the vessels of other organs.

Table II
Effect of strophanthin on the potassium metabolism of the brain

No.	Period	Potassium concentration in arterial blood, mEq/L	Potassium concentration in venous blood, mEq/L
1.	A	3,75	4,10
	B	3,70	5,10
2.	A	2,95	3,00
	B	2,70	3,80
3.	A	2,90	3,10
	B	3,15	4,10
4.	A	2,90	3,10
	B	3,15	4,10
5.	A	4,05	4,00
	B	4,20	5,10
6.	A	4,20	4,30
	B	4,00	5,00
7.	A	3,90	3,80
	B	4,20	5,00
8.	A	3,80	4,00
	B	3,70	4,85
9.	A	4,30	4,30
	B	4,00	5,30
10.	A	4,10	3,90
	B	4,10	4,80

Abbreviations :

Period A : before strophanthin.

Period B : 30 minutes after the injection of strophanthin.

Arterial blood : blood withdrawn from the common carotid artery of the recipient dog.

Venous blood : blood withdrawn from the jugular vein of the recipient dog.

For instance, histamine causes cerebral vasoconstriction, nor-adrenaline vasodilatation, etc. This makes it clear that the small changes in cerebral circulation caused by strophanthin may have considerable consequences.

According to GREEF [17], skeletal muscles release potassium in response to strophantin. REGAN *et al.* [18] found that within 30 minutes after the injection of strophantin the concentration of K was significantly increased in the coronary sinus, indicating that much K was released from the heart. This seems to apply to the brain as well. The concentration of potassium in the cerebral venous outflow increases significantly in response to strophantin, apparently as a result of a release of potassium by the brain. This is another evidence showing that digitalis acts on the metabolism of potassium, on the one hand, and may be correlated with the effect of digitalis on the brain, on the other. It is known that the loss of K results in changes in the bioelectrical phenomena of cells. If much K is repeatedly lost by the cells (as in chronic digitalis treatment), histological changes may develop. The toxic nervous symptoms (vomiting, visual disturbances, delirium), occurring in the course of chronic digitalis therapy might in part be explained by the above process.

On the other hand, for the acute circulatory changes of *cortical* origin induced by strophantin, changes in the K metabolism of the brain may perhaps be responsible. (As it has been seen, the changes develop rapidly.)

SUMMARY

- (i) The effect of strophantin on blood flow and potassium metabolism in the brain has been studied in the isolated cranial (cerebral) circulation.
- (ii) In response to strophantin, cerebral vascular resistance was slightly decreased and cerebral blood flow slightly increased.
- (iii) The brain cells were found to release potassium in response to strophantin. As a result, the concentration of K in the cerebral venous outflow was significantly increased.
- (iv) The significance of the above changes has been discussed.

REFERENCES

1. MEURER, H., OSTERWALD, K. H.: Z. Kreisforsch. **32**, 41 (1940).
2. DOULL, J., HERRMANN, R. G., GEILING, E. M. K., DU BOIS, K. P.: Arch. internat. Pharmacodyn. **86**, 487 (1951).
3. WOLLENBERGER, A.: J. Pharmacol. **91**, 39 (1947).
4. DEARING, W. H., BARNES, A. R., KEROHNAN, J. W., ESSEX, H. E.: Amer. Heart J. **25**, 734 (1943).
5. ROTHLIN, E., BIRCHER, R.: Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. **5**, 542 (1954).
6. SOLTI, F.: Thesis, Budapest, 1957.
7. SCHNEIDER, M.: Dtsch. Ges. Kreisforsch. Sessions of 10 to 12 April, 1953.
8. KETY, S. S.: J. chron. Dis. **3**, 478 (1956).
9. NYLIN, G., BLÖMER, G., JONES, H., HEDLUND, S., RYLANDER, C. G.: Brit. Heart J. **18**, 385 (1956).
10. EISENBERG, S., SENSENBACH, W.: J. clin. Invest. **35**, 700 (1956).
11. SCHEINBERG, P., JAYNE, H. W.: Circulation (N. Y.) **2**, 225 (1952).
12. MANGOLD, R.: Schweiz. med. Wschr. **84**, 237 (1954).
13. SCHNELLBÄCHER, F.: Dtsch. med. Wschr. **80**, 1046 (1955).
14. DEWAR, H. A., OWEN, S. G., JENKINS, A. R.: Brit. med. J. **2**, 101 (1953).
15. KETY, S. S.: in Princeton Conference on Cerebral Vascular Disease, January 24—26, 1954.
16. PAGE, H.: in Princeton Conference on Cerebral Vascular Disease, January 24—26, 1954.
17. GREEF, K., WESTERMANN, E.: Arch. exper. Path. Pharmakol. **226**, 103 (1955).
18. REGAN, T. J., TALMERS, F. N., HELLEMS, H. K.: J. clin. Invest. **35**, 1220 (1956).

SYMMETRICAL NECROSIS OF THE RENAL CORTEX IN INFANCY

B. STEINER and A. VÉCSEI

DEPARTMENTS OF PAEDIATRICS AND PATHOLOGY OF THE BUDAPEST INSTITUTE FOR POSTGRADUATE MEDICAL EDUCATION

(Received October 15, 1958)

Symmetrical necrosis of the renal cortex is rare in infancy. To date, 25 cases have been published. LELONG *et al.* [14] succeeded in recognizing the condition during life in two cases. Although these two children died, as also those observed earlier, their diagnosis resulted in that this morbid pattern ceased to be a pathoanatomic curiosity and became a clinical problem.

The clinician has now two tasks : (i) to summarize the symptoms and diagnostic procedures on the basis of which it becomes possible to recognize the condition ; and (ii) to seek for therapeutic possibilities.

Problems of diagnosis

The fact why cases of symmetrical necrosis of the renal cortex could not be recognized was that nobody had its pattern in his memory. The first case occurring in infancy was found by CAMPBELL and HENDERSON [5] at necropsy, in 1950. In adults the condition mostly occurred with gestation toxicosis. The other eliciting factors mentioned by CAMPBELL and HENDERSON (trauma : FURTWÄNGLER [9], 1927 ; dioxane poisoning : BARBER, 1934 ; myocardial infarction : ZALKA [22], 1933 ; cancer of the ureter : DUNN and MONTGOMERY [6], 1941 ; periarteritis nodosa : MALLORY, 1947 ; etc.) do not occur in infancy either.

GÖMÖRI [12] has pointed out the following signs as characteristic of the condition in adults : headache, abdominal and low back pain, gradual increase of blood pressure, leucocytosis, oliguria and anuria. Of these symptoms, headache and abdominal pain can, theoretically, be recognized also in infants, but abdominal and low back pain can hardly be distinguished. The gradual increase of blood pressure is a valuable symptom, but blood pressure is rarely taken in infants and young children. As regards blood pressure, only the data given by LELONG are known ; in his case the upper limit was at 140/80 mm Hg.

The most conspicuous symptoms are oliguria and anuria. GÖMÖRI [12] emphasizes that even adults may fail to notice their oliguria; even in the history of children suffering from acute nephritis this symptom is rarely being mentioned by the parents. The amount of urine is rarely measured in infants, partly on account of technical difficulties, and errors in judging it are frequent. Anuria may be disregarded because the parents believe that the urine voided became mixed to the faeces. Once oliguria or anuria has become obvious, provisions are made to replace the lost fluids and salts, and these procedures may result in the restitution of urine excretion. If this does not ensue, the use of the condition may be sought for by a wrong approach. It is often assumed that renal function was not restored because (i) the salt and fluid loss had not properly been replaced ; (ii) renal insufficiency was due to cardiac failure or (iii) to severe toxicosis. The difficulties of differential diagnosis may best be seen from the cases of ZUELZER [23] : in 10 infants who died of symmetrical cortical necrosis, oliguria or anuria was invariably observed 1 or 2 days before death, but the cause of anuria was not recognized in either of them. The misinterpretation of this symptom was due partly to the fact that renal injury of vascular origin was believed to be extremely rare. Although ZUELZER [23] proved this opinion to be untenable, his view has not been generally adopted, nor is it quoted in the textbooks. It was only by the reports of CAMPBELL and HENDERSON [5], LELONG *et al.* [14], and GASSER *et al.* [10], that attention has been called to symmetrical cortical necrosis. ZUELZER [23] found in his necropsy material between 1940 and 1950 40 cases of severe renal disease due to circulatory failure ; 34 of them were infants. These data have induced us to pay increased attention to symmetrical cortical necrosis and other renal diseases of vascular origin in the differential diagnosis of oliguria and anuria.

In establishing the diagnosis, the following facts appear significant :

(i) If in an infant oliguria or anuria does not cease after adequate administration of fluid and salts, examinations should be done in order to establish or exclude, renal or postrenal factors. We have observed anuria in a newborn, due to a congenital urethral valve (SÜSSKIND and BIRÓ, 20).

(ii) The so-called "little signs" may be helpful. One of them is leucocytosis. In salt and fluid loss due to common intestinal catarrh, especially after the loss has been corrected, leucocyte counts exceeding 20 000, up to 50 000, are infrequent, whilst similar values may occur in symmetrical cortical necrosis. Non-protein nitrogen is often elevated in exsiccosis. If, however, values exceeding 100 mg per 100 ml persist after replacement of the lost fluid, renal or postrenal factors of oliguria must be sought for.

(iii) The basic disease giving rise to cortical necrosis need not be severe. In some cases the eliciting disease could not be demonstrated at all (CAMPBELL, GASSER).

(iv) Albuminuria and red blood corpuscles in the sediment may be found in both exsiccosis and symmetrical necrosis of the renal cortex. In a few cases of the latter condition (Case 6 of ZUELZER, Case 4 of LELONG), however, albuminuria and erythrocytes were missing. Thus, cortical necrosis cannot be ruled out on the basis of normal urinary findings.

(v) If, after the replacement of the salt and fluid lost, chlorides are excreted with the urine, this fact is no proof against chlorine deficiency, because chlorides are invariably excreted by the kidney in isosthenuria or adrenal failure. Therefore, in differential diagnosis attention has to be paid to the specific gravity of the urine (FANCONI, [7]). The definitive diagnosis should not be established before the administration of adrenocortical hormones.

(vi) If the compensation of salt and fluid loss is not followed by diuresis, oliguria or anuria still may have been caused by other than renal or postrenal factors, e. g. by inadequate compensation. Therefore, the determination of nonprotein nitrogen, reserve alkali, sodium level or total alkali, should be regularly performed. For clinical purposes the procedure of FERENCZ and BODA [8] has proved useful.

(vii) Exsiccosis plays a prominent role in eliciting symmetrical cortical necrosis. Yet, in exceptional cases it may be missing (Case 4 of LELONG).

(viii) In doubtful cases, X-ray examination, tomography, perirenal air insufflation, cystoscopy and biopsy may offer some help in differential diagnosis.

From these facts the conclusion may be drawn that theoretically it is possible to recognize the condition in the living, if it is not disregarded. Its symptomatology has in the last years been enriched by new contributions.

The significance of the haemolytic-uraemic syndrome in symptomatology

To date, only few authors have been concerned with the interrelation of haemolytic symmetrical cortical necrosis. It was discussed by SHEEHAN and MOORE [19], further by HUNT [13], whose patient suffered from thrombocytopenic purpura. The authors mentioned the simultaneous occurrence of the two syndromes as an interesting phenomenon, but the relationships were not discussed. Recently, GASSER *et al.* [10] have pointed out that the renal failure observed by them together with haemolytic anaemia in 5 patients, 4 of whom were infants, may be due also to symmetrical cortical necrosis. None of these cases was recognized before death. The above report, however, gave us some assistance in the premortal diagnosis. Our patient is the third infant in whom the diagnosis of symmetrical necrosis of the renal cortex had been established during life and was confirmed at the post mortem examination.

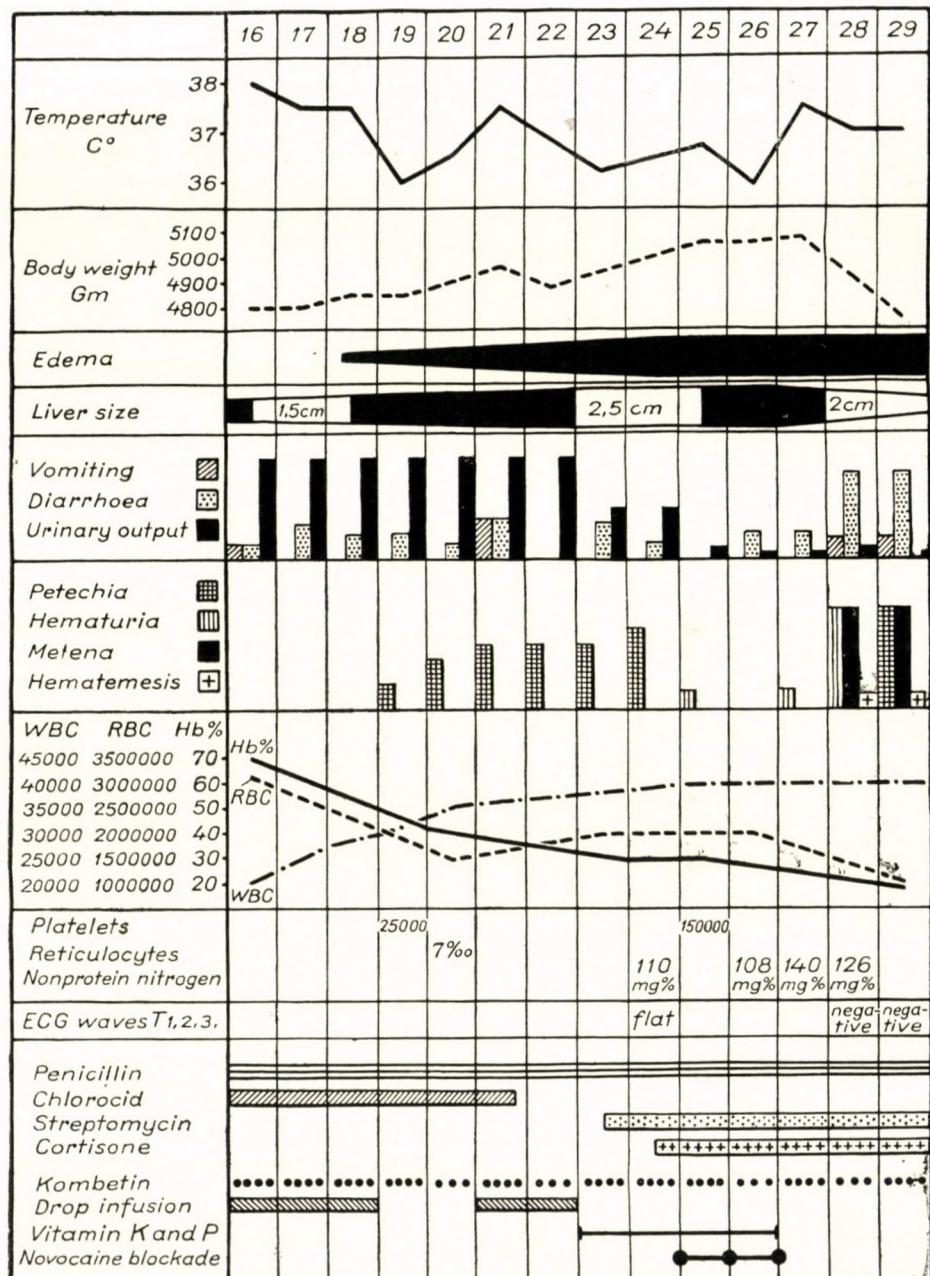
Report of a case

V. G., a premature infant born in the 8th month of pregnancy, had weight at birth 2700 g. When 7 weeks old, he had suffered from Leiner's erythrodermia complicated by otitis. At the age of 4 months again earache, and also vomiting and diarrhoea had occurred. He was admitted being suspect of mastoiditis. After 10 days' observation he was operated on (Dr. Kárpát). Suppuration was found on both sides. 200,000 I. U. penicillin daily were administered. The wound displayed little tendency to heal. On the 4th and 5th postoperative days the patient vomited. Gastric lavage was done and a toxicosis diet was prescribed. Despite these measures, he lost rapidly weight, and his temperature rose to 39°C. As he could not be nourished by mouth, a drop infusion was administered for 4 days. The faeces were semifluid, and subfebrility persisted. *E. coli* 111 infection was assumed and confirmed by bacteriology.

The symptoms of disease in the order of their occurrence were (Table I) (i) elevated temperature; (ii) vomiting; (iii) diarrhoea; (iv) marked and gradually increasing leucocytosis; (v) severe, increasing anaemia; (vi) increase of body weight despite the diarrhoea; (vii) mild enlargement of the liver; (viii) reduced platelet count; (ix) mild, then severe subdermal haemorrhages; (x) increasing oedema; (xi) pathologic constituents in the urine (albumin, 4 to 30 leucocytes, 4 to 10 haemolyzed and 8 to 60 intact erythrocytes, per visual field) the amount of which pointed to a progress of the disease; (xii) meteorism; (xiii) oliguria, later anuria; (xiv) high N. P. N. values; (xv) pathologic ECG with flat, later negative $T_{1, 2, 3}$, and depressed T_3 ; (xvi) vomiting of blood; (xvii) bloody stools.

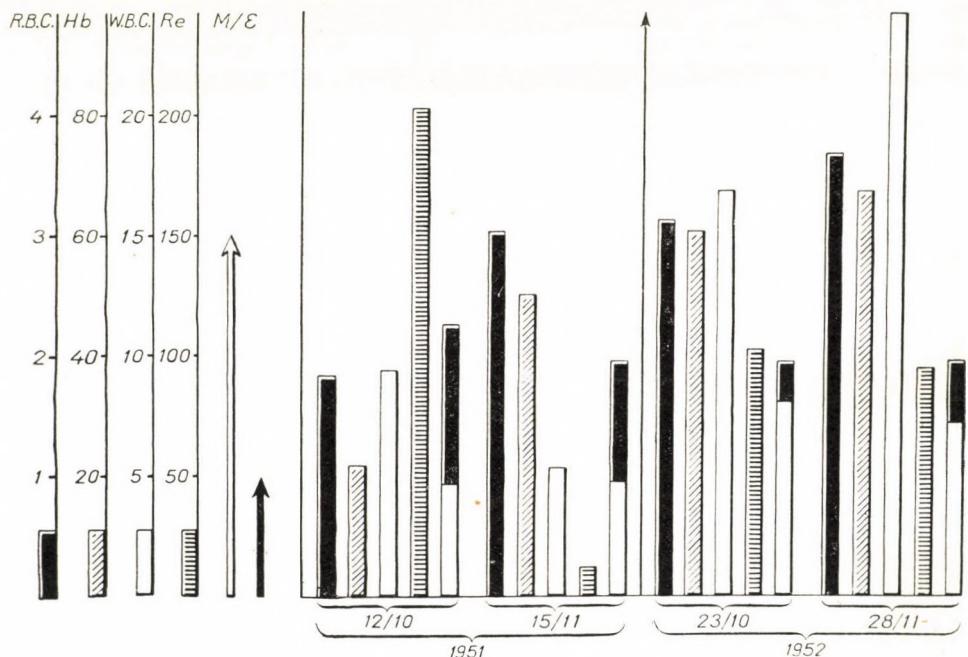
In order to find the correct interpretation of the symptoms, they were divided in groups (Table I). The first symptoms (fever, vomiting, diarrhoea,) were attributed to the infection with *E. coli* type 111. Therefore, chloramphenicol in a daily dose of 50 mg/kg body weight was administered beside the penicillin. The leucocyte count of 20 000 supported the diagnosis, but its increasing tendency was unusual and needed explanation. The weight increase in spite of vomiting and diarrhoea pointed to latent oedema, perhaps as a result of exaggerated hydration. The cardiac origin was unlikely, considering that the child had no dyspnoea, the heart sounds were of normal intensity, the liver was hardly enlarged, the urine findings did not correspond to congestion, and venous pressure was normal. Renal oedema was excluded by the initially normal urinary finding. The presence of starvation oedema was contradicted by the normal serum protein level. Finally, increased capillary permeability due to the infection was made responsible for the oedema.

Anaemia was also believed to be due to the infection. The haemoglobin content was 35, later 20 per cent, the erythrocyte count dropped from 3 million to 1.45 million. In the smears aniso-, micro- and poikilocytosis and many fragmented erythrocytes were seen. The reticulocyte count was strikingly low, 7 per 1000. Later, when the reduction of the platelet count was associated with subepidermal and subdermal haemorrhages of increasing extent, the assumption became warranted that the anaemia was only partly due to the infection, the haemorrhages forming the other, though consecutive, factor. Ultimately, the following factors were considered as responsible for the anaemia. (i) Iron deficiency due to prematurity and infection. The role of this factor was supported by the poikilocytosis, but this sign is rare after a simple blood loss and, further, it had been present before the appearance of the haemorrhages. (ii) A toxic process giving rise to the destruction of erythrocytes



and platelets, and to bone marrow exhaustion. The increased haemolytic activity of the plasma was evidenced by the fact that transfusion of blood did not elevate the erythrocyte count. The presence of fragmented erythrocytes was also considered a sign of haemolysis. The exhaustion of the bone marrow was evident from the low reticulocyte count. We could not withdraw enough blood for demonstrating autogenous immune bodies.

The increasing oedema again suggested the role of the kidneys. This assumption was favoured by the marked oliguria, albuminuria, and the appear-



ance of red blood corpuscles and white blood cells in the urine. As for the accurate designation of the renal alteration, the following conditions were taken into account. (i) Acute diffuse glomerulonephritis. This disease, however, ought to have followed the basic disease sooner. Another contradictory fact was the discrepancy between the severe illness and the slight urinary changes. Finally, this renal disease is rare in infancy. (ii) Acute tubular (lower nephron) nephrosis. This condition was contradicted, as seen also from ZUELZER's [23] data, by the history and the missing haemosiderinuria. In addition, the N. P. N. level is never so high in lower nephron nephrosis as it was in the present case. (iii) Symmetrical necrosis of the renal cortex. This diagnosis was suggested by the rapid development of the disease and its malignant

character. Apart from this, the severe anaemia of probably haemolytic origin, the simultaneous occurrence of haemorrhagic diathesis and acute renal failure were reminiscent of GASSER's cases. Further evidences were the increasing leucocytosis that had no other explanation, the failure of our efforts to compensate the fluid loss, the haematemesis and melaena, both of which are frequently attending symmetrical cortical necrosis.

In view of the haemorrhagic diathesis, no biopsy was performed, neither decapsulation.

The leading principle of our therapeutic efforts was the hope that the prolongation of the patient's life might give a chance for the regeneration and functional restitution of the kidneys. LELONG reported of a survival of 18 days. Apart from the antibiotic treatment, procaine blockade, blood transfusions, partial blood exchange were repeatedly done. Cortisone was administered for 6 days. The child died on the 7th day after the onset of oliguria.

Data of necropsy and histology

The skin was pale, and displayed pitting oedema. The abdomen contained 200 ml of clear fluid. The skull was symmetrical, the brain oedematous, anaemic. In the tympanic cavity red granulation tissue was found.

The heart was normal in size, and showed no pathologic change. Both lungs contained air, apart from a paravertebral area in both lower lobes which was dark red, atelectasic and fragile.

The digestive organs were normal in size and without pathological changes. The surface of the liver was smooth, the organ was of normal consistency, its structure was blurred. The pancreas was finely lobulated, rather consistent. The intestinal mucosa was smooth and pale.

The kidneys were slightly enlarged; their weight was 170 g. Their capsule stripped readily. Their surface was mottled, with yellowish-reddish patches. On the cut surface, yellow areas representing the extension of the yellow patches on the surface to the cortex were seen; they were surrounded by a red border. A similar red borderline was seen also at the junction of cortex and medulla. The yellow areas of the cortex were pale, not shiny. The medulla was evenly violet-red. The pelvic mucosa and that of the ureter was smooth and pale (Fig. 1).

Microscopic examination. The gastric and intestinal mucosa displayed no pathological change. In the liver there was general hyperaemia with dilated central veins, the cytoplasm was finely granulated. The organs were anaemic.

— In the kidneys the yellow areas represented necrosed foci. Within some of these necrosed areas a few hyalinized tufts and outlines of a few tubules could be recognized, at other sites necrosis was complete (Fig. 2). The necrosis

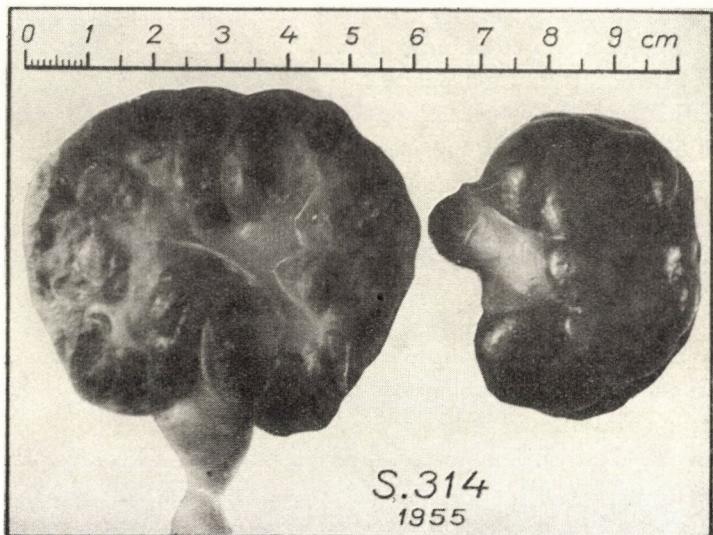


Fig. 1. Gross appearance of kidneys

extended to nearly the whole cortex, apart from a narrow subcapsular stripe, and a similar one at the cortico-medullary junction, where intact glomeruli and dilated tubuli were present. Many necrosed areas were surrounded by a haemorrhagic halo.

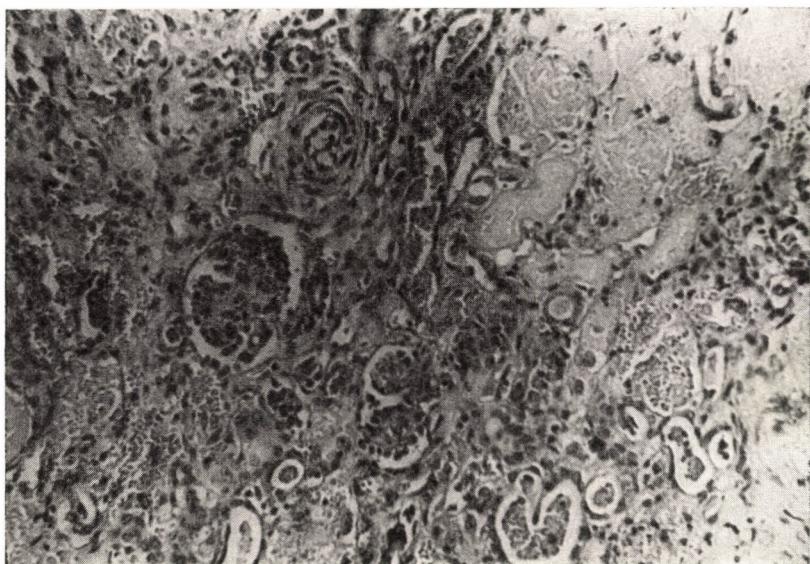


Fig. 2. Junction of necrotic and normal tissue

Discussion

Symmetrical necrosis of the renal cortex is generally believed to be due to functional ischaemia. This, however, does not invariably lead to extensive necrosis. Pertinent observations in adults have been published by GÖMÖRI. ALLEN is of the view that the necrosis is produced by severe ischaemia due to shock. In our patient shock could have been elicited by the dehydration, the diminished volume of circulating blood, and the infection. It is, however, not unwarranted to presume that exsiccosis and reduction of blood volume were sequels to the infection. NAVASQUEZ produced symmetrical cortical necrosis in rabbits by treating them with staphylococcus toxin. Similar results were obtained by the suspension of meningococci (BLACK—SCHAFFER *et al.*), intraperitoneal adrenaline injection (PENNER—BERNHEIM), high doses of vasopressin (BYROM), faradic stimulation of the splanchnic nerve (TRUETA *et al.* [21]). It may be supposed that in our patient the renal change was elicited by *E. coli* toxin. It is difficult to demonstrate this aetiology, infection with *E. coli* being common in children, whilst symmetrical cortical necrosis is very rare. Either the quality, or the quantity of the toxin, or the susceptibility of the organism, ought to have been quite uncommon.

In BELL's opinion [2], symmetrical necrosis of the renal cortex is produced by the lasting spasm of the small arteries and arterioles of the kidney. This aetiological theory has not been generally adopted. Some authors advance the view that vasodilatation, intravascular stasis of the erythrocytes and their agglutination have a prominent role (SCRIVER and BOERTEL [18]). LELONG [14] believes that both mechanisms may result in symmetrical cortical necrosis.

Some authors found thrombi in the small arteries and arterioles running at the border of the necrosed area. We found, however, in the comparatively intact subcapsular and iuxtamedullar tissue neither dilated vessels nor thrombi. More attention seem to deserve the alterations of the vessel walls which may occur also in the intact areas: in our case the walls of small arteries were markedly thickened, especially the media (Fig. 3.). In some areas the wall was homogeneously hyalinized, in the small arteries swollen endothelial cells covered the thickened basal membrane. In the intact areas hyalinized capillaries were seen beside intact tubules. (It should be noted that no vascular changes were found in other organs.) Thus, there was no parallelism between capillary and general damage. The described change of the vessel wall naturally results in functional damage, *i. e.* a change in permeability. The problem whether or not the alteration of the vessel wall is primary is still unsettled. Its primary character has been refuted by GORMSEN *et al.* [11] who found no vessel changes in the biopsy material from which symmetrical cortical necrosis was diagnosed.

On examining the genesis of the condition, the starting point may be the observation that it is apparently evoked by several factors. LERICHE [15] claims that a mere functional change of the vasomotor balance may result in anatomic changes. To adopt this claim, a special sensitivity of the renal vessels, as emphasized by LELONG [14], should be presumed. On the other hand, the facts that spasms were observed in the retinal vessels (BELL, [2]) and that symmetrical cortical necrosis is often preceded by melaena (LELONG, [14]), suggest that the change in the kidney forms perhaps only part of a genen-

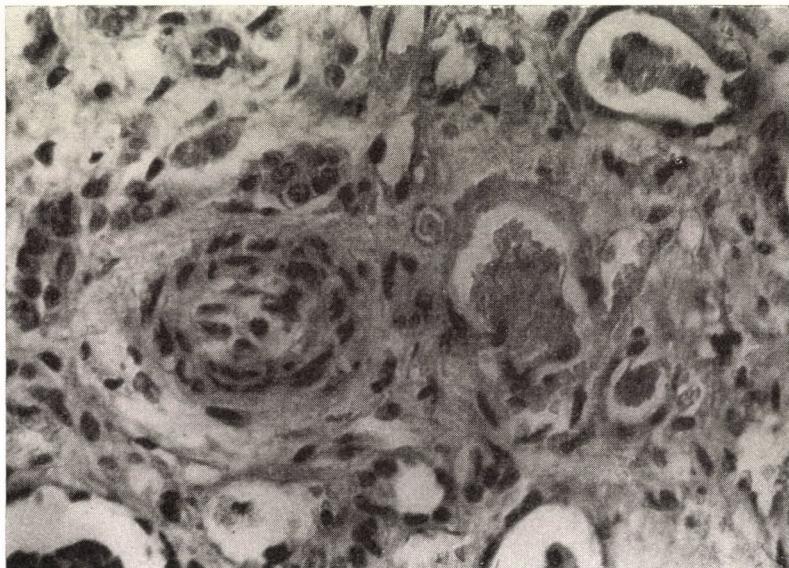


Fig. 3. Microscopic view of vessel. Thickening of media

al vascular disease. This thought has been advanced also by CAMPBELL and HENDERSON [5], as seen from the term "splanchnic vasoconstriction syndrome". The view is perhaps too narrow to regard symmetrical cortical necrosis as the result of an oversensitivity of only the renal vessels to hydrodynamic changes, neurovegetative disorders, or toxic products.

The haemorrhages observed before the death of our patient, and those found post mortem, may well be interpreted as consequential to the changes of vessels walls. The regeneration of the tubular epithelium mentioned by several authors has not been observed in the large necrosed areas found in our case.

Conclusions

The symptomatology of the symmetrical necrosis of the renal cortex is less complex in infants than in adults. It is difficult to establish that the

infant has pains. As mentioned above, oliguria, even anuria, may be obscured. Blood pressure is, as a rule, not taken. Severe anaemia, haemorrhagic diathesis and oliguria or anuria, constitute a syndrome pointing to symmetrical cortical necrosis, even if the haemolytic character of the anaemia is not marked. The condition should be thought of if thrombocytopenic purpura is associated with anuria. In order to perceive oliguria or anuria, the number of moist napkins ought to be recorded. Blood pressure should be taken regularly in infants.

As regards therapy, cortisone should be given in higher doses than usual, and prednisone may be tried.

The pathology of symmetrical cortical necrosis is full of unsettled problems. Our case represents a contribution to the observation that in infants this condition occurs most frequently in association with an intestinal catarrh.

SUMMARY

A case of symmetrical necrosis of the renal cortex in an infant recognized during life has been reported. This is the third (in Hungary the first) reported case in which the diagnosis established during life has been confirmed post mortem.

The prominent symptom of the condition is oliguria or anuria the overlooking of which is common. The opinion of GASSER [10] is confirmed that the condition should be reckoned with if the triad of severe anaemia, haemorrhagic diathesis, and renal failure, is present. The diagnosis is made probable if, after the replacement of fluid loss, oliguria persists; the N. P. N. level remains above 100 mg per 100 ml; the leucocyte count is considerably elevated; and no mass is felt at the renal region. The usual therapeutic measures (perirenal procaine blockade, cortisone, blood transfusions) were useless in the case reported.

REFERENCES

1. ALLEN, A. C.: *The Kidney*. Grune and Stratton, London, 1951.
2. BELL, E. T.: *Renal Diseases*. Kimpton, London, 1950.
3. BLACK—SCHAFFER, B., HIEBERT, T. G., KERBY, G. B.: *Arch. Path.* **43**, 28 (1947).
4. BYROM, F. B.: *J. Path. Bact.* **45**, 1 (1937).
5. CAMPBELL, A. C. P. and HENDERSON, J. L.: *Arch. Dis. Childh.* **24**, 269 (1949).
6. DUNN, I. S. and MONTGOMERY, I. L.: *J. Path. Bact.* **52**, 1 (1941).
7. FANCONI, G.: *Lehrbuch der Pädiatrie*. B. Schwabe & Co, Basel, 1956.
8. FERENZ, P. and BODA, D.: *Gyermekgyógy.* **3**, 46 (1952).
9. FURTWÄNGLER, A. quoted by CAMPBELL [5].
10. GASSER, C., GAUTIER, E., STECK, A., SIEBENMANN, R. E. and OECHSLIN, R.: *Schweiz. med. Wschr.* **85**, 905 (1955).
11. GORMSEN, H., IVERSEN, P., and RAASCHOU, F.: *Amer. J. Med.* **19** (1955).
12. GÖMÖRI, P.: *Orv. Hetil.* **89**, 136 (1948).
13. HUNT, F. G.: *J. roy. nav. med. Serv.* **25**, 270 (1939) quoted by SHEEHAN and MOORE [19].
14. LELONG, M., JOSEPH, R., BERTRAND, I., LE TAN VIN, NEZLOFF, C., MÁTHÉ, I., JOB, C. and ROIDOT, M.: *Arch. franç. Pédiat.* **12**, 793 (1955).
15. LERICHE, R.: *Presse méd.* **64**, 435 (1954).
16. NAVASQUEZ, S. DE: *J. Path. Bact.* **46**, 47 (1938).
17. PENNER, A. and BERNHEIM, A. I.: *Arch. Path.* **30**, 465 (1940).
18. SCRIVER, W. M. and OERTEL, H.: *J. Path. Bact.* **33**, 1071 (1930).
19. SHEENAN, H. L. and MOORE, H. C.: *Renal Cortical Necrosis and the Kidney of Concealed Accidental Haemorrhage*. Blackwell, Oxford, 1952.
20. SÜSSKIND, S. and BIRÓ, I.: *Gyermekgyógy.* **8**, 186—190 (1957).
21. TRUETA, I., BARCLAY, A. E., DANIEL, P. M., FRANKLIN, K. J. and PRICHARD, M. M. L.: *Studies of the Renal Circulation*. Blackwell, Oxford, 1948.
22. ZALKA, E.: *Virchows Arch. path. Anat.* **290**, 53 (1933).
23. ZUELZER, W. W., KURNETZ, R. and CHARLES, S.: *Amer. J. Dis. Child.* **81**, 1 (1951).

CHRONIC PYELONEPHRITIS

By

P. GÖMÖRI and Á. SZENDEI

3rd DEPARTMENT OF MEDICINE, MEDICAL UNIVERSITY, BUDAPEST

(Received December 20, 1958)

The banal forms of pyelonephritis are well-known and easy to recognize. Also, there is general agreement in that an "isolated" pyelitis is a most uncommon occurrence and that a "pyelitis" will sooner or later involve the renal parenchyma. As it is known, acute pyelonephritis is accompanied by fever, low back pain, cystitic complaints, pyuria and is therefore not difficult to diagnose. The chronic forms associated with fever, subfebrility, pain, pyuria and dysuria are similarly well-known. The condition is easiest to recognize when it develops in conjunction with some urological condition (calculus, etc.). There are, however, chronic forms in which the above symptoms are less marked or even absent. Also, the disease may simulate some other pathological conditions. From the clinical point of view it is therefore justified to call these forms "latent" pyelonephritis.

In the present report we shall discuss mainly these latent forms.

The problem of "latent" pyelonephritis arose when in post-mortem and biopsy studies in cases of hypertension (ENDES, TAKÁCSY-NAGY, RUBÁNYI, GÖMÖRI [5], GÖMÖRI [7]) we found that in apparently uncomplicated hypertensive vascular disease, and particularly in its malignant form, other pathological conditions including chronic pyelonephritis may be in the background. These forms of pyelonephritis were quite frequent and presented the usual pathological pattern of malignant or benign hypertension and in the course of clinical studies it had not been suspected that the disease in question was actually chronic pyelonephritis. The true diagnosis was revealed by biopsy or at necropsy. We have reported this observation of ours for the first time at a congress on hypertension in Gottwaldow, Czechoslovakia (GÖMÖRI, [8]). Similar observations have been made by DEROW and ALTSCHULE [4], FISHBERG [6], LONGCOPE [10], PICKERING [1], WEISS and PARKER [16]. SARRE [14] reported that in 6.1 per cent of his cases of "essential" hypertension there was post-mortem evidence of chronic pyelonephritis, though during life this had escaped detection.

The problem of pyelonephritis has undoubtedly not been given sufficient attention in the field of research during recent decades. To mention a few

outstanding personalities concerned with the medical aspects of renal function, KORÁNYI, VOLHARD, FAHR, VON MÜLLER, ADDIS focussed great attention on the problems of nephritis, nephrosis, nephrosclerosis, but failed to recognize the medical significance of pyelonephritis. RAASCHOU [12] was the first again to emphasize the importance of this condition, in a monograph published in Copenhagen, in 1948. In that same year, BROD [2] in Prague described a case in which a maximum deterioration of tubular function was associated with satisfactory glomerular filtration. The clinical picture had suggested "nephrosclerosis", but post-mortem the presence of chronic pyelonephritis was revealed. At the congress on hypertension in Gottwaldow, BROD gave a detailed account of his findings, then in 1956 and 1957 he discussed the problem of pyelonephritis in connection with 132 cases, which had been analysed by modern methods and in which the diagnosis was confirmed either by biopsy or at necropsy [2]. In 1954, REUBI [13] in Berne called attention to the importance of the problem of pyelonephritis.

These recent investigations clearly show the importance of the pyelonephritis problem, the significance of which has been illustrated by COTTIER *et al.* [3] in the following.

(i) Beside the respiratory tract it is the kidney and the urinary tract that most often fall victim to bacterial infection.

(ii) The presence of chronic pyelonephritis was revealed post-mortem in 5.6 per cent of the 3107 cases of RAASCHOU. The clinical diagnosis had been correct in not more than 1/6 of these cases.

(iii) Pyelonephritis is responsible for 36 per cent of the renal affections leading to uraemia, whereas in only 19 per cent of the cases is glomerulonephritis present.

To these considerations we should add that certain forms of chronic pyelonephritis may be latent, extremely poor in symptoms or may even simulate some other disease and therefore lead to an erroneous diagnosis. According to our experience, latent chronic pyelonephritis usually simulates benign or malignant hypertensive vascular disease, or may appear in the form of chronic nephritis.

It is obviously of importance that such "latent" forms should be recognized during life, the more so as the management of chronic pyelonephritis is markedly different from the treatment of e. g. the "primary" hypertension.

Our observations and those published in the literature were the starting point of some detailed investigations made by us into the problem of chronic pyelonephritis.

Chronic pyelonephritis is a common disease and if we reckon with it, we shall recognize it frequently. This is clearly shown by the fact that at our Department the diagnosis of chronic pyelonephritis has increased fourfold since 1951, even as expressed in per thousands of the total patient material.

We are convinced that this increase in incidence was due to the fact that the condition has been reckoned with during the recent years and attempts have been made in every case of benign or malignant hypertension, real or suspected renal disease, to determine whether the patient was suffering from pyelonephritis. There is no reason to believe that the increase in the number of diagnoses of "chronic pyelonephritis" at our Department had anything to do with an eventual true increase in the incidence of the condition.

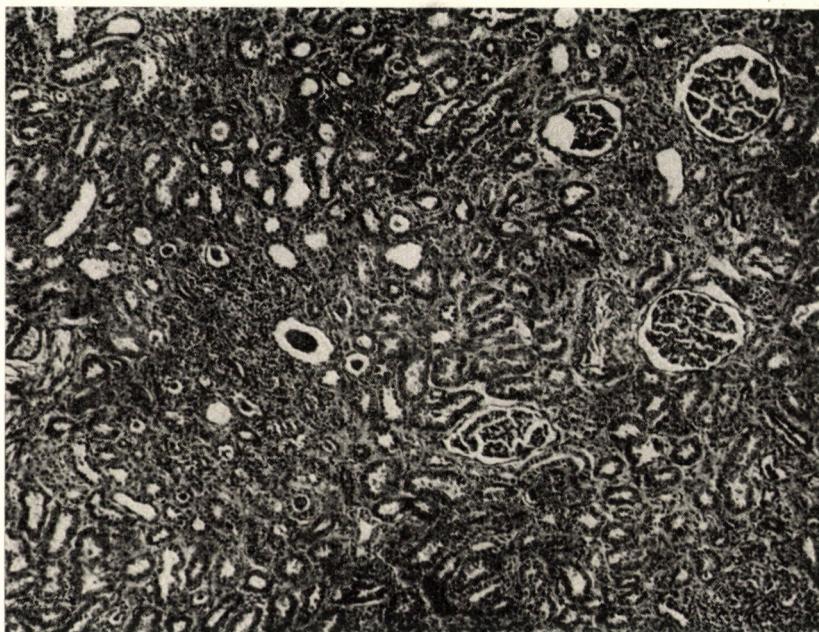


Fig. 1. Chronic pyelonephritis. Focal interstitial chronic inflammatory infiltration, with atrophied tubules in the infiltrated areas

From November, 1951, until the 30th of June, 1958, we had 99 cases in which the clinical diagnosis was chronic pyelonephritis and which suited themselves well for a clinical analysis of the problems involved.

In the following we shall discuss the characteristic features of the condition, on the basis of observations made by us and by other authors.

Chronic pyelonephritis is essentially a chronic bacterial inflammation of the kidney. Infection may be haematogenous or ascending and inflammation develops in the interlobular interstitium as well as on the mucosa of the renal pelvis. Interstitial inflammation may be focal or diffuse. In some cases it occurs mainly around the pelvis, in others it is found in the cortex, obviously as a result of the mode of spread of the infection (urogenous or haematogenous).

Thus, chronic pyelonephritis is ultimately an interstitial inflammation of the kidney (Fig. 1, Fig. 2) and it has been suggested that the term "interstitial chronic nephritis" would be more appropriate to denote the condition. Some authors have already accepted this term, but the term pyelonephritis still prevails in the literature so that for the time being it should be given preference. Recently, SPÜHLER and ZOLLINGER [14, 15] have dealt with the



Fig. 2. Chronic pyelonephritis. Diffuse interstitial chronic inflammatory infiltration with excessive destruction of the tubules. The glomerules are comparatively intact

problem of interstitial chronic nephritis and reported the occurrence of interstitial nephritis after phenacetine treatment.

However, even if from the pathological point of view bacterial pyelonephritis were not different from SPÜHLER and ZOLLINGER's interstitial nephritis, in our opinion the two conditions must not be regarded as clinically identical and bacterial nephritis should be considered a separate entity within the group of interstitial nephritides.

In accordance with the data in the literature that the disease is more frequent in females, in our material 39.5 per cent were males and 60.5 per cent females. Of the 60 females 36 (60 per cent) had and 24 had not (40 per cent) been pregnant.

The age distribution was as follows.

Age group	10—20	20—30	30—40	40—50	50—60	60—70	70—80
Number of cases	3	14	18	25	20	17	2

The history may be extremely variable. In the banal forms showing the classic symptoms of pyelonephritis the patients seek medical advice usually because of dysuria, fever, or low back pain. These complaints may be absent in the latent forms. In our cases the body temperature was normal in 44.4 per cent, a high temperature occurred in 17.2 per cent and subfebrility in 37.2 per cent. Cystitis or pyelitis was mentioned in the history in 50 per cent of the cases. Such patients either presented some symptom of hypertensive vascular disease, or complained of weakness, anorexia, headache, angina, cardiac decompensation. Decompensation occurred in 36.4 per cent. Not infrequently the patients reported for examination with the symptoms of renal failure. 19.2 per cent of the cases were admitted with a high NPN level, without any pertaining data in the history. In many a case an accidental examination had revealed the presence of hypertension or of pus in the urine.

The *symptoms* vary over a wide range.

Urine analysis and studies of *renal function* are naturally of decisive importance. Of our patients, 90 (90.6 per cent) had *albuminuria* of a varying degree, while the rest (9.4 per cent) had no albumin in the urine.

Donné's test was positive in 35 cases (35.3 per cent) and negative in 64 (64.7 per cent). Thus, even in a mixed material the majority of cases shows a negative *Donné* test, *i. e.* in them no clinical pyuria is detectable. On the basis of the old criteria, these would not have been considered to be cases of pyelonephritis.

Haematuria, usually of lesser degree, was detected by the simple examination of the sediment in 28.2 per cent of the cases and was absent in 71.8 per cent.

In 68 of the 99 cases we examined the *sediment* also according to ADDIS [1]. This test is well-known to corroborate the presence of pyelonephritis if in the sediment there is an increase in the number of leucocytes, and the erythrocytes are either not increased in number, or their increase is much less marked than that of the leucocytes. Under normal conditions the number of erythrocytes excreted in 24 hours is 130.000, that of the leucocytes 650 000. In 55 of our cases there was a marked rise in the leucocyte count, without, or with only a slight, increase in the erythrocyte count. In these cases the Addis count pointed to the presence of pyelonephritis. In 5 cases, although there was convincing clinical evidence of pyelonephritis, the Addis count was normal, and in 8 cases the erythrocyte count was markedly increased (81, 7.3 and 11.7 per cent of the cases, respectively). However, of these 8 patients 6 had renal calculi, one had a polycystic kidney and in one

we were unable to find the cause of the increased erythrocyte count. Are these 8 cases not taken into account, it is clear that a dissociated increase in the number of leucocytes in the sediment occurs in the great majority of patients and is for this reason of a particular diagnostic value.

Bacteriology of the urine yielded a positive result in 21 of 77 cases (29.5 per cent); in 43 cases no pathogenic agent was isolated. In one case *Proteus* in 2 *Enterococcus*; and in 25, *E. coli* organisms were isolated.

Hypertension (blood pressure higher than 150 mm Hg systolic and 90 mm Hg diastolic) was present in 68 cases (68.8 per cent); in 31 (31.2 per cent), blood pressure was normal. Of the 68 cases 10 presented the picture of malignant hypertension.

The *eye ground changes* generally corresponded to the grade of hypertension.

Manifest urologic disease was detected in 21 cases (21.2 per cent), while in 78 cases (78.8 per cent) no urologic condition of any kind was found. Hypertrophy of the prostate and calculosis were the commonest among the urologic affections; tuberculosis was also encountered.

Anaemia occurred in 60 cases (60.5 per cent). The incidence of anaemia increased with the deterioration of renal function.

The *erythrocyte sedimentation rate* was normal in 21 cases (21.2 per cent) and accelerated in 78 cases (78.8 per cent).

The relation between *specific gravity* and *glomerular filtration* should be dealt with separately. In previous studies on the relation of specific gravity of the urine to glomerular filtration rate, as determined by the (endogenous) creatinine clearance technique, GÖMÖRI and URAI [9] found that about 20 to 30 ml/min is the glomerular filtration rate below which isosthenuria is common. In careful studies, BROD [2] showed that, in comparison with glomerulonephritis, in pyelonephritis the concentrating power of the kidneys deteriorates sooner and in a greater measure than does the glomerular filtration rate. The interstitial nature of the process seems to involve sooner the tubules than the glomeruli. In the material under discussion, studies of creatinine clearance and maximum specific gravity showed that in chronic pyelonephritis the deterioration of concentrating power was in fact greater than that of the glomerular filtration rate. A comparison of this evidence with earlier data published by GÖMÖRI and URAI for glomerulonephritis in the first place (Fig. 3) revealed that the relative decrease of specific gravity in pyelonephritis is in fact greater (Fig. 4) than in other renal diseases. In cases of chronic nephritis a specific gravity of 1010 does not occur above a creatinine clearance rate of 20 to 30 ml/min, whereas in pyelonephritis a similar specific gravity may be associated with high, or even normal creatinine clearance rates. A mathematical analysis of the correlation between clearance and specific gravity was made at the Biometric Department, Mathematical Research Institute,

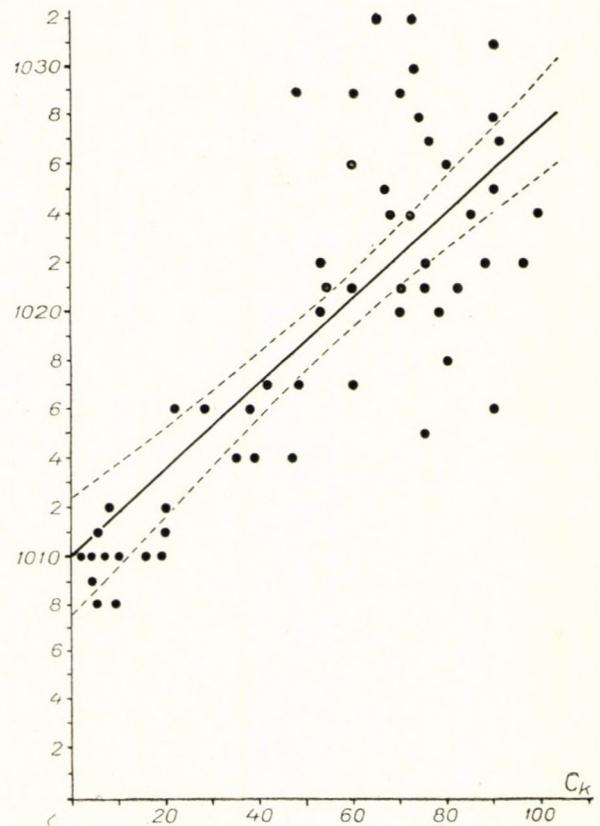


Fig. 4. Relation of the specific gravity of the urine to endogenous creatinine clearance in chronic pyelonephritis

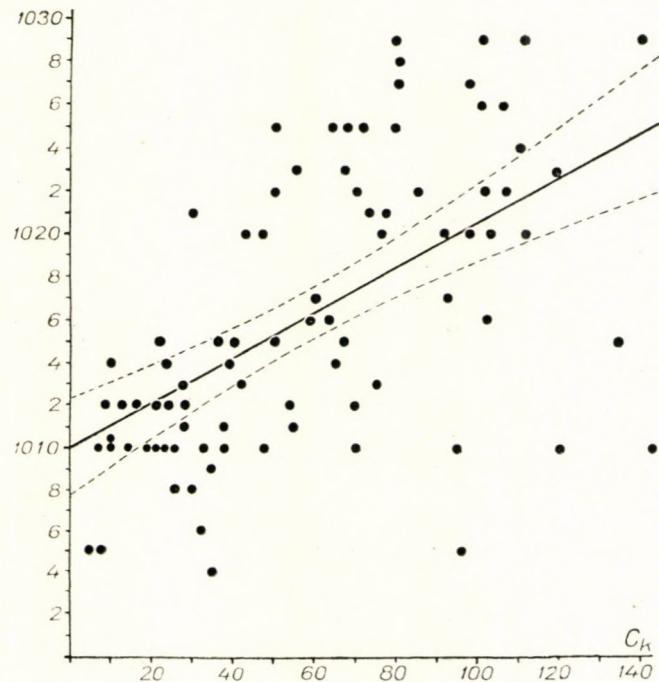


Fig. 3. Relation of the specific gravity of the urine to endogenous creatinine clearance in chronic glomerulonephritis

Hungarian Academy of Sciences (Leader of the Department, Dr. I. JUVANCS). The regression curves yielded the following results :

$$\begin{aligned} \text{chronic glomerulonephritis } Y_g &= 0.18 \times g + 1010 \\ \text{chronic pyelonephritis } Y_p &= 0.11 \times p + 1010 \end{aligned}$$

This means that in the case of glomerulonephritis, taking ϕ/ml clearance and a specific gravity of 1010, as the starting point, the specific gravity increases by an average of 1.8 with each 10 ml rise in the clearance rate. At the same time, in pyelonephritis the increase belonging to the 10 ml rises averages 1.1. As determined by the *t* test, the difference between the two regression coefficients (*a*) was highly significant ($P < 1$ per cent). The Figures show also the 95 per cent reliability range belonging to the regression curve, *i.e.* the band in which the regression curve can be supposed to run with 95 per cent probability. In addition to the difference between the regression coefficients, it is remarkable that the scattering from the regression curves was less in glomerulonephritis than in pyelonephritis. The *F* test showed the deviation to be significant ($P \sim 1$ per cent). This deviation is clearly demonstrable also by the difference between the two correlation coefficients : $r_g = 0.79$ in glomerulonephritis and $r_p = 0.56$ in pyelonephritis. After transformation the differences between the two ($-z$) is significant, as determined by the *t* test ($P < 5$ per cent).

Diabetes, suggested to promote the development of chronic pyelonephritis by certain authors, was present in 3 of the cases.

Hepatosplenomegaly, apparently often encountered in REUBI's material [3, 13], did not occur in any of our cases.

*

Next, it seemed interesting to compare our observations with the results of BROD, the more so as both had been obtained on large material (132 cases of BROD; 99 of our own) studied by up-to-date diagnostic methods for assessing renal function. As far as the decisive issues are concerned, there was good agreement between BROD's results and our own. For instance, by the ADDIS count we have found an isolated increase in the number of leucocytes in 81 per cent of the cases, whereas BROD found it in 76 per cent. The incidence of hypertension was 68 per cent in our own material and 60 per cent in BROD's. Proteinuria was present in 90 per cent of our cases and in 100 per cent of BROD's. Furthermore, the results agreed also in that the concentrating function of the kidneys deteriorated faster than the glomerular filtration rate in both studies. All these facts indicate that the two materials were closely comparable as far as the diagnostically reliable data characteristic of chronic pyelonephritis are concerned. On the other hand, fever was more frequent in our cases, whereas bacteriuria significantly more frequent (in 81 per cent) in BROD's material.

The latter fact may, however, have been due to the circumstance that in the early phase of our investigations we had not devoted sufficient attention to bacteriuria and did not go further than to make just one culture. Repeated studies would undoubtedly have brought us nearer to reality.

Ultimately we, too, have to draw the conclusion that, in the diagnosis of chronic pyelonephritis in general and in that of the "latent forms" in particular, the study of the urinary sediment according to ADDIS, the relation of creatinine clearance to the maximum concentrating capacity, and the presence of bacteriuria supply the most reliable and decisive evidence. The occurrence of other well-known symptoms, such as for example fever, increased erythrocyte sedimentation rate, low back pain, will naturally corroborate the diagnosis.

The evidence concerning diagnosis may be summarized as follows.

(i) Pyelonephritis presenting in the typical form, especially when it develops in association with some urological disease, is usually not difficult to recognize.

(ii) In the so-called "latent" forms the following examinations will yield decisive evidence.

a) *The Addis count.* This can be determined most easily and it should be made in every case of hypertension and suspected renal involvement. Its result is characteristic of pyelonephritis when the marked increase in the leucocyte count is associated with a much slighter, or no, increase in the erythrocyte count.

The ADDIS count, just like any other laboratory test, is not decisive by itself, though it means considerable aid when there is a *marked* discrepancy between the increases in the leucocyte and erythrocyte counts in favour of the former. It should, however, be borne in mind that the increase in leucocyte excretion may be due to uncomplicated cystitis, prostatitis or other diseases of the urinary tract. To rule out such conditions is of great importance in diagnosis. A rise in the erythrocyte count, even if marked, does not by itself exclude the presence of pyelonephritis; nephrolithiasis, polycystic kidney, tumour, cystitis may also cause haematuria. Accordingly, if copious haematuria is present in a case suspect of chronic pyelonephritis, we must not forget that other conditions may also be the cause of bleeding and that this may result even from instrumental examination or simple catheterization, if they are not carried out in a gentle manner.

b) The *decrease in tubular concentration*, appearing clinically with a low urinary specific gravity beside a satisfactory glomerular filtration rate is not always easy to determine, owing to the considerable scattering of values in pyelonephritis. In addition, especially with focal changes, there may be a delay in the involvement of the tubules and in the deterioration of tubular function. In our opinion, the low specific gravity associated with a satisfactory

creatinine clearance is a useful sign in diagnosis, though its absence does not rule out the possibility of pyelonephritis.

c) *Bacteriuria* is undoubtedly another important sign, though we may fail to demonstrate the presence of bacteria even in confirmed cases of pyelonephritis, and bacteria, obviously coming from the blood [2], may appear from time to time in the urine of subjects with nephritis or even with normal kidneys. It is essential that culturing should be made with great care and repeatedly; the evidence thus obtained is obviously of paramount importance also in regard to therapy.

As far as the *course* and *therapy* of the disease are concerned, these forms of chronic pyelonephritis are unfortunately malignant conditions, which, if already in the chronic stage, are incurable and lead to death with the gradual development of pyelonephritic contracted kidney. The course is similar to that of chronic nephritis. Theoretically, there is a possibility for causal therapy, since the modern chemotherapy and antibiotics offer the means of sterilizing the urine. Penicillin, streptomycin, terramycin or chloromycetin are usually prescribed, depending on the antibiotic sensitivity of the isolated bacterium. The antibiotics undoubtedly exert a favourable effect on bacteriuria and fever. We have often observed the disappearance of bacteria from the urine, but unfortunately sooner or later a recurrence will result and even if there is no recurrent bacteriuria, the pyelonephritic process, if once chronic, inevitably leads to renal insufficiency. A considerable and lasting improvement of renal function occurred in none of our cases and we have not achieved a final cure in any of the cases of chronic pyelonephritis. Thoracolumbar sympathectomy had been performed in a few cases, but it had no effect on the renal disease. The results are somewhat more favourable in the rare cases of unilateral chronic pyelonephritis. In some of these removal of the affected kidney may lead to a normalization of blood pressure and to what may be considered a practically complete cure of the renal process. We had both favourable and unfavourable results in this field. After unilateral nephrectomy, in some patients the disease continued advancing, whereas others can be considered to have been cured even from a distance of several years. If we want to solve the problem of chronic pyelonephritis, and the frequent incidence and severity of the disease make it imperative that this problem be solved, we must obviously strive to prevent the process from becoming chronic and to start adequate therapy immediately after establishing the diagnosis. For this reason, the widest medical circles should be conscious of the problems involved in chronic pyelonephritis.

REFERENCES

1. ADDIS, T.: Glomerular Nephritis. New York, 1948.
2. BROD, J.: Ztschr. f. tschechische Ärzte. **87**, 614 (1948).
Kongressverhandlungen der tschechoslowakischen kardiologischen Gesellschaft, Gottwaldow, 1953.
Lancet **1**, 973 (1956), Chronische Pyelonephritis, VEB. Volk u. Gesundheit, Berlin, 1957.
3. COTTIER, P., STANSAL, A., HILTBOLD, P.: Schweiz. med. Wschr. **88**, 463 (1958).
4. DEROW, H. A., ALTSCHULE, N. D.: Ann. int. Med. **14**, 1768 (1941).
5. ENDES, P., TAKÁCSY-NAGY, L., RUBÁNYI, P., GÖMÖRI, P.: Orv. Hetil. **96**, 253 (1955).
Acta morph. hung. **5**, 113 (1955).
6. FISHBERG, A. M.: Hypertension and Nephritis. Lea and Febiger, Philadelphia, 1954.
7. GÖMÖRI, P.: Ther. hung. **3**, 1 (1955). MTA Osztályközlemények **6**, 361 (1955).
8. GÖMÖRI, P.: Kongressverhandlungen der tschechoslowakischen kardiologischen Gesellschaft, Gottwaldow, 1953.
9. GÖMÖRI, P., URAI, L.: Orv. Hetil. (1948), cit.: GÖMÖRI, P.: Z. ärztl. Fortbild. **46**, 733 (1952).
10. LONGCOPE, W. T.: Ann. int. Med. **11**, 149 (1937).
11. PICKERING, G. W.: Circulation **6**, 599 (1952).
12. RAASCHOU, F.: Chronic Pyelonephritis, Ejnar Munksgaard, København, 1948.
13. REUBI, F.: J. Urol. méd. chir. **60**, 816 (1954).
14. SARRE, H.: Nierenkrankheiten. G. Thieme, Stuttgart, 1958. SARRE H., MOENCH A., KLUTHE R., Phenacetinabusus und Nierenschädigung (Symposion in Freiburg i. Br. 25. I. 1958) G. Thieme, Stuttgart, 1958.
15. SPÜHLER, O., ZOLLINGER, H. V.: Z. klin. Med. **151**, 1 (1953),
Schweiz. med. Wschr. **83**, 145 (1953),
Helv. med. Acta. **17**, 564 (1950).
16. WEISS, S., PARKER, F.: Medicine **18**, 221 (1939).

SUMMARY

From a study of 99 cases the following conclusions have been drawn. The incidence of chronic pyelonephritis is very high, not only in association with urologic conditions, but also without them. It may often simulate the clinical picture of chronic nephritis or malignant hypertension. Urinary sediment analysis according to ADDIS seems to present the most reliable aid in establishing the diagnosis. Hypertension occurs in $\frac{2}{3}$ of the cases. Tubular function deteriorates much faster than glomerular filtration: the specific gravity of the urine is usually low, even when the creatinine clearance is comparatively satisfactory. Chronic pyelonephritis is an important pathological condition, not only because it is wide-spread, but also because it may be mistaken for chronic nephritis or malignant hypertension.

DIE WIRKUNG DES HYDERGINS AUF DIE DURCH LICHT HERVORGERUFENE EOSINOPENIE DES BLUTES

(Vorläufige Mitteilung)

Von

M. RADNÓT, E. WALLNER und M. HÖNIG

I. AUGENKLINIK DER MEDIZINISCHEN UNIVERSITÄT, BUDAPEST

(Eingegangen am 4. September 1958)

In der Literatur gibt es mehrere Angaben darüber, daß bei der Verabreichung von ACTH bzw. Adrenalin die Verminderung der Eosinophilen im Blut auf verschiedene Wirkungsmechanismen zurückzuführen ist. Bei der Adrenalinwirkung findet sich neben der Verminderung der Eosinophilen keine Steigerung der Blutcorticoiden, während bei ACTH-Gaben die Corticoiden sich dem Grad der Eosinopenie entsprechend vermehren. Auf Grund der Literaturangaben und eigener Beobachtungen bei hypophysektomierten und adrenalektomierten Kranken sind ESSELIER, MORANDI u. JEANNERET zu der Feststellung gelangt, daß die auf Adrenalinwirkung entstandene Eosinopenie mit dem Vorhandensein von Glucocorticoiden verbunden ist. Die Wirkung der Glucocorticoiden auf die Eosinopenie wird durch Adrenalin gesteigert, diese Steigerung der Wirkung ist jedoch von dem Hypophyse-Nebennieren-System unabhängig. Über die Art der Steigerung nehmen die Verfasser keine Stellung.

Hinsichtlich der auf ACTH bzw. Adrenalin entstandenen Eosinopenie haben ZURLO und BARDELLI folgende Unterschiede gefunden.

Es wurde 12 gesunden Individuen 7—10 Tage hindurch 1,0—1,5 mg Serpasil verabreicht. Die Serpasil-Gaben haben die ACTH bedingte Eosinopenie nicht beeinflußt. Im allgemeinen war die Eosinophilienverminderung vor der Serpasilkur 42,9% und nach dieser 51,4%. Die durch Adrenalinwirkung entstandene Eosinophilienverminderung wurde dagegen durch Serpasil gehemmt. Die Eosinophilenzahl war vor dieser 41,2% und nachher 3,9%. Nach Ansicht der Verfasser sprechen die obigen Unterschiede dafür, daß das Serpasil seine Wirkung auf das Zwischenhirn und die Hypophyse entfaltet. Laut den meisten Autoren entsteht auch die adrenalinbedingte Eosinopenie auf der gleichen Weise, während die ähnliche Wirkung des ACTHs von dem Diencephalon-Hypophysen-System unabhängig ist.

Ebenso wie durch ACTH bzw. Adrenalin, wird auch durch Lichteinwirkung Eosinopenie hervorgerufen (RADNÓT, WALLNER und TÖRÖK). Es war für uns von Interesse zu untersuchen, ob der Wirkungsmechanismus dieser durch Licht hervorgerufenen Eosinophilienverminderung dem des ACTH

oder aber dem des Adrenalins ähnelt und ferner, wie sich die Lichteosinopenie nach einer Serpasil- und Hyderginkur verhält. Wir haben in unserem Krankengut bei einigen Fällen beobachtet, daß die Eosinopenie, die sich vorher auf Licht eindeutig einsetzte, nach einer Rausedylkur (eine Woche hindurch täglich 1,0 mg) nicht eintrat. Wir folgern daraus, daß die Lichteinwirkung durch Serpasil ähnlich beeinflußt wird, wie die Adrenalinwirkung. Unsere diesbezüglichen Beobachtungen wollen wir noch erweitern.

In einer anderen Serienuntersuchung haben wir den Einfluß des Hydergins studiert. Es ließ sich feststellen, daß das Hydergin die eosinopenische Wirkung des Lichtes hemmt. Entweder blieb die Verminderung der Eosinophilenzahl völlig aus (Fälle : 2, 3, 4, 9, 10), oder war sie wesentlich geringer

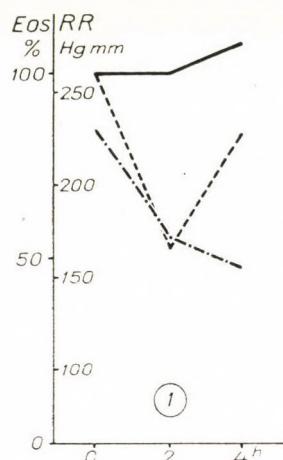


Abb. 1

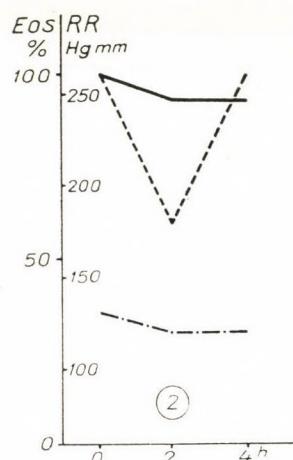


Abb. 2

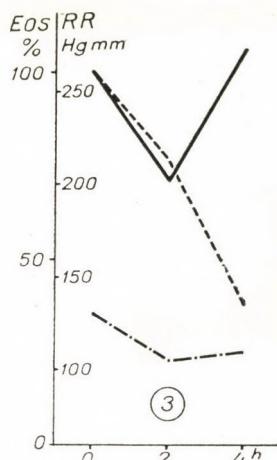


Abb. 3

wie vor den Hydergingaben (Fälle: 1, 5, 7, 8). In unseren 10 Fällen fiel ursprünglich die Eosinophilenzahl auf Lichteinwirkung binnen 2 Stunden auf 66%, binnen 4 Stunden auf 73% des Ausgangswertes. Bei denselben Fällen war die Eosinophilie nach Hydergingaben nach 2 Stunden 89% und nach 4 Stunden 93%. Es wurde einmal 1 Amp. Hydergin i. m. gegeben.

Unser bisheriges Krankengut bestand aus 5 älteren Patienten mit Hypertonie (Pat.: 1—5) und 5 jüngeren mit normalen Blutdruck (Pat.: 6—10). Die hemmende Wirkung des Hydergins auf die Lichteosinopenie ließ sich besonders deutlich bei den hypertonischen Kranken erkennen. Wir fanden bei diesen eine Eosinopenie auf Lichteinwirkung nach 2 Stunden von 53% und nach 4 Stunden von 74% gegenüber den Werten auf Hyderginkuren folgende Lichteinwirkung von 92% bzw. 94%. In dieser Krankengruppe fiel besonders der nach 2 Stunden Einwirkungszeit gefundene Wertunterschied auf. Letzterer läßt sich durch unseren Fall 2 schön demonstrieren (Abb. 1).

Bei Fall 4 ersieht man aus dem nach 4 Stunden festgestellten Wert, daß die Eosinopenie-hemmende Wirkung des Hydergins bis zu diesem Zeitpunkt schon abgeklungen war. In der Gruppe der jüngeren Patienten mit normalem Blutdruck war die Eosinophilkurve bei Fall 10 dem obenerwähnten gleich (Abb. 2). In den übrigen Fällen (Pat.: 7, 8, 9) fanden wir einen Unterschied in der Eosinophilenzahl bei Hyderginwirkung überwiegend nach 4 Stunden Beobachtungszeit, während die 2-Stunden-Werte mit und ohne Hydergin ziemlich parallel verliefen (Abb. 3). Die unterschiedlichen Befunde bei den zwei Gruppen ergeben sich wahrscheinlich nicht nur daraus, daß die hemmende Wirkung des Hydergins bei Normotonikern schwächer ist. Vielmehr sei die Ursache darin zu suchen, daß bei letzteren die eosinopenische Lichtwirkung auch ohne Hydergin viel später einzusetzen pflegt, wie bei den Hypertonikern.

Auch das Alter scheint bei der verminderten Eosinopenie-hemmenden Wirkung des Hydergins eine Rolle zu spielen. Es ergab sich nähmlich bei unserem Fall 6, einem 14 Jahre alten Patienten, eine inverse Eosinophilkurve, d. h. nach der Hyderginkur trat, wider Erwarten, eine noch deutlichere Verminderung der Eosinophilenzahl ein. Bei demselben Jungen konnte jedoch die hemmende Wirkung des Hydergins durch höhere Dosen (2 Amp.) erzielt werden.

Laut unserer bisherigen Ergebnisse können wir feststellen, daß die eosinopenische Wirkung des Lichtes sowohl durch Rausedyl wie auch durch Hydergin verringert bzw. unterbunden wird. In dieser Wirkung können sich bezüglich des Alters und der Blutdruckverhältnisse Unterschiede ergeben. Aus dem Einfluß der obigen Medikamente folgt, daß die eosinopenische Wirkung des Lichtes durch das Zwischenhirn-Hypophysen-System vorgeht und damit der eosinopenischen Wirkung des Adrenalins gleich ist.

LITERATUR

- ESSELIER, A. F., MORANDI, L. und JEANNERET, P.: Schweiz. med. Wschr. **87**, 1062 (1957).
RADNÓT, M., WALLNER, E. und TÖRÖK, É.: Acta med. **9**, 231. 1956.
ZURLO, A. und BARDELLI, S.: Riforma med. **71**, 197 (1957).

RECENSIO

DR. A. BABICS—DR. F. RÉNYI-VÁMOS: Das Lymphgefäßsystem der Niere und seine Bedeutung in der Nierenpathologie und Chirurgie.

Akadémiai Kiadó, Budapest, 1957. 472 S.

In ihrer 447 Seiten umfassenden, in acht Kapitel aufgeteilten Arbeit befassen sich die Autoren auf Grund tierexperimenteller, histologischer und Laboratoriumsuntersuchungen mit den verschiedenen Teilerscheinungen der in der Niere und in ihrem Höhlensystem vor sich gehenden physiologischen und pathologischen Prozesse und wenden ihre Aufmerksamkeit insbesondere einer Klärung der wichtigen Rolle der bisher nicht genügend gewürdigten Lymphgefäße zu. An Hand der durch diese Untersuchungen gebotenen Beweise erklären die Autoren die Entstehung der Hydronephrose und Pyelonephritis nach einer neuen Theorie, ferner teilen sie ihre wertvollen neuen Operationsverfahren mit.

Nach der Einleitung und kurzen Behandlung der Entwicklungsgeschichte findet sich im III. Kapitel als wichtiges neues Ergebnis die Beschreibung des im Nierenparenchym anwesenden reichen Lymphgefäßnetzes, das mit den pathologisch-physiologischen Verhältnissen nahe kommenden Verfahren nachgewiesen werden konnte. In Übereinstimmung mit den Feststellungen von KAISERLING und SOOSTMEYER wird bestärkt, daß diese Lymphgefäße nicht perivaskulär verlaufen. Im Gegensatz zur Niere enthält die Nierenkapsel wenige Lymphgefäße, ebenso wie sich in der Wand des Höhlensystems nur sehr wenige befinden. Eine Lymphgefäßverbindung zwischen der Rindensubstanz und der Nierenkapsel vermochten die Autoren nicht nachzuweisen. Die Initialabschnitte des in der Niere anzutreffenden Lymphgefäßnetzes sind handschuhfingerartig

geschlossen und mit Endothel auskleidet; es wird daher als geklärt betrachtet, daß es sich bei den initialen Lymphwegen nicht um Gewebsspalten handelt. Die Lymphe strömt aus der Niere in mehreren Hauptzweigen neben den Blutgefäßen des Nierenstiels in den Truncus lumbalis.

Auf Grund eigener Untersuchungen werden die anatomischen und funktionellen Verhältnisse der Kelche und des Muskelsystems im Nierenbecken besprochen. Es wird die Meinung vertreten, daß die Muskulatur der Calices und des Pyelums eine zusammenhängende Einheit bildet, vom Parenchymabschnitt über dem Fornix ausgeht und ohne Unterbrechung über die Kelchstiele in die Wand des Nierenbeckens verläuft. Die Autoren halten es daher nicht für zutreffend, die einzelnen Abschnitte gesondert zu bezeichnen und empfehlen die zusammenfassende Benennung »Kelchmuskulatur«.

Im IV. Kapitel — »Die Nierenfunktion unter besonderer Berücksichtigung der Lymphgefäß« — wird auf Grund vorangegangener Untersuchungen festgestellt, daß es im Hinblick auf den scharf umrissten Rahmen und speziellen Inhalt der Lymphgefäß in der Niere berechtigt sei, neben den Blutkapillaren, den Gewebszellen und dem Interstitium die Lymphgefäß als »vierte Kammer« zu betrachten und infolgedessen von einem »Vierkammersystem« zu sprechen. Mit elektrophoretischen Untersuchungen vermochten die Autoren nachzuweisen, daß die Lymphe von Mensch und

Tier sämtliche Serum eiweißfraktionen enthält. Sie nehmen an, daß die Gewebssäfte aus den Blutgefäßen nach anderen Gesetzen heraustreten als aus den Lymphgefäßen.

BABICS und RÉNYI-VÁMOS haben sich mit der Frage der Lymphströmungssuffizienz unabhängig von RUSZNYÁK, FÖLDI und SZABÓ beschäftigt und nehmen in ihrer Entstehung neben den mechanischen und dynamischen Ursachen infolge der toxischen Erkrankung der Lymphgefäßwand und der Möglichkeit des Übertritts von Proteinen aus dem Interstitium in die Lymphkapillaren auch das Vorhandensein einer Resorptionsuffizienz an, deren Präkapillar- und Kapillarform sie unterscheiden.

Von wesentlicher Bedeutung ist die Feststellung, daß die Ödementwicklung für jede Form der Insuffizienz charakteristisch sei. Das Schicksal des ödematösen Gebietes hängt von der Qualität der Insuffizienz ab. Nach den Untersuchungen der Autoren wird das Nierenparenchym bei Hydronephrose stark ödematos, aber von den weiten Lymphgefäßen eine große Lymphmenge abtransportiert, so daß sich in der Niere, weil das neu gebildete Ödem von den Lymphwegen ständig weitergeleitet wird, ein pathologisches Gleichgewicht entwickelt. Es entsteht daher keine permanente Stagnation im Interstitium. Infolgedessen finden wir in alten, vernachlässigten sterilen Fällen an der Stelle der Niere oft einen mächtigen Harnsack ohne Parenchym und ohne wesentliche Bindegewebsvermehrung. Wenn aber eine Infektion anwesend ist, so besteht nicht nur dynamische, sondern auch mechanische Insuffizienz, die den Abtransport des Ödems verhindert; in den Geweben kommt Eiweißstauung zustande, die zur Erzeugung von Bindegewebe und Entwicklung von Narbengewebe führt, welche letzten Endes die narbige Destruktion des Organs nach sich zieht. Die Lymphgefäße transportieren vor allem die Gewebeeiweiße, während in der Weiterleitung von Wasser und Kristalloiden die Hauptrolle den Blutgefäßen zu kommt.

Das V. Kapitel befaßt sich mit der Funktion des Harntransportsystems. Die

Gesamtheit der Nierenkelche funktioniert nicht zu gleicher Zeit, und es ist als sicher anzunehmen, daß die Nierenbeckenmuskulatur automatisch kontrahiert. Das Harntransportsystem bildet mit dem Nierenparenchym und der Harnblase eine anatomische und funktionelle Einheit, und die verschiedenen physiologischen und pathologischen Erscheinungen vermag man nur von dieser Anschauung ausgehend richtig zu erklären. An Hand der Literaturangaben, der Untersuchungen von MERÉNYI und KOVÁCSI sowie auf Grund klinischer Beobachtungen sehen die Autoren den Einfluß der Gehirnrinde auf das Harntransportsystem als erwiesen an, ebenso die Tatsache, daß sich dieser Einfluß in jedem Augenblick den wechselnden Verhältnissen anpaßt. Es ist aber noch nicht klargestellt, welchem Plexus der vegetativen Bahnen zwischen dem Zentralnervensystem und der glatten Muskulatur des Harntransportsystems die Hauptrolle zufällt. Nach Ansicht der Autoren kommt der an die Rezeptor- und Ganglienzellen des Nierenbeckens gebundenen autonomen Funktion beim Ingangsetzen des Harntransports große Bedeutung zu, obgleich diese Funktion von dem vom Zentralnervensystem aufrechterhaltenen Muskeltonus nicht getrennt werden kann. Die Weiterleitung des Harns aus dem Nierenbecken erfolgt fraktionsweise, die Harnsäulen sind kleiner oder größer, weil sich die Ausgangsreize in der Zeiteinheit verändern. Die Funktionsformen können auch bei den einzelnen Individuen verschieden sein, ebenso wie in der Funktion der beiden Nieren Abweichungen in Erscheinung treten. Die Richtung der Harnströmung ergibt sich aus den Druckdifferenzen in der Niere, und die Strömung findet innerhalb des Höhlensystems von der Stelle mit höherem zu der mit niedrigerem Druck statt.

Im VI. Kapitel wird die Frage der Pyelektasie und Hydronephrose behandelt. Die Autoren stellen fest, daß der nach Ureterverschluß im Nierenbecken zustande kommende hohe Druck nicht vom Filtrations- und Sekretionsdruck, noch von der

Kontraktion der Wand des Nierenbeckens, sondern von der Funktion und Hypertrophie der Kelchmuskulatur hervorgerufen wird, die durch peristaltische Bewegung Harn in das Pyelum preßt. Bei Verschluß geschieht die Regelung des Pyelumdrucks einerseits durch die Harnsekretion, anderseits durch die Harnrediffusion. Solange die Kelchmuskulatur gut funktioniert, ist das Nierenbecken stark erweitert. Nach dem Ureterverschluß unterscheiden BABICS und RÉNYI-VÁMOS zwei pathologisch scharf voneinander abweichende Zustände, die Pyelektasie und die Hydronephrose. Bei der Pyelektasie ist nur das Nierenbecken erweitert, aber es entsteht noch keine Stauung in den Kelchen. In diesem Stadium schützt die Kelchmuskulatur das Nierenparenchym vor dem im Nierenbecken entstandenen hohen Druck. Bei der Hydronephrose ist aber die Kelchmuskulatur bereits erschöpft, ihre Höhlen konfluieren mit dem Nierenbecken, so daß der Druck im Nierenbecken sinkt. Es besteht allerdings keine scharfe Grenze zwischen den beiden Zuständen. Bei der Pyelektasie zeigt der im Nierenbecken gemessene Druck nicht den Sekretionsdruck, sondern die Druckkraft der Kelche an. Über einen gewissen Druck hinaus kommt die Resorption durch die Wand des Nierenbeckens in Gang, und hierbei wird der Druck im Nierenbecken vom Verhältnis zwischen Harnsekretion und -resorption geregelt.

Bei Pyelektasie erfolgt die Resorption durch die Nierenbeckenwand, bei Hydronephrose jedoch eher durch die Fornixrupturen. In Kaninchenversuchen war eine Teilnahme der Tubuli an der Resorption nicht zu ermitteln. Der Harn wird aus dem geschlossenen Höhlensystem nicht in toto resorbiert, weil ein Teil der Salze zurückbleibt. Die Autoren betonen, aus der experimentellen Hydronephrose darf man nur sehr vorsichtige Schlüsse auf die menschliche Pathologie ziehen.

Nach dem Verschluß stellt die Niere ihre Funktion nicht ein, doch kommt es zu wesentlichen Veränderungen in der Glomerularfiltration, tubulären Resorption und

Sekretion sowie im Blutkreislauf des Nierenparenchyms. Durch die im Höhlensystem der verschlossenen Niere zustande gekommene Drucksteigerung wird der intratubuläre Druck erhöht, was zur Erweiterung der Tubuli und zur Druckatrophie des Epithels führt.

Nach Ureterverschluß nahm das Nierengewicht der Versuchstiere um 30—60% zu, und nicht nur das Nierenparenchym, sondern auch die Nierenkapseln werden ödematis. Während die Muskulatur des Höhlensystems in sterilen Fällen stark hypertrophiert, ist bei Infektion Vernarbung zu beobachten. Das ganze Nierenparenchym ist mit Eiweiß gesättigt, die Speicherung jedoch nicht gleichmäßig, da mehr oder minder intakte Zonen mit eiweißinfiltrierten abwechseln. Zugleich beobachteten die Autoren die hochgradige Erweiterung der Nierenlymphgefäß, die darauf beruht, daß sich im Interstitium eine bedeutende Flüssigkeits- und Eiweißmenge anhäuft, die von den Lymphbahnen weitergeleitet werden soll. In der verschlossenen Niere war der Eiweißgehalt bei sämtlichen Untersuchungen höher als auf der intakten Seite. Wie die Autoren feststellten, kommt es in der verschlossenen Niere zur Histaminvermehrung, die das Erscheinen von Eiweiß im Interstitium erklärt. Den in der Niere zum Ablauf kommenden Krankheitsprozeß deuten sie in der Weise, daß nach dem Nierenverschluß Harn in das Nierenparenchym sowie in die perirenalen Gewebe resorbiert und auf seine Wirkung in verstärktem Maße Histamin freigesetzt wird, das die Permeabilität der Gefäßkapillaren verändert, so daß Plasmaeiweiße in das Interstitium gelangen und dadurch Ödem entsteht. Die erweiterten Lymphgefäß haben die Aufgabe, dieses Ödem abzuleiten. Die Lymphgefäßweiterung sei demnach eine Kompressionserscheinung, d. h. eine für das Nierenparenchym sehr wichtige und nützliche Funktion. Nach BABICS und RÉNYI-VÁMOS steht diese Störung des Interstitiums im Zentrum des auf den Nierenverschluß folgenden Krankheitsprozesses, und es sei nur eine Frage der Zeit, daß jene Störung,

wie auch bei der sterilen Hydronephrose, das Verschwinden eines beträchtlichen Teils der Nierensubstanz nach sich zieht.

Im VII. Kapitel wird im Zusammenhang mit der Behandlung der eitrigen Nierenentzündung nachgewiesen, daß die in der Niere anwesende entzündliche Infiltration außerhalb der Lymphgefäße im Interstitium fortschreitet und daß es sich in der Nierenkapsel und in der Wand des Nierenbeckens ebenso verhält. Die vom Nierenbecken ausgehende und in die Niere eindringende Infektion kommt nicht über die Lymphwege, sondern durch Vermittlung des Fett- und Bindegewebes zustande. Statt der Benennung lymphogene Aszension empfehlen die Autoren daher die Bezeichnung interstitielle Aszension. Die Krankheitserreger sucht der Lymphapparat aus der Niere abzutransportieren, zum Teil gehen sie bereits in den Lymphbahnen zugrunde, oder ihre Virulenz nimmt stark ab. Der Lymphe schreiben daher die Autoren in der Niederkämpfung der Infektion eine wichtige Rolle zu. Die Pyelonephritis stellt selten einen umschriebenen Prozeß dar, meistens ist gleichzeitig auch die Entzündung der Nierenkapseln und des Sinusfettgewebes zu beobachten. Die Infiltration ist hauptsächlich perilymphvaskulär anwesend, und in der pyelonephritischen Schrumpfniere findet man verhältnismäßig wenige erweiterte Lymphgefäß. Die Autoren nehmen an, in der pyelonephritischen Niere komme es in den Nephronen und im Interstitium ebenfalls zur Eiweißspeicherung, und infolge der Lymphströmungsinsuffizienz auf Grund der Eiweißstauung zur Bildung neuer Bindegewebsfasern und schließlich zur Narbenbildung sowie zur Schrumpfung und völligen Destruktion der Niere. Hierbei spielt die narbige Kompression der im Nierenstiel verlaufenden Lymphgefäß eine wesentliche Rolle. Die Niere mit chronischer Pyelonephritis geht demnach zugrunde, weil die Funktion ihrer Lymphgefäß insuffizient wird.

Die auf Glomerulonephritis folgende Nierendestruktion wird im wesentlichen auf den vorstehend erörterten Prozeß zurück-

geführt. Die Autoren setzen auch in Fällen von akuter und subakuter diffuser Glomerulonephritis eine Insuffizienz der Lymphströmung voraus, weil sie mehr oder minder starkes Ödem in allen Fällen antrafen. Demgegenüber beobachteten sie keine Erweiterung des Lymphgefäßsystems, woraus sie auf die Insuffizienz der Lymphströmung folgern. Nach ihrer Theorie führt dieser Umstand zur Eiweißstagnation, zu extrazellulärer Bindegewebsbildung und zur Sklerose des Niereninterstitiums.

In Tierversuchen stellten sie fest, daß nach der Infektion der verschlossenen Niere binnen wenigen Tagen eine auffallende Entzündung des Sinusfettgewebes wahrzunehmen sei. Die Lymphströmungsinsuffizienz des Sinusfettgewebes ist dynamisch bedingt und geht der mechanischen Insuffizienz voran. Die sich daraus ergebende Peripyelitis, Perinephritis, Epinephritis, Ureteritis und Pedunculitis renis bilden eng zusammenhängende Erscheinungen bzw. Komplikationen,¹ die für das weitere Schicksal der Niere von großer Bedeutung sind. Perinephritis und Epinephritis können sich auch aus der Pyelitis entwickeln. Vor der Pedunculitis tritt stets Pyelitis oder Pyelonephritis auf.

Das klinische und therapeutische Probleme besprechende VIII. Kapitel beschäftigt sich mit der Anwendung der Ergebnisse der bisherigen Untersuchungen sowie experimentellen und theoretischen Feststellungen bei der Therapie einiger Nierenkrankheitsformen. Die Autoren beantworten die Frage, wie die Operationen am Harntransportsystem am einfachsten durchgeführt werden können, ohne daß wesentliche Störungen in seiner späteren Funktion zurückbleiben, wie sich jegliche operative Drainage des Nierenhöhlensystems vermeiden läßt, die zur Quelle weiterer Infektionen werden kann, und welche operationstechnischen Grundsätze sie befolgen, um die unvermeidlicherweise auftretende Vernarbung im Bereich des Nierenbeckens und Ureters auf ein Mindestmaß zu beschränken.

Einige klinische Fragen der Erweiterung des Nierenhöhlensystems sowie die Indika-

tionen der operativen Lösung werden nach den vorstehend erörterten Gesichtspunkten klassifiziert. Von entscheidender Bedeutung ist die Wahl der Stelle, wo der Chirurg eindringt. Dies soll — sei es an den Kelchen, am Nierenbecken oder am Ureter — an einem Punkt geschehen, wo man die physiologischen Verhältnisse wenigsten stört und die pathologischen Veränderungen so zu korrigieren vermag, daß man den physiologischen Verhältnissen möglichst nahe kommt. Von dieser Überlegung ausgehend, haben die Autoren die ihrerseits modifizierte Pyeloplakation eingeführt, die den Zweck verfolgt, die Öffnung eines infizierten Nierenhöhlensystems zu vermeiden. Wenn die Resektion der Pyelumwand nicht umgangen werden kann, so wird diese zwecks Bewahrung des pyloureteralen Gebietes hoch, nahe am Sinusrand und möglichst an der hinteren Pyelumwand vorgenommen.

Bei Nierensteinoperationen bevorzugen sie die ihrerseits eingehend ausgearbeitete Pyelo-Kalikotomie, wobei sie die Läsion des Nierenparenchyms und der versorgenden Gefäße vermeiden. BABICS und RÉNYI-VÁMOS mobilisieren die Niere nur soweit, als unbedingt erforderlich, und weisen darauf hin, daß in der Nierensteinchirurgie nicht nur die Entfernung des Steines wichtig, sondern auch der Umstand wesentlich sei, auf welche Weise die Herausnahme erfolgt, welche Verhältnisse zurückbleiben und wie man die Funktion des Harntransportsystems zu schonen vermag. Es zählt zu den Vorteilen der Pyelo-Kalikotomie, daß diese die Nephrotomie meistens vermeiden läßt und daß man das Höhlensystem dort öffnet, wo seine Funktion am wenigsten gestört wird, die Kelchsteine unmittelbar entfernt, die einzelnen Kelche überblickt und ausgewaschen und schließlich durch Öffnung eines schmalen Kelchstielles die Stauung und das Steinrezidiv behoben bzw. verhindert werden können. Nicht weniger wichtig ist auch der vollkommene Verschluß des geöffneten Höhlensystems.

Bei steinbedingtem Nierenverschluß hängt es von der Funktion der Lymphbahnen ab,

welche Veränderungen in der Niere zurückbleiben. Infolge ihrer reichen Lymphgefäßversorgung ist die Niere zu bedeutender Regeneration imstande, während die Pyelum-Ureterwand und die perirenalen Gewebe arm an Lymphgefäßen sind, so daß ihre Vernarbung früher und in größerem Ausmaß beobachtet werden kann.

Bei der Behandlung der eitrigen Nierenentzündung steht, um die Belastung des Interstitiums herabzusetzen und den Abtransport des Ödems zu gewährleisten, die Niederkämpfung der akuten Infektion im Vordergrund, die in den meisten Fällen mit medikamentöser Therapie erreicht wird. Bei chronischen Prozessen hängt das Schicksal der Niere in hohem Maße von der Vernarbung der umgebenden Bindegewebssubstanz ab. In diesen Fällen empfehlen die Autoren die Entfernung der Narben in der Ungebung des Hilus, des Nierenbeckens und Ureters. Auch eine sich auf ein kleines Gebiet erstreckende Periureteritis ist auf die Nierenfunktion von großem Einfluß und kann das Schicksal der Niere besiegeln.

Im Zusammenhang mit der Rolle der Nierenlymphgefäße wird auch das Problem der Nierentransplantation kurz besprochen. Auf Grund ihrer Forschungsergebnisse lenken die Autoren die Aufmerksamkeit auf die Rolle der Lymphgefäße bei der Nierentransplantation und weisen darauf hin, daß die Lymphbahnen den Pathomechanismus der Nierenprozesse entscheidend beeinflussen.

Mit ihren Untersuchungen über das Lymphgefäßsystem der Niere und den Feststellungen, die sie daraus ziehen, beschrieben die Autoren neue Wege, indessen vermochten sie ihre wissenschaftlichen Ergebnisse durch Anwendung neuartiger Operationsverfahren in der Praxis zu bestätigen. Es darf als ihr großer Verdienst bezeichnet werden, daß sie nach den bei der Untersuchung des Lymphgefäßsystems der Niere gewonnenen Erkenntnissen nicht stehenblieben, sondern zahlreiche Möglichkeiten der pathologischen Erscheinungen in Tierversuchen weiter untersuchten und damit zu der experimentell gestützten überzeugen-

den Theorie der Entwicklung der Pyelektasie und Hydronephrose sowie der akuten und chronischen Pyelonephritis gelangten.

Besonders hervorgehoben sei das aus 233 zum Teil farbigen Abbildungen bestehende hervorragende Illustrationsmaterial und

die ausgezeichnete Reproduktion der histologischen Bilder. Das Buch erschien im Verlag der Ungarischen Akademie der Wissenschaften in einwandfreier Ausstattung.

DR. A. NOSZKAY

A New Hungarian Cytostatic

DEGRANOL-CHINOIN (BCM)

1,6-bis-(beta-chloroethylamino)-1,6-desoxy-D-mannite-dihydrochloride

Chronic lymphoid leukaemia

Lymphogranulomatosis (Hodgkin's disease)

Lymphosarcoma · Lymphadenoma

Chronic myeloid leukemia

Reticulosarcoma · Myeloma

MEDIMPEX

Budapest, 502 · P. O. B. 34 · Hungary



ACTA MEDICA

Том XII

РЕЗЮМЕ

ВИТАМИННЫЙ ОБМЕН ВЕЩЕСТВ АТРОФИЧЕСКИХ ГРУДНЫХ ДЕТЕЙ

Ф. ГЕРЛОЦИ, Б. БЕНЦЕ, Т. МАЛИК и М. УГРАИ

В Венгрии атрофия в грудном возрасте все еще играет важную роль при смертности грудных детей. Это обстоятельство придает исследованию атрофии в грудном возрасте особое значение.

Атрофия в грудном возрасте не представляет из себя клинического или же патофизиологического симптомокомплекса однородного патогенеза, и поэтому весьма важным является распространять исследования на все детали данной проблемы. Однако, до сих пор витаминный обмен веществ еще не был исследован, а только белковый, углеводный и жировой обмены веществ. Следовательно, совершенно отсутствуют относящиеся к этому вопросу данные. Данные о голодании в большинстве случаев также относятся к взрослым, но они и без того не применимы к атрофии в грудном возрасте. Точных же химических определений относительно отдельных витаминов даже в данной обильной литературе не встречаются.

Авторы попытались при своих исследованиях ответить на следующие вопросы: наблюдается ли при атрофии в грудном возрасте недостаток витаминов, а если да, то в какой степени и в какой стадии атрофии. Является ли уменьшение или недостаток какого-либо витамина характерным для определенной фазы атрофии, или это представляет лишь постоянное сопутствующее явление отдельных специальных форм атрофии?

Авторы проводили над почти 200 атрофическими или же контрольными грудными детьми исследования обмена веществ витаминов Е, А, В и С. При осуществлении этих исследований необходимо было соблюдать большую предусмотрительность:

1. Не для каждого витамина авторы располагали нормальными данными грудного возраста. Их пришлось установить впервые в отношении Венгрии (напр. в отношении витамина Е).

2. Ввиду того, что авторы не могли обходиться без исследований с нагрузкой, они сами должны были выработать для отдельных витаминов (напр. для витаминов Е, А) такой микрометод, при котором определение витаминов возможно в весьма небольшом количестве крови.

3. К оценке степени атрофического состояния авторы приступили с большой тщательностью. Они пренебрегали применением так наз. частного развития (F, Q), ибо на основе последнего оценка степени атрофического материала больных может привести к большим ошибкам. Они прибегли к определению «похудения», основанному на более правильном принципе, значит, к определению процентного отставания веса, измеренного по отношению веса хорошо упитанных грудных детей одинаковой длины.

4. Весьма важное значение авторы придавали точному анализу возникновения атрофии. Ввиду господствующей роли фактора инфекции — в качестве контроля — определялось также и снабженность витаминами зараженных, но хорошо упитанных грудных детей.

Витаминный обмен веществ атрофических грудных детей, страдающих эритротермиеей

При исследовании витаминного обмена атрофических грудных детей — в отношении растворимых в жире витаминов — целесообразно обсуждать страдающих эритротермиеей атрофических грудных детей обособленно от других. Это обосновано тем, что эритротермическая атрофия также одна из тех форм атрофии в грудном возрасте, для которых — вследствие сильного расстройства переварения, всасывания или внесения —

характерным является патологический жировой обмен. К этой группе относятся кистозный фиброз поджелудочной железы, атрофия вследствие врожденного отсутствия желчного пути, далее гипопротеинемия (мучистое расстройство) и неизвестная в Венгрии болезнь Кваси. Эритродермия грудных детей показывает с последними двумя формами атрофии некоторое основное совпадение (ожирение печени, гипопротеинемия, отек) и в последнее время венгерские исследователи выявили также в отношении мучистого расстройства и эритродермии, что они сопровождаются расстройством функции поджелудочной железы. Несмотря на то, что эти сопровожденные значительным уменьшением всасывания жиров формы атрофии очевидно осложняются еще недостатком различных витаминов, то все же точных исследований относительно эритродермии не имеются, ни в отношении витамина Е, ни витамина А. Последнее тем более поразительно, что при эритродермии также встречается ксерофталмия, изменение кожи весьма тяжелое, появляется также необычайная склонность к инфекциям — прежде всего дыхательных путей.

Исследования авторов распространяются на почти 40 случаев. Особенно были исследованы все эритродермические грудные дети согласно клинически определенной степени болезни — независимо от их степени развития, причем принимались во внимание все кардинальные симптомы, или же патофизиологические признаки. Можно было бы предполагать, что обеспеченность витаминами страдающих эритродермии атрофических грудных детей определяется прежде всего самой эритродермии, а во вторую очередь последующей атрофией, однако, авторы все же группировали свои случаи в порядке степени атрофии. Чтобы получить еще более ясную картину о том, поскольку полученные результаты находились в связи с эритродермий, и в какой степени с атрофическим состоянием, авторы распространяли свои исследования также на страдающих эритродермий, но хорошо упитанных грудных детей. Наконец, чтобы выяснить картину также и относительно атрофии, сопровожденную не эритродермическим расстройством всасывания жиров, они исследовали атрофических больных, страдающих желтухой вызванной врожденным отсутствием желчного пути.

СИМПТОМАТИЧЕСКАЯ СВЯЗЬ РЕВМАТИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ НАШИХ ЗНАНИЙ О ПОЛИСИСТЕМАТИЧЕСКОЙ КРАСНОЙ ВОЛЧАНКЕ

Д. ПЕТРАНЫ

Со времени первого проявления коллагеновой болезни автор проследил в течение нескольких лет за 33 больными, у которых был поставлен диагноз полисистематической красной волчанки. Автор описывает обнаруженные симптомы и частоту их появления. Критерием диагноза автор считает, кроме соответствующих и необъяснимых на основании другой этиологии изменений, наличие по меньшей мере одного из следующих трех признаков: характерная эритема кожи, определенное положительное проявление клеток красной волчанки и характерный результат гистологического исследования. Если ни один из вышеупомянутых признаков не обнаруживается, то нельзя ставить диагноз заболевания красной волчанкой, а только вынести соответствующий клинической картине симптоматический диагноз. Исследованные в течение нескольких лет 33 больных в 54 случаях соответствовали этим требованиям.

Важнейшие данные о течении болезни больных сообщаются на таблицах. Было установлено, что в направление остальных коллагеновых болезней возможно много различных переходов и что соответствующая вышеупомянутым критериям классическая полисистематическая красная волчанка составляет лишь весьма краткий период всей болезни. В отношении степени заболевания красной волчанкой проявляются также такие отклонения между отдельными рецидивами, даже у одного и того же больного, что прежние диагностические установления, вроде острая, подострая и хроническая волчанка, применимы в большинстве случаев лишь для обозначения моментального состояния.

Соответствующие и не соответствующие критериям красной волчанки периоды взаимно сливались. Обсуждалось значение диагностических признаков, рассматриваемых диагностическими и было установлено, что их отсутствие не говорит против постановки диагноза красной волчанки. Таким образом нет возможности для дифференциального диагноза различных коллагенных частичных заболеваний. Неизвестно, имеются ли внутри коллагеновой группы обособленно эритематозные и неэритематозные полиартриты, кардиты, нефриты, серозиты и т. д. Наблюдением в течение длительного времени судьбы больных красной волчанкой, потерпевших также полисистематические периоды, автору удалось доказать связь между коллагенными заболеваниями не только на основании гистологических признаков, но и клинических симптомов.

ВСАСЫВАНИЕ ИНСУЛИНА И АСТМОЛИЗИНА СО СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ НОСА

Я. ХАНКИШ и Ч. ХАДХАЗИ

Авторы своими опытами над здоровыми и над диабетическими лицами, как и над собаками, выявили, что инсулин и астмализин в эффективных дозах всасываются со слизистой оболочки носа.

Дионин, гиаза и изменение pH не повышали степень всасывания. Внесение инсулина на слизистую оболочку носа непригодно для терапевтических целей. Внесенный на слизистую оболочку астмализин уменьшает или прекращает приступ удышья и следовательно данный способ может быть использован также и в терапии.

КЛИНИКО-ПАТОЛОГИЧЕСКИЙ ОЧЕРК О РЕТИКУЛОЗАХ, ВОЗНИКАЮЩИХ ПУТЕМ МАКРОМОЛЕКУЛЯРНОГО НАКОПЛЕНИЯ И САМОПРОИЗВОЛЬНО

Ш. БЕНКЕ

Сопровожденные гиперплазией или патологическим разрастанием изменения ретикуло-эндотелиальной системы называются ретикулозами. Они часто сопровождаются диспротеинемией, парапротеинемией, или образованием нерегулярных антител (автоантител). Патологические белки ответственны за новые болезненные процессы, главным образом за изменения сосудов, кровотечения, — а автоантита в первую очередь за иммуногематологические автоагgressивные процессы.

Авторы вызывали у крыс внутрибрюшинным введением метилцеллюлозы возникающий вследствие накопления ретикулоз, к которому присоединялись еще гемолитическая анемия, аномалия сывороточного белка, слабое расстройство свертывания крови, и уменьшение продукции иммуногематозинов. Авторы того мнения, что они создали этим модель спонтанных ретикулозов, у которой в I. фазе появляется ретикулоз, во II. фазе расстройство сывороточного белка, а в III. фазе, последующая болезнь — гемолитическая анемия. Авторы того мнения, что они этими результатами предоставили новые данные к патомеханизму «патологических заболеваний белков».

ГИПЕРГЛОБУЛИНЕМИЧЕСКИЕ ПУРПУРЫ

М. ВИНТЕР и К. РАК

Авторы описывают 3 случая гиперглобулинемической пурпур. Они занимаются вопросом «первичности» или «вторичности» пурпур. В одном из случаев состояние больного не изменялось в течение 7 лет, основной болезни нельзя было выявить и следовательно авторы рассматривают данный случай первичной пурпурой. В остальных двух случаях не было установлено ни одной из рассматриваемых как основная болезнь картин болезней, однако, одновременное наличие митрального порока сердца, или же латентного люэса все же сделали сомнительным первичность пурпур.

Авторы подробно описывают результаты своих опытов по выяснению условий свертывания крови; далее они излагают тканевую картину биопсического препарата печени. В заключение дается обзор литературы данного вопроса.

ИЗМЕНЕНИЕ НАСЫЩЕННОСТИ КИСЛОРОДОМ ВЕНОЗНОЙ КРОВИ НА ДЕЙСТВИЕ ОДНОКРАТНОГО ВВЕДЕНИЯ БОЛЬШОЙ ДОЗЫ СОЛИ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

К. ВАЛЬТЕР мл., Б. ТАНОШ и Э. КЕЛЕМЕН

Авторы наблюдали на действие однократного введения большой дозы соли салициловой кислоты, у людей, как и у крыс, вопреки значительного повышения обмена веществ, повышение насыщенности венозной крови кислородом, достигающее 20 процентной насыщенности, и следовательно уменьшение артерио-венозной реакции в содержании кислорода. Таким образом они доказали также значительное, повышающее ток крови, действие соли салициловой кислоты.

**ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ IN VITRO НА ИЗОЛИРОВАННОЙ КОЖЕ
ЛЯГУШЕК АКТИВНОСТИ СТИМУЛИРУЮЩЕГО МЕЛАНОЦИТЫ ГОРМОНА (СМГ,
INTERMEDIN) ИЛИ ЖЕ УВЕЛИЧАЮЩИЕ ПРОДУКЦИЮ МЕЛАНОФОРОВ ДЕЙ-
СТВИЯ ПРЕПАРАТА АКТГ, ПОРОШКА ФЁГТЛИНА И СВЕЖЕЙ ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ
СЫВОРОТКИ**

В. ШРЕЙБЕР

Автором был разработан метод для измерения активности СМГ, при котором последний *in vitro* титрируется фотометрическим способом на коже лягушек с удаленным гипофизом. Метод весьма чувствительный и пригодный для выявления 0,0125 единиц «вайрона» СМГ/мл (препарат Intermedin Choay) или 0,0125 ме АКТГ/мл (Corticotrophin Spofa).

Методом автора с надежностью можно выявить активность СМГ в свежей сыворотке крови беременных женщин. При помощи этого метода к концу беременности или во время родов в сыворотке крови устанавливалась активность, соответствующая 0,10—0,25 единицам вайрона/мл.

При применении стандартного нейрогипофизарного препарата (порошка Фёгтлина), автор не нашел связи между величиной дозы и реакцией. Характер реакции, полученной на действие порошка Фёгтлина (быстрое проявление) отличался от реакций, наблюдавшихся в случае титрирования СМГ, сывороткой крови беременных женщин или же АКТГ.

**ПРИМЕНЕНИЕ ЭЛАСТАЗЫ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКИХ НАГНОЕНИЙ
ЛЕГКИХ**

К. КОВАЧ и Д. БАГДИ

Проведенные до сих пор сравнительно малоисследованные наблюдения авторов показали, что обнаруженная Бало и Банга эластаза успешно используется при ее внутрибронхиальном применении для лечения нагноений легких. Применением эластазы во многих случаях можно обойтись без резекции легких. Эластаза полностью заменяет зарубежные препараты трипсина. При примененных авторами дозах токсичность эластазы пренебрегаема. Эластаза не вызывает лихорадочной реакции, не является опасной. Весьма желательно, чтобы новый препарат энзима изготавливался в достаточном количестве в целях его более широкого терапевтического применения.

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕПТОНАЗЫ В СЫВОРОТКЕ И ДАННЫЕ
К ЕЕ ДИАГНОСТИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ**

Ш. ДАН, Ш. НАДЬ и Й. ТОТ

Из протеолитических ферментов сыворотки данные относительно пептоназы весьма недостаточны, а совершенно неизвестны ее количественные величины. Авторы разработали метод для количественного определения пептоназы. В качестве субстрата они применяли пептон Витте. Согласно их данным в отношении условий pH разложения пептона, связи между количеством энзима и его способностью к разложению, далее по длительности энзиматического действия, как и по результатам бумажно-хроматографических исследований, пептон Витте представляет из себя подходящий субстрат, а содержание пептоназы можно выразить количеством аминного азота, освобожденного в течение 24 часов инкубации. Определение проводилось с 0,2 мл сыворотки. Содержание пептоназы равно стольким единицам пептоназы (РЕ) сколько мг аминного азота освобождались бы из 100 мл сыворотки.

В сыворотке здоровых людей можно выявить 20—33 РЕ. Весьма большие величины были выявлены в сыворотке больных, страдающих острым гепатитом и острыми лихорадочными заболеваниями. При остром гепатите в начале болезни содержание пептоназы повышалось в 100% случаев (45—160 РЕ). После протекания острой фазы содержание пептоназы, независимо от содержания билирубина в сыворотке, возвращается к норме или остается еще некоторое время на высоком уровне.

При постгепатических состояниях авторы установили, даже при незначительных субъективных жалобах, в большом числе случаев более высокий уровень пептоназы, который не зависит от реакций флокуляции и от степени активности других ферментов.

При опухолевых заболеваниях, уровень пептоназы повышался лишь в незначительной процентной ставке случаев.

При различных непеченочных заболеваниях уровень пептоназы не зависит от степени малокровия, от числа эритроцитов, от качественной картины крови, от снижения форменных элементов крови и при хронических заболеваниях от температуры.

На основании своих результатов авторы пришли к тому заключению, что повышенный уровень пептоназы, даже при различных заболеваниях, представляет собой чувствительный признак повреждения паренхимы печени.

ДЕЙСТВИЕ ПРЕДОПЕРАЦИОННОГО ЛЕЧЕНИЯ И ХИРУРГИИ НА АНТИДИУРЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЧЕЛОВЕЧЕСКОЙ КРОВИ

Г. Ш. КОВАЧ, М. КОВАЧ, К. КОВАЧ и Г. ПЕТРИ

Антидиуретическая активность сыворотки (SADA) 27 хирургических больных была определена посредством теста Бэрна. В качестве предварительного лечения одна группа больных получила 20 мг морфия и 0,5 мг атропина, а вторая группа «lytic coctail» состоящий из 75 мг хлорпромазина, 60 мг синопена и 150 мг петидина.

Утром в день операции антидиуретическая активность сыворотки (SADA) больных была значительно повышена по сравнению со значениями, полученными на предыдущий день. Повышение активности следует приписать предоперационному психическому напряжению.

Повышенная антидиуретическая активность сыворотки снизилась после подачи морфия, в то время так т. наз. «lytic coctail» не привел к значительному изменению, несмотря на то, что поникающее действие на психическое напряжение было гораздо выраженнее у последнего, чем у морфия.

Хирургическое вмешательство вызвало значительное повышение антидиуретической активности сыворотки, причем предварительная подача морфия или «lytic coctail» не имела никакого эффекта на данное повышение.

О ВОЗМОЖНОСТЯХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ АОРТАЛЬНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Л. СЁЛЛЁШИ, Б. ТЁРЁК и Х. ХЮБНЕР

Авторы в данной статье дают обзор исследований по хирургической поправке аортальной недостаточности. Они излагают разработанный ими метод для образования клапанов. Образованные *in situ* из стенки сосудов аортальные клапаны оказались в опытах на модели подходящими. Опыты над животными по образованию изложенных аортальных клапанов проводятся в настоящее время.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ И СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ СЫВОРОТОЧНЫХ ЭСТЕРАЗ

А. ФИШЕР, Л. ПЕРЕНЬИ и Ш. РОХНИ

1. Авторы исследовали активность холинэстеразы, новокаинэстеразы, фенилбензоатэстеразы и щелочной фосфатазы в присутствии 10 различных ингибиторов. Отдельные ферменты потерпели различное торможение, что говорит против того взгляда, будто-бы речь идет об одинаковом действии ферментов.

2. Соотношение активности печени и сыворотки колебалось между 12:1 и 2:1, значит, активность всегда была более высокой в гомогенизатах печени.

3. После отравления $CC1_4$ активность щелочной фосфатазы повышалась, а активность остальных эстераз снижалась, как в печени, так и в сыворотке.

4. Содержание глютатиона в печени — даже в случае тяжелого отравления $CC1$ — не уменьшается, и следовательно уменьшение активности ферментов нельзя приписать недостатку глютатиона.

5. Кроме щелочной фосфатазы в желчи в более значительном количестве можно выявить только фенилбензоатэстеразу; присутствия остальных эстераз в желчи не удалось выявить.

6. Авторы на основе своих исследований пришли к тому выводу, что сывороточные эстеразы возникают в печени и предположительно являются субстрат-специфическими.

СВЯЗЬ МЕЖДУ ПРИПАДКАМИ ВО ВРЕМЯ СНА И ПРИПАДКАМИ В БОДРСТВУЮЩЕМ СОСТОЯНИИ И АНАТОМО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ОРГАНИЗОВАННОСТЬЮ ЭПИЛЕПТОГЕННОГО ОЧАГА

Ф. КАЙТОР, Т. НАДЬ и ДЬ. ВЕЛОК

Авторы проводили над избранными 200 страдающими эпилепсией больными электро-клинические исследования с целью установления выявляемости связи между частотой припадков во время сна и анатомо-функциональной организованностью эпилептогенных структур.

Место патологоанатомических аномалий мозга, рассматриваемых эпилептогенными повреждениями, показало выраженное влияние на частоту ночных припадков. Очаги аммоново рога (*Nippocampus*) показали самую большую склонность к вызыванию припадков во время сна, затем следовали очаги в *regio septalis* и лобной верхушке. В противоположность этому очаги в задне-лобовых, сензо-моторных, теменных и I—II. височных извилинах вызывали припадки преимущественно вначале или исключительно в бодрствующем состоянии.

Электрографическая локализация господствующей очаговой судорожной деятельности доказала, что средне-базальные, височно-теменно-затылочные и передне-лобные очаги в большинстве случаев обусловливают припадки во время сна, в то время как для остальных областей выпуклости характерны припадки в бодрствующем состоянии. Эпилептики, производящие двусторонние 3 cps-wave-and-spikes зубцы или их варианты также проявляли исключительную склонность к дневным припадкам.

Авторы выдвигают возможное объяснение для вышеописанных структурных связей припадков во время сна.

ПАРАЛЛЕЛЬНОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АРТЕРИАЛЬНОГО И ВОРОТНОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ ПЕЧЕНИ ПРИ ПОМОЩИ БРОМСУЛЬФАЛЕИНОВОГО МЕТОДА И РОТАМЕТРОМ

А. ФИШЕР, Л. ТАКАЧ и Г. МОЛНАР

Авторы методом бромсульфалеина и ротаметром исследовали кровообращение печени у 63 собак. Они получили следующие результаты:

1. Полное кровообращение печени после вскрытия живота и привязки ротаметра снижается от 40,5 мл/мин/кг до 25,6 мл/мин/кг, т. е. в среднем на 38%. Следовательно операция сама по себе снижает кровообращение печени.

2. Авторы определили ток крови в печеночную артерии в среднем на 5,4 мл/мин/кг. Это составляло 26% всего тока крови в печени. Они установили тесную связь между полным кровообращением печени и кровообращением печеночной артерии, а именно: в случае величин, близких к физиологическим величинам полного кровообращения печени — 30 мл/мин/кг и выше — кровообращение печеночной артерии составляло в среднем 14,4% общего кровообращения, а в случае величин, более низких полного кровообращения печени — 33% общего кровообращения. Повышение следует приписать, в первую очередь, уменьшению полного кровообращения печени и только в некоторых случаях повышению кровообращения печеночной артерии.

3. Артериальное кровообращение печени повышается как адреналином, так и норадреналином. Это обусловливается не расширением сосудов, а повышением кровяного давления. Ацетилхолин снижает артериальное кровообращение печени путем сосудистого сужения. Подобное временное действие проявляет и дibenamin.

4. Внутривенозная нагрузка глюкозой, гликоколлом и молочнокислым натрием не влияет ни на общее кровообращение печени, ни на ее артериальное кровообращение. Внутривенная подача деколина в большинстве случаев снижает артериальный ток крови путем снижения кровяного давления.

ДАННЫЕ К КАРТИНЕ БОЛЕЗНИ ОБЛИТЕРИУЩЕГО ТРОМБАНГИТА
(THROMBOANGITIS OBLITERANS) В СВЯЗИ С НАБЛЮДЕНИЕМ
300 СЛУЧАЕВ

К. БУГАР-МЕСАРОШ, Г. ОКОШ и В. ШАШ

Авторы на основании обследования 300 больных, страдающих облитерирующим тромбангитом, устанавливают следующее: среди больных были только 3 женщины. Относительно предрасполагающей роли какой-либо профессии не было найдено доказательств. Среди больных были только 3, не оказавшихся курильщиками и не имевших выявляемых очагов; это вместе с прочими приведенными обстоятельствами и согласно литературным данным говорит за то, что курение или же инфекционные очаги, по всей вероятности, играют патогенетическую роль. Ряд данных говорит за аллергический патомеханизм, однако, решающих доказательств еще не имеются. На верхние конечности сужение артерий распространялось только в 9 случаях, значит в 3%-ах всех случаев. В случае существования болезни не выше 5 лет чаще всего встречается локализация на одну нижнюю конечность, а при наличии болезни выше 5 лет в большинстве случаев наблюдается распространение на обе нижние конечности. Гангрена, или же изъязвление могут проявляться уже в первый год болезни, но они могут возникнуть также и по истечении десятилетий, так напр. на 38 год. У принятых в больницу 94 больных, страдающих гангреной только у 10, (т. е. в 10% случаев), вызывалась необходимость большой ампутации, в 9 случаях (9%) была необходима лишь ампутация пальца стопы или же гангрена выцелела путем самопроизвольного отторжения пальца стопы. Следовательно, гангрену в преобладающем большинстве случаев успешно можно было лечить консервативным путем. При исследовании статического изменения тонуса артерий у 27 из 44 больных проявлялась патологическая реакция. Исследованием артериол путем реактивного нагревания в 20% случаев обнаруживались патологические отклонения на пальцах руки. Значит, участие артериол в данном процессе — по меньшей мере на этом месте — не слишком частое явление. Капиллярным микроскопом авторы обнаружили в преобладающем большинстве случаев аномалии капиллярных сосудов, что проявлялось, главным образом, в спазматических-атонических явлениях и в замедленном токе крови. Капиллярная резистенция была в одной части случаев уменьшенной. Локализацию в мозге авторы наблюдали в 5 случаях (1,7%). Симптомы, указывающие на заболевание коронарных сосудов они наблюдали у 172 из 183 больных. Коронаротромбоз встречался у 3 больных. Участие венозной системы было установлено в 32 случаях (11%). Из данных лабораторных исследований авторы упоминают частое уменьшение альбумин-глобулинового коэффициента, как и частое повышение гаммаглобулина, далее у большой части больных повышенный уровень холестерина в сыворотке крови, и наконец у преобладающего большинства — нормальный уровень протромбина.

РОЛЬ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В АРИТМИИ, ВОЗНИКАЮЩЕЙ
НА ДЕЙСТВИЕ СТРОФАНТИН-ЭФЕДРИНА

Ф. ШОЛТИ, И. МАРТОН и Ф. ТАКАЧ

Авторы исследовали в перекрестных опытах над собаками, с помощью изолированной перфузии головного мозга, механизм возникновения аритмии, вызванной введением строфантин-эфедрина.

У собаки-акцептора (при введении в изолированное кровообращение) аритмия была гораздо выраженнее и повышалось быстрее, чем у собаки-донора (при введении в полное кровообращение).

При введении средства в изолированное кровообращение туловища акцептора, авторы не наблюдали при применяемых дозах появление аритмии. Предварительное пересечение ствола шейного блуждающего нерва у акцептора препятствовало возникновению аритмии.

В ходе экспериментов не наблюдалось изменений артериального давления, венозного давления, как и резистенции сосудов головного мозга.

ДЕЙСТВИЕ СТРОФАНТИНА НА СЕКРЕЦИЮ ОКОЛОУШНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

А. НАКО, Ф. ШОЛТИ, М. ФЁЛДИ и Э. КОЛТАИ

Авторы исследовали действие строфантин на слюноотделение околоушной железы. После острого введения строфантин слюноотделение и выделение калия выраженно повышались.

Выделение натрия в большей части случаев повышалось немного, но не сигнификанто.

Авторы дают описание экспериментального метода для исследования секреции околоуенной железы.

ДЕЙСТВИЕ СТРОФАНТИНА НА ПОТООТДЕЛЕНИЕ

Ф. ШОЛЬТИ, Ю. РЕВ, И. МАРТОН и Е. КОЛТАИ

После введения строфантина авторы наблюдали значительное изменение потоотделения. Количество пота, как и выделение натрия и калия пота сигнификанто повысились.

У больных, страдающих хронической недостаточностью кровообращения, повышение потоотделения сравнительно больше.

Действие строфантина на потоотделение во многом напоминает его действие на функцию почек.

ДЕЙСТВИЕ ДИБЕНАМИНА НА ИЗМЕНЕНИЯ ПОТООТДЕЛЕНИЯ, ВЫЗВАННЫЕ ПОДАЧЕЙ СТРОФАНТИНА (ПОВЫШЕННОЕ ВЫДЕЛЕНИЕ ВОДЫ, КАЛИЯ И НАТРИЯ)

Ф. ШОЛЬТИ, Ю. РЕВ, И. МАРТОН, З. РЕФИ и З. КОЛТАИ

Авторы исследовали действие дибенамина на вызывающее потоотделение действие комбетина.

Предварительное введение дибенамина в большей части предотвращает вызванное комбетином повышенное отделение пота, калия и натрия. Повышенное потоотделение уменьшается, а повышенное выделение натрия и калия в поту почти совершенно предотвращается.

Можно предполагать, что комбетин оказывает свое действие на потоотделение при посредстве вегетативной нервной системы.

ДЕЙСТВИЕ СТРОФАНТИНА НА КРОВООБРАЩЕНИЕ ГОЛОВНОГО МОЗГА И НА ЕГО КАЛИЙНОЕ ХОЗЯЙСТВО

Ф. ШОЛЬТИ, И. МАРТОН и Е. КОЛТАИ

I. Авторы исследовали в изолированном кровообращении головного мозга действие комбетина на мозговую циркуляцию и на обмен калия головного мозга.

II. На действие комбетина мозговое сопротивление немного снижается, а мозговая циркуляция немного повышается.

III. На действие комбетина мозговые клетки отдают калий, его концентрация в вытекающей из мозга венозной крови значительно повышается.

IV. Обсуждается значение вышеприведенных изменений.

СИММЕТРИЧЕСКИЙ НЕКРОЗ КОРЫ ПОЧЕК В ГРУДНОМ ВОЗРАСТЕ

Б. ШТЕЙНЕР и А. ВЕЧЕИ

Авторы излагают наблюдаемый ими прижизненно случай симметрического некроза коры почек. Это в Венгрии первый, а в литературе третий диагноз в детском возрасте, подтвержденный данными вскрытия. Основным симптомом картины болезни является олигурия или анурия, нераспознавание которых является врачебной ошибкой. Авторы подтверждают возвречение Гассера, согласно которому в случае триады симптомов, а именно, тяжелой анемии, геморрагического диатеза и недостаточности почек, следует считаться также с некрозом коры почек. Диагноз симметрического некроза коры почек выдвигается на передний план, если, вопреки возмещения жидкости, олигурия не улучшается, остаточный азот остается выше 100 мг %, количество лейкоцитов выраженно повышенное, и в области почек нет увеличения объема.

Терапевтические попытки авторов (перириenalная новокаиновая блокада, кортизон, трансфузии) оказались безуспешными.

ПИЕЛОНЕФРИТ

П. ГЕМЕРИ и А. СЕНДЕИ

Авторы на основе разработки 99 случаев установили следующее: хронический пиелонефрит встречается не только в качестве осложнения при урологических заболеваниях, но независимо от последних, он весьма часто наблюдается в клинической картине хронического нефрита или злокачественной гипертонии. С точки зрения диагноза достовернее всего количественное исследование осадки мочи по способу Аддиса. Авторы в 2/3 части случаев обнаружили гипертонию. Функция трубочек гораздо быстрее ухудшается, чем гломерулярная фильтрация: удельный вес мочи при сравнительно хорошем С_К в большинстве случаев низкий. Важность пиелонефрита объясняется, наряду с его большой распространенностью, также и тем, что эту болезнь часто смешивают с хроническим нефритом или злокачественной гипертонией.



The *Acta Medica* publish papers on medical science in English, German, French and Russian.

The *Acta Medica* appear in parts of varying size, making up volumes.

Manuscripts should be addressed to :

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

Correspondence with the editors and publishers should be sent to the same address.

The rate of subscription to the *Acta Medica* is 110 forints a volume. Orders may be placed with "Kultura" Foreign Trade Company for Books and Newspapers (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Account No. 43-790-057-181) or with representatives abroad.

Les *Acta Medica* paraissent en français, allemand, anglais et russe et publient des mémoires du domaine des sciences médicales.

Les *Acta Medica* sont publiés sous forme de fascicules qui seront réunis en volumes.

On est prié d'envoyer les manuscrits destinés à la rédaction à l'adresse suivante :

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

Toute correspondance doit être envoyée à cette même adresse.

Le prix de l'abonnement est de 110 forint par volume. On peut s'abonner à l'Entreprise du Commerce Extérieur de Livres et Journaux «Kultura»(Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. — Compte-courant No. 43-790-057-181) ou à l'étranger chez tous les représentants ou dépositaires.

«*Acta Medica*» публикуют трактаты из области медицинских наук на русском, немецком, английском и французском языках.

»*Acta Medica*« выходят отдельными выпусками разного объема. Несколько выпусков составляют один том.

Предназначенные для публикации рукописи следует направлять по адресу :

Acta Medica
Szeged, I. Belklinika

По этому же адресу направлять всякую корреспонденцию для редакции и администрации.

Подписная цена »*Acta Medica*« — 110 форинтов за том. Заказы принимает предприятие по внешней торговле книг и газет »Kultura« (Budapest, VI., Népköztársaság útja 21. Текущий счет № 43-790-057-181) или его заграничные представительства и уполномоченные.

INDEX

<i>Kovács, K.</i> and <i>Bagdy, D.</i> : The Use of Elastase in the Treatment of Chronic Suppurative Pulmonary Diseases	167
<i>Dán, S.</i> , <i>Nagy, S.</i> and <i>Tóth, J.</i> : Quantitative Determination of Serum Peptonase: its Diagnostic Value	177
<i>Kovács, G. S.</i> , <i>Kovács, B. M.</i> , <i>Kovács, K.</i> and <i>Petri, G.</i> : Effect of Preoperative Medication and Surgery on the Antidiuretic Activity of Human Blood	201
<i>Szöllőssy, L.</i> , <i>Török, B.</i> und <i>Hübner, H.</i> : Über die chirurgischen Behandlungsmöglichkeiten der Aorteninsuffizienz	215
<i>Fischer, A.</i> , <i>Perényi, L.</i> und <i>Rohny, S.</i> : Substratspezifität und Ursprung der Serum-esterasen	229
<i>Kajtor, F.</i> , <i>Nagy, T.</i> und <i>Velok, Gy.</i> : Über die Zusammenhänge der Anfälle im Schlaf und Wachzustand mit der anatomisch-funktionellen Organisation des epileptogenen Herdes	239
<i>Fischer, A.</i> , <i>Takács, L.</i> und <i>Molnár, G.</i> : Parallel Bestimmung des arteriellen und portalen Kreislaufs der Leber mittels der Bromsulfaleinmethode und mit dem Rotameter	255
<i>Bugár-Mészáros, K.</i> , <i>Okos, G.</i> und <i>Sas, V.</i> : Über die Endoangiitis (Thromboangiitis) obliterans auf Grund von 300 Fällen	271
<i>Solti, F.</i> , <i>Márton, I.</i> and <i>Takács, F.</i> : The Role of the Central Nervous System in the Arrhythmias Caused by Strophanthin-Ephedrine	285
<i>Nákó, A.</i> , <i>Solti, F.</i> , <i>Földi, M.</i> and <i>Koltay, E.</i> : The Effect of Strophanthin on Parotid Secretion	295
<i>Solti, F.</i> , <i>Rév, J.</i> , <i>Márton, I.</i> and <i>Koltay, E.</i> : The Effect of Strophanthin on the Secretion of Sweat	299
<i>Solti, F.</i> , <i>Rév, J.</i> , <i>Márton, I.</i> , <i>Réfi, Z.</i> and <i>Koltay, E.</i> : The Effect of Dibenamine on the Increased Excretion of Water, Sodium and Potassium in Sweat Caused by Strophanthin	305
<i>Solti, F.</i> , <i>Márton, I.</i> and <i>Koltay, E.</i> : The Effect of Strophanthin on the Cerebral Circulation and on the Potassium Household of the Brain	311
<i>Steiner, B.</i> and <i>Vécsei, A.</i> : Symmetrical Necrosis of the Renal Cortex in Infancy.....	317
<i>Gömöri, P.</i> and <i>Szendei, Á.</i> : Chronic Pyelonephritis	329
<i>Radnót, M.</i> , <i>Wallner, E.</i> und <i>Hönig, M.</i> : Die Wirkung des Hydergins auf die durch Licht hervorgerufene Eosinopenie des Blutes	341
Recensio	345