

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Münster i. W.
[Direktor: Prof. Dr. F. Klinke].)

Über die Änderung (Verstärkung) der Antigen-eigenschaft des Serums nach Ultraviolettbestrahlung¹.

Von
cand. med. Werner Stecher.
Mit 4 Abbildungen im Text.
(Eingegangen am 5. Mai 1937.)

Die Aufgabe, ein Tier durch parenterale Zufuhr von artfremdem Eiweiß allergisch zu machen, stellt den Untersucher immer wieder vor neue Probleme hinsichtlich wechselnder Erfolge der Vorbehandlung. Es gibt Tiere, wie beispielsweise die Ratte, die sich nur schlecht vorbehandeln lassen, während Kaninchen und Meerschweinchen dagegen im allgemeinen gut umzustimmen sind. Sie werden demzufolge bevorzugt zu derartigen Versuchen benutzt. Aber auch bei diesen Tieren erlebt man gelegentlich Mißerfolge, d. h. sie sprechen trotz der üblichen, eine spezifische Antigen-Antikörperreaktion herbeiführenden Methodik auf die Erfolgsinjektion nach vorhergehenden Einspritzungen mit dem Serumantigen nicht mit einem anaphylaktischen Shock an. Wenn dieses innerhalb einer Versuchsreihe nur bei einem Teil der Tiere vorkommt, wird man die Schuld für diesen Versager nicht der Methodik oder dem Serumantigen zuschreiben, sondern den Grund hierfür in dem Versuchstier selbst, in einer den Artgenossen gegenüber anders gearteten Ansprechbarkeit, seiner „Konstitution“ im weiteren Sinne, suchen dürfen. Versagt die ganze Tierreihe hinsichtlich der Vorbehandlung, so wird dies in der Regel der mangelhaften Antigeneigenschaft des zur Anwendung gelangten Serums zuzuschreiben sein.

Wer viel mit Serum im Tierexperiment arbeitet, macht immer wieder die Erfahrung, daß nicht alle Seren gleichwertig sind. Nach Junghans ist Schweineserum wirksamer als Pferdeserum und zur Erzielung der lokalen (Arthus) wie auch der allgemeinen Anaphylaxie (Shock) geeigneter als dieses. Wenn aber nun Graff in einer kürzlich erschienenen Arbeit berichtet, schon durch einmalige Einspritzung von Schweineserum am erwärmten Kaninchenohr der allergisch-hyperergischen Entzündung ähnliche Bilder hervorgerufen zu haben, so weisen wir darauf hin, daß hier wohl Entzündungen zustande gekommen sind, keineswegs aber allergisch-hyperergische Entzündungsbilder, wie sie durch mehrmalige Zufuhr von artfremdem Eiweiß beim Kaninchen erreicht werden, und wie sie auch durch Abbildungen in dieser Arbeit dargestellt sind.

¹ Diese Arbeit wurde durch Unterstützung der Notgemeinschaft der Deutschen Wissenschaft ermöglicht, wofür an dieser Stelle gedankt wird.

Andererseits gibt es Seren, mit denen überhaupt keine Allergieerfolge zu erreichen sind. Zu diesen gehören viele der fabrikmäßig hergestellten und chemisch weitgehend gereinigten Seren. Tierexperimentelle Mißerfolge bei der Anwendung solcher im Serum-Hyperergieversuch führen zu Schlüssen, die unberechtigterweise die Methodik der Vorbehandlung mit artfremdem Antigen in Mißkredit bringen. Es gilt nun die Bedingungen zu erforschen, unter denen regelmäßig mit sicherem Erfolge eine allergische Umstimmung im Serum-Hyperergieversuch zu erzielen ist, und wieweit „Eingriffe“ am Serum dessen Antigencharakter verändern können. Geprüft werden soll dieses für die allgemeine Überempfindlichkeit und die nach intravenöser Wiedereinspritzung auftretenden allergisch-hyperergischen Entzündungsbilder. Auftreten oder Fehlen des Shocks nach mehrmaliger intravenöser Einspritzung des zu untersuchenden Serums wird ein sicheres Zeichen für die mit diesem erreichte Umstimmung sein. Die lokalen Reaktionen bei der direkten Einspritzung des entsprechenden Serums ins Gewebe werden weiteren Versuchen vorbehalten, über die wir später berichten.

Bei Untersuchungen über die Ionenkonzentration der allergisch-hyperergischen Entzündung zeigte *Knepper*, daß diese Entzündung eine Gewebsazidose vermissen läßt. Er fand vielmehr eine Verschiebung der Ionenkonzentration zur alkalischen Seite hin. Zu gleicher Zeit von ihm vorgenommene p_H -Bestimmungen an den in der Klinik zur therapeutischen Anwendung gelangenden und beim Serum-Allergieversuch gebräuchlichen Seren, ergaben durchschnittlich in den fabrikmäßig hergestellten Heilseren einen p_H -Wert von 6,3, in dem zur Vorbehandlung benutzten Pferdeserum einen p_H -Wert von 7,3 und in dem Schweineserum einen Wert von 7,7. Die Tatsache, daß diejenigen Seren, die schon erfahrungsgemäß als die geeigneteren zur Umstimmung eines Tieres galten, eine mit ihrer Wirksamkeit zunehmende Verschiebung der Ionenkonzentration zur alkalischen Seite hin aufwiesen, ließ es als möglich erscheinen, den Gradmesser der Wirksamkeit eines Serums in seiner Alkalescenz zu sehen. Aus diesem Grunde bezeichnete *Knepper* ultraviolettbestrahltes Schweine- und Pferdeserum, dessen Ionenkonzentration sich durch eben diese Behandlung bis auf 8,4 bzw. 7,7 verschiebt, als besonders wirksam im Serum-Hyperergieversuch. In scheinbarem Widerspruch zu diesem Befund stehen die Ergebnisse einer Arbeit von *Kallós*. Er fand, daß eine Erfolgsdosis mit ultraviolettbestrahltem Serum bei Tieren, die mit unbestrahltem Serum vorbehandelt waren, keinen Shock auslöste, wohl aber die bei den vorbehandelten Einspritzungen gegen das nicht bestrahlte Antigen gebildeten Antikörper unwirksam machte. Ähnliche Versuche führten bereits früher *Dörr* und *Moldovan* mit ähnlichem Erfolge durch. Die Versuchsmethodik von *Kallós* fußt im wesentlichen auf den Arbeiten von *Pick* und *Landsteiner*, die zeigen konnten, daß schon verhältnismäßig geringfügige Änderungen im

chemischen Aufbau eines Serums seine immunbiologischen Eigenschaften weitgehend verändern können. Auch die Ultraviolettbestrahlung führt zu Änderungen im Chemismus eines Serums. Ihr sichtbarer Ausdruck ist die sich während der Bestrahlung einstellende Verschiebung der Ionenkonzentration zur alkalischen Seite. Es entsteht dabei ein „neues“ Antigen, das chemisch (?) nicht mehr auf die Antikörper des vorbehandelnden unbestrahlten Serums „paßt“ und deshalb auch nicht mehr mit ihnen spezifisch reagieren kann. Wollten wir also die Ansicht *Kneppers*, daß die Ultraviolettbestrahlung ein Serum zur Umstimmung besonders wirksam mache, nachprüfen, dann war es nötig, im Tierversuch eine Versuchsanordnung zu wählen, die eine spezifische Antigen-Antikörperreaktion herbeiführte, d. h. wir mußten Tieren nach vorangehenden umstimmenden Einspritzungen mit bestrahltem Antigen auch die Erfolgsdosis mit demselben „passenden“ bestrahlten Serum in die Blutbahn einbringen. Reagierten die so behandelten Tiere mit einem anaphylaktischen Shock und mit morphologischen hyperergischen Veränderungen, so wäre dies die Bestätigung dafür, daß hier überhaupt eine Antigen-Antikörperreaktion stattgefunden hat. Zum Beweis für die verstärkte Wirksamkeit des angewandten ultraviolettbestrahlten Serums müßte mehr gefordert werden, zum mindesten schwerere hyperergische Veränderungen als die, die sonst im einfachen Hyperergieversuch mit dem unbestrahlten sonst gleichartigen Serum erzielt werden.

Bevor wir an die Ausführung dieses unseres eigentlichen Versuches gingen, konnten wir die Ergebnisse der Arbeit von *Kallós* grundsätzlich bestätigen. Das für unsere Experimente notwendige ultraviolettbestrahlte Serum wurde auf folgende Art gewonnen: Frisches, steriles Serum setzten wir in einer flachen Schale, deren Boden es eben bedeckte, 2 Stunden einer gleichmäßig brennenden Hühnersonne aus. Das Serum wurde halbstündlich durchgeschüttelt. Während der Ultraviolettbestrahlung nahm das Serum die von *Kallós* beschriebene bräunliche Farbe und den Geruch nach verbrannten Wollfasern an. Es wurden von uns 5 Kaninchen mit unbestrahltem Schweineserum, 4 mit unbestrahltem Pferdeserum bis zur Erzeugung eines *Arthusschen* Phänomens vorbehandelt. Dann wurde als Erfolgsdosis intravenös je 5 ccm des ultraviolettbestrahlten Serums gespritzt. Der anaphylaktische Shock blieb bei allen Tieren aus. Die nach 8 Tagen getöteten Kaninchen zeigten keine Veränderungen im Sinne sicherer hyperergischer Gewebsreaktionen.

Anders waren die Ergebnisse bei den Tieren, denen nach vorangehender Umstimmung mit gleichmäßig ultraviolettbestrahltem Serum auch die Erfolgsdosis mit bestrahltem Serum in die Blutbahn eingebracht wurde. Wir halten es für wichtig, darauf hinzuweisen, daß es bei dieser Anordnung für das Gelingen des Versuches von Bedeutung war, nur gleichmäßig bestrahltes Serum zu verwenden. Ein länger und intensiver bestrahltes Serum kann in seinen Eigenschaften derart verändert werden,

daß es als Antigen schon nicht mehr auf die Antikörper des weniger bestrahlten Serums „paßt“. Wir haben 5 Tieren je 5 ccm des gleichmäßig ultraviolettbestrahlten Serums in die Ohrvene gespritzt. Bei der nach 5 Tagen vorgenommenen Reinfektion starben 3 Kaninchen nach einer Menge von 5 ccm des gleichartig behandelten Schweineserums im anaphylaktischen Shock, während sich 2 Tiere (700 und 701) wieder erholten. Beide waren nach stattgehabtem Shock aufs schwerste geschädigt. Sie lagen bis zum Tode ruhig und ohne zu fressen im Stall.

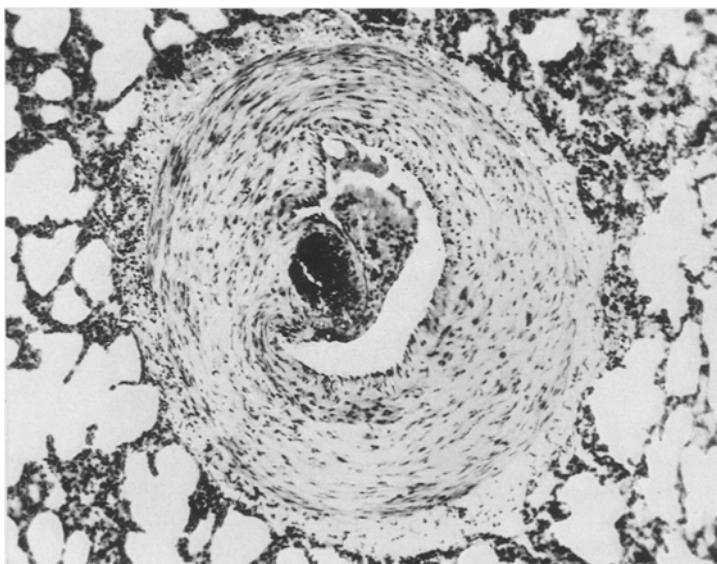


Abb. 1. Polypöse fibrinoid-nekrotische Endarteritis einer Lungenarterie.

Es lebte Tier 700 12 Stunden, Tier 701 8 Tage. Die mikroskopische Untersuchung der Organe der Kaninchen zeigte, daß es bei beiden Tieren auch zu morphologischen hyperergischen Veränderungen gekommen war. Die Schwere der Veränderungen stand im direkten Verhältnis zur Lebensdauer der Kaninchen. Während wir bei Tier 700 die Anfangsstadien der hyperergischen Entzündung beobachten konnten, wurden bei Tier 701 Veränderungen gefunden, wie sie im einfachen Serum-Hyperergieversuch nur selten erreicht werden. Herzmuskel und Leberparenchym waren von zahlreichen, schon in Verkalkung begriffenen Nekrosen durchsetzt. In den Lungengefäßen fanden sich Veränderungen in fast allen Wandschichten. Vorzüglich aber ist es zur Quellung, fibrinoider Nekrose und Granulombildungen der Intima gekommen (Abb. 1). Teilweise lagern diesen so veränderten Gefäßwänden Fibrin thromben auf, welche zuweilen so weit in das Lumen des Gefäßes hineinreichen, daß sie es fast völlig verschließen (Abb. 2). In

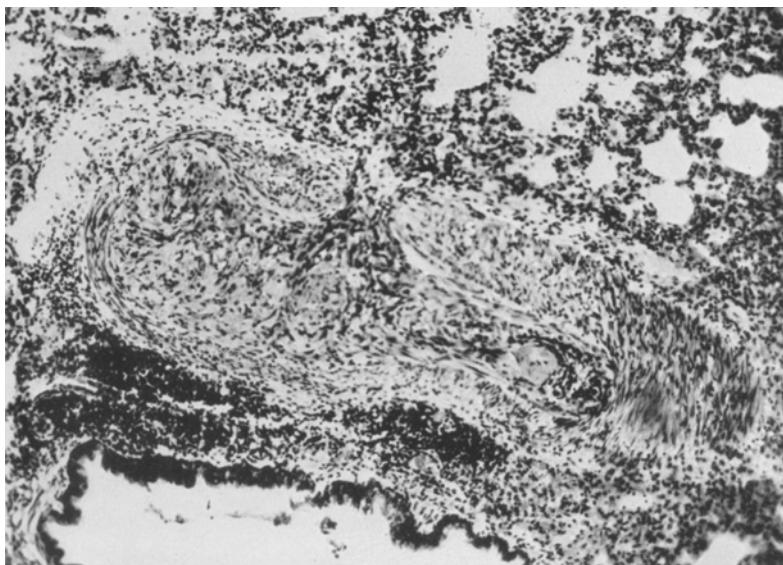


Abb. 2. Verschluß einer Lungenarterie durch Endarteritis mit Granulombildung.

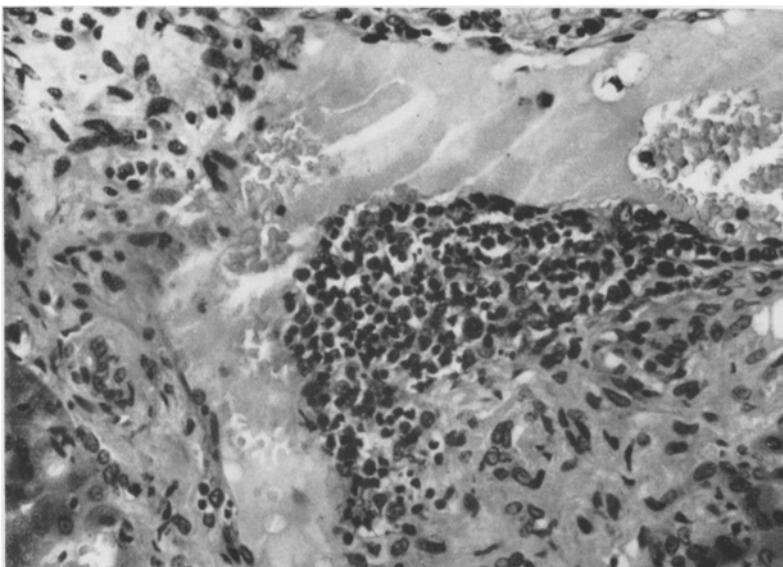


Abb. 3. Lympho- und histiocytäre Endophlebitis einer Lebervene
(Siegmondsches Venenknötchen).

der Leber fanden sich die von Siegmund beschriebenen Venenknötchen. Die Wand der Lebervene ist verdickt, ihr Lumen mit hyalinen Massen

ausgefüllt. Umschriebene Stellen des Gefäßes zeigen in das Lumen vor springende Knötchen, deren Zellelemente aus Lympho-Leukocyten und aus vereinzelten plasmareichen Zellen des histiocytären Systems bestehen (Abb. 3).

Weiteren 6 Tieren spritzten wir im Abstand von 5 Tagen 5mal je 2 oder 3 ccm des gleichmäßig ultraviolettbestrahlten *Pferdeserums*. Als Erfolgsdosis erhielten sie 6 ccm des gleichartig behandelten ultraviolettbestrahlten Pferdeserums. 3 von ihnen starben nach einer Zufuhr

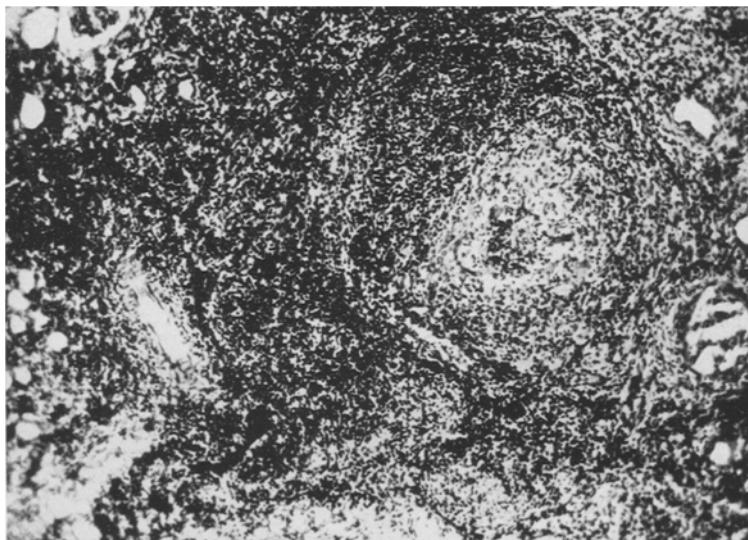


Abb. 4. Arteritis und Periarteritis eines Nierengefäßes, erzielt im Hyperergieversuch mit ultravioletbestrahltem Pferdeserum.

von 4 und 5 ccm des bestrahlten Antigens im akuten anaphylaktischen Shock. Der Shock war schwerer als der, den man bei mit unbestrahltem Pferdeserum behandelten Kaninchen zu sehen gewohnt ist. 3 Tiere überstanden die Erfolgsdosis von 6 ccm. Sie erholten sich nach einigen Stunden von ihrem Shock und begannen wieder zu fressen. 2 Tiere (741 und 744) wurden nach 5 Tagen, Tier 742 nach 8 Tagen durch Nackenschlag getötet. Auch bei diesen mit ultravioletbestrahltem Pferdeserum behandelten Tieren beobachteten wir im histologischen Präparat Veränderungen im Sinne sicherer hyperergischer Gewebsreaktionen. Lokalisiert waren die entzündlichen Schäden vor allem in den Lungengefäß. In ihrer Schwere entsprachen sie aber nicht denen, die wir durch bestrahltes Schweineserum erzielt hatten. Jedoch in der Niere des zuletzt getöteten Kaninchens fanden sich Veränderungen, die bei weitem das Ausmaß des von Eickhoff im Urethan-Hyperergieversuch

erreichten und als Panarteriitis bezeichneten Gefäßschadens übertrafen. Es ist hier bei schwerster entzündlicher Schädigung aller Wandschichten eines Nierengefäßes zu völliger Zerstörung des Gefäßes und Ausbildung eines ausgedehnten adventitiellen Entzündungswalles gekommen (Abb. 4). Während *Eickhoff* aber die eben beschriebenen entzündlichen Schäden in den Gefäßen einer durch Urethan belasteten Niere erreichte, wurden von uns die sogar noch schwereren morphologischen hyperergischen Veränderungen ohne ein die allergisch-hyperergische Entzündung lokalisierendes Mittel (*Knepper, Eickhoff, Rintelen*) allein durch die Anwendung des ultraviolettbestrahlten Serums erreicht.

Zusammenfassung.

Aus all diesen Befunden geht hervor, daß bei Vorbehandlung der Versuchstiere mit *unbestrahltem* Antigen die Erfolgsdosis mit *bestrahltem* Antigen in Bestätigung der Ergebnisse der Voruntersucher keinen anaphylaktischen Shock zur Folge hat. Darüber hinaus aber wird festgestellt, daß Kaninchen, denen nach einer Vorbehandlung mit *ultraviolettbestrahltem* Serum auch die Erfolgsdosis mit *demselben gleichartigen*, d. h. *gleich lange* und *gleich intensiv bestrahltem* Serum in die Blutbahn eingebracht wird, sowohl prompt mit einem anaphylaktischen Shock, als auch mit morphologisch-hyperergischen Veränderungen reagieren. Diese kommen bei allen Tieren, die den Shock überstehen, zustande. Sie stellen einwandfrei schwerere Schäden dar, als die, die sonst mit unbestrahltem Serum erzielt werden. Zum anderen aber lassen sie sich leichter und sicherer erreichen als mit einem unbestrahlten Serum. Es muß also angenommen werden, daß ein Serum durch die Ultraviolettbestrahlung im Allergieversuch wirksamer wird. Demnach hebt die Bestrahlung eines Serums seine Antigeneigenschaft nicht auf, sondern verstärkt sie sogar.

Schrifttum.

- Dörr u. Moldovan.* Wien. klin. Wschr. **1911** I, 555. — *Eickhoff, W.*: Virchows Arch. **299**, 300 (1937). — *Graff, U.*: Virchows Arch. **299**, 339 (1937). — *Junghans, E.*: Beitr. path. Anat. **92**, 467 (1933/34). — *Kallós u. Kallós-Deffner*: Klin. Wschr. **1935** II, 1392. — *Knepper, R.*: Klin. Wschr. **1937** I, 188, 352. — Virchows Arch. **296**, 364 (1936). — *Landsteiner*: Die Spezifität der serologischen Reaktionen. Berlin 1933. — *Pick u. Silberstein*: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, Bd. 2, S. 317. 1929. — *Rintelen*: Über die experimentelle allergisch-hyperergische Arteriitis. Virchows Arch. **299**, 629 (1937).
-