

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

Allergisch-hyperergische Entzündung durch parenterale Einführung von Eigenserum¹.

Von
W. Eickhoff.

Mit 3 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 26. Juni 1937.)

Vorliegende Arbeit hat den Zweck, auf Grund von Versuchen den Nachweis zu erbringen, daß es einwandfrei möglich ist, Tiere durch körpereigenes Serum zu sensibilisieren. Versuche mit körpereigenem Blut zu sensibilisieren wurden bereits von Letterer und Geißendorfer ausgeführt. Hierbei steht es jedoch ganz offen, wodurch die Sensibilisierung erfolgte, ob durch das Eigenserum oder die im Blut enthaltenen roten Blutkörperchen. Versuche mit Eigenerythrocyten sind unseres Wissens bisher noch nicht veröffentlicht, solche mit Eigenserum aber (Heinlein und Muschallik) den Versuchen mit Eigenblut im Prinzip, wenigstens was die lokale Gewebsreaktion angeht, gleichzusetzen. Bei kritischer Prüfung der Frage der Umstimmung des Körpers durch körpereigenes Blut bzw. Serum dürfen nicht die von Freund mitgeteilten Untersuchungsergebnisse außer acht gelassen werden, die zeigten, daß sowohl gleich bei Austritt von Blut aus der Strombahn als auch noch später im Extravasat Stoffe auftreten, die als Früh- bzw. Spätgifte bezeichnet und chemisch klargestellt wurden; denn diese stark gewebsreizenden Früh- bzw. Spätgifte erzeugen ebenfalls Entzündungsbilder, die leicht als allergisch-hyperergisch angesehen werden können. Es ist ferner notwendig, darauf hinzuweisen, daß die Versuche, mit körpereigenen Stoffen zu sensibilisieren, mit besonderen Schwierigkeiten verbunden sind. Mehrmalige einfache Blutentnahme und subcutane Wiedereinverleibungen körpereigenen Blutes, sind nicht strikte beweisend, da diese Methode mit gewissen zum mindesten theoretischen Fehlern belastet ist. Um die einwandfreien Fehler solcher Arbeitsweise aufzuzeigen, bedarf es einer genauen Betrachtung der Vorgänge bei der Sensibilisierung mit körpereigenem Blut.

Bei der ersten subcutanen Gabe frisch entnommenen Eigenblutes findet eine Resorption statt, an deren Ende Ödem und Zellmassen auftreten. Das Eigenblut wird also genau wie körperfremdes Blut resorbiert, d. h. unter Abbau des Serumeiweißes und Zerstörung und Auflösung

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

der roten Blutkörperchen, wobei vollkommen andere Molekel entstehen, aufnahmefähig gemacht werden. Außerhalb der Blutbahn wirkt also das Eigenblut als Fremdkörper, der erst abgebaut aufgenommen wird. Für die roten Blutkörperchen ist dies ja ohne weiteres verständlich, da sie als corpusculäre Elemente nicht ohne weiteres in die Blutbahn übernommen werden können. Ob dieser Vorgang auch für das Eigenserum zutrifft, soll vorläufig noch offen gelassen werden, da sich hierauf die später folgenden Versuche beziehen. Durch den parenteralen Abbau des Eigenblutes entstehen Eiweißmolekel, die körperfremd sind, obwohl sie aus körpereigenen Stoffen sich ableiten. Gegen diese körperfremd gewordenen Eiweißmolekel bildet nun der tierische Organismus Antikörper. Vielleicht wird auch automatisch durch die Entnahme des Eigenblutes schon so verändert (Temperaturänderung, Gerinnungsneigung, CO_2 Abrauschung), daß es als körperfremd empfunden wird und somit Antikörper gebildet werden. Wie auch der Vorgang sei, Antikörper entstehen jedenfalls gegen das parenteral eingebrachte Eigenblut. Diese Autoantikörper kreisen in der Blutbahn und gelangen, wenn man die zur Erfolgsinjektion bestimmte zweite Portion Eigenblut abzapft, mit in die Spritze. Vorausgesetzt, daß diesmal das Blut genau dieselbe Veränderungen wie beim ersten Male durchmacht, müßten doch die Antikörper im Augenblick der Entstehung der Autoantigene im entnommenen Blut innerhalb der Spritze diese Autoantigene absättigen. Ob diese (Auto-)Antigen- (Auto-)Antikörperreaktion gemäß den obigen Ausführungen in der Spritze abläuft oder subcutan im Gewebe zu denken ist, dort hervorgerufen durch Entstehung der Antigene während des parenteralen Abbausvorganges, ist gleichgültig. Festgehalten werden muß jedenfalls, daß eine Autoantikörperbildung statt hat und daß diese Autoantikörperbildung bei den Versuchen der Sensibilisierung mit Eigenblut eine nicht zu vernachlässigende Fehlerquelle darstellt, weil eben bei jeder wiederholten Blutentnahme die Autoantikörper mit in die Spritze hineingelangen.

Um also diese Fehlerquelle auszuschalten, muß zunächst eine größere Menge Blut mit einem Male entnommen werden. Es muß sodann Sorge dafür getragen werden, daß das Eigenblut sich so wenig wie möglich ändert oder aber, wenn es sich ändert, daß es sich dann gleichmäßig ändert, d. h. daß die zweite Injektion mit Blut von genau denselben Eigenschaften wie die Erstinjektion gemacht wird. Diese Forderung wird in hohem Maße erfüllt durch folgende Versuchsanordnung:

Einem Tier (Meerschweinchen und Kaninchen) wird in einer Sitzung mit einer Herzpunktion eine bestimmte größere Menge Blut abgenommen, welches genau so vorbehandelt wird, wie das übliche zur aktiven Präparation eines Versuchstieres verwendete Schweine- oder Pferdeblut: das aus dem Blut durch Zentrifugieren gewonnene, reine, gut durchsichtige, sterile Serum wird, nachdem es $1\frac{1}{2}$ Stunde bei 56° im Wasserbad inaktiviert

ist, mit steriler Maßpipette in zwei gleiche Portionen geteilt (Meerschweinchen je 1 ccm, Kaninchen je 2 ccm) und auf zwei sterile Spezialglasröhren gefüllt. Dem so behandelten Serum wird kein Toluol zur Konservierung zugeschüttet, um nach Möglichkeit den Einwänden aller derer von vornherein zu begegnen, die in dem Toluol das entzündungserregernde Prinzip sehen oder doch ihm eine wesentlich entzündungsverstärkende Wirkung zuschreiben. Dann wird das Serumröhrchen an

den von *Flosdorf* und *Stuart Mudd* angegebenen Apparat angehängt und in dem von ihnen angegebenen Hochvakuumverfahren bei -50°C eingedampft. Das eingedampfte Serum hat eine grauweiße, sahnige Beschaffenheit. Die Serumröhrchen werden dann, damit das Vakuum erhalten bleibt, vom Apparat abgeschmolzen und auf Eis aufbewahrt. Vor Gebrauch wird dann das Röhrchen geöffnet und die Hälfte der abgedampften Flüssigkeit in Form von Aqua dest. wieder hinzugegeben. Das getrocknete Serum löst sich ohne Schwierigkeiten wieder auf. Es wird dann in eine graduierte unten zugeschmolzene Pipette eingegossen und soweit

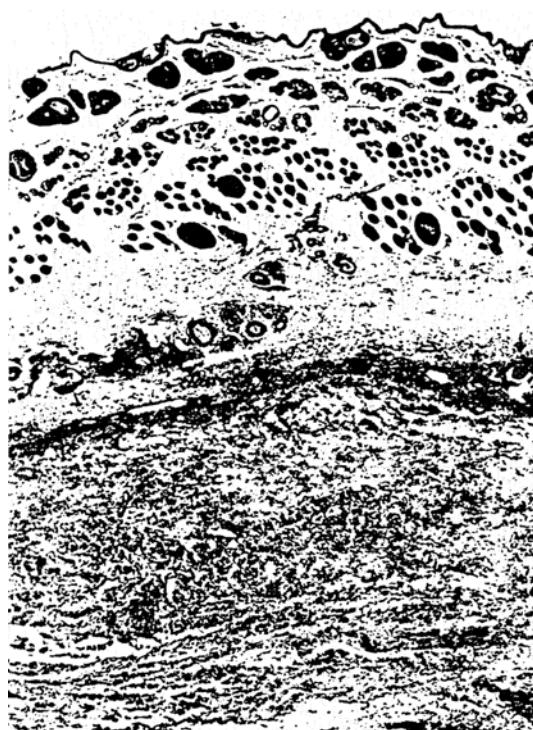


Abb. 1. Schwerste allergisch-hyperergische Entzündung bei einem Kaninchen (631) nach Reinfektion von körpereigenem Serum in die Unterhaut.

aufgefüllt, bis die ursprüngliche Flüssigkeitsmenge wieder vorhanden ist. Das wieder aufgelöste Serum bekommt die gleiche Farbe wie vor der Eindampfung. Das in den Röhrchen unter Luftabschluß eingeschmolzene getrocknete Serum hält sich fast unbegrenzt. Dieses Konservierungsverfahren ist ideal zu nennen, da das Serum alle seine Stoffe beibehält und keinerlei Zusatz zur Haltbarmachung vonnöten ist. Es wird dem Serum lediglich das Wasser entzogen, welches nachher in Form von Aqua dest. wieder zugeführt wird.

Durch diese Behandlungsmethode ist es also möglich, die oben gestellten Forderungen der Ausschaltung der Fehlerquellen für die Versuche mit Eigenseruminjektion zu erfüllen. Treten jetzt bei der wiederholten Einverleibung am Ort der Injektion entzündliche Veränderungen auf, die bei der Erstinjektion fehlen, dann handelt es sich einwandfrei um allergische Reaktionen durch vorhergegangene spezifische Eigenserumbehandlung. Zum Nachweis der Möglichkeit der Sensibilisierung eines Tieres mit körpereigenem Serum benutzten wir 2 Tierreihen, Meerschweinchen und Kaninchen, denen je 10 bzw. 20 ccm Herzblut entnommen wurde. Das Serum wurde nach oben beschriebener Methode



Abb. 2. Durch Eigenserum erzielte allergisch-hyperergische Entzündung in der Unterhaut eines Meerschweinchens (984).

gewonnen und aufbewahrt. Nach 3wöchentlicher Schonungs- und Erholungszeit wurde den Tieren die erste Portion ihres körpereigenen Serums subcutan verabreicht. Da, wie Letterer angibt, das Maß der Autoantikörperbildung für die Erzielung einer allergisch-hyperergischen Entzündung nach 3 Wochen am günstigsten ist, wurde zu dieser Zeit die Reinkjection mit der zweiten Portion des körpereigenen Serums subcutan an derselben Stelle durchgeführt (linker Hinterschenkel). Es zeigte sich ein umschriebenes, deutliches, citronengelbes Ödem und Quellung der Subcutis nach 48 Stunden am Injektionsort bei 2 Meerschweinchen und 1 Kaninchen. 2 weitere genau so behandelte Tiere (Kaninchen) wurden nach 84 und 100 Stunden getötet. Die ödematöse Quellung und Verfärbung der Unterhaut war makroskopisch nur noch sehr gering. Zur Kontrolle wurden 4 Meerschweinchen und 3 Kaninchen

angesetzt, die jeweils 48 Stunden nach der einmaligen Injektion einer Portion sowie *beider* (erster und zweiter zusammen) Portionen getötet wurden. Die Injektionsstellen, die vorher durch Entfernen der Haarhaare kenntlich gemacht waren, wären nicht wieder aufzufinden gewesen: es fand sich keinerlei mit dem bloßen Auge sichtbare Veränderung der Subeutis.

Dieselben Versuche wurden mit arteigenem Serum bei 2 Meerschweinchen ausgeführt mit ebenso vielen Kontrollen. Es zeigten sich auch hier dieselben zeitlichen Resultate wie bei den mit Eigenserum behandelten Tieren, lediglich mit dem Unterschied der makroskopisch deutlicheren Veränderung der Unterhaut. Da in den ersten Versuchen mit Eigenserum sich die Kaninchen wie die Meerschweinchen verhielten, wurden aus Ersparnisgründen die Versuche mit arteigenem Serum nur bei letzteren angesetzt.

Die mikroskopische Untersuchung der schon mit dem bloßen Auge verändert erscheinenden Injektionsstellen zeigt an Gefrier-, Paraffin- und Celloidinschnitten ein Ödem der Subeutis mit Quellung der Bindegewebsfasern und starker cellulärer Reaktion. Die Zellen sind vorwiegend Leukozyten, teils eosinophiler Art, vermischt mit den großen histiozytären Zellelementen. Häufig sieht man die Zellen schon nekrotisch werden und zerfallen. Vereinzelt findet man an den Gefäßen eine geringgradige Aufquellung ihrer Wand. Diese Entzündung, die nahezu einem durch artfremdes Serum hervorgerufenen Arthusschen Phänomen gleicht, war am ausgeprägtesten bei den Kaninchen, und zwar nach 48 Stunden; bei den später getöteten Tieren fand sich bereits eine ausgedehnte Um- und Durchwucherung des Entzündungsherdes von Bindegewebsszellen. Die stürmische Entzündung in der Subeutis ist ausgelöst durch eine wiederholte Einspritzung körpereigenen Serums nach vorhergegangener einmaliger spezifischer Eigenserumbehandlung. Es handelt sich also um eine allergisch-hyperergische Entzündung auf dem Boden einer durch Eiweiß erzielten Umstimmung des Versuchstieres. Daß die Tiere wirklich umgestimmt, sensibilisiert wurden durch die erste Eigenserumeinverleibung, ließ sich durch Reinfektion der zweiten Portion des Eigenserums in die Blutbahn beweisen. Von 3 Tieren bekamen 2 die typischen Zeichen eines anaphylaktischen Shocks: Barthaarsträubung, Protrusio bulbi, Abgang von Urin, fliegende Atmung, während bei einem Tier die Anzeichen sehr unsicher waren. Der anaphylaktische Shock wurde allerdings von allen Tieren überstanden, was ja nicht Wunder nimmt bei den geringen, leider aus technischen Gründen nicht zu vergrößernden Behandlungsdosen. Diese Tiere mit intravenöser bzw. intrakardialer Reinfektion wurden nach 5,7 und 9 Tagen durch Nackenschlag getötet. Bei der Sektion fand sich, wie bei sämtlichen mit Eigenserum behandelten Tieren, eine wohl durch die vorhergegangene Punktionsverursachte starke Milzvergrößerung. Der übrige Sektionsbefund bot nichts Besonderes.

Die mikroskopische Untersuchung zeigte dieselben schon wiederholt und zuletzt noch von *Heinlein* und *Muschallik* berichteten Veränderungen am Gefäßbindegewebsapparat in Herz, Lungen, Nieren: Quellung, Endothelaufrichtung, Granulombildung. Um nun ganz sicher zu sein, daß diese von uns als allergisch-hyperergisch angesehene Entzündung wirklich nur durch die *wiederholte* subcutane Injektion spezifischer Eiweißkörper und nicht, wie behauptet, auch durch eine einmalige subcutane Injektion größerer Mengen hervorgerufen ist



Abb. 3. Großzelliges Granulom des Endokards eines Meerschweinchens (985) nach intravenöser Reinfektion von Eigenserum.

(*Graff*). setzten wir, wie schon oben dargetan, weitere 7 Kontrolltiere an; diese bekamen teils nur die erste, teils aber auch die erste und zweite Portion zusammen auf einmal subcutan zugeführt; sie wurden dann sämtlich nach 48 Stunden durch Nackenschlag getötet. Mikroskopisch ergeben sich, wie nach den makroskopisch negativen Befunden zu erwarten war, an der Unterhaut derart behandelter Versuchstiere gar keine bzw. nur sehr geringe Anzeichen einer Entzündung, die nicht im geringsten mit den durch wiederholte Einspritzung erzielten stürmischen allergisch-hyperergischen Entzündungsbildern zu vergleichen waren. Es bedurfte eigentlich nach der Erzielung einer deutlichen allergisch-hyperergischen Entzündung mittels körpereigenen Serums keines besonderen Hinweises mehr, daß mit arteigenem aber körperfremden Serum ebenfalls Veränderungen derselben Art sich erreichen lassen. Auch hier findet sich mikroskopisch 48 Stunden nach wiederholter Injektion arteigenen Serums in die Unterhaut eine stürmische allergisch-hyperergische

Entzündung am Injektionsort, während bei den Kontrolltieren nach derselben Zeit nach einmaliger Injektion nichts zu finden ist. Zwecks größerer Klarheit und Übersicht sowie rascherer Orientierung über die angesetzten Versuche seien sie mit samt den Ergebnissen in Form einer Tabelle zusammengefaßt aus der ohne nähere Erläuterung alles wesentliche abgelesen werden kann.

Es ist also in diesen Tierversuchen der Nachweis gebracht, daß es tatsächlich möglich ist, durch Eigenserum bei Ausschaltung aller Fehlerquellen einwandfrei eine Sensibilisierung des Körpers zu erreichen und bei geeigneter Versuchsanordnung sowohl eine allergisch-hyperergische Entzündung im subcutanen Gewebe als auch einen anaphylaktischen Shock bei intravenöser Reinfektion zu erzielen. Die Entzündung ist allergisch-hyperergischer Natur und nicht etwa durch Früh- bzw. Spätgifte des Eigenserums hervorgerufen. Wäre das der Fall, müßte sich auch schon durch die Erstinjektion eine Entzündung in der Unterhaut nachweisen lassen, während in unseren Versuchen eine deutliche Entzündung erst bei wiederholter Einverleibung -- Charakteristikum allergisch-hyperergischer Veränderungen -- körpereigenen spezifischen Serums auftrat.

Tabelle.

Tier	Art der Behandlung	Tod	Allerg.-hyp. Entzündung	Tier	Art der Behandlung	Tod	Allerg.-hyp. Entzündung
<i>Eigenserum (Meerschweinchen).</i>							
984	2 x 1 ccm subcutan	48 Std.	—	660	1 x 1 ccm subcutan	48 Std.	—
850	..	"	+	658	..	"	—
985	1 x 1 ccm subcutan 1 x 1 ccm i-card.	5 Tage	anaph. Shock	661	1 x 2 ccm subcutan	..	—
796	..	7 Tage	—	659	..	"	—
<i>Eigenserum (Kaninchen).</i>							
631	2 x 2 ccm subcutan	48 Std.	—	663	1 x 2 ccm subcutan	48 Std.	—
986	..	84 Std.	(+)	662	..	"	—
988	..	100 Std.	—	664	1 x 4 ccm subcutan	..	—
987	1 x 2 ccm subcutan 1 x 2 ccm i-ven.	9 Tage	anaph. Shock				
<i>Arteigenes Serum (Meerschweinchen).</i>							
700	2 x 1 ccm subcutan	48 Std.	++	630	1 x 1 ccm subcutan	48 Std.	—
699	..	"	-+	650	..	"	—

Sämtliche mit Eigenblut bzw. Serum experimentierenden Untersucher sind übereinstimmend der Ansicht, daß es sich bei den beschriebenen Entzündungen um allergisch-hyperergische Reaktionen handelt, die sich nur durch die Ausmaße, aber nicht durch ihre Eigenschaften von den durch artfremdes Serum hervorgerufenen unterscheiden. Die in unseren Versuchen erzielten Entzündungen in der Unterhaut (besonders bei Kaninchen) sind aber so stark, daß sie auch quantitativ kaum einen Unterschied aufweisen. *Letterer* und *Geißendorfer* erklären ihre nur schwachen subcutanen Reaktionen mit nicht genügender Körperfremdheit des Eigenblutes, während sie *Heinlein* und *Muschallik* auf die geringen Injektionsdosen und die großen zwischen den Injektionen liegenden Zeitspannen zurückführen. Diese Überlegungen sind unseres Erachtens nicht in allen Teilen und allein richtig. Wie schon oben dargelegt, entstehen durch die parenterale Einverleibung körpereigenen Blutes Autoantikörper, die bei jeder wiederholten Blutentnahme mit in die Spritze und auch bei der subcutanen Injektion mit in die Unterhaut gelangen. Je nachdem man nun in einem bestimmten Zeitabschnitt der Autoantikörperproduktion das Eigenblut entnimmt, hat man in der Spritze einen bestimmten Antikörpergehalt, der im Anfang, d. h. kurz nach der Erstinjektion, kleiner, später dann größer und zuletzt wieder kleiner als die Antigenmenge in der Spritze sein kann. Daß die Antikörpermenge größer sein kann, leuchtet ein, wenn man bedenkt, daß der Organismus Antikörper in überschüssigem Maße bildet, da er ja auch bei jeder anderen Abwehrmaßnahme über das Ziel hinausschießt. Dieser zeitlich schwankende Autoantikörpergehalt ist es nun, der — bei fraktionierter, fortlaufender Blutentnahme mit in die Spritze gelangt — den Ausfall der Entzündung in hohem Maße mitbestimmt, weil er die Eigenantigene, bevor sie wirksam werden können, absättigt. Die nach einmaliger Injektion steigende und später wieder fallende Antikörperproduktion erklärt denn auch zwangslös, weshalb zu verschiedenen Zeiten die Reaktionen verschieden stark ausfielen (*Letterer*). Durch unsere Versuchsanordnung konnte dieser sonst sicher stattfindende Neutralisationsvorgang der Autoantigene mit den Autoantikörpern unterbunden werden, weshalb die Entzündung in der Unterhaut so starke Ausmaße annahm. Unsere Versuchsergebnisse zeigen, daß schwerste allergisch-hyperergische Entzündungen mit Eigenserum erreicht werden können, die denen durch artfremdes Serum gleichen, unter Bedingungen allerdings, wie sie physiologischerweise nicht gegeben sind. Bei der heutzutage in der Klinik vielfach geübten Eigenbluttherapie herrschen vielmehr Bedingungen, wie sie den Tierversuchen *Letterers* zugrunde lagen. Unangenehme Nebenerscheinungen, wie sie bei der artfremden Serumtherapie vorkommen, werden hierbei wahrscheinlich nicht auftreten bzw. sich in mäßigen Grenzen halten.

Zusammenfassung.

Es werden die Fehlerquellen besprochen, die bei den Versuchen, mit körpereigenem Blut bzw. Serum zu sensibilisieren, möglich sind. Unter Anwendung eines neueren bekannten Serumtrockenverfahrens wurde diese Fehlerquelle ausgeschaltet und nachgewiesen, daß körpereigenes Serum imstande ist, bei parenteraler wiederholter Einverleibung entzündliche Reaktionen auszulösen, die nicht durch Früh- oder Spätgifte des Eigenserums hervorgerufen sein können, sondern auf dem Boden einer allergischen Umstimmung des Körpers entstanden sind. Die Entzündungen sind so ausgeprägt, daß sie denen mit artfremdem Serum erzielten beinahe gleich kommen. Die zu verschiedenen Zeiten verschiedenen starken Reaktionen werden durch den wechselnden Antikörpergehalt des Eigenblutes erklärt, der es auch erlaubt, die Eigenbluttherapie in der Klinik anzuwenden.

Literatur.

Flosdorf, Earl, W. and Stuart Mudd: J. of Immun. **29**, Nr 5 (Nov. 1935). -- *Freund, H.:* Arch. f. exper. Path. **180**, 189 (1936). -- *Geißendorfer, H.:* Virchows Arch. **285**, 385 (1932). -- *Graff, U.:* Virchows Arch. **299**, 339 (1937). -- *Heinlein u. Muschallik:* Klin. Wschr. **1937 I**, 873. -- *Letterer:* Verh. dtsch. path. Ges. **26**, 193 (1931).
