

(Aus dem Institut für Physiko-Chemische Medizin Kiel
[Direktor: Prof. Dr. H. Schade †].)

Über die Ursachen der Verquellung der kollagenen Fasern bei der hyperergischen Entzündung (Arthussches Phänomen).

(Zugleich ein Beitrag zur Funktion des Bindegewebes¹.)

Von
Max Werner.

Mit 3 Abbildungen im Text.

(Eingegangen am 23. Oktober 1937.)

Einleitung und Fragestellung.

Das Arthussche Phänomen stellt die lokale Reaktion eines hochsensibilisierten Tieres auf die sub- bzw. intracutane Injektion des spezifischen Antigens dar. Klinisch ist das Wesentlichste der rasche Ablauf und die Heftigkeit der Erscheinungen, die über die verschiedenen Stufen der Entzündung bis zur Nekrose des zentralen Gebietes ablaufen. Das morphologische Bild ergibt Gefäßsperrre, hochgradige Verquellung der kollagenen Bindegewebsfasern im Zentrum, Ödem und leukocytäre Reaktion in der Peripherie des Injektionsgebietes. Die experimentellen und mikroskopischen Untersuchungen von *Arthus* und *Breton, Rössle, Gerlach, Opie* u. a. über diese lokale hyperergische Entzündung haben mit der mikroskopischen Sichtbarkeit ihre Grenze gefunden. Physiko-chemisch ist die Form der Wasserbindung — Ödem der Zwischensubstanz und Verquellung der kollagenen Fasern — von größtem Interesse. So will die vorliegende Arbeit versuchen, ein Einzelsymptom im Bilde der lokalen Anaphylaxie von der Seite der physiko-chemischen Forschungsrichtung aus zu klären. Die Klärung der Ätiologie und der Pathogenese der Verquellung der kollagenen Bindegewebsfasern im Zentrum des Reaktionsbezirkes, die „wohl zu unterscheiden von dem wiederum in der Peripherie auftretenden Ödem“ ist, soll versucht werden². Dabei finden wegen der bestimmt umrissten Untersuchungsbasis und bei dem in Frage stehenden Thema immunologische Probleme keine weitergehende Berücksichtigung. Nur zwei immunologische Tatsachen aber haben als gesichertes Fundament zu dienen, nämlich:

1. daß es sich bei der hyperergischen Entzündung um einen echten anaphylaktischen Prozeß handelt;

¹ Inaug.-Diss. der medizinischen Fakultät Kiel, D 8 (Ref. *Netter, Siegmund*).

² Die Anregung zu dieser Arbeit verdanke ich Herrn Prof. Dr. *Schade*, der leider kurz vor Abschluß der Arbeit verstarb.

2. daß nach Untersuchungen *Opies* im Zentrum des Injektionsgebietes wegen quantitativer Verhältnisse des Antigens zum Antikörper und wegen mangelhafter Resorption im sensibilisierten Gewebe eine Präcipitatabbildung unmöglich ist. Darüber hinaus übt das injizierte und im Überschuß an der Injektionsstelle vorhandene Antigen sogar eine lösende Kraft auf schon etwa gebildetes Präcipitat aus.

Die Entstehung des Ödems hat *Opie* in seinen Arbeiten zu klären versucht. *Opie* stellte Versuche an über die Wirkung, die ins Hautgewebe injiziertes Präcipitat ganz allgemein hat. So injizierte er Präcipitat, aus 0,1 ccm Pferdeserum, auf 10 ccm verdünnt, und 15 ccm Antipferdeserum vom Kaninchen hergestellt, in die Haut eines normergischen Kaninchens. Ein Ödem an der Injektionsstelle und polynukleäre Leukocyten bildeten die Reaktion. Die weiteren gleichartigen Versuche mit inverser Anaphylaxie und der simultanen Injektion von Antigen und Antikörper zeigten an der Applikationsstelle in der Haut auch nur Ödem, aber nie Nekrose.

Auf Grund dieser Versuche erklärt *Opie* das Präcipitin als den wahrscheinlich wirksamen Antikörper und das Präcipitat als das wirksame Reaktionsprodukt und damit als den kausalen Faktor für die Entstehung des peripheren Ödems bei der hyperergischen Entzündung. Als weitere Stütze konnte *Opie* nachweisen, daß ein enger, wenn auch kein absoluter Zusammenhang zwischen dem Präcipitingehalt des Blutes des sensibilisierten Tieres und der Stärke der lokalen anaphylaktischen Hautreaktion besteht.

Nach dem Vorausgehenden also gibt das Präcipitat den Reiz für die Ödementstehung ab; darüber hinaus soll es aber nach *Opie* durch seine Entstehung innerhalb der Endothelzellen eine veränderte Durchlässigkeit der Capillaren bewirken und weiterhin innerhalb der kleinen Gefäße zu einer thrombotischen Verlegung des Gefäßlumens führen und somit der ausschlaggebende Faktor der folgenden Nekrose der Haut sein.

Damit kommt *Opie* zu dem Schluß, daß die lokale hyperergische Entzündung schon ausgelöst wird, wenn nur das Antigen mit dem Antikörper im richtigen quantitativen Verhältnis im Gewebe zusammentrifft. Es ist also nach *Opies* Anschauung über die hyperergische Entzündung unnötig anzunehmen, daß das Gewebe als solches irgendeine Veränderung in dem Prozeß der Sensibilisierung erfahren hat. Dabei ist aber festzuhalten, daß alle erwähnten Versuche *Opies* ein starkes Ödem, nie aber eine Bindegewebefaserverquellung und Nekrose der Injektionsstelle ergaben.

Die Verquellung der kollagenen Fasern, die, wie später ausgeführt wird, eine wesentliche Rolle bei der Entstehung der Nekrose spielt, und die das morphologische Bild so kennzeichnet, kann, wie grundlegende Arbeiten von *Schade* und von *Schade* und *Menschel* über die physikalisch-chemischen Ursachen und über die Gesetze der Gewebsquellung insbesondere des

Hautgewebes ergaben, ganz allgemein durch folgende Faktoren auslösbar und beeinflußbar sein.

1. Durch Änderung des Quellungsbestrebens der Gewebskolloide,
2. durch Änderung der zur Quellungssättigung des Gewebes führenden Vorgänge.

Von größter Wichtigkeit erscheint in unserem Falle der erste Faktor, der wiederum durch verschiedene Ursachen bedingt sein kann, so z. B.

- a) durch strukturchemische Änderung der Gewebskolloide,
- b) durch eine Änderung der kolloiden Zustandsform der Gewebsbestandteile durch Temperaturänderung oder durch Milieubeeinflussung (Ionen und Moleküle).

Es ist Aufgabe dieser Arbeit, die Tatsache der Verquellung der kollagenen Fasern, unter Berücksichtigung der durch *Schade* und *Menschel* gefundenen Ursachen und Gesetze der Gewebsquellung, mit den hier verwirklichten Verhältnissen experimentell in Einklang zu bringen.

Somit ist der Weg vorgezeichnet. Alle die Veränderungen, die im Gewebe bei der hyperergischen Entzündung auftreten, und die einen Einfluß auf das veränderte Quellungsverhalten haben können, müssen zunächst festgestellt und dann ihre Wirksamkeit auf die Quellung kollagenen Fasern geprüft werden. Die Ermittelung der Quellungsursache kann dann weiterhin die Antwort auf die Frage sein, ob die Verquellung der kollagenen Fasern ein im Erscheinungsbild des *Arthusschen Phänomens* den übrigen koordiniertes Symptom oder aber nur ein Begleit- oder Sekundärsymptom darstellt.

Methodik.

Als Versuchstiere wurden Kaninchen verwendet, die, wie es aus den Untersuchungen der verschiedenen Untersucher hervorgeht, das *Arthussche Phänomen* in seiner besonders typischen Ausprägung am besten zeigen. Eine Auswahl nach dem Geschlecht der Tiere wurde nicht getroffen; beachtet wurde nur, daß die weiblichen Tiere nicht belegt waren. Bei der Sensibilisierung hielt ich mich an die Vorschriften, die *Gerlach*, nach der *Arthusschen Versuchsanordnung*, angibt. Als Antigen verwendete ich Normal-Hammelserum, das die Behringwerke in dankenswerter Weise zur Verfügung stellten. Die präparierenden Injektionen wurden stets subcutan meist in die Rückenhaut gegeben; die Erfolgsinjektionen erhielten die Tiere, soweit nichts anderes angegeben ist, in die Bauch- oder Rückenhaut. Die spezielle Methodik der Untersuchungen und der Kontrollen wird vor jeder Versuchsreihe besprochen werden. Die Präcipitinprobe im Blute der sensibilisierten Tiere wurde immer angestellt, und soweit möglich auch die histologische Kontrolle gemacht.

Eigene Versuche.

1. Versuche zur Feststellung der Veränderungen der Gewebsverhältnisse bei hyperergischer Entzündung.

Die Arbeiten von *Schade* und *Menschel* hatten die Bedeutung der folgenden Faktoren für die „physiologische Quellungseinstellung“ (*Schade*) herausgestellt: 1. eine dem Serum entsprechende Konstellation

der maßgebenden Ionen, 2. ein hinsichtlich des Quellungsdruckes den Serumweißen äquivalenter Kolloidgehalt und 3. ein der natürlichen Gewebsspannung entsprechender Druck. Störung oder Änderung einer dieser Faktoren hat unbedingt eine Veränderung des Wassergehaltes des Gewebes — Quellung oder Entquellung — zur Folge. Den stärksten Einfluß auf die Quellung haben von allen Ionen die Wasserstoffionen. Jede Verschiebung der normalen Wasserstoffionenkonzentration im Bindegewebe führt zu Quellungsänderungen aller seiner Gewebelemente. So erscheint es angezeigt, die Wasserstoffionenkonzentration im Bereich der veränderten Quellungsverhältnisse, im Gebiet der verquollenen kollagenen Bindegewebfasern bzw. im Ödemgebiet der hyperergischen Entzündung zu messen.

Da eine *absolut* genaue Messung der H-Ionenkonzentration im Gewebe mit keiner Methode bisher möglich ist, wurde der Einfachheit halber die Chinhypnolektrode zur Messung verwendet. Die Messungen haben natürlich nur vergleichenden Wert; auch wenn man berücksichtigt, daß jede Säuerung starken Grades im Gewebe mit der Chinhypnolektrode unbedingt zu erkennen sein muß, da einerseits die Genauigkeit der Messung mit der Chinhypnolektrode nach der saureren Seite hin zunimmt (*Reimers*) und andererseits, trotz des Abrauchens der Kohlensäure beim Einschnitt ins Gewebe das Absinken des p_H bei sofortiger Messung sehr langsam erfolgt, so daß nach Untersuchungen von *Schade*, „der p_H -Wert im gesunden Gewebe — mittels der Chinhypnolektrode gemessen — im Verlauf von 30 Min. vom Blutwert bis zum p_H -Wert von 8,24“ abfällt. Deshalb wurde auch stets die gleiche folgende Versuchsanordnung angewendet. Mit scharfer Schere wurden die Haare über der zu messenden Hautstelle kurzgeschoren; irgendwelche Epilationsmittel wurden wegen der möglichen Beeinflussung der Haut durch diese Stoffe nicht verwendet. Unter Chloräthylvereisung wurde sodann mit einem scharfen Messer ein kleiner etwa 1— $1\frac{1}{2}$ cm langer Schnitt in die Haut des zu messenden Gebietes gelegt. Dabei wurde darauf geachtet, daß keine Blutung in der Wunde auftrat. Sofort wurde sodann in die Wunde feinstpulverisiertes Chinhypn eingestreut. Etwa $\frac{1}{4}$ Min. danach wurde die erste Messung gemacht.

Anschließend wurden die Tiere getötet, um sogleich eine weitere Versuchsreihe anzuschließen. Sie sollte feststellen, ob der Quellungszustand des Gewebes durch einen gegen die Norm abweichenden Gewebskolloidgehalt oder Kolloidzustand verändert war. Zu diesem Zweck wurden aus dem zu untersuchenden Hautstück nach Excision des ganzen Hautlappens kreisrunde, möglichst gleichgeartete Stückchen mittels eines Locheisens vom Durchmesser 16 mm herausgeschlagen und ihr Gewicht festgestellt. Diese Stücke wurden dann in Pufferlösungen von verschiedenem p_H -Wert (bei den meisten Versuchen wurden Phosphatpufferlösungen in zwei Fällen auch Acetatpufferlösungen verwendet) auf verschieden lange Zeit eingelegt und immer im Abstand von 24 Stunden

wieder gewogen. Vor jedem Wiegen wurden die Stücke auf Filtrierpapier von anhaftender Flüssigkeit befreit. Um jeden mechanischen Druck auf die Stücke zu vermeiden, wurden sie an den kurzgeschorenen Haaren mit der Pinzette gefaßt. Diese Versuche wurden angestellt mit hyperergisch-entzündeter Haut und mit normaler Haut der anderen Körperseite der sensibilisierten Tiere. Von den sensibilisierten Tieren wurde der Präcipitintiter im Blut und wenn möglich im mittels der Gewebspresse abgepreßten Gewebssaft bzw. Gewebsauszug angestellt. Histologische Untersuchungen an hyperergisch-entzündeten Gewebsstückchen und unveränderten Hautstücken dienten als Kontrollen. Kontrollen waren weiterhin entsprechende Versuche an einem normergischen Kaninchen und an drei Kaninchen, denen durch subcutane Injektion von hämolyzierenden Streptokokken und gelben Staphylokokken in die Rückenhaut der einen Seite eine Entzündung gesetzt war. Bei diesen wurden ebenfalls die Wasserstoffionenkonzentrationen im entzündeten Gewebe gemessen und Quellungsversuche angestellt.

Tabelle 1. Quellung der hyperergisch-entzündeten Haut. Gewichte und Prozente. (Gewichte in Milligramm, Gewichtsveränderungen in Prozenten des Anfangsgewichtes ausgedrückt).

Zeit	Lösung							
	2,56 pH		3,13 pH		4,57 pH		5,45 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Sofort . . .	955		700		995		1125	
Nach 24 Std.	1135	+ 18,8	650	- 7,1	840	- 15,6	1000	- 11,1
" 48 "	1160	+ 21,5	655	- 6,4	755	- 24,1	890	- 20,9
" 72 "	1260	+ 31,9	700	± 0	700	- 29,6	895	- 20,4
" 96 "	1295	+ 35,6	735	+ 5,0	700	- 29,6	875	- 22,2
" 120 "	1310	+ 37,2	735	+ 5,0	680	- 31,7	840	- 25,3

Zeit	Lösung							
	5,79 pH		6,09 pH		7,0 pH		7,40 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Sofort . . .	820		565		805		950	
Nach 24 Std.	775	- 5,5	565	± 0	770	- 4,3	935	- 1,6
" 48 "	725	- 11,6	545	- 3,5	720	- 10,5	910	- 4,2
" 72 "	715	- 12,8	540	- 4,4	715	- 11,2	890	- 6,3
" 96 "	710	- 13,4	540	- 4,4	710	- 11,8	875	- 7,9
" 120 "	690	- 15,9	510	- 9,7	680	- 15,5	880	- 7,4

Zeit	Lösung							
	8,05 pH		9,85 pH		10,41 pH		11,37 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Sofort . . .	670		750		630		805	
Nach 24 Std.	680	+ 1,5	790	+ 5,3	635	+ 0,8	900	+ 11,8
" 48 "	680	+ 1,5	775	+ 3,5	655	+ 3,9	950	+ 18,0
" 72 "	675	+ 0,8	770	+ 2,7	650	+ 3,2	905	+ 12,4
" 96 "	655	- 2,2	755	+ 0,7	625	- 0,8	815	+ 1,2
" 120 "	645	- 3,7	740	- 1,3	605	- 3,9	750	- 6,8

Es sei in Kürze ein Protokoll angeführt.

Kaninchen Nr. 3. Das Kaninchen wird durch 3 Injektionen von Normalhammels serum sensibilisiert. Die vierte Injektion ist die Erfolgsinjektion. 23 Stunden nach der Erfolgsinjektion lässt sich um die Injektionsstelle herum ein kleinhändlergroßes derbinfiltriertes Gebiet, das dunkelrot aussieht, auf der rechten Rückenseite gut abgrenzen; es hat einen zungenförmigen Fortsatz nach ventral.

Die Werte der H-Konzentration im infiltrierten Gewebe schwanken zwischen $p_H = 6,9$ und $p_H = 7,31$.

Dann wird das Tier in Äthernarkose getötet. Das infiltrierte Hautgebiet wird im Zusammenhang excidiert. Bei der Excision erkennt man eine bedeutende Verbreitung der Haut und weiterhin eine starke Hyperämie besonders der subcutanen Fascie. Aus dem excidierten Stück werden 12 kleinere Hautstückchen mit dem Locheisen ausgestanzt und in die Pufferlösungen zur Quellung eingelegt. Aus der linken Rückenhaut wird normales unverändertes Hautgewebe entnommen, mit dem Locheisen auch aus diesem 12 Stückchen herausgeschlagen und in die Pufferlösungen eingelegt.

Tabelle 2. Quellung der normalen Haut. Gewichte und Prozente. (Gewichte in Milligramm, Gewichtsveränderungen in Prozenten des Anfangsgewichtes ausgedrückt.)

Zeit	Lösung							
	2,56 pH		3,13 pH		4,57 pH		5,45 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Sofort . . .	275		370		250		245	
Nach 24 Std.	835	+ 203,6	775	+ 109,1	275	+ 10,0	285	+ 16,3
,, 48 "	1030	+ 274,5	830	+ 124,3	275	+ 10,0	315	+ 28,6
,, 72 "	1145	+ 316,0	840	+ 127,0	275	+ 10,0	310	+ 26,5
,, 96 "	1150	+ 318,2	975	+ 163,5	280	+ 10,9	310	+ 26,5
,, 120 "	1165	+ 323,6	1005	+ 171,6	280	+ 10,9	310	+ 26,5
Zeit	Lösung							
	5,79 pH		6,09 pH		7,0 pH		8,05 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Sofort . . .	355		310		330		260	
Nach 24 Std.	445	+ 25,3	410	+ 32,3	430	+ 30,3	345	+ 32,7
,, 48 "	470	+ 32,4	440	+ 41,9	485	+ 46,9	385	+ 48,1
,, 72 "	475	+ 33,8	450	+ 45,2	500	+ 51,5	400	+ 53,8
,, 96 "	480	+ 35,2	470	+ 51,6	500	+ 51,5	420	+ 61,5
,, 120 "	485	+ 36,6	470	+ 51,6	500	+ 51,5	420	+ 61,5
Zeit	Lösung							
	9,85 pH		10,41 pH		11,27 pH			
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%		
Sofort . . .	315		305		295			
Nach 24 Std.	430	+ 36,5	435	+ 42,6	415	+ 40,7		
,, 48 "	480	+ 52,4	475	+ 55,7	495	+ 67,8		
,, 72 "	525	+ 66,7	525	+ 72,1	480	+ 62,7		
,, 96 "	500	+ 58,7	520	+ 70,5	475	+ 61,0		
,, 120 "	500	+ 58,7	510	+ 67,2	470	+ 59,3		

Die am Tage der Erfolgsinjektion im Blute angestellte Präcipitinprobe gegen Normalhammelserum war nach $1\frac{1}{2}$ Min. 1 : 20 000 positiv. Nach der Tötung des Tieres werden etwa 7 g des hyperergisch-entzündeten Gewebes fein zerschnitten und in etwa 30 ccm Ringerlösung zur Extraktion eingelegt. Nach 12stündiger Extraktion wird die eine Hälfte der überstehenden Flüssigkeit abgegossen und eingengt; die andere Hälfte wird weitere 12 Stunden lang mit dem Gewebsbrei geschüttelt. Mit den beiden Extrakten wird dann die Präcipitinprobe gegen Normalhammelserum angestellt. Sie war in beiden Fällen in der Verdünnung 1 : 20 000 positiv.

(Über die Zusammensetzung der Phosphatpufferlösungen wird vom Institut für physiko-chemische Medizin in Kiel gern Auskunft gegeben).

Danach wurden noch Quellungsversuche mit den zentralen Injektionsgebieten angestellt und zwar derart, daß die Erfolgsinjektion sechs einzelne gleichzeitige Injektionen von 0,8 ccm Serum, die an verschiedenen Stellen in der Bauchhaut gegeben werden, darstellt. 24 Stunden nach diesen Erfolgsinjektionen wird das Tier getötet. Dann wird jedesmal das zentrale Gebiet um jede Injektionsstelle herum mit dem Locheisen herausgestanzt, gewogen und in sechs Phosphatpufferlösungen von verschiedenem pH eingelegt. Nach 24 und 48 Stunden werden die Stücke wiedergewogen, nachdem sie von oberflächlich anhaftendem Wasser befreit sind.

Die folgende Tabelle gibt Aufschluß über die Ergebnisse. Die verwendeten Phosphatpufferlösungen haben die gleiche Zusammensetzung wie die im vorhergehenden Protokoll.

Tabelle 3. Quellung zentraler hyperergisch-entzündeter Hautstellen. Gewichte und Prozente. (Gewichte in Milligramm, Gewichtsveränderungen in Prozenten des Anfangsgewichtes ausgedrückt.)

Zeit	Lösung					
	3,13 pH		4,57 pH		5,79 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Sofort	665		940		725	
Nach 24 Std. . . .	665	± 0	750	— 20,2	550	— 24,1
, , 48 „	680	+ 23,0	695	— 26,1	500	— 31,0

Zeit	Lösung					
	6,09 pH		7,0 pH		8,05 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Sofort	625		935		775	
Nach 24 Std. . . .	480	— 23,2	810	— 13,4	640	— 17,4
, , 48 „	445	— 28,8	820	— 12,3	610	— 21,3

Das Quellungsverhalten dieser hyperergisch-entzündeten Hautstücke, die ausschließlich die zentralen Partien des Reaktionsherdes mit den gequollenen Fasern darstellen, entspricht dem Quellungsverhalten der Stücke hyperergisch-entzündeter Haut, das schon in dem vorhergehenden Protokoll sich bei den identischen Untersuchungen ergeben hatte; irgendein Unterschied im Quellungsverhalten dieser Stücke und der hyperergisch-entzündeten Stücke der weiter noch ausgeführten Versuche stellte sich nicht heraus.

Das Problem, ob die Säuerung des Gewebes allein die typische Quellungskurve des hyperergisch-entzündeten Gewebes verursachen kann, wurde in folgender Weise angegangen.

Nach Tötung eines normergischen Tieres werden mit dem Locheisen 11 Stücke aus der Rückenhaut ausgestanzt und zunächst für 48 Stunden in eine Phosphatpufferlösung von $p_H = 6,1$ eingelegt. Nach 48stündiger Quellung werden diese Stücke dann auf elf Phosphatpufferlösungen von verschiedenem p_H verteilt. Die Zusammensetzung der Lösungen ist die gleiche wie in den früheren Protokollen.

Die Ergebnisse in Prozenten sind:

Tabelle 4.

(Die eingeklammerten Zahlen sind auf das Anfangsgewicht, d. h. auf das Gewicht der Stücke vor jeder Quellung bezogen, die nichteingeklammerten Zahlen berechnen sich aus den Gewichtsveränderungen gegenüber dem Gewicht, das das Stück nach der 48ständigen Quellung in der Lösung mit dem p_H -Wert von 6,1 aufweist.)

Zeit	Lösung			
	2,56 pH	3,13 pH	4,57 pH	5,45 pH
	Stück Nr. 1	Stück Nr. 2	Stück Nr. 3	Stück Nr. 4
Nach 24 Std.	102,2% (144,2)	72,1% (111,4)	3,8% (27,1)	21,7% (52,2)
„ 48 „	140,9% (190,9)	86,0% (128,6)	8,6% (32,9)	26,1% (57,6)

Zeit	Lösung			
	5,79 pH	6,09 pH	7,0 pH	7,4 pH
	Stück Nr. 5	Stück Nr. 6	Stück Nr. 7	Stück Nr. 8
Nach 24 Std.	6,7% (28,3)	9,2% (35,2)	19,0% (42,9)	11,6% (35,9)
„ 48 „	10,1% (32,3)	21,1% (47,7)	29,8% (55,7)	20,5% (46,7)

Zeit	Lösung		
	8,05 pH	9,85 pH	11,27 pH
	Stück Nr. 9	Stück Nr. 10	Stück Nr. 11
Nach 24 Std.	17,7% (40,8)	27,1% (52,5)	40,2% (70,0)
„ 48 „	28,2% (53,5)	41,7% (70,0)	44,3% (75,0)

Die normalen Hautstücke, die nach 48 Stunden langer geringer Ansäuerung in der Lösung mit dem p_H von 6,1 in die Phosphatpufferlösungen mit verschiedenem p_H gelegt werden, zeigen bei Berücksichtigung der Anfangsgewichte das Verhalten unveränderter normaler Haut.

Zusammenfassung der Ergebnisse der ersten Versuchsserie. Als Ursache der Verquellung der kollagenen Fasern wurde zunächst der Wasserstoffionenveränderung als allgemein wichtigste und mögliche Ursache Beachtung geschenkt. Vergleichende Messungen mit der Chinhypnolektrode an normalem, hyperergisch-entzündetem und bakteriell-entzündetem Hautgewebe ergaben eindeutig, daß eine hochgradige Azidose ebenso wenig wie eine starke alkalische Verschiebung der Reaktion des Gewebes bei der hyperergischen Entzündung vorliegt. Auch bei Berücksichtigung der quantitativ nicht absolut genauen Meßmethodik mit der Chinhypnolektrode hätte doch eine Gewebsazidose, die für eine so intensive Verquellung in Frage käme, auch mit der Chinhypnolektrode

einen eindeutigen Wert ergeben müssen. Nach den Untersuchungen von Schade und Menschel liegt das Quellungsminimum der kollagenen Fasern etwa bei $p_H = 6,4$. Die gemessenen Werte gestatten es aber nicht anzunehmen, daß eine Azidose wesentlich höher als $p_H = 6,4$, denn nur eine solche könnte die intensive Quellung ursächlich erklären, bei der hyperergischen Entzündung im Gewebe vorliegt. Weiterhin beweist der

Quellungsversuch, der mit normaler Haut angestellt wurde, die 48 Stunden lang in Phosphatpufferlösung von $p_H = 6,1$ gelegen hatte und dann in die Phosphatpufferlösungen mit verschiedenem p_H eingelegt wurde, daß im Endeffekt die normale Quellungskurve durch eine vorherige Säuerung des Gewebes nicht gestört wird, denn ein absoluter Gewichtsverlust ergibt sich bei diesem Versuch nicht.

Injektionen von fremdartigen Eiweißstoffen ins Gewebe müssen, wenigstens solange das fremdartige Eiweiß im Gewebe liegen bleibt, an sich schon eine Veränderung der kolloidalen Gleichgewichtsverhältnisse verursachen. Die Präcipitinprobe aus dem Gewebssaft gibt weiterhin an, daß die im Gewebe vorhandenen Kolloide, zumindest in qualitativer Hinsicht verändert wird, denn die Antikörper sind ja wenn nicht selbst veränderte Eiweißkörper, so doch an Kolloide gebunden. So kommt es auch bei intravenöser Injektion von fremdartigem Serum zu mehr oder weniger starken Schwankungen des Serumrefraktometerwertes (Fränkel). Deshalb wurden nun vergleichende Versuche angestellt, die durch Quellungsreihen Aussage über die Gewebskolloide machen sollten. Bei diesen zeigte sich, daß die Quellungskurven,

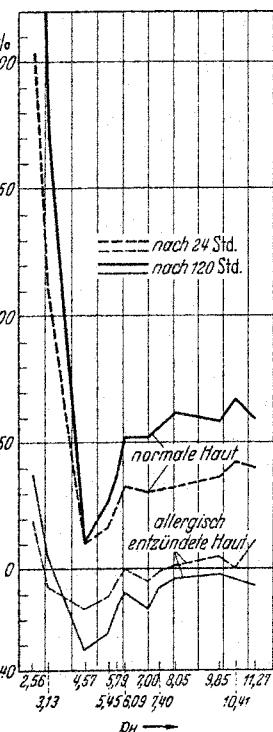


Abb. 1. (Kurve.)

die ich bei Quellung des hyperergisch-entzündeten Gewebes erhielt, wesentlich, und zwar nur in quantitativer Hinsicht, von den Quellungskurven des normalen Gewebes abwichen. Bei der normalen Haut ist bei Nichtberücksichtigung der „physiologischen Quellungseinstellung“ (Schade) in allen Pufferlösungen eine Gewichtszunahme, d. h. eine Quellung zu verzeichnen. Das Quellungsminimum liegt in der Lösung mit dem $p_H = 4,57$. Dabei nimmt das Gewicht von Wägung zu Wägung (Abstand 24 Stunden) immer mehr zu. Demgegenüber ist bei dem Gewebe, das sich im Zustand der hyperergischen Entzündung befindet, in den Lösungen zwischen $p_H = 3,13$ und $p_H = 10,4$ eine absolute Gewichtsabnahme, d. h. Entquellung, zu

verzeichnen. Die extrem sauren und alkalischen Lösungen zeigen eine geringe Gewichtszunahme. Das Entquellungsmaximum liegt in der Lösung mit dem $p_H = 4,57$. Der Vergleich der Quellungskurve des normalen und hyperergisch-entzündeten Hautgewebes ergibt, daß beide Kurven ihrem Verlaufe nach parallel sind. Daraus ist also nur auf eine quantitative Veränderung zwischen der normalen und entzündeten Haut zu schließen. Das Hautgewebe mit der bakteriellen Entzündung, die sich mikroskopisch vor allem durch das leukocytenreiche Ödem auszeichnet, ergab eine der hyperergisch-entzündeten Haut ähnliche Quellungskurve. Dieser überraschende Befund veranlaßte mich, in einem Versuch so vorzugehen, daß nur das zentrale Gebiet der hyperergischen Entzündung mit der intensiven Verquellung der kollagenen Fasern zu den Quellungsversuchen benutzt wurde, denn es mußte unbedingt der Quellungseinfluß des Ödems, das bei der bakteriellen Entzündung vorherrscht und in der Peripherie der hyperergisch-entzündeten Herde vorkommt, und das ja bei der bakteriellen Entzündung höchstwahrscheinlich das Quellungsverhalten bestimmt, ausgeschaltet werden. Das Quellungsverhalten dieser isoliert zentralen Gebiete der hyperergischen Entzündung war das gleiche, wie vorher festgestellt war. Die beigegebene Kurve gibt den Quellungsverlauf bildlich wieder.

Es liegt also bei der hyperergischen Entzündung eine Dyskolloidität des Gewebes durch Auftreten von Produkten mit stark vermehrtem Wasserbindungsvermögen vor. Der geringen begleitenden Gewebsazidose kommt keine ursächliche Bedeutung zu.

2. Untersuchungen über die Wirkung von Seruminjektionen in excidierte Hautstückchen auf die Verquellung kollagener Fasern.

Eine Veränderung des koloidalen Gleichgewichtes im Gewebe muß vorhanden sein, solange injiziertes fremdartiges Serum im Gewebe liegen bleibt. Daher muß zunächst ganz allgemein die Seruminjektion ins Gewebe in ihrer Wirkung auf die Beeinflussung der Quellungskurve und besonders aber in ihrer Wirkung auf die kollagenen Fasern untersucht werden.

In dieser Versuchsserie werden ausschließlich mit dem Locheisen herausgestanzte frische Hautstückchen getöteter Kaninchen verwendet. Solche Hautstückchen normergischer und gegen Normalhammelserum sensibilisierter Kaninchen erhalten eine ganz bestimmte stets gleiche Menge (0,1 ccm) Normalhammelserum oder Normalpferdeserum injiziert. Dann wird das Quellungsverhalten dieser Stücke mit der fremdartigen Seruminjektion bestimmt, teils sogleich nach der Injektion, teils nachdem die Stücke erst 24 Stunden im Eigenserum des Kaninchens gelegen haben.

Als Hauptuntersuchungen dieser Versuchsreihe haben die zu gelten, die sich mit der mikroskopischen Untersuchung von verschiedenen Hautstückchen, denen Pferdeserum oder das Antigen, das ist Normalhammel-

serum, injiziert wurde, beschäftigen. So wurde zunächst einem normergischen Kaninchen etwa eine halbe Stunde vor dem Tode 3 ccm Hammelserum in die linksseitige Bauchhaut injiziert. Bei der Tötung des Tieres war das injizierte Serum noch nicht völlig resorbiert. Das Hautstück um dieses Injektionsgebiet herum wurde excidiert, in Formalin eingelegt und mikroskopisch untersucht.

Die Wirkung von Eiweißinspritzungen in die Haut ist von mehreren Autoren histologisch untersucht worden. *E. F. Müller* und ebenso *Gerlach* excidierten die Injektionsstellen bei normergischen Kaninchen zur histologischen Untersuchung erst 4—24 Stunden nach der Injektion und stellten celluläre Reaktionsvorgänge fest; *Hartwich* vermißte auch diese. Alle diese Untersucher erwähnen eine Veränderung an den kollagenen Fasern *nicht*.

Die weiteren mikroskopischen Untersuchungen hatten folgende Versuchsanordnung zur Grundlage. Durch wiederholte subcutane Injektionen hochsensibilisierte Kaninchen wurden getötet. Ein Hautlappen aus der Bauchhaut — das Stück bestand aus Epidermis, Corium, Subcutis, Hautmuskulatur und tiefer Fascie — wurde herausgeschnitten und aus diesem dann mit dem Locheisen vom Durchmesser 16 mm gleich große Stücke herausgestanzt. In diese excidierten Stückchen wurde je 0,1 ccm des Antigens, d. h. Normalhammelserum sub- bzw. intracutan injiziert. Diese Stückchen wurden sodann bei den verschiedenen Versuchen auf 24 bzw. 48 Stunden in Ringerlösung oder in das Eigenserum des getöteten Kaninchens oder aber in eine Phosphatpufferlösung vom $\text{pH} = 6,3$ gelegt. Nach dieser Zeit wurden die Stücke dann in Formalin fixiert.

Die Kontrollen zu diesen Versuchen waren auf zwei Punkte abgestimmt; zunächst Klärung der Spezifität der Faserverquellung. Zu diesem Zwecke wurde kleinen herausgestanzten Hautstückchen eines mit Normalhammelserum sensibilisierten Kaninchens Pferdeserum injiziert, in gleicher Anordnung wie oben angegeben. Diese Stücke wurden dann auch 24 Stunden in Ringerlösung oder im Eigenserum des mit Normalhammelserum sensibilisierten Kaninchens belassen. Dann wurden sie auch in Formalin fixiert.

Als weiteren Kontrollen wurden excidierten Hautstückchen normergischer Kaninchen 0,1 ccm Normalhammel- oder Pferdeserum injiziert. Sie wurden anschließend weiter behandelt wie die Hautstückchen sensibilisierter Kaninchen.

Alle Stücke der Versuchsreihe, die sich auf die mikroskopische Untersuchung bezog, wurden nach 24stündiger Formalinfixierung mit dem Gefriermikrotom geschnitten und dann entweder mit Hämatoxylin-Eosin oder mit der *van Gieson*-Färbung gefärbt.

Dazu mußte zunächst geklärt werden, ob dieses Schneideverfahren eine Einwirkung auf den Quellungszustand der kollagenen Fasern hat.

Zum Vergleich standen mir Schnitte normaler Haut, die der Paraffineinbettung unterzogen worden waren, und Schnitte normaler Haut, die unter bestimmten Vorsichtsmaßregeln mit dem Gefrierverfahren gewonnen waren, zur Verfügung. Die dabei angewendeten Vorsichtsmaßnahmen waren die, daß die Gefrierschnitte sofort, nachdem sie sich auf dem Wasser ausgebreitet hatten, auf Objekträger aufgezogen wurden. So war die Berührung der Schnitte mit dem Wasser eine äußerst beschränkte. Bei der Hämatoxylin-Eosinfärbung waren die kollagenen Fasern der Gefrierschnitte von gleicher, ja in einigen Präparaten sogar von geringerer Breite als die kollagenen Fasern der Paraffinschnitte. Schmorl betont auch den Wert der Gefrierschnitte, nach Formalinfixierung, für die Erforschung der Quellungszustände gegenüber den Paraffinschnitten; er erklärt, daß „die letzteren sich nicht selten geradezu wie eine Karikatur der ersteren“ in Bezug auf die Quellungsvorgänge ausnehmen.

Zum Schluß seien noch Versuche mit Zupfpräparaten der Haut erwähnt. Haut sensibilisierter und normergischer Kaninchen wurde mit Nadeln fein zerzupft und dann in Pferde- bzw. Hammelserum bzw. als Kontrollen in Ringerlösung oder Phosphatpufferlösung von $pH = 6,3$ auf 24 oder 48 Stunden eingelegt und dann ohne Färbung mikroskopisch untersucht.

Bei allen Tieren dieser Versuchsreihe wurde der Präcipitintiter im Blut und im Gewebssaft gegen Normalhammelserum bestimmt.

Erwähnen möchte ich noch eine Versuchsreihe, die wegen der Schwierigkeit genauer Beurteilung keinen Anspruch auf absolute Eindeutigkeit erheben kann. Ausgehend von der Anschauung, daß für das Zustandekommen allergischer Phänomene in der Hauptsache Antikörper, die im Gewebe haften, wesentlich sind, wurde versucht nachzuweisen, ob die Haut des normergischen Tieres eine Affinität zu den Antikörpern, z. B. dem Präcipitin gegen Normalhammelserum, das ja in Serum eines gegen dieses Antigen sensibilisierten Kaninchens vorhanden ist, hat. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß feinzerteilte Haut normergischer Tiere etwa 12—15 Stunden mit dem Serum allergischer Tiere geschüttelt wurde. Der Präcipitintiter dieser Sera war vorher genau bestimmt. Er wurde nach dem Schütteln in der über dem Gewebsbrei stehenden Flüssigkeit wieder bestimmt. Es lag bei beiden Versuchen eine Verminderung des Präcipitintiters in der überstehenden Flüssigkeit gegenüber dem Serum vor, somit ein Verlust an Antikörpern, der durch eine Adsorption an das Hautgewebe erklärt werden kann.

Eine Adsorbierbarkeit von Toxinen und anderen Immunkörpern durch das Bindegewebe ist von anderer Seite experimentell her gelungen, so der Nachweis Rehns, daß Diphtherietoxine im Bindegewebe fixiert sind. Nicht nur diese „adsorptive Immunisierung“ (*Schade*) seitens des Bindegewebes, sondern auch eine aktive Immunisierung, nämlich die

Bildung von Antikörpern im Bindegewebe ist nachgewiesen worden (*Paul Ehrlich*). Wenn sich diese Versuche auch vornehmlich mit den Immunkörpern bakterieller Herkunft beschäftigen, so ist doch ein analoges Verhalten seitens der anderen Immunkörper nicht abzuweisen. Dieser Gedanke liegt um so näher, weil ja gerade die hyperergische Entzündung als Ausdruck der lokalen anaphylaktischen Reaktion ihre besondere Auswirkung im Bindegewebe findet.

Ein steriles Vorgehen war bei meinen diesbezüglichen Versuchen nicht möglich, so daß den Fäulnisregern die Wirkungsmöglichkeit in dem für sie günstigen Nährmedium — Gewebsbrei und Serum — gegeben war. Leider konnten diese Versuche nicht weiter durchgeführt werden; wie schon oben betont, erheben sie keinen Anspruch auf absolute Eindeutigkeit.

Es stehen also in dieser Versuchsreihe 4 Versuchsgruppen zur Untersuchung:

1. Das Quellungsverhalten von Hautstückchen normergischer und sensibilisierter Tiere nach Injektion von Serum.
2. Die Einwirkung von Seruminjektionen auf die Haut ganz allgemein.
3. Die mikroskopische Untersuchung von Hautstücken normergischer bzw. sensibilisierter Tiere, in die 0,1 ccm Serum gegeben wurde.
4. Der Einfluß von Serum auf Zupfpräparate.

In Kürze seien Protokolle und Ergebnisse angeführt.

Zu 1. Einem mit Hammelserum sensibilisierten Kaninchen werden nach der Tötung 6 etwa gleichgroße Stücke aus der Bauchhaut mit dem Locheisen herausgestanzt. Von diesen 6 excidierten Hautstückchen erhalten 3 eine Injektion von je 0,1 ccm Normalhammelserum, d. h. dem Antigen intracutan; die 3 anderen erhalten die gleiche Menge von Normalpferdeserum. Die Stücke werden dann in das Eigenserum des sensibilisierten Kaninchens für 24 Stunden eingelegt. Nach dieser Zeit wird jedes Stück gewogen und in Phosphatpufferlösungen eingelegt. Es werden drei Phosphatpufferlösungen mit verschiedenem pH verwendet. Die Stücke werden so verteilt, daß in jede Pufferlösung ein Stückchen Haut hineinkommt, dem Hammelserum injiziert ist, und ein Stückchen Haut, dem Pferde serum injiziert ist. Nach 24 und 48 Stunden werden die Gewichte dieser Stücke wieder festgestellt.

Tabelle 5. Stücke mit Normalhammelseruminjektion. Gewichte und Prozente. (Gewichte in Milligramm, Gewichtsveränderungen in Prozenten des Anfangsgewichtes ausgedrückt.)

Zeit	Lösung					
	3,13 pH		4,57 pH		7,0 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Nach 24stündiger Einwirkung des Eigenserums auf die Haut	385		315		305	
Nach 24stündiger Quellung	780	+ 102,6	285	— 9,5	305	0
Nach 48stündiger Quellung	1030	+ 141,5	280	— 11,1	310	+ 1,6

Tabelle 6. Stücke mit Pferdeserum.

Zeit	Lösung					
	3,13 pH		4,57 pH		7,0 pH	
	Gewicht	%	Gewicht	%	Gewicht	%
Nach 24stündiger Einwirkung des Eigenserums auf die Haut	470		490		390	
Nach 24stündiger Quellung	1120	+ 138,3	445	- 9,2	400	+ 2,6
Nach 48stündiger Quellung	1455	+ 209,6	450	- 8,2	410	+ 5,2

Der Verlauf und das Ergebnis dieser Quellungsversuche stellt zwei Tatsachen heraus: 1. daß ein Unterschied im Quellungsverhalten der sensibilisierten Haut bei Injektion des spezifischen Antigens und bei Injektion eines anderen nichtspezifischen fremdartigen Serums *nicht* besteht; 2. daß sowohl Hammelserum- als auch Pferdeseruminjektion völlig gleichartiges Quellungsverhalten der Haut hervorruft.

Ein Vergleich mit früheren, hier nicht erwähnten Versuchsergebnissen zeigt, daß das injizierte fremdartige Serum, gleich wie seine Beziehungen zur Spezifität der sensibilisierten Haut sind, die gleiche Quellungskurve wie eine hyperergisch-entzündete Haut bedingt, sofern nur dem injizierten Serum genügend Zeit zur Wirkungsmöglichkeit gegeben ist.

Zu dem gleichen Ergebnis kam ich bei Quellungsversuchen mit normergischer Haut, in die Serum injiziert war, und die nachträglich dann 24 Stunden in das Eigenserum des Kaninchens gelegt wurde.

Zu 2. Ein junges, kleines, normergisches weibliches Kaninchen erhält eine Injektion von 2 ccm Normalhammels serum subcutan in die linke Rückenhaut. Eine halbe Stunde nach der Injektion wird das Tier getötet und das Hautgebiet um die Injektionsstelle herum sofort excidiert und in Formalin fixiert. Das injizierte Serum ist noch nicht völlig resorbiert.

Die histologische Untersuchung des Injektionsgebietes ergibt:

Epidermis mit Haaren, Corium, Subcutis und Hautmuskulatur sind im Schnitt getroffen. Epithel und Muskulatur lassen keine irgendwie abweichende Beschaffenheit erkennen. Der auffälligste Befund liegt in den mittleren und tiefen Schichten des Coriums. Die kollagenen Fasern dieses Bezirkes sind gegen die normalen Fasern verbreitert und vergrößert. Ihre Breite ist gegenüber den excidierten Hautstückchen, in denen das injizierte Serum 24 bzw. 48 Stunden einwirken konnte, geringer. Die Fasern sind alle, besonders aber die der Subcutis, weit auseinandergedrängt. Zwischen den Fasern erkennt man das Serum als homogene Masse, die sich in den mit *van Gieson* gefärbten Präparaten leicht gelblich anfärbt. Eine zellige Reaktion ist noch nicht vorhanden.

Zu 3. Sensibilisierten und normergischen Tieren werden nach Tötung 10 Stückchen aus der Bauchhaut mit dem Locheisen herausgeschlagen. 4 von ihnen erhalten Normalhammels serum, d. h. das Antigen, 4 weitere Normalpferdeserum intracutan injiziert. 2 von denen mit Hammelserum und 2 von denen mit Pferdeserum behandelten Stücken werden 24 Stunden in das Eigenserum des allergischen Kaninchens eingelegt. Die restlichen 4 Stücke — 2 mit Hammelserum- und 2 mit Pferdeseruminjektion — kommen 24 Stunden lang in Ringerlösung. Ein weiteres Stück ohne Injektion wird als Kontrolle ebenfalls in Ringerlösung 24 Stunden

lang gelegt. Ein letztes Stück schließlich wird ohne weitere Behandlung sofort in Formalin fixiert. Die Stücke, die 24 Stunden im Eigenserum bzw. in Ringerlösung eingelagert sind, werden nach Ablauf dieser Zeit in Formalin fixiert.

Die anschließende mikroskopische Untersuchung dieser Stücke zeigt folgendes:

1. Haut des allergischen Kaninchens. Excidiertes Stück mit Normalhammelseruminjektion (Antigen), mit anschließendem Verbleib des Stückes für 24 Stunden im Eigenserum des allergischen Kaninchens. Es seien nur die kollagenen Fasern allein betrachtet. Diese erscheinen als stark verbreiterte homogene Bänder, an denen eine Längsstreifung nicht mehr zu erkennen ist. Die Fasern sind stellenweise auseinandergedrängt, stellenweise liegen sie zu breiten Massen verschmolzen zusammen. Dieses Bild ergibt sich bei der Betrachtung von Schnitten, die aus dem Zentrum der Injektionsquaddel stammen. Schnitte aus der Peripherie der Quaddel zeigen eine Annäherung an die Verhältnisse der normalen Haut. Die kollagenen Fasern des Coriums und der Subcutis sind wenig auseinandergedrängt. Die Gewebsstruktur entspricht mehr der normalen, so daß der geflechtartige Aufbau der kollagenen Fasernetze erkenntlich wird, somit steht in der Peripherie der Quaddel die Ordnung des Coriumgewebes im Gegensatz zu der ausgesprochenen Unordnung des Coriumgewebes im Zentrum der Quaddel. Die kollagenen Fasern selbst erscheinen nur mäßig gequollen, aber doch noch eindeutig verbreitert. Das Hautstück, das nach Injektion von 0,1 ccm Hammelserum 24 Stunden in Ringerlösung verblieb, zeigte gleiches Verhalten.

2. Haut des allergischen Kaninchens. Excidiertes Stück, das 0,1 ccm Normalpferdeserum injiziert erhielt und anschließend 24 Stunden im Eigenserum des allergischen Kaninchens verblieb.

Die kollagenen Fasern des Coriums und der Subcutis sind stark verbreitert, homogen erscheinend und ohne Längsstreifung. Das Bild dieser Hautstückchen gleicht völlig dem der Präparate, die mit dem spezifischen Antigen — Normalhammelserum behandelt sind. Das analoge Bild bietet auch das Hautstück dar, das 0,1 ccm Normalpferdeserum injiziert erhielt und 24 Stunden in Ringerlösung verblieb.

Kontrolle. 3. Haut des allergischen Kaninchens. Ohne Injektion, nur 24 Stunden in Ringerlösung.

Die kollagenen Fasern des Coriums und der Subcutis sind wenig gegen die Norm verbreitert. Die Längsstreifung ist noch erkennbar.

Zu 4. Aus dem Corium der Haut normergischer und sensibilisierter Kaninchen wurden Zupfpräparate gewonnen, die 48 Stunden in folgende Lösungen gelegt wurden:

1. Ringerlösung + Normalhammelserum 1 : 1.
2. Phosphatlösung ($p_{\text{H}} = 6.3$) + Normalhammelserum 1 : 1.
3. Ringerlösung.
4. Phosphatpufferlösung vom $p_{\text{H}} = 6.3$.

Hinsichtlich der Breite bzw. Verbreiterung der kollagenen Fasern läßt sich kein eindeutiges Ergebnis konstatieren.

Zusammenfassung der Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe. Die erste Versuchsreihe ergab eine Dyskolloidität des Gewebes bei der hyperergischen und auch bei der bakteriellen Entzündung. Die ersten Versuche der zweiten Versuchsserie versuchten die Dyskolloidität präziser zu erfassen. Die einfachen Seruminktionen ins normergische wie auch ins allergische Gewebe mit sofortigem Anschluß der Quellungsversuche durch Einlegen der Stücke in Phosphatpufferlösungen zeigten, daß das Vorhandensein des Serums im Gewebe allein die Quellungskurve des Gewebes nicht abzuändern vermag. Erst dann, wenn dem injizierten

Serum eine bestimmte Zeit lang die Einwirkung auf das Gewebe ermöglicht ist, ergibt sich das typische Quellungsverhalten, d. h. absolute Gewichtsabnahme der hyperergisch-entzündeten Gewebsstückchen in den Lösungen mit den mittleren p_H -Werten. Zu betonen ist dabei, daß diese Stückchen 24 Stunden lang in dem Eigenserum des Kaninchens, von dem auch die Hautstückchen stammen, gelegen haben. Daraus

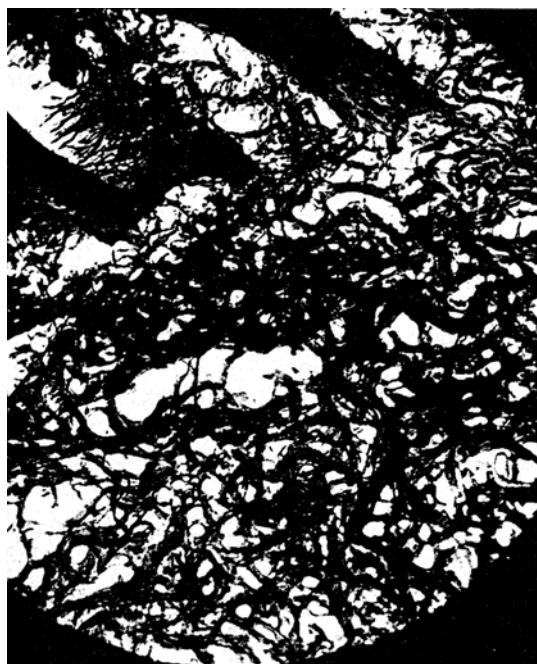


Abb. 2. Haut eines normergischen Kaninchens. Excidiertes Hautstück, dem Normalhammelserum injiziert wurde mit anschließendem Verbleib des Stücks im Eigenserum des normergischen Kaninchens. Partie aus den oberen und mittleren Schichten des Coriums des Injektionszentrums. Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

geht hervor, daß das injizierte Serum an sich nicht allein das typische Quellungsverhalten bestimmt, sondern daß weiterhin eine Einwirkungszeit des injizierten Serums nötig ist, um das typische Quellungskurvenbild zu veranlassen.

Die mikroskopischen Untersuchungen dieser Versuchsserie ergaben als Wesentlichstes, daß schon eine Injektion von Normalhammelserum ins normergische Hautgewebe genügt, sofern eben eine gewisse Zeit gegeben wird, um die kollagenen Fasern, die von diesem Serum umspült werden, zur Quellung zu bringen.

Dieser wichtige Befund, der sich am normergischen lebenden Tier ergab, erklärt folgernd alle anderen mikroskopischen Ergebnisse. Die Verquellung der kollagenen Fasern der sensibilisierten Kaninchen nach

der Injektion des spezifischen Antigens folgt daraus genau so zwangsläufig wie die Verquellung nach Injektion von Pferdeserum in die Haut des nicht gegen dieses Serum sensibilisierten Tieres und wie die Verquellung der kollagenen Fasern der normergischen excidierten Hautstücke nach Injektion von Normalhammel- oder Pferdeserum. Es sei grundsätzlich nicht darauf eingegangen, den Grad der Verquellung nach



Abb. 3. Schnitt aus der Peripherie der Injektionsquaddel. Obere und mittlere Coriumschichten. Links im Bild normalbreite kollagene Fasern; rechts oben mäßige Verquellung. Geringe Auseinanderdrängung der Fasern. Hämatoxylin-Eosin-Färbung.

der Breite der Fasern zu beurteilen, denn, abgesehen von den individuellen Schwankungen in der Breite der kollagenen Fasern eines jeden Tieres, zeigt ein Blick auf Abb. 3, daß, je mehr wir in die Peripherie der Serumquaddel gehen, die Breite der verquollenen kollagenen Fasern abnimmt, so daß innerhalb einer Quaddel alle Übergänge von den breiten verquollenen kollagenen Fasern des Zentrums bis zu den der normalen Breite gleichkommenden Fasern in der Quaddelperipherie bestehen.

Soviel darf vielleicht hinzugefügt werden, daß nämlich die Präparate, die nach der Seruminjektion in Phosphatpufferlösungen lagen, durchgehend geringere Breite der kollagenen Fasern aufweisen als die Präparate, die in Ringerlösung und die im Eigenserum gelegen hatten.

Abb. 2 und 3 mögen das Ergebnis erläutern und belegen.

Schlußbetrachtung.

Es sei zum Schluß noch eine Betrachtung über die Rolle, die die Faserverquellung des Hautbindegewebes beim Zustandekommen der Nekrose spielt, angeschlossen; des weiteren seien auch die Beziehungen von Ödem und Kreislaufstörungen zur Nekrose kurz gestreift. Die lokale hyperergische Entzündung verursacht eine Dyskolloidität im Gewebe als deren sichtbarer Ausdruck die Verquellung der kollagenen Faserbündel einerseits und das Ödem andererseits gelten kann. *Rössle* wie auch *Gerlach* betonen aufs schärfste den Unterschied, der zwischen diesen beiden Formen der Wasseraufnahme für den Ausgang des Prozesses und für das Schicksal der befallenen Hautpartie beim Arthusschen Phänomen besteht. Denn dort, wo sich eine hochgradige Bindegewebsverquellung einstellt, folgt die Nekrose des Gewebes, während in dem Gebiet und bei den Prozessen, die nur von Ödem begleitet sind, keine Nekrose der Haut auftritt.

Es erhebt sich im Anschluß an diese experimentell gewonnene Feststellung die Frage, wie kommt es zunächst einmal zur Ödementstehung und wie zur Entstehung der Bindegewebsfaserverquellung, und wie sind die Beziehungen dieser beiden Gewebsveränderungen zur Nekrose.

In der Einleitung wurden schon die Arbeiten *Opies* über das Arthussche Phänomen erwähnt. Sie können eine Erklärung abgeben für die Ursache der Ödementstehung bei der hyperergischen Entzündung. Danach tritt Ödem dort auf, wo eine Präcipitatbildung quantitativ möglich ist. Schädigung der Capillarendothelien durch das Präcipitat und seine Anwesenheit im Gewebe lösen das Zustandekommen des Ödems aus. Im Zentrum der Injektionsstelle hingegen ist quantitativ eine Präcipitatbildung unmöglich — Ödem ist im klassischen Falle dort auch nicht nachweisbar —, weil das injizierte Antigen dort je nach dem Sensibilisierungsgrad mehr oder weniger lange Zeit im Überschuß liegen bleibt. Gerade aber dort, wo das Antigen im Überschuß deponiert wird, geht „ein Quellungsprozeß vor sich, der nicht nur mikroskopisch sichtbar ist, sondern zu makroskopisch sichtbarer Schwellung führt“ (*Gerlach*).

Die Ergebnisse meiner eigenen Versuche stellen nun allein das fremdartige, lokalangehäufte Serum — Pferde- oder auch Hammelserum — als Ursache für die Verquellung der kollagenen Fasern in den Vordergrund. Sowohl die Injektion von Normalhammelserum und Normalpferdeserum in die Haut eines normergischen Tieres, wie auch die Injektion der gleichen Sera in die Haut von Kaninchen, die gegen Hammelserum sensibilisiert sind, verursachte eine Verquellung der kollagenen Fasern. Dabei ist der Grad der Verquellung ebenso wie die Verquellung an sich abhängig von der vorhandenen Antigenkonzentration bzw. Antigenmenge, denn beim normergischen Tier, bei dem eine schnelle Resorption des injizierten Serums eintritt und damit also die Antigenkonzentration an der Injektionsstelle schnell abnimmt, ist $\frac{1}{2}$ Stunde

nach der Injektion nur noch eine mäßige, aber doch noch sehr deutliche Verquellung erkennbar. Diese Abhängigkeit der Stärke der Verquellung der kollagenen Fasern von der injizierten Antigenkonzentration konnte auch *Gerlach* mit seinen quantitativen Versuchen am sensibilisierten Tier feststellen. Versuche an den excidierten normergischen Hautstücken, die, wenn ihnen das fremdartige Hammel- oder Pferdeserum injiziert wurde, die gleiche Verquellung der kollagenen Fasern zeigten wie die excidierten sensibilisierten Hautstücke, demonstrieren weiterhin, daß die lokale Anhäufung von fremdartigem Serum, das ja in den excidierten Stücken wegen der Unmöglichkeit einer Resorption quantitativ unverändert wirksam bleiben kann, die Verquellung bedingt.

Über den feineren Quellungsmechanismus kann, solange die näheren chemischen Prozesse und Vorgänge, die nach einer Injektion von fremdartigem Serum im Gewebe ablaufen, nicht völlig geklärt sind, nichts gesagt werden. Ob die Quellung schon durch das fremdartige Serum hervorgerufen wird, oder ob sie mittelbar erst zustande kommt, nachdem das injizierte fremdartige Serum irgendwelche auch noch im excidierten, lebensfrischen Gewebe ablaufende Abbau- oder sonstige Veränderungen erlitten hat — so konnten z. B. *F. Edler* und *W. Gies*, *Grover Tracy* und *W. Gies* eine Quellungsursache und -beeinflussung durch Fermente nachweisen —, konnte keiner näheren Untersuchung aus den erwähnten Gründen unterzogen werden. Die Schwierigkeit, die weiterhin besonders einer solchen genauen Klärung entgegensteht, erhellt schon daraus, „daß bei der enormen Labilität der Proto- und Paraplasmaproteine eigentlich bei jeder Art der Beeinflussung, besonders bei stofflichen Änderungen des Milieus, chemische und adsorptionschemische Prozesse am Eiweiß die Quellung komplizieren“ (*Schade*).

Das endgültige Schicksal jedes injizierten fremdartigen Serums ist seine Resorption und weitere Verarbeitung. Rasche Resorption des injizierten Serums, damit rasche Konzentrationsabnahme läßt nur geringe Faserverquellung zu.

Umgekehrt bedingt verlangsame bzw. aufgehobene Resorption des Serums eine starke Verquellung. Versuche über die Schnelligkeit der Resorption von injiziertem Antigen bei sensibilisierten Tieren im Vergleich zu normergischen wurde einerseits von *Rössle*, andererseits von *Opie*, die sich beide zweier ganz verschiedener Untersuchungsmethoden bedienten, angestellt. Beide konnten gleicherweise feststellen, daß mit steigendem Sensibilisierungsgrad die Resorption des subcutan injizierten Antigens in ihrer Schnelligkeit rapide abnimmt. *Rössle* wies diese verlangsame Resorption bei sensibilisierten Tieren histologisch nach, indem er als Antigen das histologisch leicht erkennbare Hühnerblut verwendete. *Opie* hingegen stellte die verlangsame Resorption dadurch fest, daß er das Erscheinen des subcutan injizierten Antigens (Pferdeserum) im Blute

bei normergischen und sensibilisierten Tieren verfolgte. Dabei fand er, „with the progress of immunisation injected antigen exhibits a decreasing tendency to find its way into the circulating blood“ (*Opie*).

Die verlangsamte Resorption rückt somit also als ein wesentlicher Geschehensfaktor in den Kreis der Erscheinungen. Resorption kommt über den Blut- und Lymphweg zustande. Veränderte Resorption wird auch vor allem in einem veränderten Kreislaufgeschehen ursächlich zu suchen sein. *Opie* nimmt bei der äußersten Ausbildung der bei den lokalen anaphylaktischen Reaktionen auftretenden Kreislaufstörung an, daß eine Verstopfung der Gefäße durch Präcipitatbildung mit anschließender Fibrinabscheidung zustande kommt. *Coca* hingegen sieht in einer spastischen Kontraktion der Gefäßmuskulatur, vergleichlich dem Bronchialmuskelkrampf im anaphylaktischen Shock, denn die glatte Muskulatur stellt ja bei den Kaninchen das Shockgewebe dar, die Ursache der lokalen Kreislaufstörung. *Froehlich*, der am Froschmesenterium sofortige Stase mit Dilatation der Gefäße in der Nähe der Applikationsstelle des Antigens feststellte, glaubt als Ursache für die Kreislaufstörung, die zur vollkommenen Isolierung des anaphylaktischen Reaktionsherdes führt, Nervenschädigung annehmen zu dürfen. *Gerlach* kommt ganz allgemein zu dem Schluß, „daß der lokale Shock in Erregungen und Lähmungen der reizbaren Teile des Gefäßsystems besteht“. Wie dem auch sei, eine tiefgreifende Kreislaufstörung in Form ausgedehnter Stase ist für die lokale hyperergische Entzündung charakteristisch.

Anfangs hatte ich schon erwähnt, daß eine Hautnekrose nur dort auftritt, wo eine Verquellung der kollagenen Bindegewebsfasern vorher festzustellen war, während in den ödematischen Gebieten die Haut dem Untergang nicht verfällt. Mikroskopisch lassen sich in dem Gebiet starker Verquellung Gefäße nicht ohne weiteres erkennen; schlanke Endothelkerne, die zu einer schmalen Reihe zusammenliegen, deuten auf Capillaren und kleinere Venen hin; in seltenen Fällen sind sie dann noch von einem spärlichen Kranz von Leukocyten umgeben. Die kleinen Gefäße sind also alle durch die verquollenen Bindegewebsfasern mechanisch zusammengedrückt. Somit arbeiten, funktionell betrachtet, die Verquellung und die lokale Kreislaufstörung im gleichen Sinne; sie verhindern weitgehend die Resorption des Antigens. In der Peripherie, wo Ödem vorherrscht, und bei den Prozessen, bei denen nur Ödem als schwächere Reaktion der hyperergischen Entzündung auftritt, fällt der Vorgang der mechanischen Kompression der Gefäße fort. Die kleinen Venen und Capillaren sind nur peri- bzw. prästatisch erweitert. Das Wiederingkommen der Zirkulation stößt somit in diesen Bezirken nicht auf so große Schwierigkeiten wie im Zentrum des Injektionsgebietes, wo es zur Nekrose kommt. Diese Wechselbeziehungen zwischen verquollenen Fasern und Kreislaufgeschehen bedingen zuletzt die Nekrose.

Den Kreislauffaktor demonstriert wieder am besten ein Vergleich zwischen den Vorgängen, die beim normergischen und sensibilisierten Tier nach einer subcutanen Injektion von fremdartigem Serum eintreten; dort eine anfangs mäßige Faserverquellung durch das Serum, aber wegen des Ausbleibens einer stärkeren Kreislaufstörung kann eine schnelle und vollständige Resorption des injizierten Serums und damit keine stärkere Faserverquellung eintreten; somit kann auch weiterhin keine innigere und weitere Wechselwirkung zwischen gequollenen Fasern und Gefäßen und weiterhin keine Nekrose zustande kommen. Bei sensibilisierten Tieren hingegen ist wegen der Kreislaufstörung mit verlangsamter Serum-, d. h. Antigenresorption, eine sehr ausgeprägte und langdauernde Verquellung mit ihren nachträglichen weiteren Auswirkungen und schließlich Nekrose des Gewebes die Folge. Das spezifische und für das sensibilisierte Tier charakteristische ist im Grunde genommen also nur die Störung des Kreislaufes, damit die verlangsamte Resorption des Antigens, während die Faserverquellung absolut unspezifisch bei der Einwirkung von fremdartigem Serum auf die kollagenen Fasern jeder Haut, ob spezifisch sensibilisiert oder normergisch, zustande kommt. Aus dem Zusammenwirken der Vorgänge am Bindegewebe und an den Blutgefäßen lassen sich die Erscheinungen der Bindegewebefaserverquellung und der Nekrose des Gewebes bei der hyperergischen Entzündung klären.

Die kollagenen Fasern eines normergischen Tieres ebenso wie die eines sensibilisierten Tieres beantworten die Injektion von fremdartigem Serum mit einer Verquellung. Gerade diese Verquellung nach Injektion von fremdartigem und natürlich eiweißhaltigem Serum deutet in eine Richtung, die durch andere Versuchsergebnisse schon gewiesen ist, nämlich die Bedeutung des Bindegewebes ganz allgemein und der kollagenen Bindegewebefasern im besonderen für den Eiweißstoffwechsel. Untersuchungen von *v. Slyke* und *G. M. Meyer* und weitere Untersuchungen über die Anreicherung von spezifisch färbbaren Eiweißstoffen von Carcinomen und Granulomen an kollagene Bindegewebefasern haben den kollagenen Fasern eine Depotfunktion im Eiweißstoffwechsel zugewiesen. So könnte auch in analogiam die quellende Wirkung des injizierten fremdartigen Serums als ein Ausdruck der Beteiligung der Bindegewebefasern am Eiweißstoffwechsel angesehen werden. Dabei spielen natürlich die kollagenen Fasern im normergischen Tier die gleiche Rolle wie die kollagenen Fasern des sensibilisierten Tieres. In dieser Hinsicht bestätigt sich für die Verquellung der kollagenen Fasern, aber nur allein für diese Erscheinung im Bilde des Arthusschen Phänomens, die Behauptung *Opies*, daß das Gewebe im Sensibilisierungsprozeß keinerlei Veränderung durchmacht.

Somit erscheint die Verquellung der kollagenen Fasern bei der hyperergischen Entzündung im Rahmen dieser lokalen Reaktion nur

„als ein Teilgebiet derjenigen Vorgänge, die sich im Körper bei der parenteralen Einverleibung von artfremdem Eiweiß abspielen“ (*Fränkel*). Damit erweist sich also das Bindegewebe beim *Arthusschen* Phänomen nicht nur als das „Stützgewebe“ des Körpers.

Zusammenfassung.

1. Die morphologischen Bilder des *Arthusschen* Phänomens, wie sie von *Arthus* und *Breton*, *Gerlach* und *Opie* beschrieben sind, konnten bestätigt werden. Besondere Beachtung wurde dem Verhalten der kollagenen Fasern bei der hyperergischen Entzündung entgegengebracht.
2. Eine die Quellung verursachende Azidose ließ sich durch Messungen mit der Chinhyclonelektrode nicht nachweisen.
3. Vergleichende Quellungsversuche mit normaler, hyperergisch-entzündeter und bakteriell-entzündeter Haut ergaben eine Dyskolloidität im Gewebe, sowohl bei der hyperergisch-entzündeten als auch bei der bakteriell-entzündeten Haut. Der morphologischen Ungleichheit der beiden Entzündungsformen stand ein völlig gleiches Quellungsverhalten gegenüber. Die Quellungskurven der normalen und der entzündeten Haut verliefen im großen und ganzen annähernd einander parallel, unterschieden sich aber durch ihre quantitativ veränderte Quellungseinstellung.
4. Die Anwesenheit von injiziertem fremdartigem Serum sowohl in normergischer als auch sensibilisierter Haut bedingte nicht das typische Quellungsverhalten der hyperergisch-entzündeten Haut. Neben der Anwesenheit und der Wirksamkeit des fremdartigen Serums spielte der Zeitfaktor eine Rolle insofern, daß nur dann das injizierte fremdartige Serum das charakteristische Quellungsverhalten der hyperergisch-entzündeten Haut hervorrufen konnte, wenn dem Serum genügend lange Zeit zur Einwirkung auf die Gewebeelemente gegeben wurde, damit eine Quellung der kollagenen Fasern erheblicheren Grades, die nur so die Quellungskurve wesentlich beeinflussen kann, stattfinden konnte.
5. Einen Unterschied zwischen hyperergisch- und bakteriell-entzündeter Haut ergab die Präcipitation des Hautgewebssaftes sensibilisierter Tiere mit dem spezifischen Antigen.
6. Die Injektion von Normalhammelserum ins Hautgewebe eines normergischen lebenden Tieres verursachte eine Verquellung der kollagenen Fasern, die dann histologisch zu erfassen war, wenn man zu einer Zeit die mikroskopische Untersuchung vornahm, zu der das injizierte Hammelserum noch nicht völlig resorbiert war.
7. Normalhammelserum- und Normalpferdeseruminjektionen in excidierte Stückchen der Bauchhaut riefen sowohl im normergischen als auch im gegen Hammelserum sensibilisierten Gewebe intensive Quellung der kollagenen Fasern hervor, sofern eben nur der oben erwähnte Zeitfaktor beachtet wurde. Dabei war es im Prinzip für die Verquellung der Fasern gleichgültig, ob die Hautstückchen nach der Injektion

24 Stunden in Ringerlösung oder im Eigenserum des Kaninchens gelegen hatten.

8. Die Verquellung der kollagenen Fasern war nicht von dem spezifischen Vorgang einer Antigen-Antikörperreaktion abhängig. Demnach ist der Vorgang als auch in diesem Falle die Erscheinung der Verquellung der kollagenen Fasern kein spezifischer.

9. An zerzupftem Coriumgewebe der Haut ließ sich weder bei den Zupfpräparaten von normergischer Haut noch bei denen von sensibilisierter Haut, nachdem diese Zupfpräparate längere Zeit in Hammelserum bzw. in mit Ringerlösung verdünntem Hammelserum gelegen hatten, irgendeine wesentliche mikroskopisch sichtbare Veränderung nachweisen.

Literaturangaben.

- Arthus, M.:* C. r. Soc. Biol. Paris 55, 817 (1903). — *Arthus, M. et M. Breton:* C. r. Soc. Biol. Paris 55, 1478 (1903). — *Coca, A. F.:* J. of Immun. 4, 219 (1919). — *Doerr, R.:* Allergie und Anaphylaxie. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von *Kolle-Kraus-Uhlenhuth*, 3. Aufl., Bd. I. 1929. — Allergische Phänomene. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Bd. 13. 1929. — *Edler, F. u. W. Gies:* Zit. nach *Schade*. — *Ehrlich, P.:* Zit. nach *Schade*. — *Fränkel, E.:* Krkh.forsch. 2 (1926). — *Froehlich, A.:* Inaug.-Diss. Jena 1914. — *Gerlach, W.:* Virchows Arch. 247 (1923). — Verh. dtsch. path. Ges. 20. Tagg 1925. — *Grover Tracy and W. Gies:* Biochem. Bull. 1, No 3 (1913). — *Hartwich, A.:* Arch. path. Anat. 240, H. 1/2 (1922). — *Michaelis, L.:* Die Wasserstoffionenkonzentration. Berlin 1914. — *Müller, E. F.:* Arch. f. Dermat. 131 (1921). — *Nicolle, M.:* Zit. nach *Gerlach*. — *Opie, Eug. L.:* J. of Immun. 8, 19, 55 (1923); 9, 231, 247, 255, 259 (1924). — *Otto, R.:* Münch. med. Wschr. 1907 II, 1665. — Z. Hyp. 95, 378 (1922). — *Pirquet, C. v. u. B. Schick:* Zit. nach *Gerlach*. — *Rehn:* Zit. nach *Schade*. — *Reimers, K.:* Z. exper. Med. 67, H. 3 u. 4 (1929). — *Rössle, R.:* Verh. dtsch. path. Ges. 17. Tagg 1914. — Wien. klin. Wschr. 1932 I. — Klin. Wschr. 1933 I. — *Schade, H.:* Z. exper. Path. u. Ther. 14 (1913). — Die physikalische Chemie in der inneren Medizin, 3. Aufl. 1923. — Erg. inn. Med. 32 (1927). — Die Molekularpathologie der Entzündung, 1935. — *Schade, H. u. H. Menschel:* Kolloid-Z. 31, H. 4 (1922) — Z. klin. Med. 96, H. 4/6 (1923).
-