

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Experimentelle Untersuchungen zur pathogenen Bedeutung von spezifischen Iso- und Auto-Antikörpern nach Verbrennung*

Von

O. HAFERKAMP, H. SCHÄFER, M. HENRIQUEZ, G. FINGER, F. MARTINEZ und M. YOSHIDA
unter technischer Mitarbeit von **H. WEGNER**

Mit 5 Textabbildungen

(Eingegangen am 28. April 1963)

Der durch eine Verbrennung ausgelöste Schock erscheint im allgemeinen durchaus geeignet, Verbrennungsschäden zu erklären (ALLGÖWER und SIEGRIST); er reicht allein jedoch nicht aus, später nach Verbrennung auftretende Organveränderungen, d. h. also die eigentliche Verbrennungskrankheit und mit ihr zusammenhängende Todesfälle pathogenetisch verständlich zu machen. Es ist deshalb schon früh angenommen worden, daß immunologische Vorgänge zumindest einen pathogenetischen Teilstoff für die Verbrennungskrankheit darstellen könnten.

Schon 1913 deuteten HEYDE und VOGL auf gewisse Analogien zwischen Anaphylaxie und Verbrennungsschäden hin; die Wiederholung experimenteller Verbrennungen würde bei dem gleichen Tier zu einer verstärkten örtlichen und allgemeinen Reaktion führen, so als ob ein — in die Blutbahn gelangtes — Toxin (= Antigen) mit einem nach einer ersten Verbrennung gebildeten Antitoxin (= Antikörper) unter dem Bilde eines anaphylaktischen Schockes reagieren würde. Für die Annahme einer immunologischen Reaktion schien auch zu sprechen, daß nach einer solchen Verbrennung Komplementschwund im Blute sich nachweisen ließ (PEYRER 1923, KUŠKO 1961, ZAEC 1962). Als Träger der Antigenität sah man Eiweißspaltprodukte nach der pharmakologischen Art des Peptons (WILMS 1901, PEIFFER 1925) an, die den Körper nach einer Verbrennung überschwemmen sollten. Auf ihre Bedeutung — im Sinne einer Autoantikationsmöglichkeit — hat GODFRAIND kürzlich (1959) dann auch wieder hingewiesen (s. a. GREUER, REHN, KOSLOWSKI); jedoch gibt es bis heute keine begründeten Angaben über die eigentliche Natur dieses Antigens (Toxins); so leiteten sogar kürzlich JEANJEAN und SIMONART (1962) dieses Toxin nicht etwa von hitzedenaturiertem Eiweiß aus der verbrannten Körperpartie, sondern von bakteriellen Infektionen der Verbrennungswunde ab; SIMONART (1962) nimmt weiter sogar die Existenz zweier toxischer Faktoren nach Verbrennung an, nämlich einen, der für den Schock, und einen zweiten, der für die Verbrennungskachexie verantwortlich wäre. Dabei konnte er zumindest gegen den Schockfaktor keine „Immunisierung“ beobachten.

1934 stellte SCHÜTZ fest, daß Kaninchen nach vereinzelten, Tage hintereinanderfolgenden leichten Verbrennungen „Hypersensibilität“ zeigen, um nach häufigen, über einen Monat regelmäßig alle 5 Tage vorgenommenen Verbrennungen eine verringerte Empfindlichkeit gegen erneute Verbrennungen aufzuweisen. FEODOROV deckte 1956 vom 14. Tage nach Verbrennung im Blute Verbrannter Antitoxine (= Antikörper) gegen Toxine aus verbrannter Haut auf. Auch PAVKOVA und DOLEZALOVA beschrieben 1960 bei Patienten mit Verbrennungen mittels Kolloidum-Partikel-Agglutination Antikörper sogar gegen nicht verbrannte Haut dieser Patienten; diese Antikörper beobachteten sie vom 4.—8. Tage ab, die höchsten Titer jedoch erst am 15. Tage nach Verbrennung; nach vorübergehender Senkung stieg in der

* Herrn Prof. Dr. P. GRABAR danken wir ergebenst für seine wertvollen Ratschläge, die er uns zur Abfassung vorliegender Arbeit zuteil werden ließ.

Rekonvaleszenz eigenartigerweise der Antikörpertiter wieder in einem beschränkten Maße an. Schließlich gelang es ROSENTHAL, WARD, LINDBOLM und SPURRIER (1961), selbst bei keimfrei gehaltenen Ratten nach Abheilen von Verbrennungswunden der Haut spezifische Präcipitine und Hämolsine nachzuweisen. RUDNICKAJA und SKURKOVIC glauben schließlich (1962) auf Grund elektrophoretischer Untersuchungen Verbrennungsantikörper bei Versuchstieren in die γ -, möglicherweise auch β -Globulinfraktion verlegen zu können [s. a. KOSLOWSKI (2)].

Aber auch negative immunologische Resultate sind bei der Verbrennungskrankheit bekanntgeworden. So konnten WERTHEMANN und ROESSIGER (1930) nach Injektion von Extracten aus verbrannten Körperteilen keine beweisenden Anhaltspunkte für eine nennenswerte spezifische Antikörperbildung nach Verbrennung im Tierexperiment gewinnen. Zu einem gleichen negativen Resultat kamen für das Tierexperiment BERNARD (1936) sowie teilweise auch KOSLOWSKI und URBASCHEK (1962). Die unterschiedlichen und teilweise negativen serologischen Ergebnisse bei der Suche nach Antikörpern im Anschluß an Verbrennungen sind nicht zu erklären; sie dürften z. T. noch am ehesten in den verschiedenartigen Versuchsanordnungen zu suchen sein.

Abgesehen von diesen mehr theoretischen immunologischen Untersuchungen hat es nicht an Versuchen gefehlt, durch das praktische Experiment mit Übertragung von Rekonvaleszentenserum von Verbrannten bei frisch Verbrannten einen therapeutischen Effekt zu erzielen aus der Vorstellung heraus, durch etwaige spezifische Antitoxine (Antikörper) in dem Rekonvaleszentenserum etwaige Verbrennungstoxine aus frischen Brandwunden zu neutralisieren.

Bei Tieren waren aktive Immunisierungen mit Extracten aus verbrannter Haut und passive Immunisierungen durch Seruminjektion von Tieren durchgeführt worden, die bereits eine Verbrennung durchgemacht hatten (HEYDEN und VOGL; SCHÜTZ; NAKAIGAWA; HABELMANN; MOURGUE-MOLINES; DUVAL). ROSENTHAL berichtete bereits 1937 über einen besonderen Neutralisationseffekt menschlicher und tierischer Seren nach abgeheilter Verbrennung, der die Wirkung von Verbrennungstoxinen und Histamin unter weitgehender Temperaturunabhängigkeit aufheben würde. In den Jahren 1955 bis 1961 baute ROSENTHAL — mit seinen Mitarbeitern — diese seine früheren Untersuchungen weiter aus, wobei er dem Blut von frisch Verbrannten ein Substrat zuschrieb, welches HeLa-Zellen im Wachstum hemmt, einen cytolytischen Effekt auf Erythrocyten von anderen verbrannten Patienten ausübt (s. dazu HEMPTINNE und GAUTHIER 1961) und durch eine Präcipitationsreaktion mit Rekonvaleszentenserum von einem Verbrannten sichtbar würde; Seren von Menschen und Tieren, die eine Verbrennung ausgeheilt hätten, verhinderten im übrigen den wachstumshemmenden Effekt von Serum frisch Verbrannter auf HeLa-Zellen. ROSENTHAL übertrug diese experimentellen Untersuchungsergebnisse auf die klinische Behandlung von akut Verbrannten; kurze Zeit nach Injektion eines Rekonvaleszentenserums von einem Menschen mit ausgeheilter Verbrennung konnte er bei frisch Verbrannten eine wesentliche Besserung des Beifindens feststellen. Über gleich günstige Resultate durch solche Serumübertragungen berichteten FEODOROV und SKURKOVIC (1955) und PUSKAR (1960). Dementgegen konnten KOSLOWSKI und URBASCHEK (1962) — allerdings im Tierexperiment — keine überzeugende Schutzwirkung von Rekonvaleszenten-Serum nach Verbrennung bei frisch verbrannten Tieren nachweisen; dennoch sprachen sie sich für eine immunologische Umstimmung ihrer Versuchstiere mit Verbrennungswunden aus.

Eine humorale Reaktion zwischen einem sog. Verbrennungstoxin und einem Antitoxin mit entsprechender, im gegebenen Falle anaphylaktischer Reaktion ist also bisher noch keinesfalls eindeutig bewiesen (s. auch: Editorial in Lancet 1961 I, 205); wir wollen im folgenden weniger auf dieses Problem eingehen als vielmehr versuchen, im Rahmen eigener tierexperimenteller Untersuchungen zu klären, ob vielleicht Antikörper nach Hautverbrennung einen organschädigenden Effekt — etwa im Sinne einer autoallergischen Reaktion — auszulösen in der Lage sind (s. a. KUŠKO 1961 und RUDNICKAJA und SKURKOVIC 1962). In diesem

Sinne sprach im übrigen ein Fall, der von HAVERKAMP (4) kürzlich (1962) mitgeteilt worden war.

Ein 17jähriger Junge stirbt $1\frac{1}{2}$ Jahre nach einer ausgedehnten Hautverbrennung an einer granulomatösen Glomerulitis, wobei serologisch im Leichenblut Antikörper gegen einen antigenen Extrakt aus frisch verbrannter Haut nachgewiesen werden konnten. Darüber hinaus machte das Ergebnis der immunohistologischen Methode nach COONS und KAPLAN es wahrscheinlich, daß diese Antikörper sich auch im Gewebe, und zwar besonders in den Nieren auf Glomerulumschlingen niedergeschlagen hatten. Danach sah es also so aus, als ob die Antikörper gegen verbrannte Haut sich auch gegen die Wandungen kleiner Blutgefäße (Capillaren) richten würden, um in capillarreichen Gewebsanteilen, wie in den Glomerula der Nieren, eine krankhaft schädigende Wirkung auszulösen.

Es galt also, im Tierexperiment zuerst einmal zu überprüfen, ob Haut tatsächlich nach Hitzedenaturierung infolge Verbrennung in der Lage ist, iso- bzw. auto-antigene Eigenschaften — für die gleiche Species bzw. das gleiche Tier — anzunehmen. In bejahendem Falle war dann festzustellen, ob die auftretenden Antikörper (Iso- bzw. Auto-Antikörper) tatsächlich geeignet sind, eine gewebs-schädigende Wirkung auszulösen, die etwa vergleichbar ist mit einer bekannten Veränderung bei der Verbrennungskrankheit.

Methodik

Als *Versuchstiere* dienten Hauskaninchen (zumeist eigener Zucht) beiderlei Geschlechts im Alter von $1\frac{1}{2}$ Jahr und 2 bis 2,5 kg Gewicht. Die Tiere wurden gleichmäßig mit BroVo-Spezialtrockenfutter gefüttert.

I. Iso-Antikörperbildung bei Kaninchen gegen wäßrige Extrakte aus verbrannter Kaninchenhaut (= Iso-Antikörper)

1. Herstellung der wäßrigen Extrakte aus verbrannter Kaninchenhaut (Iso-Antigen = Iso-Ag.). *Vorbemerkung.* Um den etwaigen Einfluß der „Autolyse“, d. h. der fermentativen Beeinflussung des hitzedenaturierten Gewebeeiweißes bestimmen zu können, wurde die verbrannte Haut bei 5 Tieren sofort („Sofort-Gruppe“), bei weiteren 5 Kaninchen 5 Std („5 Std-Gruppe“), bei den nächsten 5 Tieren 10 Std („10 Std-Gruppe“) und schließlich bei den letzten 5 Kaninchen 20 Std („20 Std-Gruppe“) nach Verbrennung entnommen. Die verbrannte Haut je einer solchen Gruppe (5 Kaninchen) wurde zusammen zu Iso-Ag. verarbeitet. Alle Handreichungen wurden möglichst steril durchgeführt.

Technische Ausführung. Die Versuchstiere beiderlei Geschlechts wurden durch 2,0 bis 2,5 ml Nembutal-Lösung (20%, vet.) i. p. tief narkotisiert, bis zur Tötung durch Nachinjektionen (bis zu 3 ml) des Betäubungsmittels in tiefer Narkose gehalten und erst nach Entnahme der verbrannten Hautstellen durch eine Überdosis des Narkoticums getötet. Nach der einleitenden Narkose wurde die Rückenhaut abrasiert und dann für 30 sec in 90° C heißes Wasser getaucht. Dann wurde — den 4 erwähnten Gruppen entsprechend — sofort, 5 Std, 10 Std oder 20 Std nach der Verbrennung die verbrannte Kaninchenhaut mit dem Unterhautfettgewebe abpräpariert, mit einer Schere zerkleinert, durch einen Fleischwolf gedreht und schließlich in einem Gewebs-Homogenisator weiter zerkleinert. Die so gewonnenen Gewebssetzen wurden in reichlicher physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,2 mit NaHPO₄-KH₂PO₄-Puffer) mehrmals gewaschen und anschließend in einem Mulltuch durch Pressen von dieser Kochsalzlösung soweit wie möglich befreit. Der so gewonnene Gewebsbrei verblieb in einem gleichen Gewichtsvolumen physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,2) — unter Zusatz eines Tropfens 0,25%iger Phenollösung auf etwa 50 ml Kochsalzlösung — 48 Std im Eisschrank bei +4° C zur Extrahierung. Danach wurde zentrifugiert (9000 U/min für 30 min in einer Kühlzentrifuge), das Supernat dekantiert. Dieses Supernat wurde dann als (Iso)-Ag. verwandt; sein Eiweißgehalt betrug nach KJEHL DAL für die „Sofort-Gruppe“ 204 mg-%, für die „5 Std-Gruppe“ 283 mg-%, für die „10 Std-Gruppe“ 275 mg-% und für die „20 Std-Gruppe“ 231 mg-%.

Immunoelektrophoretische Ag.-Kontrolle unter Verwendung des Ossermanschen doppelten Diffusionssystems: Hierzu wurde eine immunoelektrophoretische Analyse (Technik s. I/5 d) mit 3 Stanzlöchern und 2 Rinnen durchgeführt. In das mittlere Stanzloch wurde ein Kaninchenmischserum — ohne spezifische Antikörper — eingebracht und nach der elektrophoretischen Wanderung dieses Serums in eine der beiden Rinnen ein Anti-Kaninchenserum vom Schaf eigener Herstellung und in die 2. Rinne eine 100 mg-%ige Lösung des zu testenden Antigens gegeben. Aus den beiden Rinnen diffundierte dann das Ag. und das Anti-Kaninchenserum zueinander, um bei ihrem Treffen Präcipitationslinien zu bilden, wenn das Ag. Kaninchen-Serumeiweiße enthielt. Diese Präcipitatlinien waren jedoch unterbrochen bzw. gingen über in das zugehörige Eiweißpräcipitat des aufgetrennten Serums an der Stelle, wo das zwischen den Rinnen vorher elektrophoretisch aufgetrennte Serum mit seinem Eiweiß

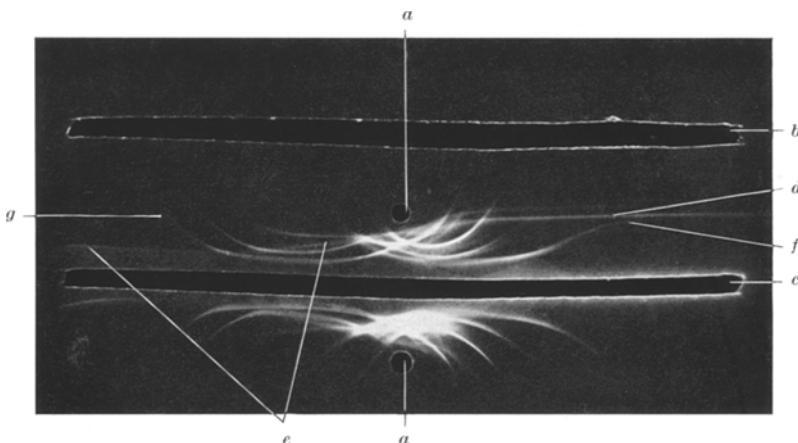


Abb. 1. Modifiziertes doppeltes Diffusionssystem — nach OSSERMAN — der immunoelektrophoretischen Analyse vom „5 Std“-Verbrennungs-Iso-Antigen. Aus den Stanzlöchern (a) wurde ein Kaninchenserum ohne spezifische Antikörper elektrophoretisch aufgetrennt; danach diffundierte aus der oberen Rinne (b) die Iso-Antigen-Lösung, aus der unteren Rinne (c) ein Antikaninchenserum (vom Schaf). Bei d eine γ -Globulinlinie nach Präcipitation des γ -Globulins aus dem Iso-Antigen (b) durch Verbindung mit seinem spezifischen Antikörper aus dem überdiffundierten Antikaninchenserum; ihr γ -Globulincharakter wird bewiesen durch ihren Übergang in die γ -Globulinlinie (e) von dem immunoelektrophoretisch analysierten Kaninchenserum. Bei f eine entsprechende Albumin-, bei g eine Transferrinlinie für das Iso-Antigen. Demnach enthält das Verbrennungs-Iso-Antigen Albumin, Transferrin und γ -Globulin

die spezifischen Antikörper des Anti-Kaninchenserums abgefangen hatte. Es lässt sich so leicht bestimmen, welche Kaninchen-Serumeiweiße im Antigen vorliegen. *Resultat.* Es konnten — weniger in dem Ag. der „Sofort-Gruppe“ und wesentlich mehr in denen der anderen Gruppen — in den Ag.-Extrakten Serumeiweiße, besonders jedoch Albumin, Transferrin und γ -Globulin vom Kaninchen nachgewiesen werden (s. Abb. 1).

2. Herstellung wäßriger Extrakte aus nichtverbrannter Haut (Kontroll-Antigen = K.-Ag.). Für die vorzunehmenden Kontrolluntersuchungen wurden von den 5 Kaninchen der „Sofort-Gruppe“ jeweils handflächengroße Stücke aus der nicht verbrühten (nicht verbrannten) Bauchhaut präpariert; von diesen Gewebsanteilen wurde nach Zerkleinerung wie eben beschrieben ein Ag.-Extrakt hergestellt. Der Eiweißgehalt dieser Extraktflüssigkeit betrug nach KJEHLDAL 81,7 mg-%.

3. Sensibilisierung von Kaninchen gegen die wäßrigen Hautextrakte. Vorbemerkung. Zur Steigerung der Antikörperbildung wurden sämtliche Ag.-Injektionen zusammen mit der gleichen Menge Freundschen Adjuvans (FA) [= 8,5 ml Bayol F (Esso) + 1,6 ml Arlacel A (Atlas) + 30 mg Mycobacterium smegmatis mit anschließender Autoklavierung (1,1 atü, 30 min, 110° C)] durchgeführt.

Insgesamt standen 49 Kaninchen im Versuch, wovon für Sensibilisierung gegen Iso-Ag. der „Sofort-Gruppe“ 5, gegen Iso-Ag. der „5 Std-Gruppe“ 12, gegen Iso-Ag. der „10 Std-

Gruppe“ 12, gegen Iso-Ag. der „20 Std-Gruppe“ ebenfalls 12 und gegen Ag. aus nicht verbrannter Haut (K.-Ag.) 8 Tiere jeweils verwandt wurden. Es erhielten im einzelnen über 10 Tage 5mal — also jeden 2. Tag — s. c. injiziert von den 5 Kaninchen der „Sofort-Gruppe“ je 1 Tier 0,22, 0,44, 2,21, 4,42 bzw. 11,0 ml Antigenextrakt — entsprechend einer Eiweißmenge von 0,6, 1,2, 6,0, 12,0 bzw. 30,0 mg —, von den je 12 Kaninchen der „5 Std-, 10 Std- und 20 Std-Gruppe“ jeweils innerhalb dieser Gruppe je 2 Tiere 0,21, 0,42, 2,1, 4,2, 10,4 bzw. 20,8 ml entsprechend einer Eiweißmenge von 0,6, 1,2, 6,0, 12,0, 30,0 bzw. 60,0 mg.

Die mit Extrakten aus verbrannter Haut und aus nicht verbrannter Haut behandelten Tiere wurden nach Blutentnahme am 20. und 35. Tage — jeweils 5 ml aus einer Ohrvene —, am 50. Tage nach der letzten Injektion durch Entbluten in Nembutalnarkose getötet. Von den Entblutungsseren wurde eine Komplementbindungsreaktion nach HENNESSEN, die passive Hämagglutination nach BOYDEN, der Agarpräcipitationstest nach OUCHTERLONY und die Immunoelektrophorese mit 2 Rinnen und 3 Stanzlöchern in der Modifikation nach SCHEIDEGGER, von den am 20. und 35. Tage entnommenen Seren nur die Komplementbindungsreaktion stets gegen das entsprechende, zur Sensibilisierung verwandte Ag. durchgeführt.

4. Obduktion. Die Obduktion der Tiere — am 50. Tage nach der letzten Injektion — ergab keine wesentlichen krankhaften Organbefunde; es wurden aus Haut, Gehirn, Lunge, Leber, Milz, Nebennieren, Nieren, Schilddrüse, Speicheldrüsen, Ovarien bzw. Hoden Gewebsstücke entnommen und diese halbiert; eine Hälfte kam in 4%iges Formalin zur Fixation für die histologische Bearbeitung, der Rest wurde für die immunohistologische Untersuchung mit Kohlensäureschnee auf — 70° C schnell eingefroren und in der Tiefkühltruhe aufbewahrt.

5. Serologischer Antikörper- (= Ak.-) Nachweis. Für alle serologischen Reaktionen wurden die Iso-Ag.-Lösungen auf 100 mg-% eingestellt.

a) *Die Komplementbindungsreaktion* wurde in der Mikromethode nach HENNESSEN (genaue Ausführung s. HAVERKAMP, 2) durchgeführt: Bei einer konstanten 20%igen Verdünnung der inaktivierten Kaninchenseren wurde die Komplementbindungsreaktion mit steigenden Komplementmengen vorgenommen, um die höchste Komplementmenge festzulegen, die bei der Antigen-Antikörper-Reaktion noch verbraucht wird. Wiederum wurde — wie früher [s. HAVERKAMP (1)] *das Antigen* [= *Extrakt aus der verbrannten (Iso-Ag.) oder nicht verbrannter Haut (K.-Ag.)*] nach Inaktivierung sowohl unverdünnt, aber jetzt auch aus einer Verdünnungsreihe von 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160 und 1:320 verwandt, wobei jede Reaktion mit einer der erwähnten Verdünnung bzw. mit unverdünntem Ag. durchgeführt wurde; diese Verdünnungen sind notwendig, da u. U. bei einer stärkeren Ag.-Verdünnung sich höhere Titer vorfinden als etwa bei einem Reaktionsablauf mit unverdünntem Ag. Später bei der Auswertung wurde der höchste Titer berücksichtigt, gleichgültig, ob er nun bei unverdünntem Antigen oder bei einer der Antigenverdünnungen zu verzeichnen gewesen war.

Ein Reaktionsablauf mit 1 Tropfen Puffer anstelle von 1 Tropfen Testserum (sog. Ag.-Kontrolle) und ein solcher mit Puffer anstatt Ag. (sog. Testserum-Kontrolle) bestimmt, ob entweder das Ag. (der Extrakt aus der verbrannten bzw. nicht verbrannten Haut) oder die zu testenden Seren einen Eigenkomplementverbrauch aufweisen, der unabhängig von einer Antigen-Antikörperreaktion ist. Um etwaige Normalantikörper im Kaninchenserum gegen Kaninchen-Iso-Ag. aus verbrannter bzw. nicht verbrannter Haut auszuschalten, wurde als sog. Normalserumkontrolle ein Ersatz der Testseren durch Seren gegen verbrannte bzw. nicht verbrannte Haut sensibilisierter Kaninchen vorgenommen.

Tabelle 1. *Komplementverdünnungsreihe für Mikro-Komplementbindungsreaktion nach HENNESSEN* [gekürzt nach HAVERKAMP (1)]. Faktor 1,4

Stufe Nr.	Komplementgehalt in %	Verdünnung Komplement + Puffer
8	14,8	0,2 + 1,16
7	10,5	0,2 + 1,70
6	7,5	0,1 + 1,23
5	5,4	0,1 + 1,76
4	3,8	0,1 + 2,50
3	2,7	0,1 + 3,54
2	2,0	0,1 + 5,00
1	1,4	0,1 + 7,04

Die Auswertung dieser Methode geschieht dann durch den Vergleich der höchsten partiell lösenden Komplementdosis des Testserums (= Ak.) -Ag.-Gemisches mit der höchsten der Kontrollen, d. h. durch die Bestimmung des Koeffizienten =

$$\frac{\text{höchste partiell lösende Komplementdosis des Testserums}}{\text{höchste partiell lösende Komplementdosis der Kontrollen}}.$$

b) Bei der passiven Hämagglutination werden mit Tanninsäure gegerbte Erythrocyten (in unserem Falle Kaninchenerythrocyten) mit Ag. [= Extrakt aus verbrannter Haut (= Iso-Ag.) oder Extrakt aus nicht verbrannter Haut (= K.-Ag.)] beladen; ein gegen das Antigen gerichteter Antikörper müßte dann die so mit Antigen beladenen Erythrocyten zur Agglutination bringen. Die Methode wurde entsprechend der Originalvorschrift von BOYDEN (1951) durchgeführt. Wegen der technischen Einzelheiten und der Auswertung wird auf die Originalarbeit von BOYDEN verwiesen. Zur Absicherung der Spezifität dieser Reaktion wurden 3 Kontrollen angewandt: 1. Eine Spontanzusammenballung der antigenbeladenen Erythrocyten ohne Einwirkung von gegen das Antigen gerichteten Antikörpern wurde durch die Antigenkontrolle ausgeschlossen, indem statt des zu testenden Serums ein Serum zur Verwendung kam, das von einem nicht mit Ag. behandelten Kaninchen stammte. 2. Eine etwa durch Blutgruppenunverträglichkeit zwischen den zu testenden Seren und den für die Antigenbeladung benutzten Kaninchen-Erythrocyten vorhandene „echte“ Agglutination, die auch ohne Einwirkung von spezifischen, d. h. hier gegen das auf den Erythrocyten befindliche Antigen gerichteten Antikörpern auftreten würde, wurde durch die Serumkontrolle ausgeschlossen; für diese Kontrolle kamen „nichttannierte und nicht antigenisierte“ Kaninchenerythrocyten mit den zu testenden Seren zusammen. 3. Schließlich gelangten, als sog. Tannin-Kontrolle, tannierte, jedoch nicht antigenisierte Kaninchenerythrocyten mit den Testseren in Verbindung, da gelegentlich nach Tannierung Erythrocyten in Gegenwart von arteigenem Serum zu Spontanagglutinationen neigen können (HOENIG und HOENIGOVA).

Als Titer wurde die Serumverdünnung angegeben, bei der noch eine sichere Agglutination der Erythrocyten nachweisbar war.

c) Der Agarpräcipitationstest nach OUCHTERLONY diente dem Nachweis präcipitierender Ak. gegen Extrakte aus verbrannter bzw. nicht verbrannter Kaninchenhaut. Ausführung (Objektträgermethode) siehe HITZIG, HAVERKAMP (2). Die Antigen- und Antikörper-Lösungen wurden eingetropft nach folgendem Schema: In das zentrale Loch kamen 0,005 ml unverdünnte oder 1:1 mit Pufferlösung verdünnte Antigenlösung, in die kreisförmig angeordneten Löcher im Uhrzeigersinn bei 12^h oben beginnend 0,005 ml unverdünntes Testserum und dann weiter das gleiche Serum in die folgenden Löcher in einer Verdünnung von 1:1, 1:10, 1:100, 1:1000 und schließlich in das letzte Loch vor 12^h von 1:10000.

d) Die Immunoelektrophorese wurde in der Modifikation nach SCHEIDEGGER [1955, genaue Methodik s. d., bei HITZIG oder HAVERKAMP (2)] als Mikroelektrophorese auf Objektträgern durchgeführt, und zwar mit dem Agafor-1-Gerät der Firma Egaton-AG Bern (Schweiz) unter Verwendung von 2 Rinnen und 3 Stanzlöchern: 1. Abweichend von der Originalbeschreibung verwandten wir statt Veronal-Puffer Borat-Puffer (24,8 g Acid. boric. werden in 2000 ml Aqua dest. gelöst und 1:1 gemischt mit einer Lösung von 76,2 g Borax in 1000 ml Aqua dest. Diese 1/10 Mol-Lösung wird vor Gebrauch 1:1 mit Aqua dest. gemischt [pH 8,6]). 2. Auf die Objektträger kamen jeweils 2,5 ml mit Puffer gelösten Agars (s. bei Agar-Präcipitationstest), aus dem nach Erstarren mit einem Schneidegerät 2 Rinnen und 3 Stanzlöcher ausgehoben wurden. 3. Die Stanzlöcher wurden mit 0,002 ml Kaninchentestserum beschickt. 4. Die elektrophoretische Wanderung erfolgte bei einer Spannung von 25 V, 15 mA über eine Zeit von 70 min. 5. Nach der elektrophoretischen Auftrennung diente die eine Rinne der Aufnahme kräftig präcipitierender, unverdünnter Antiseren gegen Kaninchenserum in einer Menge von 0,04 ml; diese Antiseren waren nach einem besonderen Immunisationsschema beim Schaf hergestellt worden. Die 2. Rinne nahm dann das Ag. (Extrakt aus verbrannter Haut) bzw. das Kontrollantigen (Extrakt aus nicht verbrannter Haut) in unverdünntem Zustand bzw. in einer Verdünnung von 1:10, 1:20 oder 1:40 auf. 6. Das Antiserum in der einen Rinne sowie das Antigen bzw. Kontrollantigen in der 2. Rinne diffundierten dann gegen die elektrophoretisch aufgetrennten Kaninchen-Testseren über einen Zeitraum von 48 Std. 7. Nach gründlichem Spülen wurde mit Amido-Schwarz nach Vorschrift gefärbt,

dann getrocknet bei 37° C und ein photographischer Abzug in einem Vergrößerungsgerät vorgenommen.

6. Immunohistologischer Nachweis von gewebsständigen Antikörpern. Vorbemerkung. Für den immunohistologischen Nachweis der Antikörper gegen verbrannte Haut in den eingefrorenen Organen der Versuchstiere mittels der indirekten Methode nach COONS und KAPLAN wurde als Fluoreszenzfarbstoff Fluorescein-Isothiocyanat (RIGGS u. Mitarb.) verwendet. Die Ausführung dieser Methode geschah mit dem Gedanken, daß die Antikörper gegen verbrannte Haut nach ihrem evtl. Niederschlag im Gewebe — entsprechend einer Antigen-Antikörperreaktion — mit einem an Fluoreszenzfarbstoff gekoppelten Anti-Kaninchenglobulin, einem sog. Anti-Antikörper nachzuweisen sein müßten; gehören doch die Antikörper auch beim Kaninchen der Globulinfraktion an; wir verwandten als einen solchen Anti-Antikörper ein an Fluorescein-Isothiocyanat gekoppeltes (markiertes) Anti-Kaninchenglobulin vom Schaf, zumeist eigener Herstellung. Im übrigen wurde die technische Ausführung wie bei früheren Untersuchungen von HAVERKAMP (2) durchgeführt.

Kontrollen. Da durch das markierte Anti-Kaninchenglobulin alle Kaninchenglobuline und daher die in diesen Globulinen enthaltenen Antikörper nur indirekt bestimmt werden, sind zur Spezifizierung Kontrollen notwendig. Kontrolle 1: Vor der Überschichtung der Gewebsschnitte mit fluoreszierendem Anti-Kaninchen-Globulin wurden diese mit dem unverdünnten „Gruppen“-Iso-Ag. bzw. K.-Ag. überdeckt, das zur Sensibilisierung des betreffenden Tieres verwandt worden war; nach gründlichem Abspülen des Ag.-Iso-Ag. bzw. K.-Ag. — mittels der gepufferten Kochsalzlösung (pH 7,2) wurde dann das Gewebe mit dem markierten Anti-Kaninchenglobulin, also dem markierten Anti-Antikörper behandelt. Diese Kontrolle bezweckt, durch das Ag. den im Gewebe vorhandenen Ak. so weit abzusättigen, daß dieser kaum noch den markierenden Anti-Antikörper binden kann, also letzterer — nach Überschichtung — wegen fehlender Bindung wieder abgespült wird (sog. Ag.-Kontrolle).

Kontrolle 2: Vor Einwirkung des markierenden Anti-Kaninchen-Globulins wird der Schnitt für 37 min in der feuchten Kammer, statt wie bei der Kontrolle 1 mit Antigen, mit nicht fluoreszierendem Anti-Kaninchen-Globulin behandelt und dann gut in der gepufferten Kochsalzlösung gespült. Diese Kontrolle bezweckt, das nicht markierte Anti-Kaninchen-Globulin dem markierenden den Platz wegnehmen zu lassen, so daß letzteres beim Überschichten kaum noch — antikörperhaltige — Globuline findet, mit denen es reagieren könnte; es wird also beim Nachspülen abgeschwemmt.

Auswertung. Das System der Original-Methode besagt bloß, daß der Antikörper in seiner Eigenschaft als Globulin durch ein an Fluorescein-Isothiocyanat gekoppeltes Antiglobulin nachgewiesen wird. Dieses Antiglobulin stellt aber nicht nur die antikörperhaltigen, sondern alle Globuline, so z. B. auch die in den bei der immunohistologischen Untersuchung noch serumführenden Blutgefäßen dar. Eine immunohistologische Auswertung kann also nur durch einen Vergleich der Ergebnisse der Original-Antikörper-Nachweismethode mit denen der Kontrollen erfolgen. Findet sich im Gewebe eine gelbgrüne Fluoreszenz etwa bei der Antikörper-Nachweismethode, die dann bei den Kontrollen deutlich verringert ist, so wird die Annahme sehr wahrscheinlich, daß es sich dabei um Globuline mit spezifischem Antikörpercharakter handelt.

II. Die Auto-Antikörperbildung bei Kaninchen nach Hautverbrennung und ihr serologischer und immunohistologischer Nachweis gegen einen wäßrigen Extrakt aus der verbrannten Haut (Auto-Antigen = Auto-Ag.)

1. Verbrennung von Kaninchenhaut. 20 Kaninchen wurde zur Vermeidung größerer Schockfolgen nur an zwei fünfmarkstückgroßen rasierten Partien die Rückenhaut für 30 sec mit 100° C — mit einem dazu eigens hergestellten, auf diese Temperatur eingestellten Behälter mit erhitztem Öl (Ø 3,5 cm) — verbrannt, nachdem die Tiere bis 3,5 ml Urethan (20%) i. v. nach 2,0 ml Nembutal (vet.) i. p. bis zur tiefen Narkose erhalten hatten.

2. Herstellung eines wäßrigen Extrakt aus der verbrannten Kaninchenhaut (Auto-Ag.). 24 Std nach der Verbrennung wurden die 20 Kaninchen erneut mit 1,5 ml Nembutal (vet.) i. p. narkotisiert, wobei 5 Kaninchen verstarben; den restlichen 15 wurde dann eine der beiden verbrannten Hautstellen bis zur Grenze der Verbrennungsreaktion operativ entfernt,

der Hautdefekt anschließend möglichst steril durch Nahtfäden verschlossen. Eine nennenswerte Vereiterung dieser und der belassenen Verbrennungswunden trat bei keinem der Tiere auf.

Aus den 15 operativ entfernten verbrannten Stellen wurden 15 wäßrige Auto-Ag.-Extrakte für die vorzunehmenden serologischen und immunohistologischen Reaktionen hergestellt. Bei den serologischen und immunohistologischen Reaktionen wurde jedes Serum bzw. jeder Gewebschnitt eines der Versuchskaninchen nur mit dem Ag.-Extrakt in Be- rührung gebracht, der von dem gleichen Versuchstier stammte. Der Eiweißgehalt der Ag.-Extrakte schwankte bei den 15 Tieren zwischen 654 und 135 mg-% nach KJELLDAL; er wurde für die vorzunehmenden Reaktionen stets einheitlich auf 100 mg-% eingestellt. Das doppelte Diffusionssystem (OSSERMAN) bei der immunoelektrophoretischen Analyse auf Kaninchenserumeiweiße in den Ag.-Extrakten (s. I/1) ergab wieder einen besonders reichen Gehalt an Albumin, Transferrin und γ -Globulin.

Nach *Blutentnahmen* (5 ml aus einer Ohrvene) am 20. und 35. Tage wurden die Tiere am 50. Tage nach der Verbrennung durch Entbluten in Nembutalnarkose (3,0 ml Nembutal [vet.] i. p.) getötet.

3. Obduktion. Bei der *Obduktion* dieser Tiere, die nur gelegentlich Milzvergrößerungen und sonst keinen wesentlichen krankhaften Organbefund boten, wurden aus Haut, Gehirn, Lunge, Leber, Milz, Nebennieren, Nieren, Schilddrüse, Speicheldrüsen und Ovarien bzw. Hoden Gewebsstücke entnommen und genauso wie im ersten Teil dieser Arbeit (s. I/4) für die immunohistologischen Nachweise und die histologische Bearbeitung behandelt.

4. Serologischer Antikörpernachweis. An allen Seren wurden die Komplementbindungsreaktion (HENNESSEN), die passive Hämagglutination nach BOYDEN, der Agar-Präcipitations- test nach OUCHTERLONY und die Immunoelektrophorese (mit 2 Rinnen und 3 Stanzlöchern), durchgeführt (Methodik s. I/5).

5. Der immunhistologische Nachweis von gewebsständigen Antikörpern des tiefgefrorenen Gewebsmaterials (s. II/3) wurde mit seinen Kontrollen wie bei den mit Verbrennungs-Iso-Ag. behandelten Tieren durchgeführt (s. I/6).

Ergebnisse

I. Iso-Antikörperbildung gegen wäßrige Extrakte aus verbrannter Haut

Die *serologischen* Untersuchungsmethoden ergaben für die mit Iso-Ag.-Extrakten aus verbrannter Kaninchenhaut bzw. mit K.-Ag.-Extrakten aus nicht verbrannter Kaninchenhaut behandelten Tiere bei der Komplementbindungsreaktion und der passiven Hämagglutination nach BOYDEN die in Tabelle 2 zusammengefaßten Resultate:

Sowohl bei dem Agar-Präcipitationstest als auch bei der Immunoelektrophorese um die mit Iso-Ag. gefüllte Rinne bot sich kein Anhalt für präcipitierende Antikörper gegen ein Iso-Ag. aus verbrannter bzw. nicht verbrannter Haut.

Die *immunohistologische Untersuchung* zeigte in allen untersuchten Organen — unter Berücksichtigung ihrer Eigenfluoreszenz — bei den hier in Rede stehenden Tieren, die Iso-Ag. aus verbrannter Haut injiziert erhalten hatten, eine auf- fallende gelbgrüne Fluoreszenzmarkierung der Wandungen kleiner und kleinster Blutgefäße (Capillaren, Venolen, Arteriolen), und zwar am stärksten der Capillar- wandungen der Lungensepten und der Schlingenwandungen in den Glomerula der Nieren (s. Abb. 2 b u. 3 b). Dabei zeigten diese Tiere zusätzlich und die mit Iso-Ag. aus nicht verbrannter Haut behandelten Kaninchen ausschließlich eine gleichfarbige Fluoreszenz auch in den Lichtungen der noch mit Blutserum gefüllten Gefäße, der Epithelien von Hohlorganen, z. B. der intrahepatischen Gallengänge und gelegentlich auch im interstitiellen Bindegewebe; bei allen Kontrollen war die gelbgrüne Fluoreszenz bei den mit Verbrennungs-Iso-Ag. behandelten Tieren

Tabelle 2

Tier Nr.	Eiweißgehalt des injizierten Iso-Ag. mg	Blutentnahme am 20. Tag	Blutentnahme am 35. Tag	Entblutungs- serum am 50. Tag	Ver- dünnungs- titer der passiven Hämag- glutination
		Bewertungskoeffizient der Komplement- bindungsreaktion			
Sofort-Gruppe					
1	0,6	1,5	1,7	2,0	1:20
2	1,2	1,3	1,2	2,0	1:320
3	6,0	0	1,0	2,0	1:320
4	12,0	1,5	1,7	3,0	1:320
5	30,0	4,0	1,7	4,0	1:320
5 Std-Gruppe					
6	0,6	1,3	1,3	1,0	1:5120
7	0,6	2,0	3,0	2,0	1:5120
8	1,2	1,3	2,0	2,0	1:5120
9	1,2	1,2	0	1,0	1:1280
10	6,0	1,3	1,2	4,0	1:1280
11	6,0	3,0	1,7	3,0	1:5120
12	12,0	3,0	1,5	3,0	1:10240
13	12,0	4,0	2,0	1,0	1:1280
14	30,0	6,0	1,9	3,0	1:10240
15	30,0	4,0	3,0	1,0	1:10240
16	60,0	1,9	1,2	3,0	1:5120
17	60,0	4,0	1,2	3,0	1:10240
10 Std-Gruppe					
18	0,6	0	0	1,5	1:1280
19	0,6	3,0	0	1,5	1:640
20	1,2	2,0	0	2,0	1:1280
21	1,2	3,0	0	1,5	1:5120
22	6,0	2,0	0	1,5	1:5120
23	6,0	1,3	0	2,0	1:5120
24	12,0	2,0	0	2,0	1:10240
25	12,0	3,0	1,3	2,5	1:10240
26	30,0	2,0	1,5	1,2	1:10240
27	30,0	2,0	1,5	1,7	1:5120
28	60,0	1,5	2,0	1,5	1:10240
29	60,0	0	0	1,5	1:5120
20 Std-Gruppe					
30	0,6	1,5	4,0	3,0	1:640
31	0,6	1,7	4,0	2,0	1:640
32	1,2	4,0	1,3	2,0	1:1280
33	1,2	2,0	1,5	1,3	1:640
34	6,0	1,5	2,0	3,0	1:5120
35	6,0	1,7	1,3	3,0	1:5200
36	12,0	0	2,0	3,0	1:10240
37	12,0	0	1,5	2,5	1:10240
38	30,0	2,0	0	2,3	1:10240
39	30,0	2,0	2,0	4,0	1:10240
40	60,0	0	1,9	3,0	1:10240
41	60,0	1,5	1,5	1,5	1:10240
Gegen nicht verbrannte Haut sensibilisierte Kaninchen					
42	0,6	0	0	0	0
43	0,6	2,0	0	0	0
44	1,2	2,0	0	0	0
45	1,2	0	0	0	0
46	6,0	0	0	0	0
47	6,0	0	0	0	0
48	6,0	0	0	0	0
49	1,2	1,2	2,5	3,0	0

nicht mehr im Bereiche der Wandungen von kleinen Blutgefäßen, sondern nur noch in den übrigen erwähnten Lokalisationen nachweisbar.

Schließlich zeigten bei der immunohistologischen Untersuchung nur die mit Iso-Ag. aus verbrannter Haut behandelten Tiere in der Milz eine gelbgrüne

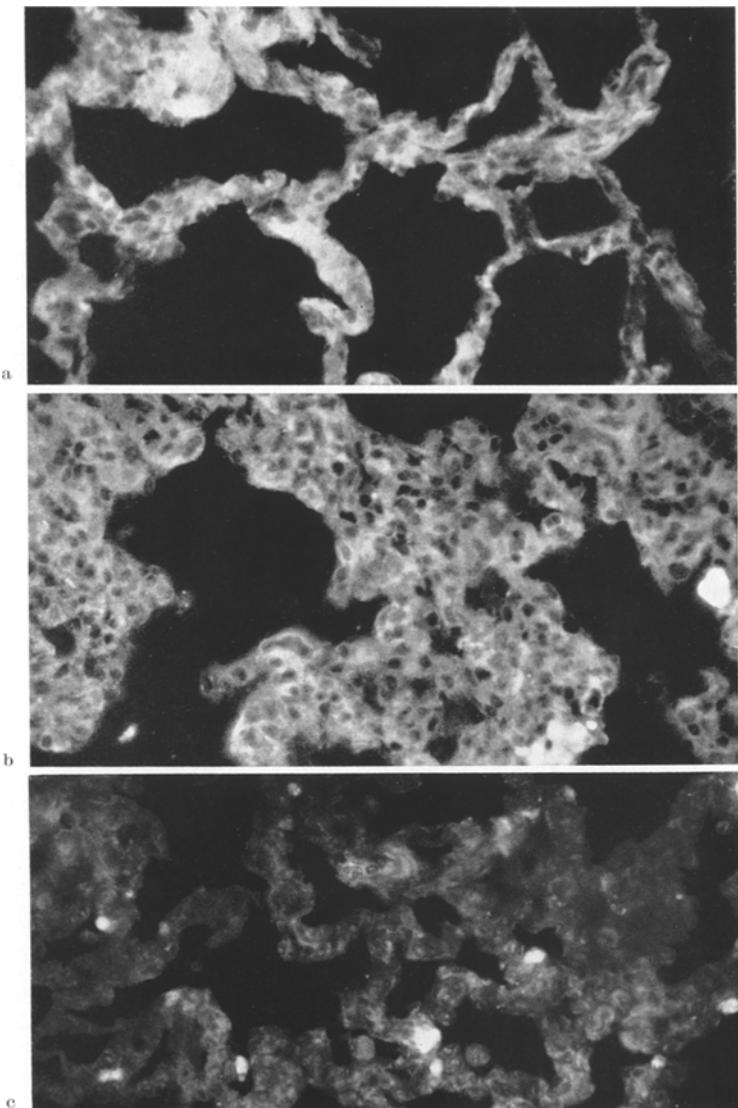


Abb. 2a—c. Kaninchenserien: a am 50. Tag nach Injektion von „5 Std“-Verbrennungs-Iso-Antigen (mit 30 mg Eiweiß; Versuchstier Nr. 2); im Fluoreszenzmikroskop gelbgrün fluoreszierendes, hier in der Wiedergabe weißlich erscheinendes Anti-Kaninchen-Globulin als Markierung von Immunoglobulinen — mit Verbrennungs- (Iso-) Antikörpern — auf den Wandungen der Capillaren in den Septen. Indirekte Methode nach COONS und KAPLAN unter Verwendung des Farbstoffes Fluoresceiniothiocyanat; Vergr. 225×; b am 50. Tag nach umschriebener Hautverbrennung (Versuchstier Nr. 5); auf den Capillarwändungen in den Septen wiederum das in der Wiedergabe weiße, im Fluoreszenzmikroskop gelbgrün fluoreszierende Anti-Kaninchen-Globulin zur Markierung der Immunoglobuline — mit Verbrennungs- (Auto-) Antikörpern. Methode wie bei Abb. 2a. Vergr. 225×; c Sogenannte Antigen-Kontrolle zu Abb. 2b: Deutliche Abschwächung der markierenden Fluoreszenz nach Überschichtung des Schnittes mit Verbrennungs- (Auto-) Antigen vor dem Einwirken des markierenden Anti-Kaninchenglobulins. Vergr. 270×

Fluorescenz in großen cytoplasmareichen Zellen der roten Pulpa; die Zahl dieser so fluoreszierenden Zellen waren bei den Kontrollen deutlich vermindert. Die mit Iso-Ag. aus nicht verbrannter Haut behandelten Tiere wiesen bei der Originalmethode in der Milz zwar auch in großen cytoplasmareichen Zellen der roten

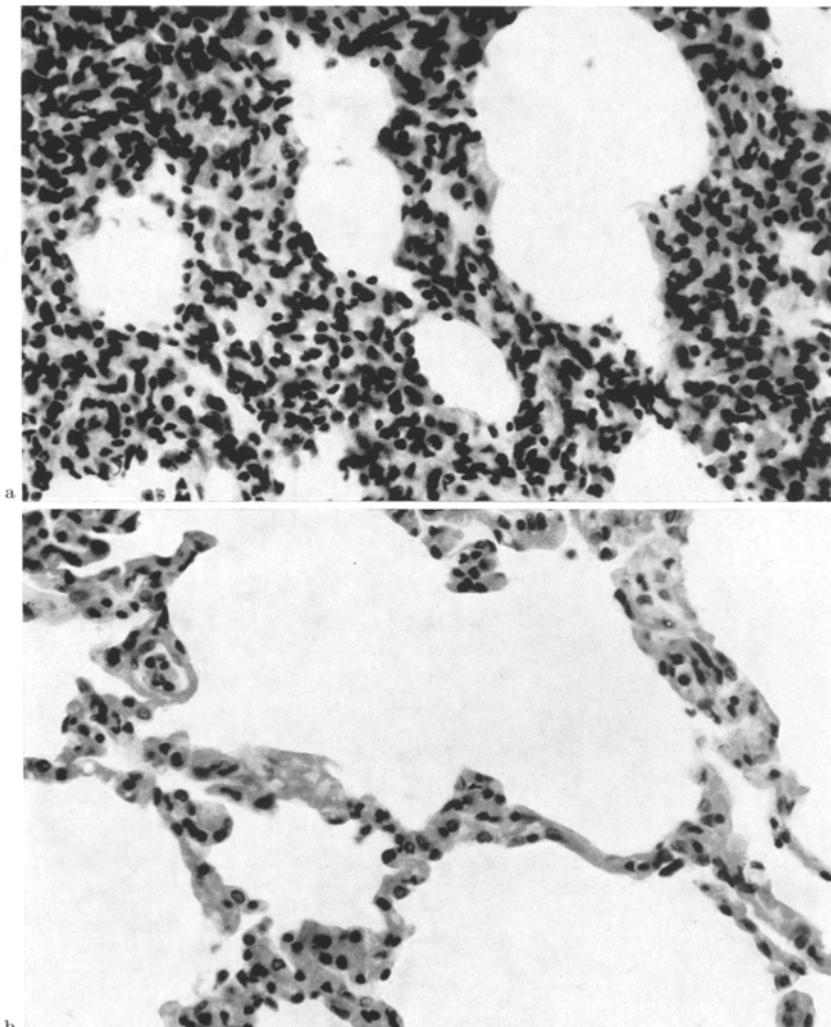


Abb. 3 a u. b. Kaninchenlungen. Hämatoxylin-Eosin-Färbung: a Gleichtes Versuchstier wie bei Abb. 2 b: Am 50. Tag nach umschriebener Hautverbrennung lymphocytäre und plasmacelluläre Infiltration der Lungensepten — bei umschriebener Atelektase. Vergr. 300×. b mit Iso-Antigen aus nicht verbrannter Haut behandeltes Kaninchen (Versuchstier Nr. 6). Am 50. Tag nach Versuchsbeginn keine Infiltration der Lungensepten. Vergr. 285×

Pulpa in ihrem Cytoplasma fluoreszierende Zellen auf; ihre Zahl war jedoch bei den Kontrollen keinesfalls verringert. Offenbar handelte es sich bei den in den Kontrollen nicht mehr fluoreszierenden Zellen um die Bildungsstätte der spezifischen Antikörper gegen das Verbrennungs-Iso-Ag.

Es sieht demnach also so aus, als ob Iso-Ak. gegen verbrannte Haut tatsächlich gebildet würden und mit der Komplementbindungsreaktion und der passiven

Hämagglutination in den betreffenden Seren nachzuweisen seien. Diese Antikörper scheinen sich darüber hinaus auch auf den Wandungen kleiner Blutgefäße und hier besonders auf den Capillarwandungen in den Lungen und in Nierenkörperchen niedergeschlagen zu haben. Dabei ließ die immunohistologische Untersuchung nicht entscheiden, inwieweit die Antikörper in die Wandungen dieser Blutgefäße eingedrungen waren. Ein etwa von der Sensibilisierungsart oder der serologischen Titerhöhe abhängiger auffälliger Unterschied in der Stärke der Fluorescenz der Wandungen von kleinsten Blutgefäßen war allerdings nicht nachweisbar, so als ob Differenzen in der Stärke der humoralen Antikörper des Serums keine sehr ausschlaggebende Rolle für den Niederschlag der hier in Rede stehenden Ak. spielen würde.

Die histologische Untersuchung deckte bei allen Tieren dieser Versuchsreihe nur an zwei Organen Veränderungen auf, die von den gewohnten Befunden bei 20 unbehandelten Kontrolltieren sowie den Befunden bei nur mit K.-Ag. aus nicht verbrannter Haut behandelten Tieren abwichen: Einmal lag in den Lungen eine, allerdings geringgradige, lymphocytäre und plasmacelluläre Infiltration der intraalveolären Septen vor, die selbst gelegentlich verbreitert waren. Darüber hinaus zeigte sich in den Nieren eine Zellvermehrung (Lymphocytene und vereinzelte gewucherte Schlingenendothelien) in eher blutarmen Glomerula. Dabei bestand an den Tubuli hier und da eine leichte trübe Schwellung. Diese Befunde reichen jedoch auf Grund ihrer Geringfügigkeit noch nicht aus, um schon die Diagnose etwa auf eine nicht-eitrige interstitielle Pneumonie oder eine Glomerulitis der Nieren zu stellen.

II. Auto-Antikörperförmung nach Hautverbrennung und ihr Nachweis

Die serologischen Untersuchungen wiesen für eine Auto-Ak.-Bildung gegen einen nach Verbrennung hergestellten Auto-Ag.-Extrakt folgende, ebenfalls tabellarisch erfaßte Resultate bei der Komplementbindungsreaktion und der passiven Hämagglutination nach BOYDEN auf (Tabelle 3).

Tabelle 3

Tier Nr.	Blutentnahme am 20. Tag	Blutentnahme am 35. Tag	Entblutungs- serum 50. Tag	Blutentnahme am 20. Tag	Blutentnahme am 35. Tag	Entblutungs- serum 50. Tag
	Bewertungskoeffizient der Komplement- bindungsreaktion			Endtiter der passiven Hämagglutination		
1	3,0	4,0	2,0	1:5120	1:5120	1:320
2	1,0	3,0	2,0	1:80	1:2560	1:10240
3	2,0	4,0	2,0	1:2560	1:10240	1:10240
5	2,0	3,0	4,0	1:2560	1:10240	1:10240
9	2,0	2,0	1,2	1:10240	1:10240	1:10240
10	2,0	3,0	1,5	1:640	1:2560	1:2560
11	2,0	3,0	3,0	1:640	1:2560	1:10240
12	2,0	3,0	2,5	1:10240	1:10240	1:10240
13	2,0	3,0	1,5	1:640	1:640	1:2560
14	3,0	1,5	1,5	1:160	1:640	1:640
15	3,0	3,0	1,3	1:640	1:2560	1:10240
17	2,0	2,0	3,0	1:640	1:640	1:2560
18	1,7	2,0	1,7	1:640	1:10240	1:10240
19	3,0	1,5	1,5	1:160	1:640	1:2560
20	2,0	3,0	3,0	1:640	1:640	1:10240

Bei dem Agarpräcipitationstest und der Immunoelektrophorese fanden sich bei den 15 überlebenden Tieren dieser Versuchsreihe keine Anhaltspunkte für präcipitierende Antikörper.

Die immunohistologische Untersuchung zeigte bei den Versuchskaninchen in den untersuchten Organen eine bei den einzelnen Versuchstieren zwar wenig variierende, jedoch stets deutlich hervortretende gelbgrüne markierende Fluoreszenz der Wandungen der Arteriolen, Capillaren und Venolen, besonders in Herz, Haut, Eierstöcken bzw. Hoden, etwas geringer in Milz, Leber und Nebennieren. Am stärksten fluorescierten dabei die Wandungen der Capillaren in den Lungensepten und die Schlingenwandungen der Glomerula. So zeigte sich in der Lunge eine ausgesprochen netzartige gelbgrüne Fluoreszenz in den Septen, entsprechend dem Verlauf der hier gelegenen Capillaren (s. Abb. 2c); in den Nieren wurden durch die Fluoreszenz in den Glomerula (s. Abb. 3c) die Schlingenwandungen geradezu verdeutlicht. Nur diese Fluoreszenz der Wandungen von kleinen Blutgefäßen war bei allen Kontrollen der immunohistologischen Methode deutlich verringert, nicht jedoch eine offenbar unspezifische und nicht von einem spezifischen Antikörpergehalt abhängige gelbgrüne Fluoreszenz in den noch mit Serum gefüllten Lichtungen der Blutgefäße, der Epithelien etwa von intrahepatischen Gallengängen und im interstitiellen Bindegewebe. Der Befund in der Milz entsprach demjenigen der mit Verbrennungs-Iso-Ag. behandelten Tiere; auch hier verringerte sich bei den Kontrollen die Zahl der in ihrem Cytoplasma fluorescierenden Zellen der roten Pulpa, wie es der Fall ist bei Zellen, die spezifische Antikörper gegen das — bei der Kontrolle überschichtete — Verbrennungs-Auto-Ag. in ihrem Cytoplasma speichern.

Es sieht also für diese in der 2. Versuchsreihe durchgeföhrten Experimente so aus, als ob (Auto-) Antikörper gebildet worden seien, die sich serologisch und auch immunhistologisch ähnlich den Antikörpern verhalten, die gegen Iso-Ag. der 1. Versuchsreihe gebildet worden sind. Nur scheint jetzt besonders der Antikörpereindenschlag im Gewebe und hier besonders in den Lungensepten und in den Glomerula der Nieren stärker zu sein, als bei der 1. Versuchsreihe. Auch hier ließ sich im einzelnen nicht sicher bestimmen, ob die hier in Rede stehenden Ak. sich auf oder in den Gefäßwandungen befanden.

Die histologische Untersuchung deckt bei 12 von den 15 überlebenden Kaninchen dieser Versuchsreihe nur in zwei Organen wesentliche krankhafte Veränderungen auf, und zwar in Lungen und Nieren:

Lungen (s. Abb. 4b). Die häufig atelektatischen Organe zeigen eine deutliche Verbreiterung des interalveolären Interstitiums; hier scheint außerdem eine herdförmig verstärkte lymphocytäre und plasmacelluläre Infiltration auf, die gelegentlich untermischt ist mit eosinophilen Leukocyten, wie bei einer interstitiellen, nicht eitrigen Pneumonie. In den Alveolen sieht man nur hier und da desquamierte Alveolarepithelien, jedoch keine Leukocyten. Im übrigen sind die Veränderungen bei den 12 Versuchstieren zwar stets feststellbar, variieren aber sehr in bezug auf die Stärke. Der Grad der Veränderungen ist im übrigen weitgehend unabhängig von der Titerhöhe des betreffenden Tieres. Die 20 unbehandelten Kontrolltiere weisen die geschilderten Veränderungen nicht auf. Die drei Versuchstiere (Versuchstier Nr. 2, 10 und 18) ohne histologisch faßbare

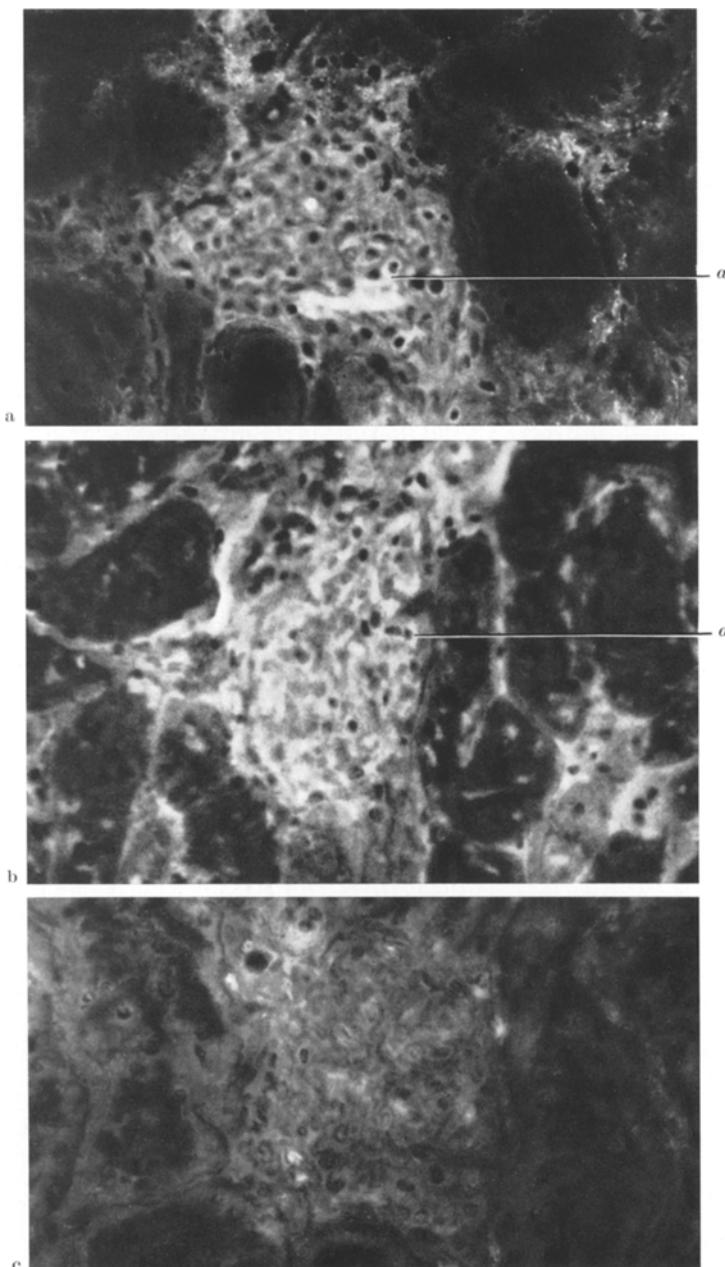


Abb. 4a—c. Kaninchennieren: a Am 50. Tag nach Injektion von „5 Std“-Verbrennungs- (Iso-) Antigen; Versuchstier und technische Behandlung nach der Methode von COONS und KAPLAN wie bei Abb. 2a; in der Wiedergabe weißliches — im Fluoreszenzmikroskop gelbgrünes — Anti-Kaninchenglobulin zur Markierung von Immunoglobulinen — mit Antikörpern gegen Verbrennungs-Iso-Antigen — auf den Wandungen der Glomerulumschlingen (z. B. bei a). Vergr. 250×. b Gleicher Versuchstier — wie bei Abb. 2b — am 50. Tag nach Eigenverbrennung und technische Bearbeitung wie bei Abb. 2b. Gegenüber der Niere von Abb. 4a noch verstärkte, in der Reproduktion weiße, im Fluoreszenzmikroskop gelbgrüne Fluoreszenz des markierenden Anti-Kaninchenglobulins auf den Glomerulumschlingen (z. B. bei a) und Capillarwändungen. Vergr. 250×. c Sogenannte Antigen-Kontrolle zu Abb. 4b (Methodik wie bei Abb. 2c). Deutlich abgeschwächte Fluoreszenz auf den Glomerulumschlingen und Capillarwänden. Vergr. 250×

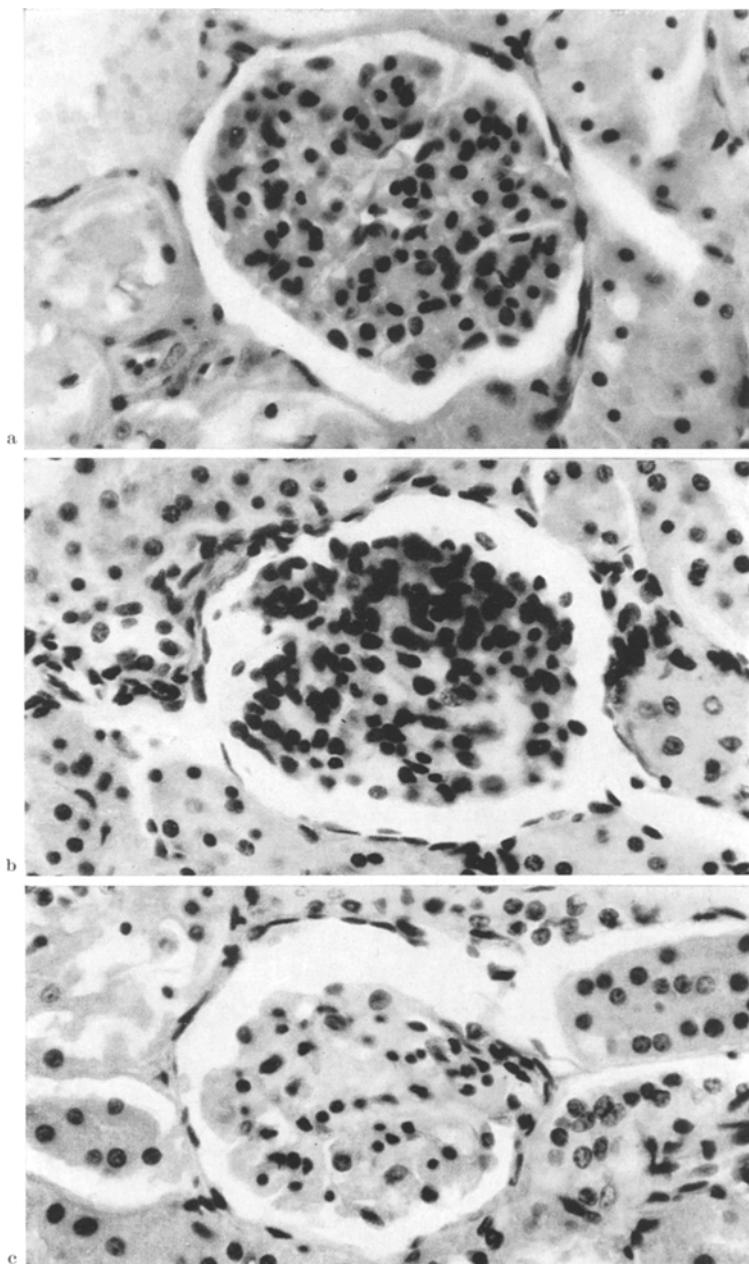


Abb. 5a-c. Kaninchennieren. Hämatoxylin-Eosin-Färbung. a Gleiches Versuchstier wie bei Abb. 4a. Am 50. Tag nach Injektion des „5 Std“-Verbrennungs- (Iso-) Antigens leichte lymphocytäre Infiltration des Glomerulums. Vergr. 333×. b Gleiches Versuchstier wie bei Abb. 4b. Am 50. Tag nach umschriebener Hautverbrennung stärkere lymphocytäre Infiltration und Vermehrung von Schlingenendothelien im blutarmen Glomerulum. Vergr. 285×. c Mit Iso-Antigen aus nicht verbrannter Haut behandeltes Kontroll-Kaninchen am 50. Tag nach Versuchsbeginn, entsprechend der Abb. 3b. Keine wesentlichen krankhaften Veränderungen im Glomerulum. Vergr. 285×

Krankheitszeichen in Lungen und Nieren hatten zwar nicht die höchsten, jedoch deutliche serologische Titer.

Nieren (s. Abb. 5b). Die Glomerula zeichnen sich durch eine — bei den einzelnen Versuchstieren unterschiedlich starke, jedoch nicht von der serologischen Titerhöhe abhängige — Zellvermehrung (Lymphocyten, Endothelien) bei nur geringgradiger Vergrößerung aus; ihre Schlingen sind blutarm, die Schlingenwandungen geringgradig verbreitert; Blutungen in der Bowmanschen Kapsel sieht man selten; die Tubuli besitzen ein recht dichtes Cytoplasma und weisen gelegentlich die Zeichen einer leichten trüben Schwellung auf. Diese Veränderungen sind in den Nieren der 20 unbehandelten Kontrollkaninchen nicht vorhanden.

Haut. Die Verbrennungswunden zeigen eine Vernarbung mit Epidermisierung.

Besprechung

Nach den vorliegenden Untersuchungen scheint also einmal ein Extrakt aus verbrannter Kaninchenhaut für Kaninchen iso-antigen zu sein, da nach seiner Injektion Kaninchen spezifische Ak. zu bilden vermögen. Dagegen ruft — nach unseren Experimenten — die Einverleibung eines Extraktes aus nichtverbrannter Haut keine nennenswerte spezifische Antikörperbildung hervor. Aber nicht nur gegen ein „Verbrennungs-Iso-Ag.“, sondern auch gegen ein Verbrennungs-Auto-Ag., d. h. also gegen körpereigene verbrannte Haut können Kaninchen offenbar Ak. bilden. Dabei zeichnen sich in vorliegenden Versuchen alle diese Ak. dadurch aus, daß sie — mit individuellen Titerdifferenzen — zwar bei Reaktion mit ihrem Verbrennungs-Ag. Komplement zu binden vermögen (s. dagegen: die Untersuchungsergebnisse von KOSLOWSKY und URBASCHEK) und mit Verbrennungsantigen beladene, tanierte Erythrocyten (Boyden-Methode) agglutinieren können, aber nicht in der Lage sind, im Agar-Präcipitationstest — bzw. auch nicht in der milieuverwandten immunoelektrophoretischen Analyse — beim Zusammentreffen mit ihrem Ag. ein Präcipitat zu bilden.

Betrachtet man nun die Ergebnisse der Komplementbindungsreaktion und der passiven Hämagglutinationsmethode mehr im einzelnen, so ergibt sich für die mit *Verbrennungs-Iso-Ag. behandelten Tiere* folgendes Bild: Selbst geringste Mengen einverleibten Ag.-Eiweißes, nämlich nur 0,6 mg Eiweiß genügen, um Kaninchen spezifisch zu sensibilisieren und bei den beiden genannten Reaktionen deutliche positive Reaktionen sichtbar zu machen. Diese Titer erhöhen sich jedoch, wenn das Iso-Ag. nicht sofort nach Verbrennung, sondern erst 5, 10 oder 20 Std nach der Verbrennung aus der bis dahin auf dem Versuchstier belassenen verbrannten Haut gewonnen wurde; dabei spielt dann hier über 5 Std hinaus der Zeitraum bis zu 20 Std keine wesentliche Rolle mehr für eine erhöhte Wirksamkeit des Ag.; sind doch bei den Tieren, die ein „5 Std“-, „10 Std“- oder „20 Std“-Iso-Ag. erhielten, die Titerhöhen annähernd gleich. Offenbar liegt bereits nach 5 Std im Bereich der verbrannten Hautpartie der Beginn einer fermentativen Aufschließung der hitzedenaturierten Eiweiße vor [„Autolyse“, s. KOSLOWSKY (1)]. Ein gesteigerter Eiweißgehalt der einzelnen Extrakte bei Gewinnung des Iso-Ag. 5, 10 oder 20 Std nach Verbrennung dürfte jedoch nicht so sehr auf eine vermehrte Freisetzung von Gewebseiweißen, sondern eher auf ein Einschießen von Serum eiweiß in die verbrannten Hautpartien vor ihrer Entnahme zur Ag.-Herstellung zurückzuführen sein; dies zeigt besonders deutlich das Ossemansche doppelte Diffusionssystem bei der immunoelektrophoretischen

Untersuchung der Iso-Ag.-Lösung auf Serumweiß; es finden sich nämlich besonders reichlich Albumin, Transferrin und γ -Globulin im „5 Std“-, „10 Std“- und „20 Std“-Iso-Ag., dagegen kaum solche Eiweißkomponenten im „Sofort“-Iso-Ag.

Verfolgt man bei den mit Iso-Ag. behandelten Tieren die Titerhöhe der Komplementbindungsreaktion am 20., 35. und 50. Tage, so läßt sich in einem Großteil der Fälle kein stetig ansteigender Titer feststellen. Vielmehr fällt dieser bei 26 von 41 Tieren vom 20. auf den 35. Tag ab, um dann wieder leicht anzusteigen, ein Phänomen übrigens, auf das für die Verbrennung 1960 PAVKOVA und DOLEZALOVA schon hingewiesen haben. Im gewissen Sinne passen auf solche Titerverschiebungen auch die tierexperimentellen Beobachtungen von MALM und SLAWIKOWSKI, wonach bei Ratten Rekonvaleszentenserum, das bei Ratten 3 Monate nach Verbrennung gewonnen worden war, viel wirksamer bei frisch verbrannten Tieren ist als ein solches Serum, das 1 Monat nach der Verbrennung den verbrannten Tieren entnommen wurde. Dabei bleibt vorläufig ungeklärt, warum das „1 Monat-Rekonvaleszentenserum“, das verbrannten Ratten am 2. bis 4. Tage nach Verbrennung injiziert wurde, sich sogar für diese Tiere nachteilig auswirkte. Vielleicht spielen hier Reaktionen zwischen Antikörpern im Rekonvaleszentenserum und sog. Verbrennungstoxinen eine Rolle (MALM und SLAWIKOWSKI).

Bei den Versuchstieren mit Eigenverbrennung, die nach einer Verbrennung ihrer eigenen Haut spezifische (Auto-)Antikörper gebildet hatten, ist jedoch bei der Komplementbindungsreaktion und der passiven Hämagglutination ein solches wechselvolles Verhalten der Titerhöhen nicht feststellbar. Hier findet sich — bei den beiden serologischen Methoden — eher eine steigende Sensibilisierung gegen das Verbrennungs-Auto-Ag., sowohl bei der Komplementbindungsreaktion als auch der passiven Hämagglutination; die Titer können am 50. Tage höchstens etwas abgeschwächt sein.

Bei den Kontrolltieren, die mit Extrakt aus nicht verbrannter Haut injiziert worden waren, ließen sich nur bei einem Tier nennenswerte spezifische Antikörper nachweisen. Diese Beobachtungen stimmen mit denen von ROSENTHAL, BAER und HAGEL überein, die auch keine homologe Sensibilisierung gegen Haut erreichen konnten. Lediglich CHYTILOVA berichtet an Hand einer Patienten-Beobachtung bei einem chronischen, schlecht heilenden Hautgeschwür über Auto-Ak. gegen normale menschliche Haut im Serum dieses Patienten; die Entstehung dieser Ak. glaubt aber auch CHYTILOVA darin sehen zu müssen, daß Gewebeanteile der Haut zuerst durch Infektion oder Trauma ihre Eiweißstruktur verändern würden, um Auto-Ag.-Charakter annehmen zu können. Den Befunden von CHYTILOVA entsprechen in etwa die Untersuchungsergebnisse von WAGNER und TOMSIKOVÁ, denen mit Hilfe von Hefen eine Sensibilisierung gegen ein homologes Haut-Ag. gelang; es war ihnen aber nicht möglich, Gewebsveränderungen bei den so immunisierten Tieren aufzudecken.

Wenn aber gegen Extrakte aus verbrannter Kaninchenhaut Iso- und Auto-Antikörper besonders auch serologisch nachgewiesen werden konnten, so muß in diesen Extrakt der Träger der Antigenität, eben das Verbrennungsantigen verborgen sein, mit denen die genannten Antikörper reagieren können. Wenden wir uns jetzt von den Antikörpern ab und betrachten dieses *Verbrennungs-Ag.*,

so stellt der Mangel an Präcipitationsfähigkeit der spezifischen Ak. ein Hindernis zur Aufdeckung einer etwaigen Antigenvielfalt, sei es des Iso-Ag. oder des Auto-Ag. aus verbrannter Haut, dar. Handelt es sich doch bekanntlich bei der Agarpräcipitationsmethode, die ja nur bei Anwesenheit von präcipitierenden Ak. möglich ist, um ein sehr geeignetes Verfahren, um die Einzahl — als Ausdruck der Homogenität — oder die Vielzahl — als Ausdruck der Heterogenität — von antigenen Determinanten innerhalb eines Ag. durch die Einzahl- oder Vielzahl der Präcipitatlinien zu bestimmen. Zur Klarifizierung der Antigenität sind wir deshalb auf indirekte Methoden angewiesen.

So kann auf Grund des Ergebnisses bei dem Ossermanschen doppelten Diffusionssystem der immunoelektrophoretischen Analyse vom Verbrennungs- (Iso- oder Auto-) Ag. ausgesagt werden, daß in den von uns als Ag. verwandten Extraktlösungen reichliche Serumweißkörper, z. B. Albumin, Transferrin und γ -Globulin sich befinden. Darüber hinaus müssen aber die Extraktlösungen noch Gewebeeiweiße enthalten. Hierfür spricht der Ausfall der immunohistologischen Untersuchungsmethode. Konnte doch mit der Methode von COONS und KAPLAN wahrscheinlich gemacht werden, daß Antikörper nach Verbrennung gegen die Wandungen kleiner Blutgefäße und besonders die der Capillaren in den Lungen und Nierenkörperchen gerichtet sind. Sicherlich stammt aber der primäre antigenen Impuls bei einer solchen Ausrichtung der Antikörper nicht etwa von den Wandungen der Lungencapillaren, die ja doch primär durch die Verbrennung in unseren Versuchen nicht geschädigt worden waren. Vielmehr muß die antigenen Stimulierung in den kleinen Gefäßen der verbrannten Haut zu suchen sein. Eine solche, gewissermaßen gekreuzte Reaktion zwischen Ak., die primär etwa gegen Hautcapillaren gerichtet sind, mit hautfernen Capillaren ist uns im übertragenen Sinne von der experimentellen Glomerulitis geläufig (ROTHER und SARRE). Richten sich doch die für die Erzeugung einer Masugi-Nephritis heterolog gewonnenen Ak. gegen Glomerulumschlingen der Niere auch gegen die Wandungen kleiner Blutgefäße etwa in Leber und Lunge.

Nach diesen Überlegungen würde also der Niederschlag der hier in Rede stehenden Verbrennungs-Ak. im Bereiche der Wandungen von Organgefäßen der Kaninchen durchaus mit der Annahme vereinbar sein, daß nach Verbrennungen die Wandungen der kleinen Blutgefäße in den verbrannten Hautpartien einen antigenen Charakter auf Grund der Hitzedenaturierung ihres Eiweißes annehmen können. Mit diesen Beobachtungen und Überlegungen ist jedoch die Frage nach den einzelnen antigenen Substraten bei der Verbrennungsmunologie in keiner Weise endgültig geklärt; sie bleibt Ziel weiterer Untersuchungen [s. a. JEANJEAN und SIMONART (1962), SIMONART (1962)].

Unsere Untersuchungen waren nun vornehmlich mit dem Gedanken begonnen worden zu klären, inwieweit Ak. nach Verbrennung in der Lage sein können, Gewebe zu schädigen, d. h. also, im Rahmen eines immunopathologischen Geschehens einen cytotoxischen Effekt auszulösen. Tatsächlich konnten weniger bei allen mit Verbrennungs-Iso-Ag. behandelten (s. Versuchsgruppe I) Kaninchen, aber deutlich verstärkt bei — 12 von 15 überlebenden — Kaninchen nach Verbrennung ihrer eigenen Haut (s. Versuchsgruppe II) rundzellige Infiltration der Lungensepten — etwa im Sinne einer interstitiellen Pneumonie — gefunden werden. Außerdem zeigten dann gleichzeitig die Glomerula der Nieren

eine Zellvermehrung recht blutleerer Schlingen wie bei einer Glomerulitis. Dabei hatte nun die immunohistologische Methode nach COONS und KAPLAN es wahrscheinlich gemacht, daß Antikörper gegen verbrannte Haut sich dort, d. h. im Bereich der Capillarwandungen in den intraalveolären Septen der Lunge und der Wandungen von Glomerulumschlingen in den Nieren, besonders reichlich niedergeschlagen hatten. Damit würde eine ausgesprochene Kongruenz der Befunde vorliegen, d. h. auf die Stelle des offenbar stärksten Antikörperniederschlags im Gewebe wären die wesentlichen krankhaften Veränderungen bei den Versuchstieren beschränkt. Ein bevorzugter Befall von Lungencapillaren und Glomerulumschlingen würde im übrigen bei der starken Durchblutung dieser capillarreichen Gebiete durchaus einleuchten. Betrachtet man weiter die geschilderten Veränderungen bei den Versuchstieren im einzelnen, so sind sie zwar am stärksten bei den Tieren der Versuchsgruppe, die eine Eigenverbrennung überlebt hatten, jedoch stets unabhängig in ihrer Ausprägung von der Titerhöhe der serologischen Reaktionen, um allerdings bei den Kontrollversuchen — mit ihren negativen serologischen Resultaten — zu fehlen.

Für die krankhaften Veränderungen in den Lungen und Nieren muß einstweilen die Frage offen bleiben, ob sie rückbildungsfähige Erscheinungen oder den Beginn einer chronischen Erkrankung darstellen. Für die Rückbildungsfähigkeit spricht, daß eine chronische Glomerulitis nach Verbrennung bei Menschen relativ selten, eine interstitielle Pneumonie kaum bekannt werden. Wohl hat auf Glomerulumveränderungen bei Spättodesfällen nach Verbrennung bereits 1940 ZINCK (l. c. S. 220) hingewiesen; so stammen als Beispiel die von ihm in Abb. 41 (l. c. S. 114) gezeigten Glomerulumschäden von einem Patienten, der nicht akut, sondern erst am 29. Tag nach Verbrennung verstorben war; in einer solchen Zeit könnten sehr wohl Auto-Ak. gegen Verbrennungs-Auto-Ag. bereits gebildet und pathogenetisch wirksam geworden sein.

Das durchaus nicht obligate Auftreten einer Gewebsschädigung, wie hier der Glomerulitis nach Verbrennung, trotz Anwesenheit von spezifischen, gegebenenfalls also cytotoxischen Ak. ist von anderen sog. auto-allergischen Erkrankungen des Menschen genügend bekannt. So kennen wir für die Schilddrüse zahlreiche Fälle, bei denen hohe Antikörpertiter gegen Schilddrüseneiweiß vorliegen; und dennoch lassen sich weder klinisch noch pathologisch-anatomisch Anhaltspunkte für einen wesentlichen krankhaften Schilddrüsenbefund erheben (s. HILL). Im gleichen Sinne sprechen für die Verbrennungskrankheit auch die Untersuchungsergebnisse von KUSKO (1961); KUSKO konnte nämlich nach Verbrennung bei Menschen Auto-Ak. gegen Erythrocyten mittels des indirekten Coombs-Testes nachweisen; gleichzeitig bestand bei diesen Patienten aber keine hämolytische Anämie.

Damit mündet das Problem der hier in Rede stehenden, für den Menschen offenbar nur fakultativ cytotoxischen Verbrennungsantikörper in das der gegen Gewebe gerichteten Auto-Antikörper überhaupt. Bis heute ist dieses Problem keinesfalls geklärt (GRABAR, WITEBSKY); zu seiner Abklärung für die Verbrennungskrankheit wäre es nützlich, eine große Anzahl menschlicher Spättodesfälle nach Verbrennung auf spezifische Auto-Ak. zu untersuchen und dabei betont etwa auf Lungen- und Nierenveränderungen zu achten. Sollten sich dabei auch reichliche Auto-Ak.-Titer bei Fehlen von Organveränderungen nachweisen

lassen, so könnten sich als eine mögliche Erklärung dieses Problems kürzlich von HAVERKAMP (1, 2, 3, 5) angegebene Befunde für die Immunopathologie der Schilddrüse und der Speicheldrüse anbieten. HAVERKAMP konnte nämlich feststellen, daß — allerdings heterolog gewonnene — Ak. gegen Rattenspeichel-drüseneiweiß nach ihrer i. v.-Injektion keine krankhafte Schädigung dieser Organe bedingten. Injizierte man aber nach einer solchen Ak.-Injektion 24 Std später entweder das zugehörige Ag., d. h. einen Extrakt aus diesen Organen, oder aber ein Fremdeiweiß, so waren bis zum 21. Tage, an denen die Tiere getötet worden waren, wesentliche krankhafte Veränderungen in Speicheldrüsen bzw. Schilddrüsen nachweisbar.

Möglicherweise spielen ähnliche, zusätzliche Momente für die pathogene Wirksamkeit von Verbrennungs-Ak. eine Rolle. Wenn auch in der Niere allein mit spezifischen — heterologen — Ak. — in einem sog. nephrotoxischen Serum — eine Glomerulumschädigung, d. h. eine Nephritis (MASUGI) erzeugt werden kann, so hat doch LETTERER darauf hingewiesen, daß das Modell der Masugi-Nephritis mit seinen heterologen Ak. nicht in der Lage ist, uns restlos die Entstehung einer Glomerulonephritis als Folge einer spezifischen Auto-Ak.-Einwirkung zu erklären; ist doch u. U. ein heterologes, artfremdes γ -Globulin, das überhaupt keine Antikörper gegen Nierengewebe enthält, allein schon in der Lage, eine Nephritis zu erzeugen (MORE u. WAUGH).

Überblickt man nun abschließend die vorliegenden tierexperimentellen Befunde und setzt sie in Vergleich mit der menschlichen Pathologie und hier insbesondere mit dem eingangs zitierten, von HAVERKAMP (4) beschriebenen Fall eines 17jährigen Jungen, der $1\frac{1}{2}$ Jahre nach einer nicht abheilenden Hautverbrennung bei serologisch und immunohistologisch nachzuweisenden Verbrennungs-Ak. an einer chronischen Periglomerulitis verstirbt — einem Erkrankungsbild, das stets höchst verdächtig auf eine Entstehung im Rahmen eines immunopathologischen Geschehens ist (Literatur s. BÄCKER) —, so muß vorerst vor einer Transfusion von Verbrennungs-Rekonvaleszentenserum auf frisch Verbrannte gewarnt werden. Besteht doch sonst durchaus die Möglichkeit, daß durch diese Übertragung zusätzliche Verbrennungsantikörper mit einer — zumindest fraglichen, fakultativen oder partiellen — cytotoxischen Potenz übertransfundierte werden. Damit wäre aber eine solche Immuntherapie nicht nur wegen Erfolglosigkeit [s. KOSLOWSKI (2) 1963] vorerst abzulehnen. Dies schließt jedoch keinesfalls aus, daß weitere immunopathologische Untersuchungen nicht doch die Brauchbarkeit einer Immuntherapie etwa in den ersten Tagen nach einer Verbrennung zur Fixierung der akut im Blute kreisenden sog. Verbrennungstoxine rechtfertigen. Darüber hinaus müßten zusätzliche Untersuchungen mit weitgehend gereinigten spezifischen Antikörpern nach Verbrennungen eine tatsächliche cytotoxische Wirkung dieser Antikörper beweisen, die bisher nur durch den Kongruenzbefund wahrscheinlich ist, indem auf die Stelle des offenbar stärksten Antikörperniederschlages im Gewebe die wesentlichen krankhaften Veränderungen bei unseren Versuchstieren beschränkt waren.

Zusammenfassung

Nach vorliegenden Untersuchungen erscheint die Berechtigung zu immunopathologischen Überlegungen für die Verbrennungskrankheit durchaus gegeben

zu sein, da nach einer Hautverbrennung serologisch nachweisbare Antikörper offenbar besonders stark gegen die Wandungen kleinerer Blutgefäße gerichtet sind und damit in stark durchbluteten und capillarreichen Organen (Nieren, Lungen) die Entstehung von schockunabhängigen Verbrennungsschäden einleiten können. Diese immuno-pathologischen Überlegungen für die Verbrennungs-krankheit stellen ein Teilproblem der Immunopathologie überhaupt dar, das als Ganzes bis heute noch keinesfalls geklärt ist. Die bisher vorliegenden immuno-pathologischen Befunde gestatten es *vorerst* nicht, eine Immuntherapie der Verbrennungs-krankheit mit Rekonvaleszentenserum von Verbrannten zu befürworten.

Experimental Studies on the Pathogenetic Importance of Specific Iso- and Auto-antibodies after Injury by Burns

Summary

From the studies presented here it seems justified to regard some of the systemic effects of burns to be of immunopathologic nature. After cutaneous burns antibodies may be detected serologically which are directed especially against the walls of small blood vessels; in well vascularized organs (kidneys, lungs), these antibodies may produce injury independent of shock. These considerations of the immunopathologic nature of the post-burn illness represent only a part of the entire problem of immunopathology which to date remains incompletely understood. The immunopathologic results presented here, however, do not permit one to advocate using convalescent serum from burned patients for the immune therapy of the post-burn illness.

Literatur

- ALLGÖWER, M., u. J. SIEGRIST: Verbrennungen. Pathophysiologie-Pathologie-Klinik-Therapie. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1957.
- AETURSON, GÖSTA: Pathophysiological aspects of the burn syndrome. Acta chir. scand., Suppl. 274 (1961).
- BÄCKER, F.: Zur Pathologie der Periglomerulitis granulomatosa. Verh. Dtsch. Ges. Path. 45. Tgg 1961, S. 326—329.
- BERNARD, E.: Experimenteller Beitrag zur Frage des Spättodes bei Verbrennung. Z. ges. exp. Med. 98, 278—294 (1936).
- CHYTILLOVA, M.: Auto-antibodies as the cause of breakdown of the autograft and of the provocation of auto-immune disease. Trans. Internat. Soc. Plastic Surg. 2. Congr. 1960, S. 471—473.
- DUVAL, D.: Zit. nach KOSLOWSKI (1).
- Editorial: Autoimmunity and immunotransfusion in burns. Lancet 1961 I, 205—206.
- FEODOROV, N. A.: Über die Verbrennungs-krankheit. Tez. dokl. 2 — j Vsesojuzn. konf. pathofiziol., Kiev 1956, S. 385.
- , u. S. V. SKURKOVIĆ: Über die Verbrennungs-krankheit. Chirurgija 9, 48—54 (1955).
- GODFRAIND, T.: La toxicité des peptides pour le lapin. Arch. int. Pharmacodyn. 121, 329—341 (1959).
- GRAEBER, P.: Grundbegriffe der Immunologie. In: Immunopathologie in Klinik und Forschung von P. MIESCHER u. K. O. VORLAENDER, 2. Aufl., S. 1—61. Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- GREUER, W.: Studien zur Biologie und Therapie des Verbrennungsschadens. Bruns' Beitr. klin. Chir. 177, 213—228 (1948).
- HABELMANN, G.: Zur Früherfassung und Therapie postoperativer Allgemeinreaktionen. Langenbecks Arch. klin. Chir. 282, 57—61 (1955).

- HAFERKAMP, O.: (1) Immunoparotitis im Tierexperiment. *Verh. dtsch. Ges. inn. Med.* **67**, 722—726 (1961).
 — (2) Ein tierexperimenteller Beitrag zur Immunopathologie der Speicheldrüsen. *Virchows Arch. path. Anat.* **335**, 298—322 (1962).
 — (3) Tierexperimentelle Untersuchungen zur Immunopathologie der Schilddrüse. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **46**, 149—151 (1962).
 — (4) Experimentelle immunohistologische Untersuchungen bei der Verbrennungskrankheit. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **301**, 118—122 (1962).
 — (5) Pathologisch-anatomische Überlegungen zur Diagnostik einer autoantikörperbedingten Thyreoiditis unter Berücksichtigung klinischer und serologischer Befunde. *Dtsch. med. Wschr.* **88**, 1275—1281 (1963).
- HEMPTINNE, A. DE, et P. GAUTHIER: Destruction des globules rouges après brûlure. *Rev. belge Path.* **28**, 358—364 (1961).
- HEYDE u. VOGT: Studien über die Wirkung des aseptischen chirurgischen Gewebszerfalles und Versuche über die Ursachen des Verbrennungstodes. *Z. ges. exp. Med.* **1**, 59—104 (1913).
- HILL, O. W.: Thyroglobulin antibodies in 1297 patients without thyroid disease. *Brit. med. J.* **1961 I**, 1793—1796.
- JEANJEAN, M., et A. SIMONART: Infection et toxicité de l'oedème de brûlure. *Rev. belge Path.* **28**, 397—406 (1962).
- KOSLOWSKI, L.: (1) Autolyse-Krankheiten in der Chirurgie. Stuttgart: Georg Thieme 1959.
 — (2) Die Verbrennungskrankheit. *Dtsch. med. Wschr.* **88**, 233—239 (1963).
 —, u. B. URBASCHEK: Zur Frage der immunologischen Umstimmung und der Schutzwirkung von Rekonvaleszenten-Serum nach Verbrennungen. *Klin. Wschr.* **40**, 853—854 (1962).
- KUŠKO, O. V.: Die Bedeutung der Autoimmunisierung für die Entwicklung der Verbrennungs-Krankheit. *Vračebnōe delo* (Kiev) **H. 3**, 3—7 (1961).
- LETTIERER, E.: Zur Deutung der Masugi-Nephritis als allergisch-hyperergisches Phänomen. *Dtsch. med. Wschr.* **78**, 512—514 (1953).
- MALM, O. J., and G. J. M. ŚLAWIKOSKI: Evaluation of different types of convalescent burn serum in the rat. *Research in Burns*, Publication No 9, Amer. Inst. biol. Sci. 1962, S. 282—290.
- MORE, H. R., and D. WAUGH: Diffuse glomerulonephritis product in rabbits by massive injections of bovine serum γ -globulins. *J. exp. Med.* **89**, 541—553 (1949).
- MOURGUE-MOLINES, M. M.: Zit. nach KOSLOWSKI (1).
- NAKAIGAWA, SH.: Experimentelle Untersuchungen über das Verhalten des reticuloendothelialen Systems bei Verbrennungen. *Mitt. allg. Path. (Sendai)* **9**, 125—178 (1937).
- OSSERMAN, E. F.: A modified technique of immunoelectrophoresis facilitating the identification of specific precipitin arcs. *J. Immunol.* **84**, 93—97 (1960).
- PAVKOVA, L., u. J. DOLEZALOVA: Zit. nach Editorial in *Lancet* **1961**, I, 205—206.
- PEYRER, K.: Zur Frage der Zerfallstoxikosen. *Wien. klin. Wschr.* Nr 49, 868—870 (1923).
- PFEIFFER, H.: Die Eiweißzerfallsvergiftungen. *Krankheitsforschung* **1**, 407—444 (1925).
- PUSHKAR, L. I.: Zit. nach Editorial in *Lancet* **1961** I, 205—206.
- REHN, J.: Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pathogenese der Verbrennungskrankheit. I. *Mitt. Arzneimittel-Forsch.* **7**, 637—649 (1957).
- ROSENBAUM, M. J., L. F. MILLER, B. SULLIVAN and S. R. ROSENTHAL: Inhibitory and antiinhibitory factors in acute and healed burn sera by tissue culture technic. *Fed. Proc.* **19**, 357 (1960).
- ROSENTHAL, S. R.: Neutralization of histamine and burned toxin. *Ann. Surg.* **106**, 257—265 (1937).
 — Substances released from the skin following thermal injury. „Burn toxin“. *Surgery* **46**, 932—947 (1959).
 — L. BAER and B. HAGEL: Failure to sensitize to autologous skin. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **97**, 279—281 (1958).
 — J. B. HARTNEY and W. A. SPURRIER: The „toxin-antitoxin“ phenomenon in burned and injured human subjects. *J. Amer. med. Ass.* **174**, 957—965 (1960).

- ROSENTHAL, S. R., F. R. HUNTER, F. J. FINAMORE and I. N. ROMAN: On an *in vivo* method of collection of diffusates from skin. Thermal and radiation injury. Arch. int. Pharmacodyn. **126**, 43—55 (1960).
- CH. SAMET, R. J. WINZLER and S. SHKOLNIK: Substances released from the skin following thermal injury. I. Histamine and proteins. J. clin. Invest. **36**, 38—43 (1957).
- W. A. SPURRIER and A. B. GOODMAN: „Toxin-antitoxin“ phenomena in injured animals and men. (Thermal, radiation, and physical injury.) Fed. Proc. **19**, 195 (1960).
- , and H. TRAHAN: „Burn toxin“; absorption from burn site. Fed. Proc. **16**, 370 (1957).
- T. WARD, L. LINDHOLM and W. A. SPURRIER: „Toxin-antitoxin“ phenomena in burned or injured germfree rats and mice. Fed. Proc. **20**, 32 (1961).
- ROTHER, K., u. H. SARRE: Immunologische Untersuchungen bei Nieren- und Gefäßerkrankungen. In: Immunopathologie in Klinik und Forschung von P. MIESCHER u. K. O. VORLAENDER, 2. Aufl., S. 321—369. Stuttgart: Georg Thieme 1961.
- RUDNICKAJA, M. Z., u. S. V. SKURKOVIC: Elektrophoretische Untersuchung von Verbrennungs-Antiserum. Pat. Fiziol. éksp. Ter. **6**, 84 (1962).
- SCHÜTZ, F.: Ricerche sperimentali sulle scottature della pelle. Tentativo di sieroterapia delle ustioni. Boll. Ist. sieroter. milan **13**, 253—265 (1934).
- SIMONART, A. J. L.: Survival after lethal burn of previously treated rabbits. Research in burns. Publications Nr. 9, Amer. Inst. Biol. Sci. 1962, S. 255—260.
- WAGNER, V., u. A. TOMŠIKOVÁ: Ein experimenteller Beitrag zur Autoimmunisierfähigkeit von Hefen mit Hautantigen bei Ratten. Z. Immun.-Forsch. **119**, 270—278 (1960).
- WERTHEMANN, A., u. W. ROESSIGER: Über gewebliche Veränderungen bei wiederholten mehrzeitigen Verbrennungen der Haut der weißen Maus. Z. ges. exp. Med. **73**, 631—644 (1930).
- WILMS, M.: Studien zur Pathologie der Verbrennung. Die Ursache des Todes nach ausgedehnter Hautverbrennung. Mitt. Grenzgeb. Med. Chir. **8**, 393—442 (1901).
- ZAEC, T. L.: Die Biochemie der Verbrennungskrankheit. Pat. Fiziol. i. éksp. Ter. **6**, 76—82 (1962).
- ZINCK, K. H.: Pathologische Anatomie der Verbrennung. Veröff. Konstit. Wehrpath. H. **46**. 1940.

Priv.-Doz. Dr. O. HAERKAMP,
Oberassistent des Pathologischen Instituts der Universität Bonn,
53 Bonn-Venusberg