

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

Experimentelle Untersuchungen über eine Allergie vom verzögerten Typ nach Verbrennung und ihre homologe Übertragung*

Von

O. HAFERKAMP, H. SCHÄFER, H. ASAMER, G. FINGER und H. WEGNER

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. August 1964)

In früheren serologischen und immunhistologischen Untersuchungen (HAFERKAMP; HAFERKAMP, SCHÄFER, HENRIQUEZ, FINGER, MARTINEZ und YOSHIDA) gelang uns bei einem menschlichen Obduktionsfall und experimentell bei Kaninchen der Nachweis von offenbar spezifischen, humoralen Iso- und Auto-Antikörpern nach Hautverbrennungen. Wenn auch bei diesen Untersuchungen die Stellen des — allerdings nur am γ -Globulin-Nachweis gemessenen — stärksten Antikörperniederschlag im Gewebe sich mit den Lokalisationen der wesentlichen krankhaften Veränderungen bei den Versuchstieren deckten, so konnten aus diesen Befunden keinesfalls sichere Rückschlüsse auf die alleinige und obligate pathogenetische Bedeutung der hier in Rede stehenden humoralen — und damit dem γ -Globulinsystem zugehörigen — Antikörper gezogen werden. Vielmehr mündete das Problem dieser Iso- und Autoantikörper nach Verbrennung in das der gegen körpereigenes Eiweiß und Gewebe gerichteten Iso- und Autoantikörper (Iso- und Auto-Allergie) überhaupt. Nun ist in den letzten Jahren als Erklärung für die Entstehung einer auto-allergischen Erkrankung ein weiteres immunologisches System herangezogen worden, nämlich das der Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ (= Allergie vom verzögerten Typ RICH, BRAUNSTEINER) (s. GRABAR und MIESCHER l.c. S. 193—203). Dieses System zeichnet sich durch gewebs- und zellgebundene, sog. sessile Antikörper aus, deren Zugehörigkeit zum γ -Globulin-Komponentensystem bisher nicht bewiesen werden konnte; ihr Nachweis gelingt überdies nur durch eine sich protrahiert nach einer intradermalen Antigen-Injektion — innerhalb von Stunden und Tagen — entwickelnde Hautreaktion eben vom verzögerten Typ, deren charakteristischer und bekanntester Vertreter die durch eine allergisch-hyperergische Entzündung gekennzeichnete Spätreaktion der Tuberkulinallergie ist (RICH, LETTERER); die Bereitschaft zu einer solchen Allergie vom verzögerten Typ kann dabei von einem spezifisch-sensibilisierten Organismus auf einen nicht sensibilisierten nur durch lebensfähige Zellen des lymphatischen Gewebes (Milz, Lymphknoten), peritoneale Exsudatzellen oder lymphoide Zellen des Blutes homolog übertragen werden (Übersicht bei GRABAR und MIESCHER, l.c. S. 193—203, BRAUNSTEINER). Diese Untersuchungsergebnisse veranlaßten uns nach einer Möglichkeit zu suchen, bei Kaninchen auch nach Hautverbrennungen eine solche Allergie vom verzögerten Typ gegen ein Verbrennungs-Antigen (= wäßriger Extrakt aus Brandwunden) zu erzeugen, durch entsprechende Hautteste nachzuweisen und gegebenenfalls auch durch Zellen des

* Herrn Professor Dr. HERWIG HAMPERL zum 65. Geburtstag gewidmet.

lymphatischen Gewebes, etwa der Milz, auf gesunde, nicht hautverbrannte Tiere zu übertragen. Dabei sollte einstweilen bewußt die Frage vernachlässigt werden, inwieweit solchen sessilen Antikörpern bei der Verbrennungskrankheit eine pathogene Bedeutung zukommt; galt es doch zuerst einmal, ihre Entstehungsmöglichkeit nach Verbrennung überhaupt zu beweisen.

Methodik

Als Versuchstiere dienten Hauskaninchen (nur zum kleineren Teil eigener Zucht) beiderlei Geschlechts im Alter von $\frac{1}{2}$ Jahr und 3—3,5 kg Gewicht. Die Tiere wurden mit BroVo-Spezialtrockenfutter gefüttert.

I. Erzeugung einer Allergie vom verzögerten Typ bei Kaninchen nach Hautverbrennung und ihr Nachweis durch intradermale Injektion eines wäßrigen Extraktes aus der verbrannten Haut (Verbrennungs-Antigen = Ag)

1. Verbrennung von Kaninchenhaut. An 20 Kaninchen wurde an drei rasierten Stellen für — je nach Hautstärke — 30—45 sec in tiefer Narkose die Rückenhaut in einem 3,5 cm im Durchmesser messenden Bezirk mit einem ad hoc hergestellten Behälter mit auf 100° C erhitztem Öl (Ø 3,5 cm) verbrannt. Am 2. Tag nach der Verbrennung erhielt jedes Tier intramuskulär 0,5 ml kompl. Freundsches Adjuvans.

2. Herstellung eines wäßrigen Extraktes aus der verbrannten Kaninchenhaut (= Ag). 24 Std nach der Verbrennung wurden den 19 Tieren (eines war gestorben) zwei der drei verbrannten Hautstellen bis zur Grenze der Verbrennungsreaktion operativ entfernt; bei keinem der Tiere trat eine nennenswerte Vereiterung dieser Stelle und der belassenen Verbrennungswunde ein. Eines der beiden Hautstücke wurde dann als Reserve gefriergetrocknet, das zweite sogleich zur Antigenherstellung verwandt. Für die Hautproben wurde stets nur das Antigen verwandt, das von dem zu testenden Tier stammte. Die Antigenherstellung wurde wie bei den früheren Untersuchungen durchgeführt (s. HAFERKAMP u. Mitarb., Virch. Arch. 337, S. 67 und 68). Der Eiweißgehalt der Antigenextrakte schwankte bei den 19 Tieren zwischen 40 und 500 mg-% nach KJEHLDAL.

3. Auslösung der Reaktion vom verzögerten Typ gegen das Verbrennungsantigen. Zwischen dem 59. und dem 80. Tage nach Versuchsbeginn erhielten 8 der 19 Kaninchen — am Eiweißgehalt (nach KJEHLDAL) gemessen — 1 mg, 5 dieser Tiere 0,1 mg und schließlich 6 der Kaninchen 0,01 mg ihres Verbrennungsantigens in jeweils 0,1 ml physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,2) intradermal in eine vorher rasierte Rückenhautpartie injiziert.

Diese „Standard“-Konzentrationen wurden — bei dem unterschiedlichen Eiweißgehalt der einzelnen Antigenlösungen — dadurch erreicht, daß zuerst — zur Salzbefreiung — die Lösungen gegen Aqua dest. 24 Std dialysierten, um dann — 14—18 Std — gefriergetrocknet zu werden; von dem getrockneten Antigensubstrat wurden dann die 1,0, 0,1 bzw. 0,01 mg in 0,1 ml der physiologischen Kochsalzlösung (pH 7,2) entsprechend gelöst.

Die Reaktionen wurden nach 6 Std, 24 Std sowie wieder nach 48 Std abgelesen; die eigentliche Bewertung (s. Tabelle 1) geschah bei der Ablesung des Erythems und der Induration 24 Std nach der intradermalen Antigen-Injektion mit folgender Klassifizierung der Reaktion: Negative Reaktion: Erythem *ohne* Induration; „+“-Reaktion: Induration und Erythem zwischen 5 und 10 mm — im Durchschnitt — mit Vergrößerung der doppelten Hautfalte zwischen 1—2 mm; für „++“-Reaktion: Induration und Erythem 10—20 mm und Vergrößerung der doppelten Hautfalte zwischen 2—5 mm; für „+++“-Reaktion: Induration und Erythem mehr als 20 mm mit Vergrößerung der doppelten Hautfalte von mehr als 5 mm, wobei bei einem „+++“-Reaktionsfall im Zentrum der Reaktion eine fast knotenförmige Verdichtung von grau-gelber Farbe in der Regel sichtbar wird. Dabei wurde betont darauf geachtet, daß bei der Vergrößerung des Durchschnitts der doppelten Hautfalte eine kräftige Verhärtung (Induration) vorlag; bei fehlender Induration wurde die Reaktion stets „negativ“ (Ø) bewertet.

4. Kontrollen. Intradermal wurde in die rasierte Rückenhaut 1 mg Verbrennungs-Ag (in 0,1 ml) bei 14 nicht verbrannten Kaninchen, 0,1 mg Verbrennungs-Ag (in 0,1 ml) bei

9 und 0,01 mg Verbrennungs-Ag (in 0,1 ml) bei 10 nicht hautverbrannten Kaninchen injiziert. Die Ablesung und Bewertung der Hautreaktion geschahen wie bei den Tieren mit der vorangegangenen Hautverbrennung.

5. Serologischer Antikörpernachweis. Von Serumproben, die am 50. Tage nach Versuchsbeginn gewonnen worden waren, wurde die passive Hämagglutination, von dem Serum bei der Entblutung der Tiere zur Übertragung der Allergie vom verzögerten Typ (s. II) wurden zusätzlich der Agar-Präzipitationstest (OUCHTERLONY) (Ausführung wie bei HAFERKAMP u. Mitarb. l.c. S. 70) und die immunoelektrophoretische Analyse (s. HAFERKAMP u. Mitarb. l.c. S. 70 und 72) zum Nachweis spezifischer humoraler Antikörper gegen Verbrennungsantigen durchgeführt. Im Gegensatz zu den früheren eigenen Untersuchungen (1963) gelangte die Hämagglutination in der Modifikation nach STAVITZKY mit der hierbei üblichen makroskopischen Beurteilung der Agglutinationen — an Hand des von STAVITZKY aufgestellten „Agglutinationsbildes“ am Grunde des Reagensröhrchens — zur Anwendung. Dadurch erhielten wir bei der Beurteilung der Agglutination geringere Titerstufen als bei den früheren Untersuchungen. Bei den Kontrollen wurde die passive Hämagglutination wie bei den früheren Untersuchungen (1963: l.c. S. 70) durchgeführt.

II. Homologe Übertragung der Allergie vom verzögerten Typ gegen Verbrennungs-Ag von den hautverbrannten Kaninchen auf gesunde, nicht hautverbrannte Kaninchen

Vorbemerkung: Die Übertragung erwies sich als schwierig, als wir versuchten, nach dem ursprünglichen Schema von LANDSTEINER und CHASE zu verfahren; hierbei werden bekanntlich lymphoide Zellen intravenös übertragen und das betreffende Antigen intradermal injiziert, wofür aber ca. 1×10^9 lebensfähige Zellen notwendig sind. Da wir von jedem spendenden Tier die Milzzellen auf vier Empfängertiere — einschließlich zweier „Kontrollen“ — übertragen wollten, hätten wir also insgesamt 4×10^9 lebensfähige Zellen benötigt. Eine so hohe Zahl lebensfähiger lymphoider Zellen konnten wir aber von einer Kaninchenmilz nicht gewinnen. Wir verwendeten daher die Methode von METAXAS und METAXAS-BUEHLER für die wesentlich weniger lebensfähige Zellen (ca. $5\text{--}20 \times 10^6$) notwendig sind. METAXAS und METAXAS-BUEHLER kehrten bekanntlich das ursprüngliche Übertragungsverfahren von LANDSTEINER und CHASE um, indem sie die zu übertragenden Zellen intradermal, das Antigen aber intravenös injizierten.

Bei der Vielzahl der Tiere konnten im übrigen die Übertragungsversuche erst im Laufe von mehreren Wochen zu Ende geführt werden, so daß in den einzelnen Versuchsgruppen unterschiedliche Zeiten zwischen der Auslösung der Reaktion vom verzögerten Typ gegen Verbrennungs-Ag bei den hautverbrannten Tieren und der Übertragung dieser Reaktion auf gesunde Tiere vorliegen (s. Tabelle 2). Diese zeitlich divergierende Versuchsanordnung konnte jedoch aus technischen Gründen nicht umgangen werden.

1. Gewinnung lebensfähiger lymphoider Milzzellen von den hautverbrannten Kaninchen.

Die 19 hautverbrannten und getesteten Kaninchen wurden entblutet, das Serum für die serologischen Reaktionen konserviert. Anschließend wurde möglichst steril die Milz entnommen, dekapsuliert und das Parenchym nach Zerstückelung durch eine Embryonenpresse gedrückt; die ausgepreßten Zellen wurden in reichlicher Tyrode-Lösung — mit einem Teil Liquemin (La Roche) auf 1000 Teile Tyrode-Lösung — suspensiert und gründlich gewaschen. Anschließend wurde 10 min bei 2500 U/min zentrifugiert und erneut das Zellsediment in der erwähnten Tyrode-Lösung aufgeschwemmt und gewaschen. Dieser Vorgang wurde noch dreimal wiederholt. 1 ml des schließlich viermal gewaschenen Sediments wurde dann in 1 ml der verwendeten Tyrode-Lösung resuspensiert und nach SNEEL mit der Eosin-Methode in einer Zählkammer die genaue Zahl der lebensfähigen lymphoiden Zellen ermittelt. Im Durchschnitt kamen dann 4×10^8 lebensfähige lymphoide Zellen auf 1 ml der Suspension.

2. Injektion der lebensfähigen Milzzellen und des Verbrennungs-Ag. Von einem spendenden Tier erhielten zwei Kaninchen je 0,5 ml mit ca. 2×10^8 Milzzellen intradermal injiziert, und zwar jeweils $2 \times 0,25$ ml — mit je 1×10^8 Zellen — in die beiden rasierten Flanken verteilt; 15 min später injizierten wir — am Eiweißgehalt gemessen — 5 mg des betreffenden Verbrennungs-Ag intravenös.

3. Ablesung der Reaktion. Die Bewertung der Reaktion geschah alleine durch den Nachweis eines Erythems mit Induration um die übertragenen, in der Cutis und Subcutis als

grau-gelbe Masse imponierenden Milzzellenkomplexe. Eine Gradeinteilung, wie sie für die Reaktion vom verzögerten Typ bei den primär hautverbrannten und die Milzzellen spendenden Kaninchen vorgenommen wurde (s. I/3), war hier nicht möglich; die Milzzellen nahmen bei den einzelnen Empfängertieren von sich aus schon so unterschiedlich große und breite Areale ein, daß ein Unterschied im Ausmaß der Hautverdickung nicht als ein Bewertungsindex für die Reaktion genommen werden konnte.

4. Versuch eines immunohistologischen Antigen-Nachweises im Bereiche der Hautreaktionsstellen. 5 mg gefriergetrocknetes Verbrennungs-Ag wurde in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und 0,5 ml Karbonatpuffer (pH 9,0) mit 0,5 mg Fluoresceinisothiocyanat zugefügt. Diese Mischung wurde dann 16—18 Std im Eisschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ gerührt. In einer Sephadex-Säule wurde anschließend dieses Konjugat gereinigt, um dann gegen 0,15 M Kochsalzlösung (pH 7,2) für 3—4 Tage dialysiert zu werden. Anschließend wurde der mit an Fluoresceinisothiocyanat gekoppeltem Verbrennungs-Ag gefüllte Dialysierschlauch nur zu einem Drittel in eine solche, im übrigen mehrfach gewechselte physiologische Kochsalzlösung eingetaucht und im Eisschrank dem Luftstrom eines Ventilators ausgesetzt; es konnte so unter gleichzeitiger weiterer Dialyse durch Verdunstung eine Eindickung der gekoppelten Verbrennungs-Ag-Lösung im Dialysierschlauch erreicht werden, ohne daß der Salzgehalt der Ag-Lösung sich merklich gegenüber dem der physiologischen Kochsalzlösung veränderte. Es wurde so lange eingedickt, bis eine ca. 100mg-%ige Eiweißlösung vorlag. Bei 6 der insgesamt 19 Übertragungsversuchsgruppen wurde dann unter anderem auch eine solche an Fluoresceinisothiocyanat gekoppelte Ag-Lösung bei den Übertragungsversuchen verwandt (s. Tabelle 2), die ebenfalls 5 mg Eiweiß-Gesamtmenge in der Injektionsmenge enthielt. Die fluoreszenzmikroskopischen Untersuchungen entsprachen in der technischen Durchführung den Angaben von HAFERKAMP; die entsprechenden Hautstellen wurden nach Ablesung der Reaktion (s. Tabelle 2) ebenfalls 48 Std nach Beginn des Übertragungsversuches herausgeschnitten und fluoreszenzmikroskopisch untersucht.

5. Kontrollen. Von jedem der zellspendenden hautverbrannten Kaninchen wurden vor der Übertragung einmal 2×10^8 Milzzellen für 15 min von Fall zu Fall unterschiedlich stark (46, 50, 56 oder 69°C ; s. Tabelle 2) erwärmt (Kontrolle 1) sowie 2. — falls genügend Zellen noch zur Verfügung standen — weitere 2×10^8 Milzzellen — bei 12 der insgesamt 19 Übertragungsgruppen — für $\frac{1}{4}$ Std in 5%igem Formalin fixiert und zur Formalinentfernung in Tyrode-Lösung gründlich gewaschen (Kontrolle 2). Bei Kontrolle 1 und 2 konnten dann auch tatsächlich mit der Eosin-Methode (II/1) keine lebensfähigen Milzzellen mehr gefunden werden, da sich praktisch alle Zellen mit Eosin anfärbten. Übertragungsschema wie bei II/1 und 2. In einem 3. Kontrollversuch erhielten 10 Kaninchen lymphoide Milzzellen von 5 gesunden, also *nicht* hautverbrannten Kaninchen nach demselben Schema (s. II/1 und 2) sowie 5 mg eines Verbrennungs-Ag intravenös injiziert.

Ergebnisse

I. Erzeugung einer Allergie vom verzögerten Typ bei Kaninchen nach Hautverbrennung

Alle 19 Versuchstiere zeigten *makroskopisch* (Abb. 1a) bei der Ablesung der Reaktion 24 Std nach der intradermalen Ag-Injektion eine Reaktion in Form eines Erythems mit einer Induration der Haut, die bei den Tieren mit einer Injektion von 1 und 0,1 mg Eiweiß in der Ag-Lösung — mit Ausnahme des Versuchstieres K1 (Injektion von 1 mg Ag-Eiweiß) und K11 (Injektion von 0,1 mg Ag-Eiweiß) — als dreifach positiv („+++“) gewertet werden muß, zumal sich im Zentrum der Reaktion eine fast knotenförmige Verdichtung der Cutis von grau-gelber Farbe nachweisen ließ. Lediglich die Versuchstiere K1 und K11 wiesen zweifach positive („++“) Reaktionen auf. Dem entgegen zeigten die Versuchstiere, die 0,01 mg Ag-Eiweiß in die Haut injiziert erhalten hatten, mit Ausnahme von Versuchstier K17 mit einer zweifach positiven („++“) Reaktion nur eine als einfach positiv („+“) zu bewertende Hautreaktion. Alle diese Haut-

reaktionen wurden bei der laufenden Beobachtung 6 Std nach der Ag-Injektion in Form einer beginnenden Induration und Rötung der Haut nachweisbar.

Bei den 33 Kontrolltieren, d. h. also den vorher nicht hautverbrannten Kaninchen bewirkte die intradermale Verbrennungs-Ag-Injektion ebenfalls eine bereits makroskopisch erfaßbare Hautveränderung, die wesentlich stärker nach der Injektion von 1 mg Antigeneiweiß, geringer nach einer solchen von 0,1 mg und angedeutet nach einer solchen von 0,01 mg sichtbar wurde. Diese bestand aber nur in einer umschriebenen Hyperämie (bis 1 cm Ø) mit ausgesprochen „weicher“ Verbreiterung der Cutis infolge ödematöser Auflockerung der Injektionsstelle. Es fehlte jedoch hier stets die Induration. Darüber hinaus klangen nach 24 Std diese Hautveränderungen bei den Kontrolltieren eher ab, wohingegen das Erythem mit der Induration der Ag-Injektionsstelle bei den hautverbrannten Kaninchen sich bis 48 Std nach dieser Ag-Einverleibung oft noch verstärkten.

Die histologische Untersuchung (Abb. 1 b und c) der Haut im Bereiche des injizierten Verbrennungs-Ag ergab bei den 19 vorher *hautverbrannten Tieren* zwar je nach Grad der makroskopisch feststellbaren Reaktion (Erythem und Induration) im Ausmaß variierende, jedoch nicht in ihrer charakteristischen Eigenart sich verändernde Befunde. So erkennt man in der stark ödematösen Cutis im Bereiche der Ag-Injektion (s. Abb. 1 b) ein zu den tieferen Cutislagen hin mehr diffuses zelliges Infiltrat mit herdförmiger, vorwiegend perivaskulärer Verstärkung; es besteht aus reichlichen Lymphocyten, Histiocyten und monocytoiden

Tabelle I

Tier Nr.	Zeitraum zwischen Versuchsbeginn (Hautverbrennung) und intradermaler Ag-Injektion Tage	Eiweißgehalt der intradermal injizierten Ag-Lösung mg	Bewertung der Reaktion vom verzögerten Typ 24 Std nach der intradermalen Ag-Injektion	Verdünnungstitel der passiven Häm-agglutination (Bewertung nach STAVITZKY)		
				Serumentnahme am 50. Tag nach Versuchsbeginn	Entblutungs-serum	Zeitraum zwischen Versuchsbeginn und Entblutung Tage
1	59	1	++	1:8	1:8	123
2	59	1	+++	1:32	1:8	127
3	59	1	+++	1:8	1:16	121
4	78	1	+++	1:4	1:32	142
5	78	1	+++	1:64	1:8	129
6	78	1	+++	1:16	1:16	108
7	78	1	+++	1:4	1:64	130
8	78	1	+++	1:4	1:16	149
9	79	0,1	+++	1:128	1:16	136
10	79	0,1	+++	1:16	1:32	141
11	79	0,1	++	1:8	1:8	176
12	79	0,1	+++	1:8	1:4	177
13	79	0,1	+++	1:8	1:32	156
14	80	0,01	+	1:16	1:16	165
15	80	0,01	+	1:8	1:16	166
16	80	0,01	+	1:16	1:16	169
17	80	0,01	++	1:16	1:128	178
18	80	0,01	+	1:16	1:64	183
19	80	0,01	+	1:16	1:32	172

Kontrollen an 33 nichtverbrannten Kaninchen

1—14	—	je 1	Ø	Ø	Ø	—
15—23	—	je 0,1	Ø	Ø	Ø	—
24—33	—	je 0,01	Ø	Ø	Ø	—

Zellen neben vereinzelt Makrophagen, die Kerntrümmer in ihrem Cytoplasma speichern. Außerdem liegen hier mehr diffus in unterschiedlicher Dichte eosinophile, jedoch kaum neutrophile Leukocyten vor. Im gesamten Reaktionsbereiche sind die Venen auffallend weit; sie weisen stärker als die kaum erweiterten Ar-

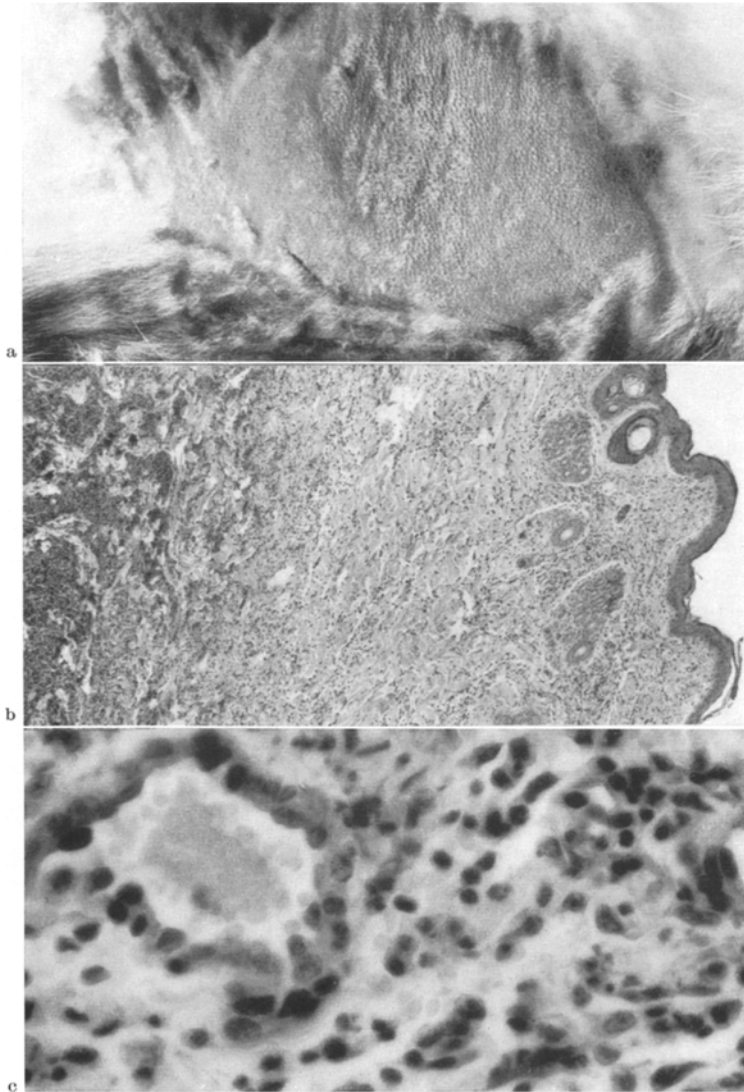


Abb. 1a—c. Starke Hautreaktion nach dem Vorbild einer Reaktion vom verzögerten Typ im Bereiche einer intradermalen Injektionsstelle von — am Eiweißgehalt gemessen — 1 mg Verbrennungs-Ag (Extrakt aus verbrannter Haut des gleichen Tieres) bei einem 61 Tage vor der Injektion an drei umschriebenen Hautstellen verbrannten Kaninchen (Versuchstier-Nr. 3). a Dreifach positive Reaktion mit zentraler, fast knotenförmiger Verdichtung, Erythem und Induration um die Injektionsstelle des Antigens. Natürliche Größe. b Histologischer Schnitt durch das Zentrum der Hautreaktion aus der Abb. 1a mit zur Tiefe und um erweiterte Venen sich verdichtenden, vorwiegend rundzelligen Infiltraten der ödematösen Cutis und Subcutis. Hämatoxylin-Eosin-Färbung (H. E. F.), Vergr. $64\times$. c Bei stärkerer Vergrößerung ($640\times$) identifiziert sich das rundzellige Infiltrat der Abb. 1b als eine perivenös verstärkte Ansammlung von Lymphocyten, monocytoiden Zellen, Histiocyten, weniger eosinophilen Leukocyten und Makrophagen. An erweiterten Venen fällt eine starke Endothelproliferation auf. H. E. F.

terien eine Proliferation und Schwellung ihrer Endothelien auf; ihrer Wandung haften innen gelegentlich eosinophile Leukocyten an. Von dem Zentrum der Injektionsstelle weg lockern sich dann die Infiltrate auf, um sich vor ihrem endgültigen Verschwinden zum Gesunden hin ausschließlich auf das perivenöse Bindegewebe zu beschränken.

Vergleicht man nun die einzelnen Stärkegrade der Reaktionen, die mit „+“, „++“ und „+++“ bewertet wurden, so fällt auf, daß bei Grad „+“ die geschilderten Zellelemente in einer ödematösen Cutis auf die unmittelbare Nachbarschaft erweiterter Venen beschränkt sind, wohingegen bei Stärkegrad „++“ schon ein beginnendes diffuses Infiltrat zur Tiefe der Haut hin sichtbar wird. Schließlich finden sich bei „+++“ im Zentrum der Reaktionszone dicht gepackte, meist die tiefere Hälfte des Corium einnehmende Infiltrate, die aus den monocytoiden Elementen, Histioeyten, Lymphocyten und eosinophile Leukocyten bestehen und der makroskopisch bei dieser Reaktionsstärke nachweisbaren, fast

Tabelle 2

Tier Nr.	Bewertung der Reaktion vom verzögerten Typ bei den hautverbrannten (Milzzellen und Ag spendenden Kaninchen 24 Std nach intradermalen Verbrennungs-Ag-Injektion (s. auch Tabelle 1)	Zeitraum zwischen der Auslösung der Reaktion vom verzögerten Typ bei dem hautverbrannten Tier und ihrer Übertragung auf gesunde Kaninchen Tage	Ergebnis der Übertragungsreaktion (Nachweis von Erythem und Induration der Cutis um die injizierten Milzzellen) bei 2 je 2×10^8 lebensfähige Milzzellen intradermal und ca. 5 mg Verbrennungs-Ag intravenös empfangenden gesunden Kaninchen („F“ = Ag an Fluoresceinisothiocyanat gekoppelt)				Bewertung der Kontrollen, Durchführung des Übertragungsversuches				
			Tier-Nr.	Ergebnis	Tier-Nr.	Ergebnis	1 mit erhitzten Milzzellen			2 mit formalinfixierten Milzzellen	
							Tier Nr.	°C	Ergebnis	Tier-Nr.	Ergebnis
1	++	63	1/1	+	1/2	+	1/K 1	69	Ø	1/K 2	Ø
2	+++	67	2/1	+	2/2	+	2/K 1	69	Ø	2/K 2	Ø
3	+++	61	3/1	+	3/2	+	3/K 1	46	Ø	3/K 2	Ø
4	+++	64	4/1	+	4/2 F	+	4/K 1	46	+	4/K 2	Ø
5	+++	51	5/1	+	5/2	+	5/K 1	69	Ø	5/K 2	Ø
6	+++	30	6/1	+	6/2	+	6/K 1	46	+	6/K 2	Ø
7	+++	52	7/1	+	7/2	+	7/K 1	69	Ø	7/K 2	Ø
8	+++	71	8/1	+	8/2	+	8/K 1	69	Ø	8/K 2	Ø
9	+++	57	9/1	+	9/2	+	9/K 1	69	Ø	9/K 2	Ø
10	+++	62	10/1	+	10/2	+	10/K 1	69	Ø	10/K 2	Ø
11	++	98	11/1	+	11/2	+	11/K 1	50	Ø	—	—
12	+++	99	12/1 F	+	12/2 F	+	12/K 1	50	Ø	—	—
13	+++	76	13/1	+	13/2	+	13/K 1	69	Ø	13/K 2	Ø
14	+	85	14/1	+	14/2	+	14/K 1	69	Ø	14/K 2	Ø
15	+	86	15/1	+	15/2	+	15/K 1	69	Ø	15/K 2	Ø
16	+	89	16/1	+	16/2	+	16/K 1	69	Ø	16/K 2	Ø
17	++	98	17/1 F	+	17/2 F	+	17/K 1	50	Ø	—	—
18	+	103	18/1 F	+	18/2 F	+	—	—	—	—	—
19	+	92	19/1	+	19/2	+	19/K 1	50	Ø	—	—

Kontrolle 3 mit Übertragung von 2×10^8 lebensfähigen Milzzellen von *nicht* hautverbrannten Kaninchen intradermal und ca. 5 mg Verbrennungs-Ag intravenös auf gesunde Kaninchen

N 1		N 1/1	Ø	N 1/2	Ø				
N 2		N 2/1	Ø	N 2/2	Ø				
N 3		N 3/1	Ø	N 3/2	Ø				
N 4		N 4/1	Ø	N 4/2	Ø				
N 5		N 5/1	Ø	N 5/2	Ø				

knötchenförmigen Verdichtung von graugelber Farbe entsprechen dürften. Im übrigen sind Nekrosen selbst bei Stärkegrad „+++“ höchstens beginnend angedeutet.

Bei den Kontrollen ergibt sich *histologisch* im Bereiche der Injektion eines Extraktes aus verbrannter Kaninchenhaut (Verbrennungs-Ag der hautverbrannten Tiere) ein Bild, das in seiner zelligen Strukturierung von dem der Antigen-Injektionsstellen bei den hautverbrannten Tieren stark abweicht. Wohl liegt in der Cutis neben einem Ödem ebenfalls ein zelliges Infiltrat vor; dieses besteht aber vorwiegend aus gelapptkernigen neutrophilen und eosinophilen Leukocyten, die zur Tiefe hin zu absceßartigen Komplexen zusammenfließen können. Weiterhin sind die Endothelproliferationen an den auch hier bei den Kontrollen erweiterten Venen nicht so auffällig; es fehlt im übrigen völlig das monocytoide und lymphocytäre Infiltrat mit seiner perivascularären Betonung.

Die *serologischen Untersuchungen* mit der passiven Hämagglutination nach BOYDEN ergaben für eine Bildung von humoralen Auto-Antikörpern gegen einen nach Verbrennung hergestellten Antigen-Extrakt die in der Tabelle 1 aufgeführten Ergebnisse, wobei bei sämtlichen Kontrollen keine Agglutination sichtbar wurde. Bei dem Agar-Präcipitationstest und der immunoelektrophoretischen Analyse fanden sich bei den 19 Tieren mit der umschriebenen Hautverbrennung keine Anhaltspunkte für präcipitierende Antikörper. Dabei waren im Entblutungs-serum häufig, jedoch nicht immer, die Titerstufen höher als in den am 50. Tag nach Versuchsbeginn (Hautverbrennung) gewonnenen Seren.

II. Homologe Übertragung der Allergie vom verzögerten Typ gegen Verbrennungs-Antigen von den hautverbrannten Kaninchen auf gesunde, nicht hautverbrannte Kaninchen

Wie auch aus Tabelle 2 ersichtlich ist, zeigten alle 38 Kaninchen, die von den hautverbrannten Kaninchen intradermal — auf zwei Hautstellen verteilt — 2×10^8 lebensfähige Milzzellen und gleichzeitig intravenös — am Eiweißgehalt gemessen — ca. 5 mg des entsprechenden Verbrennungs-Ag injiziert erhalten hatten, eine Reaktion in Form eines Erythems und einer Induration der Cutis um die injizierten Milzzellen.

Im einzelnen findet sich bei der *makroskopischen Betrachtung* (Abb. 2a) der herausgeschnittenen Hautstellen mit den injizierten Milzzellen von der Epidermis seite gesehen eine stärkere Erhebung der Cutis mit Induration und Rötung in einem Umfange bis zu 3 cm. Von der Subcutis her liegt hier ein etwas größerer, bis 4 cm im Durchmesser messender Bezirk vor, der im Zentrum einen meist erbsgroßen grau-gelblichen Knoten — entsprechend den injizierten Milzzellen — aufweist und sich durch eine starke Hyperämie mit stark „verhärtendem“ Ödem auszeichnet. Diese Hyperämie wird von einer fleckförmig eingestreuten oder ringförmig den Reaktionsherd begrenzenden Cyanose begleitet. So kann dann auf der Subcutisseite geradezu eine Dreischichtung des Reaktionsbildes sichtbar werden: Einem äußeren cyanotischen Saum ödematösen und verfestigten Gewebes folgt zum Zentrum hin ein eher hellroter Abschnitt bei sonst gleicher Gewebsbeschaffenheit, der schließlich in einen grau-gelblichen, knotigen — den Milzzellen entsprechenden — Bezirk übergeht, in dem erweiterte und blutgefüllte Gefäße verlaufen. Dabei sind besonders die Venen im Bereiche dieser Dreischich-

tung wesentlich stärker mit teils dunkelblaurotem, teils aber auch hellrotem Blut gefüllt.

Im übrigen fand sich bei allen 38 Übertragungsversuchen annähernd das gleiche Ausmaß einer solchen Reaktion um die Milzzellenkomplexe, so daß also auch aus diesem Grunde eine Gradeinteilung des Reaktionsausfalles für die Übertragungsversuche sich erübrigte. Eine Koppelung des Verbrennungs-Ag an Fluorescein-isothiocyanat bedingte keine Abschwächung oder Verstärkung der Reaktion gegenüber den Fällen, bei denen dieses Antigen ohne vorherige Bindung an den Fluoreszenzfarbstoff intravenös injiziert worden war. Die *histologische Untersuchung* (s. Abb. 3a, b und c) des Reaktionsfeldes deckte die injizierten Milzzellen

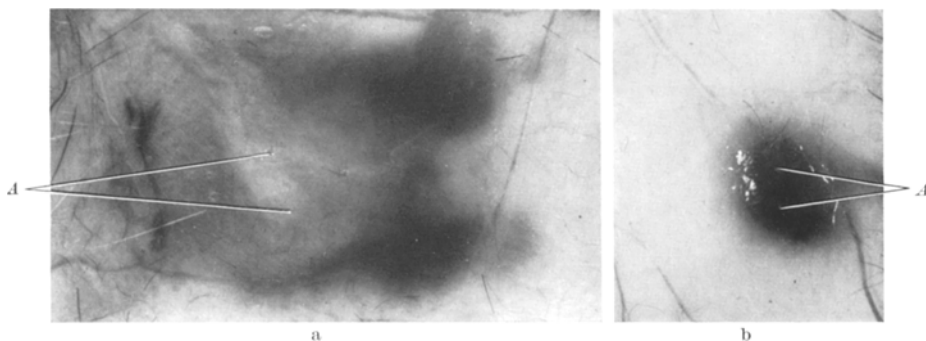


Abb. 2a u. b. Aufnahmen der Subcutis in natürlicher Größe. a Hautreaktion mit Erythem und Induration bei einem nicht hautverbrannten Kaninchen (Versuchstier-Nr. 13/1) um einen intradermal injizierten Milzzellenkomplex (A) von einem hautverbrannten Kaninchen 48 Std nach einer mit der Milzzellenübertragung gleichzeitig vorgenommenen intravenösen Injektion von — am Eiweißgehalt gemessen — 5 mg Verbrennungs-Ag von dem die Milzzellen spendenden (hautverbrannten) Kaninchen. b Kontrolle zu dem Übertragungsversuch der Abb. 2a: Gleiche Versuchsanordnung wie bei Abb. 2a, jedoch nach Erwärmung der Milzzellen auf über 60° C vor der Übertragung. Kein ausgedehntes Erythem und keine Induration um den injizierten Milzzellkomplex. (A) (Versuchstier-Nr. 13/K 1)

entweder in den tiefen Coriumlagen oder in der Subcutis auf. Dabei zeigen diese Komplexe aus den injizierten Milzzellen im Zentrum und in ihrer Peripherie nur noch selten erhaltene und kernhaltige Elemente (Lymphocyten, Sinusendothelien, Reticulumzellen); vielmehr treten hier vorwiegend kernlose Cytoplasmamassen auf, die höchstens noch schwindende Kerntrümmer nach Karyorhexis und Karyolyse einschließen; eingestreut sind zwischen den Milzzellen häufig eosinophile Leukocyten. Umrandet werden diese Milzzellenkomplexe von einem Zellsaum, der — vom Gastgewebe gestellt — aus Lymphocyten, monocytoiden Zellelementen, Histiocyten und auch eosinophilen Leukocyten besteht. Es folgt dann in ihrer weiteren Umgebung eine ödematöse Auflockerung des Gastgewebes (Cutis und Subcutis) mit einem betont perivenösen Infiltrat aus dichtgepackten monocytoiden Zellelementen, Histiocyten und Lymphocyten, denen eosinophile Leukocyten beigemischt sein können. Weiter erkennt man eine stärkere Erweiterung vorzugsweise mit Blut, gelegentlich aber auch nur mit Plasma angefüllter Venen, deren Endothelien proliferiert sind. Schließlich muß betont werden, daß Nekrosen in der Subcutis und Cutis des Empfängertieres nicht sichtbar werden. Im übrigen entsprechen auch die histologischen Befunde bei den mit an Fluoresceinisothiocyanat gekoppeltem Verbrennungs-Ag injizierten Tieren des vorliegenden Übertragungsversuches vollauf denen der Kaninchen, die nicht so markiertes Verbrennungs-Ag erhalten hatten.

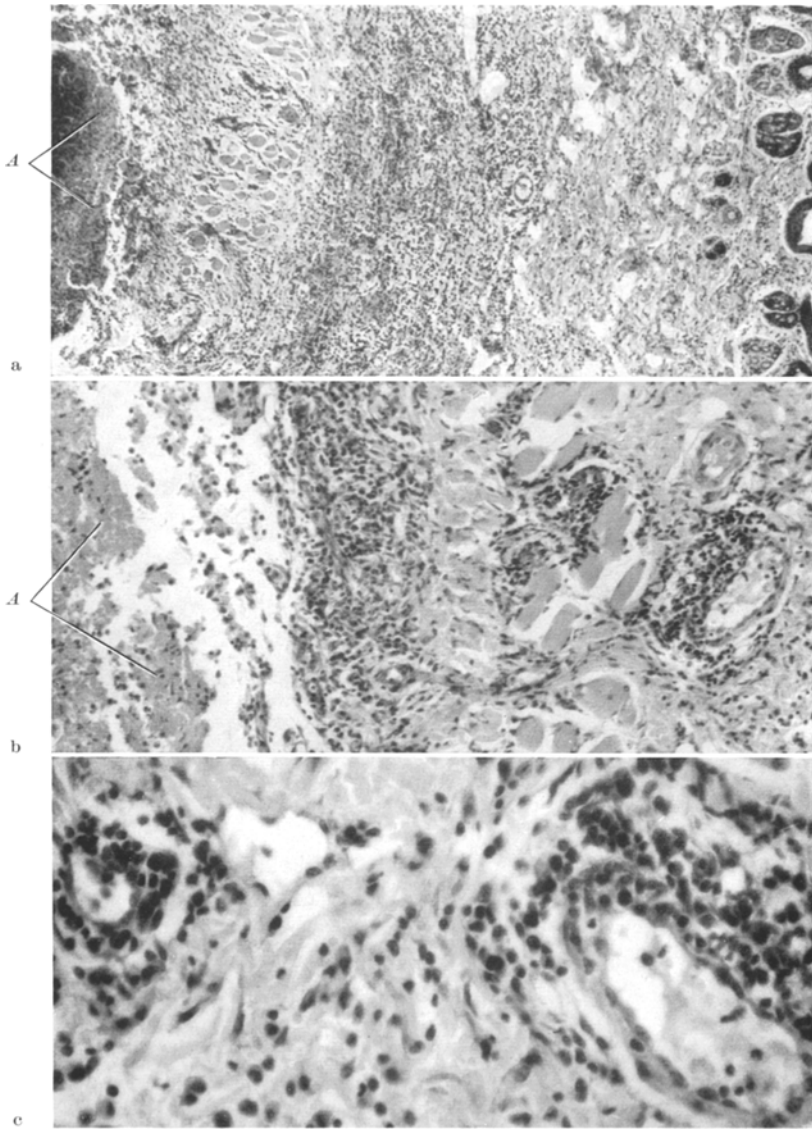


Abb. 3a—c. Hautreaktion nach dem Vorbild einer Reaktion vom verzögerten Typ bei einem nicht verbrannten Kaninchen und Versuchsanordnung wie bei Abb. 2a. H. E. F. a Links im Bild bei (A) ein am Rande „toter“ Komplex übertragener Milzzellen mit umgebender, perivenös verstärkter, rundzelliger Infiltration der Cutis (Versuchstier-Nr. 8/2), Vergr. $64\times$. b Demarkierende rundzellige Infiltration um die in der Abbildung bei (A) peripher angeschnittenen und hier „toten“ Komplexe übertragener Milzzellen mit perivenöser Verstärkung dieser Infiltrate (bei b). (Versuchstier-Nr. 13/1; s. auch Abb. 2a), Vergr. $160\times$. c Versuchstier wie bei Abb. 3b; perivenös verstärkte cutane Infiltration in der Nachbarschaft der übertragenen Milzzellenkomplexe mit Lymphocyten, monocytoiden Zellen und Histiocyten. Vergr. $400\times$

Die *fluoreszenzmikroskopische Untersuchung* der Hautreaktion bei den Kaninchen, die beim Übertragungsversuch neben den intradermal injizierten lebensfähigen Milzzellen — von hautverbrannten Kaninchen — eine an Fluorescein-isothiocyanat gekoppelte Verbrennungs-Antigenlösung intravenös erhalten hatten, ergab im Bereiche der cutanen und subcutanen Reaktion keine Anhaltspunkte

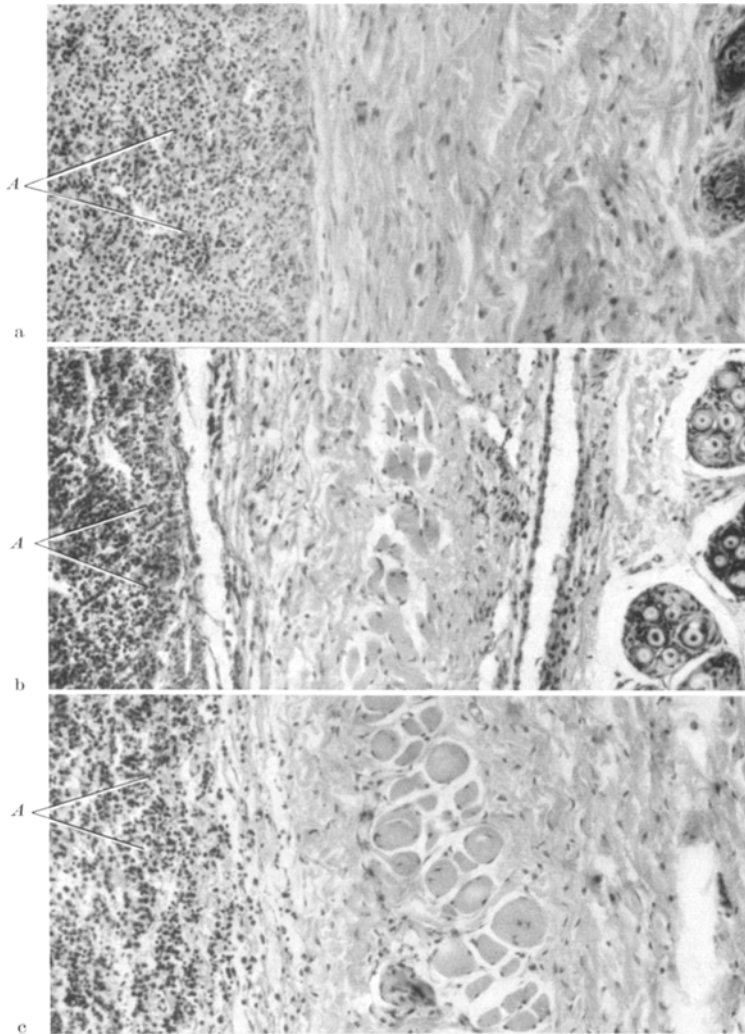


Abb. 4a—c. Kontrolluntersuchungen zu dem Übertragungsversuch ohne wesentliche etwa perivenös verstärkte rundzellige Infiltrate der Cutis und Subcutis um die hier — bei den Kontrollen — zumeist erhaltenen Milzzellkomplexe (A). H.E.F. a Kontrolle 1: Übertragungsanordnung wie bei Abb. 2a nur mit Erwärmung der Milzzellen vor ihrer Übertragung für 15 min auf über 60° C (Versuchstier-Nr. 4/K1), Vergr. 160×. b Kontrolle 2: Übertragungsversuch wie bei Abb. 2a nur mit Fixation der Milzzellen vor ihrer Übertragung für 15 min in einer 5%igen Formalinlösung (Versuchstier-Nr. 14/K2). Vergr. 160×. c Kontrolle 3: Versuchsanordnung wie bei Abb. 2a jedoch mit Übertragung von Milzzellen eines vorher nicht hautverbrannten Kaninchens (Versuchstier-Nr. N 1/1). Vergr. 160×

für etwa cellulär — an Milzzellen oder den Infiltratzellen der Empfängertiere — gebundenes Verbrennungs-Ag, da sich hier keine markierende gelb-grüne Fluoreszenz nachweisen ließ.

Betrachtet man nun zum Vergleich das *Ergebnis der Kontrollen*, so fällt schon bei der *makroskopischen Betrachtung* (s. Abb. 2b) auf, daß hier dem anatomischen Befund nach eine andere Reaktion vorliegt. Während bei dem eigentlichen Übertragungsversuch um die Milzzellen nach etwa 6 Std die Induration und Rötung

beginnen, die sich beide bis 48 Std nach Beginn der Übertragung steigern können, entwickelt sich bei allen drei Kontrollanordnungen um die injizierten Milzzellen nur ein leichtes, ausgesprochen „weiches“ Ödem mit begleitender Hyperämie, die — von der subcutanen Seite her betrachtet — höchstens einen Durchmesser bis 3 cm aufweisen kann. Ödem und Hyperämie sind am geringsten bei Kontrolle 1 und 2 (Erwärmung bzw. Formalinfixation der Milzzellen), am stärksten bei Kontrolle 3 (Übertragung der Milzzellen von nicht hautverbrannten Tieren); es fehlen jedoch hier bei den Kontrollen stets die Induration und meist auch die cyanotische Fleckung, wie sie für den eigentlichen Übertragungsversuch so charakteristisch sind. Dieses Ergebnis der Kontrollversuche gilt für Kontrolle 1 jedoch nur mit der Einschränkung, daß die Milzzellen für 15 min mindestens auf 50° C erwärmt worden waren. Wurden die Milzzellen vor ihrer Übertragung etwa nur auf 46° C erhitzt, so ergab sich das typische Bild der Reaktion mit Erythem und Induration, wie es für den eigentlichen Übertragungsversuch charakteristisch ist.

Die histologische Untersuchung (s. Abb. 4 a, b und c) der cutanen und subcutanen Reaktion um die injizierten Milzzellen bot bei *allen drei Kontrollen* im wesentlichen das gleiche Bild. So fällt einmal auf, daß die Komplexe der injizierten Milzzellen weniger „tote“ Areale aufweisen. Weiter schließen die Milzzellenkomplexe dichter an das Gastgewebe an, was besonders für Kontrolle 2 auffällig ist. Bei Kontrolle 1 und stärker noch bei Kontrolle 3 sieht man ein von Fall zu Fall in bezug auf seine Stärke variierendes, in etwa demarkierendes Ödem um die Milzzellen, in deren weiteren Nachbarschaft man schließlich lediglich eosinophile und neutrophile Leukocyten findet, denen Lymphocyten und Histiocyten in geringem Umfange beigefügt sein können. Keinesfalls liegt eine perivascular betonte stärkere monocytoide oder histiocytäre Infiltration saumartig um die Milzzellenkomplexe oder um hyperämische Blutgefäße der Haut vor.

Besprechung

Nach den geschilderten Untersuchungsergebnissen ruft die zwischen dem 59. und dem 80. Tag nach einer Hautverbrennung vorgenommene intradermale Injektion von Antigen (= Extrakt aus der verbrannten Kaninchenhaut) bei eben diesen hautverbrannten Kaninchen eine Reaktion um die Injektionsstelle hervor, die nach etwa 6 Std beginnt, sich dann laufend innerhalb von 24—48 Std verstärkt und im wesentlichen aus einer Induration und einem Erythem besteht. Auf der Suche nach einem vergleichbaren Vorgang aus der experimentellen Pathologie bietet sich einem fast zwangsläufig die Reaktion vom verzögerten Typ (Spätreaktion) im Rahmen etwa einer Tuberkulinallergie an. Histologisch ist eine solche Reaktion vom verzögerten Typ nach LETTERER sowie BENACERRAF und McCLUSKEY gekennzeichnet durch Dilatation der Blutgefäße bei perivenöser und auch diffuser Infiltration des Gewebes mit Histiocyten und mononucleären Zellen, die wie große und kleine Lymphocyten aussehen (s. auch GELL; WAKSMAN; BRAUNSTEINER). Diese makroskopische Beschreibung paßt wie der gesamte Reaktionsablauf vollkommen zu dem Ergebnis unserer Untersuchungen an den hautverbrannten Kaninchen. Einem diesbezüglichen, von einer Isomorphie hergeleiteten Analogieschluß können jedoch Bedenken entgegengestellt werden. So betont LETTERER mit Nachdruck, daß — ebenso wie die mehr exsudativ-entzünd-

liche Veränderung des Arthus-Phänomens — die proliferative Entzündung im Rahmen der Reaktion vom verzögerten Typ (Spätreaktion) keinesfalls nur für diese Hautreaktion charakteristisch sei; vielmehr könnten eine Reihe verschiedenartigster, im übrigen nicht nur immunologisch bedingter Ursachen eine gleiche Gewebsantwort hervorrufen. Darüber hinaus kann eine solche Spätreaktion unter Umständen auch — etwa bei vorgeschrittener Immunisierung — in Folge der Bildung von humoralen Antikörpern gewissermaßen als eine Variante des Arthus-Phänomens auftreten.

Wenn man diese Überlegungen von LETTERER auf unsere Untersuchungen überträgt, so müßte also zunächst ausgeschlossen werden, daß die Injektion des Extraktes aus verbrannter Kaninchenhaut (= Verbrennungs-Ag) bei einem nicht hautverbrannten Kaninchen die gleichen Veränderungen hervorruft wie bei den hautverbrannten Tieren. Entsprechende Versuche ergaben dann auch tatsächlich eine „weiche“ ödematöse Auflockerung der hyperämischen Cutis und Subcutis, der die Induration fehlte. Histologisch setzte sich das zellige Infiltrat der Cutis und Subcutis vorwiegend aus gelapptkernigen neutrophilen und eosinophilen Leukocyten zusammen, ohne daß monocytoide Zellen, Lymphocyten oder Histocyten etwa in perivaskulärer Verstärkung besonders auffällig gewesen wären.

Damit unterscheidet sich also in einigen wesentlichen Punkten diese Reaktion von derjenigen des Hauptversuches. Dieser betont unterschiedliche Reaktionsausfall spricht nun sehr für eine doch wohl nur immunologisch zu erklärende Umstimmung des Organismus der hautverbrannten Tiere. Eine solche Annahme wird in unseren Fällen auch noch nahegelegt durch den Nachweis von humoralen, gegen das Verbrennungs-Ag gerichteten Antikörpern mittels der passiven Hämagglutination (s. Tabelle 1). Da aber — wie gesagt — nach LETTERER gelegentlich auch in Folge humoraler Antikörperdiathese eine Spätreaktion sich entwickeln kann, galt es weitere Beweise für das Vorliegen einer spezifischen Allergie vom verzögerten Typ nach Verbrennung zu erbringen, wie z.B. durch ihre Übertragung nur mit lebensfähigen Zellen lymphoreticulären Gewebes (etwa der Milz). Bei entsprechenden Versuchen entwickelte sich um die injizierten Milzzellenkomplexe eine proliferativ-entzündliche Gewebsreaktion, mit Erythem und Induration; sie entsprach vollauf der Reaktion im Hauptversuch. Eine solche Übertragung der Reaktion mit Zellen ist aber nur dann möglich, wenn die verantwortlichen Antikörper nicht humoraler, sondern sessiler Natur sind und eben an die Milzzellen gebunden waren.

Um nun das Ergebnis des Übertragungsversuches abzusichern, waren Kontrollen notwendig. Diese bezogen sich einmal auf das Erfordernis der „Lebensfähigkeit“ der übertragenen Zellen. Tatsächlich fand sich bei den Übertragungsversuchen mit den formalinfixierten oder — auf mindestens 50° C — erhitzten Milzzellen keine Hautreaktion, die auch nur annähernd mit derjenigen des eigentlichen Übertragungsversuches vergleichbar gewesen wäre; in der Haut und Unterhaut fand sich nur ein schwaches und „weiches“ Ödem mit geringer Hyperämie, vereinzelter Lymphocyten und eosinophiler Leukocyten.

Weiter galt es noch zu überprüfen, inwieweit lebensfähige Milzzellen auch ohne eine spezifische Sensibilisierung von sich aus schon in der Lage wären, nach Injektion in einer Kaninchenhaut eine Veränderung in ihrer Nachbarschaft hervorzurufen. Auch das anatomische Bild dieser Injektionsstellen entsprach einem

umschriebenen „weichen“ Ödem mit begleitender Hyperämie, keinesfalls einer Induration, histologisch einer diffusen Infiltration mit eosinophilen und neutrophilen Leukocyten.

Überblickt man die geschilderten Untersuchungsbefunde, so sprechen diese Ergebnisse dafür, daß bei Kaninchen nach umschriebener Hautverbrennung mit anschließender einmaliger Gabe von Freundschem Adjuvans sich tatsächlich eine Allergie vom verzögerten Typ gegen einen Extrakt aus verbrannter Kaninchenhaut (Verbrennungs-Ag) entwickelt, die durch eine entsprechende Hautreaktion (Spätreaktion) nachzuweisen und mit lebensfähigen Milzzellen auf gesunde, nicht hautverbrannte Kaninchen zu übertragen ist.

Über die Natur des — für die hier in Rede stehende Allergie vom verzögerten Typ verantwortlichen — eigentlichen Antigens in unserer Antigenlösung besitzen wir bisher keine Erfahrungen (Bakterielle Antigene?). Es gelang uns auch nicht, immunhistologisch bei den Übertragungsversuchen das Antigen im Bereiche der Reaktion vom verzögerten Typ nachzuweisen. Dieses negative Ergebnis überrascht nicht, wenn man sich die immun-elektronenmikroskopischen Untersuchungsergebnisse von GOLDBERG, KANTOR und BENACERRAF vergegenwärtigt, die bei einer tierexperimentell erzeugten Allergie vom verzögerten Typ gegen Ferritin dieses Antigen selbst im Elektronenmikroskop im Bereiche der Reaktion vom verzögerten Typ nicht in bemerkenswertem Umfange sichtbar machen konnten, zumal sie in ihren Kontrollversuchen mit nicht spezifisch gegen Ferritin sensibilisierten Tieren eine annähernd gleichstarke Bindung der Ferritinpartikel an rundzellige Elemente des Bindegewebes beobachten konnten. Darüber hinaus besteht für unsere Versuche durchaus noch die Möglichkeit, daß das Fluoresceinisothiocyanat wohl an Serum-eiweiße, die in dem von uns verwandten Verbrennungs-Ag stets vorhanden sind (s. HAFERKAMP u. Mitarb., l. c. S. 68), aber nicht oder nur in ungenügender Menge an das eigentliche, für die Auslösung der Allergie vom verzögerten Typ eben verantwortliche Antigen in der Verbrennungsantigenlösung gebunden war.

Weitere Untersuchungen müßten nun zunächst versuchen zu klären, in wie weit es sich hierbei um eine für Hautverbrennungen spezifische Umstimmung des Organismus handelt.

Zusammenfassung

Bei 19 Kaninchen wurde 59—80 Tage nach umschriebener Hautverbrennung und anschließender Injektion von Freundschem Adjuvans eine intradermale Injektion des Verbrennungs-Antigens (Extrakt aus ihrer verbrannten Haut) vorgenommen; es entwickelte sich daraufhin an der Injektionsstelle eine proliferative Entzündung mit Erythem und Induration wie bei einer Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typ. Bei 33 nicht hautverbrannten Kaninchen kam es nach einer solchen Injektion lediglich zu einer exsudativen Entzündung der Injektionsstelle. Durch eine intradermale Injektion lebensfähiger lymphoider Milzzellen zusammen mit einer intravenösen Einverleibung des entsprechenden Verbrennungs-Antigens konnte dann diese Reaktion vom verzögerten Typ von den hautverbrannten Kaninchen auf gesunde, nicht hautverbrannte Kaninchen übertragen werden. Kontrollen ergaben, daß zu diesem Übertragungsversuch die Milzzellen lebensfähig sein und von einem hautverbrannten Kaninchen stammen müssen.

Experimental Studies of a Specific Allergy of the Delayed Type Occurring after Burns and Its Homologous Transfer

Summary

Fifty-nine to eighty days after localized cutaneous burns and the injection of FREUND's adjuvant, 19 rabbits were injected intradermally with a burned-skin antigen, an extract prepared from their own burned skin. At the site of injection a proliferative inflammation with erythema and induration developed, resembling that of the delayed hypersensitivity type of reaction. In 33 rabbits without cutaneous burns an exudative inflammation developed at the site of such an injection. With the intradermal injection of viable lymphoid cells from the spleen of burned rabbits together with an intravenous administration of the corresponding burned-skin antigen, this delayed type hypersensitivity reaction observed in the burned rabbits could be transferred to healthy rabbits with unburned skin. Control studies disclosed, that in these transfer experiments the splenic cells had to be viable and had to come from a rabbit with burned skin.

Literatur

- BENACERRAF, B., and R. T. McCLUSKY: Methods of immunologic injury to tissues. *Ann. Rev. Microbiol.* **17**, 263—284 (1963).
- BRAUNSTEINER, H.: Lymphatisches System und Allergie vom verzögerten Typ in ihrer Beziehung zu den sogenannten Kollagenkrankheiten. *Folia haemat.* (Frankfurt), N. F. **8**, 1—4 (1963).
- GELL, P. G. H.: Cytologic events in hypersensitivity reactions. In: *Cellular and Humoral aspects of the hypersensitive states* (H. S. LAWRENCE, Ed. J.), p. 43—62. New York: Hoeber Harper 1959.
- GOLDBERG, B., F. S. KANTOR, and B. BENACERRAF: An electron microscopic study of delayed sensitivity to ferritin in guinea-pigs. *Brit. J. exp. Path.* **43**, 621—626 (1962).
- GRABAR, P., and P. MIESCHER: Mechanism of cell and tissue damage produced by immune reactions. IInd internat. symposium on immunopathology. Basel u. Stuttgart: Benno Schwabe & Co 1962.
- HAFERKAMP, O.: Ein tierexperimenteller Beitrag zur Immunopathologie der Speicheldrüsen. *Virchows Arch. path. Anat.* **335**, 298—322 (1962).
- Experimentelle immunohistologische Untersuchungen bei der Verbrennungskrankheit. *Langenbecks Arch. klin. Chir.* **301**, 118—122 (1962).
- H. SCHÄFER, M. HENRIQUEZ, G. FINGER, F. MARTINEZ u. M. YOSHIDA: Experimentelle Untersuchungen zur pathogenen Bedeutung von spezifischen Iso- und Auto-Antikörpern nach Verbrennung. *Virchows Arch. path. Anat.* **337**, 65—87 (1963).
- LANDSTEINER, K., and M. W. CHASE: Experimental transfer of cutaneous sensitivity to simple compounds. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **49**, 688—690 (1942).
- LETTERER, E.: Die allergisch-hyperergische Entzündung. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. 7, Teil 1, S. 497—600. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.
- METAXAS, M. N., and M. METAXAS-BUEHLER: Passive transfer of local cutaneous hypersensitivity to tuberculin. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* **69**, 163—165 (1948).
- RICH, A. R.: *The pathogenesis of tuberculosis*, 2nd Ed. Springfield (Ill.): Ch. C. Thomas 1951.
- , and R. H. FOLLIS jr.: Studies on the site of sensitivity in the Arthus phenomenon. *Bull. John Hopk. Hosp.* **66**, 106 (1940).

- STAVITSKY, A. B.: Micromethods for the study of proteins and antibodies of haemagglutination and haemagglutination-inhibition reactions with tannic-acid and protein treated red blood cells. *J. Immunol.* **72**, 360—367 (1954).
- TRAKATELLIS, A. C., W. R. STINEBRING, and A. E. AXELOD: Studies on delayed hypersensitivity to proteins and protein-conjugates. *J. Immunol.* **91**, 591—596 (1963).
- WAKSMAN, B. H.: A comparative histopathological study of delayed hypersensitive reactions. In: Ciba foundation symposium on cellular aspects of immunity, p. 280—329. London: Churchill 1960.

Priv.-Doz. Dr. O. HAFERKAMP
Pathologisches Institut der Universität
53 Bonn — Venusberg