

Tuberkulinallergie nach tierexperimentellen Verbrennungen*

W. VOGEL und O. HAVERKAMP

Pathologisches Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Eingegangen am 15. März 1967

Sensitivity to Tuberulin in Experimentally Burned Animals

Summary. All rats with third-degree burns of 20% of the body surface and most of the rats with third-degree burns over 30% of the body surface showed a decreased reaction to tuberculin 14 days after the sensitization and burning; on the other hand, the animals that received third-degree burns over 40% of their body surface did not show a similar reaction till the 45th day after sensitization and burning. The question arises whether this delay were due to an inhibition of the capacity to form sessile antibodies against tuberculin or to a generalized inability to react despite the sensitization due to burning.

Zusammenfassung. Alle Ratten mit einer Verbrennung von 20% und die meisten mit einer solchen von 30% der Körperoberfläche zeigten 14 Tage nach der Verbrennung und BCG-Sensibilisierung eine allerdings abgeschwächte Tuberkulreaktion; diese war bei den Tieren mit einer 40%igen Verbrennung erst am 45. Tage nach Verbrennung und BCG-Sensibilisierung auslösbar. In Frage käme eine Hemmung der Bildung sessiler Antikörper gegen Tuberulin oder eine mangelnde allgemeine Reaktionsfähigkeit des trotz Verbrennung sensibilisierten Organismus.

Auf der Suche nach einer Erklärung für die noch immer hohe Spätmortalität nach schweren Verbrennungen sind in den letzten Jahren immunologische Überlegungen in den Vordergrund getreten. Betrachtungen über die Umstimmung des Körpers bezüglich seiner Reaktionslage nach thermischen Verletzungen lassen sich in zweierlei Hinsicht anstellen; nämlich: einmal unter dem Aspekt der autologen (humoralen und sessilen) Antikörperbildung gegen ein körpereigenes Verbrennungsantigen und zweitens unter Berücksichtigung von humoralen und sessilen Antikörpern gegen bakterielle Antigene, da die so häufig nach Verbrennungen auftretenden Septicopyämien auf einer mangelnden Antikörperbildung gegen Bakterien beruhen könnten. Was die erste Fragestellung anbelangt, so konnten in früheren Untersuchungen humorale Antikörper gegen Extraktantigen aus verbrannter Haut sowohl im Tierexperiment (HAVERKAMP u. Mitarb., 1963) als auch beim Menschen (PÁVKOVÁ u. Mitarb., 1965) nachgewiesen werden. Darüber hinaus gelang es HAVERKAMP u. Mitarb. (1965) auch sessile Antikörper gegen einen Extrakt aus verbrannter Kaninchenhaut festzustellen und die Bereitschaft zu einer Reaktion vom verzögerten Typ gegen dieses Extraktantigen mittels lebensfähiger lymphoider Milzzellen von verbrannten auf gesunde Tiere zu übertragen. Bezuglich der zweiten Fragestellung konnten wir (VOGEL u. Mitarb., 1966) bei einer früher untersuchten Gruppe von Kaninchen, die gleichzeitig mit einer 15—18%igen Verbrennung der Körperoberfläche gegen β -hämolytische Streptokokken der Gruppe A (Stamm J 17 A 4) sensibilisiert worden waren, im Vergleich mit einer Gruppe nicht-verbrannter, nur gegen diese Bakterien immuni-

* Mit dankenswerter Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

sierter Kaninchen keinen signifikanten Unterschied in der antibakteriellen (humoralen) Antikörperbildung nachweisen. Allerdings wäre bei Verbrennungen größeren Ausmaßes eine Hemmung der antibakteriellen Antikörperbildung durchaus denkbar. Was nun die zellgebundenen (sessilen) antibakteriellen Antikörper anbetrifft, so wurde uns bei Fertigstellung der Arbeit ein Untersuchungsergebnis von RAPAPORT und CONVERSE bekannt, die bei Wochen vor der Verbrennung gegen Tuberkulin sensibilisierten und zum Zeitpunkt der Verbrennung bereits tuberkulinpositiven Meerschweinchen nachweisen konnten, daß die Tuberkulin-hautreaktion durch die Verbrennung abgeschwächt bzw. unterdrückt wird. Die längere Überlebensdauer nicht autologer Hauttransplantate bei Patienten mit schweren Brandverletzungen (BLOCKER, 1963) läßt eine Hemmung der hierfür im wesentlichen verantwortlichen zellgebundenen immunologischen Reaktionen nach Verbrennung überhaupt, d.h. nicht nur gegen Transplantationsantigene, sondern auch gegen bakterielle Antigene möglich erscheinen. Im übrigen zeigten RAPAPORT u. Mitarb. (1964), daß bei 91 Ratten mit Verbrennungen von 30% der Körperoberfläche von den Hauttransplantaten nach 14 Tagen 98%, nach 18 Tagen 94% und nach 21 Tagen noch 83% lebensfähig waren, während bei 42 Kontrolltieren schon nach 14 Tagen 88% aller transplantierten Hautstücke abgestoßen wurden. Diese Ergebnisse veranlaßten uns, im Anschluß an unsere Untersuchungen über die Bildung von humoralen Antikörpern gegen Bakterien nach Verbrennung der Frage nachzugehen, ob der Organismus nach Verbrennung unterschiedlichen Ausmaßes in der Lage ist, zellgebundene (sessile) Antikörper gegen bakterielle Antigene neu zu bilden. Als Modell bot sich eine gleichzeitig mit der Verbrennung durchgeführte BCG-Sensibilisierung an.

Material und Methodik

1. Verbrennung

Es wurden 85 männliche Wistar-Ratten mit einem Gewicht von 200—250 g verwendet. Die Ernährung der Tiere beschränkte sich auf ein standardisiertes Rattentrockenfutter der Fa. Höveler (Zusammensetzung: 60% Futtergetreideschrot, 20% Eiweißkonzentrat, 7% Weizenkeime, 5% Mineralstoffe, 4% Luzernegrasgrünmehl und 4% Melasse mit ausreichendem Vitaminzusatz) und Wasser ad libitum. Einen Tag vor der Verbrennung und Sensibilisierung wurde bei allen Tieren in Äther-Narkose eine Rasur des Rückens, der Flanken, der Halsregion und der Hinterläufe mittels einer Äskulap-Rasiermaschine durchgeführt. Entsprechend dem Gewicht berechneten wir die Körperoberfläche nach der Formel von LEE (1929): $S = k \times W^n$, wobei S die Gesamtoberfläche des Körpers in cm^2 , k eine Konstante (für männliche Ratten 12,62), W das Gewicht der Tiere in Gramm und der Exponent $n = 2/3$ ist. Anschließend wurde die zu verbrennende Hautfläche nach Errechnung ihres prozentualen Anteils an der Gesamtoberfläche mit einem Tuschestift markiert. Die zur Verbrennung verwandten 70 Tiere teilten wir in drei Gruppen ein. Bei den 20 Tieren der ersten Gruppe (Tier-Nr. 1—20) wurden 20%, bei den 20 Tieren der zweiten Gruppe (Tier-Nr. 210—229) 30% und bei den restlichen 30 Tieren der dritten Gruppe (Tier-Nr. 279—308) 40% der Körperoberfläche nach der von HAVERKAMP u. Mitarb. (1963) angegebenen Methode in tiefer intraperitonealer Nembutal-Narkose (0,1 ml/100 g Körpermengen) verbrannt. Von der ersten Gruppe starb nach der Verbrennung kein Tier. Von der zweiten Gruppe starben in den ersten 3 Tagen 7, von der dritten Gruppe im gleichen Zeitraum 18 Tiere.

2. Tuberkulinsensibilisierung

Gleichzeitig mit der Verbrennung wurde jede Ratte durch Injektion von 0,1 mg BCG-Trocken-Impfstoff (Behringwerke Marburg/Lahn) in Verbindung mit komplettem Freundschem Adjuvans gegen Tuberkelbakterien sensibilisiert. Die in 0,2 ml Kochsalz gelöste

Impfstoffmenge wurde in die Sohlen beider Hinterpfoten zu je 0,1 ml gespritzt (Technik wie bei SOBKE und HAVERKAMP, 1967). Aus Kontrollgründen hatten wir bei 12 Ratten (Kontrolltier-Nr. 51—63) eine BCG-Sensibilisierung ohne Verbrennung vorgenommen.

3. *Tuberkulintest*

Die Kontrolltiere und die verbrannten und gleichzeitig mit BCG sensibilisierten Tiere wurden 14 Tage nach der Sensibilisierung an zwei Hautstellen durch eine streng intradermale Injektion von je 0,1 ml (200 E) Tuberkulin GT (Hoechst) getestet. Darüberhinaus führten wir den Tuberkulinhauttest auch an drei nicht sensibilisierten und nicht verbrannten Tieren (Kontrolltier-Nr. 65—67) durch. Bei der dritten Gruppe von Ratten, denen wir Verbrennungen von 40% der Körperoberfläche gesetzt hatten, wurde am 45. Tag nach der Verbrennung der Tuberkulinhauttest wiederholt.

4. *Ableseung der Hautreaktion*

Die Ablesung der Hautreaktion nach intradermaler Tuberkulininjektion erfolgte nach 24 und 48 Std. Da sich in positiven Fällen makroskopisch lediglich eine fühlbare Induration ohne oder nur mit sehr geringem Erythem zeigte, wurden die daraufhin 24 und 48 Std später operativ entfernten Hautstellen histologisch untersucht. Die Bewertung der Gewebsschnitte nahmen wir nach folgenden histologischen Kriterien (LETTERER, 1959) vor:

0 Keine Reaktion vom verzögerten Typ.

1+ Vereinzelt Venen und Venolen sind mit einem dichten Mantel aus monocytairen Zellen umgeben.

2+ Wie bei 1+, zusätzlich mit einer beginnenden diffusen monocytairen Infiltration in ödematos aufgelockerter Cutis und Subcutis.

3+ Wie bei 1+, jedoch mit dichten diffusen monocytairen Zellinfiltraten in ödematoser Cutis und Subcutis, stellenweise untermischt mit eosinophilen Leukocyten und Mastzellen.

Ergebnisse

Das histologische Bild der verbrannten Hautstellen mit den bis in die Subcutis reichenden Koagulationsnekrosen entsprach dem einer Verbrennung III. Grades. Die Auswirkung der Verbrennung von 20, 30 und 40% der Körperoberfläche

Tabelle 1. *Reaktion vom Tuberkulintyp nach BCG-Sensibilisierung bei 20, 30 und 40% Verbrennung der Körperoberfläche und bei Ratten ohne Hautverbrennung*

Verbrennung in % der Körper- oberfläche	Stärke der Tuberkulinreaktion am 14. Tage nach der Verbrennung				Gesamtzahl der Tiere	Gestorbene Tiere
	3+	2+	1+	0		
0	12	—	—	—	12	—
20	11	7	2	—	20	—
30	—	2	8	3	20	7
40	—	—	—	12	30	18

Tabelle 2. *Reaktion vom Tuberkulintyp nach BCG-Sensibilisierung bei 40% Verbrennung der Körperoberfläche am 14. und am 45. Tag nach der Verbrennung und Sensibilisierung*

	Stärke der Tuberkulinreaktion bei 40% der Körperoberfläche				Getestete Tiere
	3+	2+	1+	0	
Am 14. Tag	—	—	—	12	12
Am 45. Tag	8	—	—	—	8

auf die Reaktion vom verzögerten Typ gegen Tuberkulin an 41 überlebenden Ratten geben die Tabellen 1 und 2 wieder.

Bei einer zweiten Gruppe von Kontrolltieren, bei denen keine BCG-Sensibilisierung und Verbrennung durchgeführt worden waren, ließ sich — wie es zu erwarten war — mit Tuberkulin GT keine Spätreaktion vom Tuberkulintyp auslösen.

Besprechung

Alle Ratten mit einer Verbrennung von 20% und die meisten mit einer solchen von 30% der Körperoberfläche zeigten also am 14. Tag nach der Verbrennung und BCG-Sensibilisierung eine allerdings abgeschwächte Tuberkulinreaktion; diese war dann bei den sensibilisierten Tieren mit einer 40%igen Verbrennung der Körperoberfläche nicht am 14. Tag, wohl aber am 45. Tag nach Verbrennung und Sensibilisierung mit BCG-Impfstoff auslösbar.

Diese Ergebnisse machen es wahrscheinlich, daß es tierexperimentell nicht nur bei Transplantationen (s. RAPAPORT), sondern auch im Hinblick auf sessile antibakterielle Antikörper nach einer Verbrennung zu verändertem immunologischen Verhalten des Organismus kommen kann, das im übrigen in Abhängigkeit von dem Ausmaß der gesetzten Verbrennung steht. Vorerst muß es aber noch offen bleiben, ob diese am 14. Tag nach Verbrennung von uns festgestellte Unterdrückung der Reaktion vom Tuberkulintyp auf einer *gehemmten Fähigkeit zur Bildung sessiler Antikörper* oder auf einer *herabgesetzten Reaktionsfähigkeit des Organismus* beruht. Man könnte sich vorstellen, daß ein Stress nach großen Verbrennungen über eine vermehrte ACTH- und Cortisonausschüttung und die bei Verbrennung bekannte, offenbar auch hiervon abhängige Lymphopenie (SEVITT, 1957) die durch Lymphocyten charakterisierte celluläre Gewebsantwort bei der Reaktion vom Tuberkulintyp unterdrückt (OSGOOD und FAVOUR, 1951). Hierfür würden auch die Ergebnisse von RAPAPORT und CONVERSE an verbrannten Meerschweinchen sprechen, die schon längere Zeit vor der Verbrennung mit BCG-Impfstoff sensibilisiert worden waren. Auch eine sog. Konkurrenz („Competition“) der Antikörperbildung (ADLER, 1957) wäre zu diskutieren, da ja nach Verbrennung sessile Antikörper gegen Antigen in einem Extrakt aus verbrannter Haut nachweisbar werden (HAFERKAMP u. Mitarb., 1965), also ein zusätzlicher Sensibilisierungsprozeß abläuft. Schließlich käme noch der nach Verbrennung nachweisbare Komplementabfall (ARTURSON, 1963) in Frage, da nach GILLISSEN (1963) bei der Reaktion vom Tuberkulintyp auch dem Komplement eine bedeutende Rolle zukommt.

Die Tatsache, daß sich experimentell nach Verbrennung eine Verzögerung in der Ausbildung sessiler antibakterieller Antikörper nachweisen läßt, könnte auch für die Beurteilung der Verbrennung beim Menschen bedeutungsvoll sein.

Literatur

ADLER, F. L.: Antibody formation after injection of heterologous immune globulin. Competition of antigens. *J. Immunol.* 78, 201—210 (1957).

ARTURSON, G., and K. E. FJELLSTRÖM: Alteration of serum complement factors following burn trauma. *Excerpta Medica International Congress Series* No 66, 99—107 (1963).

BLOCKER, T. G.: Burns in reconstructive plastic surgery (J. M. CONVERSE, ed.). Philadelphia: W. B. Saunders Co. 1963.

GILLISSEN, G.: Immunologische Grundlagen der allergischen Spätreaktion. *Klin. Wschr.* **43**, 590—597 (1965).

HAFERKAMP, O., H. SCHÄFER, H. ASAMER, G. FINGER u. H. WEGNER: Experimentelle Untersuchungen über eine Allergie vom verzögerten Typ nach Verbrennung und ihre homologe Übertragung. *Virchows Arch. path. Anat.* **338**, 261—276 (1965).

— 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).

LEE, M. O.: Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Amer. J. Physiol.* **98**, 24—33 (1929).

LETTERER, E.: Die allergisch-hyperergische Entzündung. In: *Handbuch der allgemeinen Pathologie*, Bd. 7, Teil 1, S. 497—673. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956.

OSGOOD, C. K., and C. B. FAVOUR: The effect of adrenocorticotrophic hormone on inflammation due to tuberculin hypersensitivity and turpentine and on circulatin antibody levels. *J. exp. Med.* **94**, 415—430 (1951).

PÁVKOVÁ, L., J. DOLEZALOVA, and Z. KONICKOVA: Immunological changes in the serum of patients with severe burns. *Rev. Czech. Med.* **11**, 91—103 (1965).

RAPAPORT, F. T., and J. M. CONVERSE: Alterations in immunological responsiveness associated with thermal injury. Report of the Conference on Early Treatment of Severe Burns. New York, N. Y. 1966.

— L. HORN, D. L. BALLANTYNE, and J. H. MULHOLLAND: Altered reactivity to skin homografts in severe thermal injury. *Ann. Surg.* **159**, 390—395 (1964).

SEVITT, S.: Burns. Pathophysiology and therapeutic applications. London: Butterworth & Co. 1957.

SOBBE, A., u. O. HAFERKAMP: Über die homologe Übertragung der Tuberkulinallergie bei Ratten. *Z. Immun.-Forsch.* **132**, 345—351 (1967).

VOGEL, W., B. HEYMER, TH. SMITH u. O. HAFERKAMP: Über die Bildung und Bedeutung antibakterieller Antikörper nach Verbrennung. *Virchows Arch. path. Anat.* **341**, 327—339 (1966).

Dr. med. W. VOGEL
Prof. Dr. O. HAFERKAMP
53 Bonn-Venusberg, Pathologisches Institut der Universität