

# *Acta Medica Okayama*

---

*Volume 3, Issue 1*

1932

*Article 10*

MÄRZ 1932

---

## Über die Antigenreinjektionsmenge bei der experimentellen Anaphylaxie.

Kazuo Itoh\*

\*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Aus dem Hygienischen Institut der Med. Universität Okayama  
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

## Über die Antigenreinjektionsmenge bei der experimentellen Anaphylaxie.

Von

**Kazuo Itoh.**

*Eingegangen am 16. Dezember 1931.*

### Einleitung.

Die Reinjektionsweisen des Antigens, die bei der experimentellen Anaphylaxie bis jetzt angegeben worden sind, sind verschieden, und zwar wie folgt: intrakutan, subkutan, intrakorneal, intraperitoneal, subdural, intrakardial, intravenös, retrookulär, in den Ductus choledochus, durch stomachale oder rektale Zufuhr, durch Inhalation, intratracheal usw.. Ich will hier aber nur die intravenöse Reinjektion berücksichtigen, die seit *Richet*<sup>1)</sup> für grössere Versuchstiere (Hund, Kaninchen) als die wirksamste, für Meerschweinchen als die beste Methode (*Kraus* u. *Doerr*<sup>2)</sup>, *Doerr* u. *Russ*<sup>3)</sup>) in Anwendung gebracht worden ist.

Beim Versuche am Meerschweinchen pflegte man als intravenöse Reinjektion 0.2 – 0.25 cc (*Moro*<sup>4)</sup>) oder 0.01 – 0.1 cc (*Pfeiffer*<sup>5)</sup>) Antigen zu injizieren, doch konnte man keinen ausschlaggebenden Anhaltspunkt finden, der genau angibt, welche Reinjektionsmenge bei den einzelnen Versuchstieren den Schocktod herbeizuführen vermag. Hier will ich ein Beispiel anführen, wie man früher im allgemeinen zur Bestimmung der minimalen Reinjektionsmenge gelangte. *Thomsen*<sup>6)</sup> gab in seiner Arbeit „Studien über die Antianaphylaxie“ auf Grund seiner Versuche folgende Beispiele zur Bestimmung der minimalen Reinjektionsmenge. 5 Meerschweinchen, 320 – 360 g schwer, wurden am 4. I. 1912 mit 1/250 cc Pferdeserum subkutan sensibilisiert. Nach 17-tägiger Intervallzeit wurden 0.07 – 0.02 cc Antigen reinjiziert. Dabei fand er, dass bei der Injektion von 0.07 – 0.05 cc die Schocksymptome am stärksten waren, d. h. Schocktod trat innerhalb von 3 Minuten ein. Bei geringer Antigenreinjektion (0.04 – 0.03 cc) wurde die Lebensdauer etwas verlängert (5 Minuten), doch gingen die Tiere zu Grunde. Die Injektion von 0.02 cc hielt das Tier aus und blieb nach dem Schock am Leben. Somit

ergibt sich 0.03 cc als minimale Reinjektionsmenge. *Bessau* und andere<sup>7)</sup> sagten in ihrer Arbeit, dass die Bestimmung der tödlichen Reinjektionsmenge dergestalt ausgeführt worden sei, dass sie die Injektion in kleinen Dosen angefangen und die Injektionsdosis nach und nach vergrößert hätten, bis das Versuchstier mit akutem Tode reagierte. Ich glaube, dass diese Bestimmungsmethoden wie bei der Toxizitätsprüfung im allgemeinen bis jetzt angewandt worden sind.

Der Vorschlag der Antikörperverdünnungsmethode nach *Ogata*<sup>8)</sup> (1927) bei der Präzipitinreaktion hat einen Fortschritt in die Anaphylaxiestudien gebracht, und es ist vor allem interessant, dass man die Reinjektionsmenge an einzelnen Versuchstieren aus der Immunkörpernatur quantitativ feststellen kann. Wählt man auf Grund der Immunkörpermenge und ihrer spezifischen Eigenschaft für die Antigenmenge diese Antigendosis aus, so kann man verstehen, warum nach vorliegender Methode die Resultate je nach den Versuchstieren verschieden sind.

Bei Ausführung der Präzipitinverdünnung sieht man, dass die Präzipitinreaktion am stärksten bei der bestimmten Antigenmenge stattfindet, und man kann eine positive Reaktion mit dem Minimum der Präzipitiummenge beobachten. Ausserhalb dieser bestimmten Antigenmenge, mag sie nun grösser oder geringer sein, wird die Reaktion schwächer, bis sie ganz negativ wird. Bei diesen grösseren Antigenmengen gerät man oft in die Hemmungszone. Die mit dem Antikörper am stärksten reagierbare Antigenmenge, d. h. die Bindungszone des Präzipitins, ist je nach den Immunseren verschieden, und man kann bei Hochimmunisierung oft das Präzipitin mit hoher Bindungszone bekommen. Es ist nach den Arbeiten in unserem Institute (*Kageyama*<sup>9)</sup>, *Sugimoto*<sup>10)</sup> u. a.) klar, dass das Versuchstier stets sicher typische anaphylaktische Erscheinungen aufweist, wenn man eine der Bindungszone entsprechende Antigenmenge injiziert, und dass die minimale Reinjektionsmenge zur Bindungszone im allgemeinen in umgekehrtem Verhältnisse steht. Es ist im allgemeinen verständlich, dass die anaphylaktischen Symptome schwächer werden, wenn man die Reinjektionsmenge vermindert, und dass das Versuchstier schliesslich keine anaphylaktischen Symptome zeigt, wenn das Antigen einen gewissen höheren Verdünnungsgrad erreicht. Diese minimale Antigenmenge ist je nach der Immunisierungsweise, d. h. der Bindungszone des Präzipitins, verschieden. Bei hoher Bindungszone sieht man oft eine Hemmungserscheinung bei konzentrierten Antigenmengen, und diese Erscheinung macht sich wahrscheinlich auch bei der Anaphylaxie geltend, die nichts anderes als eine in vivo stattgefundene Antigen-Antikörperbindungsreaktion darstellt. Wenn man auch in einer unter dieser Voraussetzung ausgeführten Untersuchung bei Meerschweinchen keinen Erfolg hatte, so konnte *Kuwana*<sup>11)</sup> in seinen Versuchen an Kaninchen diese Hem-

Über die Antigenreinjektionsmenge bei der experimentellen Anaphylaxie. 143

mungerscheinung doch nachweisen. Untersuchungen der genannten Art werden sehr durch die Reinjektionsmenge beeinflusst. Diese antagonistische Erscheinung bei grosser Antigenmenge ist schwer verständlich, wenn man die speziellen Mengenverhältnisse zwischen Antigen und Antikörper nicht kennt.

In einer kürzlich (1930) erschienenen Arbeit von *Doerr* u. *Seidenberg*<sup>12)</sup> heisst es, dass für aktiv sensibilisierte Meerschweinchen von 250 bis 330 g die intravenöse tödliche Minimaldosis Pferdeserum auch unter sonst optimalen Versuchsbedingungen 0.02 cc betrug, dass sich dieser Wert nur ausnahmsweise und unbedeutend reduzieren liess, und dass heterolog passiv (mit Kaninchenimmenserum) präparierte Meerschweinchen von gleicher Grösse oft schon auf die intravenöse Injektion von 0.002 cc Pferdeserum mit akut letalem Schock reagierten. Selten sahen sie mittelschwere Anaphylaxie nach der Injektion von 0.001 cc Pferdeserum.

Da ich bei Meerschweinchen die Anaphylaxie durch eine sehr kleine Menge Antigen erzielen konnte, indem ich glücklicherweise ein Immenserum, das die Bindungszone 1 : 10,000 hat, herstellen konnte, will ich hier einiges darüber mitteilen. In kurzen Worten beruht diese Untersuchung auf der Kenntnis der Präzipitinbindungszone, d. h. mein Versuch beruht auf der Tatsache, dass die minimale Reinjektionsmenge zu der Bindungszone und der Präzipitinmenge des Versuchstieres ungefähr im umgekehrten Verhältnisse steht.

### Über die Bestimmungsmethode der Antigenreinjektionsmenge nach der Präzipitinreaktion.

#### a. Die Antikörperverdünnungsmethode bei der Präzipitinreaktion nach *Ogata*.

Die frühere und jetzt gewöhnlich gebrauchte Präzipitinreaktion ist die Ringprobe (*Uhlenhuth'sche* Methode). Diese Methode zeigt die Verdünnungsgrenze des Antigens, das mit dem Präzipitin reagierbar ist.

Die Anwendung der *Ogata'schen* Methode: Nachdem man das mit 10%igem Meerschweinchenserum oder 1%igem Meerschweinchenserum oder 1%igem Gummi arabicum (in physiologischer Kochsalzlösung gelöst) absteigend verdünnte Immenserum mit einer Kapillarpipette in Präzipitin-Proberöhrchen verteilt hat, schichtet man das mit physiologischer Kochsalzlösung absteigend verdünnte Antigen auch mit einer Kapillarpipette vorsichtig darüber. Dann muss man von Zeit zu Zeit die Berührungsstelle beider Lösungen vorsichtig beobachten, bis ein weisses Präzipitat in der Schicht gebildet wird, woran man bei der

bestimmten Verdünnung des Antigens die deutlichste Reaktion erkennen kann. Diesen mit verdünntem Immuserum (Präzipitin) am deutlichsten reagierbaren Verdünnungsgrad des Antigens nennt man die Bindungszone. Und den bei der Bindungszone reagierbaren höchsten Verdünnungsgrad des Präzipitins nennt man den Präzipitinverdünnungstiter. Als Beispiel für die Ausführungsmethode kann Tabelle 1 angeführt werden:

Tabelle 1.

Antikörperverd.						
Antigenverd.	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
1 : 10	###	###	##	+	-	-
1 : 25	###	###	##	++	+	-
1 : 50	###	###	##	++	+	-
1 : 100	###	###	##	+	-	-
1 : 250	###	###	++	-	-	-
1 : 500	##	##	-	-	-	-

### 15 Min. positiv,    ## 30 Min. positiv,    ++ 1 Stunde positiv,  
 + 2 Stunden positiv,    - 2 Stunden negativ.  
 Bindungszone 1 : 50,    Verdünnungstiter 1 : 32.

#### b. Die zur Reinjektion geeignete Antigenmenge.

1. Bei aktiver Anaphylaxie. Zuerst wird die Bindungszone des Präzipitins nach bestimmter Intervallzeit bei sensibilisierten Meerschweinchen bestimmt. Nimmt man als das Körpergewicht des sensibilisierten Meerschweinchens 260 g an, so ist die Blutmenge etwa 20 cc (die vermutete Blutmenge ist etwa 1/13 des Körpergewichtes). Nimmt man an, dass die Bindungszone 1 : 100 ist, so ist dann  $20 \div 100 = 0.2$  d. h. 0.2 cc die der Bindungszone entsprechende Antigenmenge. Wenn 0.2 cc Antigen ins Blut eingeführt wird, so wird das Antigen durch das Blut des Versuchstieres im Verhältnisse 1 : 100 verdünnt.

2. Bei passiver Anaphylaxie. 24 Stunden nach intravenöser Injektion des Präzipitins, dessen Einheiten durch das Körpergewicht des Meerschweinchens bestimmt werden, wird das Antigen intravenös reinjiziert. Die Antigenmenge wird je nach der Bindungszone des Immuserums ausgerechnet, die bei passiv immunisierten Tieren immer den gleichen Wert wie vor der Injektion beibehält.

#### c. Die Beurteilung der anaphylaktischen Symptome.

Über den Grad der anaphylaktischen Symptome habe ich schon in meiner Arbeit „Anaphylaxie und Vagotomie<sup>13)</sup>“ eingehender berichtet: a) typische Anaphylaxie (###), Schocktod in weniger als 5 Minuten; b)

starke Anaphylaxie (##), Schocktod in später als 5 Minuten ; c) mittelschwere Anaphylaxie (++) , stärkere anaphylaktische Erscheinungen, das Tier bleibt indes am Leben ; d) leichte Anaphylaxie (+) , gestäubtes Haar, Unruhe, Erregung, Abgang von Kot und Urin, Würgen, Dyspnoe, Kratzen der Nase, Tränenaustritt usw., aber ohne deutliche Krampfanfälle. Bei den Tieren, die keine anaphylaktischen Erscheinungen boten, brachte ich das Zeichen (-) an.

### Experimente.

#### A. Die aktive Anaphylaxie.

Alle Untersuchungsbedingungen entsprechen genau denen des Vagotomieversuches. Gesunde Meerschweinchen vom Körpergewichte 200 - 300 g werden mit frischem Ziegen Serum (0.1 - 1.0 cc) subkutan in der Sternalgegend sensibilisiert. Nach der bestimmten Intervallzeit mass ich die Bindungszone nach dem Präzipitinversuche und bestimmte die der Bindungszone entsprechende Antigenmenge. Dann beobachtete ich die klinischen anaphylaktischen Symptome, wobei ich die der Bindungszone entsprechende Antigenmenge intravenös reinjizierte (Tabelle 2).

Aus Tabelle 2 ersieht man, dass die der Bindungszone entsprechende Antigenreinjektionsmenge bei der Bindungszone 1 : 250 0.064 - 0.11 cc, bei 1 : 100 0.22 - 0.25 cc, bei 1 : 50 0.34 - 0.43 cc und bei 1 : 25 0.8 - 0.96 cc beträgt, und dass also je höher die Bindungszone ist, desto geringer die für das Auftreten der Anaphylaxie nötige Antigenmenge wird. Die Reinjektionsmenge 0.2 - 0.25 cc nach *Moro* entspricht meiner Bestimmungsmethode gemäss beim selben Versuchstiere einer Antigenverdünnung von 1 : 100. 0.01 - 0.1 cc Antigenmenge (*Pfeiffer*) entspricht der Bindungszone 1 : 250. Diese Antigenmenge ist jedoch viel geringer für Meerschweinchen, die die Bindungszone des Präzipitins 1 : 50 oder 1 : 25 zeigen. Es ist wahrscheinlich, dass die in den oben genannten früheren Methoden (*Thomsen* u. a.) angegebene minimale Reinjektionsmenge auf Grund unserer Versuche mit Präzipitin zu gering war.

Kurz gesagt kann man die für das Verursachen der Anaphylaxie nötige beliebige Antigenmenge nur mittels der Präzipitinversuche nach *Ogata* feststellen. Die Reinjektionsmenge ist je nach den Versuchstieren verschieden, weil nach gleicher Sensibilisierungsmenge die geeignete Antigenmenge für Anaphylaxie infolge der Individualität der Tiere nicht gleich ist und diese Menge mit dem Inmunkörper des Tieres nicht parallel geht. Um diese Angabe zu bekräftigen, habe ich ferner die Versuche mit anderen Warmblüterseren (Rinder-, Hühnerserum) hinzugefügt (Tabelle 3).

Tabelle 2.

Nr.	K.G. (g)	Sens.- menge (cc)	Int. (Tg)	Reinj.- menge (cc)	Sym- ptom	Ausgang	Zeit d. Blut- entnahme	Präzipitin	
								B.z.	V.t.
1	210	1.0	16	0.064	###	tot in 3'	vor. d. Reinj. n.d.R.(n.d.T.)	1:250 —	1:16 0
2	285	0.5	14	0.22	###	tot in 2'	„	1:100 —	1:16 0
3	220	„	16	0.34	###	tot in 3'	„	1:50 —	1:8 0
4	285	„	18	0.22	###	tot in 3'	„	1:100 —	1:2 0
5	265	„	16	0.8	###	tot in 2'	„	1:25 —	1:4 0
6	245	0.3	14	0.38	###	tot in 2'	„	1:50 —	1:4 0
7	320	0.1	14	0.25	###	tot in 3'	„	1:100 —	1:8 0
8	350	„	14	0.11	###	tot in 3'	„	1:250 —	1:8 0
9	280	„	21	0.43	###	tot in 2'	„	1:50 —	1:16 0
10	310	„	21	0.96	###	tot in 3'	„	1:25 —	1:4 0

B.z. = Bindungszone, V.t. = Verdünnungstiter.

Bei aktiver Anaphylaxie pflegen wir in unserem Institute die Reinjektionsmenge aus der Bindungszone des Versuchstieres und der Bindungszone des Präzipitins zu bestimmen. Nach unseren Erfahrungen zeigt das Versuchstier nach einmaliger Sensibilisierung eine Präzipitinbindungszone meist von 1:50–1:100, selten von 1:250 und ganz selten von 1:500. Daher lässt sich vermuten, dass bei aktiven Anaphylaxieversuchen durch kleine Antigenmengen eine starke Anaphylaxie nicht stets erzielt werden kann. Um die Reinjektionsmenge noch zu vermindern und Schocktod zu erzeugen, muss man den passiven Anaphylaxieversuch anwenden, weil dabei eine hohe Bindungszone bei Kaninchenpräzipitin mit Gewissheit erwartet werden kann.

### B. Die passive Anaphylaxie.

Die Sensibilisierungsmethode habe ich in meiner Arbeit „Anaphylaxie und Vagotomie“ gleichfalls schon näher beschrieben. Die ange-

## Über die Antigenreinjektionsmenge bei der experimentellen Anaphylaxie. 147

Tabelle 3.

Nr.	K.G. (g)	Sens.- menge (cc)	Int. (Tg)	Reinj.- menge (cc)	Sym- ptom	Ausgang	Zeit d. Blut- entnahme	Präzipitin		Bemerkungen
								B.z.	V.t.	
1	270	0.1	14	0.208	###	tot in 3'	vor d. Reinj. n.d.R. (n.d.T.)	1: 100 —	1: 8 0	Hühnerserum
2	250	∅	14	0.384	###	tot in 2'	∅	1: 50 —	1: 16 0	∅
3	260	∅	18	0.8	###	tot in 2'	∅	1: 25 —	1: 8 0	∅
4	255	∅	14	0.196	###	tot in 3'	∅	1: 100 —	1: 4 0	Rinderserum
5	260	∅	18	0.4	###	tot in 2'	∅	1: 50 —	1: 16 0	∅
6	275	∅	14	0.85	###	tot in 2'	∅	1: 25 —	1: 8 0	∅

wandten Antirinderserumimmunsereen von Kaninchen sind folgende :

	Bindungszone	Verdünnungstitel
A	1 : 500	1 : 1,000
B	1 : 1,000	1 : 500
C	1 : 10,000	1 : 2,000

Die zur Sensibilisierung erforderlichen minimalen Präzipitineinheiten sind bei allen drei Immunsereen 500 Einheiten, und der Präzipitintiter des sensibilisierten Meerschweinchens beträgt 24 Stunden nach Sensibilisierung 1:25. Nach dieser Intervallzeit wurde das Antigen in allen Versuchen intravenös injiziert.

*Versuch 1.* Die Antigenmenge zur Reinjektion bei Sensibilisierung mit Minimalimmunkörper (Tabelle 4). Die angewandten Immunsereen haben eine so hohe Bindungszone, dass man sie bei aktiv sensibilisierten Meerschweinchchen kaum herstellen kann. Wie aus Tabelle 4 ersichtlich, gingen Meerschweinchchen vom Körpergewichte von ca. 260 g 24 Stunden nach Sensibilisierung durch Reinjektion mit der sicher tödlichen, d. h. der der Bindungszone entsprechenden, Antigenmenge unter typischer Anaphylaxie zu Grunde. Bei diesem Versuche lässt sich auch die Tatsache, dass je höher die Bindungszone, desto kleiner die Reinjektionsmenge ist, nachweisen. Denn man sieht, dass bei den mit Immunsereum A (Bindungszone 1:500) sensibilisierten Meerschweinchchen die Reinjektionsmenge 0.036–0.042 cc, bei den mit B (Bindungszone 1:1,000) sensibilisierten 0.017–0.0185 cc und bei den mit C (Bindungszone 1:10,000) sensibilisierten 0.00185–0.002 cc beträgt. Das Immunsereum, das die sehr hohe Bindungszone von C zeigt, ist nicht sehr häufig zu



Tabelle 4.

Nr.	K.G. (g)		Imm.-ser.	Sens.-menge (cc)	Int. (St)	Reinj.-menge (cc)	Symptom	Ausgang	Zeit d. Blutentnahme	Präzipitin	
	bei d. Sens.	bei d. Reinj.								B.z.	V.t.
1	270	260	A	0.52	24	0.04	###	tot in 2'	vor d. Reinj. n.d.R. (n d T.)	1: 500 —	1: 25 0
2	280	275	A	0.54	∅	0.042	###	tot in 2'	∅	1: 500 —	1: 25 0
3	250	240	A	0.48	∅	0.036	###	tot in 2'	∅	1: 500 —	1: 25 0
4	230	235	B	0.88	∅	0.0174	###	tot in 3'	∅	1: 1,000 —	1: 25 1: 5
5	220	220	B	0.85	∅	0.017	###	tot in 3'	∅	1: 1,000 1: 1,000	1: 25 1: 2
6	245	240	B	0.92	∅	0.0185	###	tot in 2'	∅	1: 1,000 —	1: 25 0
7	260	250	C	0.25	∅	0.00192	###	tot in 3'	∅	1: 10,000 —	1: 25 0
8	240	240	C	0.23	∅	0.00185	###	tot in 3'	∅	1: 10,000 —	1: 25 0
9	265	260	C	0.255	∅	0.002	###	tot in 3'	∅	1: 10,000 —	1: 25 0

bekommen. Bei der Benützung von C ist die Reinjektionsmenge sehr geringfügig und beträgt etwa 0.002 cc. Diese Menge stimmt mit der Angabe von *Doerr* u. *Seidenberg* in ihren passiven Anaphylaxieversuchen überein. Wir konnten diese Menge mittels Präzipitinreaktion im voraus bestimmen.

*Versuch 2.* Die Sensibilisierung mit der 2-fachen Minimaldosis. Ich machte den folgenden Versuch auf Grund der Tatsache, dass, je grösser die in den Organismus des Tieres injizierte Präzipitinmenge ist, desto geringer die Reinjektionsmenge ist (Tabelle 5).

Es ist klar, dass die Minimaldosis für die Reinjektion bei stärkerer Sensibilisierung in zahlenmässiger Proportion sich vermindern lässt; so ist z.B. bei 2-facher Präzipitininjektion die Minimalantigendosis halb so gross wie bei minimaler Sensibilisierung mit demselben Präzipitin. Doch tritt bei den mit Immuneserum B sensibilisierten Meerschweinchen der Schocktod bei Antigenreinjektion von halber Menge ein, während die mit C sensibilisierten am Leben bleiben, wenn sie auch mittelschwer anaphylaktisch reagieren. Der Präzipitintiter ist 24 Stunden nach der Sensibilisierung 1:50. Aus diesem Versuche erhellt, dass die Vermehrung der Sensibilisierungsdosis bei Meerschweinchen durch kleinere

## Über die Antigenreinjektionsmenge bei der experimentellen Anaphylaxie. 149

Tabelle 5.

Nr.	K.G. (g)		Imm.-ser.	Sens.-menge (cc)	Int. (St.)	Reinj.-menge (cc)	Symptom	Ausgang	Zeit d. Blutentnahme	Präzipitin	
	bei d. Sens.	bei d. Reinj.								B.z.	V.t.
1	265	260	B	2.04	24	0.01	###	tot in 3'	vor d. Reinj. n.d.R. (n.d.T.)	1 : 1,000 1 : 1,000	1 : 50 1 : 5
2	250	235	B	1.92	↗	0.009	###	tot in 3'	↗	1 : 1,000 1 : 1,000	1 : 50 1 : 20
3	260	250	C	0.5	↗	0.00096	++	lebt	vor d. Reinj. 30' n.d.Reinj.	1 : 10,000 1 : 10,000	1 : 50 1 : 30
4	240	240	C	0.46	↗	0.00093	++	lebt	↗	1 : 10,000 1 : 10,000	1 : 50 1 : 25
5	250	245	C	0.48	↗	0.00094	++	lebt	↗	1 : 10,000 1 : 10,000	1 : 50 1 : 25

(Reinjektionsmenge = Bindungszone  $\times$  1/2)

Antigenmenge Anaphylaxie hervorrufen kann, obgleich die Reinjektionsmenge mit Erhöhung der Sensibilisierungsmenge keine zahlenmässig umgekehrte Proportionalität zeigt. Es ist also denkbar, dass bei maximaler Sensibilisierung, d. h. bei Sensibilisierung des Meerschweinchens mit möglichst hohem Immuserum und in grossen Mengen, die Reinjektionsmenge des Antigens sich bis auf ein Minimum vermindern lassen kann. Dabei wird der Versuch noch begünstigt, wenn das Immuserum zur Sensibilisierung eine hohe Bindungszone behält. Kürzlich wurde von *Doerr* u. *Seidenberg* eine Mitteilung über die kleine Antigenreinjektionsmenge veröffentlicht, wonach sie bei aktiver Anaphylaxie 0.02 cc, bei passiver 0.002 cc beträgt. Ich habe in diesem Falle 24 Stunden nach der Sensibilisierung mit dem Immuserum C (Bindungszone 1 : 10,000—ungewöhnlich hoch) in grosser Menge ein wenig Antigen reinjiziert. Obige Voraussetzungen regten folgende Versuche an :

*Versuch 3.* a. Ms. 285 g. Die Sensibilisierungsdosis 2,000 Einheiten (1.09 cc) — 4-fache Minimaldosis. 24 Stunden nach der Sensibilisierung wurde die Reinjektion mit der der Bindungszone  $\times$  1/4 entsprechenden Menge (0.00054 cc — Körpergewicht 280 g) ausgeführt. Haarsträubung, Unruhe, Erregung usw. ; — leichte Anaphylaxie. Vor und 10 Minuten nach der Reinjektion zeigt der Präzipitinverdünnungstiter 1 : 100.

b. Ms. 270 g. Die Sensibilisierungsdosis 2,000 Einheiten (1.04 cc). 24 Stunden nach der Sensibilisierung wurde die Reinjektion mit der der Bindungszone  $\times$  1/2 entsprechenden Menge (0.001 cc — Körpergewicht 260 g) ausgeführt. Kratzen der Nase, Würgen, nach 3 Minuten Kot-

und Urinabgang, nach 5 Minuten Krämpfe; — mittelschwere Anaphylaxie. Der Präzipitinverdünnungstiter ist vor der Reinjektion 1:100 und 10 Minuten danach 1:80.

c. Ms. 300 g. Die Sensibilisierungsdosis 4,000 Einheiten (2.3 cc) — 8-fache Minimaldosis. 24 Stunden nach der Sensibilisierung wurde die der Bindungszone  $\times 1/4$  entsprechende Menge (0.00056 cc — Körpergewicht 290 g) reinjiziert. Haarsträubung, Erregung, Unruhe, Würgen, nach 3 Minuten Kot- und Urinabgang, leichte Krämpfe; — leichte Anaphylaxie. Der Präzipitinverdünnungstiter zeigt vor und nach der Reinjektion 1:150.

d. Ms. 290 g. Die Sensibilisierungsdosis 4,000 Einheiten (2.24 cc). 24 Stunden nach der Sensibilisierung wurde die der Bindungszone  $\times 1/3$  entsprechende Menge (0.00073 cc — Körpergewicht 285 g) reinjiziert. Haarsträubung, Erregung, Unruhe, Würgen, Krämpfe; — mittelschwere Anaphylaxie. Der Präzipitinverdünnungstiter zeigt vor der Reinjektion 1:150 und 10 Minuten danach 1:100.

e. Ms. 290 g. Die Sensibilisierungsdosis 4,000 Einheiten (2.24 cc). 24 Stunden nach der Sensibilisierung wurde die der Bindungszone  $\times 1/2$  entsprechende Menge (0.00108 cc — Körpergewicht 280 g) reinjiziert. Nach 10 Minuten verendete das Tier durch starke Anaphylaxie. Der Präzipitinverdünnungstiter ist vor der Reinjektion 1:150 und nach dem Tode 1:50.

f. Ms. 260 g. Die Sensibilisierungsdosis 4,000 Einheiten (2.0 cc). 24 Stunden nach der Sensibilisierung wurde die der Bindungszone  $\times 1/2$  entsprechende Menge (0.00096 cc — Körpergewicht 255 g) reinjiziert. Nach 15 Minuten verendete das Tier durch starke Anaphylaxie. Der Präzipitinverdünnungstiter ist vor der Reinjektion 1:150 und nach dem Tode 1:50.

Wie aus obigen Versuchen erhellt, wird die Minimaldosis für die Reinjektion durch die Präzipitineigenschaft für Antigen und durch die Sensibilisierungsmenge stark beeinflusst. Wenn man das Versuchstier mit einem Immunsrum, das eine hohe Bindungszone (1:10,000) aufweist, sensibilisiert, so kann man durch die Reinjektion mit der kleinen Menge, d. h. 0.002 cc Antigen, sicher stets einen typisch anaphylaktischen Schocktod herbeiführen. Daneben wird die Reinjektionsmenge durch die Blutmenge des Versuchstieres beeinflusst. Sie ist beim Meerschweinchen von geringerem Körpergewichte dementsprechend geringer. So ist sie z. B. beim Meerschweinchen vom Körpergewichte 200 g 0.00154 cc ( $200 \div 13 = 15.4$  — die vermutete Blutmenge,  $15.4 \div 10,000 = 0.00154$ ). Ich untersuchte die anaphylaktische Erscheinung, wobei ich die Sensibilisierungsdosis vermehrte und umgekehrt die Reinjektionsmenge verminderte. Die unten geschilderte Reinjektionsmenge ist die notwendige Menge, die beim Meerschweinchen vom Körpergewichte

## Über die Antigenreinjektionsmenge bei der experimentellen Anaphylaxie. 151

260 g umgerechnet wird. Obgleich Meerschweinchen bei der Sensibilisierung mit 2,000 und 4,000 Einheiten bei der Reinjektion mit der 0.0005 cc Antigenmenge (Bindungszone  $\times 1/4$ ) mit typischer Anaphylaxie nicht reagieren, so scheint es doch, dass der Grad der klinischen Symptome bei Sensibilisierung mit grossen Einheiten etwas stärker ist. Bei Versuchen, bei denen die Reinjektionsmenge 0.001 cc (Bindungszone  $\times 1/2$ ) gewählt wurde, beobachtete man, dass bei Sensibilisierung mit 2,000 Einheiten die Anaphylaxie mittelschwer auftrat und das Tier am Leben blieb, während bei stärkerer passiver Immunisierung die Anaphylaxie so typisch war, dass das Tier in 10 - 15 Minuten zu Grunde ging. Bei stärkerer Sensibilisierung reagiert das Tier auf die Reinjektion mit der 0.00067 cc Menge (Bindungszone  $\times 1/3$ ) mittelschwer und bleibt am Leben. Dies entspricht der Reinjektion von 0.001 cc (Bindungszone  $\times 1/2$ ) bei schwächerer Sensibilisierung. Ich konnte hier also bei Meerschweinchen durch eine kleine Menge, d. h. 0.001 cc Antigen, einen anaphylaktischen Schocktod sicher herbeiführen.

### Zusammenfassung.

30 Jahre lang wurde nach Begründung der experimentellen Anaphylaxie das Anaphylaxieproblem von mehreren Forschern klinisch und serologisch in seinen Einzelheiten genauer studiert. Prof. Dr. *M. Ogata* (1927) ersann die Antikörperverdünnungsmethode bei der Präzipitinreaktion und erkannte, dass ein anaphylaktischer Schocktod stets sicher herbeigeführt wird, wenn man bei sensibilisierten Meerschweinchen die der Bindungszone entsprechende Antigenmenge reinjiziert. Dieses Erkenntnis führte zu der Erwartung, dass die Theorie von der Identität des anaphylaktischen Antikörpers mit dem Präzipitin praktisch mehr und mehr nachgewiesen werden könne.

Die früher gewöhnlich angewandte Bestimmungsmethode der für das Verursachen der Anaphylaxie nötigen Antigenreinjektionsmenge wurde durch Tierexperimente, wie Toxinversuche, bestimmt. Es darf als ein Fortschritt in den Anaphylaxiestudien gelten, dass sich die notwendige Antigenreinjektionsmenge rechnermässig aus dem Verhalten des Körpergewichtes des Versuchstieres und aus der Präzipitinnatur in den einzelnen Fällen sicher bestimmen lässt. Die früher gewöhnlich angewandte Bestimmungsmethode bestand, wie ich bereits in der Einleitung erwähnte, darin, dass man die Methode der kleinen Dosen wählte, die man vergrösserte, bis das Tier mit akutem Schocktode reagierte. Es gibt nicht wenige Forscher, die auf Verschiedenheiten der anaphylaktischen Erscheinungen gestossen sind. Diese Verschiedenheiten wurden durch die Reinjektionsmenge verursacht, deren

Minimum durch die betreffende Bestimmungsmethode festgestellt worden war. Dies scheint heute nicht verwunderlich, da man weiss, dass die Reinjektionsmenge durch die Bindungszone des Präzipitins beeinflusst wird. Da es feststeht, dass die minimale Reinjektionsmenge zu der Bindungszone und auch zum Präzipitintiter der Versuchstiere im umgekehrten Verhältnisse steht, ist es leicht vorstellbar, dass man Meerschweinchen durch sehr kleine Antigenmengen töten kann, wenn man ein Immuneserum mit einer hohen Bindungszone herstellt und sie damit passiv sensibilisiert. Ich selbst konnte bei Meerschweinchen eines Körpergewichtes von ca. 260 g durch Reinjektion mit einer kleinen Menge, d. h. 0.002 cc, Antigen stets sicher einen anaphylaktischen Schocktod herbeiführen, wobei ich sie mit dem der Bindungszone 1 : 10,000 entsprechenden Immuneserum passiv sensibilisierte. Diese Antigenmenge entspricht der Angabe von *Doerr* u. *Seidenberg* (0.002 cc). Ich vermehrte nun die Sensibilisierungsdosis bis zu 4,000 Einheiten (8-fache Minimaldosis) und beobachtete, dass Meerschweinchen vom Körpergewicht 260 g durch Reinjektion auf die 0.00067 cc Menge Antigen mittelmässig reagierten und dass Meerschweinchen vom gleichen Körpergewicht auf 0.001 cc stark reagierten und in 10–15 Minuten nach der Reinjektion mit Schocktod eingingen. Ich konnte hier also mit den halben Injektionsmengen, die *Doerr* u. *Seidenberg* benutzten, einen anaphylaktischen Schocktod herbeiführen.

Hieraus erhellt, dass die Reinjektionsmenge dementsprechend nicht unbegrenzt vermindert wird, wenn auch die Sensibilisierungsdosis eine allmähliche Vermehrung erfährt. Man weiss, dass der Antigenverdünnung eine Grenze gesetzt ist, d. h. es besteht kein streng mathematischer Zusammenhang zwischen der Sensibilisierungsdosis und der Reinjektionsmenge. Wenn man aber in bezug auf die Antigenreagierbarkeit ein noch höheres Präzipitin herstellen würde, so scheint es nicht unmöglich, dass sich die tödliche Minimalreinjektionsmenge noch mehr vermindern liesse. Die Versuchsergebnisse lassen sich kurz gefasst folgendermassen formulieren :

1. Mein Versuch beweist, dass bezüglich der Reinjektionsmenge beim Anaphylaxieversuche bei aktiver und bei passiver Anaphylaxie ein grosser Unterschied besteht, weil man bei letzterer das zur Sensibilisierung geeignete Serum auswählen kann.

2. Die für Hervorrufen der Anaphylaxie benötigte Reinjektionsmenge kann nach dem Präzipitinversuche durch Bestimmung der Präzipitinmenge und der für das Präzipitin (Bindungszone) geeigneten Antigenmenge sicher festgestellt werden.

3. Bei passiver Anaphylaxie liess sich ein Schocktod durch Reinjektion einer kleinen Antigenmenge (0.001 cc) erzielen.

Über die Antigenreinjektionsmenge bei der experimentellen Anaphylaxie. 153

Zum Schlusse erfülle ich die unangenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. *M. Ogata*, für seine freundliche Anregung und Leitung bei Ausführung dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

**Literaturverzeichnis.**

- <sup>1</sup> *Richt*, zit. nach *Doerr*. — <sup>2</sup> *Kraus* u. *Doerr*, Wien. kl. Wochenschr., Nr. 28, S. 1008, 1908. — <sup>3</sup> *Doerr* u. *Russ*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 2, S. 109, 1909. — <sup>4</sup> *Moro*, zit. nach *Sugimoto*. — <sup>5</sup> *Pfeiffer*, Handb. d. biol. Arbeitsmeth., III. Abt., Methode d. Immunitätsforsch., T. 2, H. 1, S. 1, 1921. — <sup>6</sup> *Thomsen*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 26, S. 213, 1917. — <sup>7</sup> *Bessau*, *Opitz* u. *Preusse*, Zentralbl. f. Bakt., Orig., Bd. 74, S. 162, 1914. — <sup>8</sup> *Ogata*, Vortrag in der 1. hygienischen, mikrobiologischen und parasitologischen Generalversammlung in Japan, 1927. — <sup>9</sup> *Kageyama*, Okayama Igakkai Zasshi, Jg. 40, S. 368, 1928. — <sup>10</sup> *Sugimoto*, ebenda, Jg. 41, S. 2562, 1929. — <sup>11</sup> *Kuwana*, Arbeiten aus d. med. Universität Okayama, Bd. 2, S. 436, 1931. — <sup>12</sup> *Doerr* u. *Seidenberg*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch., Bd. 69, S. 169, 1930. — <sup>13</sup> *Itoh*, Arbeiten aus d. med. Universität Okayama, Bd. 3, S. 92.
-