

Acta Medica Okayama

Volume 3, Issue 3

1932

Article 6

MÄRZ 1933

Experimentelle Studien über die hemmende Wirkung der Anaphylaxie (II. Mitteilung).

Kazuo Itoh*

*Okayama University,

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

Experimentelle Studien über die hemmende Wirkung der Anaphylaxie (II. Mitteilung).*

Kazuo Itoh

Abstract

Es ist allbekannt, daß Formalin auf die Prazipitinreaktion hemmend wirkt. Unter Vermutung, daß Formalin auch den Eintritt der Anaphylaxie vorbeugen kann, führte ich diese Versuche aus, weil die die Anaphylaxie hemmende Wirkung auf die Verhinderung der Antigen-Antikörperbindung in vivo beruht. Ich untersuchte bei aktiv oder passiv präparierten Meerschweinchen den Einfluß der Injektion oder Inhalation von Formalin auf die Anaphylaxie und beobachtete zu gleicher Zeit das Verhalten des Prazipitins und Komplementes vor und nach der Reinjektion. Die Injektion von Formalin: Bei aktiv präparierten Meerschweinchen scheint es, als ob die Anaphylaxie klinisch kaum gemildert wird. Bei passiv präparierten Meerschweinchen wirkt stärker als bei aktivem Falle und durch Formalininjektion werden sowohl die Antigen-Antikörperbindung in vivo als die Anaphylaxie gehemmt. Die Inhalation von Formalin: Bei aktiv präparierten Meerschweinchen zeigt die Inhalation die die Anaphylaxie hemmende Wirkung und dieselbe Wirkung ist bei passiv präparierten fast vollständig. Die Beziehung zwischen Formalinwirkung und Immunreaktion: Ich stellte fest, daß durch die Injektion oder Inhalation von Formalin mit der in meinen Versuchen verwendeten Menge das Prazipitin oder Komplement im Meerschweinchen nicht beeinflusst wird. Aber kann man in der Untersuchung bei dem direkten Zusatz in vitro von Formalin sehen, daß die Prazipitinreaktion mehr oder weniger gehemmt wird, wie von früheren an allbekannt ist. Also ersieht man dabei, daß der direkte Zusatz in vitro von Formalin auf die Prazipitinreaktion hemmend wirkt, während die Injektion oder Inhalation mit derselben Menge das Prazipitin oder Komplement in vivo nicht beeinflusst. Was für eine Untersuchung darf man dann unternehmen, um den Mechanismus der die Anaphylaxie hemmenden, d.h. die Antigen-Antikörperbindung in vivo hemmenden Wirkung von Formalin zu erforschen? Ich stellte fest, daß das Meerschweinchenserum nach der Formalineinverleibung im Vergleich zu dem davor die Prazipitinreaktion in vitro hemmt, wenn man die beiden Sera als Verdunnungsmedien des Prazipitinsersums benutzt. Daß man im Serum nach der Formalineinverleibung die die Prazipitinreaktion hemmende Wirkung sieht, beruht wahrscheinlich darauf, daß der Kolloidzustand im Organismus durch die Formalineinverleibung geändert wird.

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

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

Experimentelle Studien über die hemmende Wirkung der Anaphylaxie (II. Mitteilung).

Von

Kazuo Itoh.

Eingegangen am 3. Juni 1932.

Einleitung.

Im Anschluß an meine erste Mitteilung¹⁾ über die anaphylaxiehemmende Wirkung der Vagotomie berichte ich hier die Ergebnisse der neuen Versuche, die ich weiter nach den bereits angegebenen methoden ausgeführt habe.

*Eisenberg*²⁾ sagte, daß Formalin Präzipitin zerstört und Präzipitatkörner löst. *Merkel*³⁾, *Weidanz*⁴⁾ u.a. sagten, daß Formalin für die Aufbewahrung des Immunserums als Antiseptika ungeeignet ist. *Eisler* und *Löwenstein*⁵⁾ (Bakterienpräzipitin), *Kunifusa*⁶⁾ (Antirinder-, Antischweine- und Antipferdepräzipitin von Kaninchen) bemerkten die die Präzipitinreaktion hemmende Wirkung von Formalin. Weil die die Anaphylaxie hemmende Wirkung die Verhinderung der Antigen-Antikörperbindung in vivo ist, ist es denkbar, daß Formalin also bei präparierten Tieren auf die Anaphylaxie auch hemmend wirkt. Ich untersuchte bei aktiv oder passiv präparierten Meerschweinchen die die Anaphylaxie hemmende Wirkung von Formalin, wobei ich vor der Reinjektion eine bestimmte Menge von Formalin mittels Injektion oder Inhalation einverleibte.

Untersuchungsmethoden.

In meinem Versuche benutzte ich Formalin im Handeln („Sankyo“). Als Injektionsmaterial stellte ich 1% Formalinlösung her (es wird als 1% Formalin genannt). 5 Minuten nach subkutaner Injektion oder Inhalation von Formalin reinjizierte ich bei präparierten Meerschweinchen die sicher tödliche Antigenmenge intravenös, wobei ich die Symptome genau beobachtete. Bei den Tieren, die mit

anaphylaktischen Schocktod eingingen, untersuchte ich gleich nach dem Tode im Serum das Verhalten des Präzipitins und des Komplementes, das auch bei den übrigen Lebenden nach der Reinjektion von Zeit zu Zeit beobachtet wurde. Als Präzipitationsmethode verwendete ich die Antikörperverdünnungsmethode nach *Ogata*. Das Komplement wurde genau so untersucht, wie ich in meiner vorhergehenden Arbeit „Studien über die Anaphylaxie“ dargestellt habe.

Experimente.

Vorprobe.

Zur Bestimmung der geeigneten Injektionsmenge von Formalin ging ich so vor, daß ich bei normalen, gesunden Meerschweinchen die Prüfung mit kleinen Dosen begann und dann langsam ansteigend größere Dosen wählte, wobei ich die dadurch herbeigeführten Erscheinungen genau beobachtete (Tabelle 1).

Tabelle 1. Geeignete Injektionsmenge von Formalin.

Nr.	Körpergewicht (g)	Injektionsmenge d. Formalins (pro 100 g)	Symptome
1	250	0.1 cc	Leichte Unruhe
2	270	0.2 cc	Unruhe gleich nach der Injektion, dann mäßige Zuckung
3	260	0.3 cc	„ „
4	255	0.4 cc	Krampf. Steht unmittelbar vor dem Tod. Überlebt
5	250	0.5 cc	Krampf. Verendete 20 Minuten nach der Injektion
6	260	0.5 cc	Krampf. Verendete gleich nach der Injektion

Aus der obigen Tabelle ersieht man, daß 0.2-0.3 cc Formalinmenge (1%) pro 100 g Meerschweinchen die geeignete Injektionsmenge ist. Deshalb benutzte ich in folgenden Versuchen pro 100 g 0.2 cc von 1% Formalin als subkutane Injektion. Was für Erscheinungen zeigt die Inhalation von Formalindampf bei Meerschweinchen?

Ich legte das Drahtnetz auf die Schale, worin 10 cc Formalin bereitet wird, und auf das Drahtnetz setzte ich ein Meerschweinchen. Sodann bedeckte ich dies alles mit einer Glasglocke, welche an ihrem oberen Ende ein kleines Loch besitzt, wobei ich das Meerschweinchen, das Formalindampf inhalierte, genau beobachtete; man sieht Thränenausfluß, gesteigerten Nasenausfluß, Husten durch die Reizung der Schleimhäute und Zuckung. Trotzdem man nach 3-5 Minuten lang dauernder Inhalation die Glasglocke wegnimmt und das Tier an den Tisch bringt, sieht man noch Ausflüsse der verschiedenen Schleimhäute und Zuckung. Diese Symptome lassen nach einiger Zeit nach und alle Tiere bleiben am Leben.

Die aktive Anaphylaxie.

a. Die Injektion von 1% Formalin: 5 Minuten nach der subkutanen Formalininjektion reinjizierte ich bei mit dem 0.1 cc Rinder Serum präparierten Meerschweinchen die geeignete Antigenmenge (Tabelle 2).

Tabelle 2. Die Formalininjektion bei aktiver Anaphylaxie.

Nr.	K.G. (g)	Sensib.- menge (cc)	Int. (1 cc)	Reinj.- menge (cc)	Zeit der Blutentnahme	Präzipitin		Komplem.- gehalt in 1 cc	Symptom	Ausgang	Bemerkung
						B.z.	V.t.				
1	230	0.1	15	0.044	vor d. Reinj. n. d. R. (n. d. T.)	1 : 100	1 : 16	33.3 0	III	tot in 3'	Kontrolle
2	185	..	17	0.036	..	1 : 100	1 : 8	33.3 0	III	tot in 4'	
3	255	..	14	0.049	..	1 : 100	1 : 32 1 : 4	14.3 0	III	tot in 3'	
4	225	0.043	..	1 : 100	1 : 16 1 : 8	20.0 0	III	tot in 4'	

Reinjektionsmenge = Bindungszone \times 1/4

Wie Sugimoto⁸⁾ und auch ich bereits erwähnten, ist die minimale tödliche Reinjektionsmenge bei aktiv präparierten Meerschweinchen 1/4 von der der Bindungszone entsprechenden Menge. Deshalb benutzte ich auch diese Antigenmenge als Reinjektionsmenge. Bezüglich der klinischen Erscheinungen kann man keinen Unterschied merken zwischen den normalen Tieren und solchen, die von vornherein mit Formalin vorbehandelt wurden. Also muss man sagen, daß Formalin in diesem Falle klinisch die die Anaphylaxie hemmende Wirkung nicht zeigt. Aber man kann bei mit Formalin vorbehandelten Tieren eine schwächere Präzipitinverminderung nach dem Tode sehen. Z.B. sieht man in einem Falle (Nr. 4), daß die Präzipitinverminderung nur zur Hälfte ist. Es ist also wahrscheinlich, daß Formalin auf die Antigen-Antikörperbindung in vivo in diesem Falle hemmend wirkt. Der Verminderungsgrad des Komplementes ist gleichmäßig wie bei der Kontrolle. Ich glaube, daß Meerschweinchen wegen der starken Bindungskraft der Antigen-Antikörperbindung in vivo in diesem Falle klinisch einen Schocktod nicht vermeiden können, wenn auch durch die Formalininjektion die Antigen-Antikörperbindung im Versuchstiere verzögert wird.

b. Die Inhalation von Formalindampf: 5 Minuten nach der 3-5 Minuten lang dauernden Inhalation von Formalindampf reinjizierte ich bei präparierten Meerschweinchen die geeignete Antigenmenge (Tabelle 3).

Tabelle 3. Die Formalininhalation bei aktiver Anaphylaxie.

Nr.	K.G. (g)	Sensib.- menge (cc)	Inj. (1g)	Reinj.- menge (cc)	Zeit der Blutentnahme	Präzipitin		Kömpl.- gehalt in 1 cc	Symptom	Ausgang	Bemerkung
						B.z.	V.t.				
1	230	0.1	15	0.044 (Bz×1/4)	vor d. Reinj. n. d. R. (n. d. T.)	1:100	1:16	33.3		tot in 3'	Kontrolle
2	250	"	14	0.024 (")	"	1:50	1:8 1:4	25.0		tot in 8'	
3	250	"	"	0.048 (")	vor d. Reinj. 15' nach der Reinj. 1 Std. n. d. Reinj.	1:100	1:8 1:4 1:4	33.3		lebt	
4	200	"	17	0.0308 (Bz×1/2)	vor d. Reinj. n. d. R. (n. d. T.)	1:250	1:4	33.3		tot in 4'	
5	240	"	"	0.0194 (")	"	1:500	1:16	33.3		tot in 4'	

Wenn man als Reinjektionsmenge die der Bindungszone $\times 1/4$ entsprechende Antigenmenge benutzt, wird die Anaphylaxie gehemmt (Nr. 2 und 3). Im letzteren Falle blieb das Tier am Leben. Nach der Reinjektion reagiert das Serum positiv für das Antigen. Wählt man dann 2-fache Reinjektionsmenge (Bindungszone $\times 1/2$), so geht das Tier durch Anaphylaxie zu Grunde. Das Serum des Versuchstieres reagiert nach dem Tode für das Antigen nicht mehr. Es ist wahrscheinlich, daß die die Anaphylaxie hemmende Wirkung von Formalin bei der Inhalation nicht so stark ist, da das Tier bei geeigneter Reinjektion vor dem Schocktod nicht gerettet werden kann. Komplement vermindert in diesem Falle auch wie bei der Kontrolle. Nach meiner Erfahrung ist der Komplementverminderungsgrad bei aktiver Anaphylaxie nicht konstant und geht mit den klinischen Symptomen nicht immer parallel. Während das Tier mit typischem anaphylaktischem Schocktod einging, zeigt der Komplementgehalt des Serums nach dem Tode 12.5 (Nr. 4). Es ist wahrscheinlich, daß der Komplementschwund bei der Antigen-Antikörperbindung in vivo je nach den Versuchstieren verschieden ist.

Experimentelle Studien über die hemmende Wirkung der Anaphylaxie. II. 491

Die passive Anaphylaxie.

Die in diesem Versuche verwendete Präzipitinsera sind wie folgt; A (Bindungszone 1:10,000 Verdünnungstiter 1:1,000), B (Bindungszone 1:1,000 Verdünnungstiter 1:500) und C (Bindungszone 1:500 Verdünnungstiter 1:1,000).

a. Die Injektion von 1% Formalin (Tabelle 4):

Tabelle 4. Die Formalininjektion bei passiver Anaphylaxie.

Nr.	Immunserum			Reinjektionsmenge (cc)	Zeit der Blutentnahme	Präzipitin		Komplementgehalt in 1 cc	Symptom	Ausgang	Bemerkung
	Bindungszone	Verdünnungstiter	Sensibilisierungsmenge (cc)			B.z.	V.t.				
1350	1:10,000	1:1,000	0.54	0.0027	vor d. Reinj. n.d.R.(n.d.T.)	1:10,000 —	1:20 0	33.3 0	###	tot in 4'	Kontrolle
2350	"	"	"	"	vor d. Reinj. 10' n. d. Reinj. 1 Std. " 2 Std. "	1:10,000 " " "	1:20 1:5 1:10 1:10	33.3 0 0 0	—	lebt	
3300	"	"	0.46	0.0023	"	1:10,000 " " "	1:20 1:5 1:5 1:10	25.0 0 0 0	—	"	
4220	1:1,000	1:500	0.68	0.017	vor d. Reinj. n.d.R.(n.d.T.)	1:1,000 "	1:20 1:2	33.3 0	###	tot in 4'	Kontrolle
5300	"	"	0.92	0.023	vor d. Reinj. 10' n. d. Reinj. 1 Std. " 2 Std. "	1:1,000 " " "	1:20 1:10 1:10 1:10	25.0 0 0 0	—	lebt	
6270	1:500	1:1,000	0.42	0.042	vor d. Reinj. n.d.R.(n.d.T.)	1:500 —	1:20 0	33.3 0	###	tot in 3'	Kontrolle
7260	"	"	0.4	0.04	vor d. Reinj. 10' n. d. Reinj. 1 Std. " 2 Std. "	1:500 " " "	1:20 1:5 1:5 1:10	33.3 0 0 0	—	lebt	
8240	"	"	0.37	0.037	"	1:500 " " "	1:20 1:5 1:10 1:10	33.3 0 0 0	—	"	

Bei passiv mit minimaler Immunserummengemenge sensibilisierten Meerschweinchen kann man durch die Injektion der der Bindungszone entsprechenden Antigenmenge sicher stets den anaphylaktischen

Schocktod erzeugen, wenn das Antigen nach 24 stündiger Intervallzeit reinjiziert wird. Wie aus der Tabelle 4 ersichtlich ist, ist die Formalinwirkung entgegen aktiver Anaphylaxie in diesem Falle in bezug auf die Antigen-Antikörperbindung *in vivo* deutlicher und dadurch wird die Anaphylaxie verzögert. Sodann sieht man weiter die Neigung des vorhandenen Präzipitins, wieder im Blute von Zeit zu Zeit nach dem Schock aufzutreten. Diese Tatsache wird so erklärt, wie ich bereits beim Vagotomieversuche erwähnte, daß das Präzipitin im Blute oder in Gewebezellen auftritt, wenn es sich wegen der anaphylaktischen Anfälle vorläufig vermindert, und daß das Präzipitin von der Antigen-Antikörperbindung von Zeit zu Zeit freigemacht wird, da die Bindungskraft des Antigens mit dem Antikörper bei mit Formalin vorbehandelten Tieren als lockerer angesehen werden kann. Komplement nach der Reinjektion vermindert in allen Fällen hochgradig, es zeigt auch die Neigung, im Blute von Zeit zu Zeit wieder Normwert zu erreichen.

b. Die Inhalation von Formalindampf: Das passiv sensibilisierte Tier wird wie bei aktiver Anaphylaxie vor der Reinjektion des Antigens mit Formalindampf behandelt. Die hemmende Wirkung wird in Tabelle 5 angegeben.

Aus der Tabelle 5 kann man ersehen, daß in diesem Falle auch die hemmende Wirkung des Formalins auf die Anaphylaxie bei dem Injektionsversuche deutlich gezeigt worden ist.

Es ist schon nachgewiesen, daß Formalin auf die Präzipitinreaktion *in vitro* hemmend wirkt, und mein Versuch über den Einfluß von Formalin auf die Anaphylaxie kam auch zu folgenden Ergebnissen: Bei aktiver Anaphylaxie hemmt die Inhalation von Formalindampf sowohl die Antigen-Antikörperbindung *in vivo* als auch die Anaphylaxie, während durch die Formalininjektion die hemmende Wirkung auf Anaphylaxie nicht bemerkbar ist, wenn auch die Antigen-Antikörperbindung *in vivo* verzögert wird. Doch ist die die Anaphylaxie hemmende Wirkung durch Inhalation von Formalindampf auch nicht so stark, daß sie für die tödliche Minimaldosis (Bindungszone $\times 1/4$) gilt. Wenn die Reinjektionsmenge bis zu 2-facher Minimaldosis (Bindungszone $\times 1/2$) gesteigert wird, so wird die die Anaphylaxie hemmende Wirkung klinisch nicht bemerkbar. Bei passiver Anaphylaxie wirkt Formalin stärker als bei aktiver Anaphylaxie, weil die Injektion oder die Inhalation von Formalin sowohl auf die Anaphylaxie als auf die Antigen-Antikörperbindung *in vivo* stark hemmend wirkt. Ich glaube, daß der Unterschied in der die Anaphylaxie hemmenden Wirkung darauf beruht, daß die mit Zellen bindende Kraft von Präzipitin bei aktiv präparierten Tieren stärker ist als bei passiv präparierten.

Tabelle 5. Die Formalinhalation bei passiver Anaphylaxie.

Nr.	Körpergewicht (g)	Immuns Serum			Reinjektionsmenge (cc)	Zeit der Blutentnahme	Präzipitin		Komplementgehalt in 1 cc	Symptom	Ausgang	Bemerkung
		Bindungszone	Verdünnungstiter	Sensibilisierungsmenge (cc)			B.z.	V.t.				
1220	1:1,000	1:500	0.68	0.017	vor d. Reinj. n.d.R.(n.d.T.)	1:1,000 "	1:20 1:2	33.3 0	###	tot in 4'	Kont- rolle	
2220	"	"	"	"	vor d. Reinj. 10' n. d. Reinj. 1 Std. " 2 Std. "	1:1,000 " " "	1:20 1:10 1:10 1:10	33.3 0 0 0	—	lebt		
3230	"	"	0.7	0.018	"	1:1,000 " " "	1:20 1:5 1:5 1:5	25.0 0 0 0	—	"		
4250	"	"	0.76	0.019	"	1:1,000 " " "	1:20 1:10 1:10 1:10	33.3 0 0 0	—	"		
5270	1:500	1:1,000	0.42	0.042	vor d. Reinj. n.d.R.(n.d.T.)	1:500 —	1:20 0	25.0 0	###	tot in 3'	Kont- rolle	
6250	"	"	0.38	0.038	vor d. Reinj. 10' n. d. Reinj. 1 Std. " 2 Std. "	1:500 " " "	1:20 1:5 1:10 1:10	33.3 0 0 0	—	lebt		
7260	"	"	0.4	0.04	"	1:500 " " "	1:20 1:5 1:5 1:5	25.0 0 0 0	—	"		

Die Beziehung zwischen Formalinwirkung und Immunreaktion.

a. Einfluß der Formalininjektion auf das Präzipitin des Meerschweinchens: Bei aktiv oder passiv präparierten Meerschweinchens injizierte ich 1% Formalin subkutan (0.2 cc pro 100 g). Die Sera vor und 5 Minuten nach der Injektion wurden durch Präzipitinreaktion bezüglich der Reagierbarkeit für Antigen genau geprüft (Tabelle 6).

Die Präzipitinreaktion zeigt in beiden Fällen keinen Unterschied. Deshalb kann man vermuten, daß die Injektion dieser Formalinmenge durch Präzipitinreaktion kaum von Einfluß ist.

b. Einfluß der Inhalation von Formalindampf auf das Präzipitin des Meerschweinchens: Bei aktiv oder passiv präparierten Meer-

Tabelle 6.

Behandlung	Immuni- sierung Antik.-verd.	Aktive 1.				Passive 1.						
		2	4	8	16	2	5	10	15	20	25	
	Serumarten											
Formalin- injekt.	vor d. Injekt.	###	++	+	-	###	###	###	++	+	-	
	nach d. Injekt.	###	++	+	-	###	###	###	++	+	-	
Formalin- inhalat.	vor d. Inhalat.	###	###	+	-	###	###	++	+	+	-	
	nach d. Inhalat.	###	###	++	-	###	###	++	+	+	-	

Reaktion bei der Bindungszone

schweinchen führte ich die Inhalation von Formalindampf 3-5 Minuten lang aus. Die Sera vor und 5 Minuten nach der Inhalation wurden bezüglich der Präzipitinreaktion geprüft (Tabelle 6). In diesem Falle kann man ersehen, daß die Inhalation von Formalindampf auch das Präzipitin des Meerschweinchens nicht beeinflußt.

c. Einfluß der Injektion oder Inhalation von Formalin auf das Komplement des Meerschweinchens (Tabelle 7):

Tabelle 7.

Behandlung	Komplement- titer Serumarten	Hämolytische Erscheinung, die durch Anwendung der unten gegebenen 10%igen Komplementmenge in 1 cc hervorgerufen wurde									
		1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1
Formalin- injekt.	vor d. Injekt.	###	###	###	###	###	###	###	###	++	-
	nach d. Injekt.	###	###	###	###	###	###	###	###	++	-
Formalin- inhalat.	vor d. Inhalat.	###	###	###	###	###	###	###	###	###	-
	nach d. Inhalat.	###	###	###	###	###	###	###	###	###	-

Diese Versuche wurden bei normalen Meerschweinchen ausgeführt. Die Injektions- und Inhalationsmethode ist wie oben gezeigt. Aus der Tabelle 7 ersieht man, daß die Injektion oder Inhalation von Formalin das Komplement des Meerschweinchens nicht beeinflußt.

Aus diesen Versuchen glaube ich, das hier verwendete Formalinmenge das Präzipitin oder Komplement des Meerschweinchens nicht beeinflußt.

d. Einfluß des direkten Zusatzes von Formalin auf die Präzipitinreaktion: Wenn 1% Formalin, das 0.2 cc pro 100 g Meerschwein-

Experimentelle Studien über die hemmende Wirkung der Anaphylaxie. II. 495

chen subkutan injiziert wurde, gleichmäßig im Blute verteilt wird, so ist das Mengenverhältnis von Formalin im Blute des Meerschweinchens ca. 2.5%. Ich fügte zum Antikörperverdünnungsmedium (10% Meerschweinchenserum) 1% Formalin 1%, 2%, 2.5%, 3%, 4% und 5% hinzu, und verdünnte dann Präzipitinserum mit diesen behandelten Medien. Nachdem ich diese Gemische 37°C 1 Stunde lang gehalten hatte, prüfte ich die Präzipitinreaktion bei der Bindungszone (Tabelle 8).

Tabelle 8.

Immuns Serum Antikörperverd.		Antirinderpräzipitin v. Kaninchen									Antirinderpr. von Meerschweinchen			
		2	4	8	16	32	64	128	256	512	2	4	8	16
Gehalt von 1% Formalin	1 %	###	###	###	###	###	##	+	+	-	##	+	++	-
		2 %	###	###	###	###	###	##	+	+	-	##	+	-
	2.5 %	###	###	###	###	###	##	+	++	-	##	+	-	-
	3 %	###	###	###	###	###	##	+	-	-	##	+	-	-
	4 %	###	###	###	###	###	##	+	-	-	##	++	-	-
	4 %	###	###	###	###	###	##	+	-	-	++	-	-	-
	Kontrolle	###	###	###	###	###	##	+	+	-	##	+	+	-

Als das untersuchte Serum benutzte ich das Antirinderpräzipitin von Kaninchen (Bindungszone 1:500 Verdünnungstiter 1:512). Durch den Zusatz von Formalin wird die Reaktion etwas gehemmt und es sieht so aus, daß je mehr der Zusatz von Formalin ist, desto auffallender die hemmende Wirkung ist. In der Untersuchung mit dem Antirinderpräzipitinserum von Meerschweinchen (Bindungszone 1:50 Verdünnungstiter 1:8) kann man auch die hemmende Wirkung des Formalinzusatzes ersehen. Also erkennt man, daß der direkte Zusatz von Formalin mit obigem Mengenverhältnis auf die Präzipitinreaktion in vitro etwas hemmend wirkt.

e. Einfluß des indirekten Zusatzes von Formalin auf die Präzipitinreaktion:

1) Die Injektion von Formalin. Bei normalen, gesunden Meerschweinchen entnahm ich zuerst das Blut und injizierte 1% Formalin 0.2 cc pro 100 g subkutan. 5 Minuten danach entnahm ich wieder Blut. Dann verdünnte ich diese beiden Blutsera 10%ig mit physiologischer Kochsalzlösung und benutzte sie als Antikörperverdünnungsmedien. Nachdem ich das mit diesen Medien verdünnten Präzipitinserum 37°C 1 Stunde lang gehalten hatte, prüfte ich die Präzipitinreaktion bei der Bindungszone (Tabelle 9).

Tabelle 9.

Behandlung	Immunsorum Antikörperverd. Antikörper- verdünnungsmedium	Antirinderpräzipitin v. Kaninchen									Antirinderpr. von Meerschwein- chen			
		2	4	8	16	32	64	128	256	512	2	4	8	16
Formalin- injekt.	10 % Ms.-serum vor d. Injekt.	###	###	###	###	###	##	++	++	-	###	##	++	-
	10 % Ms.-serum nach d. Injekt.	###	###	###	###	###	##	++	+	-	###	##	++	-
Formalin- inhalat.	10 % Ms.-serum vor d. Inhalat.	###	###	###	###	###	##	++	++	-	###	##	++	-
	10 % Ms.-serum nach d. Inhalat.	###	###	###	###	###	##	++	+	-	###	##	++	-

Reaktion bei der Bindungszone

Als Präzipitinsera benutzte ich das Antirinderpräzipitin von Kaninchen (Bindungszone 1 : 500 Verdünnungstiter 1 : 512) und dasselbe von Meerschweinchen (Bindungszone 1 : 100 Verdünnungstiter 1 : 8). Beim ersteren sieht man die leichte Verzögerung der Reaktion im Serummedium nach der Injektion, während beim letzteren kein Unterschied zwischen beiden Medien bemerkbar ist.

2) Die Inhalation von Formalindampf. Ich benutzte hier als Präzipitinverdünnungsmedien 10% Meerschweinchensera vor und nach der Inhalation (Tabelle 9). Das Resultat ist gleich wie bei der Injektion. Aus diesen Versuchen ersieht man, daß zwischen 10% Meerschweinchenserummedien vor und nach der Injektion oder Inhalation mit oben genannten Formalinmengen ein geringfügiger Unterschied in der Reaktion beobachtet wird. Wenn man mit Formalin das Meerschweinchen einverleibt, so kommt wahrscheinlich irgend eine Veränderung (wahrscheinlich die Veränderung des Kolloidzustandes) innen im Körper zustande. Ich glaube, daß diese Veränderung sowohl auf die Antigen-Antikörperbindung in vivo als auf die Anaphylaxie hemmend wirkt.

Zusammenfassung.

Es ist allbekannt, daß Formalin auf die Präzipitinreaktion hemmend wirkt. Unter Vermutung, daß Formalin auch den Eintritt der Anaphylaxie vorbeugen kann, führte ich diese Versuche aus, weil die

die Anaphylaxie hemmende Wirkung auf die Verhinderung der Antigen-Antikörperbindung *in vivo* beruht. Ich untersuchte bei aktiv oder passiv präparierten Meerschweinchen den Einfluß der Injektion oder Inhalation von Formalin auf die Anaphylaxie und beobachtete zu gleicher Zeit das Verhalten des Präzipitins und Komplementes vor und nach der Reinjektion.

Die Injektion von Formalin: Bei aktiv präparierten Meerschweinchen scheint es, als ob die Anaphylaxie klinisch kaum gemildert wird. Bei passiv präparierten Meerschweinchen wirkt stärker als bei aktivem Falle und durch Formalininjektion werden sowohl die Antigen-Antikörperbindung *in vivo* als die Anaphylaxie gehemmt.

Die Inhalation von Formalin: Bei aktiv präparierten Meerschweinchen zeigt die Inhalation die die Anaphylaxie hemmende Wirkung und dieselbe Wirkung ist bei passiv präparierten fast vollständig.

Die Beziehung zwischen Formalinwirkung und Immunreaktion: Ich stellte fest, daß durch die Injektion oder Inhalation von Formalin mit der in meinen Versuchen verwendeten Menge das Präzipitin oder Komplement im Meerschweinchen nicht beeinflußt wird. Aber kann man in der Untersuchung bei dem direkten Zusatz *in vitro* von Formalin sehen, daß die Präzipitinreaktion mehr oder weniger gehemmt wird, wie von früheren an allbekannt ist. Also ersieht man dabei, daß der direkte Zusatz *in vitro* von Formalin auf die Präzipitinreaktion hemmend wirkt, während die Injektion oder Inhalation mit derselben Menge das Präzipitin oder Komplement *in vivo* nicht beeinflußt. Was für eine Untersuchung darf man dann unternehmen, um den Mechanismus der die Anaphylaxie hemmenden, d.h. die Antigen-Antikörperbindung *in vivo* hemmenden Wirkung von Formalin zu erforschen?

Ich stellte fest, daß das Meerschweinchenserum nach der Formalineinverleibung im Vergleich zu dem davor die Präzipitinreaktion *in vitro* hemmt, wenn man die beiden Sera als Verdünnungsmedien des Präzipitinsersums benutzt. Daß man im Serum nach der Formalineinverleibung die die Präzipitinreaktion hemmende Wirkung sieht, beruht wahrscheinlich darauf, daß der Kolloidalzustand im Organismus durch die Formalineinverleibung geändert wird.

Schlußfolgerung.

Aus der oben erwähnten Tatsache glaube ich schließen zu können:

1. Bei aktiv oder passiv präparierten Meerschweinchen wirkt

498 K. Itoh: Experimentelle Studien üb. d. hemmende Wirkung d. Anaphylaxie. II.

Formalin auf die Anaphylaxie hemmend.

2. Die die Anaphylaxie hemmende Wirkung von Formalin kommt nicht durch die direkte Einwirkung desselben auf das Präzipitin oder Komplement *in vivo* zustande. Diese ist wahrscheinlich eine indirekte Wirkung, die durch die Veränderung des Kolloidaltzustandes der Tiere hervorgerufen wird.

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

Literaturverzeichnis.

¹ *Itoh*, Arbeiten aus d. Med. Fakultät Okayama Bd. 3, S. 92, 1932. — ² *Eisenberg*, zit. n. *Kunifusa*. — ³ *Merkel*, zit. n. *Kunifusa*. — ⁴ *Weidanz*, zit. n. *Kunifusa*. — ⁵ *Eisler* u. *Loewenstein*, Centralbl. f. Bakt. Bd. 63, S. 261, 1912. — ⁶ *Kunifusa*, Shakai Igaku Zasshi Nr. 533, S. 344, 1932 (japanisch). — ⁷ *Itoh*, Arbeiten aus d. Med. Fakultät Okayama, Bd. 3, S. 402, 1933. — ⁷ *Sugimoto*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 41, S. 2562, 1929.