

Aus der Universitäts-Hautklinik Hamburg-Eppendorf, Deutschland.
Direktor: Prof. Dr. Dr. J. Kimmig.

TIEREXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNGEN ZUR BEEINFLUSSUNG VON ALLERGISCHEN PHAENOMENEN DURCH BAKTERIELLE REIZSTOFFE

Von

K. H. SCHULZ & D. PANTSCHEREWSKI

Es ist seit langem bekannt, dass die Injection von abgetötenen, gramnegativen Bakterien bei Mensch und Tier eine Anzahl von Reaktionen auslöst, von denen Fieber, Leukozytose und Beschleunigung der BSG klinisch am leichtesten nachzuweisen sind. Präparate dieser Art, wie z.B. in Deutschland das Pyrifor, wurden zur sogen. unspezifischen Reizkörpertherapie bei verschiedenen Infektionskrankheiten mit teilweise gutem Erfolg angewendet. Diese Präparate haben jedoch den Nachteil, dass sich die Dosierung nicht mit der nötigen Genauigkeit durchführen lässt. Es wurden daher in verschiedenen Laboratorien Untersuchungen zur Isolierung der pyrogenen Stoffe aus den Bakterien vorgenommen. *Westphal* gelang gemeinsam mit *Lüderitz*, *Keiderling*, *Eichenberger* u.a. die Darstellung eines hochgereinigten Pyrogens aus *E.coli* und *Salmonella abortus equi*. Chemisch handelt es sich dabei um Lipopolysaccharide, die zu 50–60 % aus Zuckerbausteinen und zu 30–40 % aus Lipoid bestehen und ein Molekulargewicht um 1 Million besitzen. (Das pyrogen wirksame Lipopolysaccharid aus *Salmonella abortus equi* befindet sich unter der Bezeichnung Pyrexal „Wander“ im Handel.

Wie die kürzlich von *Eichenberger*, *Schmidhauser-Kopp*, *Hurni*, *Fricsay* und *Westphal* erhobenen experimentellen Befunde zeigen, besitzt dieses Lipopolysaccharid eine ausser-

ordentlich starke biologische Wirksamkeit. Die geringste pyrogene Dosis beträgt bei intravenöser Injektion für Menschen 0,002–0,003 γ /kg und für Kaninschen 0,0035 γ /kg. Ausser dem Temperaturanstieg fanden die Autoren folgende Wirkungen: Steigerung des O_2 -Verbrauches, Hyperglykämie, Steigerung der Gefässpermeabilität, Leukozytose, nach höheren Dosen auch Leukopenie mit Lymphopenie und Eosinopenie, Verstärkung der Fibrinolyse und Phagocytoseaktivität, leukotaktische Wirkung und Hemmung der Magensaftsekretion. Nach der Auffassung von *Westphal* und Mitarbeitern beruht die Wirkung auf einer Freisetzung endogener Wirkstoffe im Organismus, die als Vermittler der durch Pyrogene verursachten Reaktionen anzusehen sind.

Wir haben uns für die Frage interessiert, inwieweit sich allergische Reaktionen beim Tier durch dieses Lipopolysaccharid aus *Salmonella abortus equi* beeinflussen lassen. *Meier*, *Bein* und *Jaques* haben vor kurzem ähnliche Untersuchungen mit Polysacchariden aus *Proteus*-Stämmen durchgeführt und gefunden, dass einige der verwendeten Polysaccharide einen antiallergischen Effekt entfalten. Eine Antihistamin- oder Antiserotoninwirkung konnten die Autoren dabei aber nicht nachweisen.

Die antiallergische Wirkung von Pyrexal wurde von uns an folgenden Testen untersucht:

1. Anaphylaktischer Schock von Meerschweinchen.
2. Arthus-Phänomen bei Kaninchen.
3. Cutane Anaphylaxie bei Meerschweinchen.
4. Experimentelles Kontaktekzem bei Meerschweinchen.
5. Histaminasthma bei Meerschweinchen.

ANAPHYLAKTISCHER SCHOCK

Verwendet wurden weibliche Meerschweinchen einheitlicher Herkunft von 200–250 g Gewicht. Die Sensibilisierung erfolgte mit Eieralbumin, und zwar erhielten die Tiere zunächst 2 ml einer 2 %igen Lösung i.p. und danach in dreitägigem Abstand 2 mal 0,5 ml subcutan injiziert. Nach 21 Tagen

wurde die Auslösung der Reaktion mit 0,1 mg/kg Eialbumin intracardial vorgenommen. Im ersten Versuch wurde die Hälfte der Tiere mit Pyrexal, das in pyrogenfreiem, doppelt destilliertem Wasser gelöst war, vorbehandelt, und zwar erhielten die Tiere in der Woche vor der Auslösung 4 mal 1 γ /kg Körpergewicht intraperitoneal. Die letzte Injektion erfolgte 1–1½ Stunden vor der Reinjektion des Antigens. Die Ergebnisse des 1. Versuches sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Wie die Tabelle zeigt, überlebten von 20 mit Pyrexal vorbehandelten Tieren 12 die schockauslösende Injektion. 8 Tiere gingen im Schock zugrunde. Von 20 Kontrolltieren blieben dagegen nur 2 am Leben. Sowohl bei den mit Pyrexal behandelten Tieren als auch bei den Kontrolltieren traten die Symptome des anaphylaktischen Schocks auf, jedoch bei den Pyrexaltieren später und in deutlich geringerer Intensität.

Im 2. Versuch wurde nur einmal 1 γ /kg Pyrexal 1–1½ Stunden vor der Auslösung verabfolgt. Es ergab sich ein ähnliches Resultat wie im 1. Versuch: die mit Pyrexal behandelte Gruppe hatte eine höhere Überlebensrate und die Tiere zeigten mildere Schocksymptome als die Kontrolltiere (siehe Tabelle II).

Aus den Befunden scheint der Schluss berechtigt, dass Pyrexal in Dosen von 1 γ /kg in der Lage ist, den anaphylaktischen Schock von Meerschweinchen antagonistisch zu beeinflussen. Dabei scheint es unwesentlich zu sein, ob Pyrexal nur einmal – wie im Versuch II – kurz vor der Auslösung gegeben wird, oder ob die Tiere – wie im Versuch I – schon an mehreren Tagen vorher behandelt werden.

ARTHUS-PHÄNOMEN

Die Versuche wurden an weiblichen Kaninchen von 3–3,5 kg Gewicht durchgeführt. Zur Sensibilisierung wurde den Tieren an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 4 ml Pferdeserum (PS) einmal intraperitoneal und einmal subcutan injiziert; 14 Tage später erhielten die Tiere noch eine weitere intraperitoneale

TABELLE I
Beeinflussung des anaphylaktischen Schocks von Meerschweinchen durch Pyrexal.

Versuch I

Zahl der Tiere	Sensibilisierung	Vorbehandlung	Auslösung	Ergebnis
20	Eieralbumin 2 %: 1. Tag 2 ml i.p. 4. Tag 0,5 ml s.c. 7. Tag 0,5 ml s.c.	4mal 1 γ/kg Pyrexal i.p. Letzte Injektion 1 ^h vor Auslösung.	0,1 mg/kg Eieralbumin intracardial	8 Tiere † 12 Tiere lebend
20	"	4mal 1 ml Aq. bidest. i.p.	"	Schock-symptome milder 18 Tiere † 2 Tiere lebend

TABELLE II
Beeinflussung des anaphylaktischen Schocks von Meerschweinchen durch Pyrexal.
 Versuch II

Zahl der Tiere	Sensibilisierung	Vorbehandlung	Auslösung	Ergebnis
9	Eieralbumin 2 %: 1. Tag 2 ml i.p. 4. Tag 0,5 ml s.c. 7. Tag 0,5 ml s.c.	1 γ/kg Pyrexal i.p. 1 h vor Auslösung.	0,1 mg/kg Eieralbumin intracardial	kein Tier † 9 Tiere lebend
10	"	-	"	Schock- symptome milder 6 Tiere † 4 Tiere lebend

TABELLE III
Beeinflussung des Arthus-Phänomens von Kaninchen durch Pyrexal.

Zahl der Tiere	Sensibilisierung	Vorbehandlung	Auslösung	Ergebnis
6	Pferdeserum: 1. Tag 4 ml i.p. 2. Tag 4 ml s.c. 14. Tag 4 ml i.p.	1 7/kg Pyrexal i.v. 1 ^h vor der Aus- lösung	0,2 ml Pferdeserum: rein 1:10 1:100	Ablesung nach: 2 ^h Ø 4 ^h Ø - (+) 24 ^h +++
6	"	-	"	2 ^h + - + + 4 ^h + + + 24 ^h + + +

Injektion von 4 ml PS. Am 25. Tag nach Beginn der Sensibilisierung erfolgte die Auslösung der Reaktion durch intracutane Injektion von 0,2 ml reinem PS, 0,2 ml PS 1:10 und 0,2 ml PS 1:100 verdünnt in die Bauchhaut der Tiere. Die Hälfte der Kaninchen wurde 1 Stunde vor der intracutanen Erfolgsinjektion mit 1 γ /kg Pyrexal vorbehandelt, die andere Gruppe blieb unbehandelt. Die Ablesung der Arthus-Reaktion wurde 2,4 und 24 Stunden nach der Auslösung vorgenommen.

Das Ergebnis ist in Tabelle III zusammengefasst.

Es zeigte sich, dass die 6 Kaninchen, die mit Pyrexal vorbehandelt waren, bei den ersten Ablesungen nach 2 und 4 Stunden entweder gar keine oder nur eine sehr schwache Reaktion zeigten. Im Gegensatz dazu war die Hautreaktion bei den unbehandelten Kontrolltieren in dieser Zeit schon deutlich ausgeprägt. 24 Stunden nach der auslösenden Injektion fand sich kein eindeutiger Unterschied mehr: die Reaktionen waren in beiden Gruppen etwa gleich stark. Dieses Ergebnis zeigt, dass Pyrexal in einer Dosis von 1 γ /kg das Arthus-Phänomen bei Kaninchen zu hemmen vermag. Die Wirkung scheint aber nur für einige Stunden anzuhalten.

Auch bei Meerschweinchen wurde die anaphylaktische Hautreaktion durch Pyrexal gehemmt. Die intraperitoneale Injektion von Pyrexal in Dosen von 0,5–1,0 γ /kg führte zu einer Hemmung der cutanen Reaktion bei Meerschweinchen, die nach *Jordan* und *R. L. Mayer* mit Schweineserum sensibilisiert waren. Von 10 Tieren zeigte sich bei 6 keine, bei den restlichen 4 nur eine schwache Reaktion. Bei den 10 Kontrolltieren war die Hautreaktion deutlich stärker.

EXPERIMENTELLES KONTAKTEKZEM BEI MEERSCHWEINCHEN

Um die antiallergische Wirkung auf die ekzematöse Reaktion zu untersuchen, wurden 20 Meerschweinchen mit einer 5 %igen Lösung von Dinitrochlorbenzol (DNCB) in Aceton einmalig epicutan behandelt, indem 0,1 ml dieser Lösung auf die geschorene Flankenhaut aufgetropft wurde. 14 Tage nach

dieser Sensibilisierung wurde die Auslösung der Ekzemreaktion vorgenommen, und zwar wurde dabei das DNCB in 3 verschiedenen Konzentrationen von 0,1 %, 0,05 % und 0,02 % in Mengen von jeweils 0,1 ml auf die gegenüberliegende Flankenhaut aufgebracht. Eine Gruppe von 10 Tieren wurde vorher viermal mit 1 γ /kg Pyrexal behandelt, die letzte Injektion wurde gleichzeitig mit der Auslösung vorgenommen.

TABELLE IV
Beeinflussung des experimentellen Kontaktekzems von Meerschweinchen durch Pyrexal.

Zahl der Tiere	Sensibilisierung	Vorbehandlung	Auslösung und Ergebnis
10	5 % DNCB in Aceton 1 mal epicutan	4mal 1 γ /kg Pyrexal i.p.	DNCB 0,1 %: ++ - +++ DNCB 0,05 %: + - ++ DNCB 0,02 %: Ø - +
10	-	-	DNCB 0,1 %: ++ - +++ DNCB 0,05 %: + - ++ DNCB 0,02 %: Ø - +
10	-	-	DNCB 0,1 %: Ø DNCB 0,05 %: Ø DNCB 0,02 %: Ø

DNCB = 1,3-Dinitro-4-chlorbenzol.

Ein eindeutiger Unterschied in der Reaktionsstärke und -dauer zwischen den mit Pyrexal vorbehandelten und den unbehandelten Meerschweinchen liess sich nicht feststellen. Eine Wirksamkeit von Pyrexal beim experimentellen Kontaktekzem konnten wir also nicht nachweisen.

HISTAMINASTHMA BEI MEERSCHWEINCHEN

Auf den durch ein Aerosol einer 0,5 %igen Histamindiphosphatlösung bei Meerschweinchen ausgelösten Bronchospasmus blieb die Vorbehandlung mit Pyrexal in Dosen von 1–2 γ /kg Körpergewicht ohne Wirkung. Wie bei den unbehandelten

Kontrolltieren stellte sich bei den mit Pyrexal behandelten Tieren bei unserer Versuchsanordnung innerhalb von 2–4 Minuten ein starker Spasmus der Bronchialmuskulatur mit schwerer Dyspnoe ein. Eine histaminantagonistische Wirkung scheint dem Pyrexal demnach nicht zuzukommen.

Fassen wir die Ergebnisse kurz zusammen, so lässt sich folgendes aussagen:

1) Das aus *Salmonella abortus equi* von *Westphal* und Mitarbeitern isolierte Lipopolysaccharid Pyrexal hatte bei unseren Untersuchungen eine antagonistische Wirkung auf den anaphylaktischen Schock von Meerschweinchen sowie auf das Arthus-Phänomen bei Kaninchen und Meerschweinchen.

Im grossen und ganzen stimmen die Ergebnisse mit denen überein, die *Meier*, *Bein* und *Jaques* mit Polysacchariden aus *Proteus*stämmen sowie *Humphrey* mit einer pyrogenen Polysaccharidfraktion aus *Chromobacterium prodigiosum* gewonnen haben.

2. Diese Wirkung hält offenbar nur für einige Stunden an; denn bei den Versuchen mit dem Arthus-Phänomen war nur in den ersten Stunden ein hemmender Einfluss festzustellen; 24 Stunden nach der Auslösung fand sich kein Unterschied in der Reaktion zwischen behandelten und unbehandelten Tieren.

3) Ob Pyrexal vor der Auslösung nur einmal oder an mehreren Tagen injiziert wurde, war für die Wirkung beim anaphylaktischen Schock offenbar ohne entscheidende Bedeutung; denn es zeigte sich kein sicherer Unterschied zwischen den Tieren, die nur einmal Pyrexal erhielten und denen, die viermal vor der Auslösung behandelt worden waren.

4) Auf eine Form des Spätreaktionstypus der Allergie, nämlich auf das experimentelle Kontaktekzem bei Meerschweinchen, konnte eine Wirkung von Pyrexal nicht nachgewiesen werden.

5) Über den Wirkungsmechanismus lassen diese Untersuchungen keine Aussagen zu. Eine histaminantagonistische Wirkung scheint nach den beim Histaminbronchospasmus von Meerschweinchen erzielten Resultaten nicht vorzuliegen.

SUMMARY

In experiments with guinea pigs and rabbits it was found that a lipopolysaccharide isolated from *Salmonella abortus equi* by *Westphal* and co-workers had an antagonistic effect on the anaphylactic shock and on the Arthus reaction. Ovalbumine has been used as antigen. Injected in doses of 0.5–1.0 $\mu\text{g/kg}$ one hour before the reinjection of the antigen the effect of the lipopolysaccharide lasted about 4 hours. Repeated injections of the lipopolysaccharide before the administration of the antigen did not increase the protective effect obtained by single injections. No influence has been found on the dinitrochlorobenzene dermatitis as well as on the histamine-bronchospasm of guinea pigs.

LITERATUR

- Eichenberger, E., Schmidhauser-Kopp, M., Hurni, H., Fricsay, M. & Westphal, O.*: Schweiz. med. Wschr. 1190 und 1213, 1955.
Humphrey, J. H.: Brit. J. exper. Path. 36, 268, 1955.
Jordan, P. & Mayer, R. L.: Arch. f. Dermat. 164, 235, 1931.
Meier, R., Bein, H. J. & Jaques, R.: Internat. Arch. Allergy u. appl. Immunology 11, 101, 1957.
Westphal, O. & Lüderitz, O.: Angew. Chemie 66, 407, 1954.
Westphal, O., Lüderitz, O., Eichenberger, E. & Keiderling, W.: Z. Naturforschg. 7 b, 536, 1952.
Westphal, O., Lüderitz, O. & Bister, F.: Z. Naturforschg. 7 b, 148, 1952.

Address:

Dr. K. H. Schulz u. Dr. D. Panscherewski,
 Hamburg 20,
 Universitäts-Haut Klinik,
 Martinistr. 52. – Germany.

This document is a scanned copy of a printed document. No warranty is given about the accuracy of the copy. Users should refer to the original published version of the material.