

Aus der Medizinischen Universitätsklinik, Bürgerhospital, Saarbrücken, Saarland (Direktor: Prof. J. v. Boros) und dem Staatl. Hygienischen Institut (Direktor: Prof. L. Wolff).

ZUM PROBLEM DER EXPERIMENTELLEN KNOCHENMARKSANAPHYLAXIE

II. Teil

Von

F. WALTER, G. FILIPP & B. v. BOROS

Im ersten bereits publizierten Teil unserer Arbeit berichteten wir über die Ergebnisse unserer Untersuchungen über Knochenmarksanaphylaxie. Wir behandelten Kaninchen mit einem Inkubat von Kaninchenknochenmark und dem Freund'schen Adjuvans. Nach einer mehrere Wochen dauernden Präparierung entwickelte sich bei sämtlichen Tieren eine ausgeprägte Reifungshemmung im Bereich des leukopoetischen Systems. Bei sechs Tieren entstand eine anaphylaktische Knochenmarkskrise, die sich in der Auflösung der myeloischen Elemente äusserte. Das erythropoetische System blieb fast unverändert. Wir haben schon im I. Teil unserer Arbeit einige mit der Erörterung der Ergebnisse zusammenhängende Probleme aufgeworfen.

Im III. Teil unserer Versuchsreihe wollten wir die Frage klären ob bei diesen immunologischen Knochenmarksreaktionen art- oder organspezifische Antigene eine Rolle spielen.

Wir behandelten die neun in diese Gruppe gehörenden Kaninchen mit einem Inkubat von Rattenknochenmarkssuspension und Freund'schen Adjuvans. Zur Gewinnung des Knochenmarks standen uns 32 Albinoratten zur Verfügung. Nach Entblutung der Tiere entnahmen wir das Knochenmark unter sterilen Bedingungen aus den Röhrenknochen. Danach haben wir das Mark unter Zusatz von 0,85 %iger Kochsalzlösung

in einer sterilen Porzellanschale zur homogenen Suspension verrieben. Das Mengenverhältnis der Knochenmarkssubstanz zur Kochsalzlösung betrug 1:10. Die Suspension wurde in sterilen Ampullen eingefroren und bis zum Zeitpunkt der Einspritzung in der Kühltruhe unter minus 40° Celcius aufbewahrt. Das Mischungsverhältnis war folgendes: 10 Teile wässrige Phase des Knochenmarks, 9 Teile Mayoline, 1 Teil Arlachel A und 1/2 ccm Suspension von Tuberkelbazillen (= 1/2 Milliarde Tuberkelbazillen). Jedes Tier bekam pro Injektion 1 ccm Knochenmarksuspension, 0,9 ccm Mayoline, 0,1 ccm Arlachel A und 0,5 ccm Koch'sche Lösung. Die Injektionen erfolgten immer in den gleichen Bezirk der rasierten Bauchhaut. Nach der 3. Injektion entwickelte sich ein entzündliches Granulom. Im Laufe der weiteren Einspritzungen entstand an der Stelle der Injektionen eine, dem Arthus-Pränomen entsprechende, Nekrose. Es handelte sich offensichtlich um eine durch das Rattenantigen erzeugte Überempfindlichkeit bzw. um eine allergische Reaktion.

Die Behandlung der Kaninchen bestand aus 5-, 6-, 7-, 8-, 11-, 17-, 19-, 21-tägig verabreichten 6 bis 11 subcutanen Injektionen. Die Behandlung dauerte 25-, 30-, 35-, 92 Tage. Die Blut- und Knochenmarksuntersuchungen erfolgten 4-, 6-, 12-Mal in 7-, 10-, 14-tägigen Zeitabständen.

Von 9 Tieren der III. Gruppe kamen drei im Laufe der Behandlung spontan ad exitum, sechs überlebten das Experiment.

BESPRECHUNG DER EINZELNEN FÄLLE

1. *Kaninchen*: 5-tägliche Behandlung mit insgesamt 8 Injektionen. Die Blut- und Knochenmarksuntersuchungen erfolgten am 1., 7., 27., 35. und 45. Tage.

2. *Kaninchen*: 5-tägliche Behandlung mit insgesamt 7 Injektionen. Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 23. und 37. Tage.

3. *Kaninchen*: 5-tägliche Behandlung mit insgesamt 6 Injektionen. Knochenmarks- und Blutuntersuchungen am 1., 10., 17. und zweimal am 26. Tage. (Zum zweiten Mal 3 Stunden ante mortem). Spontaner Tod am 26. Tage.

4. *Kaninchen*: 5-tägliche Behandlung mit insgesamt 7 Injektionen. Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 22. und 33. Tage. Spontaner Tod am 34. Tage.

5. *Kaninchen*: 5-tägliche Behandlung mit insgesamt 8 Injektionen. Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 25. und 35. Tage.

13. *Kaninchen*: Behandlung mit insgesamt 11 Injektionen in 5-, 6-, 7-, 8-, 21-tägigen Zeitabständen. Blutuntersuchungen erfolgten am 1., 14., 20., 24., 28., 32., 36., 52., 62., 71., 89. und 101. Tage, die Knochenmarksuntersuchungen am 1., 19., 28., 56., 65. und 92. Tage. Spontaner Tod am 106. Tag.

14. *Kaninchen*: Insgesamt 7 Injektionen in 5-, 6-, 8-tägigen Zeitabständen. Die Blutuntersuchungen wurden am 1., 14., 20., 24., 28. Tage, die Knochenmarksuntersuchungen am 1., 19., 28. und 29. Tage durchgeführt. Spontaner Tod am 29. Tage der Behandlung.

15. *Kaninchen*: Behandelt mit insgesamt 11 Injektionen in 5-, 6-, 7-, 8-, 11-, 17-, 19-tägigen Zeitabständen. Die Blutuntersuchung erfolgte am 1., 14., 20., 24., 28., 33., 37., 56., 66., 75., 93. und 105 Tage. Die Knochenmarksuntersuchungen am 1., 19., 30., 56., 65. und 92. Tage.

17. *Kaninchen*: Behandlung mit insgesamt 11 Injektionen in 5-, 6-, 7-, 8-, 11-, 17-, und 19-tägigen Abständen. Blutuntersuchungen am 1., 14., 20., 24., 28., 33., 37., 56., 66., 75., 93. und 105 Tage. Die Knochenmarksuntersuchungen erfolgten am 1., 19., 30., 56., 65., 92. Tage.

Abbildungen:

Abb. 1, 2, 3 = Pelger-Phänocopie (peripheres Blut).

„ 4 = Promyelocyt (Knochenmark).

„ 5 = Promyelocyt mit grober und dichter Azurgranulation (noch nicht sicher pathologisch).

„ 6 = Myelocyt mit bandförmiger Azurgranulation.

„ 7 = Stabkernige und Jugendliche vor der Sensibilisierung.

„ 8 u. 9 = Linksverschiebung als Zeichen der beginnenden Reifungshemmung.

„ 10 u. 11 = Riesenjugendformen.

„ 12 = Zweikerniger Myelozyt nach pathologischer Mitose.

„ 14 u. 15 = Anaphylaktischer Markschock.

Bemerkungen:

Die Knochenmarkspunktionen wurden mehrmals im Laufe der Sensibilisierung durchgeführt.

Auf den Abbildungen 1-13 (ausser 4 u. 7) sind die Veränderungen sichtbar, die im Laufe der Behandlung bei sämtlichen Tieren auftraten. Die Pelgerphänocopie im peripheren Blut, das Erscheinen von grober und dichter Azurgranulation, das Auftreten von Riesenjugendformen, von zweikernigen Myelocyten mit verschiedenen grossen Kernen, und die Linksverschiebung sind als Zeichen einer allergischen Reifungshemmung aufzufassen. Die Abbildungen 14 und 15 zeigen das klassische Bild der anaphylaktischen Knochenmarkskrise. Hier tritt die Auflösung der myeloischen Elemente in den Vordergrund. Das erythropoetische System bleibt dabei praktisch intakt.

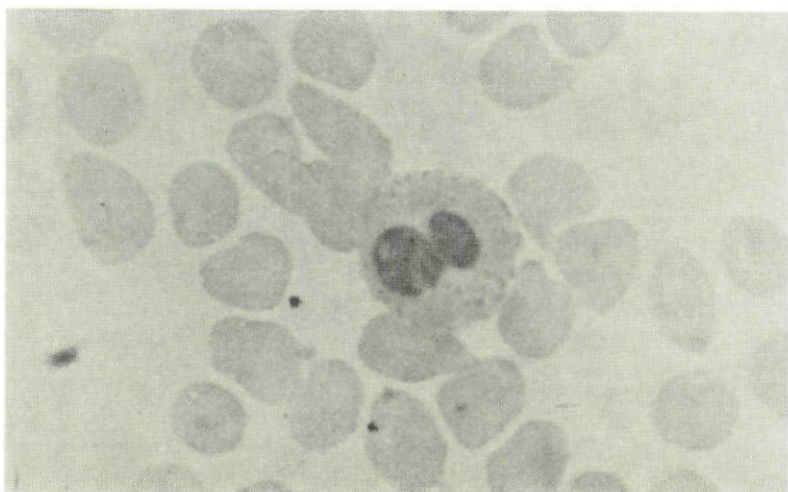


Abb. 1.

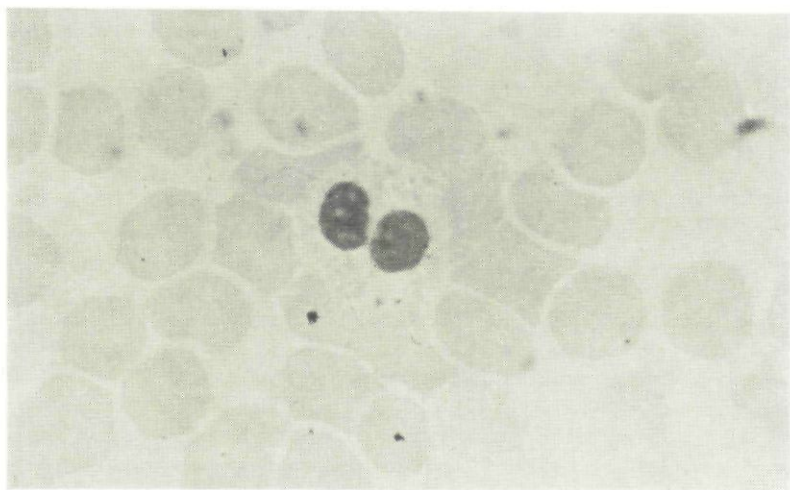
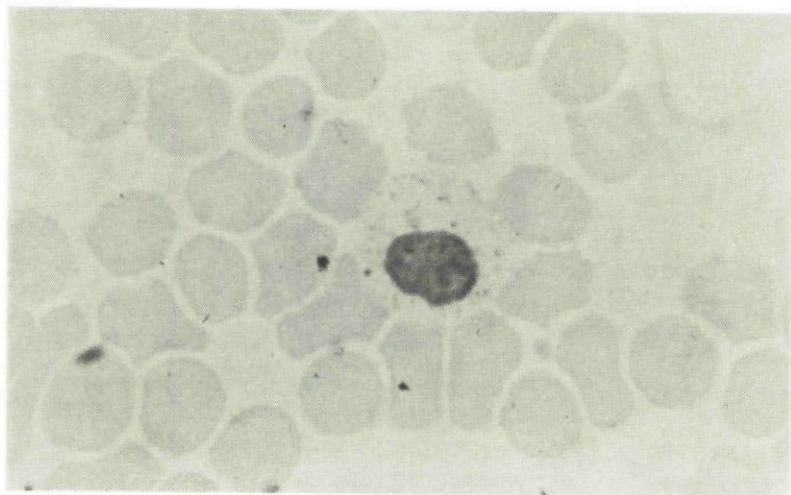
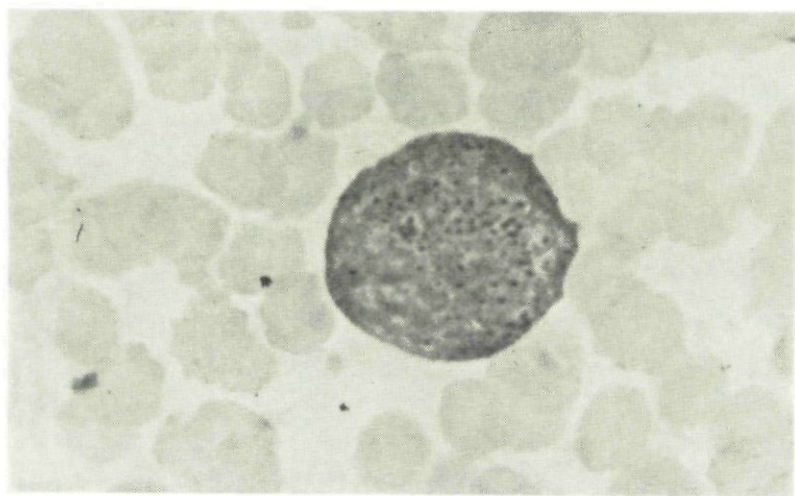


Abb. 2.

*Abb. 3.**Abb. 4.*

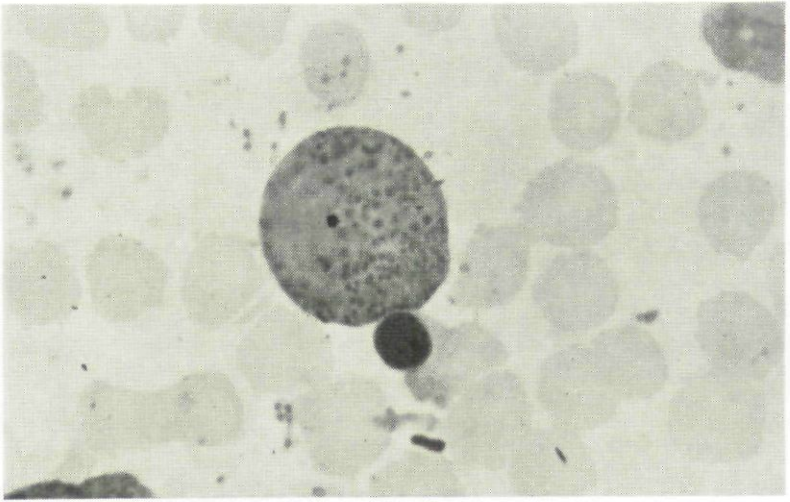


Abb. 5.

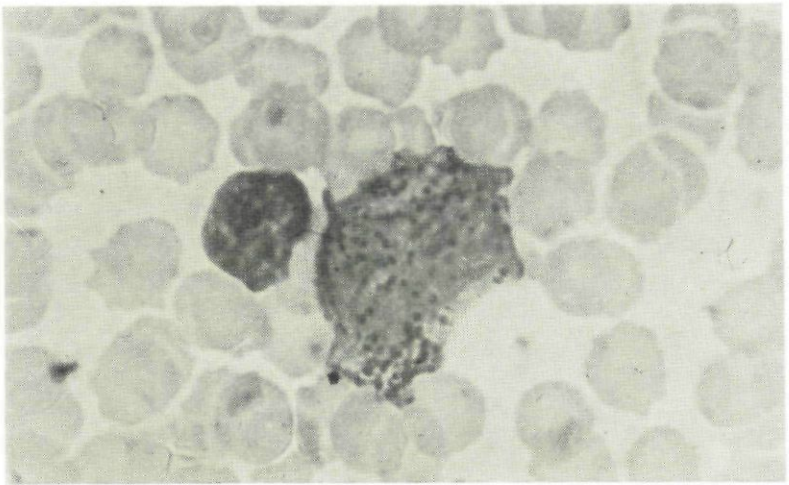
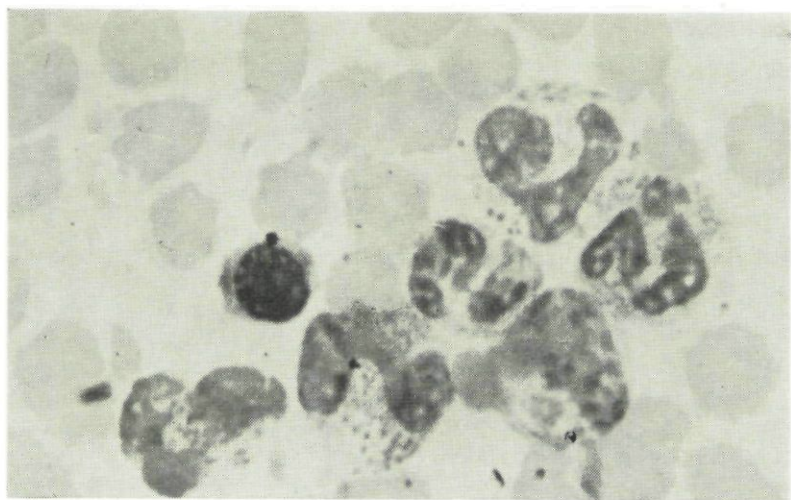
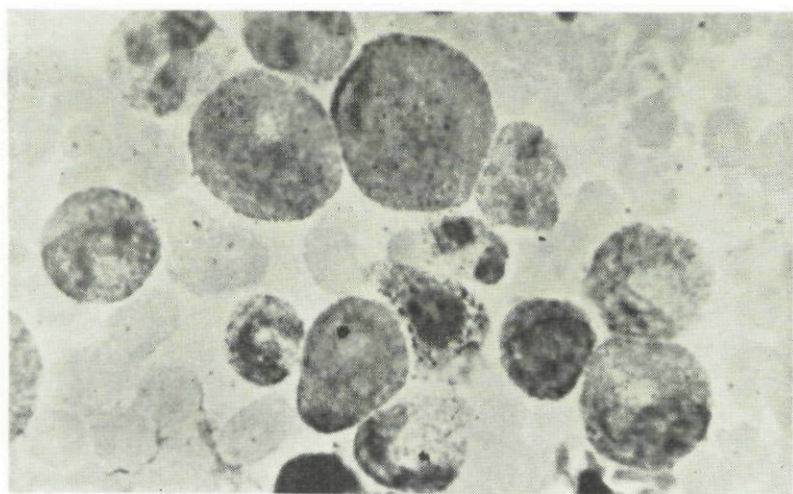
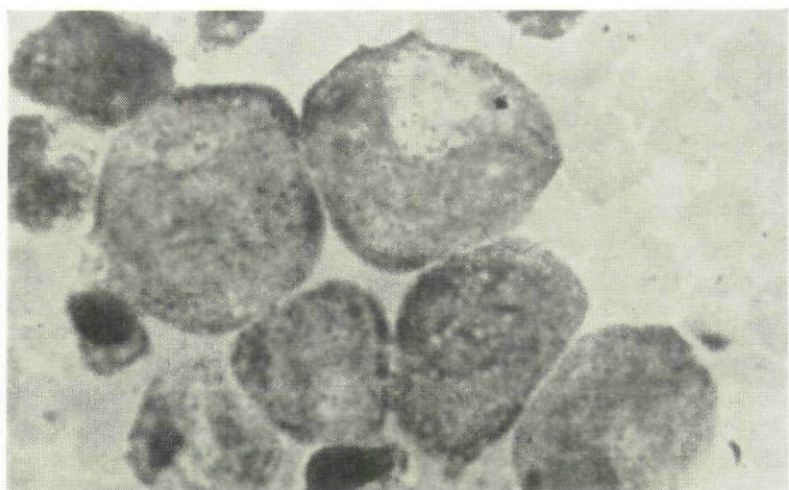
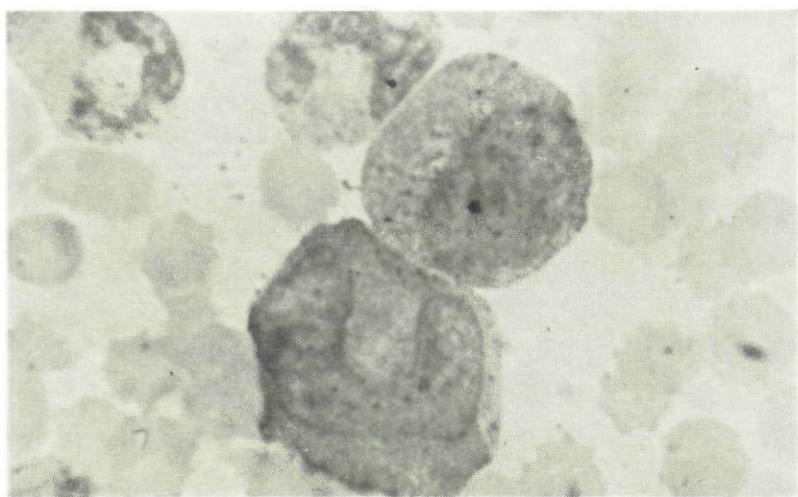


Abb. 6.

*Abb. 7.**Abb. 8.*

*Abb. 9.**Abb. 10.*

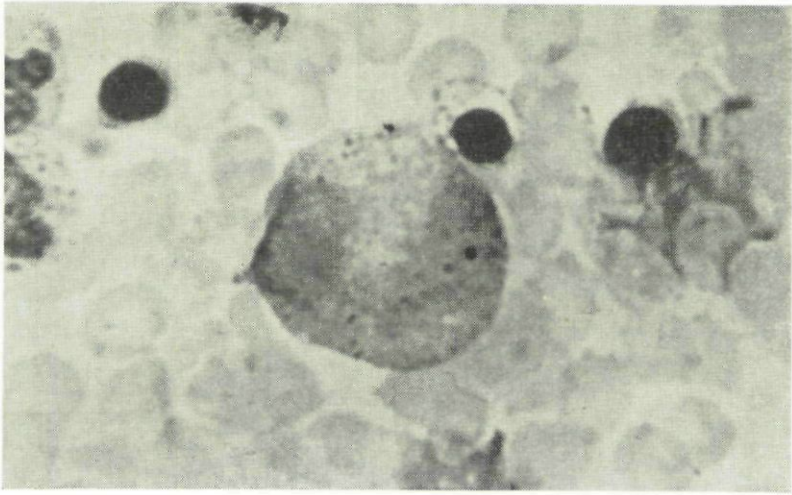


Abb. 11.

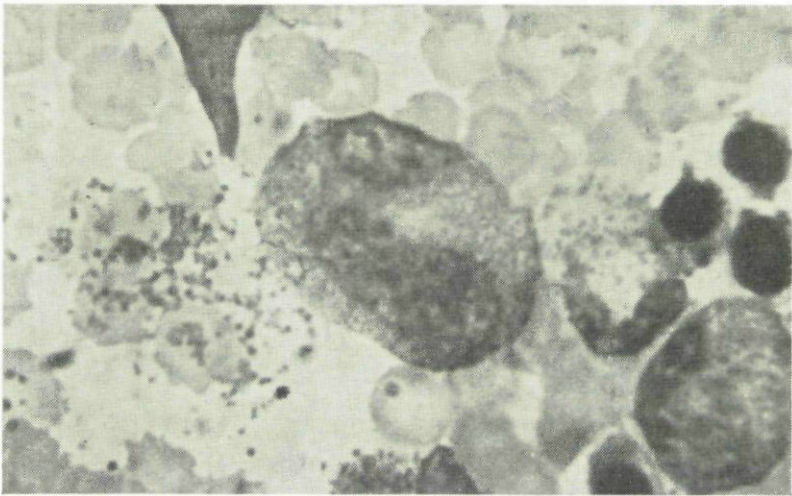


Abb. 12.

Abb. 13.
Veränderungen im Myelogramm im Laufe der Sensibilisierung.

Nr.	Grosse Ret. Zellen	Plasma Zellen	Baso- phile Ery. Bl.	Poly- chroma- tische Ery.-Bl.	Nor- mobla- sten	Mye- lobla- sten	Pro- myelo- zyten	Myelo- zyten	Meta- myelo- zyten	Stab- ker- nige	Seg- ment- ker- nige	Un- reife Eosi- noph.	Reife Eosi- noph.	Baso- phile	Mono- zyten	Lym- pho- blasten	Lym- pho- zyten	Mega- karyo	bis Myelo karyo %
13	3,6	1,3	3,1	18,8	45,7	1,3	2,2	29,1	31,4	35,9	49,3	0,9	2,7	2,7	4,5	0	70,4	0	10,8
	2,1	5,2	2,4	14,2	25,2	3,3	6,1	48,5	22,4	19,7	9,4	2,1	0	0,9	11,2	0,6	30,0	0	29,2
	6,7	3,2	0,7	43,5	70,3	4,9	4,6	51,2	22,6	17,0	9,9	0,3	0	2,1	9,9	0,3	61,5	0	19,7
	0,8	3,0	0,8	24,5	47,5	1,1	0	38,9	37,0	23,0	13,6	1,5	0,4	1,1	5,7	0,8	70,2	0	14,8
	0,9	2,4	2,4	12,6	12,3	1,5	3,3	44,3	30,8	20,1	11,1	0,6	0,9	1,2	3,6	0,3	34,7	0	26,8
14	1,0	5,7	6,2	49,5	47,9	2,1	2,1	23,7	28,4	43,8	59,3	0,5	0	3,1	15,5	1,0	83,5	1,0	7,5
15	3,2	6,5	4,3	45,3	55,0	1,4	3,2	37,8	28,4	29,1	23,0	1,4	0,4	2,2	7,6	0,7	46,7	1,1	14,3
	0,8	3,4	3,4	12,1	16,9	3,9	4,8	35,7	27,2	28,4	11,0	1,4	0	1,7	3,7	0	24,5	0	25,3
	2,2	5,5	2,2	12,1	9,9	3,3	1,1	44,0	26,4	25,3	23,1	1,1	0	0	15,4	0	8,5	0	19,0
	0,6	5,3	3,3	20,9	35,4	3,3	4,5	45,4	26,7	20,1	4,5	1,4	0,3	0,8	3,1	0,3	29,8	0	25,9
	2,6	4,5	1,5	13,4	25,7	2,6	2,6	36,9	28,7	29,1	14,9	0,4	0,7	2,2	3,7	0,4	70,1	0,4	17,5
17	0,7	3,0	3,0	40,1	64,1	3,9	1,3	30,9	28,9	34,9	13,8	2,6	0,3	1,0	2,6	0,3	47,4	0	13,1
	0,4	6,8	6,1	25,8	29,2	6,4	7,2	36,4	26,5	23,5	19,7	2,7	0	2,3	6,8	1,1	57,9	0	19,3
	2,0	1,4	1,7	7,7	12,0	4,0	9,4	42,7	31,1	12,8	2,6	1,1	0,6	0,9	5,4	0,6	34,4	0	32,9
	0,6	3,5	3,2	17,7	31,6	3,8	3,2	44,6	27,8	20,6	7,5	1,8	0	0,9	3,8	0	33,2	0	25,2
	2,9	0,5	0	7,7	12,8	4,5	1,9	41,2	33,2	19,1	5,9	0	0,3	0,5	4,8	0	25,5	0	29,0
I	3,3	1,3	4,0	67,5	29,1	4,6	4,6	33,8	22,5	34,4	40,4	3,3	0	2,6	4,6	0	180,1	0,7	9,8
	1,9	4,5	1,9	60,6	40,0	3,9	8,4	27,1	26,5	34,2	33,5	3,9	0	2,6	5,2	0	177,4	0,6	9,1
	2,3	2,3	4,0	70,1	27,6	4,6	5,2	36,2	27,6	26,4	28,7	1,7	0,6	3,9	2,3	0,6	150,0	0	11,7
	4,8	3,2	4,0	37,7	19,8	4,0	3,2	44,0	23,8	25,0	17,5	4,4	1,2	3,2	3,6	0,4	68,3	0	19,1
	4,2	3,4	2,3	45,6	37,5	5,4	7,3	44,8	20,7	21,8	17,6	4,2	0,4	1,1	3,8	1,5	62,8	0	20,2
	6,6	5,3	0,8	36,2	58,4	6,2	7,0	45,7	11,1	30,0	21,4	5,3	0,8	2,1	4,5	0	71,6	0	18,8

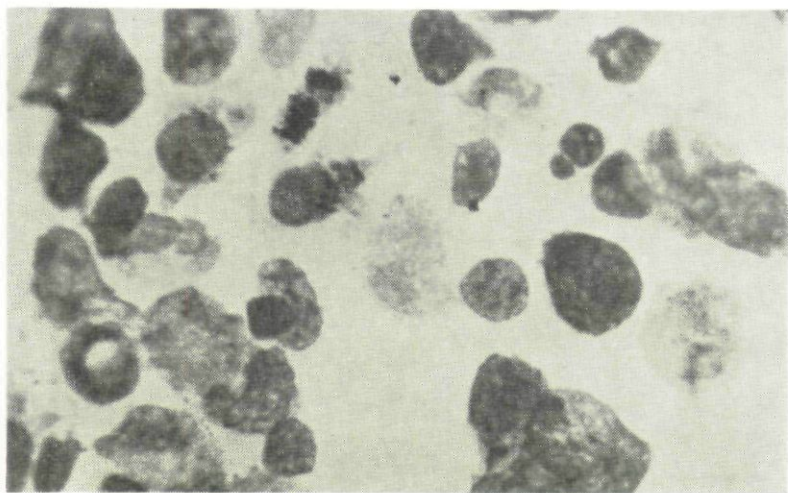
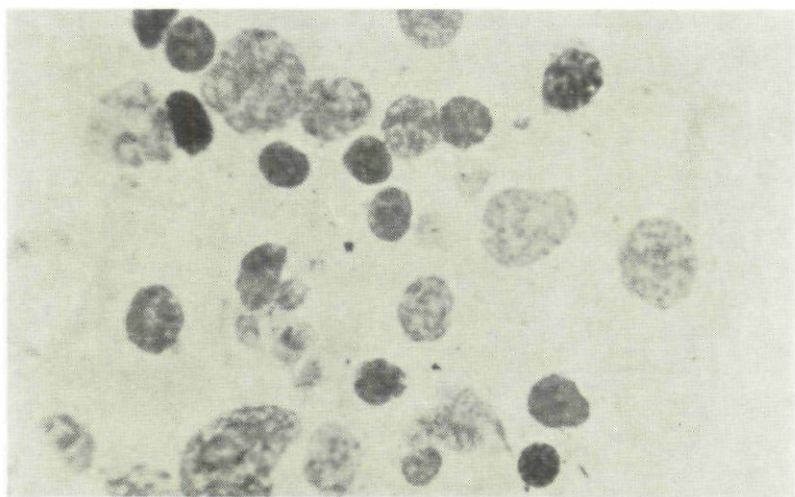
2	5,3	2,4	3,8	10,0	44,7	1,4	2,9	28,8	27,9	38,9	15,9	1,4	0	1,9	7,2	0	11,5	0	10,8
	2,7	3,6	4,0	12,4	36,0	1,8	5,3	32,4	36,4	24,0	40,9	0,9	0	2,7	5,3	0	72,4	0	14,1
	5,7	4,2	0,9	25,2	43,2	4,2	0,9	40,8	33,9	20,1	13,8	2,4	1,2	1,8	9,3	0,3	21,3	0	20,0
	4,7	3,3	1,0	37,7	37,7	4,0	4,7	49,3	27,3	14,7	12,7	2,0	0	1,0	4,7	0,3	46,0	0	23,1
3	1,4	2,2	1,8	13,0	23,1	1,4	4,0	38,7	23,1	32,9	24,9	1,4	0,7	1,4	3,6	0,4	48,0	0,4	19,8
	2,3	0,8	1,9	18,1	23,8	3,8	2,6	38,1	24,9	30,6	31,7	0,8	0,4	1,1	3,8	0	50,9	0	18,9
	1,8	2,5	2,2	22,8	31,5	4,7	3,6	33,0	21,0	37,7	28,6	1,1	0	1,1	2,5	0,4	47,5	0	17,1
	9,0	3,8	5,8	16,5	41,3	5,2	3,2	47,1	26,6	17,9	10,4	2,0	0	0,6	2,0	0	29,5	0	24,2
4	3,9	2,9	3,9	26,9	36,9	4,7	2,2	35,5	30,1	27,6	16,5	1,8	0,4	0,4	1,8	0	60,2	0	16,6
	3,1	4,9	4,0	16,9	27,6	6,2	7,6	28,0	33,8	24,4	12,4	1,8	1,3	0	1,8	0	104,9	0	15,0
	5,3	5,3	1,7	17,1	12,0	4,8	9,5	46,8	20,4	18,5	10,4	2,0	0,6	0,6	1,7	0	24,9	0	33,6
5	2,6	2,9	1,7	24,2	47,0	3,7	0,9	30,0	28,5	36,9	10,4	4,0	0,6	1,7	0,6	0	26,8	0	15,6
	0,9	1,7	5,6	24,1	48,3	6,0	7,8	43,1	20,7	22,4	31,0	7,3	0,4	1,2	6,0	0,4	69,0	0	19,2
	3,5	3,5	1,3	10,2	17,4	3,2	9,4	37,2	32,9	16,9	1,6	0,8	0	0,3	2,9	0	28,6	0,3	29,3
	3,9	3,1	3,4	6,2	26,9	3,4	5,0	46,8	28,9	16,0	9,0	2,2	0	2,8	0,6	0,8	24,6	0	30,1
	2,9	1,1	0,8	12,1	15,0	5,5	2,1	40,3	31,8	20,3	1,3	0	0	0	0,8	0	29,5	0,3	29,2
d =	3,5	3,7	4,6	33,6	43,4	2,9	3,5	30,1	29,0	34,7	36,7	-	-	-	-	-	97,7	-	11,4
2	3,2	4,2	3,2	41,4	32,6	2,2	2,8	10,4	6,4	10,2	37,2	-	-	-	-	-	103,4	-	6,8
3	4,8	6,3	4,8	62,1	48,9	3,3	4,2	15,6	9,6	15,3	55,8	-	-	-	-	-	155,1	-	10,2

Im Laufe der Sensibilisierung macht sich eine deutliche Linksverschiebung der Myelopoese bemerkbar, wobei der Schwerpunkt in der Vermehrung der Myelocyten liegt. Nähere Einzelheiten sind aus der Tabelle der ersten Mitteilung zu entnehmen (Filipp, G., Walter, F. & B. v. Boros).

Die Tiere Nr. 14, 3 und 4 kamen während der Behandlung spontan ad exitum. Das Tier Nr. 13 haben wir zwei Wochen nach der letzten Behandlung verloren. Bei diesen vier Tieren entwickelte sich eine anaphylaktische Markkrise, die in einer vollständigen Auflösung der myeloischen Elemente zum Ausdruck kam.

Die Tabelle enthält von Tier Nr. 14 nur die Anfangsbefunde; bei später erfolgten Untersuchungen war das Knochenmark schon nicht mehr differenzierbar.

Die unteren 3 Werte ergeben die Durchschnittswerte, das zweifache und das dreifache Sigma.

*Abb. 14.**Abb. 15.*

ZUSAMMENFASSUNG DER KNOCHENMARKS- VERÄNDERUNGEN

Wie aus obigen Ergebnissen ersichtlich, ist es uns gelungen, durch die Behandlung der Kaninchen mit einem Inkubat von Rattenknochenmarkssuspension und Freund'schem Adjuvans, also mit der Freund'schen Lösung adjuviertem artfremden Knochensuspension, bei den Kaninchen eine Reifungshemmung im myelopoetischen System und in 4 Fällen eine volle Knochenmarkskrise zu erreichen. Das mit der Auflösung der jungen Zellen einhergehende Knochenmarksbild entsprach im Grossen und Ganzen dem Ergebnis der mit homologer Knochenmarkssuspension behandelten Tiere. Wir fanden also auch bei diesen Versuchen eine Linksverschiebung der myeloischen Knochenmarkselemente und das Auftreten von pathologischen Promyelozyten und Myelozyten. Die Antigene, welche die Antikörpersynthese induzieren, sind demnach dem Kaninchen und der Ratte gemeinsam. Offenbar handelt es sich dabei um organspezifische Antigene. Diese Feststellung ist selbstverständlich nur dann gültig, wenn hinter den erzielten Veränderungen der vermutete immunologisch-allergische Mechanismus steht.

Im IV. Teil der Versuchsreihe haben wir die Frage aufgeworfen, inwieweit das antiallergische und antiphlogistisch wirkende Cortison die Entstehung der Knochenmarksanaphylaxie beeinflusst. Die 7 Tiere, die ähnlich der 1. Gruppe mit Inkubat von Kaninchenknochenmarkssuspension und Freund'schem Adjuvans behandelt worden waren, bekamen zusätzlich noch alle zwei Tage 15 mg Cortison (Solu-Decortin-H)¹ und zwar während der ganzen Behandlungszeit vom Anfang der Präparierung bis zum Ende des Experiments. Die Kaninchen bekamen 5-täglich eine Inkubatinjektion; 9 Injektionen insgesamt.

1. *Kaninchen:* Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 30., 35. und 45. Tage.

2. *Kaninchen:* Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 20. und 43. Tage.

¹ Für die Überlassung von Versuchspräparaten sind wir der Firma E. Merck, Darmstadt, sehr dankbar.

3. *Kaninchen*: Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 30. und 43. Tage.

4. *Kaninchen*: Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 30., 35. und 43. Tage.

5. *Kaninchen*: Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 30., 35. und 43. Tage.

6. *Kaninchen*: Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 10., 20., 35. und 43. Tage.

7. *Kaninchen*: Blut- und Knochenmarksuntersuchungen am 1., 20., 35. und 43. Tage.

Bei diesen so behandelten Tieren konnten wir ausser physiologischen Schwankungen keine nennenswerten Veränderungen feststellen. Das Ausbleiben der anaphylaktischen Knochenmarksveränderungen könnte mit der das gesamte Knochenmark stimulierenden Wirkung der Glukocortine in Zusammenhang stehen.

Wir vermuten aber auch noch eine zweite Möglichkeit:

Auffallend war, dass bei den mit Cortison behandelten Tieren die Bildung des sonst immer vorhandenen entzündlichen Granuloms ausblieb. Wie schon mehrmals festgestellt wurde, besteht die Rolle des Freund'schen Adjuvans u. A. darin, dass es durch Erzeugung eines entzündlichen Granuloms die Resorption des Antigens verzögert. Es ist anzunehmen, dass das Cortison auch durch das Verhindern der Bildung des Granuloms der Entstehung der anaphylaktischen Myelopathie entgegenwirkt. Die involutive Wirkung des Cortisons auf die benachbarten Lymphknoten bzw. auf die Antikörper bildenden Plasmazellen und Lymphozyten kann dabei auch eine entscheidende Rolle spielen.

ZUSAMMENFASSUNG

1) Durch langdauernde Behandlung der Kaninchen mit dem Inkubat von Rattenknochenmarkssuspension + Freund'schem Adjuvans konnte eine Reifungshemmung der Leukopoese bzw. die anaphylaktische Krise des Knochenmarks herbeigeführt werden. Die Ursache dieser Ergebnisse lässt sich mit der Annahme der Existenz eines gemeinsamen leukozytären Antigens beider Tierarten (der Kaninchen und der Ratten) erklären.

2) Durch parallele, wochenlang dauernde Behandlung der Kaninchen mit Cortison (Solu-Decortin-H) konnte die Entstehung der allergischen Knochenmarksschäden verhütet werden. Die protektive Wirkung des Cortisons steht mit den bekannten komplexen Wirkungen der Glukocortine in Zusammenhang. Die Glukocortine mit ihren antiphlogistischen, anti-allergischen und die Antikörpersynthese hemmenden Effekten verhindern in vollem Masse die Entstehung der anaphylaktischen Knochenmarksvorgänge.

Zur Klärung des feineren Mechanismus der anaphylaktischen Knochenmarkskrise haben wir nun neue Untersuchungen angesetzt. Mit diesen Untersuchungen möchten wir im Parabiose-Experiment die evtl. vorhandenen Antikörper durch passive Übertragung nachweisen. Parallel damit möchten wir den serologischen Nachweis der Antikörper versuchen. Die weitere Frage ist, ob es sich im Falle der anaphylaktischen Knochenmarksvorgänge um spezifische, nur im Knochenmarksgeewebe sich abspielende Reaktion handelt. Weiterhin möchten wir die Auswirkung der Entfernung von benachbarten Lymphknoten auf die experimentelle Knochenmarksanaphylaxie untersuchen. Die zentrale Rolle des lymphatischen Gewebes, bzw. der Lympho- und Plasmoblasten in der Bildung von Antikörpern darf als bewiesen angesehen werden. Es ist anzunehmen, dass durch die Entfernung der Lymphknoten die Entstehung der Knochenmarksanaphylaxie verlangsamt oder verhindert wird. Zur Klärung dieser aufgeworfenen Fragen und noch anderer damit zusammenhängender Probleme sind die entsprechenden Experimente im Gange.

LITERATUR

Zum Problem der experimentellen Knochenmarksanaphylaxie I:

Filipp, G., Walter, F. & B. v. Boros: Acta Allergologica, XIV, 291, 1959.

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.