

Aus der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Freien Universität,
Berlin, Deutschland.
(Direktor: Prof. Dr. H. Bartelheimer)

INSULIN ALS ANTIGEN. II

Klinischer Teil

Von

HERMANN MICHEL

1. BEGRIFF DER INSULINRESISTENZ

Will man eine Definition des klinischen Begriffes der *Insulinresistenz* geben, dann muss man sich darüber klar sein, dass es gegenüber dem exogen zugeführten körperfremden Insulin eine echte Resistenz, d.h. eine absolute Wirkungslosigkeit des Hormons auf den physiologischen und den entgleisten Stoffwechsel kaum gibt.

Nach allgemeiner Uebereinkunft spricht man dann von einer *echten Insulinresistenz*, wenn 200 E Insulin täglich in 48 Stunden nicht zur Kompensation des entgleisten Stoffwechsels führen. Diese Definition wurde von *Martin, Martin, Leyster & Strouse* zu einer Zeit gegeben (1941), als man der Ansicht war, dass 200 E die täglich benötigte Menge eines pankreatektomierten Menschen sei. Auch *Smelo* erwähnt in seinen Arbeiten zur Definition des Begriffes der Insulinresistenz diese Hormonmenge. Inzwischen hat sich herausgestellt, dass der tägliche Insulinbedarf nach Pankreatektomie nur *40 bis höchstens 60 E* beträgt (*Goldner & Clark*). Das haben auch die Arbeiten von *Brunschwig, Ricketts & Bigelow* und von *Ricketts, Brunschwig & Knowlton* gezeigt. Ein Diabetiker nach totaler Pankreatektomie benötigt diese Menge.

Neben dem Begriff der *echten*, d.h. *absoluten* und daher *tödlichen Insulinresistenz* steht die *relative Resistenz* (*Grafe*), es müssen überdurchschnittlich grosse Mengen des Hormons zur Stoffwechselrekompensation verwandt werden. Nach

Umbert ist ein Diabetes dann als relativ insulinresistent zu bezeichnen, wenn unverhältnismässig hohe oder häufige Insulindosen zur Erzielung einer Aglykosurie notwendig sind.

Himsworth hat auf Grund seiner klinischen Beobachtungen das diabetische Krankengut in die beiden Gruppen des *insulin-sensitive* und *insulininsensitive diabetes* eingeteilt, um dadurch die verschiedene Insulinansprechbarkeit anzudeuten. Hier wie bei dem von *Mainzer & Joël* aufgestellten Begriff der *Insulingewöhnung* handelt es sich nicht um direkte oder indirekte Insulinmangelstörungen, sondern um pluriglanduläre Einflüsse bzw. Gegenregulationen.

Die Entstehung einer Insulinresistenz ist auch im stoffwechselgesunden, nichtdiabetischen Organismus möglich, der aus therapeutischen Gründen Insulin erhält. Der Psychiater, der sich mit der *Insulinansprechbarkeit* bei der *Schizophrenie* auseinandersetzen muss, spricht im Gegensatz zum üblichen Sprachgebrauch von *Insulinsensibilisierung* oder *-überempfindlichkeit*, wenn der gewünschte therapeutische Effekt eines hypoglykämischen Schocks auch bei Insulindosisverminderung im Verlauf einer Kur erreicht werden kann; *Insulingewöhnung* besteht dagegen bei der Notwendigkeit einer Dosissteigerung. Die Tatsache einer Insulinresistenz auch im nichtdiabetischen Organismus z.B. bei der früher gebräuchlicheren Insulinmastkur zur Besserung der Untergewichtigkeit (*Sammis*), schliesst eine diabetische Stoffwechselentgleisung im Gewebe oder eine endokrine Fehlsteuerung als pathogenetische Voraussetzung zur Entstehung einer Insulinresistenz aus. *Grafe* spricht von der „*konstitutionellen Insulinresistenz*“.

Durch *chronische Insulinüberdosierung* kann man ebenfalls eine *Insulinresistenz* beim Diabetiker erzeugen. Darauf haben *Brentano* und *Katsch* hingewiesen. Letzterer hat betont, dass bei *steigender Insulinmenge* dessen *Nutzeffekt* erst langsam und dann immer schneller *abnimmt*, nach *Banse* existiert eine hyperbolische *Insulinwirkungskurve*, die von 60 bis 70 E ab parallel und dicht über der Abszissenachse verläuft. Ähnliche Beobachtungen machten *Mohnike & Hagemann* im Tierexperiment, sie sahen Veränderungen der Reaktionslage und

der pathologisch-anatomischen Korrelate an endokrinen Organen.

Es ist überhaupt die Frage, ob das unterschiedliche Verhalten des Diabetikers gegenüber therapeutisch zugeführtem Insulin nicht mehr ein quantitatives Problem darstellt. Nach *Mohnike*, der das *statische Wilder'sche Ausgangswertgesetz* zum *dynamischen Ausgangsrichtungsgesetz* erweitert hat, bestehen logarithmische Proportionen zwischen der Insulindosis und dem hypoglykämisierenden Insulineffekt. In diesem Sinne sind vielleicht auch die Arbeiten von *Berson*, *Yalow*, *Bauman*, *Rothschild* & *Newerly* zu verstehen; diese Autoren fanden die insulinbindende Kapazität eines nichtresistenten, gut mit Insulin eingestellten Diabetes mit 10 E/Liter Plasma, die bei Insulinresistenz bis 500 E und mehr ansteigen kann (*Berson* & *Yalow*).

2. ALLGEMEINE, NICHT-ALLERGISCHE PATHOGENESE DER INSULINRESISTENZ

Es ist nicht möglich, auch nur annähernd die Polyätiologie des klinischen Begriffes der Insulinresistenz zu besprechen. *Kuehnau* & *v. Holt* haben in dem *Thannhauser'schen* Lehrbuch des Stoffwechsels und der Stoffwechselkrankheiten die biochemischen und pathophysiologischen Gesichtspunkte der insulinresistenten Zuckerkrankheit übersichtlich dargestellt.

3. NICHT-ALLERGISCHE HAUTVERÄNDERUNGEN ALS URSACHE DER INSULINRESISTENZ

Die Hautveränderungen des Diabetikers, die bei Insulinverabreichung sowohl am Injektionsort als auch in der näheren und weiteren Umgebung desselben gelegentlich vorkommen und als *Lipodystrophie*, *insulinogene Hautnekrosen* oder auch *Insulinödem* klinisch in Erscheinung treten, sollen hier etwas genauer besprochen werden, da von einigen Autoren ein fließender *Uebergang zu echten Hautallergien* angenommen und auch beobachtet wurde.

Mit den Entstehungsbedingungen der vor allem bei jugend-

lichen Diabetikerinnen gelegentlich beobachteten *lokalen Lipodystrophien* nach Insulin-Injektionen hat sich vor mehr als 30 Jahren *Depisch* (1926) auseinandergesetzt und eine *traumatisch-chemische Lokalreaktion* als pathogenetisches Moment angesehen. *Boller* spricht von einer *traumatisch-atrophischen Panniculitis*. *Gottron* hat dagegen in Anlehnung an *Unna*, der den Kreislaufverhältnissen bei der Lipomatosis grosse Bedeutung beimisst, die vasokonstriktorische Insulinwirkung in den Vordergrund gerückt. Auch neurovegetative bzw. trophoneurotische Störungen wurden diesen regionären und oft symmetrisch angeordneten Lipodystrophien und -atrophien zugrundegelegt, denn diese Defekte treten auch an Stellen auf, an denen nie Insulin gespritzt wurde (*Crecelius*).

Allergische Momente, wie sie u. a. von *Lamar* in Erwägung gezogen werden, sind unwahrscheinlich. Denn die bevorzugte und oft nur ausschliessliche Lokalisation dieser lipodystrophischen Prozesse an den Injektionsstellen der Oberschenkel spricht gegen eine kutan ablaufende Antigen-Antikörperreaktion (*Bartelheimer, Scheffler & Hagen*). Ersterer Autor dachte bei den von ihm beobachteten trichterförmigen insulinverursachten Hautnekrosen unter anderem an eine periphere Gefässschädigung. Hierher gehören auch die Beobachtungen von *Reinwein*, der eine Verstärkung cardialer Dekompensationserscheinungen mit Oedemneigung unter Insulin beschrieb.

Interessant ist die Mitteilung von *Montenero*, der bei einer nicht besonders hoch mit Insulin eingestellten Diabetikerin neben einer Lipodystrophie anscheinend vom hypertrophen Typ auch urticaria-ähnliche Veränderungen um die Injektionsstellen sah. Gewisse Uebergänge von allergischen zu mikrotraumatisch- bzw. chemisch-toxischen Hautveränderungen scheinen zu bestehen.

Die Häufigkeit von Hautveränderungen hat mit dem steigenden Reinheitsgrad der applizierten Insulinpräparate abgenommen. Immerhin ist es aber erstaunlich, dass *Fabrykant & Ashe* noch 1954 bei 75 % der 100 untersuchten insuliniierten Diabetiker Lokalreaktionen feststellen konnten.

4. BEZIEHUNGEN ZWISCHEN DIABETES UND ALLERGIE (im allgemeinen)

Ehe auf die Beziehungen der kutanen Insulinallergie zum klinischen Diabetesverlauf eingegangen wird, soll die Frage erörtert werden, ob *hereditäre* oder *konstitutionelle* Zusammenhänge zwischen Diabetes und allergischen Krankheiten bestehen.

An deren Existenz wird man durch die gelegentliche klinische Beobachtung erinnert, dass ein Asthma-Anfall mit einer Hyperglykämie abgeschlossen werden kann. *Constam* u. a. fanden jedoch normale Blutzuckerbelastungskurven bei Allergikern und konnten keine Beeinflussung des Blutzuckerniveaus durch allergische Vorgänge beobachten. *Guttman*, der unter 19126 Diabetikern nur 0,17 % Asthmatiker und umgekehrt lediglich 10 Diabetiker unter 9362 Allergikern fand, betont, dass beide Erkrankungsgruppen sich nicht gegenseitig ausschliessen, ein gleichzeitiges Vorkommen dieser Erkrankungen bei demselben Patienten jedoch sehr selten sei. Auch ist das Auftreten von Störungen des Kohlenhydrathaushalts in Allergikerfamilien weniger häufig als in der allgemeinen Population. Der gleichen Ansicht ist *Constam*.

Bryce berichtete über eine Patientin, deren Vater Asthmatiker war, dass bei ihr fünf Tage nach Einsetzen der Insulintherapie urtikarielle Erscheinungen gegen kristallines Insulin auftraten. Hier wäre an eine familiäre allergische Diathese (*Kaemmerer*) zu denken, wenn nicht ein zufälliges Vorkommen der beiden Erkrankungen vorgelegen hat, was bei der relativen Häufigkeit derselben möglich ist.

Auch *Bayer* betont, dass eine *Allergie-Anamnese* bei einer *Insulinüberempfindlichkeit* vorhanden sein kann. Schon 1932 hat *Katsch* auf der Tagung der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin über insulinunabhängige Hautüberempfindlichkeiten bei einer Diabetikerin berichtet, für deren Auslösung gewissermassen durch das Pankreashormon der Weg geebnet wurde, die aber durch pflanzliche und tierische Proteine (Pirmelallergene und Hühnereiweiss) verursacht waren.

5. HAUTALLERGIEN GEGEN INSULIN UND DESSEN PRÄPARATE

Allergische Hauterscheinungen gegenüber *Verzögerungssubstanzen* in Depotinsulin-Präparaten sind von grösserer praktischer Bedeutung als kutane Sensibilisierungen gegen *rein-kristallines Insulin*. *Andreani & Corti* sahen bei 1522 Diabetikern in nur 1,05 % schwache Lokalreaktionen am Injektionsort und lediglich in 0,2 % waren allergische Erscheinungen eines Organsystems vorhanden (Urticaria, Quincke-Oedem, Bronchialasthma, gastrointestinale Störungen).

C. Schirren & Sauer haben zwei Diabetiker beobachtet, bei denen die Depotsubstanz *Surfen* als hautsensibilisierendes Antigen auf Grund von Intrakutantestungen identifiziert wurde. Auch in einem anderen Fall (*C. G. Schirren*) war die *Surfen*- und *Protaminüberempfindlichkeit* die Ursache einer lokalen Insulinunverträglichkeit. *Kulpe* berichtete über lochartig ausgestanzte Hautnekrosen in einer überhandflächengrossen Ausdehnung bei einer Diabetikerin, die ebenfalls auf dem Boden einer durch Hauttestungen geklärten *Surfenüberempfindlichkeit* entstand.

Seltener handelt es sich bei Hauterscheinungen um eine *Sensibilisierung* gegen *kristallines Insulin*.

Pasteur Vallery Radot beantwortete die Frage, ob es überhaupt eine *echte hormonelle Allergie* gibt, an Hand der Insulinsensibilisierung. Er betont, dass man prinzipiell zu unterscheiden hat zwischen 1. der *echten Sensibilisierung gegenüber kristallinem Insulin*, in diesem Fall liegt eine *echte endokrine Allergie* vor; und 2. der *Sensibilisierung gegen Verunreinigungen*, d.h. Eiweissbeimengungen der Präparate; und 3. der *Sensibilisierung gegen die Tierspecies* (z. B. Rind, Schwein). Diese Ueberlegungen wurden auch den Untersuchungen von *Gelfand, Fabrykant & Ashe* zugrundegelegt, die Hauttests mit abgekochtem Alt-Insulin und mit Rinder- und Schweine-Eiweisslösungen bei zuckerkranken Insulin-Hautallergikern durchführten. Mit dem tierischen Eiweiss wurden keine positiven Kutanreaktionen festgestellt, dagegen war das Haut-

erythem nach Intrakutaninjektion von teildenaturiertem Alt-Insulin eher grösser. Die Verfasser ziehen aus diesen Testergebnissen den Schluss, dass den Insulin-Lokalreaktionen kein Antigen-Antikörpermechanismus zugrundeliegt. Es ist aber damit der Beweis erbracht, dass keine Organeiwiss-Anaphylaxie die Ursache der Insulin-Hautallergien darstellt. Die stärkere Quaddelreaktion mit abgekochtem Insulin dürfte wohl kaum als Gegenbeweis zu werten sein, dass Insulin bei den Hautallergien kein hautsensibilisierendes Reagin darstellt. Die Veränderungen innerhalb des Insulinmoleküls beim Kochprozess brauchen nicht gleichbedeutend mit Zerstörung bzw. Abbau der antigen wirkenden Gruppierung innerhalb des Moleküls zu sein.

Berichte über Hautallergien aus den ersten 5 bis 10 Jahren der Insulinära sind kaum im Sinne einer echten Ueberempfindlichkeit gegen kristallines Insulin zu verwerten, da die Insulinpräparate damals trotz mehrerer Umkristallisierungsprozesse nicht rein und frei von Begleitsubstanzen erhalten werden konnten.

Auch bei dem von *Hansen & Eyer* mitgeteilten Fall einer Ueberempfindlichkeitsreaktion der Haut lag noch eine *Sensibilisierung gegen Begleitsubstanz* vor, wie sich bei Verwendung mehrfach umkristallisierten Insulins beweisen liess. Die Möglichkeit der Sensibilisierung gegen Tiereiwiss, gegen das Eiweiss des Pankreasorgans, wurde in diesem Falle ausgeschlossen.

Besonders aus dem Diabetikerheim des Waldkrankenhauses Zeven sind eine Reihe von Arbeiten erschienen, die über allergische Hautreaktionen nach Insulin-Injektionen, Pigmentablagerungen an den Spritzstellen und Necrobiosis lipoidica handeln (*Hagen; Scheffler & Hagen; H. Hagen, W. Hagen, Heinsen, Olters & Scheffler; Heinsen & Scheffler; Scheffler*).

Auch eine *echte Insulinanaphylaxie* ist theoretisch möglich, sie wurde mehrfach beschrieben. *Rose & Barron* berichten über einen echten, *anaphylaktischen Schock*, der bei der Insulin-Reinjektion 11 Tage nach der Erstinjektion eintrat. Auch bei der von *Walker* mitgeteilten Beobachtung trat bei einem

Diabetiker bereits 3 Tage nach der Insulin-Erstinjektion ein charakteristischer anaphylaktischer Schock auf.

Relativ selten kommen *allergische Erscheinungen am hämatopoetischen System* nach Insulingaben vor.

Constam beobachtete einen Diabetiker, der nach mehr als fünfjähriger Protamin-Zinkinsulin-Therapie an einer schweren thrombopenischen Purpura erkrankte. Der Thrombocytenagglutinationstest und die Serumnephelometrie waren positiv gegenüber Handelspräparaten, die Depot- und resorptionsverlangsamende Begleitsubstanzen enthielten. *Boulin, Cl. Lapresle, Gueniot & J. Lapresle* sahen im Verlauf eines schweren Diabetes drei Sensibilisierungsstadien. Auf eine verhältnismässige lange Periode der Insulinresistenz folgte ein dreimonatiger Zwischenraum mit kompensiertem Stoffwechsel. Dann entwickelte sich eine histologisch verifizierte Periarteriitis nodosa mit polyneuritischem Erscheinungsbild. Der Sensibilisierungsvorgang kann also an mehreren Organsystemen ablaufen.

Williams berichtete über eine lokalisierte *gastrointestinale Allergie* gegenüber Schweineinsulin. Ein 12jähriger Diabetiker wies eine zunehmende Stoffwechselverschlechterung trotz ständiger Steigerung der täglichen Dosen von Schweineinsulin auf, bis sich ein diabetisches Coma mit schweren abdominellen Erscheinungen und Störungen im Mineralhaushalt entwickelte. Nach Umstellung auf Rinderinsulin gingen die gesamten Erscheinungen binnen 2 Tagen zurück.

Zwei Momente spielen bei der *Auslösung von Insulin-Hautallergien* pathogenetisch eine Rolle: 1. die *allergische Diathese* (*Kaemmerer*), die bei dem betreffenden Diabetiker vorhanden sein muss und auch in dessen Familie sehr oft nachzuweisen ist. 2. Häufiger kommt es zu allergischen Hautreaktionen bei Diabetikern, denen Insulin nach monate- oder jahrelangem Aussetzen wegen erneuter Stoffwechselverschlechterung gegeben werden musste. Nach *Joslin* muss man mit diesem Auslösungsmoment bei 12 von 16000 Fällen, nach *Allan & Scherer* in 1 bei 1000 Fällen rechnen. *Poliakoff* beschreibt einen Diabetiker, der mehrere Monate lang Insulin erhielt, dann aber die Injektionen eigenmächtig absetzte. Einige Monate später war eine neuerliche Insulinverabreichung notwendig geworden, die nach einigen Tagen von einer sehr schweren Urticaria gefolgt war.

Eine in diesen Fällen oft aussichtsreiche *Desensibilisierung* lässt sich prinzipiell in zwei Richtungen durchführen. Entweder wird versucht, sie in Form eines *Eintagesprogramms* oder durch sehr *langsam ansteigende Dosen* zu erreichen (*Cade, Barral & Roux, Miller & Beardwood jr.; Taub*). *M. L. Bayer* hat die nur einen Tag in Anspruch nehmende Desensibilisierung bei einer 48jährigen Diabetikerin mit schwersten Hautallergien erfolgreich durchgeführt. Beginnend mit $1/100$ E intradermal wurden ansteigende Dosen in halbstündigen Abständen gegeben; bis am Spätnachmittag wurden 5 E reaktionslos vertragen. Ähnlich ging auch *Corcoran* vor, der mit 0,2 E Insulin begann und alle 2 min. 0,2 E zulegte. Nach 5 Stunden wurden bereits 14 E reaktionslos vertragen, nach 1,5 Stunden war die vollständige Desensibilisierung abgeschlossen und nach 24 Std. blieben Intrakutantests negativ. *Hansen & Eyer* schlagen eine Desensibilisierung mit 5 bis 10fachen Verdünnungen der Handelsinsulinpräparate mit physiologischer Kochsalzlösung vor, ebenso *Bryce*. Man kann aber auch eine „desensibilisation à petit repas“ wie bei nutritiven Allergien durchführen, und zwar in Form einer Vorinjektion vor der Hauptspritze. *Hansen & Eyer* nehmen hierzu 0,5 bis 1 E subkutan, *Stoetter* (nach *Umber*) 4 E 20 min. vor der Hauptinjektion, *Engelberg* $1/10$ der vollen Dosis eine Viertelstunde vor der Hauptdosis und *Burden* $1/200$ E intradermal 45 min. bis 1 Stunde vor der therapeutischen Insulingabe. Vorher durchgeführte Kutan- und Intrakutantests mit den therapeutisch verabreichten Handelsinsulinen, mit den kristallinen Reinformen und mit Depot-Begleitsubstanzen sind eine selbstverständliche Voraussetzung, ehe eine dieser Desensibilisierungsmassnahmen eingeleitet wird.

Dolger hat versucht die antigene Potenz des Insulinproteins durch *Teildenaturierung* herabzusetzen, allerdings mit dem Preis eines Aktivitätsverlustes von 10–20 %. Die Insulinflasche wird dazu 15 min. in kochendes Wasser gehalten. Bei einem Diabetiker ist es ihm so gelungen, die Verträglichkeit nicht-erhitzten Handelsinsulins zu steigern. Auch *Tolstoi* hatte einen günstigen Eindruck von dieser Methode der Teildenatu-

rierung allergisierend wirkender Insulinpräparate. Demgegenüber berichteten *Hollindar & Zinn* über einen Misserfolg, auch der von *Nichols* mitgeteilte Fall eines jugendlichen Diabetes mit schweren Hautallergien war nur mit denaturiertem Insulin stoffwechselfähig zu beherrschen, dagegen nicht mit normalem, nicht-erhitztem Insulin. Diese unterschiedlichen Beobachtungen mit teilweise denaturiertem Insulin sind deshalb von Interesse, weil die antigene Gruppierung im Molekülkettensystem durch den kurzfristigen Denaturierungsprozess nicht konstant angegriffen bzw. aufgespalten wird.

Weitere, teilweise erfolgreiche Behandlungsmassnahmen sind die Verabreichung von *Antihistaminica*, die entweder unabhängig (z.B. *Klein*) oder unmittelbar vor der Insulin-Injektion (*Gastineau & Leavitt*) gegeben werden.

6. GLEICHZEITIGES VORKOMMEN VON INSULINALLERGIE UND -RESISTENZ

Das gleichzeitig oder mit einer gewissen zeitlichen Phasenverschiebung zu beobachtende Auftreten der kutanen Insulinallergie mit einer Insulinresistenz ist besonders erwähnenswert. Die pathologische Reaktion des diabetischen Stoffwechsels gegenüber Insulin ist bei diesen Fällen von Hautallergien gegen das Pankreashormon nicht nur auf durch letztere bedingte Resorptionsstörungen (*Allen & Scherer*) zu beziehen, hierbei sind auch immunbiologische Gesichtspunkte zu beachten.

Davidson & Eddleman gaben 1950 eine Uebersicht über 50 Fälle von Insulinresistenz, deren Ursachen u. a. Lungentuberkulose, Hämochromatose, rheumatische Arthritis, chronische Lymphadenose usw. war. 17 davon wiesen Manifestationen einer Insulinallergie in Form von Lokalreaktionen an den Injektionsstellen, generalisierte Urticaria, Erröten, Tachycardie und Eosinophilie auf. Nur bei 8 Diabetikern der insgesamt 26 auf zirkulierende, insulin-neutralisierende Antikörper untersuchten Fälle war der Nachweis positiv. Bei der von *Heinsen und Scheffler* beschriebenen Zuckerkranken verliefen

die nach 2jähriger Insulinverabreichung auftretenden Hautallergien gegenüber kristallinem Insulin mit einer steigenden Resistenz gegenüber dem Hormon parallel. Auf hohe Antihistamindosierung gingen beide Erscheinungen ungefähr gleichlaufend zurück. *Luebken* sah demgegenüber bei einer Diabetikerin zwischen den beiden Erscheinungen eine Phasenverschiebung von 2–3 Wochen. Die Insulinresistenz trat einige Zeit nach den hautanaphylaktischen Reaktionen auf und sie war 3 Wochen nach Rückgang der Urticaria noch nachweisbar. Serologische Untersuchungen wurden von ihm nicht durchgeführt.

7. DIE INSULINRESISTENZ ALS IMMUN-BIOLOGISCHES PHÄNOMEN

Die klinische Tatsache, dass eine kutane Ueberempfindlichkeit gegen Insulin ohne gleichzeitige Resistenz und umgekehrt beim stoffwechselgestörten Diabetiker auftreten kann, veranlasste *Lowell* die *Existenz zweier verschiedener Antikörper* gegen kristallines Insulin in Erwägung zu ziehen.

Bei einer 43jährigen Diabetikerin mit schweren urticariellen Reaktionen gegenüber handelsüblichem und kristallinischem Insulin bestimmte er die intravenöse Toleranz gegenüber kristallinem Rind-, Schweine- und Menscheninsulin nach vorheriger dreiwöchiger Desensibilisierung; ausserdem führte er Hauttestungen, passive Uebertragungsversuche am Menschen und den Neutralisationstest an der Maus durch.

Aus seinen Versuchsergebnissen schloss *Lowell* auf die Existenz zweier Antikörperarten im Patientenserum, nämlich eines *hitzelabilen allergischen Antikörpers*, der die Hautreagibilität überträgt, und eines *hitzestabilen insulinneutralisierenden Antikörpers*, der die *physiologische Insulinwirkung* (z.B. an der Maus) zerstört.

Man muss sich darüber klar sein, dass die *Neutralisierung* die Folge einer stattgefundenen Antigen-Antikörperreaktion darstellt. Durch die Bildung des Antigen-Antikörperkomplexes

kommt es gleichzeitig zu einer Neutralisierung der pharmakologischen und physiologischen Eigenschaften des Antigens, nachweisbar im *Mäusetest* an der Aufhebung insulinverursachter Konvulsionen bei Injektion einer Patientenserum-Insulinmischung. Die klinisch manifeste Begleiterscheinung der Antigen-Antikörperreaktion sagt nichts über den serologischen Charakter des gebildeten Antikörpers aus, ob er z.B. komplett oder inkomplett ist.

Inderbitzin & Meyer bestätigten *Lowell's* Beobachtungen und trennten ein *thermolabiles*, im *Prausnitz-Kuestner-Versuch* übertragbares, kutan sensibilisierendes Reagin von einem *thermostabilen*, nicht hautsensibilisierenden Serumfaktor ab, der nur im *Insulinneutralisationstest* an der weissen Maus nachzuweisen war.

Zum *Nachweis zirkulierender insulin-neutralisierender Antikörper* sind grundsätzlich vier Methoden gebräuchlich, die die Hemmung bzw. die Aufhebung der physiologischen Insulinwirkungen als Indikator heranziehen.

1. Aufhebung der Insulin-induzierten Hypoglykämie und deren Folgen für den Gesamtorganismus (Konvulsionstest). *Lowell* verwandte die *Maus* zum Nachweis der *Insulin-Neutralisation* durch Seren hochinsulinisierter Diabetiker; er betont jedoch ausdrücklich, dass Rückschlüsse aus den inkonstanten Versuchsergebnissen nur mit grosser Vorsicht möglich sind. *Glen & Eaton* zogen *Kaninchen* für ihren Neutralisations- bzw. Konvulsionstest heran. Bemerkenswert sind ihre Beobachtungen, dass der Insulin-Antagonismus des Serums eines Zuckerkranken, der zur Stoffwechselkompensation bis 1050 E benötigte, grösser war, wenn Insulin kurz vor der Blutabnahme gegeben wurde. Das würde entsprechend unseren, später diskutierten Versuchen dafür sprechen, dass nach der Hormonverabreichung Antikörper zur Ausschwemmung kommen bzw. sekundär freigesetzt werden.

2. a) Der *Ring-Präzipitintest* (*Lerman, Arquilla & Stavitsky*) war beim Nachweis von Insulinantikörpern nur in seltenen Fällen erfolgreich. Vielleicht ist diese Reaktion zu „grob“, d.h. die Antikörperkonzentration ist zu gering, um mit dem zugesetzten Antigen einen Niederschlag zu bilden. Die genannten beiden letzteren Autoren schlugen daher eine Antigenabstufung vor, vorausgesetzt, dass genug Patientenserum zur Verfügung steht (0,1–2–3 μg Antigen/1 ml Serum).

b) *Cannon & Marshall* haben die *Präzipitinkonzentration* mit Hilfe der *Agglutination Insulin-überzogener Kollidonpartikelchen* bestimmt und in einigen Seren insulinüberempfindlicher Diabetiker Insulin-spezifische Präzipitine nachweisen können.

3. Die *Untersuchungen am Rattenzwerchfell* mit dem Nachweis der Glykogenaufnahme durch Insulin und deren Hemmung durch Diabetikerseren soll hier nur am Rande erwähnt werden (*Marsh & Haugaard*).

4. Auf die *Hämagglutinationsreaktion* wird im experimentellen Teil genauer eingegangen.

Die *Vorteile* dieser Hämagglutination sind ihre ziemlich grosse Empfindlichkeit, die relativ einfache Durchführbarkeit und vor allem der geringe Verbrauch von Reagentien. Letzteres wirkt sich vor allem günstig bei Reihenuntersuchungen am gleichen Patienten aus, wenn in kurzen Zeitabständen Blutproben abgenommen werden müssen. Diese besondere Empfindlichkeit der Reaktion kann aber auch gewisse *Nachteile* in sich bergen, vor allem wenn heterologe Antikörper anderer Provenienz während der Reaktion intervenieren und falsche Agglutinationen geben.

Die *Boyden'sche* Hämagglutinationstechnik wurde anfänglich lediglich zur quantitativen Bestimmung von Diphtherietoxoid und Antitoxin herangezogen, sie hat dann breite Anwendung beim Nachweis von Antikörpern gegenüber Bakterien, Protozoen, Virusarten, Geweben (Niere, Schilddrüse, Leber), Zellen (Leukocyten, Thrombocyten) und Hormonen gefunden. *Stavitsky & Arquilla* haben die Hämagglutinationstechnik ausgearbeitet und verfeinert, sie konnten *echte Insulinantikörper im Serum insulinresistenter Diabetiker* und *gegen Insulin immunisierter Tiere* nachweisen.

Die *Vorbehandlung der Erythrocyten* wurde anfangs mit *Tanninsäure* durchgeführt, die sich reversibel an das Protein der Erythrocytenoberfläche bindet und Aenderungen ihrer osmotischen Eigenschaften hervorruft (*Piper & Ruhenstroth-Bauer*). *Schmidt & Grossgebauer* dachten bei ihren bakteriellen Hämagglutinationsversuchen von *formalinisierten Erythrocyten* an eine leichtere Fällbarkeit der Blutkörperchen im Sinne einer „Labilisierung“ in einer ersten unspezifischen Phase, die von der zweiten spezifischen Phase der Hämagglutination gefolgt ist. Auf jeden Fall spielen Oberflächenveränderungen der roten Blutzellen bei der indirekten Hämagglutination eine entscheidende Rolle. In späteren Versuchen wurde *bis-diazotiertes Benzidin* anstelle von Tanninsäure genommen.

Das Prinzip der von *Stavitsky & Arquilla* entwickelten Technik zum Insulinantikörpernachweis besteht darin, dass mit Tanninsäure bzw. bis-diazotiertem Benzidin behandelte Schaf-, Kaninchen- oder Hammelerythrocyten mit Insulin sensibilisiert werden und dann diese insulinkonjugierten Zellen agglutiniert werden.

Die Ueberführung dieser Hämagglutination in eine kolorimetrisch beurteilbare Hämolyse ist nur bei Verwendung von bis-diazotiertem Benzidin möglich, da die tanninisierten Erythrocyten oft schon bei alleinigem Komplementzusatz der Lyse verfallen (*Peck & Thomas*). Diese ursprünglich von *Middlebrook* (1950) angegebene Kombination der Hämagglutination mit einer Hämolyse unter Komplementzusatz führt jedoch zum Nachweis von zwei verschiedenen Antikörpern. Bereits *Middlebrook* hat diese Anschauung vertreten, sie wurde von *Popp* wieder aufgegriffen. Fortlaufende Untersuchungen bei tuberkulösen Menschen und tuberkuloseinfizierten Tieren haben ein voneinander unabhängiges Verhalten der Hämagglutinations- und Hämolysetiter ergeben, sodass die Ueberführung einer Hämagglutination in eine Hämolyse doch gewisse Ungenauigkeiten in sich birgt.

In einer 1956 veröffentlichten Arbeit konnten *Stavitsky & Arquilla* bei 11 von 23 Diabetikern Antikörper mit der Hämagglutinationstechnik nachweisen. Davon benötigten sieben 120 bis 2000 E Insulin, die vier restlichen 70 bis 90 E täglich. Der Antikörpertiter schwankte zwischen 1:12 und 1:1280. Bei Beschreibung der eigenen Technik werden die von *Stavitsky & Arquilla* gewonnenen Titerwerte noch diskutiert werden. Offensichtlich handelt es sich um einmalige Antikörperbestimmungen, wobei anscheinend keine Rücksicht auf die sicher bestehenden zeitlichen Zusammenhänge zwischen der letzten Insulin-Injektion und der Hämagglutination genommen wurde. Auf diesen, nach unserer Ansicht wichtigen zeitlichen Faktor wird noch eingegangen werden müssen. Aus den Tabellen dieser Autoren geht nicht hervor, welche Insulinpräparate diese 11 hochinsulinierten Diabetiker erhielten, als Antigen wurde sowohl kristallines, zinkhaltiges als auch trypsiniertes Rinderinsulin verwandt. In einer späteren Studie (1958) haben diese Untersucher ihre bisherigen Erfahrungen mit der Hämagglutinationstechnik unter besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Insulinantikörpern zusammengefasst.

Yankelowitsch, Massry & Gitter beobachteten einen insulinresistenten Diabetiker, in dessen Serum sich ein Insulinneutralisationseffekt im

Lowell'schen Mäusekonvulsionstest und bei der Rattendiaphragmamethode, ein kutansensibilisierender und ein hämagglutinierender Antikörper nachweisen liess. Interessant ist in diesem Zusammenhang die Beobachtung einer spezifischen Resistenz gegenüber Rinderinsulin, wie sie *Kreutzer, Moors & Verhille* mitgeteilt haben. Der für die physiologische Stoffwechselwirkung massgebliche Anteil des Insulinmoleküls wäre in diesem Fall auch in antigener Hinsicht rindsspezifisch.

In Deutschland haben sich *Steigerwald & Spielmann* mit der Hämagglutinationstechnik beschäftigt und in 11 Fällen in Kombination mit einem Insulin-*Coombs*-Test positive Ergebnisse beobachten können. *Laprèsle & Grabar*, die mehrere handelsübliche Insulinpräparate als Antigenquelle für die Hämagglutinationen verwandten, betonten, dass positive Ergebnisse bei mit Insulin eingestellten Diabetikern vorwiegend auf Verunreinigungen der Präparate zurückzuführen seien. Auf die Technik wird im Zusammenhang mit den eigenen Experimenten näher eingegangen.

Die *Komplementfixationstechnik* wurde zum Insulinantikörpernachweis bei immunisierten Kaninchen von *Wasserman, Broh-Kahn & Mirsky* erfolgreich angewandt.

Eine Insulinresistenz wurde bei diesen Tieren, die bei Sensibilisierungsbeginn sehr hohe Hormondosen intravenös erhielten, nicht gesehen. Dagegen fanden die Autoren *drei prinzipiell wichtige Tatsachen*.

1. Wurde bei der Sensibilisierung cystein-inaktiviertes, physiologisch inaktives Rinderinsulin als Antigen verwandt, so war bei der Komplementbindungsreaktion dann eine eindeutige, allerdings schwache Antikörperantwort festzustellen, wenn normales, aktives Insulin als Testantigen herangezogen wurde. Damit war ein gewisser Anhaltspunkt dafür gegeben, dass die physiologische Aktivität des Insulinmoleküls an Aminosäuregruppierungen in ihm gebunden ist, die die antigene Potenz nicht gleichzeitig beinhalten, d.h. sie sind keine determinanten Gruppen. Auf diese Tatsachen sind wir bereits eingegangen.

2. Bei Verwendung von Rindfleischextrakt als Testantigen fand sich eine unterschiedliche Komplementbindung bei Rindereiweiss und -insulin. Mit anderen Worten: bei der experimentell induzierten Sensibilisierung gegenüber Rinderinsulin handelte es sich nicht um eine Rindereiweissanaphylaxie.

3. Die Tatsache, dass trotz positivem Antikörpernachweis eine Resistenz gegenüber dem Hormon nicht festzustellen war, wird von den Autoren nach der Richtung hin verwertet, dass Insulinantikörper keine Antihormone darstellen.

Es fehlte allerdings nicht an Gegenstimmen, die den diagnostischen Wert der Komplementfixationstechnik einengten. *Richardson* sah auch bei Gesunden und Schwangeren gelegentlich eine positive Komplementbindung, ohne dass er eine Erklärung dafür geben konnte. Auch *Bauer, Kunewaelder & Schaechter* führten *Komplementbindungsreaktionen* bei *insulinsensibilisierten Kaninchen* durch, nach 45 Injektionen in einem Zeitraum von 50 Tagen konnten sie bei zwei Tieren eine positive Komplementablenkung beobachten. Da jedoch auch mit anderen, einen Phenolring enthaltenden Hormonen positive Ergebnisse erzielt wurden, erscheint nach dem Urteil dieser Autoren bei der Wertung dieser Ergebnisse Vorsicht geboten. *Steigerwald & Spielmann* waren mit der Komplementbindungsreaktion auch nicht erfolgreich.

Neuerdings ist die *Elektrophorese* in die *Nachweisteknik* von *Insulin-neutralisierenden Antikörpern* einbezogen worden.

De Filippis & Iannacone sowie *Colwell & Weiger* verwendeten die fraktionierte Elektrophorese unter Heranziehung der Aussalzungstechnik, isolierten Gammaglobulin und führten mit letzterem den *Lowell'schen* Neutralisationstest an der Ratte durch; dabei stellten sie fest, dass die Serum-Gammaglobulinfraktion einer insulinresistenten Diabetikerin einen „antikörperartigen“ Stoff enthält, der den physiologischen Insulin-effekt neutralisiert. Auch *Sehon, Kaye, McGarry & Rose* lokalisierten die insulinneutralisierende Aktivität mit Hilfe der *Stärke-Elektrophorese* in die γ_2 -Globulinfraktion, während Albumine, α -, β - und γ_1 -Globuline etwa der Kontrollfraktion entsprachen. Nach *Loveless & Cann*, die mit der *Hochspannungselektrophorese* arbeiteten, ist der insulinblockierende und mit der Gammaglobulinfraktion wandernde Antikörper von dem insulinneutralisierenden Antikörper abzutrennen, der sich in das β -Globulin hineinverlagern lässt. *Field & de Witt Stetten jr.* fanden einen Antiinsulinfaktor in der α - und β -Globulinfraktion bei einer schweren, insulinresistenten Acidose, nachweisbar durch Hemmung der Glukose-Utilisation bzw. Glykogenakkumulation im isolierten Rattenzwerchfell.

Setzt man die serologischen Untersuchungsergebnisse mit

dem positiven Nachweis präzipitierender, komplementfixierender und hämagglutinierender Antikörper bei insulinresistenten Diabetesfällen zur Elektrophorese in Beziehung, dann lassen sich die Resultate nur schwer auf einen gemeinsamen Nenner bringen. Denn die in die β - und γ -Globulinfraktion je nach der angewandten Technik-hineinprojizierten *Insulinantagonisten* brauchen *keine echten Antikörper* zu sein, die mit serologischen Techniken zu verifizieren sind. Sehr oft handelt es sich bei ihnen um *Antihormone*, die die physiologischen Insulinwirkungen auf den Stoffwechsel hemmen.

Es gehört zur *Definition eines Antihormons*, dass es den hormonalen Effekt oder die diesem Hormon eigenen physiologischen Wirkungen aufzuheben vermag, und zwar unabhängig von der Provenienz dieses Antihormons und von dessen Wirkungsort.

Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, diese beiden Arbeitsrichtungen zu vereinigen.

Peters, Burrows & Lowell bzw. *Burrows, Peters, Trakas & Reilly* liessen J^{131} -Insulin mit den Seren Gesunder, gut eingestellter und insulinresistenter Diabetiker auf dem Papierelektrophoresestreifen wandern. Während in den ersten beiden Untersuchungsgruppen Insulin am Startpunkt absorbiert blieb, wanderte es bei Zugabe von Serum eines insulinresistenten Zuckerkranken mit der mittleren bis langsamen Gammaglobulinfraktion. Bemerkenswert ist das Fehlen einer gekreuzten Reaktion zwischen Menschen- und Rinderinsulin. Auch *Skom & Talmage*, die in einem anderen Zusammenhang schon einmal erwähnt wurden, konnten nicht-präzipitierende Insulinantikörper unter Zusatz von Anti-Humangammaglobulin zum mit J^{131} -Insulin inkubierten Patientenserum nachweisen, indem sie die Radioaktivität des Präzipitats massen.

(Schrifttum S. 52)

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.