

(Aus dem hygienischen Institute u. der Augenklinik der deutschen Universität Prag.)

Studien zur sympathischen Ophthalmie.

2. Die antigene Wirkung des Augenpigmentes.

Von
Prof. Dr. A. Elschmig,
Prag.

Seit Römers ausführlicher Arbeit, welche die bakterielle Ätiologie der sympathischen Ophthalmie neuerlich und in neuer Form statuiert hat, haben nur wenige Mitteilungen in dieser Hinsicht Material beigebracht.

Motais¹⁾ hat die Schwierigkeit der Erklärung des Freiblebens aller übrigen Organe von metastatischer Erkrankung bei der Metastase ins sympathisierte Auge, die Römer durch eine absolute Spezifität des Krankheitserregers für die Uvea zu erklären suchte, dadurch beseitigt, dass er die Übertragung von einem Auge ins andere auf dem Wege der Venen des Nasenrückens, also als Überwanderung von einer Orbita in die andere via Venae faciales, vor sich gehen lässt.

zur Nedden²⁾ suchte auf kulturellem und experimentellem Wege die bakterielle Natur der sympathisierenden Entzündung zu studieren. Die Überimpfungen von Gewebstückchen aus solchen Augen in Kaninchenaugen ergaben keine brauchbaren Resultate. Die bakteriologische Untersuchung des Blutes eines Falles von sympathischer Ophthalmie ergab einmal — in der IV. Überimpfung! — ein dem Pseudodiphtheriebacillus ähnliches Bacterium, durch dessen Injektion in die Blutbahn Iridocyclitis erzeugt wurde. Daraus irgendeinen Schluss zu ziehen für die sympathische Ophthalmie scheint unerlaubt. Ebenso wenig beweist die Tatsache, dass durch Einbringung von Blut, frisch und auf 60° erhitzt, in den Glaskörper des Kaninchens, sowie durch

¹⁾ Motais, Préparations anatomiques pour la démonstration de l'ophtalmie sympathique par la voie veineuse. Intern. Ophth.-Kongr. Luzern 1904. S. 167.

²⁾ zur Nedden, Bakteriologische Blutuntersuchungen bei sympathischer Ophthalmie und andern Formen von Iridochorioiditis. Arch. f. Ophth. Bd. LXII. S. 194. 1906.

Injektion des folgenden Glaskörperexsudates ins zweite Auge, Iridocyclitis erzeugt werden kann, irgend etwas für eine spezifische Ätiologie. Denn es ist daraus keinesfalls der Schluss erlaubt, dass Mikroorganismen im Spiele sind — Cyttoxine im weitesten Sinne des Wortes, und als solche sind ja auch die Bestandteile artfremden Blutes zu erkennen, müssen für diese Erscheinungen verantwortlich gemacht werden.

Die Ergebnisse der modernen Serumforschung sind auch auf das Studium der Entstehung der sympathischen Ophthalmie nicht ohne Einwirkung geblieben.

Golowin¹⁾ dürfte der erste gewesen sein, welcher in dieser Hinsicht die Resultate der Serumforschung zu verwerten trachtete. Er nahm an, „dass bei Verletzungen eines Auges, hauptsächlich bei Läsionen des Ciliarkörpers, sich unter gewissen Umständen Gifte (Autocytotoxine) bilden, welche in den allgemeinen Blutkreislauf und auf diese Weise in das andere Auge gelangen. Da die Gifte eine spezifische Wirkung auf das Zellprotoplasma der Iris und des Ciliarkörpers (bzw. Ciliarepithels) haben, rufen sie eine Veränderung dieser Gewebe hervor. Damit wären die Bedingungen zur Entstehung einer sympathischen Ophthalmie gegeben“.

Soweit man aus seiner deutschen Mitteilung ersehen kann, hat er durch Injektion von artfremder Uvea Tiere zu immunisieren getrachtet, und das betreffende Serum in das Auge einer andern Tierart injiziert. Während normales Serum leicht vertragen wurde, rief Injektion des Immunserums eine heftige Iridocyclitis hervor. Bei Injektion des Immunserums in die Blutbahn liessen sich mikroskopisch Veränderungen des Ciliarepithels konstatieren. Daraus leitete Golowin die Annahme ab, dass sich bei Injektion von Uvea im Serum des behandelten Tieres „Cyclotoxine“ bilden, welche spezifisch auf den Ciliarkörper einwirken. Golowins eigene Erfahrungen, insbesondere auch die Beobachtungen Sattlers²⁾ über die Wirkungen artfremder Sera im Tierauge beweisen, dass derartige Versuche nicht, oder nur unter den denkbar grössten Kautelen für die in Rede stehende Frage verwertbar sind.

Santucci³⁾ nahm ebenfalls an, dass der Organismus täglich Teile

¹⁾ Golowin. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. Bd. XLVII. Jahrg. 1909, Febr.

²⁾ Sattler, C. H., Untersuchungen über die Wirkung von Blutserum nach Einspritzung ins Auge. Arch. f. Augenheilk. Bd. XLIV. S. 990. 1909.

³⁾ Santucci, Die sympathische Ophthalmie in bezug auf die Theorie von den Cytotoxinen; Referat, Zeitschr. f. Augenheilk. Bd. XVII. S. 297. 1907.

des kranken Augengewebes resorbiere, welche antigen wirkend Cytotoxine für das Auge erzeugen und die Ophthalmie des normalen Auges bedingen. Er belegte seine Anschauung durch den Bericht über eine lange Reihe von Versuchen, in denen er Uvea-Emulsion normaler Augen subconjunctival einimpfte, wodurch „in einem Auge des behandelten Kaninchens Infiltration des Hornhautparenchyms, Iritis und Knötchen von in der Vorderkammer organisiertem Exsudat erhalten worden sind“. Es ist bisher in der Serologie noch keine sichere Kenntnis über Auto-cytotoxine, welche hier allein in Frage kommen könnten, vorgelegen. Es ist von vornherein unwahrscheinlich, dass derartige, immer nur in kleinen Mengen ins Blut aufgenommene Auto-Uveatoxine dazu ausreichen würden, das normale zweite Auge in jener heftigen Weise erkranken zu machen, welche die typischen Fälle sympathischer Ophthalmie charakterisieren.

Während also der Gedanke, den Golowin und Santucci vertraten, von vornherein nicht ohne weiteres annehmbar ist, schien mir die Idee Prof. Bails über die Entstehung der sympathischen Ophthalmie unbedingt weiterer Studien wert. Bail zog die Erfahrungen über die Anaphylaxie zur Erklärung der sympathischen Ophthalmie heran, und formulierten wir ungefähr folgende Annahme:

Durch die antigene Resorption von lädiertem Uveagewebe wird eine Überempfindlichkeit im Organismus und insbesondere im homologen Organe, dem zweiten Auge, erzeugt, dadurch eine gesteigerte Reaktionsfähigkeit. Sowie bei v. Pirquets Versuchen zufolge dieser gesteigerten Reaktionsfähigkeit durch Zufuhr des anaphylaktisierenden Agens von aussen Entzündungen entstehen, so würde in unserem Falle durch die geringste Störung im überempfindlichen Auge, durch den Zerfall auch nur einer Uveazelle (u. zw. Uvea- oder Pigmentepithelzelle), welche wie die Zufuhr des anaphylaktisierenden Agens von aussen wirkt, eine Entzündung entstehen, mit den durch die Vulnerabilität des Organs bedingten schweren Folgen.

Durch die im ersten Teile meiner einschlägigen Untersuchungen¹⁾ niedergelegten Versuchsergebnisse wurde gezeigt, dass tatsächlich vom Augeninnern aus eine Resorption von Antigenen in antigenen Form stattfindet.

Es war dann unsere nächste Aufgabe, festzustellen, ob tatsäch-

¹⁾ Elsehnik, Studien zur sympathischen Ophthalmie. Anz. d. kais. Akad. d. Wissensch. Sitz. v. 17. III. 1910, u. Arch. f. Opth. Bd. LXXV, 3.

lich Uveagewebe (im weitesten Sinne des Wortes, also Uvea + Pigmentepithel) eine antigene Wirkung im Tierkörper besitze.

Es mussten also Tiere durch intraperitoneale Injektion mit Uvea-Emulsionen vorbehandelt und nach entsprechender Frist das Blutserum auf Antikörper gegen Uveaemulsion untersucht werden.

Die zur Injektion verwendeten Emulsionen wurden in folgender Weise hergestellt:

a) Bei Rinder-, Pferde- und Schweinsaugen.

Der Sehnerveneintritt wurde mit der Lanze durchschnitten und der Schnitt bis zur Cornea-Skeralgrenze in einem Meridiane mit der Schere erweitert, die Sklera umgestülpt, wobei sich der Glaskörper entleert, die Netzhaut vorsichtig ohne Beschädigung des Pigmentepithels abgezogen, die Linse in der Kapsel entfernt; dann wurde das Pigmentepithel mit der Spatel abgeschabt, die Ciliarfortsätze mit der Schere abgekappt, die Irishinterfläche wieder mit der Spatel abgescheuert. Die ganze Masse wurde in bestimmtem Quantum physiologischer Kochsalzlösung zerrieben.

b) Bei kleinen Augen (Kaninchen, Meerschweinchen) wurde der Bulbus in ähnlicher Weise geöffnet, aber nur Linse, Glaskörper und Retina entfernt, die ganze Uvea in der Reibschale verrieben und durch ein feines Drahtsieb durchgedrückt.

Bezüglich der hemmenden Wirkung der „Uveaemulsion“, wie ich in folgendem die so gewonnene, grösstenteils Pigment enthaltende Aufschwemmung bezeichnen will, ist noch zu bemerken, dass sie völlig unverändert war, ob die Emulsion frisch verwendet wurde oder nach langem Erhitzen auf 60°¹⁾. Letzteres hatte zwar den Vorteil der längeren Haltbarkeit der Emulsion, die trotz möglichst steriler Herstellung meist in 5—8 Tagen der Zersetzung anheimfiel, hatte aber den Nachteil, dass die Pigmentmassen sich zusammenballten und schwer oder gar nicht mehr genau zu dosieren waren.

Wie später noch angeführt wird, habe ich auch eine Anzahl Uveae (bzw. Pigmentepithelzellen) im Vakuum getrocknet, dann gewogen und feinst zerrieben in physiol. *NaCl* aufgeschwemmt; die Verwendung derartiger Emulsionen wird jeweilig angeführt.

Über das Verhalten von Elementen der Augenmembranen gegenüber dem Blutserum, bzw. über die hemmende Wirkung der ersteren beim hämolytischen Versuche liegt eine einzige ausführliche Untersuchung von Hess und Römer vor²⁾. Uns interessieren hier in erster Linie die Versuche mit Pigmentepithel und Aderhaut. In der Besprechung derselben vermissen wir leider quantitative Angaben, welche uns über die Grösse der hemmenden Wirkung der letztgenannten

¹⁾ Wie S. 524 angegeben wird, war durch die Erhitzung sogar eine leichte Steigerung der Hemmungskraft zu konstatieren.

²⁾ Hess u. Römer, Experimentelle Untersuchungen über die Antikörper gegen Netzhautelemente. Arch. f. Augenheilk. Bd. LIV. S. 13. 1906.

Augenbestandteile Aufschluss geben könnten. Die Versuche wurden in der Weise vorgenommen, dass verschiedene aktive Sera, denen eine gewisse variable hämolytische Wirkung auf einzelne Blutarten zukommt, zusammen mit Aderhautemulsion, Pigmentepithel­emulsion oder Retinaemulsion durch 20—30 Minuten binden gelassen wurden und dann irgendeine Art von Blutkörperchen hinzugesetzt wurde, nachdem vorher (oder gleichzeitig) der hämolytische Titer des betreffenden Serums gegenüber der verwendeten Blutart bestimmt worden war. So wie verschiedene Sera und verschiedene Blutarten verwendet wurden, so wurden auch verschiedene Augenarten (Schwein, Rind) zu den betreffenden Versuchen in Variationen verwendet. Es zeigte sich hierbei eine in ihrem Grade ausserordentlich wechselnde, aber im Prinzip ziemlich konstante hemmende Wirkung der betreffenden Augenmembranen, und zwar war dieselbe je nach der Variation für verschiedene Gewebs- und Tierarten recht verschieden. Im allgemeinen konnte festgestellt werden, dass sowohl der Retina als dem Pigmentepithel, in sehr geringem Grade vielleicht auch der vom Pigmentepithel befreiten Chorioidea eine „antihämolytische Wirkung“ zukommt.

Hess und Römer folgern ferner aus ihren Versuchen, dass das Pigmentepithel in seiner Wirkung artspezifisch sei, indem sie angeben, „dass man mit Hilfe von normalem menschlichem Serum in einem Tropfen Meerschweinchenblut oder Taubenblut leicht unterscheiden könne, ob Pigmentepithelmassen, die wir in vitro vor uns haben, einem Schweins- oder Rinderauge entstammen“.

Die Art der Versuche und insbesondere der Mangel an Angaben über die Menge der verwendeten Emulsionen stellt die Richtigkeit der letzten Schlussfolgerung doch in Zweifel. Unsere eigenen Untersuchungen, welche — wie gezeigt werden wird — einen beträchtlichen quantitativen Unterschied in der hemmenden Wirkung von gleichen Uveaemulsionen derselben Tierart erkennen liessen, welche aber anderseits gegen eine Artspezifität der Uveaemulsionen sprechen, lassen diese Zweifel wohl gerechtfertigt erscheinen, oder lassen eine Artspezifität nur für die Zellen, nicht für das Pigment vermuten. Denn es darf nicht unterlassen werden, zu berücksichtigen, dass — wie auch unsere eigenen Versuche zeigen — jeder tierischen Zellart eine gewisse bindende Kraft eigen zu sein scheint. Erst aus dem wesentlichen Überwiegen dieser bindenden Kraft bei einer bestimmten Gewebsart kann eine gewisse Spezifität dieses Bindungsvermögens erschlossen werden.

Wir haben einen einzigen derartigen Versuch wiederholt, der der

Tabelle von Hess und Römer, S. 26, analog angelegt ist und uns gleichzeitig über den Grad der hemmenden Wirkung des Pigmentepithels und der epithellosen Uvea Aufschluss geben sollte. Es zeigte sich Hemmung sowohl mit Epithel, als mit Chorioidea, mit letzterer deutlich schwächer, wobei aber zu bemerken ist, dass die Hemmung erst bei der Grenzdosis der Lösungsfähigkeit des Rinderserums für Meerschweinchenblut deutlich war (Tabelle 1). Später haben wir immer die inaktivierten Sera mit hämolytischen Systemen für Hammelblut untersucht, was aus zahlreichen Gründen viel zweckmässiger ist.

Tabelle 1.

Zusatz von	Meerschweinchenblut 5%	Rinderserum aktiv	Hämolyse	
			nach 1 Stunde	definitiv
<i>R Chor</i> 0,20	1,0	0,10	0	k.
„ 0,10	1,0	0,10	sehr stark	k.
„ 0,20	1,0	0,05	0	schwach
„ 0,10	1,0	0,05	0	„
—	1,0	0,10	k.	k.
—	1,0	0,05	deutlich	fast k.
<i>Pig Ep</i> 0,20	1,0	0,10	0	k.
„ 0,10	1,0	0,10	stark	k.
„ 0,20	1,0	0,05	0	0
„ 0,10	1,0	0,05	0	0

Hemmende Wirkung der Rinderchorioideaemulsion *R Chor* (1 Rinder-Chorioidea-Iris ohne Pigmentepithel : 2 ccm *NaCl*), und des Pigmentepithels von Retina und Iris (1 Auge : 2 ccm *NaCl*) für aktives Rinderserum mit Meerschweinchenblut.

Zu meinen Versuchen mit Uveaemulsion wurden im ganzen 7 Meerschweinchen und 20 Kaninchen verwendet. Die Zahl der Meerschweinchen ist deshalb so gering, weil sie nur zu bestimmten Zwecken — hauptsächlich für den Pfeifferschen Versuch und Opsoninversuche — verwendet wurden, und die ersten Versuche schon gezeigt haben, dass ein einigermaßen verwertbares Resultat bezüglich Immunkörpern im Serum nicht zu erwarten stand.

Zwei Meerschweinchen wurden mit arteigener Uvea intraperitoneal injiziert, und zwar bei jeder Injektion die Emulsion von zwei Meerschweinchenuveae.

Beide gingen an Marasmus ein, und zwar nach der dritten Injektion (Injektionen am 8. XI., 19. XI. und 15. XII. 09, Exitus 22. XII. bzw. 29. XII. 09). Die Sektion ergab, dass das Peritoneum der höchstgradig abgemagerten Tiere frei von jeder Entzündung war, das Netz in grosser Ausdehnung tiefschwarz pigmentiert, Leber atrophisch und von schwarzen Flecken eingenommen, Milz einmal atrophisch, das andere Mal etwas vergrössert und tief dunkel gefärbt. Bakteriologische Untersuchung negativ.

Die histologische Untersuchung des Netzes und der Leber und Milz ergibt einen ganz gleichen Befund, wie er später bei den mit arteigener Uvea injizierten und eingegangenen Kaninchen beschrieben wird.

Weder an diesen, noch an den mit Kaninchenuvea injizierten Meerschweinchen wurden Erscheinungen von Überempfindlichkeit oder Anaphylaxie bei den späteren Injektionen beobachtet.

4 Meerschweinchen wurden mit Kaninchenuvea-Emulsion intraperitoneal injiziert, je eine Uvea pro injectione. Auch diese Tiere magerten zunächst ab, erholten sich jedoch meist wieder, obwohl je eines viermal, eines dreimal, zwei zweimal in Intervallen von 11—17 Tagen, eines dagegen nur einmal injiziert wurde. Nur eines dieser Tiere ging nach der zweiten Injektion ein.

Sektion: Tier hochgradigst abgemagert, in der Bauchhöhle geringe Menge Flüssigkeit, im Netz reichlichst schwarze Pigmentierung, Leber, Milz atrophisch; bakteriologische Untersuchung negativ. Diagnose: Marasmus.

Ein Teil dieser Meerschweinchen wurde zum Pfeifferschen Versuche verwendet. 11—17 Tage post ultimam injectionem wird einem Immun- und einem Normaltiere gleichzeitig eine Kaninchen-Uveaemulsion intraperitoneal injiziert, nach 10, 20, 30 und 60 Minuten mittels steriler Kapillarpipetten Peritonealflüssigkeit aus der Bauchhöhle abgesaugt.

Das Resultat der mehrmals wiederholten Versuche war recht schwer zu beurteilen, da trotz aller Bemühungen die Emulsion nicht immer gleichmässig gewonnen wurde.

Es liess sich aber doch folgendes konstatieren: Im Immuntiere schlägt sich das Pigment unter enormer Leukocytose rascher nieder¹⁾ als im Normaltiere, so dass in den ersten Proben beim Immuntiere wenig, beim Normaltiere viel freies Pigment sich in der Bauchhöhle findet. Bei späterem Abnehmen (30, 60 Minuten, eventuell noch später) erscheint bei beiden Tieren das Pigment verklumpt, im Normaltiere sehr wenig, im Immuntiere reichlichst Leukocyten.

Die mikroskopische Untersuchung der gefärbten Abstriche ergab, dass im Immuntiere eine ausgesprochen lebhaftere Phagocytose bestand. Es waren hier die polynukleären Leukocyten, sowie die spärlicheren Makrophagen reichlichst mit Pigmentkörnchen durchsetzt, während im Normaltiere die, wie gesagt, an und für sich spärlicheren Leukocyten nur sehr geringe Phagocytose zeigten.

Mit den durch Blutentnahme aus der Carotis gewonnenen Immunseris angestellte Opsoninversuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

Durch intraperitoneale Injektion von Bouillon aus der Bauch-

¹⁾ Bei Beurteilung der Leukocytose des Peritonealexsudates darf nicht übersehen werden, dass die Immuntiere bei der Injektion intraperitoneal vorbehandelt waren, was auf die qualitativen wie quantitativen Leukocytenverhältnisse von Einfluss ist.

höhle normaler Meerschweinchen gewonnene, gewaschene Leukocyten wurden mit Uveaemulsion unter Zusatz von physiologischer Kochsalzlösung von aktivem Normalserum und von ebensolchem Immunsrum (von zwei Tieren) zusammengebracht, im Wärmeschranke einwirken gelassen und von 15 zu 15 Minuten mikroskopische Untersuchungen vorgenommen (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2. (Opsoninversuch.)

<i>IS</i>	0,20	Leukocyten	0,50	<i>RUv</i>	0,05	Untersuchung am Objektträger von 15 zu 15 Minuten
"	0,20	"	0,50	<i>MUv</i>	0,05	
"	0,20	"	0,50	<i>KUv</i>	0,05	
<i>NS</i>	0,20	"	0,50	<i>RUv</i>	0,05	
"	0,20	"	0,50	<i>MUv</i>	0,05	
"	0,20	"	0,50	<i>KUv</i>	0,05	

IS = aktives Immunsrum. *NS* = aktives Normalserum. *RUv* = Rinderuveaemulsion. *MUv* = Meerschweinchenuveaemulsion. *KUv* = Kaninchenuveaemulsion. — Die Phagocytose erwies sich mit Immunsrum stärker, doch waren die Unterschiede nicht prägnant genug.

Bezüglich der Phagocytose ergab sich kein Unterschied zwischen den einzelnen Proben, so dass also spezifische Opsonine im Blutserum der Immuntiere nicht sicher nachzuweisen waren. (Diese Versuche betrachte ich aber noch nicht als abgeschlossen, da wir nicht sehr hoch immunisierte Tiere hatten.)

Endlich wurden Komplementbindungsversuche mit Uveaemulsion in grösserer Zahl angestellt. In vielen Versuchen auftretende Komplementoidverstopfung ergab in diesen Versuchen ausserordentlich grosse Variationen. Dieser Umstand, sowie die Schwierigkeit der Blutentnahme (aus der Carotis) und die geringe Menge des jeweils zur Verfügung stehenden Serums liessen es rätlich erscheinen, auf das Meerschweinchen bei den weiteren Versuchen zu verzichten, und beschränkte ich mich daher ausschliesslich auf Versuche an Kaninchen. Die Versuche, insbesondere der Pfeiffersche Versuch, werden aber neuerlich aufgenommen, sobald die Reindarstellung der verschiedenen Pigmentspecies (siehe u. S. 534) vollendet ist.

Die Kaninchenversuche wurden in der Weise angestellt, dass zu jeder Injektion in die Bauchhöhle die Emulsion von anfangs je einem, später je zwei Kaninchenuveae oder je einem Rinderauge verwendet wurde, und die Injektionen jeweilig nach Entnahme von Blut aus der Jugularvene nach 12—20 Tagen wiederholt wurden. In toto wurden 20 Kaninchen immunisiert, die höchste Zahl der an einem Tiere ausgeführten Injektionen betrug 8.

Von den mit arteigener Uvea immunisierten Tieren ging eines am dritten Tage nach der ersten, je eines nach der zweiten, nach der dritten und nach der fünften Injektion ein. Der Befund war ein ganz typischer.

Hochgradige Abmagerung, alle inneren Organe normal, aber (bei den wiederholt injizierten Tieren) die Leber und Milz atrophisch, an Peritoneum und Darmserosa keine Spur bestehender oder abgelaufener Entzündung, jedoch reichliche Pigmentauflagerung auf dem Netz und Darmserosa, ohne Reaktion in der Umgebung. Geringe Menge trüber Flüssigkeit in der Bauchhöhle. Bakteriologisch: steril! Leber, Milz und pigmentierte Partien des Netzes wurden nach Formalinhärtung in Paraffin eingebettet und mikroskopisch untersucht. Kollege Prof. Kretz hatte die Liebenswürdigkeit, bezüglich Milz und Leber folgenden Befund mitzuteilen.

Milzschnitt: Das Gewebe enthält kein körniges Pigment.

Leberschnitt: Am Rande ein ungefähr dreieckiger, von etwas unregelmässig gebautem Lebergewebe umgebener Herd pigmentierten Gewebes von ungefähr $1-1\frac{1}{2}$ mm grösster Dimension, der an zwei Seiten anscheinend durch zellig infiltrierte Kapsel abgegrenzt ist (Nische zwischen einzelnen Lappen). Das Pigment teils feinkörnig und schwärzlich — bis hellgelbbraun, zum Teil auch wie konglobiert, liegt teilweise wohl sicher intracellulär. Das Gewebe ist im allgemeinen ein ziemlich zellreiches Bindegewebe und enthält einzelne riesenzellenartige Bildungen mit gruppierten Kernen an einer Seite des länglichen Leibes, der wechselnd reichlich pigmentiert erscheint. Ungefähr in der Mitte ist eine pigmentfreie Stelle mit Zellen, die etwa den Epitheloidzellen eines Tuberkels sich vergleichen lassen. Die Leberkapsel scheint an einzelnen Stellen von dem pigmentführenden Gewebe durchbrochen, doch bleiben die Leberzellen auch dort ganz frei von jeder körnigen Pigmentierung.

Im Leberparenchym selbst weder an den Leberzellen, noch an den Kapillarwänden oder im zarten interacinösen Bindegewebe körniges Pigment.

Dem Netze bzw. Peritoneum aufgelagerte Pigmentmassen ergaben folgenden Befund: Das Gewebe etwas zellreicher, enthält an der Oberfläche grosse Haufen und Klumpen eines grösstenteils aus jungen Bindegewebszellen bestehenden Gewebes, das reichlichste unregelmässige Einlagerungen von Pigment enthält. Ausgesprochene Infiltration der Umgebung fehlt. Das Pigment gibt nirgends Eisenreaktion. Viele Pigmentkörner sind in die Zellen eingeschlossen, reichliche liegen intercellulär.

Alle injizierten Tiere magerten anfangs rasch ab und nahmen später nur wenig an Körpergewicht zu.

Zwei mit Meerschweinchenuvea injizierte Kaninchen gingen an septischer Peritonitis (wahrscheinlich Darmverletzung) ein.

Von den vier mit Rinderuvea injizierten Tieren gingen zwei an Peritonitis ein, die andern vertrugen die Injektionen (je fünf- und sechsmal) relativ gut, entschieden weitaus besser, unter geringeren toxischen Erscheinungen, als die mit arteigener Uvea behandelten Kaninchen, zumal wenn man die ungleich grössere Quantität der eingespritzten Rinderuvea im Verleiche zu der der zwei Kaninchenaugen in Betracht zieht.

Kurz nach vorläufigem Abschlusse der vorliegenden Untersuchungen ging noch ein sehr hoch immunisiertes Tier XVIII, das fünf Injektionen von je einem Rinderauge intraperitoneal erhalten hatte, 12 Tage nach der letzten Injektion ein. Die Sektion durch Prof. Bail ergab: Kaninchen extrem abgemagert, in der Bauchhöhle keine Entzündungserscheinungen, Pigment

in anscheinend reaktionslosen Flecken am Peritoneum parietale in der Nähe der Blase, in der Serosa des Darms und Mesenterium, im Netze, das sehr zahlreiche Cestoden enthält. Leber derb, vom Aussehen einer Stauungsleber. Milz anfangs gar nicht aufzufinden, zu einem kleinen bläulichen Streifen atrophiert. Herz in beiden Kammern hochgradig hypertrophiert!

Die mikroskopische Untersuchung der Organe ergibt, wie ich einer freundlichen Mitteilung des Kollegen Prof. Kretz entnehme, folgendes.

Im Netz, das zahlreiche, bis über hanfkorn-grosse Cysten von Parasiten enthält, unregelmässige kleine, fast schwarz pigmentierte Verdickungen. Mikr. das Gewebe ziemlich zellreich, enthält in ungleichmässiger Verteilung fast schwarze Pigmentkörnchenhaufen, ohne stärkere Infiltration ihrer Umgebung; feinere Pigmentkörnchen liegen im Zwischengewebe sicher intracellulär, während die grossen konglobierten Haufen vom Gewebe umschlossen erscheinen. Riesenzellenartige Bildungen fehlen.

In der Leber finden sich im mikroskopisch von jeder körnigen Pigmentierung freien Gewebe herdförmig scharf demarkierte Nekrosen, die an Grösse einen halben Acinus erreichen können. Da dieselben Bildungen sich auch in Kaninchenlebern finden, die von Tieren stammen, die nicht mit Uvea injiziert wurden, ist die Veränderung wohl nicht auf die vorangegangene Uveainjektion zu beziehen.

Die serologischen Untersuchungen sollten feststellen: 1. ob durch intraperitoneale Injektion von Uveaemulsion artgleicher oder artfremder Tiere im Serum des Immuntieres Reaktionsprodukte erzeugt werden, ob also die Uvea eine antigene Wirkung besitzt. 2. Nach Bejahung letzterer Frage war es Aufgabe, festzustellen, welches die Eigenschaften der gebildeten Immunkörper seien, insbesondere ob sie Organ- oder Artspezifität besitzen. Endlich 3., welchen Bestandteilen der Uveaemulsion die antigene Wirkung zukommt.

Das Studium der beiden ersten Fragen nahm naturgemäss den grössten Teil unserer Arbeit in Anspruch.

Wie ich schon bei der Besprechung der Meerschweinchenexperimente angegeben, war eine Opsoninwirkung im Serum des Immuntieres nicht sicher nachweisbar, dagegen erwies der Pfeiffersche Versuch eine geänderte Reaktionsfähigkeit der Immuntiere gegenüber intraperitoneal eingebrachter Uveaemulsion, welche auf das Vorhandensein von Immunkörpern gegen Uvea schliessen liessen.

Zur genaueren Feststellung der letzteren wurde, da auch Agglutinationserscheinungen nicht bestimmt nachgewiesen werden konnten, später ausschliesslich die Komplementbindungsreaktion angewendet, und in diesen Versuchen erschöpfte sich dann unsere weitere Arbeit.

Das jeweilig am 12.—15. Tage post ultimam injectionem dem Tiere entnommene Serum wurde bei 56° inaktiviert, in variabler Menge mit Uveaemulsion durch 15 Minuten bis 1 Stunde im Wärm-

schranke binden gelassen, dann Meerschweinchenkomplement zugesetzt, neuerlich durch eine Stunde binden bei 37°, Zusatz von in den einzelnen Versuchen verschieden stark sensibilisierten Hammelblutkörperchen und Beobachtung der Hämolyse nach verschieden langem Verweilen im Wärmeschranke.

Der Anfang der serologischen Untersuchungen war ein wahrer Leidensweg, reich an Hoffnungen wie an Enttäuschungen. Erst nachdem wir die hauptsächlichste Fehlerquelle nach etwa dreimonatlichen Versuchen aufgefunden, konnten die Untersuchungen auf einwandfreier Basis fortgesetzt und zu einem vorläufigen Abschluss gebracht werden. Es ist natürlich überflüssig, ausführlich die anfänglichen, später als Täuschung erkannten Ergebnisse zahlloser Versuche wiederzugeben; um aber Nachuntersucher vor demselben Schicksal zu bewahren, muss ich kurz darauf eingehen.

Die erste Schwierigkeit bestand in der Herstellung möglichst gleichwertiger Uveaemulsionen zur Verwendung im Komplementbindungsversuche, insbesondere bei Verwendung verschiedenartiger Tieraugen. Anfänglich wurde die Emulsion nach der Dichte und Färbung, also nach dem Augenmasse hergestellt. Um genauere Resultate zu erhalten, wurde dann die zur Emulsion verwendete Uvea im Vakuum getrocknet¹⁾, gewogen und prozentarisch genaue Emulsionen von den feucht zerriebenen Organen angefertigt. Die Emulsionen waren natürlich auch dann noch nicht völlig identisch an Pigmentgehalt, bzw. Gehalt an fester Substanz, da ja von den kleinen Tieren die gesamte Uvea (samt elastischen Membranen usw.), von den grösseren nur die stärksten pigmenthaltigen Teile (siehe oben S. 512) verarbeitet wurden, um so weniger, als die Emulsion nie eine ganz gleichmässige war und rasch sedimentierte. Aber es kommt diese Art der Ausführung doch dem Ideal schon viel näher als die schätzungsweise Verdünnung. Auf Grund dieser Versuche wurde eine Rinder- und Pferdeuvea später in je 15 ccm, eine Schweinsuvea in 7,5 ccm, eine Kaninchenuvea in 1,5 ccm, eine Meerschweinchenuvea in 1 ccm *NaCl* verrieben, wodurch ungefähr 3% Emulsionen erzielt wurden. Eine weitere grosse Schwierigkeit besteht darin, dass die Uveaemulsionen verschiedener Augenarten derselben Species in ihrem Bindungsvermögen ziemlich stark variieren, insbesondere auch in Verbindung mit Normalserum. Bei gleicher Art der Bereitung der Emulsion hemmt gewöhnlich die Emulsion an und für sich (mit *NaCl*) nicht oder nur in sehr grosser Dosis. Mit Normalserum besteht fast immer keine oder nur eine sehr geringfügige Hemmung in grösseren Dosen Serum und Emulsion. So war es daher natürlich, dass bei allen Versuchen mit Immuneris immer eine Austitrierung der hemmenden Wirkung der Emulsion, sowie des Serums vorausgeschickt oder angeschlossen werden musste. Bezüglich der verwendeten Normalsera möchte ich bemerken,

¹⁾ Herrn Kollegen Pohl, welcher die betreffenden Manipulationen in seinem Institute nach dem Verfahren von Wiechowsky vornehmen liess, danke ich hierfür auch an dieser Stelle.

dass die Farbe der Kaninchen, von denen das Serum stammte, bzw. die Pigmentierung derselben keinen Einfluss auf die eventuell hemmende Wirkung hatte. Allerdings standen mir albinotische Kaninchen nicht zur Verfügung.

Die ausserordentliche Schwierigkeit der Bestimmung des Hämolysegrades in den durch das Pigment geschwärzten Aufschwemmungen machte es schliesslich notwendig, nach dem Zusatz des Komplementes und Bindung desselben im Brutschranke das Antigen durch Zentrifugieren zu entfernen. — Vorerst wollte es der Zufall, dass bei einer Reihe von Versuchen mit Immuns serum von Tieren, welche mit artgleicher Uveaemulsion intraperitoneal injiziert worden waren („Isoimmuns serum“), komplette Hämolyse auftrat, während der Parallelversuch mit Normalserum¹⁾ mehr oder weniger komplette Hemmung ergab (Tabelle 3). Eine sehr grosse Zahl weitgehendster Versuche wurde angestellt, die Natur dieses die Hämolyse befördernden, bzw. die damals vermutete konstante hemmende Wirkung des Normalserums + Uveaemulsion aufhebenden Körperes festzustellen, Versuche, welche durch die Inkonzanz ihrer Ergebnisse unsere Geduld fast zu erschöpfen drohten. Bei weiteren Versuchen mit höherwertigen, gleichartigen Immuns eris und insbesondere auch mit Immuns eris von mit Rinderuvea immunisierten Kaninchen sowie einer schwächeren Uveaemulsion ergab sich wieder mitunter das ganz entgegengesetzte Verhalten: Hemmung des Immuns eris + Uvea, keine Hemmung des Normalserums + Uvea. Zum Teile war — wie es sich später herausstellte und wie es schon angeführt wurde — die an und für sich bestehende, aber verschiedenen grosse hemmende Wirkung der Uveaemulsion Ursache dieser Schwankungen.

Tabelle 3.

Serum 56°	Kaninchenuvea- emulsion ¹⁾		Hämolyse
Iso- <i>IS</i> XIV 0,10	0,05	1/4 Stunde binden, 0,10 Kom- plement, 7 ccm 5% Ham- melblut, 2 1/2 facht sensibi- listert.	k.
„ 0,10	0,10		k.
„ 0,10	0,20		k.
<i>NS</i> 0,05	0,20		0
„ 0,10	0,20		0
„ 0,20	0,20		0
<i>IS</i> XIV 0,10	—		k.
<i>NS</i> 0,10	—		k.
<i>NaCl</i> 0,10	0,05		schwach
„ 0,10	0,10		0
„ 0,10	0,20	0	
„ Komplementprobe			k.

Kaninchenuvea hemmt in allen grösseren Dosen allein und mit *NS*, mit Isoimmuns serum nicht — fehlerhafter Versuch!

Aber speziell bei den bald angestellten zahlreichen Versuchen, die sofort nachgewiesene, stark hemmende Wirkung der Rinderuvea-Immuns era mit Rinderuveaemulsion durch die vermutete lösungsbefördernde Wirkung

¹⁾ 2 Kaninchenuveae: 1,5 ccm *NaCl*, also sehr konzentriert!

der Kaninchenuvea-Immunsera (Isoimmunsera) aufzuheben, was zuerst gelang, dann aber bald aus erst später erkannten Gründen (vermehrter Gehalt an hemmenden Antikörpern im Isoimmunserum!) wieder versagte, war eine Konstanz der Resultate nicht zu erzielen. Unzählige Varianten (Binden des Rindsuvea-Immunsersums mit Rinderuveaemulsion [„*RÜv*“], bzw. andern Uveaemulsionen, dann Zusatz des Isoimmunserums; Umkehrung des Versuches; gegenseitige Einwirkung der beiden Sera und nachträglicher Zusatz der *RÜv*; Abzentrifugieren des Sedimentes nach vorausgehender Bindung in den vorhergenannten Varianten usw. usw.) führten schliesslich die Annahme, die wir zuerst gemacht, ad absurdum, und lehrten uns endlich den Fehler kennen, der uns genarrt.

Der Hauptfaktor für die Täuschung und Fälschung der Versuchsergebnisse wurde darin gefunden, dass die Sera des normalen Kaninchens wie der Immuntiere einen in seinem Titer ausserordentlich variablen Gehalt an spezifischen Amboceptoren für Hammelblut besitzen. So ergab z. B. ein Versuch mit Immunseris (Tabelle 4), wie stark manche Sera hämolytisch wirken. Es zeigte sich hierbei aber, dass die Immunisierung mit Uveaemulsion an diesen Schwankungen unschuldig ist. Die Fehlerquellen wurden dadurch ausgeschaltet, dass der Gehalt an hämolytischen Amboceptoren zuerst festgestellt und jedesmal dieselben durch Versetzen des inaktivierten Serums mit der doppelten, hierzu notwendigen Menge Hammelblut völlig erschöpft wurden, bevor wir weitere Komplementbindungsversuche anstellten. Gewöhnlich wurden auf je 1 ccm

Tabelle 4.

Serum 56°	Komplement 1:10	Hammelblut 5%	Immunsera				Normalserum
			XIV	XVII	XVIII	XX	
0,10	1,0	1,0	k.	k.	k.	k.	k.
0,05	1,0	1,0	k.	k.	k.	k.	k.
0,01	1,0	1,0	k.	fast k.	k.	fast k.	fast k.
0,005	1,0	1,0	fast k.	stark	fast k.	„	stark

Komplement + Hammelblut.

Hämolytischer Titer für Hammelblut von Seris ex 21. I. 1910.

Tabelle 5.

Serummenge 56°	5% Hammelblut	Meerschweinchenkomplement 1:10	XIV	XV	XVII	XVIII
0,20	1,0	1,0	0	0	0	0
—	1,0	1,0	0	0	0	0

Die Sera sind inaktiviert und mit Hammelblut ihrer hämolytischen Amboceptoren für Hammelblut beraubt.

Serum die gewaschenen Blutkörperchen von 0,5 ccm defibriniertem, konzentrierten Hammelblut verwendet. Das Fehlen für Hammelblut spezifischer Amboceptoren in dem so erschöpften Serum wurde noch wiederholt neuerlich festgestellt (z. B. Tabelle 5).

Die folgenden Berichte beziehen sich nunmehr fast ausschliesslich auf diese erschöpften Sera, und nun konnten die weiteren Untersuchungen in relativ kurzer Zeit unter Erzielung eindeutiger Resultate zu Ende geführt werden. Entscheidend war dann sofort ein Versuch, der mehrmals wiederholt wohl die hemmende, nicht aber eine Hemmung aufhebende Wirkung aller Immunsera mit Bestimmtheit erwies (Tabelle 6).

Tabelle 6.

Serum 56°	Antigen		Zusatz		Hämolyse	
					nach 1 Stde.	definitiv
<i>IS</i> XX 0,05	<i>R Uv</i> 0,20	Eine Stunde binden	<i>IS</i> XIV 0,20	$\frac{1}{4}$ Stunde binden, Komplement 0,10, 1 Stunde binden, 1 ccm 5% Hammelblut, 2fach sensiblistiert	0	0
"	"		" 0,10		0	0
"	"		" 0,05		0	0
"	"		<i>IS</i> XVII 0,20		0	0
"	"		" 0,10		0	0
"	"		" 0,05		0	0
"	"		<i>N</i> S 0,20		0	0
"	"		" 0,10		0	0
"	"		<i>NaCl</i> 0,20		0	0
<i>IS</i> XVIII 0,05	"		<i>IS</i> XIV 0,20		0	0
"	"		" 0,10		0	0
"	"		" 0,05		0	0
"	"		<i>IS</i> XVII 0,20		0	0
"	"		" 0,10		0	0
"	"		" 0,05		0	0
"	"	<i>N</i> S 0,20	0	0		
"	"	" 0,10	0	0		
"	"	<i>NaCl</i> 0,20	0	0		
<i>IS</i> XIV 0,20	<i>R Uv</i> 0,20		—	Spur stark	fast k.	
<i>IS</i> XVII 0,20	"		—	k.	k.	
<i>IS</i> XIV 0,20	—		—	k.	k.	
<i>IS</i> XVII 0,20	—		—	k.	k.	
<i>N</i> S 0,20	<i>R Uv</i> 0,20		—	k.	k.	
	Komplementprobe			k.	k.	

IS XX ist von einem *R Uv*-Immuntier. *IS* XIV und XVII sind von zwei *K Uv*-Immuntieren.

Ich möchte hier ein für allemal die Abkürzungen der Bezeichnungen in den Tabellen anführen, so dass in den Beschreibungen zu den Tabellen nur Abweichungen von dem Typus angeschlossen werden sollen.

Die Tiere XVIII und XX sind die beiden höchst immunisierten, mit Rinderuveaemulsion intraperitoneal injizierten Kaninchen, die zuletzt schon 7 bzw. 5 Injektionen erhalten hatten.

Die Tiere XIV und XVII sind Isoimmuntiere der höchsten Immunsierung, welche zuletzt 7 bzw. 6 intraperitoneale Injektionen von Kaninchenuvea erhalten hatten, und zwar meist je 2 Uveae.

NS ist Normalserum von vorher niemals zu irgendeinem Versuche verwendeten Kaninchen.

Komplement ist immer frisches Meerschweinchenkomplement.

R Uv ist Rinderuveaemulsion, deren Bereitung oben S. 512 angegeben ist.

K Uv ist Kaninchenuveaemulsion.

S Uv ist Schweineuveaemulsion.

Pf Uv ist Pferdeuveaemulsion.

Die erste und wichtigste Tatsache, welche sich aus den serologischen Untersuchungen ergab, war die aprioristisch erwartete Tatsache, dass in dem mit artfremder Uveaemulsion intraperitoneal injizierten Kaninchen Antikörper gegen Uveaemulsion auftreten, welche im Komplementbindungsversuche unter Verwendung von Uveaemulsion als Antigen durch Komplementbindung die Hämolyse verhindern; z. B. siehe Tabelle 7.

Tabelle 7.

Serum	56°	<i>R Uv</i>		Komplement 1:10		Hammelblut 5% 2 $\frac{1}{3}$ fach sensib.	Resultat nach 1 Stunde
XVIII	0,10	0,20	36° 1 Stunde binden.	1,0	36° 1 Stunde binden.	1,0	0
"	0,05	0,20		1,0		1,0	0
"	0,01	0,20		1,0		1,0	k.
"	0,005	0,20		1,0		1,0	k.
"	0,10	—		1,0		1,0	k.
XX	0,10	0,20		1,0		1,0	0
"	0,05	0,20		1,0		1,0	0
"	0,01	0,20		1,0		1,0	fast k.
"	0,005	0,20		1,0		1,0	k.
"	0,10	—		1,0		1,0	k.
Normalserum							
	0,10	0,20	1 Stunde binden.	1,0	1 Stunde binden.	1,0	k.
	—	0,20		1,0		1,0	k.

Die Rindersuveaemulsion an sich hemmt nicht, ebensowenig mit Normalserum; mit Immunsersum XVIII nur in den 2 höchsten Serumdosen, mit Immunsersum XX in den 2 höchsten Dosen vollkommen, in der dritthöchsten noch unvollkommen.

Nun waren die Eigenschaften des hemmenden Immunkörpers festzustellen. Zuerst wurde erprobt, ob er sich an das Antigen binden lasse. Hierzu wurde ein Vorversuch in folgender Weise angestellt. Je 3 ccm *R Uv* wurde mit 1 ccm *IS XVIII* und *XX* durch eine Stunde im Wärmeschranke gebunden, abzentrifugiert, das Sediment gewaschen und in je 4 ccm *NaCl* aufgenommen: genannt *R Uv XVIII*

und *R Uv* XX. Die Emulsionen wurden an sich (mit *NaCl*) und mit *NS* zum hämolytischen Versuch verwendet. Wie Tabelle 8 zeigt, ist der hemmende Körper des Immunserums ans Sediment gebunden gewesen; der Vergleich mit frisch gebundener *R Uv* + *IS* in Tabelle 9, ohne vorausgegangenes Abzentrifugieren, erweist gleich grosse Hemmung in beiden Fällen. Die Sera an und für sich hemmen ebenso wenig, wie die Uvea an sich. Ein Versuch, in dem parallel frische *R Uv* und durch mehrere Stunden bei 60° digerierte *R Uv* (= *R Uv* 60°), sowie der Abguss von durch mehrere Stunden bei 60° digerierter *R Uv* und das zentrifugierte Sediment davon mit Immunseris, Normalserum und für sich

Tabelle 8.

<i>R Uv</i> XX	0,40	+ <i>NS</i>	0,10	1/4 Stunde binden,	0
"	0,40	+ <i>NaCl</i>	0,10	0,1 Komplement,	0
<i>R Uv</i> XVII	0,40	+ <i>NS</i>	0,10	1 Stunde binden,	0
"	0,40	+ <i>NaCl</i>	0,10	1 ccm 5% Ham-	0
—	—	<i>NS</i>	0,10	melblut, 2 1/2 fach	k.
—	—	<i>NaCl</i>	0,10	sensibilisiert	k.

Mit *IS* gebundene, abzentrifugierte *R Uv*. Kontrollen bei Tabelle 9.

Tabelle 9.

<i>IS</i> XX	0,10	<i>R Uv</i>	0,30	wie Tabelle 6	0
"	0,10	—	—		k.
<i>IS</i> XVIII	0,10	<i>R Uv</i>	0,30		0
"	0,10	—	—		k.
<i>NS</i>	0,10	<i>R Uv</i>	0,30		fast k.
<i>NaCl</i>	0,10	"	"		k.

Tabelle 8 und 9 zeigen, dass der hemmende Körper auf die Festsubstanz des *R Uv* verankert ist.

allein verwendet wurden, ist in Tabelle 10 wiedergegeben. Es muss hierzu bemerkt werden, dass eine gleichmässige Verteilung der *R Uv* 60° sowohl an sich, als des durch Zentrifugieren gewonnenen Sedimentes (in *NaCl* aufgenommen) unmöglich war, da die Festsubstanz sich in Klümpchen ballte. In diesem Versuche hemmte die *R Uv* (das hämolytische System war sehr schwach!) schon an sich etwas, sowie mit *NS*, aber die Hemmung ist unbedeutend und mehr eine zeitliche; der nicht klare Abguss (unvollständige Zentrifugierung) der *R Uv* hemmt an und für sich nicht, mit dem schwachen Immunserum wenig, stark mit dem stärkeren. Durch die lange Erhitzung auf 60° ist die Eigenhemmung der *R Uv* in bemerkenswerter Weise erhöht worden, wie dies auch an andern Antigenen vorzukommen pflegt. (Eigenhemmung *R Uv* 60° wenig“, *R Uv* „f. k.“.)

Tabelle 10.

Serum 56°		Antigen			Hämolyse
<i>IS</i> XX	0,10	<i>RUv</i>	0,30	1 Stunde binden, 0,075 Komplement, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 1 ¹ / ₃ fach sensibilisiert	0
"	0,05	"	0,30		0
"	0,01	"	0,30		0
"	0,10	<i>RÜv</i> 60°	0,30		0
"	0,05	"	0,30		0
"	0,01	"	0,30		0
"	0,10	<i>RUv</i> A	0,30		0
"	0,05	"	0,30		0
"	0,01	"	0,30		Spur
"	0,10	<i>RÜv</i> S	0,30		0
"	0,05	"	0,30		0
"	0,01	"	0,30		0
"	0,10	"	—		k.
<i>IS</i> XVIII	0,10	<i>RUv</i>	0,30		0
"	0,05	"	0,30		0
"	0,10	<i>RÜv</i> 60°	0,30		0
"	0,05	"	0,30		0
"	0,10	<i>RÜv</i> A	0,30		Spur
"	0,05	"	0,30		stark
"	0,10	<i>RÜv</i> S	0,30		0
"	0,05	"	0,30		0
"	0,10	"	—		k.
<i>NS</i>	0,10	<i>RUv</i>	0,30		fast k.
"	0,10	<i>RÜv</i> 60°	0,30		stark
"	0,10	<i>RUv</i> A	0,30	k.	
"	0,10	<i>RÜv</i> S	0,30	wenig	
"	0,10	"	—	k.	
—		<i>RUv</i>	0,30	fast k.	
—		<i>RÜv</i> 60°	0,30	wenig	
—		<i>RUv</i> A	0,30	k.	
—		<i>RÜv</i> S	0,30	Spur	
				k.	

Komplementprobe

RUv = Rinderuveaemulsion; *RÜv* 60° = dasselbe, mehrere Stunden bei 60° digeriert. *RUv* A = der nicht ganz klare Abguss nach Zentrifugieren der digerierten Uveaemulsion auf der Wasserzentrifuge, davon *RÜv* S = das Sediment, in gleicher Menge *NaCl* aufgenommen.

Auf Grund dieser Versuche konnte gefolgert werden, dass der Uvea-Immunkörper im Serum der Immuntiere die Eigenschaften eines Amboceptors besitzt, und dass derselbe sich beim Komplementbindungsversuche auf die Festsubstanz der Uveaemulsion verankert.

Die Menge dieser Antikörper im Serum ist bei verschiedenen Immuntieren verschieden gross, wird durch jede Wiederholung der intraperitonealen Injektion in gewissen Grenzen gesteigert. Einen Vergleich über die numerischen Verhältnisse ermöglicht die Tabelle 7 (wenig hoch immunisierte Tiere!).

Die zweite wichtigste Frage war die, ob diese Amboceptoren gegen Uveaemulsion organspezifisch seien. Es wurden daher zuerst

nach dem Augenmasse, dann prozentarisch gleich starke Emulsionen von Rindermilz und Rinderleber, sowie Rinder-Retina (jeweilig aus im Vakuum getrockneten und genau gewogenen Organen) hergestellt, und das Bindungsvermögen der einzelnen Emulsionen mit Immuns serum, bzw. Normalserum und Kochsalzlösung geprüft. Tabelle 11 und 12 zeigen, dass die Leber, weit weniger die Milz, mit den Immuns eris Hemmungen ergeben. Allerdings ist die Leberemulsion, sowie auch die Milz, schon an sich und in Verbindung mit *NS* im stande, Komplemente zu absorbieren, aber der Unterschied gegen die Hemmung mit Immuns eris ist auffällig. Der Versuch wurde oft genug wiederholt und in verschiedener Weise variiert, so dass das Ergebnis ein absolut eindeutiges ist. Die jeweilige Kontrolle mit Rinderserum als Antigen ergab vollständiges Ausbleiben der Hemmung.

Tabelle 13 gibt einen Parallelversuch der hemmenden Wirkung des schwächeren Immuns erum XVIII mit *RÜv* und Rinderretina, in dem die letztere nur mit Immuns erum, und da schwächer hemmt,

Tabelle 11.

Serum 0,10	Antigen		Resultat
<i>IS XX</i>	<i>RUv</i> 0,20	1/4 Stunde binden, dann Komplement 0,10 zugesetzt, 1 Stunde binden, dann 1 cem Hammelblut, 5 ^o / ₆ , 2 ¹ / ₂ fach sensibilisiert zugesetzt	0
"	" 0,10		Spur
"	" 0,05		stark
"	Leber 0,20		0
"	" 0,10		Spur
"	" 0,05		deutlich
"	Milz 0,20		Spur
"	" 0,10		deutlich
"	" 0,05		fast k.
"	<i>RS</i> 0,20		k.
"	" 0,10		k.
"	" 0,05		k.
Normalserum	<i>RÜv</i> 0,20		k.
"	" 0,10		k.
"	" 0,05		k.
"	Leber 0,20		deutlich
"	" 0,10		fast k.
"	" 0,05		k.
"	Milz 0,20		0
"	" 0,10		stark
"	" 0,05	k.	
"	<i>RS</i> 0,20	k.	
"	" 0,10	k.	
"	" 0,05	k.	
	Komplementprobe		k.

RS ist Rinderserum 56%. Die Organemulsionen nach Augenmass gleich konzentriert. Die Milz und Leber hemmen an sich (bzw. mit Normalserum), die Leber stärker mit Immuns erum; das Immuns erum hemmt nicht mit Rinderserum, wenig mit Milz, stark mit Rinderuveal emulsion, etwas stärker mit Leber. Rinderserum mit Normalserum hemmt nicht.

als *RUv*. Die Wiederholung des Versuches mit dem höchstwertigen Immunserum *XX*, und prozentarisch genauen Emulsionen gibt (in Tab. 14) ein analoges Resultat, und zugleich den Vergleich der hemmenden Wirkung der ganzen „Uvea“ (+ Pig.-Epithel) und der des gesamten Pigmentepithels beraubten Chorioidea. Alle Organe hemmen etwas an sich, Leber-Retina stärker als Uvea und Chorioidea, welche letztere ungefähr gleich an sich hemmen, vollkommen aber mit *IS*. Zu bemerken ist, dass absichtlich ein schwaches hämolytisches System verwendet wurde, um auch geringste Grade der Hemmung aufzufinden. — Insbesondere der Vergleich der Organ-Hemmung mit der des Rinderserums zeigt, dass die festen Bestandteile der Emulsion im Komplementbindungsversuche hemmen, und dass die Bindung durch

Tabelle 12.

Serum		Antigen			Hämolyse	
					nach 1 Stde.	definitiv
<i>IS XX</i>	0,10	<i>RUv</i>	0,10	1/4 Stunde binden, 0,10 Komplement, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 2fach sensibilisiert.	0	0
„	0,10	„	0,05		0	0
„	0,10	„	0,01		0	0
„	0,10	Milz	0,10		0	0
„	0,10	„	0,05		0	deutlich
„	0,10	„	0,01		deutlich	fast k.
„	0,10	Leber	0,10		0	0
„	0,10	„	0,05		0	0
„	0,10	„	0,01		0	0
<i>IS XVIII</i>	0,10	<i>RUv</i>	0,10		0	0
„	0,10	„	0,05		0	0
„	0,10	„	0,01		0	0
„	0,10	Milz	0,10		0	stark
„	0,10	„	0,05		deutlich	fast k.
„	0,10	„	0,01		stark	„
„	0,10	Leber	0,10		0	0
„	0,10	„	0,05		0	0
„	0,10	„	0,01		0	0
—	—	<i>RUv</i>	0,10		k.	
—	—	Milz	0,10		k.	
—	—	„	0,05	k.		
—	—	Leber	0,10	k.		
—	—	„	0,05	k.		
<i>NS</i>	0,10	<i>RUv</i>	0,10	deutlich	k.	
„	0,10	„	0,05	„	k.	
„	0,10	„	0,01	k.	k.	
„	0,10	Milz	0,10	0	stark	
„	0,10	„	0,05	deutlich	fast k.	
„	0,10	„	0,01	stark	k.	
„	0,10	Leber	0,10	0	deutlich	
„	0,10	„	0,05	deutlich	fast k.	
„	0,10	„	0,01	stark	k.	

Leber hemmt also ungefähr ebenso stark mit den Immunseris, wie *RUv*, Milz viel weniger, aber Leber und Milz hemmen auch schon mit Normalserum in geringem Grade.

Uveaemulsion nicht als eine absolut spezifische anzusehen ist, wiewohl sie der der Organemulsionen vielfach überlegen ist.

Zum weiteren Studium dieser Frage wurden alkoholische Extrakte aus Leber und Uvea mit Immunserum, Normalserum usw. versucht (Tab. 15). Es ergab sich absolut eindeutig, dass die hemmende Substanz der Uvea und der Organe nicht alkohol-löslich ist.

Tabelle 13.

Antigen	Serum 56°	Hämolyse			
		30 Min.	definitiv		
<i>R Nh</i>	0,30	<i>IS XVIII</i>	0,05	deutlich	fast k.
"	0,30	"	0,10	"	"
"	0,30	"	0,20	"	stark
"	0,30	<i>NS</i>	0,05	k.	k.
"	0,30	"	0,20	fast k.	k.
"	0,30	<i>NaCl</i>	0,20	stark	k.
—	—	<i>IS XVIII</i>	0,20	k.	k.
—	—	<i>NS</i>	0,20	k.	k.
<i>RUv</i>	0,30	<i>IS XVIII</i>	0,05	0	0
"	0,30	"	0,10	0	0
"	0,30	"	0,20	0	0
"	0,30	<i>NS</i>	0,05	fast k.	k.
"	0,30	"	0,20	stark	k.
"	0,30	<i>NaCl</i>	0,20	fast k.	k.

Komplementprobe
R Nh = 2 Rindernetzhäute: 20 ccm *NaCl*.

Tabelle 14.

Serum 56°	Antigen	Hämolyse			
		nach 1/2 Stde.	definitiv		
<i>IS XX</i>	0,10	Leber	0,10	0	0
"	0,10	"	0,05	0	0
"	0,10	Retina	0,10	0	0
"	0,10	"	0,05	0	0
"	0,10	<i>R Uv</i>	0,10	0	0
"	0,10	"	0,05	0	0
"	0,10	<i>R Chor</i>	0,10	0	0
"	0,10	"	0,05	0	0
"	0,10	<i>RS</i>	0,10	stark	k.
—	—	Leber	0,10	"	stark
—	—	Retina	0,10	"	"
—	—	<i>RUv</i>	0,10	"	fast k.
—	—	<i>R Chor</i>	0,10	"	"
—	—	<i>RS</i>	0,10	"	"

Komplementprobe

Dieser Versuch über die Organspezifität ist angestellt zur Zeit des höchsten Wertes des *IS* an Antikörpern. „*Chor*“ ist Uvea ohne Pigmentepithel. Mit dem sehr schwachen hämolytischen System hemmen alle Organe + *IS XX* gleich stark, an sich aber auch schon beträchtlich. Die Antigene sind aus getrockneten Organen, 3% hergestellt. *RS* ist inaktives Rinderserum.

Auf die Frage: Hemmen die Zellen oder das Pigment in der Uveaemulsion? geben die weiter unten angeführten Versuche, welche allerdings keineswegs abgeschlossen sind, Antwort.

Tabelle 15.

Serum 56°		Antigen		Hämolyse		
<i>R Uv</i> -extr.	1,—	<i>IS XVIII</i>	0,20	$\frac{1}{4}$ Stunde binden, 0,1 Komplement zugesetzt, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 4fach sensibilisiert	} k.	
"	1,—	"	0,10			
"	1,—	"	0,05			
"	1,—	<i>NS</i>	0,20			
"	1,—	"	0,10			
"	1,—	"	0,05			
Leberextr.	1,—	<i>IS XVIII</i>	0,20			
"	1,—	"	0,10			
"	1,—	"	0,05			
"	1,—	<i>NS</i>	0,20			
"	1,—	"	0,10			
"	1,—	"	0,05			
"	0,50	<i>IS XVIII</i>	0,20			
"	0,50	"	0,10			
"	0,50	"	0,05			
"	0,50	<i>NS</i>	0,20			
"	0,50	"	0,10			
"	0,50	"	0,05			
<i>R Uv</i> -extr.	1,—	—	—			
Leberextr.	1,—	—	—			
"	0,50	—	—			
—	—	<i>IS XVIII</i>	0,20			
—	—	<i>NS</i>	0,20			

R Uv extr. ist 1 Rinderuvea (1,8 g) in 10 cem absolut. Alkohol bei 60° digeriert. Leberextr. ist genau gleich stark wie der Uveaextrakt und gleich bereitet. Wiederholung und Erweiterung des Versuches s. Tabelle 20.

Tabelle 16.

Serum 56°		Antigen		Hämolyse		
				nach $\frac{1}{2}$ St.	nach $\frac{3}{4}$ St.	definitiv
<i>IS XX</i>	0,10	<i>R Uv</i>	0,30	0	0	0
<i>NS</i>	0,10	"	0,30	0	0	wenig
<i>NaCl</i>	0,10	"	0,30	0	?	deutlich
<i>IS XX</i>	0,10	<i>S Uv</i>	0,30	0	0	0
<i>NS</i>	0,10	"	0,30	stark	k.	k.
<i>NaCl</i>	0,10	"	0,30	"	k.	k.
<i>IS XX</i>	0,10	<i>Pf Uv</i>	0,30	0	0	0
<i>NS</i>	0,10	"	0,30	0	0	0
<i>NaCl</i>	0,10	"	0,30	Spur	deutlich	fast k.
<i>IS XX</i>	0,10	—	—	fast k.	k.	k.
<i>NS</i>	0,10	—	—	k.	k.	k.
Komplementprobe				k.	k.	k.

Das Immunserum XX hemmt mit allen drei Uveaemulsionen vollkommen, das Normalserum mit *S Uv* am wenigsten (nur verzögernd), mit *Pf Uv* stärker als mit *R Uv*. An sich hemmt am stärksten *R Uv*, am wenigsten *S Uv*. Die Sera sind nicht der hämolytischen Amboceptoren für Hammelblut beraubt!

Die weitere wichtige Frage, ob die Uveaemulsion, bzw. die durch ihre Injektion im Tiere gebildeten Antikörper artspezifisch seien, wurde durch eine grosse Reihe von Versuchen entschieden. So wurde z. B. im Versuch Tabelle 16 Rinds-, Schweins- und Pferde-Uveaemulsion verglichen, in Tabelle 17 Rinds-, Pferd- und Kaninchen-Uvea. In Tabelle 16 zeigt sich, ebenso wie in Tabelle 17, dass alle Uveaemulsionen mit den Immuneris hemmen, im allgemeinen in ungefähr gleichem Grade, wenn man (wie dies ja in verschiedenen Wiederholungen geprüft wurde) die Schwierigkeit der gleichmässigen Verteilung der Emulsionen berücksichtigt; mit Normalserum hemmen in Tabelle 16 *RUv* und *PfUv* (erstere auch schon an sich!), in Tabelle 17 nur *PfUv*, keine der Uveaemulsionen an sich.

Es zeigte sich also, dass eine strenge Artspezifität nicht

Tabelle 17.

Serum 56°		Antigen		Hämolyse		
				1 Stunde	2 Stunden	definitiv
<i>IS XX</i>	0,10	<i>RUv</i>	0,10	0	0	0
	0,10	"	0,05	0	0	0
"	0,10	"	0,01	0	0	Spur
"	0,10	<i>PfUv</i>	0,10	0	0	0
"	0,10	"	0,05	0	0	0
"	0,10	"	0,01	0	0	Spur
"	0,10	<i>KUv</i>	0,10	0	0	"
"	0,10	"	0,05	0	?	mässig
"	0,10	"	0,01	deutlich	stark	stark
<i>IS XVIII</i>	0,10	<i>RUv</i>	0,10	0	0	0
	0,10	"	0,05	0	0	0
"	0,10	"	0,01	0	0	0
"	0,10	<i>PfUv</i>	0,10	0	0	Spur
"	0,10	"	0,05	0	0	"
"	0,10	"	0,01	0	deutlich	wenig
"	0,10	<i>KUv</i>	0,10	0	0	stark
"	0,10	"	0,05	0	Spur	"
"	0,10	"	0,01	stark	fast k.	fast k.
—		<i>RUv</i>	0,10	k.	k.	k.
—		<i>PfUv</i>	0,10	k.	k.	k.
—		<i>KUv</i>	0,10	k.	k.	k.
		Komplementprobe		k.	k.	k.
<i>NS</i>	0,10	<i>RUv</i>	0,10	deutlich	fast k.	k.
	0,10	"	0,05	"	"	k.
"	0,10	"	0,01	k.	k.	k.
"	0,10	<i>PfUv</i>	0,10	0	0	0
"	0,10	"	0,05	0	0	0
"	0,10	"	0,01	0	deutlich	deutlich
"	0,10	<i>KUv</i>	0,10	0	Spur	k.
"	0,10	"	0,05	deutlich	deutlich	k.
"	0,10	"	0,01	stark	fast k.	k.

Die Sera sind der hämolytischen Wirkung für Hammelblut beraubt. Pferde-uvea hemmt, wie in Tabelle 16, schon mit Normalserum.

besteht, ja dass es sich mit einiger Sicherheit aussprechen lässt, dass die Uveaemulsion bezüglich ihrer Antigenwirkung im Reagenzglas ebensowenig artspezifisch ist, wie die Linse; die in einzelnen Versuchen beobachteten Schwankungen in der Intensität der Wirkung der Uvea der einzelnen Tierarten können wohl mit einiger Bestimmtheit auf Konzentrationsschwankungen der Emulsion zurückgeführt werden, um so mehr wenn, wie unsere Untersuchungen es wahrscheinlich gemacht haben, nicht das Uveagewebe als solches, sondern das Pigment allein oder wenigstens vorwiegend in Betracht kommt.

Dass, wie Tabelle 18 zeigt, das Serum der mit Rinderuvea-Emulsion injizierten Tiere, auch Hämolyse für Rinderblutkörperchen enthält, darf nicht wundernehmen, da ja bei der geschilderten Bereitungsart der Emulsion auch Rinderblutkörperchen mit injiziert werden; der Titer war übrigens mit Rücksicht auf die mehrmalige Wiederholung der Injektion ein relativ niedriger.

Tabelle 18.

Serum 56°	Komplement 1:10	Rinderblut 5%	XVIII	XX	Normalserum
0,15	1,0	1,0	k.	k.	0
0,10	1,0	1,0	fast k.	fast k.	0
0,05	1,0	1,0	deutlich	stark	—
0,01	1,0	1,0	0	0	—

Komplement + Rinderblut: 0.

Hämolytischer Titer von Rinderuveaimmunseris für Rinderblut.

In der Frage der Organantikörper hat die Immunitätsforschung noch lange nicht das letzte Wort gesprochen. Wenn ich der ausführlichen Darstellung dieser Frage durch Fleischmann und Davidson¹⁾ folge, so lässt sich das bisherige Ergebnis der einschlägigen Forschungen am besten mit den Worten der genannten Autoren zusammenfassen: „Organzellen erzeugen, in den Tierkörper injiziert, Organzellantikörper, nicht streng organspezifischer Natur, aber keine Serumantikörper.“ An einem speziellen Beispiel erläutert: Wird ein Kaninchen z. B. mit Meerschweinchenleber vorbehandelt, so erlangt das Serum desselben eine deutliche Affinität zu Meerschweinchenleberextrakt, aber nicht zu Meerschweinchenserum; die Antikörper des Serums haben aber weder eine strenge Organspezifität (d. h. sie hemmen im Komplementbindungsversuch nicht nur mit Leber,

¹⁾ Fleischmann u. Davidson, Über Cytotoxine. Folia serologica. Bd. I. 1908.

sondern auch mit andern Organen), noch eine Artspezifität (d. h. sie hemmen nicht nur mit arteigener, sondern auch mit artfremder Leber). Alkoholische Extrakte der Organe dagegen geben keine Bindung.

Sowie es sich also bisher gezeigt hatte, dass es schwierig, wenn nicht unmöglich ist, streng spezifische Hetero-Cytotoxine zu erzeugen, ebensowenig gelang es bisher mit Sicherheit, Autocytotoxine zu erzeugen. Wohl aber gelang es in spärlichen Fällen, Antikörper durch Einverleibung artgleicher Organe zu erzeugen, welche auf das verwendete Organ artgleicher Tiere (niemals, wie schon angeführt, desselben Individuums!) eingestellt waren. So hat zuerst Ehrlich und Morgenroth¹⁾ in der Ziege das Auftreten von Isohämolysinen nachweisen können, die aber nur durch Verwendung sehr hoher Mengen von Blut bei den Injektionen erzeugt werden konnten, und nicht für alle Ziegen wirksam waren. Über andere Isoantikörper liegen streng beweisende Untersuchungen nicht vor, wenn wir von den Isolysinen und Isoagglutininen des menschlichen Serums absehen²⁾, jedoch scheint es, dass den betreffenden Organantikörpern gleichfalls eine strenge Artspezifität ebensowenig zukommt, wie eine strenge Organspezifität. Die ausgesprochenste Organspezifität scheint nach den Untersuchungen von Uhlenhuth³⁾ der Linse zuzukommen.

Aprioristisch nicht zu erwarten war daher das Ergebnis der Immunisierung von Kaninchen mit artgleicher Uvea. Es hatte sich aber schon gezeigt, dass die artgleiche Uvea eine giftige Wirkung für den Tierkörper besitzt. So durfte es nicht wundernehmen, dass die artgleiche Uvea auch eine antigene Wirkung besitzt.

Bei unsern mit Kaninchenuveaemulsionen intraperitoneal injizierten Kaninchen zeigte sich nun, dass das Serum derselben zwar in verschiedenem Grade, aber mit grosser Regelmässigkeit eine hemmende Wirkung sowohl mit artgleicher als mit artfremder Uvea darbot. Die Immunisierung bzw. die Erzeugung der Iso-Antikörper war aber eine wesentlich schwierigere, als bei der Verwendung von artfremder Uveaemulsion, so dass eine viel grössere Zahl von Injektionen notwendig war, ähnlich wie es Ehrlich und Morgenroth für die Erzeugung von Isolysinen

¹⁾ Ehrlich u. Morgenroth, Über Hämolysine. Berl. klin. Wochenschr. Nr. 21. 1900.

²⁾ Landsteiner u. Leiner, Über Isolysine und Isoagglutinine des menschlichen Blutes. Zentralbl. f. Bakt. Bd. XXXVIII. S. 190.

³⁾ Uhlenhuth, Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweissarten mit Hilfe spezifischer Sera. Festschr. f. R. Koch. Jena 1904.

für Ziegenblut nachgewiesen hatten. Der geringe Gehalt an Iso-Antikörpern erschwerte auch die Versuche derart, dass vielfach erst bei entsprechender Einstellung des Versuches, Abstufung des Komplementzusatzes und Variierung der Sensibilisierung der verwendeten Hammelblutkörperchen ein völlig beweisendes Resultat sich ergab.

Tabelle 19.

Serum	Antigen		Hämolyse	
			1/2 Stunde	definitiv
<i>IS XIV</i>	<i>K Uv</i>	0,20	0	0
"	"	0,10	0	0
"	"	0,05	0	0
"	<i>R Uv</i>	0,20	0	0
"	"	0,10	0	0
"	"	0,05	0	0
<i>IS XVII</i>	<i>K Uv</i>	0,20	0	0
"	"	0,10	0	0
"	"	0,05	Spur	deutlich
"	<i>R Uv</i>	0,20	0	"
"	"	0,10	0	"
"	"	0,05	Spur	"
<i>NS</i>	<i>K Uv</i>	0,20	0	fast k.
"	<i>R Uv</i>	0,20	0	"
—	<i>K Uv</i>	0,20	k.	k.
—	<i>R Uv</i>	0,20	k.	k.

Komplementprobe

1/4 Stunde binden, 0,10 Komplement zugesetzt, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 2fach sensit.

Isoimmunserum hemmt sowohl mit *K Uv* als mit *R Uv*, das schwächere Serum erheblich weniger, als das stärkere: mit *NS* hemmen die Uveaemulsionen nur wenig, an und für sich nicht.

Tabelle 20.

Serum	Antigen		Hämolyse	
			1/2 Stunde	definitiv
<i>R Uv extr.</i>	<i>IS XIV</i>	0,20	stark	} fast k.
"	"	0,10	"	
"	"	0,05	"	
"	<i>IS XVIII</i>	0,20	"	
"	"	0,10	"	
"	"	0,05	"	
"	<i>NS</i>	0,20	"	
"	"	0,10	"	
"	"	0,05	"	
<i>R Uv</i>	<i>IS XIV</i>	0,10	0	0
"	<i>IS XVIII</i>	0,10	0	0
"	<i>NS</i>	0,10	deutlich	k.
—	<i>IS XIV</i>	0,10	k.	k.
—	<i>IS XVIII</i>	0,10	k.	k.
—	<i>NS</i>	0,10	k.	k.

Komplementprobe

1/4 Stunde binden, dann 0,10 Komplement, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut zugesetzt, 4fach sensibilisiert

R Uv extr. ist 1 Rinderuvea (frisch 1,8 g) in 10 cem abs. Alkohol bei 60° 1 Stunde digeriert (eine farblose klare Flüssigkeit mit einem Stich ins gelbe); davon je 0,20 in 0,8 *NaCl* gibt eine opaleszierende Flüssigkeit. *R Uv* ist eine gleichstarke Uveaemulsion. 1 *R Uv*: 10 cem *NaCl*. (Parallelsuchung zu Tab. 15.)

Tabelle 19 zeigt die hemmende Wirkung der Iso-Immusera, die wieder keine Artspezifität aufweist. Auch in den folgenden Tabellen kehrt diese Art der Wirkung immer wieder. Wie bei den Hetero-Immunkörpern der Uvea (Tab. 14), so hat auch hier (Tab. 20) der Versuch ergeben, dass der hemmende Körper in der Uvea nicht alkohollöslich ist.

Die wichtigste Frage, welchem Bestandteile der Uvea die antigene Wirkung zukommt, kann ich heute noch nicht völlig abschliessend beantworten. Ich möchte resumieren, dass der betreffende hemmend wirkende Bestandteil der Uvea nicht alkohollöslich ist; ebenso haben einschlägige Untersuchungen gezeigt, dass derselbe nicht oder nur in sehr geringem Grade bei höherer Temperatur wasserlöslich ist.

Um die Frage zu lösen: Zellen oder Pigment? war es notwendig, Pigment an und für sich in seiner hemmenden Wirkung untersuchen zu können, obwohl es sich gezeigt hatte (Tab. 1, 14), dass das Uveagewebe erheblich schwächer wirkt, als das Pigmentepithel. Ich bin Herrn Kollegen Prof. S. Fränkel in Wien zu ausserordentlichem Danke verpflichtet dafür, dass er mir eine grössere Quantität chemisch reinen Rinderaugenpigmentes zu meinen Versuchen überliess, welches seinerzeit im Hofmeisterschen Institut in Strassburg von E. Landolt gewonnen und Prof. Spiegler und Fränkel in Wien übergeben worden war. Durch das lebenswürdige Entgegenkommen des Herrn Kollegen Pohl in Prag wird es mir demnächst möglich sein, Pigmentarten verschiedener Tiere in ihrer antigenen Wirkung miteinander vergleichen zu können und damit die angeschnittene Frage der Organspezifität der Uvea und der antigenen Wirkung des Pigmentes an sich exakt feststellen zu können. Da die Herstellung des Pigmentes, welche Prof. Pohl in seinem Institute durchführt, und die damit anzustellenden Tierversuche noch längere Zeit in Anspruch nehmen werden, möchte ich heute schon über die wenigen einschlägigen Versuche, die mit dem mir von Prof. Fränkel übergebenen Rinderpigment angestellt wurden, berichten. Es wurden einerseits Kaninchen durch intraperitoneale und intravenöse Injektion von Pigmentemulsion immunisiert und die antigene Wirkung desselben im Immuserum der Immuntiere bestimmt, andererseits die hemmende Wirkung der Pigmentemulsion mit der frischer Uveaemulsionen verglichen und zwar sowohl bei den Seris der mit reinem Pigment, als der mit Uveaemulsionen immunisierten Tieren.

Zuerst wurden die durch intraperitoneale Injektionen von arteigener und artfremder Uveaemulsion gewonnenen Immusera in ihrem Ver-

halten zum reinen Pigment untersucht. Die verwendeten Rinder-Uveaemulsionen waren die in gewöhnlicher Weise bereiteten zwei Rindsaugen zu 30 ccm *NaCl*. *RP* ist chemisch reines Pigment 0,02 : 4,5 ccm *NaCl* im ersten Versuche.

Wie die Tabelle 21 zeigt, hatte das Pigment mit den Immuneris eine ausgesprochen hemmende Wirkung, dieselbe war aber ungleich viel schwächer als die der Uveaemulsionen. Die schwächere Antikörpergewalt der Iso-Immunsere zeigte sich auch hier deutlich. Der Versuch wurde daher wiederholt und zwar in der Weise, dass die Pigmentaushwemmung von jetzt an 0,04 : 2 ccm genommen wurde. Wie die Tabelle 22 zeigt, war in dieser Zusammenstellung die hemmende Wirkung des Pigmentes eine stärkere, als die der Uveaemulsion.

Besonders schön tritt auch bei diesen Versuchen die hemmende

Tabelle 21.

Serum	Antigen	Hämolyse		
		n. 1/2 Stunde	definitiv	
<i>IS</i> XIV	0,10 <i>R Uv</i> 0,20	1/4 Stunde binden, 0,10 ccm Komplement, 1 Stunde binden, 1 ccm 5% Hammelblut, 2 1/2 fach sensibilisiert	0	0
"	0,05 " 0,20		stark	fast k.
"	0,10 <i>R P</i> 0,20		fast k.	"
"	0,05 " 0,20		k.	k.
"	0,10 —		k.	k.
<i>IS</i> XVII	0,10 <i>R Uv</i> 0,20		fast k.	k.
"	0,05 " 0,20		"	k.
"	0,10 <i>R P</i> 0,20		"	k.
"	0,05 " 0,20		k.	k.
"	0,10 —		k.	k.
<i>IS</i> XVIII	0,10 <i>R Uv</i> 0,20		0	0
"	0,05 " 0,20		stark	fast k.
"	0,10 <i>R P</i> 0,20		fast k.	k.
"	0,05 " 0,20		k.	k.
"	0,10 —		k.	k.
<i>IS</i> XX	0,10 <i>R Uv</i> 0,20		0	0
"	0,05 " 0,20		0	0
"	0,10 <i>R P</i> 0,20		0	deutlich
"	0,05 " 0,20		fast k.	fast k.
"	0,10 —		k.	k.
<i>NS</i>	0,10 <i>R Uv</i> 0,20	fast k.	k.	
"	0,10 <i>R P</i> 0,20	"	k.	
"	<i>R Uv</i> 0,20	k.	k.	
"	<i>R P</i> 0,20	k.	k.	
	Komplementprobe	k.	k.	

Vergleich der Wirkung von *R Uv* und chemisch reinem Rinderpigment *RP* (= 0,02 Pigment zu 4,5 ccm *NaCl*) gegenüber den Isoimmuneris XIV und XVII, sowie den Heteroimmuneris XVIII und XX. *RP* hemmt mit den Isoimmuneris XIV und XVII nur sehr wenig, mit dem stärkeren Heteroimmunsereum sehr deutlich.

Tabelle 22.

Serum	Antigen		Hämolyse		
			n. 1/2 Stunde	definitiv	
<i>IS</i> XVIII	0,10	<i>RP</i> 0,20	1/4 Stunde binden, 0,10 cem Komplement, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 2 1/2 fach sensibil.	0	0
"	0,10	" 0,10		0	0
<i>IS</i> XX	0,10	" 0,20		0	0
"	0,10	" 0,10		0	0
<i>IS</i> XIV	0,30	" 0,20		0	0
"	0,20	" 0,20		0	0
"	0,10	" 0,20		0	0
"	0,30	<i>RUv</i> 0,20		0	0
"	0,20	" 0,20		0	Spur
"	0,10	" 0,20		Spur	deutlich
<i>NS</i>	0,30	<i>RP</i> 0,20		0	"
"	0,10	" 0,20		Spur	fast k.
"	0,30	<i>RUv</i> 0,20		0	mässig
"	0,10	" 0,20		deutlich	stark
—		<i>RP</i> 0,20		"	"
—		<i>RUv</i> 0,20	"	"	
Komplementprobe			"	k.	

Parallelversuch zu Tabelle 20. *RP* ist Rinderpigment 0,04 : 2 cem *NaCl*. Das Pigment wirkt ebenso stark oder stärker (*XIV*) wie *RUv* mit den Immunsereis, ungefähr gleich stark mit Normalserum, wobei zu bemerken ist, dass die Antigene sowohl an sich, als mit Normalserum in geringem Grade hemmen.

Tabelle 23.

Versuch vom 2. III. 10		Antigen		Hämolyse	
Serum				1/2 Stunde	definitiv
<i>IS</i> XIV	0,20	+ <i>RUv</i> 0,20	1/4 Stunde binden, 0,10 cem Komplement, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 2fach sensibil.	0	0
"	0,10	" 0,20		0	0
<i>IS</i> XVII	0,20	" 0,20		0	0
"	0,10	" 0,20		0	0
<i>NS</i>	0,20	" 0,20		0	wenig
"	0,10	" 0,20		Spur	k.
—		" 0,20		stark	k.
<i>IS</i> XIV	0,20	+ <i>RP</i> 0,20		0	0
"	0,10	" 0,20		0	0
<i>IS</i> XVII	0,20	" 0,20		0	Spur
"	0,10	" 0,20		stark	fast k.
<i>NS</i>	0,20	" 0,20		deutlich	"
"	0,10	" 0,20		"	k.
—		" 0,20		stark	k.
<i>IS</i> XIV	0,20	—		fast k.	stark
"	0,10	—	stark	fast k.	
<i>IS</i> XVII	0,20	—	fast k.	"	
"	0,10	—	fast k.	k.	
<i>NS</i>	0,20	—	stark	fast k.	
"	0,10	—	fast k.	k.	
Komplementprobe			"	k.	

IS XIV und XVII sind hochwertige Isoimmunsera; ersteres hemmt mit *PR* ebenso stark, letzteres etwas schwächer wie mit *RUv*. *NS* hemmt mit *RUv* nur in der höchsten Dosis, mit *RP* fast gar nicht.

Wirkung des Pigmentes mit den Immunseris hervor; Tabelle 22, 23 und 24 weisen derartige Versuche auf.

Das wichtigste Ergebnis, das für die Auffassung der letztgenannten Frage entscheidend sein dürfte, lieferten Immunisierungsversuche mit chemisch reinem Rinderpigment.

Am 12. II. wurde einem Kaninchen *a* 0,03 g Rinderpigment intraperitoneal injiziert, nachdem vorher Blut abgenommen war.

23. II. neuerliche Blutentnahme, 25. II. dieselbe Injektion, 8. III. Blutabnahme, 10. III. 0,05 Pigment intraperitoneal.

Am 12. II. und 25. II. wurde Kaninchen *b* ebenfalls nach erfolgter Blutabnahme je 0,03 Pigment intravenös (Ohrvene), am 10. III. 0,05 Pigment intravenös injiziert, und Blutentnahme am 18. III. 10.

Die Tabellen 25—30 geben die wichtigsten Reaktionen des Bluteserums, und zwar ist *a* bzw. *b* das Serum nach der ersten Injektion, *a*₁ und *a*₂ bzw. *b*₁ und *b*₂ die Sera jeweilig nach der zweiten und dritten Injektion.

Auch diese Tiere magerten nach der Injektion ab, das intravenös injizierte Tier ging am 18. III. kurz nach der dritten Injektion ein und wurde, da ich gerade abwesend war, die Sektion leider unterlassen.

Auch die Sera dieser Immuntiere wurden so wie bei den früheren Versuchen nach der Inaktivierung durch Einbringung von Hammelblutkörperchen der hämolytischen Amboceptoren für Hammelblut beraubt, so dass in dieser Hinsicht die Versuche mit den vorhergegangenen vollständig gleichwertig sind.

Tabelle 24.

Serum	Antigen		Hämolyse	
			nach 1 Stunde	definitiv
<i>IS</i> XIV 0,15	<i>RP</i> 0,10	1/4 Stunde binden, 0,10 cem Komplement, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 3 1/2 fach sensibilisiert	0	0
" 0,10	" 0,10		0	0
" 0,15	<i>RUv</i> 0,20		0	0
" 0,10	" 0,20		0	0
" 0,15	<i>KUv</i> 0,20		0	0
" 0,10	" 0,20		0	0
" 0,15	—		stark	fast k.
<i>IS</i> XX 0,15	<i>RP</i> 0,10		wenig	wenig
" 0,10	" 0,10		"	"
" 0,05	" 0,10		stark	fast k.
" 0,15	<i>RUv</i> 0,20		0	0
" 0,10	" 0,20		0	0
" 0,05	" 0,20		0	0
" 0,15	<i>KUv</i> 0,20		0	0
" 0,10	" 0,20		0	0
" 0,05	" 0,20	0	0	
" 0,15	—	stark	fast k.	
	Komplementprobe	k.	k.	

Versuch der Artspezifität des Pigmentes. Die Hemmung des reinen Pigmentes *RP* mit Isoimmunserum ist etwas grösser, als mit dem Heteroimmunserum.

Bei der Untersuchung der Sera nach der ersten Injektion (11. Tag) ergab sich im Vergleich mit dem konservierten Normalserum derselben Tiere eine deutliche Verstärkung der Hemmung (die Normalsera hemmten an und für sich auch schon, aber nur minimal, mit den Antigenen), die für *RP* ungefähr gleich gross war, wie für *RUv* (Tab. 25). In den Versuchen mit dem am 13. Tag nach der zweiten Injektion entnommenen Blute aber war die Immunkörperbildung im Komplementbindungsversuche schon sehr ausgeprägt. So zeigt Tab. 26 und 27 die hemmende Wirkung der Pigment-Immunsera gegenüber Normalserum sehr stark vermehrt.

Die nächste Aufgabe bestand nun wieder darin, die Spezifität der Pigment-Antikörper zu studieren. Dies geschah bezüglich der Artspezifität mit *RUv*, *KUv* und *PfUv* (s. Tab. 28). Kaninchen-

Tabelle 25.

Serum 56°	Antigen		Hämolyse	
			nach 1 Stunde	definitiv
<i>IS XX</i> 0,10	<i>RP</i> 0,30	1/4 Stunde binden, 0,10 cem Komplement, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 5fach sensibilisiert	Spur	mässig
„ 0,10	„ 0,15		wenig	„
„ 0,10	<i>NaCl</i> 0,30		stark	k.
<i>IS XIV</i> 0,15	<i>RP</i> 0,30		Spur	wenig
„ 0,15	„ 0,15		mässig	mässig
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,30		Spur	wenig
„ 0,15	„ 0,15		„	„
„ 0,15	<i>NaCl</i> 0,30		fast k.	k.
<i>IS a</i> 0,15	<i>RP</i> 0,30		mässig	stark
„ 0,15	„ 0,15		stark	fast k.
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,30		wenig	mässig
„ 0,15	„ 0,15		stark	fast k.
„ 0,15	<i>NaCl</i> 0,30		k.	k.
<i>IS b</i> 0,15	<i>RP</i> 0,30		stark	fast k.
„ 0,15	„ 0,15		„	„
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,30		wenig	stark
„ 0,15	„ 0,15		stark	fast k.
„ 0,15	<i>NaCl</i> 0,30		k.	k.
<i>NS</i> 0,15	<i>RP</i> 0,30		stark	k.
„ 0,15	„ 0,15		„	k.
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,30	?	stark	
„ 0,15	„ 0,15	stark	fast k.	
„ 0,15	<i>NaCl</i> 0,30	k.	k.	
—	<i>RP</i> 0,30	k.	k.	
—	„ 0,15	k.	k.	
—	<i>RUv</i> 0,30	k.	k.	
	Komplementprobe	k.	k.	

Das hämolytische System ist so stark, dass auch das hochwertige *IS XX* mit *RP* nicht vollständig hemmt, ebensowenig das Isoimmunserum *XIV* mit *RP* und *RUv*. Mit *NS* verzögert die Hämolyse *RP* und *RUv*, wirklich hemmt damit nur *RUv* in geringem Grade. *IS a* von einem einmal mit 0,03 *RP* intraperitoneal, *IS b* ebenso intravenös injizierten Kaninchen, beide Sera hemmen mit *RP* stärker als *NS*, mit *RUv* ungefähr gleich stark.

Uvea-Emulsion (*KUv*) erwies sich bei diesem Versuche stärker hemmend (mit den Immuneris sowohl, aber auch mit *NS*, mit dem auch *RUv* nur spurweise hemmte). *RP* war am schwächsten hemmend. Die Wiederholung des Versuches in Tabelle 29 stellt gleichzeitig den Titer der beiden Sera a und b (nach der zweiten und dritten Injektion) nebeneinander — in der etwas kurzen Zeit (8 Tage) nach der dritten Injektion war eine wesentliche Steigerung des Antikörpergehaltes nicht eingetreten, eher ist a_2 etwas zurückgegangen!

Tabelle 26.

Serum	Antigen		Hämolyse	
			nach 1 Stunde	definitiv
<i>IS a</i> 0,15	<i>RP</i> 0,20	1/4 Stunde binden, 0,075 ccm Komplement, 1 Stunde binden, 1 ccm 5% Hammelblut, 1 1/2 fach sensibil. Pigment vor d. Blutzusatz abzentrifugiert	0	0
„ 0,10	„ 0,20		0	0
„ 0,05	„ 0,20		0	0
„ 0,15	—		deutlich	stark
<i>IS b</i> 0,15	„ 0,20		0	0
„ 0,10	„ 0,20		0	0
„ 0,05	„ 0,20		0	0
„ 0,15	—		0	stark
<i>NS</i> 0,15	„ 0,20		0	Spur
„ 0,10	„ 0,20		0	stark
„ 0,05	„ 0,20		0	fast k.
„ 0,15	—		0	stark
—	„ 0,20		0	deutlich
	Komplementprobe			stark

Das hämolytische System war so schwach, dass auch die Komplementprobe nicht komplette Lösung zeigte, und dass auch *RP* allein schon hemmte.

Tabelle 27.

Wiederholung des Versuches von Tabelle 26 (weniger *P*, stärkeres hymolyt. System).

Serum	Antigen		Hämolyse
<i>IS a</i> 0,15	<i>RP</i> 0,10	1/4 Stunde binden, Komplement 0,10 ccm, 1 Stunde binden, <i>P</i> abzentrifugiert, 1 ccm 5% Hammelblut, 5 f. sens.	wenig
„ 0,10	„ 0,10		sehr stark
„ 0,05	„ 0,10		fast k.
„ 0,15	—		k.
<i>IS b</i> 0,15	„ 0,10		0
„ 0,10	„ 0,10		wenig
„ 0,05	„ 0,10		sehr stark
„ 0,15	—		k.
<i>NS</i> 0,15	„ 0,10		fast k.
„ 0,10	„ 0,10		k.
„ 0,05	„ 0,10		k.
„ 0,15	—		k.
—	„ 0,10		k.
	Komplementprobe		

RP hemmt mit dem stärkeren Serum in jeder Dosis, in der stärksten vollständig, mit Normalserum nur in der stärksten Dosis in ganz geringem Grade.

Tabelle 28.

Serum 56°	Antigen		Hämolyse	
			n. 1/2 Stunde	definitiv
<i>IS a</i> 0,15	<i>RP</i> 0,10	1/4 Stunde binden, 0,10 cem Komplement, 1 Stunde binden, 1 cem 5% Hammelblut, 3 1/2 fach sensibilisiert	mässig	mässig
„ 0,10	„ 0,10		deutlich	sehr stark
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,20		0	0
„ 0,10	„ 0,20		0	Spur
„ 0,15	<i>KUv</i> 0,20		0	0
„ 0,10	„ 0,20		0	0
„ 0,15	—		k.	k.
<i>IS b</i> 0,15	<i>RP</i> 0,10		0	Spürchen
„ 0,10	„ 0,10		deutlich	mässig
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,20		0	0
„ 0,10	„ 0,20		0	Spürchen
„ 0,15	<i>KUv</i> 0,20		0	0
„ 0,10	„ 0,20		0	0
„ 0,15	—		fast k.	k.
<i>NS</i> 0,15	<i>RP</i> 0,10		k.	k.
„ 0,10	„ 0,10		k.	k.
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,20		Beginn	fast k.
„ 0,10	„ 0,20		stark	k.
„ 0,15	<i>KUv</i> 0,20		deutlich	fast k.
„ 0,10	„ 0,20		stark	„
„ 0,15	—	k.	k.	
—	<i>RP</i> 0,10	k.	k.	
—	<i>RUv</i> 0,20	k.	k.	
—	<i>KUv</i> 0,20	k.	k.	
	Komplementprobe	k.	k.	

Tabelle 29.

Serum	Antigen	Hämolyse	Hämolyse	Antigen	Serum
<i>IS a</i> ₁ 0,15	<i>RP</i> 0,10	stark	stark	<i>KP</i> 0,10	<i>IS a</i> ₂ 0,15
„ 0,10	„ 0,10	„	fast k.	„ 0,10	„ 0,10
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,20	0	0	<i>RUv</i> 0,20	„ 0,15
„ 0,10	„ 0,20	0	Spur	„ 0,20	„ 0,10
„ 0,15	<i>KUv</i> 0,20	0	0	<i>KUv</i> 0,20	„ 0,15
„ 0,10	„ 0,20	0	0	„ 0,20	„ 0,10
„ 0,15	—	k.	fast k.	—	„ 0,15
<i>IS b</i> ₁ 0,15	<i>RP</i> 0,10	Spur	Spur	<i>RP</i> 0,10	<i>IS b</i> ₂ 0,15
„ 0,10	„ 0,10	„	„	„ 0,10	„ 0,10
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,20	0	0	<i>RUv</i> 0,20	„ 0,15
„ 0,10	„ 0,20	0	0	„ 0,20	„ 0,10
„ 0,15	<i>KUv</i> 0,20	0	0	<i>KUv</i> 0,20	„ 0,15
„ 0,10	„ 0,20	0	0	„ 0,20	„ 0,10
„ 0,15	—	k.	fast k.	—	„ 0,15
<i>NS</i> 0,15	<i>RP</i> 0,10	fast k.	—	—	—
„ 0,10	„ 0,10	„	stark	<i>RP</i> 0,20	—
„ 0,15	<i>RUv</i> 0,20	0	„	<i>RUv</i> 0,20	—
„ 0,10	„ 0,20	0	„	<i>KUv</i> 0,20	—
„ 0,15	<i>KUv</i> 0,20	0	k.	Komplementprobe	—
„ 0,10	„ 0,20	stark	„		
„ 0,15	—	k.	„		

*IS a*₁ und *IS a*₂ sind die Immunsere von dem intraperitoneal mit *RP* injizierten Kaninchen nach der 1. und 2. Injektion. *IS b*₁ und *IS b*₂ entsprechend von dem intravenös mit *RP* injizierten Kaninchen. Komplement 0,075, Hammelblut 1 1/2 fach sensibilisiert, sonst wie Tabelle 28.

Allerdings war aber eine genaue Titrierung nicht vorgenommen worden.

In den Versuchen mit den letzten Pigment-Immunseris a_2 bzw. b_2 , nach der dritten Injektion, hemmte das stärkere Serum (intravenöse Injektion) mit KUv vollständig, während das andere Serum, sowie beide mit RP nur unvollständig die Hämolyse aufhoben (Tab. 29, 30). Mit stärkeren Pigmentdosen aber (Tab. 31) hemmten beide Pigment-Immunsera vollständig, Normalserum nicht.

Die Prüfung auf Organspezifität der Antikörper dieser Pigment-Immunsera konnte um so mehr unterlassen werden, als die Versuche mit den Uvea-Immunseris diesbzüglich ganz eindeutig gewesen waren; sie soll aber mit den verschiedenen Pigmentarten seinerzeit wieder vorgenommen werden.

Tabelle 30.

Wiederholung des Versuches von Tabelle 29, nur mit RP und KUv .

Serum	Antigen	Hämolyse		
		$\frac{3}{4}$ Stunde	definitiv	
$IS\ b_2$	0,15	RP 0,12	deutlich	sehr stark
"	0,10	" 0,12	stark	fast k.
"	0,05	" 0,12	fast k.	"
"	0,15	KUv 0,20	0	0
"	0,10	" 0,20	0	0
"	0,05	" 0,20	0	0
"	0,15	—	k.	k.
"	0,10	—	k.	k.
$IS\ a_2$	0,15	RP 0,12	stark	fast k.
"	0,10	" 0,12	fast k.	"
"	0,05	" 0,12	"	"
"	0,15	KUv 0,20	0	deutlich
"	0,10	" 0,20	deutlich	fast k.
"	0,05	" 0,20	stark	k.
"	0,15	—	k.	k.
"	0,10	—	k.	k.
NS	0,15	RP 0,12	fast k.	k.
"	0,10	" 0,12	"	k.
"	0,05	" 0,12	"	k.
"	0,15	KUv 0,20	"	k.
"	0,10	" 0,20	"	k.
"	0,05	" 0,20	"	k.
"	0,15	—	k.	k.
"	0,10	—	k.	k.
—	—	RP 0,20	k.	k.
—	—	$R\ Uv$ 0,20	k.	k.
Komplementprobe			k.	k.

Beide Immunsera hemmen mit RP nur unvollkommen, mit KUv das stärkere (intravenös) in allen Dosen komplett, das schwächere wenig; mit NS geben weder RP noch KUv Hemmung, ebensowenig allein.

Tabelle 31.

Wiederholung des Versuches der Tabelle 30 mit stärkeren *P*-Dosen.

Serum	Antigen	Hämolyse	
		1 Stunde	1 ¹ / ₂ Stunde
<i>IS</i> b ₂ 0,20	<i>RP</i> 0,25	0	0
„ 0,10	„ 0,25	0	0
„ 0,20	—	fast k.	k.
<i>IS</i> a ₂ 0,20	„ 0,25	0	0
„ 0,10	„ 0,25	0	0
„ 0,20	—	fast k.	k.
<i>NS</i> 0,20	„ 0,25	„	k.
„ 0,10	„ 0,25	„	k.
„ 0,20	—	„	k.
—	„ 0,25	fast k.	k.
	Komplementprobe	k.	k.

In der stärkeren Dosis hemmt *RP* mit den beiden *IS* vollkommen, mit *NS* nicht.

Irgendwelche auffallende Erscheinungen von Agglutination konnten nicht beobachtet werden.

Es hat sich also gezeigt, dass chemisch reines Augenpigment **allein** ebenso mit den durch Uveainjektionen gewonnenen Immunseris im hämolytischen Versuche durch Komplementbindung hemmt, wie die Uveaemulsionen verschiedener Säugetierarten, und dass durch Injektion von chemisch reinem Augenpigment eine analoge Antikörperbildung im Tierkörper erfolgt, wie durch Uveainjektion; die so erzeugten Antikörper sind ebensowenig artspezifisch, wie die durch Uveaemulsion erzeugten, sie ergeben Hemmung mit dem antigenen Pigment, durch das sie erzeugt sind, wie mit artfremden und artgleichen Uveaemulsionen. Es ist somit wohl der Schluss gerechtfertigt, dass der wirksame Körper bei den Uveainjektionen (oder wenigstens der hauptsächlich wirksame Körper, da ja den Zellen immerhin auch eine antigene Wirkung zukommen muss) das Pigment ist, und dass die dadurch gebildeten Antikörper wieder spezifisch, d. i. auf Pigment eingestellt sind, dass sie also nicht **artspezifisch**, sondern organ-(pigment-)spezifisch sind.

Ich bin mir wohlbewusst, dass die Untersuchungen in dieser letzten Richtung noch sehr bedeutender Ergänzungen bedürfen; dieselben sind aber erst dann durchführbar, wenn die Reindarstellung des Augenpigmentes verschiedener Tierarten wird durchgeführt sein; insbesondere die Frage der Organ-(Pigment-)Spezifität und fehlenden Artspezifität des Pigmentes wird erst dann einwandfrei beantwortet

werden können. A priori erscheinen aber die bisherigen Resultate um so plausibler, als bezüglich der Linse ja schon gleiches Verhalten nachgewiesen wurde.

Über das Verhalten von Pigment in antigener Hinsicht kann ich nur eine einzige Mitteilung in der mir zugänglichen Literatur auffinden, die mir erst beim Abschlusse dieser Arbeit bekannt wurde. Ledingham hat im Listerinstitute in London das Verhalten der Leukocyten gegenüber von sogenannten neutralen Substanzen an und für sich, und zusammen mit Serum von mit gleicher Substanz immunisierten Tieren, also kurz die Erzeugung von Oponinen im Immuntiere für diese Substanzen studiert. Er verwendete hierzu das Hippomelanin, gewonnen aus melanotischen Geschwülsten von Schimmeln. Die lange Zeit in Alkohol gehärteten Tumoren wurden verrieben und gewaschen und filtriert, und es zeigte sich, dass der so erhaltene Rückstand fast ausschliesslich aus Melanin bestand. Dasselbe wurde Meerschweinchen injiziert und der opsonische Index des Serums mit Menschenblutleukocyten für Melanin bestimmt. Bei Fortsetzung der Injektionen erhielten die Meerschweinchen in der dritten bis vierten Woche anscheinend den höchsten Index, und blieb derselbe durch 6 Monate bei einem der Tiere auf gleicher Höhe. Von besonderem Interesse ist für uns, dass der Komplementbindungsversuch die Anwesenheit spezifischer Antikörper im Serum erwies: Das Melanin ergab mit dem Immuns Serum komplette Hemmung der Hämolyse!

Agglutinine dagegen werden nur in kleinstem Masse erzeugt.

Die Sektion von Immuntieren ergab, dass das Melanin vorzüglich im Netz und Mesenterium, sowie an der Oberfläche des Magens vorhanden war, eingeschlossen in Leukocyten und Endothelzellen. Auch waren Lymphdrüsen der Bauchhöhle und andere Organe (Kapsel der Milz und Nieren) mit Melanin durchsetzt. Ledingham¹⁾ spricht seine Verwunderung darüber aus, dass „a body so intractable chemically as hippomelanin“ antigene Wirkung im Tierkörper besitzen könne, und glaubt zufolgedessen eine zufriedenstellende Erklärung für diese von ihm festgestellte Antikörperbildung durch Melanininjektion nicht geben zu können.

Ich kann die Verwunderung Ledinghams und seine Zweifel nicht teilen.

Die Wirksamkeit des Augenpigmentes in antigener Hinsicht kann nicht wundernehmen, wenn wir alle bisher darüber bekannten Tatsachen,

¹⁾ Ledingham, The Phagocytosis of so-called neutral substances. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. Bd. III. Nr. 2. Juli 1909.

sowie auch den chemischen Aufbau desselben, der ja nicht weit von dem des Hippomelanins differieren dürfte, betrachten. Soweit genaue Untersuchungen darüber vorliegen, sind sie von einheitlichem Ergebnisse. H. Landolt¹⁾, der [nach älteren Untersuchern, speziell Rosow²⁾] zuerst rein dargestelltes Rinderaugenpigment mit moderner Technik untersucht hat [jenes Pigment, das mir durch die Güte des Kollegen Fränkel zur Verfügung stand³⁾], schliesst auf Grund seiner chemischen Analyse, dass das Pigment aus der chromogenen Gruppe des Eiweisses hervorgehe, jedenfalls nicht Blutpigment sein könne. Dieselbe Ansicht spricht Spiegler⁴⁾, dem dasselbe Pigment zur Untersuchung vorlag, aus. Es mag wohl erübrigen, auf die chemische Konstitution des Pigmentes näher einzugehen. Genaue Analysen des Augenpigmentes der verschiedenen Tiere liegen noch nicht vor, insbesondere wissen wir noch nichts darüber, ob das nadelförmige Augenpigment (Fuscin) mit dem in dem retinalen Blatte von Iris-Corpus ciliare vorfindlichen körnigen Pigmente, und dieses wieder mit dem morphologisch so verschiedenen Pigmente der Chromatophoren der Uvea in seinem chemischen Aufbaue übereinstimmt. Das eine wissen wir aber sicher aus der Pathologie des Auges, dass das Augenpigment trotz seiner Widerstandskraft gegen chemische Agentien kein unzersetzlicher Körper ist, jedenfalls auch im Tierkörper nicht indifferent ist. So möchte ich z. B. darauf hinweisen, dass ich bei der mikroskopischen Untersuchung zahlreicher Augen mit Chorioiditis der verschiedensten Ursachen und Stadien nachweisen konnte, dass bei gewissen Formen derselben (nicht bei der ganz akuten plastischen oder eitrigen, ebensowenig bei der sogenannten sympathisierenden Uveitis) das Fuscin in den Pigmentepithelzellen der Netzhaut verschwindet und amorphen Körnchen, analog (oder identisch?) denen der Pars retinalis iridis et corporis ciliaris Platz macht (ersetzt wird, oder sich umwandelt?) — eine Tatsache, die, wie mir die nachträgliche Literaturdurchsicht gezeigt hat, wohl schon von Rosow (loc. cit.) einmal festgestellt worden war, aber seither, wie es scheint, wieder völlig in Vergessenheit geraten ist.

¹⁾ Mikroskopisch besteht es grösstenteils aus Fuscinnadeln, daneben reichlichen, verschieden grossen, etwas helleren rundlichen Körnchen.

²⁾ Rosow, Über das körnige Pigment. Arch. f. Ophth. Bd. IX, 3. S. 63. 1863.

³⁾ Landolt, H., Über das Melanin der Augenhäute. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXVIII. S. 192. 1899.

⁴⁾ Spiegler, Über das Haarpigment, nebst Versuchen über das Chorioidalpigment (II. Mitteilung). Hofmeisters Beitr. Bd. X. S. 253. 1907.

Noch viel beweisender für die chemisch keineswegs indifferente Natur des Augenpigmentes im Tierkörper scheinen mir die bekannten Beobachtungen über das Auftreten von Melanin oder Melanogen im Harn bei pigmentierten Sarkomen der Chorioidea, auch wenn solche (wenigstens anscheinend) noch nicht zu Metastasen geführt haben.

Ganz besonders wertvoll sind in dieser Hinsicht auch unsere Beobachtungen über die starke Giftwirkung der Uvea- und Pigmentinjektionen. Gerade die Erscheinungen an den mit arteigener Uvea injizierten Tieren können keine andere Erklärung zulassen, als dass das Pigment der Uvea im Tierkörper durchaus nicht indifferent ist, sondern im Gegenteil eine sehr intensiv giftige Wirkung besitzt. In Analogie mit den Erfahrungen an Menschen, die an melanotischen Tumoren erkrankt sind, wäre auch am Kaninchen Melanurie zu erwarten; aber auch normale Kaninchen geben schon im Harn Melaninreaktion. Überdies ist es sehr schwierig, von diesen Tieren Harn zu erhalten, wenn man nicht denselben durch Katheterismus gewinnen will, was mit Rücksicht auf den intensiven Reiz, der damit verbunden ist, wieder die Untersuchungsergebnisse trüben würde. Es steht wohl zu hoffen, dass die Fortsetzung der Versuche, insbesondere die intravenösen Injektionen mit reinem Pigment, nähere Aufschlüsse darüber bringen werden.

Bei nochmaliger genauer Durchsicht der Literatur finde ich, dass schon vor vielen Jahren P. Carot¹⁾ Untersuchungen über die Wirkung intravenös, intraperitoneal und subcutan injizierter Aufschwemmungen von körnigem Pigment von Augen und von melanotischen Tumoren ausgeführt hat, um das Verhalten des Pigmentes im Tierkörper kennen zu lernen. In Lubarsch-Ostertag findet sich hierüber folgendes Referat: „Bei einem Hunde neben den gewöhnlichen, offenbar mechanischen Ablagerungen des Pigmentes in Leber, Milz und Lungen vier Tage nach der Injektion die eine Nebenniere ganz schwarz und in dieser eine oberflächliche, stark degenerierte Zone, eine mittlere, in welcher die mit Farbstoff vollbeladenen Zellen im Untergange begriffen waren, und eine innere Zone mit weniger veränderten Nebennierenzellen, welche Pigment enthielten, aber solches, welches in Entfärbung begriffen schien.“ Autor glaubt, die Einlagerung und Zerstörung des Pigmentes in geringerer Intensität in die Nebennieren bei andern Versuchen bemerkt zu haben.

¹⁾ Carot, P., Sur les injections des pigments, Soc. de biologie. Nr. 32. 1896. Lubarsch-Ostertag. Bd. III, 1. S. 552.

Die Resultate vorstehender Untersuchungen sind:

1. Durch intraperitoneale Injektion von artfremder Uveaemulsion entstehen im Blute des Kaninchens Antikörper, welche mit Serum nicht reagieren, also keine Serumantikörper sind, welche nicht streng organspezifisch und nicht artspezifisch sind.

Dieselben hemmen im Komplementbindungsversuche mit Uveaemulsion verschiedener Tierarten, lassen sich auf Uveaemulsion binden, besitzen also den Aufbau von Amboceptoren.

2. Gleiche Immunkörper können durch Injektion art-eigener Uveaemulsion erzeugt werden, also Isoantikörper, welchen wieder keine Artspezifität, wohl aber eine gewisse Organspezifität zukommt.

3. Die Antikörper des Uvea-Immunserums (sowohl die Hetero- als die Isoantikörper) geben Komplementbindung auch mit chemisch reinem Rinderaugenpigmente.

4. Durch Immunisierung mit chemisch reinem Rinderaugenpigmente werden im Blute Antikörper erzeugt, die mit den durch Injektion von Uveaemulsion erzeugten in jeder Hinsicht übereinstimmen, also auch nichtartspezifisch sind, im hämolytischen Versuche mit Uvea und mit chemisch reinem Augenpigmente binden.

5. Es ist also als der wirksame Bestandteil der Uvea bezüglich ihrer antigenen Wirkung bei der Immunisierung sowohl als in vitro bei der Komplementbindung das Pigment anzusehen.

Ich möchte noch erwähnen, dass durch diese Nachweise die eingangs angeführte Annahme über die Entstehung der sympathischen Entzündung an Wahrscheinlichkeit nur gewonnen hat. Es dürfte aber nunmehr wohl ein längerer Zeitraum verfließen, bevor ich über endgültige Resultate einschlägiger experimenteller Untersuchungen werde berichten können.
