

# ZUR IMMUNOGENESE UND IMMUNODIAGNOSTIK DER ENDOGENEN UVEITIS\*

VON

S. RIASKOFF

## EINFÜHRUNG

Jeder Uveitis-Patient ist für den Augenarzt mehr oder weniger ein immunologisches Problem. Was die Ursache der Entzündung ist, wie sie verlaufen wird und was das beste ist, um sie zu heilen – alle diese Probleme sind ohne immunologisches Denken kaum zu lösen. Die Tatsachen, auf denen dieses Denken beruht, haben sich in den letzten Jahrzehnten derart gehäuft, daß es immer schwieriger wird, sich darin zurechtzufinden. Beim Versuch, diese Tatsachen zu ordnen, um daraus ein Gerüst für seine Vorstellungen zu bauen, entdeckt man Lücken, die vorläufig nur durch mehr oder weniger begründete Annahmen ausgefüllt werden können.

## ALLGEMEINE BEGRIFFE

Im Grunde genommen handelt es sich beim immunologischen Prozeß um eine Abwehrreaktion des organisierten Lebewesens gegenüber Substanzen, die in sein inneres Milieu (Blutbahn und Gewebe) gelangt und der biochemischen Zusammensetzung dieses Milieus fremd sind. Es wäre interessant zu wissen, welche Mechanismen für diese Abwehr von den primitiven mehrzelligen Lebewesen verwendet werden. BOYDEN (1963) denkt an Eiweißmoleküle, die sich spezifisch an den Fremdling heften und ihn für das Wegräumen durch Phagozytose vorbereiten. Er nennt sie „recognition factors“, weil sie in der Lage sein sollen, fremd und eigen zu erkennen. Im Laufe der Phylognese verlieren dann die einzelnen Gewebe mit ihrer fortschreitenden Differenzierung mehr und mehr diese Fähigkeit. Die Sorge um die Integrität der Zusammensetzung übernimmt

---

\* Die Arbeit wurde durch ein Stipendium der „H. J. Flieringa-Stiftung“ unterstützt. Besonderer Dank gebührt Dr. Houtsmuller für seine wertvolle leitende Mitwirkung bei der Durchführung der Laboratoriumsuntersuchungen.

allmählich eine Gewebsart, die heute unter dem Namen immunologischer Apparat zusammengefaßt wird. Sein Hauptbestandteil ist das System der Milz und der Lymphknoten, das als ganzes von der Thymus gesteuert wird. Zum immunologischen Apparat gehören auch die freien Histiozyten. Ob die anderen Bestandteile des reticuloendothelialen Systems, die Endothelzellen der Gefäße und die Reticulumzellen, Antikörper produzieren können, ist nicht sicher. Da in den meisten Organen Zellelemente des immunologischen Apparates vorhanden sind, ist eine lokale Antikörperbildung in ihnen möglich. Eine Bedingung dazu ist nach WHITE (1963), daß das Antigen in ihnen lange genug fixiert bleibt.

Die Wirkungsweise des immunologischen Apparates kann man sich in großen Zügen so vorstellen: Bei der Geburt finden seine Zellen eine Umgebung vor, deren Bestandteile sie als körpereigen akzeptieren. Sie reagieren auch auf solche fremden Stoffe nicht, die in diese Umgebung künstlich eingebracht werden (BILLINGHAM et al. 1953). Diese Periode der allgemeinen Immuntoleranz dauert bei verschiedenen Tierarten verschieden lange, meistens ein bis mehrere Wochen. Darauf bleibt die Immuntoleranz nur gegenüber den körpereigenen Bestandteilen bestehen, normalerweise lebenslang. Die meisten fremden Eindringlinge verursachen eine Reaktion des immunologischen Apparates. Dies sind hauptsächlich Mikroorganismen sowie protein-, lipid- oder polysaccharidhaltige Substanzen, die durch Haut oder Schleimhaut in das innere Milieu gelangt sind. Als Sammelbezeichnung für die Stoffe, die zu einer Reaktion des immunologischen Apparates führen können, wird der Ausdruck Antigene gebraucht. Die dagegen von den Immunzellen erzeugten Stoffe werden als Antikörper bezeichnet.

Zur Erklärung der Reaktion des immunologischen Apparates bestehen zwei grundsätzlich verschiedenen Anschauungsweisen. Die ältere stammt von ALEXANDER, MUDD und HAUROWITZ und stützt sich auf die Arbeiten von LANDSTEINER, die dieser in den 30er Jahren publizierte. Es war evident geworden, daß es eine sehr große Anzahl antigener Substanzen geben muß und eine entsprechend große Zahl spezifischer Antikörper zu erwarten war. Die Präformiertheit dieser Mannigfalt von Antikörpern schien diesen Autoren unwahrscheinlich. Daher nahmen sie an, daß das Antigen die Gammaglobulin erzeugende Zelle zur Produktion des spezifischen Antikörpers instruieren muß. Nach PAULING (1940) findet diese Instruktion unter Anwesenheit des Antigens im Zytoplasma der globulinbildenden Zellen statt. Das Antigenmolekül dient mit seiner Raumstruktur als Vorbild, nach dem ein Antikörpermolekül mit komple-

mentärer Konfiguration erzeugt wird. Nach dieser Auffassung war die unmittelbare Anwesenheit des Antigens in der Zelle notwendig.

BURNET (1956) glaubte später, daß die dauernde Anwesenheit des Antigens nicht erforderlich ist. Er nahm an, daß das Antigen eine Veränderung im Mechanismus der Antikörpererzeugung verursacht, die dauerhaft ist und an die folgenden Zellgenerationen weitergegeben wird, auch wenn kein Antigen mehr anwesend ist.

Nach SCHWEET & OWEN (1957) geht der Antikörperbildung eine Einwirkung des Antigens auf die DNA (Deoxyribonucleinsäure) im Kern der Antikörper bildenden Zelle voraus. Ein Strukturelement des Antigenmoleküls führt zu einer Modifikation der DNA, die beibehalten und weitervererbt wird. Die veränderte DNA gibt ihrerseits an die Ribonucleinsäuren, welche die Proteinproduktion im Zytoplasma leiten, den Schlüssel weiter, nach dem das Antikörpermolekül geformt werden muss. BLOOM (1963) konnte nachweisen, daß die Immunzellen keine Antikörper erzeugen, wenn die Synthese von RNA und Proteinen in den Zellen durch hohe Dosen von Mytomycin C verhindert wird. JERNE (1963) zeigte, daß die erzeugten Antikörper etwa nach 4 Tagen von den Immunzellen freigegeben werden. Es bilden sich nun Antigen-Antikörperkomplexe, die ihrerseits als ein noch intensiverer Reiz (JERNE) die Antikörpererzeugung weiter anspornen.

Die zweite Anschauungsweise nimmt trotz der großen Vielfalt der Antikörper ihr Präformiertsein an. Die ursprüngliche Idee von JERNE (1955) war, daß im Serum alle möglichen Antikörper gegen alle möglichen Antigene vorhanden sind. Dringt ein Antigen ins Serum, so bildet es mit dem dazugehörigen Antikörper einen Komplex, welcher dann zufällig sich in der Nähe befindende Zellen zur Erzeugung desselben spezifischen Antikörpers reizt.

TALMAGE (1957) verlegte die Vielfalt der Antikörper aus dem Serum in die Ebene der antikörperbildenden Zellen. Er nahm an, daß für jede Antigenart eine bestimmte Zellart vorhanden ist, welche auf den Antigenreiz mit einer spezifischen Antikörperproduktion antwortet. Auch BURNET (1957) fand die Annahme, die primär im Serum vorhandenen spezifischen Antikörper ohne eine Vielfalt von spezifischen antikörperbildenden Zellen vorauszusetzen, nicht gut begründet. Daher kombinierte er die Auffassungen von JERNE und TALMAGE und schuf seine Theorie der Auswahl von Zellkolonien – die clonal selection-Theorie. Nach ihr wählt das eingedrungene Antigenmolekül jene antikörperbildenden Zellen, welche in ihrem Zytoplasma Proteinmoleküle mit komplementärer Konfiguration enthalten. Das Antigen bleibt daran haften und reizt die ent-

sprechende Zellkolonie zur Proliferation und Steigerung der Produktion der spezifischen Antikörper. Die Theorie BURNET's ist besonders geeignet, Erscheinungen der Immuntoleranz und der Autoallergie zu erklären.

Abgesehen von der Entstehungsweise der Antikörper – ob durch Sensibilisation einer vorher indifferenten Zellgruppe durch das Antigen oder durch Stimulation einer schon vorher vorhandenen, aber schlummernden spezifischen Zellkolonie – die Folge ist eine Änderung im Verhalten des betreffenden Organismus gegenüber dem betreffenden Antigen.

Das zweckmäßige Ziel dieser Änderung ist der Zustand der erworbenen Immunität. Er äußert sich darin, daß z.B. bei wiederholtem Eindringen der Mikroorganismen, die als Antigen wirksam gewesen sind, diese durch die bereits vorhandenen Antikörper schnell abgefangen werden. Darauf folgt dann das Unschädlichmachen der Eindringlinge. Wenn es sich um toxische Bakterienprodukte handelt, werden sie neutralisiert, wenn es sich um ganze Mikroorganismen handelt, werden diese mit Hilfe von Komplement agglutiniert oder von Makrophagen phagozytiert.

Als Nebenwirkung dieses zweckmäßigen Vorganges können aber Krankheitserscheinungen auftreten. Sie werden allgemein gesprochen auf eine Überempfindlichkeit gegenüber der antigenen Substanz zurückgeführt. Klinisch und experimentell zeigte sich, daß diese Krankheitserscheinungen keine einheitliche Genese und Verlaufsweise haben. Man hat sie daher in zwei Hauptgruppen eingeteilt. In die Gruppe der anaphylaktoiden Überempfindlichkeit und die der tuberkulinartigen Überempfindlichkeit. Im englischen Sprachgebiet werden sie nach ihrem zeitlichen Verlauf immediate type und delayed type sensitivity genannt.

#### KRANKHEITERSCHEINUNGEN UND IHRE GENESE BEI DER ANAPHYLAKTOIDEN ÜBEREMPFINDLICHKEIT

Die pathologischen Erscheinungen treten beim „Soforttyp“ der Überempfindlichkeit Minuten bis Stunden nach wiederholtem Kontakt mit dem Antigen ein. Typische Vertreter dieser Sofortreaktion sind der anaphylaktische Symptomenkomplex und die atopischen Allergien. Zu den letzteren gehören z.B. der Heuschnupfen, das Asthma bronchiale, das Prurigo von BESNIER, die urticariellen Hautausschläge. Die Erscheinungen bestehen in Ödembildung infolge gesteigerter Gefäßwandpermeabilität und in Kontraktionen der glatten Muskelfasern. Zur Erklärung der Sofortreaktionen wird angenommen, daß die von den immunologisch aktiven Zellen (Plasmazellen) erzeugten und freigegebenen Anti-

körper sich an Gewebszellen mesenchymalen Ursprungs fixieren. Dabei spielen die Mastzellen die Hauptrolle. Bei Antigenzufuhr werden dann an der Zelloberfläche Antigen-Antikörperkomplexe gebildet. Diese verursachen mit oder ohne Komplementhilfe eine Schädigung der Zytoplasmamembran, wodurch Enzyme frei werden. Als pharmakologisch aktivstes Enzym wird das Histamin angesehen und als seine Hauptquelle die Mastzellen (RILEY 1959). Die Rolle anderer Enzyme, wie die des Serotonins, Bradykinins und des Acetylcholin, ist bei den anaphylaktoiden Reaktionen sicher nicht so bedeutend. Nach BROCKHURST (1963) erscheint klinisch wichtig die langsam reagierende anaphylaktische Substanz (slow reacting substance of anaphylaxis: SRS-A), weil

1. sie die langdauernden Kontraktionen der glatten Muskeln verursacht, die durch die kurzwirkenden adrenalinartigen Vertreter nur vorübergehend überwunden werden können, und
2. noch kein spezifischer Antagonist dagegen entwickelt ist.

Eine andere Art von Sofortreaktionen entsteht, wenn der Antikörper gegen antigene Bestandteile bestimmter Zellen gerichtet ist. Hierher gehören z.B. die Bluttransfusions- und haemolytische Reaktionen sowie autoallergische Anaemien und u.a. die autoallergische Aspermatogenese.

Wenn das Antigen experimentell an einer Hautstelle in kurzen Intervallen wiederholt einverleibt wird, treffen sich die Antikörper aus dem Blutserum und das Antigen aus dem subcutanen Gewebe in der Nähe der Gefäßwand in großen Mengen und formen Antigen-Antikörperkomplexe. Dies führt zur Leukozyteninfiltration, die nach COCHRANE (1960) dann zu den nachfolgenden Erscheinungen führt. Die Leukozyten werden durch die phagozytierten Komplexe geschädigt, so daß ihre Enzyme frei werden und ihrerseits zu einer Endothelschädigung der Gefäßwand führen. Es kommt dann zur Thrombose der Gefäße, zu Blutungen und zur Nekrose des betroffenen Gewebes. (arthus - phänomen).

Ein gemeinsames Kennzeichen der anaphylaktoiden Überempfindlichkeit ist, daß sie sich von einem Tier auf ein anderes durch das Einspritzen des Blutserums des sensibilisierten Tieres übertragen läßt. Man folgert daraus, daß die betreffenden Überempfindlichkeitserscheinungen durch Antikörper verursacht werden, die frei im Serum vorhanden sind. Es kämen dafür mindestens zwei Arten von freien Antikörpern in Frage, nämlich die zytophilien Antikörper, die eine Rolle bei den atopischen Allergien unter dem Namen Reagine spielen, und präzipitierende Antikörper, die bei dem eben beschriebenen Artusphänomen sowie bei der verzögerten Serumkrankheit wirksam sind (COOMBS & GELL 1963).

## ENTZÜNDLICHE ERSCHEINUNGEN UND IHRE GENESE BEI DER TUBERKULINARTIGEN ÜBEREMPFINDLICHKEIT

Die Reaktion tritt nach einem Intervall von 24–48 Stunden auf. Sie ist häufig umschrieben, knötchenförmig. Histologisch findet man weniger Ödembildung als Zellinfiltration. Dabei handelt es sich um ein Rundzellen- und Epitheloidzelleninfiltrat. Die für das Arthusphänomen charakteristischen Leukozyten fehlen meist. Diese Reaktionsweise wurde in typischer Form bei der Tuberkulinprobe beobachtet. Da nach CROWLE (1962) solche Erscheinungen auch bei allen anderen Infektionen beobachtet werden, könnte man sie allgemeiner als Infektionsallergie bezeichnen.

Die pharmakologischen Agenten, welche die Gewebsveränderungen bei der verzögerten Überempfindlichkeitsreaktion vermitteln, sind nicht bekannt. Wohl bekannt ist aber, daß dieser Überempfindlichkeitstyp nicht durch Serum, jedoch durch weiße Blutzellen von einem sensibilisierten auf ein nicht sensibilisiertes Tier übertragen werden kann. Dabei haben sich als beste Überträger die rundkernigen weißen Blutzellen, d.h. die Lympho- und Monozyten erweisen. LAWRENCE, der als erster diese Beobachtungen machte, nahm deswegen an, daß die Antikörper, die für die verzögerte Überempfindlichkeit verantwortlich sind, nicht frei im Serum kreisen sondern an Zellen gebunden sind. Er nannte sie cell-bound antibodies. Bei der Infektionsallergie werden klinisch und histologisch zwei Entzündungsformen beobachtet, die granulomatöse und die nichtgranulomatöse. Klinisch ist die erste durch umschriebene, chronisch verlaufende Herdbildung gekennzeichnet und die zweite durch diffuse, mehr akut verlaufende Entzündungsprozesse. Histologisch finden sich bei der nichtgranulomatösen Entzündungsform vorwiegend die rundkernigen Formen der weißen Blutzellen: Lymphozyten, Monozyten und Plasmazellen. Bei der granulomatösen neben Monozyten auch deren Übergangsformen, die Epitheloid- und Riesenzellen. Alle genannten Zellformen stammen vom immunologisch wirksamen Gewebssystem. Das Zustandekommen des zellulären Infiltrats und die Neigung zum Rezidivieren der Entzündungsreaktionen kann man sich auf folgende Weise vorstellen. Das Antigen (meist handelt es sich dabei um komplexe Antigen-träger, wie es die Mikroorganismen sind), hat im Sensibilisierungsprozeß zur Proliferation einer Kolonie immunologisch kompetenter Zellen geführt. Die Bildungsstätte dieser spezifischen Kolonie kann sich im Organ befinden, wo sich der Antigen-träger angesiedelt hat, in den regionären Lymphknoten, die der Eintrittspforte des Antigen-trägers zugehören, oder bei Generalisierung des Anti-

gens in der Milz. Im weiteren Verlauf kann die Zahl der den betreffenden Antikörper bildenden Zellen abnehmen, doch sie verschwinden nie ganz. Ihr Erhaltenbleiben kann man sich schwer vorstellen, wenn man annimmt, daß die Lymphzellen nach ihrer Entwicklung zur Reife (die nach GUY SAINTE MARIE (1964) eine Folge von 8 Mitosen durchläuft) absterben. Es sei denn, man schließt sich der Meinung von HAMILTON (1957) aufgrund seiner Experimente an, nach der die DNA und die RNA der abgestorbenen Lymphzellen von den jungen aufgenommen und eingebaut werden und somit der Schlüssel zur Erzeugung des spezifischen Antikörpers auf die neue Lymphzellen-Folge übertragen wird.

Tritt an irgendeiner Stelle in einem Organismus mit einer Infektionsallergie dasselbe Mikrobenantigen wieder auf, so wandern die sensibilisierten Zellen zu dieser Stelle. Dabei gehen wahrscheinlich auch andere, noch nicht sensibilisierte Lymphzellen mit. DAVID und Mitarbeiter (1964) beobachteten experimentell, daß die immunologische Spezifität *in vitro* von 2,5% sensibilisierter Zellen auf 97,5% nicht sensibilisierter Zellen übertragen werden kann. Es wäre also berechtigt anzunehmen, daß die noch nicht sensibilisierten Lymphzellen in einem Infiltrat, das auf einer Infektionsallergie beruht, nach einer bestimmten Zeit in der Lage sein werden, dieselben Antikörper zu erzeugen.

Es ist demzufolge höchstwahrscheinlich, daß die Infiltrate bei der Infektionsallergie zumindest teilweise immunologisch spezifisch sind.

Daß bei der Infektionsallergie die entzündlichen Erscheinungen auf das Zusammentreffen von sensibilisierten Zellen und Antigen beruhen, scheint heute durch zahlreiche experimentelle Beobachtungen erwiesen. WAKSMAN (1959) fand z.B., daß bei passiver Sensibilisierung von Tieren die Entzündungsreaktion auf das Antigen der Anzahl der übertragenen Lymphzellen proportional war. WAKSMAN zeigte auch, daß alle Mittel, die zu einer Lymphopenie führen, die entzündlichen Erscheinungen bei der verzögerten Überempfindlichkeit unterdrücken können. RAFFAEL zeigte seinerseits, daß eine gleichzeitig bestehende anaphylaktoide Überempfindlichkeit nicht beeinflußt wird.

Über die näheren Vorgänge, die beim Zusammentreffen von Antigen mit sensibilisierten Zellen ablaufen, ist folgendes bekannt: WAKSMAN (1959) meint aufgrund von *in vitro*-Experimenten, daß bei geringen Antigenmengen eine Proliferation der Lymphzellen eintritt, welche die entsprechenden Antikörper enthalten und bei größeren Mengen von Antigen eine Nekrose dieser Zellen die Folge ist. Dabei sollen nach FAVOUR nur Zellen lymphozytären Ursprungs betroffen sein. Die Parenchymzellen werden indirekt geschädigt, sei es durch Enzyme, die von den absterbenden Lymphozyten frei werden, sei es dadurch,

daß sich das Antigen an ihre Oberfläche heftet und so die Parenchymzelle zum Angriffsziel der sensibilisierten Lymphozyten macht. Das Ende der entzündlichen Reaktion tritt ein, wenn entweder das Antigen eliminiert ist oder die sensibilisierten Zellen verbraucht sind und sich keine neuen mehr bilden (LAWRENCE und WAKSMAN).

Klinisch ist beim Beginn einer Uveitis oder eines Uveitisrezidivs nicht selten eine starke Permeabilitätsstörung der Blut-Kammerwasserschranke mit eiweißreicher und leukozytenhaltiger Exsudation in die Vorderkammer zu beobachten, d.h., die Zeichen einer anaphylaktoiden Reaktion leiten einen Entzündungsprozeß ein, der weiter nach Art einer Mikrobenallergie sich entwickelt. Andererseits sind im Verlauf einer typischen granulomatösen Entzündungsreaktion häufig nichtgranulomatöse Schübe zu beobachten. All das deutet schon darauf hin, daß die verschiedenen Reaktionsformen eines einmalsensibilisierten Organismus ineinandergreifen können. Dadurch wird es für den Augenarzt oft schwierig, eine eindeutige Diagnose auf granulomatöse oder nichtgranulomatöse Uveitis zu stellen. Hier sei noch die Meinung von ASHTON (1955) zitiert, nach welcher entgegen der von WOODS das Bestehen einer granulomatösen Entzündungsform kein Hinweis auf eine Mikrobenansiedlung sei. Sie sei nur die Folge eines chronischen Verlaufs der Entzündungsreaktion bei der Mikrobenallergie, während die nichtgranulomatöse Entzündungsform der Ausdruck der akuten Verlaufsweise sei; daraus könne man aber nicht schließen, ob Mikroben in der Uvea anwesend sind oder nicht. Wir selbst neigen zu der Auffassung, daß der umschriebene Herd die Folge einer auf einen kleinen Bereich der Gefäßhaut beschränkten direkten Wirkung des Erregers ist.

#### AUTOIMMUNOLOGISCHE ENTZÜNDUNGSREAKTIONEN

Die Überempfindlichkeitszustände, die bisher besprochen wurden, setzen das Eindringen von außen eines lebenden oder nicht lebenden Antigenträgers voraus. Dies allein genügt aber nicht – auch im Experiment sprechen nicht alle Tiere einer Immunisierungsreihe an. Es ist also seitens des Empfängers eine gewisse konstitutionelle Bereitschaft zur Reaktion notwendig. Diese Reaktionsbereitschaft ist auch eine Voraussetzung zur Erzeugung von Antikörpern, die nicht mehr gegen fremde sondern gegen körpereigene Substanzen gerichtet sind. Man spricht bei solchen Störungen nicht von einer Überempfindlichkeit sondern von einer *Immunopathie*. Die daraus entspringenden krankhaften Zustände werden Autoimmunkrankheiten genannt.



Bei der Pathogenese der autoimmunen Erscheinungen handelt es sich prinzipiell um drei Möglichkeiten (der Klassifikation von HIJMANS et al. (1961) entlehnt):

1. Das Antigen zirkuliert normalerweise nicht in der Blutbahn und ist daher dem immunologischen Apparat unbekannt (z.B. das Linseneiweiß, das Thyreoglobulin). Kommen solche Substanzen aus irgendeinem Grunde doch mit Zellen des immunologischen Systems in Berührung, so werden sie als fremd behandelt und können eine gegen sie gerichtete Antikörperproduktion verursachen. Das Ergebnis in den hier genannten Beispielen ist die phakoanaphylaktische Endophthalmitis und die chronische Thyreoiditis bei der Krankheit von Hashimoto.
2. Das Antigen ist für die Zellen des immunologischen Systems frei zugänglich, und es besteht normalerweise ihm gegenüber eine immunologische Toleranz. In einer bestimmten Lebensperiode bildet sich eine „Nicht-Toleranz“ aus. Das friedliche Nebeneinanderexistieren ist gestört, und es werden Antikörper gegen die körpereigene Substanz erzeugt. Nach BURNET (1959) ist die Störung auf das Auftreten von verbotenen immunologischen Zellgruppen zurückzuführen – „forbidden-clones“. Diese besitzen die Fähigkeit, Antikörper gegen körpereigene Substanzen zu bilden. Normalerweise werden sie unterdrückt; aus irgendeinem unbekanntem Grunde beginnen sie dann, sich zu vermehren. Damit treten auch die pathologischen Antikörper auf. Diese Auffassung ist durch experimentelle Beobachtungen gut begründet (BILLINGHAM, REUT & MEDAWAR 1953). Es sind aber auch zahlreiche Argumente dafür vorhanden, daß eine virale Infektion die Störung im immunologischen System verursacht und dies vorwiegend über eine Schädigung der Thymus. Das Ergebnis ist der Beginn einer abwegigen Antikörperproduktion (v. LOGHEM 1965). Die Schwierigkeiten der Erzeugung der Autoimmunkrankheiten dieser Gruppe im tierischen Experiment und die häufig beobachtete Störung in der Gammaglobulinsynthese bei Verwandten solcher Kranken sprechen zugleich für die große Bedeutung der konstitutionellen Veranlagung. Typischer Vertreter dieser Gruppe ist der Lupus erythematodes disseminatus.
3. Eine Zwischenstellung nimmt eine dritte Gruppe Autoimmunkrankheiten ein. Bei dieser wird angenommen, daß eine Veränderung der Beschaffenheit körpereigener Substanzen die Ursache ist. Die Änderung kann durch Zirkulationsstörungen entstehen – Abbauprodukte lädierter Gewebe wirken als Antigen – oder durch bakterielle und virale Infektion. Die letzteren spielen

dabei vielleicht die Rolle eines Adjuvantens, das ist ein Stoff – meist Bakterienbestandteil – der eine Substanz befähigt, eine Antikörperproduktion hervorzurufen. Als Beispiel eines autoimmunen Prozesses, der auf dem ersten Mechanismus beruht, sei das Postmyocardinfarktsyndrom genannt (EHRENFELD et al. 1961); für die zweite Entzündungsmöglichkeit sprechen u.a. die Experimente von BREYERE & WILLIAMS (1964). Sie verpflanzten normale Haut von Mäusen mit einer Virusleukämie auf gesunde Tiere vom selben Stamm – das Transplantat wurde abgestoßen. Dies trat nicht ein, wenn das Hauttransplantat von nicht viruskranken Mäusen stammte.

Am Ende unseres Versuches, eine schematische Übersicht der immunologischen Vorgänge und ihrer krankhaften Abweichungen zu geben, möchten wir kurz die Antikörper besprechen. Die frei im Serum vorhandenen Antikörper gehören den Serumproteinen an. Wenn man ihre Bewegungseigenschaften im elektrischen Feld untersucht, so findet man sie in der Hauptsache im Band der Gammaglobuline. Ein Teil der Antikörper, und das sind nach AUGUSTIN wahrscheinlich die zytophilen Antikörper, wandert in den Bereich der Beta 2 A- und Beta 2 M-Globuline. Die Länge des Gammaglobulinbandes spricht für die Unhomogenität der Antikörper. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, daß sie von verschiedenen Zellgruppen erzeugt werden. POTTER hat experimentell nachweisen können, daß Plasmazellenknoten, die nach Einbringen von Paraffinöl in die Peritonealhöhle von Mäusen entstehen, tatsächlich verschiedene Proteine erzeugen.

Die Gammaglobuline sind große, komplex gebaute Moleküle, die nach ihrem Sedimentieren in der Ultrazentrifuge zu den 7 S- und 19 S-Globulinen gerechnet werden. Im komplexen Antikörpermolekül sind durch POTTER (1963) mehrere Ketten gefunden worden. Durch Enzymwirkung läßt sich das Molekül in zwei Teile spalten. Der eine Teil trägt die Antikörpereigenschaften, der andere Teil besitzt jene Strukturelemente, welche dem Antikörpermolekül die Fähigkeit verleihen, auch als Antigen wirksam zu sein.

Die Antikörper, die im Laufe des Lebens in das Blutserum freigesetzt werden, können durch Serodiagnostik nachgewiesen werden. Die mengenmäßigen Änderungen der Antikörper im Blutserum, die in den Titeränderungen der positiven serologischen Reaktionen zum Ausdruck kommen, sagen uns etwas über die Tendenz in der Antikörpererzeugung. Das Steigen eines Titers würde einen aktiven Prozeß, das Abnehmen eines Titers einen abklingenden Prozeß andeuten. Das Gleichbleiben desselben spräche nur dafür, daß das getestete Antigen diesem Organismus schon bekannt ist, nicht aber, daß es die vorhandene

Entzündung verursacht hat. Diese letzte Aussage ist die häufigste und damit wird die Bedeutung jeder Serodiagnostik als Hilfsmittel für die ätiologische Diagnostik stark eingeschränkt. Die klassischen serologischen Untersuchungsmethoden beruhen auf dem indirekten Nachweis der Antikörper durch Präzipitation, Agglutination, Lyse oder Binden des Komplements. In der letzten Zeit hat eine neue immunologische Methode die Forscher besonders stark beschäftigt. Es ist die Methode der fluoreszierenden Antikörper von COONS & KAPLAN (1950). Bei ihr werden die Antikörper mit einem fluoreszierenden Farbstoff gekoppelt. Dann wird die bekannte, nun fluoreszierende Antikörperlösung mit dem zu untersuchenden Gewebs- oder Zellpräparat für eine halbe bis ganze Stunde bei 37° C inkubiert. In dieser Zeit wird dem Antikörper die Möglichkeit gegeben, sich an die eventuell darin enthaltenen Antigene zu heften. Werden die Antikörper durch das darauffolgende Waschen des Präparats nicht weggespült, bleiben sie also an den Zellen des Präparats haften, so sieht man mit Hilfe des UV-Mikroskops diese Zellen fluoreszieren. Dies ist ein direkter Nachweis des Antigens im Gewebe. Die Ausnutzung der verschiedenen Varianten der immunologischen Fluoreszenztechnik hat in Experiment und Klinik sehr viel zum Erringen neuer Anschauungen beigetragen. Durch diese Technik konnten auch zellgebundene Antikörper dargestellt werden. STAVITSKY (1964) gelang dies in den Lymphozellen der Milz von mit Diphtherie-Toxoid sensibilisierten Tieren. COONS und Mitarbeiter hatten schon 1955 mit der Fluoreszenztechnik Antikörper in den Plasmazellen nachweisen können.

Die zellgebundenen Antikörper werden so genannt, weil man von ihnen annimmt, daß sie sich im Zytoplasma der Immunzellen befinden. Diese Annahme wurde auf Grund der Beobachtung gemacht, daß bestimmte Überempfindlichkeitszustände nur durch Zellen übertragen werden können und daß sie wohl bei völligem Fehlen freier Antikörper in Erscheinung treten, z.B. bei Patienten mit Agammaglobulinaemie, nicht aber bei einer allgemeinen Erkrankung des lymphatischen Systems wie z.B. bei Morbus Hodgkin (KELLY et al. 1960). Nach LAWRENCE (1964) ist das Molekül dieser Antikörper kleiner als das Gammaglobulinmolekül und läßt sich durch Enzyme nicht spalten. Sie sind nicht nur als Bestandteile der unversehrten Zellen wirksam, da auch das Zell-Lysat die spezifische Sensibilität übertragen kann. LAWRENCE nannte sie auch „Transfer-factor“.

#### DIE ÜBEREMPFINDLICHKEITSREAKTIONEN DER UVEA

Die Überempfindlichkeitsreaktionen der Gefäßhaut besitzen einige Besonderheiten, die durch den anatomischen Bau und die Funktion des Auges bedingt sind.

Zunächst ist die Uvea durch ihren Gefäßreichtum und den Gehalt an glatten Muskelfasern ein Gewebe, das besonders stark zu Überempfindlichkeitsreaktionen neigt. Dazu kommt, daß auch geringe Entzündungserscheinungen wahrgenommen werden, da sie zu einer mehr oder weniger ausgeprägten Sehstörung führen. Die Folge ist eine relative Häufigkeit der Erkrankungen der Uvea auf der Grundlage von Überempfindlichkeitszuständen.

Das Augenninnere (der Glaskörper und die mit Kammerwasser ausgefüllten Räume) ist vom allgemeinen Blutstrom durch die Blut-Kammerwasserschranke und durch das Filtersystem des Kammerwinkels abgesondert. Andererseits sind Ciliarkörper und Irisstroma nicht besonders stark gegenüber dem Kammerwasser abgedichtet: Das Irisstroma durch ein – wenn überhaupt vorhandenes – doch sehr lückenhaftes Endothel (TONSİMIS 1959, MAGARI 1956), der Ciliarkörper durch eine doppelte Epithelschicht, welche ohne Bruch'sche Membran dem Stroma aufliegt. Demzufolge gelangen Produkte des Entzündungsvorgangs, der sich in der Iris oder im Ciliarkörper abspielt, leicht ins Augenninnere und werden wegen der genannten Barrieren nicht sofort weggespült oder resorbiert. Sie sammeln sich vor unseren Augen an und sind in vivo an der Spaltlampe und in vitro im Vorderkammerpunktat einer Untersuchung zugänglich.

Schon SALZMAN (1912) fand im Irisstroma ruhende Wanderzellen und FUCHS (1920) Plasmazellen. WITMER (1955) konnte mit der Methode der fluoreszierende Antikörper eine Antikörperproduktion im Uveagewebe nachweisen. Ebenso WOLKOWICZ und Mitarbeiter (1960), welche diese Antikörperproduktion auch nach Verpflanzung des Uveagewebes in ein Gewebeskultur-Milieu verfolgen konnten. Somit scheint die Möglichkeit einer lokalen, auf das Auge beschränkten Überempfindlichkeit gegeben.

Es sei noch erwähnt, daß es im Auge mindestens zwei Bestandteile gibt, die zu autoimmunen Entzündungsprozessen führen können: Die Linseneiweiße und die Bestandteile der Uvea – nach ELSCHNIG (1910) WOODS, COLLINS (1949) ist es das Uveapigment, nach ARONSON (1964) vielleicht ein anderer Bestandteil der Uvea. Man müßte als ein potentielles Autoantigen auch die Hyaluronsäure des Glaskörpers wegen ihrer Verwandtschaft mit den Mucopolysacchariden ansehen.

### *I. Anaphylaktoide Entzündungserscheinungen der Uvea*

Das beste Beispiel dafür ist die doppelseitige Iritis, die manchmal die Serumkrankheit begleitet. SEDAN & GUILLOT (1955) beobachteten einen Patienten, der dreimal eine akute Iridocyclitis nach einer Tetanus-Antitoxin-Injektion entwickelte. Jedesmal kam die Iridocyclitis in kürzeren Abständen; nach 3 Tagen,

nach 10 Stunden, nach 2 Stunden. Das Kürzerwerden der Intervalle kann auf ein Liegenbleiben der Antikörper im Uveagewebe zurückgeführt werden. Als cytophile Antikörper heften sich die anaphylaktischen Antikörper gern an Gewebszellen und an weiße Blutzellen im Gewebe. Beim nächsten Eindringen des Antigens über die Blutbahn ins Auge findet es hier Antikörper in Fülle, so daß die Antigen-Antikörperreaktion schneller und in größerem Ausmaß stattfinden kann.

## II. *Entzündungsreaktionen der Uvea bei Überempfindlichkeit vom verzögerten Typ*

### a. Nicht granulomatöse Uveaentzündung.

Der Nachweis von Bakterien im Vorderkammerpunktat im Verlauf einer endogenen, nichtgranulomatösen Uveitis gelingt äußerst selten (VERREY 1945; OFFRET & SARAUX 1960). Nach manchen Autoren sind auch diese seltenen positiven Befunde sehr vorsichtig zu verwerten (v. SALLMANN und Mitarbeiter 1951; BERENS und Mitarbeiter 1942). Ob die Bakterien im Uveagewebe während des akuten Stadiums vorhanden sind, ist nicht zu sagen, denn solche Augen kommen fast nie zur histologischen Untersuchung. Es wäre denkbar, daß bei allgemeinen Infektionen, wie z.B. einer Leptospirose oder einer Virusinfektion, es auch zu einem Ansiedeln der entsprechenden Erreger im Uveagewebe kommen kann. Ebenso könnte es aus einem chronischen Entzündungsherd, einem sogenannten Fokalherd, zur Bakterienstreuung und zu Bakterienmetastasen in das Uveagewebe kommen. Wenn wir von der seltenen schweren eitrigen Endophthalmitis absehen, die sich im Verlauf hochvirulenter allgemeiner Infektionen oder bei stark reduzierten Abwehrkräften als Folge der direkten zytotoxischen Wirkung der Mikroorganismen entwickeln kann, verursachen diese Metastasen keine Entzündung. Erst der wiederholte Kontakt derselben Bakterien oder deren Antigene mit dem Uveagewebe führen zur Entzündungsreaktion. Es handelt sich dabei nach WOODS und auch CROWLE (1962) um eine Überempfindlichkeitsreaktion, die dem verzögerten Typ angehört. Die verzögerten Überempfindlichkeitsreaktionen sind, wie bereits erörtert wurde, auf das Zusammenreffen von Antigenen und zellgebundenen Antikörpern zurückzuführen. Die endogene, bakteriell bedingte Uveitis wäre demnach eine Überempfindlichkeitsreaktion, die auf der Begegnung von Antigen mit gegen dieses Antigen sensibilisierten Immunzellen im Uveagewebe beruht. Um die Neigung zum Rezidivieren zu erklären, müßte man annehmen, daß im Uvea-

gewebe sensibilisierte Immunzellen nach dem ersten Entzündungsschub liegenbleiben und dann bei jedem neuen Auftreten von Antigenen damit reagieren und so das Rezidiv einleiten. Wenn diese Vorstellungen vom Entstehen und Verlauf einer rezidivierenden, nichtgranulomatösen Uveitis richtig sein sollten, müßte in solchen Fällen durch die Sanierung aller verdächtigen Herde die Antigenquelle versiegen und die Erkrankung ausheilen. Die Erfahrung zeigt jedoch, daß dies allzu oft nicht zutrifft. Darum wird in letzter Zeit eine andere Wirkungsweise der bakteriellen oder viralen Antigene erwogen. Der erste oder die ersten Kontakte zwischen dem Mikroorganismus oder seiner Antigene einerseits und dem Uveagewebe andererseits machen aus einem seiner Bestandteile ein Antigen. Dies kann dadurch erfolgen, daß der Mikroorganismus als „Adjuvant“ für den betreffenden Uveabestandteil wirkt (so wie experimentell die Tuberkelbazillen als Adjuvant – d.h. als Hilfsmittel bei der Erzeugung einer Überempfindlichkeit gegenüber einem Eiweiß verwendet werden). Das Kommen und Gehen der Entzündungsreaktionen kann dann nicht mehr durch eine intermittierende Antigenstreuung erklärt werden, da ja das Antigen im Uveagewebe dauernd anwesend ist. Dafür müßte ein Schwanken der Überempfindlichkeit verantwortlich gemacht werden, ein Versiegen und Wiederauftauchen der antikörperhaltigen Zellen. Was dieses Schwanken bestimmt, ist unbekannt. Sicher spielen allgemeine Faktoren, wie Nervensystem, Hormonlage, Resistenz und Alter eine wichtige Rolle. Die Überempfindlichkeit gegenüber einem Uvea-Antigen kann wahrscheinlich auch von interkurrenten Krankheiten in dem einen oder anderen Sinn beeinflußt werden, so daß z.B. eine Entzündung dadurch provoziert wird, ohne daß diese Erkrankung ätiologisch mitspielt. Die nichtgranulomatösen Uveitiden, die im Rahmen eines Morbus Bechterew (eines wahrscheinlich Autoimmunleidens) auftreten, deuten auf eine Verwandtschaft in der Antigenzusammensetzung der Gelenkkapsel und der Gefäßhaut des Auges (HOGAN 1964). In diesen Fällen ist die Uveaentzündung als Teilsymptom einer System-Autoimmunkrankheit aufzufassen.

- b. Bei der granulomatösen Entzündungsreaktion hat sich nach WOODS (1947) der Antigenträger selbst, d.h. der Mikroorganismus, im Auge angesiedelt. Hier genügt nicht mehr die unspezifische rundzellige Infiltration, um den Antigenträger wegzuräumen, sondern er wird durch einen Epitheloidzellenwall und nachträglich durch Bindegewebswucherung vom gesunden Gewebe isoliert. Entsprechend entstehen im klinischen Bild die umschriebenen

Chorioidalherde, umschriebene feste Verklebungen des Pupillarrandes, typische Irisknötchen. In der Umgebung dieser Herde bleiben wahrscheinlich sensibilisierte Immunzellen auch nach dem Abklingen der Entzündungsercheinungen liegen. Kommt es zu einer neuen Antigenstreuung, sei es aus einem anderen Organherd oder aus dem Augenerd selbst, so findet das Antigen in der unmittelbaren Umgebung des Augenerdes diese spezifische Antikörper tragenden Zellen vor, die Überempfindlichkeitsreaktion mit ihren Folgen nimmt wieder ihren Lauf. HOGAN (1962) nimmt beim Auftreten neuer Toxoplasmaherde beim Erwachsenen auch die Möglichkeit an, daß der Ausgangspunkt solcher Herde Parasiten sein könnten, die embryonal sich in der Retina angesiedelt haben und dort, ohne eine Reaktion zu verursachen, jahrzehntelang in Zystenform liegengelassen sind. Eine ähnliche Anschauung vertritt auch FRENKEL (1963). Was die Ruptur dieser Zyste verursacht oder was plötzlich zu einem Proliferieren der in einem Organherd abgeschlossenen Erreger führt, ist nicht bekannt. Um das Rezidiv bei der granulomatösen Uveitis zu erklären, hat man wie bei der nichtgranulomatösen Uveitis den komplexen Begriff des „Terrains“ nötig. Dem Kliniker drängt sich die Bedeutung des Terrains für den Verlauf einer Uveitis immer wieder auf. Ist die Ätiologie-diagnose für eine gezielte Behandlung wichtig, so ist der Einblick in das komplexe Zusammenwirken all dessen, was das Terrain ausmacht, nicht minder wichtig, wenn man den Verlauf einer Uveitis voraussagen und beeinflussen will.

Abgesehen von den Fällen, bei welchen die Uveitis als Teilerscheinung einer allgemeinen Erkrankung oder eines Syndroms auftritt, ist die Allgemeinuntersuchung meistens recht unergiebig. Die Folgerung, daß es sich bei einer Uveitis bei einem sonst vollkommen gesund erscheinenden Patienten um ein allein auf das Auge beschränktes pathologisches Geschehen handelt, ist sicher in den meisten Fällen nicht gerechtfertigt. Wahrscheinlicher ist es, daß klinisch sonst unscheinbare krankhafte Zustände doch in Erscheinung treten, wenn sie das Auge befallen. Es ist zu erwarten, daß mit Verfeinerung der Untersuchungstechnik, insbesondere der immunologischen Methoden öfter Abweichungen vom Normalen gefunden werden, als es jetzt der Fall ist.

In diesem Zusammenhang sind die sympathische Ophthalmie (s.O.) und die Endophthalmitis phakoanaphylaktica (E.ph.) besonders interessant. Bei beiden Leiden handelt es sich um eine primär in der Uvea auftretende Entzündung, die durch einen Eingriff oder ein Trauma eingeleitet wurde (die wenigen Ausnahmen ändern diese Regel nicht). Die Notwendigkeit des Kontaktes mit der Außen-

welt scheint dafür zu sprechen, daß etwas dazukommen muß, damit jener Sensibilisierungsprozess anlaufen kann, an dessen Ende die Überempfindlichkeit gegenüber einem Uveabestandteil oder einem Linseneiweiß sich befindet. Das fremde infektiöse Agens bakterieller oder viraler Natur bindet sich an den körpereigenen Bestandteil der Uvea oder Linse und macht es zu einem Auto-Antigen (WITEBSKY 1964; REMKY 1965; BLODY 1964).

In diese Richtung deuten auch die Ergebnisse der Versuche, im Tierexperiment die s.O. oder E. ph. zu reproduzieren. Es hat sich gezeigt, daß es nicht möglich ist, mit homologen (d.h. aus derselben Tierart stammenden) Uveae oder Linsen in einem Tier Antikörper dagegen zu erzeugen, wenn man nicht zusätzlich tote Tuberkelbazillen, welche im kompletten Adjuvant von FREUND enthalten sind, mit einverleibt. Die Mitwirkung der Bakterienbestandteile reicht aber im Experiment nicht aus, um eine typische s.O. hervorzurufen. Die Uveitis, die beim Tier durch Uveasensibilisierung hervorgerufen wird, ist eine nicht-granulomatöse Entzündungsreaktion, die kurz dauert und von selbst ausheilt. (ARONSON et al. 1963). Dagegen ist die s.O. eine granulomatöse Entzündungsreaktion, die unbehandelt mit nur vorübergehenden Ruheintervallen durch einen Dauerreizzustand des atrophischen Augapfels oder ein Sekundärglaucom zur E nukleation führt. Nur ausnahmsweise ist nach völliger Vernarbung und totalem Pigmentschwund der Gefäßhaut eine s.O. spontan zur Ruhe gekommen (FRIEDENWALD 1934).

Durch Linsensensibilisierung ist es überhaupt noch nicht gelungen, im Tierexperiment eine echte autoimmune Uveitis zu erzeugen (GOODNER 1964).

Die s. O. sowie die E. ph. sind demzufolge experimentell nicht nachzuahmen. Klinisch sind sie auch in der Vorantibiotica-Ära selten gewesen, trotzdem perforierende Verletzungen und chirurgische Eingriffe häufig die Voraussetzungen dafür schaffen. Dies deutet wiederum auf die Rolle des „Terrains“ hin. Der äußere Anlaß genügt nicht, er muß im Organismus eine abwegige Reaktionsbereitschaft des immunologischen Apparates antreffen. Erst ein Zusammenspiel all dieser Faktoren führt zur Krankheit.

In den letzten Jahren hat man viel nach Antiuvea- und Antilinsen-Antikörpern bei Gesunden und bei Uveitis-Kranken geforscht und versucht, die ursächlichen Antigene näher zu bestimmen. Es folgen einige Ergebnisse dieser Untersuchungen:

1. Im Serum von Uveitis-Patienten wurden Antikörper gegen Uveagewebe und gegen Linseneiweiß in über 50% gefunden (PERKINS & WOOD; LUNTZ 1964; ARONSON et al. 1966).



2. Mit der besonders empfindlichen Haemagglutinations-technik fanden HACKET & THOMSON (1964) in etwa 50% aller von ihnen untersuchten Blutsera gesunder Personen ebenfalls Antikörper gegen menschliche Linseneiweiße.
3. NOZAKI et al. (1964) versuchten, das Uvea-Antigen mit fluoreszierenden Antiuvea-Antikörpern nach der Methode von COONS & KAPLAN in den verschiedenen Augengeweben und daneben im Nierengewebe zu lokalisieren. Sie fanden es in den Gefäßwänden aller Teile der Uvea, der Retina und der Nierenglomeruli sowie in der Linsenkapsel. Das Uveapigment färbte sich dabei nicht an.
4. MAISEL (1963) stellte mit Hilfe der Präzipitationstechnik in Agar-gel fest, daß die Linseneiweiße (Alpha-, Beta- und Gammakristalline) als Antigene mit Bestandteilen anderer ektodermaler Abkömmlinge verwandt sind: Mit Bestandteilen der Retina, des Pigmentepithels, der Haut und des Gehirns. Gegenüber Organen und Geweben mesodermaler Herkunft war keine Verwandtschaft festzustellen.

Diese in Kürze gebrachten experimentellen Befunde deuten auf zwei interessante Möglichkeiten hin.

1. Auto-Antikörper sind auch in gesunden Personen zu finden. GRABAR hat 1957 die Anschauung geäußert, daß es im Organismus einen physiologischen Autoimmunmechanismus gibt, um erschöpfte Zellen und deren Produkte zu binden und zu entfernen (zit. nach HACKET 1964). Ob es sich bei der Autoimmunkrankheit um eine pathologische Steigerung dieses normalen Vorgangs handelt oder um grundsätzlich andere Antigene und andere Antikörper, ist schwer zu entscheiden.
2. Die antigene Verwandtschaft der Uvea mit Bestandteilen der Gefäßwände einerseits und der Linse mit ektodermalen Bestandteilen andererseits legt die Möglichkeit nahe, daß ein autoimmuner Prozeß, der durch die verwandten Antigene außerhalb des Auges eingeleitet wurde, nachträglich krankhafte Reaktionen im Auge selbst verursachen könnte.

#### EIGENE UNTERSUCHUNGEN DES VORDERKAMMERPUNKTATS

Im folgenden möchten wir eine vorläufige Mitteilung über unsere an der Rotterdamer Augenklinik im Sommer 1965 begonnenen Kammerwasseruntersuchungen bei Uveitis-Patienten machen.

Durch die vergleichende Titerbestimmung hat WITMER (1952) nachgewiesen, daß in einem an Uveitis erkrankten Auge lokal Antikörper erzeugt werden. Er gebrauchte dazu die indirekte Haemagglutinationstechnik von BOYDEN (1951).

O'CONNOR (1957) konnte bei Toxoplasmose des Auges mit Hilfe der Präzipitationstechnik in Agar-gel im Kammerwasser Antikörper gegen Toxoplasmose-Antigene finden.

Wir gingen von der Vorstellung aus, daß bei einem Entzündungsprozeß, der auf einer verzögerten Empfindlichkeit beruht, das entzündliche Infiltrat eine große Anzahl Zellen, die spezifische Antikörper tragen, enthalten muß. Da die im Kammerwasser schwimmenden Zellen aus diesem Infiltrat stammen, müßte auch ein großer Teil von ihnen diese Antikörper enthalten, die gegen das ursächliche Antigen gerichtet sind. Der Nachweis der Antikörper kann durch zwei Methoden erfolgen.

1. Die Methode der fluoreszierenden Antikörper. Hier ist die zweistufige indirekte Technik zu verwenden, bei welcher die zu untersuchenden Zellen zunächst mit der Antigenlösung und nach Waschen in einer zweiten Stufe mit dem fluoreszierenden Antikörper inkubiert werden.
2. Außerdem steht die Methode der Markierung des Antigens durch radioaktive Isotopen zur Verfügung (FERNANDO 1960).

Wir wählten den ersten Weg. Daneben wandten wir als Routine die Präzipitationstechnik in Agar-gel nach OUCHTERLONY (1949) an, um das Kammerwasser gegenüber einigen Antigenlösungen auszutesten. In jedem Vorderkammerpunktat wurde außerdem der Eiweißgehalt quantitativ bestimmt und, falls die Konzentration es gestattete, eine vergleichende parallele Elektrophorese von Kammerwasser und Blutserum vorgenommen.

#### METHODIK

Gewinnung und Verarbeitung des Untersuchungsmaterials. Nach Oberflächenanästhesie wird die Hornhaut im temporal unteren Quadranten etwa 1 mm innerhalb des Limbus mit einem Duverger-Messer angestochen. Darauf wird mit einer feinen intravenösen Nadel an einer Blutzuckerpinzette nach Art der Züricher Augenklinik durch den so vorbereiteten Weg aus der Vorderkammer 0,15–0,25 cm<sup>3</sup> angesaugt. Es wird vermieden, die Vorderkammer völlig zu entleeren. Der durch die plötzliche Hypotonie auftretende Schmerz kann durch retrobulbäre Anästhesie völlig unterdrückt werden. Da diese jedoch auch unangenehm empfunden wird, wird sie nur bei stark gereizten Augen angewandt.

Das gewonnene Kammerwasser wird darauf in eine an einem Ende zugelötete 10–12 cm lange Glasröhre mit einem Lumendiameter von etwa 2 mm langsam eingespritzt. Das offene Ende wird mit einer Gummikappe geschlossen, die das Röhrchenende von außen umfaßt. Die schmale Glasröhre wird darauf mit der Gummikappe nach unten in einem Reagenzglas durch einen durchbohrten Gummistöpsel festgeklemmt (s. Fig. 1) und darauf bei 2500 rpm 10–15 Min. zentrifugiert. Dann wird die Gummikappe abgehoben, wobei in ihr eine kleine Menge von Kammerwasser zurückbleibt. Nun werden die auf dem Grund der Kappe sedimentierten Kammerwasserzellen mit einem feinen Glasstäbchen in die kleine Flüssigkeitsmenge durch leichtes Umrühren suspendiert, darauf diese in eine Haemotokrit-Kapillare aufgesogen. Aus der Kapillare lassen sich dann 5–6 kleine Tröpfchen auf Objektgläser auftragen. Für unsere bisherigen Untersuchungen haben wir nur drei etwas größere Tropfenpräparate hergestellt. Das eine gebrauchten wir für eine Färbung nach PAPPENHEIM, das zweite für einen Fluoreszenztest mit Toxoplasma-Antigen, das dritte für eine Kontrolle zu diesem Test.

Die Tropfenpräparate werden an der Luft innerhalb 10–15 Minuten getrocknet. Darauf wird Präparat 1 nach PAPPENHEIM gefärbt. Präparat 2 und 3 werden in 96% igem Alkohol 20 Minuten lang bei 4° C fixiert, darauf an der Luft getrocknet, darauf in einer feuchten Kammer eine Stunde bei 37° in den Brutschrank gelegt, wobei Präparat 2 mit einem Tropfen aus einer Toxoplasma-Antigenlösung und Präparat 3 mit einem Tropfen physiologischer Kochsalzlösung im voraus bedeckt wurden. Nach dem Inkubieren werden beide Präparate getrennt in kalter gepufferter physiologischer Natriumchloridlösung 1/4 Stunde gewaschen. Dabei wird die Waschlösung einmal gewechselt. Nach Trocknen an der Luft werden beide Präparate wieder für eine Stunde mit der fluoreszierenden Antitoxoplasma-Antikörperlösung inkubiert. Darauf 1/2 Stunde in gepufferter kalter Natriumchloridlösung und 1/4 Stunde in Leitungswasser gewaschen. Dann werden die Präparate an der Luft getrocknet und in gepuffertem Glycerin eingebettet. Zur Fluoreszenzmikroskopie gebrauchten wir das Fluoreszenzmikroskop von Zeiss, wobei Filter III und IV als Erregerfilter und ein hellgelbgrünes Filter als Absorptionsfilter verwendet wurden. Bei der „Fluoreszenztechnik“ haben wir uns vorwiegend durch die von NAIRN (1962) herausgegebene Monographie leiten lassen.

Den Eiweißgehalt im Kammerwasser bestimmten wir nach der Methode von WUNDERLY. Bei dieser zunächst von GRASSMANN (1952) angegebenen und dann von WUNDERLY (1954) verwendeten Methode wird die Intensität der Amido-

schwarz-Färbung eines Tropfens Kammerwasser auf ein Stück Fließpapier mit einer Standardreihe verschiedener Konzentrationen verglichen. Wir wählten diese einfache Methode, da wir allein eine orientierende Bestimmung des Eiweißgehaltes nötig hatten, denn wir haben die gewonnenen Eiweißwerte nicht für eine vergleichende Titeruntersuchung verwendet. Bei einem Eiweißgehalt über 1 % machten wir eine vergleichende Elektrophorese mit dem Blutserum des Patienten, wobei das Blutserum bis zur selben Konzentration vorher verdünnt wurde. Bei tiefer liegenden Eiweißkonzentrationen des Kammerwassers erhält man mit der Elektrophorese in Agar-gel nur undeutliche Bänder, die nicht für eine Bestimmung der Konzentration der verschiedenen Eiweißkomponenten zu verwerten sind. Wir haben in solchen Fällen die Elektrophorese in Acrylamid-Röhrchen gemacht, wodurch bis hinunter zu einer Konzentration von 0,2% noch eine deutliche Trennung der Eiweißfraktionen zu erreichen ist.

Die Präzipitationstechnik in Agar-gel nach OUCHTERLONY verwendeten wir zur Austestung des Kammerwassers gegenüber Toxoplasma-Antigen, Uvea-Antigen, Linsen-Antigen und zugleich gegen ein Antigammaglobulinserum. Die Antigenlösungen wurden wie folgt vorbereitet:

*Toxoplasma-Antigen.* 1 ml frisch gewonnenes Peritonealexsudat von mit Toxoplasma (RH-Stamm) infizierten Mäusen mit einem Gehalt von etwa 30 Parasiten pro Feld wird mit 2 ml Natriumchloridlösung verdünnt und darauf dreimal bei 20° eingefroren und wieder aufgetaut, um möglichst ein Aufbrechen der Parasiten zu erzielen. Die Suspension wird dann in Mengen von 0,5 ml bei 20° aufbewahrt. Jede Probe wurde nicht mehr als dreimal verwendet, da bei dem häufigen Auftauen die Antigene sich verändern.

*Uvea-Antigen.* Es wurden die Uveae aus Augäpfeln verwendet, die zur Spendung von Hornhautmaterial am Vortage enukleiert und in einer feuchten Kammer bei + 4° C bis zur Hornhautübertragung aufbewahrt worden waren. Sofort nach dem Eingriff wurde die Gefäßhaut herauspräpariert, bei 20° eingefroren und dann, ohne aufgetaut zu werden, in einem Gefrier-Vacuumapparat ausgetrocknet. Die ausgetrocknete Uvea wurde dann mit Pinzette und Schere in möglichst kleine Teile zerstückelt, darauf in 2 ml Natriumchloridlösung suspendiert und dann 24 Stunden bei -20° gelagert. Danach wurde die Suspension zentrifugiert und die Eiweißkonzentration im Supernatant auf 1% eingestellt.

*Linsen-Antigen.* Die meist klaren Linsen derselben Augäpfel wurden in einem Verhältnis von 1 Linse pro 3 ml physiologischer Natriumchloridlösung durch Reiben mit einem Glasstab homogenisiert, darauf zentrifugiert und das Supernatant auf einen Eiweißgehalt von 1% eingestellt.

Bei der Fluoreszenztechnik wurde die oben angegebene Toxoplasmasuspension noch zusätzlich  $\frac{1}{2}$  Stunde bei 3000 rpm zentrifugiert, um möglichst alle Parasiten zu sedimentieren und dann das Supernatant als Antigenlösung verwendet.

Als Antitoxoplasma-Antikörper wurden hochtiterige Patientensera mit einem Titer im Sabin-Feldman-Test von über 1 : 4000 verwendet. Die Gammaglobulinfraktion wurde durch mehrmaliges Präzipitieren mit gesättigter Ammonium-Sulfatlösung gewonnen und darauf mit Fluoresceinisothiocyanat (FITC – „Sylvana“) nach COCHRANE (1960) konjugiert, wobei die Proportion FITC/Eiweiß 50 mg pro 1 g gewählt wurde. Die konjugierte Gammaglobulinlösung wurde zunächst von dem nicht reagierenden Fluoresceinfarbstoff befreit, indem wir sie durch eine 50 g-Sephadex-Kolonnen laufen ließen. Dann wurde sie zusätzlich mit getrocknetem Leberpulver absorbiert.

Bisher wurde das Kammerwasser von 48 Patienten mit vorwiegend vorderer Uveitis untersucht. Da die Kammerwasserzellen der Hauptgegenstand unseres Interesses gewesen sind, haben wir in dieser ersten Periode unserer Untersuchung die Punktion nur dann vorgenommen, wenn an der Spaltlampe mehr als einzelne Zellen in der Vorderkammer sichtbar waren.

Im Laufe unserer Arbeit haben wir folgende Beobachtungen gemacht.

1. *Gefärbte Zellpräparate.* Im Kammerwassersediment findet sich vorwiegend der rundkernige Zelltyp. Es handelt sich dabei um monozyten- und lymphozytenähnliche Zellen. Echte Plasmazellen mit ihrer typischen Kernstruktur haben wir bisher nicht gefunden. In dem jeweiligen Vorderkammerpunktat herrschte gewöhnlich nur ein Zelltyp vor. Waren degenerative Veränderungen vorhanden, so wiederholten sie sich in den Zellen eines Präparates vielfach und in verschiedener Ausprägung. In zwei Präparaten waren reichlich Leukozyten vorhanden, was bei der endogenen Uveitis als seltener Befund gilt. In beiden Fällen handelte es sich um einen erst 24–28 Stunden dauernden frischen Schub einer diffusen, nichtgranulomatös erscheinenden Iridocyclitis. Aus der geringen Zahl der untersuchten Zellsedimente hatten wir den Eindruck, daß bei den diffusen Formen (die genannten zwei Fälle ausgenommen), hauptsächlich das lymphoidzellige Exsudat zu beobachten war, während bei den herdförmigen Formen das monozytoide Exsudat überwog. Wir haben zweimal Bakterien gefunden: Einmal Diplokokken im Zytoplasma großer, epithelähnlicher Zellen, ein anderes Mal xeroseartige Bakterien, die frei im ganzen Präparat verstreut waren. Wir nehmen an, daß es sich

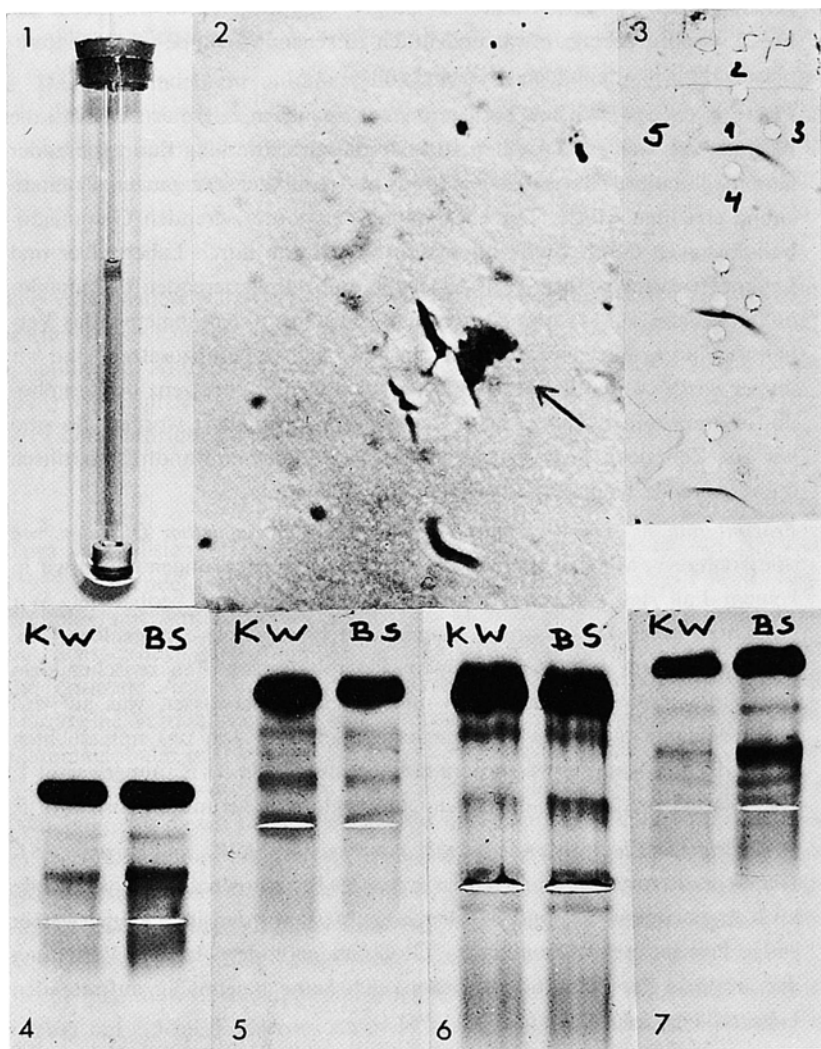


Fig. 1—7.

in beiden Fällen um Verunreinigungen durch die Punktion von außen her gehandelt hat. Als interessanten zufälligen Befund möchten wir die in der Fig. 2 wiedergegebene, etwas undeutlich zu sehende Gruppe von vier toxoplasmaähnlichen Gebilden wiedergeben.

2. *Fluoreszenztechnik*. Schon bei den ersten Versuchen zeigte es sich, daß die Neigung der weißen Blutzellen zu unspezifischer Bindung fluoreszierender Gammaglobuline ein großes Hindernis auf dem Weg der ganzen Untersuchung errichten würde. Trotz Reinigung der fluoreszierenden Gammaglobulinlösungen durch Gelfiltration und Absorption durch Leberpulver und Leukozytensuspensionen, trotz Versuche, mit fluoreszierenden Gammaglobulinlösungen aus Tieren zu arbeiten sowie beim Konjugieren das Verhältnis Fluoreszenzfarbstoff/Eiweiß bis auf 5 mg/1 g herabzusetzen, sind wir immer wieder durch das Auftreten unspezifischer Fluoreszenz der lympho- und monozytoiden Zellen des Kammerwassers behindert worden. So sind wir zur Zeit noch immer nicht in der Lage, über einwandfrei spezifisch fluoreszierende Kammerwasserzellen zu berichten.
3. *Präzipitation in Agar-Gel nach der Methode der doppelten Diffusion von OUCHTERLONY*. Mit den von uns verwendeten Antigenlösungen haben wir in keinem Fall das Auftreten eines Präzipitationsstreifens beobachtet. Wir brauchten dabei Toxoplasma-, Linsen- und Uveagewebs-Antigenlösungen. Regelmäßig kam es jedoch zu einem Präzipitationsstreifen zwischen dem Antigammaglobulin-Immuneserum und dem Kammerwasser, was auf den regelmäßigen Gehalt von Gammaglobulin in allen von uns untersuchten entzündlichen Kammerwasserpunktaten deutet (s. Fig. 3). Kammerwasser 1, Toxoplasma Ag 2, Uvea - Ag 3, Antigammaglobulin serum 4, Linsen-Ag 5.
4. *Vergleichende Elektrophorese von Kammerwasser (KW) und Serum (BS)*. Diese konnte vorgenommen werden, wenn der Prozentgehalt der Eiweißstoffe im Kammerwasser 1% und darüber war. Meist wurden im Kammerwasser einige Prozent mehr Albumine als Globuline gefunden. In der Verteilung der übrigen Eiweißfraktionen ließen sich keine regelmäßig auftretenden Unterschiede feststellen. (s. Fig. 4-7).

#### EXPERIMENTE MIT KANINCHEN

Ziel der Experimente.

1. Bei Kaninchen eine Uveitis zu erzeugen, die auf einer verzögerten Überempfindlichkeit gegenüber einem Eiweiß-Stoff beruht.

2. Mit Hilfe der Technik der fluoreszierenden Antikörper zellgebundene Antikörper a) in den Zellen der Vorderkammer und b) in den Zellen der Uveainfiltrate nachzuweisen.
3. Das Vorhandensein antikörperhaltiger Zellen in den Lymphknoten der sensibilisierten Tiere nachzuweisen a) durch die Methode der fluoreszierenden Antikörper, b) durch Einspritzen einer Lymphzellensuspension zusammen mit dem entsprechenden Antigen subcutan und intravitreal.

#### MATERIAL

Die Versuchstiere waren einige Monate alte holländische Kaninchen mit einem mittleren Gewicht von 3,5 kg. Als Antigen wählten wir menschliches Gammaglobulin, als Antikörperquelle wurde ein Antiserum verwendet, das 0,45 mg pro ml präzipitierbare Antikörper enthielt (Antigen und Antiserum wurden vom Laboratorium für Bluttransfusion bei Amsterdam geliefert).

#### METHODIK

Zum Sensibilisieren wurde die Methode von SALVIN, PAPPENHEIMER UND UHR (1957) verwendet, nach der anstelle eines Antigens ein Antigen-Antikörperkomplex mit Antikörperüberschuß gebraucht wird. Zur Gewinnung einer möglichst großen Menge von Antigen-Antikörperpräzipitaten wurde zunächst die optimale Antigen-Antikörperproportion aufgesucht. Zu diesem Zweck wurde eine Verdünnungsreihe von Antigenlösungen hergestellt, in welcher das Gammaglobulin in folgenden Mengen pro ml physiologischer Natriumchloridlösung aufgelöst wurde: 4 mg, 2 mg, 1 mg, 0,5 mg, 0,25 mg, 0,125 mg und 0,062 mg. Aus diesen Lösungen wurde in derselben Reihenfolge Antigenlösung in Kapillarröhrchen aufgezogen, dazu die gleiche Menge unverdünntes Antiserum. Die schnellste und deutlichste Ringbildung fand im Röhrchen 4 statt, d.h. in jenem Röhrchen, in dem die gleiche Konzentration von Antigen- und Antikörperlösung zusammengebracht worden war.

Zur quantitativen Präzipitation wurden 1,5 ml einer 0,5 mg per ml Antigenlösung mit 1,5 ml Antiserum gemischt und zur Präzipitation eine Stunde bei Raumtemperatur gehalten. Um noch eventuell freigebliebenes Antigen zu binden, wurde dazu noch 1 ml Antiserum gegeben und die Mischung noch eine Stunde bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Bei 4° C kam sie für 60 Stunden zur vollständigen Ausflockung in den Kühlschrank. Während dieser Zeit wurden die Lösungen noch zusätzlich dreimal durch leichtes Schütteln gemischt und



dann 30 Minuten zentrifugiert. Die Prüfung des Supernatants auf freie Antigene war negativ. Das gewonnene Sediment, d.h. die Antigen-Antikörperkomplexe wurden nun in steriler physiologischer Natriumchloridlösung suspendiert, und zwar die ganze Präzipitattmenge von etwa 3 mg in 10 ml. Von dieser Suspension spritzten wir 0,1 ml intravitreal in das eine Auge eines Tieres. Der Rest der Suspension von beinahe 10 ml wurde mit 10 ml komplettem FREUNDSchen Adjuvants gut gemengt, so daß eine milchige Emulsion entstand. Davon bekamen zwei Tiere je 2 ml subcutan gespritzt an je zwei Stellen auf beiden Seiten der Wirbelsäule zwischen den Schulterblättern. Auf diese Weise injizierten wir pro Tier 0,15 mg Antigen. Zehn Tage später bekamen sie die gleiche Emulsionsmenge noch einmal intracutan in dasselbe Gebiet der Rückenhaut. Nach weiteren 2 Wochen prüften wir das Serum der beiden Tiere auf freie Antikörper durch den Kapillarringtest. Das Ergebnis war negativ. Die Intracutaninjektion von 0,1 ml einer 1%igen Lösung von Gammaglobulin ergab jedoch eine deutliche Rötung der Haut mit einer Infiltratbildung von etwa 10 mm Durchmesser. Nun spritzten wir beiden Tieren 0,1 ml einer 1%igen Antigenlösung ins rechte Auge intravitreal. 48 Stunden nach dem Auftreten der Entzündungserscheinungen wurde an beiden Augen eine Vorderkammerpunktion vorgenommen. Die Entzündungserscheinungen sind nicht durch eine Behandlung beeinflußt worden. Um nachzuprüfen, ob das andere Auge nach derselben intravitrealen Antigeninjektion die Reaktion des ersten Auges wiederholen würde, behandelten wir eine Woche nach dem ersten auch das zweite Auge auf die gleiche Weise. Am Ende der dritten Woche nach der ersten Injektion wurden beide Tiere getötet, die Augen enukleiert und histologisch untersucht. Dazu wurde jeder Augapfel nach Fixation in Alkohol durch einen Meridionalschnitt in zwei Hälften geteilt, wobei die eine Hälfte für eine gewöhnliche Haematoxylin-Eosin-Färbung bearbeitet und die andere nach der Methode von GUY SAINTE-MARIE für eine Fluoreszenzfärbung vorbereitet wurde. Wie oben erwähnt, bekam ein drittes Tier 0,1 ml der Antigen-Antikörperpräzipitationssuspension intravitreal gespritzt. Zwei Wochen später erhielt dasselbe Tier 0,1 ml Antigen intravenös. Das Ziel war, festzustellen, ob durch das lokale Einverleiben eines Antigen-Antikörperkomplexes eine lokale Sensibilisierung des Auges stattfinden kann, welche dann nach intravenöser Antigengabe sich in Entzündungserscheinungen am injizierten Auge äußern würde. Um nachzuprüfen, ob eine intravitreale Injektion von Antigen bei einem vorher nicht sensibilisierten Tier eine Entzündungsreaktion hervorrufen würde, bekam ein anderes Tier 0,1 ml einer 1%igen Antigenlösung intravitreal gespritzt. Drei Wochen nach der intracu-

tanen Antigen-Antikörpereinverleibung wurden den beiden sensibilisierten Tieren die axialen Lymphknoten der einen Seite herausgeschnitten. Von der Fläche eines der Lymphknoten wurde etwas Gewebsmaterial abgeschabt und auf Objektträger ausgestrichen. Ein Teil dieser Ausstrichpräparate wurde nach PAPPENHEIM gefärbt und ein anderer nach der Methode der fluoreszierenden Antikörper bearbeitet. Die Lymphknoten selbst wurden fein geschnitten und gehackt, darauf die Gewebsteilchen in Tyrode's Lösung suspendiert. Nach dem spontanen Sedimentieren der groberen Gewebstücke wurden im Supernatant etwa 10 000 Zellen pro  $\text{mm}^3$  gezählt. 1 ml des Supernatants wurde mit 0,1 ml einer 1%igen Antigenlösung gut gemischt und davon einem nicht vorbehandelten Tier 0,3 ml intracutan und 0,1 ml intravitreal gespritzt.

#### *Technik der Eingriffe am Kaninchen*

1. Intravitreale Injektion. Allgemeinnarkose mit Nembutal 1–2 ml intraperitoneal. Eine halbe Stunde darauf wurde noch einige Male eine 1%ige Cocainlösung ins Auge getropft. Die Manipulation konnte dann meistens ohne Reaktion des Tieres durchgeführt werden. Der obere gerade Augenmuskel wurde mit einer Pinzette gepackt, der Augapfel nach unten gedreht und mit der Nadel schräg durch die Sklera etwa 7 mm oberhalb des Limbus eingestochen. Die schräg nach hinten gerichtete Nadelführung ist notwendig, um das Anstechen der sehr großen Kaninchenlinse zu vermeiden. Mit einer scharfen 20er Nadel bereitete der Einstich durch die Sklera keine Schwierigkeiten. Der Augeninnendruck stieg durch die injizierte Flüssigkeitsmenge von 0,1 ml deutlich an, kehrte aber meistens nach 5–10 Minuten zur Norm zurück, so daß eine Punktion der Vorderkammer nicht notwendig war.
2. Gewinnung von Kammerwasser. Die Vorbereitung des Tieres war dieselbe wie zur intravenösen Injektion. Die Vorderkammerpunktion beim Kaninchen am Limbus ist dadurch erschwert, daß in der Nähe des Kammerwinkels die Irisoberfläche sehr dicht an der Cornea liegt. Deshalb muß die Nadel etwa 3 mm vom Limbus ziemlich steil durch die Cornea in die Vorderkammer eingeführt werden. Die gewonnene Menge Kammerwasser übersteigt kaum 0,05 ml.
3. Gewinnung der Achsellymphknoten. Anästhesie: Subcutane Novocaininfiltration. Nach Entfernung der Haare in der Achselhöhle wird die Vorderpfote etwas gespreizt und der Hautschnitt parallel und axialwärts von der durch den Musculus pectoralis gebildeten Falte gelegt. Die etwa klein-

bohnen großen Lymphknoten können dann meist ohne Schwierigkeiten in der Tiefe der Achselhöhle gefunden werden. Die Hautwunde verheilt nach der Schließen mit Catgutfäden reaktionslos.

Vor der E nukleation der Augäpfel wurden die Tiere mit einer intravenösen Nembutalspritze getötet.

Die Vorbereitung des Materials erfolgte steril.

Vor Beginn der Experimente wurden die Augen der Tiere gründlich untersucht und nach dem Sensibilisieren täglich beobachtet. Der vordere Augenabschnitt mit Lupe in Fokalbeleuchtung, Glaskörper und Augenhintergrund direkt und indirekt gespiegelt. Nach der intravitrealen Injektion wurden die Augen zweimal am Tage kontrolliert.

#### *Methode der fluoreszierenden Antikörper*

Wir haben dabei folgende Technik angewandt: Zur Konjugation mischten wir dem mit Carbonat-Bicarbonat-Puffer gemengten Antiserum Fluoresceiniso-thiocyanat (FITC) der Firma „Sylvana“ in einem Verhältnis 5 mg/l g Eiweiß bei. Das Gemisch wurde über Nacht (etwa 12–14 Stunden) auf einem Vibriergerät im Kühlschrank bei 4° C geschüttelt. Danach wurde das konjugierte Antiserum durch eine Sephadex 50 G – Kolonne geführt, um den nichtgebundenen Farbstoff von den konjugierten Eiweißbestandteilen des Antiserums zu trennen. Die aus der Sephadex-Kolonne ausgelaufene verdünnte FITC-Eiweißkonjugatlösung wurde darauf auf einen Eiweißgehalt von 1 % konzentriert. Dies erreichten wir dadurch, daß wir die Eiweißlösung in einen feinen semipermeablen Schlauch brachten und den Schlauch selbst in trockenes Sephadex solange tauchten, bis dieses den Überschuß an Flüssigkeit aus dem Schlauch aufgenommen hatte.

Die histologischen Schnitte oder die Zellausstriche wurden auf folgende Weise behandelt: Das Präparat wurde mit einigen Tropfen der Antigenlösung (1 % Lösung von menschlichem Gammaglobulin) bedeckt und eine halbe Stunde bei 37° inkubiert. Darauf in kalter, auf 7,1 pH gepufferter physiologischer Kochsalzlösung 20 Minuten gewaschen. Danach das fluoreszierende Antiserum auf das Präparat getropft und noch einmal eine halbe Stunde bei 37° C inkubiert und dann zweimal 10 Minuten in kalter gepufferter Kochsalzlösung gewaschen. Nach Trocknen des Präparates an der Luft wurde es nach Zusetzen eines Tropfens gepufferten Glycerins mit einem Deckglas bedeckt. Zur Kontrolle wurden immer ein oder mehrere Präparate ohne Vorbehandlung mit der Antigenlösung gleich mit dem fluoreszierenden Antiserum inkubiert. Bei der

Bereitung der histologischen Schnitte für die Methode der fluoreszierenden Antikörper haben wir uns an das von GUY SAINTE-MARIE (1962) angegebene Verfahren gehalten.

#### ERGEBNISSE

1. Im Serum der sensibilisierten Tiere waren zwei Wochen nach der intradermalen Antigen-Antikörper-Injektion, (d.h. zum Zeitpunkt der intravitrealen Antigen-Injektion) keine freien Antikörper zu finden. Wohl trat zum selben Zeitpunkt bei intracutaner Antigengabe eine tuberkulinartige Reaktion in Form eines etwa 10–12 mm großen Infiltrats mit feinen Bläschen ein. Dies ließ uns das Bestehen einer verzögerten Überempfindlichkeit gegenüber menschlichem Gammaglobulin annehmen.
2. Das Auge des Tieres, dem der Antigen-Antikörperkomplex zuerst intravitreal gespritzt und 2 Wochen später das Antigen intravenös gegeben wurde, blieb reaktionslos.
3. Am Auge des Tieres, dem das Antigen rein (nicht als Komplex) primär intravitreal einverleibt wurde, konnten in einer Beobachtungszeit von 3 Wochen keine entzündlichen Erscheinungen gefunden werden.
4. Deutliche Entzündungserscheinungen traten an den Augen der beiden Tiere auf, welche mit dem Antigen-Antikörperkomplex zuerst allgemein sensibilisiert worden waren und dann mit dem Antigen intravitreal gespritzt wurden. Am Verlauf dieser Entzündungserscheinungen war folgendes bemerkenswert. Etwa bis 8 Stunden nach der intravitrealen Antigeninjektion blieben die Augen reaktionsfrei. In der zehnten Stunde stellte sich eine Hyperaemie der Bindehaut mit Sekretabsonderung ein, die Irisstruktur erschien etwas verwaschen. Im Pupillarbereich des Auges des einen Kaninchens war eine leichte fibrinöse Exsudation zu erkennen. 48 Stunden nach der intravitrealen Injektion waren die Entzündungserscheinungen noch stärker, um dann sehr allmählich im Verlauf von etwa 2–3 Wochen nachzulassen und zu verschwinden.

Die intravitreale Injektion von Antigen im zweiten Auge des sensibilisierten Kaninchens verursachte eine Reaktion, die den Entzündungserscheinungen am zuerst injizierten Auge entsprach und diese vielleicht noch etwas an Intensität übertraf. So waren am zweiten Auge des Kaninchens, an dessen erstem Auge eine fibrinöse Exsudation eingetreten war, noch zusätzlich kleine Blutungen zu beobachten. Etwa 3 Wochen nach der intravitrealen Injektion schienen die ent-

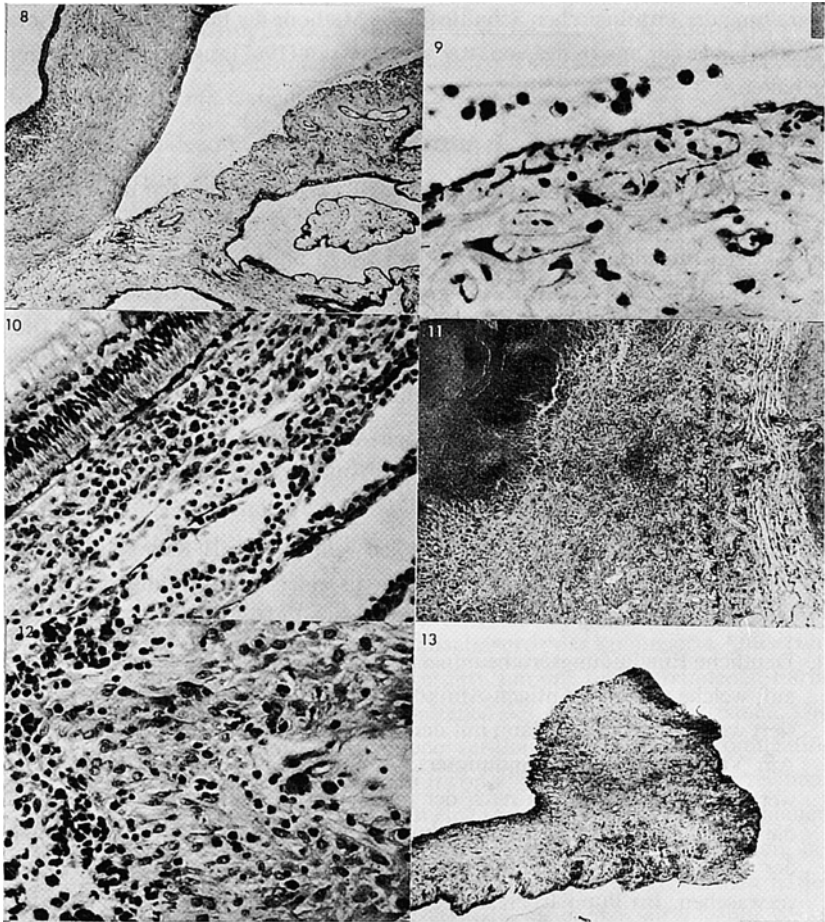


Fig. 8—13.

zündlichen Erscheinungen abgeklungen zu sein. Bei dem einen Tier hatte sich an beiden Augen eine membranöse Auflagerung im Pupillarbereich mit Verwachsungen des Pupillarrandes ausgebildet. Beim anderen Tier hatte die Entzündung zu einigen umschriebenen hinteren Synechien geführt. Bei diesem Tier war die Einblicksmöglichkeit in den Augenhintergrund gut erhalten, so konnte man einige große umschriebene Chorioidalherde erkennen. Die histologische Untersuchung mit HE-Färbung ergab folgenden Befund: In den Augen des Kaninchens mit den stärkeren Entzündungserscheinungen fand sich auf der

Irisoberfläche und im Pupillarbereich eine fibrinöse Membran, in welcher zahlreiche Zellen zu sehen waren, die größtenteils runde Kerne enthielten. Eine geringe Zahl der Zellen gehörte ihrer Kernform nach den polynukleären Leukozyten an (Fig. 8 u. 9). Das Irisgewebe war nur wenig ödematös, ebenso die Ciliarfortsätze. In den hinteren Abschnitten des Ciliarkörpers und in der Chorioidea war ein ausgedehntes diffuses Infiltrat zu finden, das zum größten Teil aus monozytoiden und lymphozytoiden Zellformen bestand (Fig. 10). An einer Stelle fand sich ein besonders massives Infiltrat, über welchem die Retina zerstört war. In diesem massiven Infiltrat waren homogenisierte Zonen nekrotischer Zellen zu erkennen, dichte, inselförmige Anhäufungen von lymphozytoiden und monozytoiden Zellen sowie große Nester in Proliferation begriffener Epitheloidzellen (Fig. 11 u. 12). Unter den Epitheloid- und Rundzellen waren auch zahlreiche, welche in ihrem Zytoplasma körniges Pigment enthielten. In den Augen der Kaninchen mit den geringeren Entzündungserscheinungen ließ sich diese massive Infiltratbildung nicht finden. Die Chorioidea war an mehreren Stellen diffus mit Rundzellen infiltriert und in der Iris, in der Nähe des Pupillarrandes, war in einigen Schnitten ein rundzelliges umschriebenes Infiltrat zu beobachten (Fig. 13). In allen enukleierten Augen waren in der Nähe des Ciliarkörpers und der Chorioidea im Glaskörper zahlreiche rundzellige Formen zu sehen (Fig. 14 u. 15). Auch hier fanden sich die polynukleären Leukozyten nur vereinzelt. Das Auge des Kaninchens, in welches eine Kombination von Lymphzellensuspension und Antigen intravitreal gespritzt wurde, zeigte am folgenden Tag nur eine geringe entzündliche Reaktion in Form von Rötung des Augapfels und Trübung im Glaskörper. Das andere Auge desselben Kaninchens, in welches eine reine Lymphozytensuspension injiziert worden war, blieb bis 3 Tage nach der Injektion reaktionslos. Darauf wurden beide Augen enukleiert und histologisch untersucht. Am ersten Auge des Kaninchens mit der kombinierten Lymphozyten-Antigeninjektion fanden sich in der Chorioidea an einigen Stellen geringe rundzellige Infiltrate und zugleich ein deutliches Ödem des Ciliarkörpers und seiner Fortsätze (Fig. 16). Am anderen Auge des Kaninchens, in welches eine Lymphozytensuspension allein gespritzt wurde, konnten keine besonderen entzündlichen Veränderungen histologisch festgestellt werden. Im Sediment des Vorderkammerpunktats wurde nur eine geringe Anzahl von Zellen gefunden, die den Lymphozyten und den Monozyten morphologisch angehörten. Der Ausstrich des von der Schnittfläche der Lymphknoten gewonnenen Materials ergab folgende Zellformen: Zahlreiche Zellen mit lichthem Protoplasma, zum Teil mit basophiler Körnelung und rundem Zellkern, der ein lockeres, liches

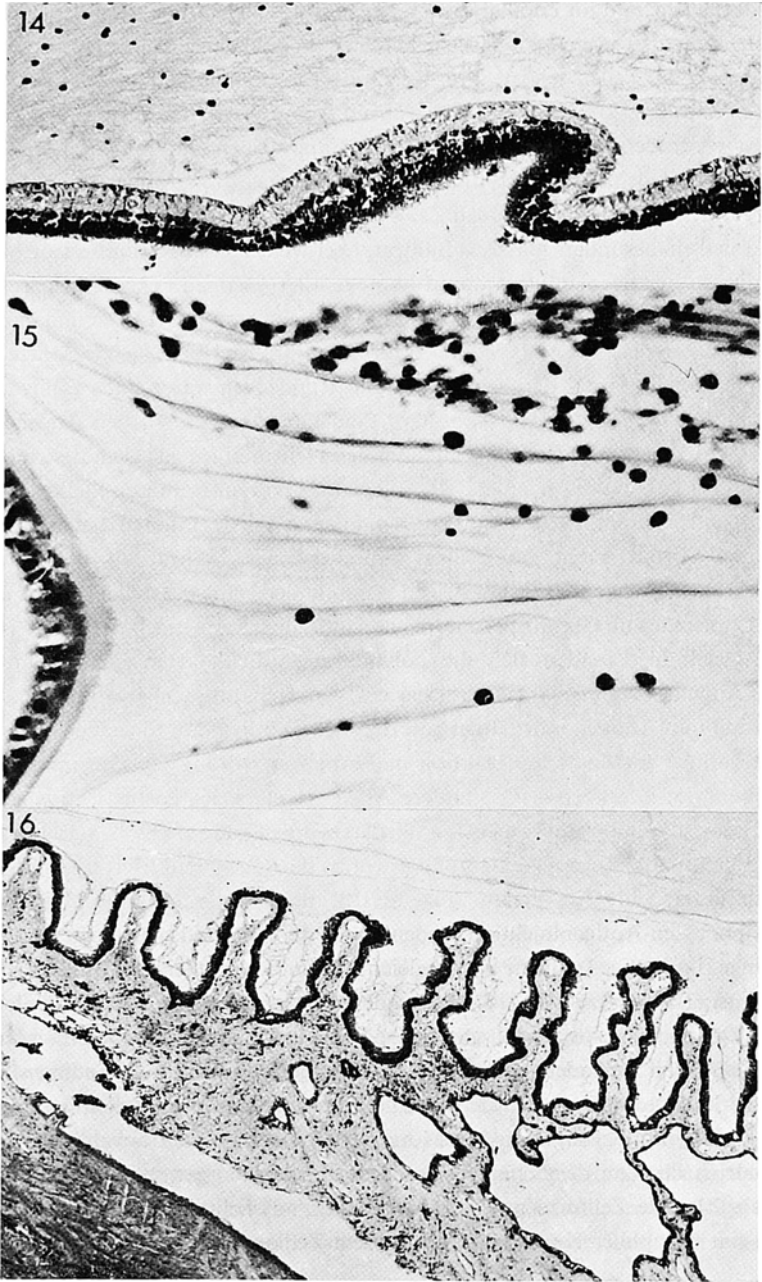


Fig. 14—16.

Chromatingerüst enthielt. Wahrscheinlich handelt es sich dabei um jüngere Lymphozytenformen sowie um Plasmazellen. Die Zahl der reifen Lymphozyten war verhältnismäßig gering.

*Ergebnisse der Untersuchungen mit der Methode der fluoreszierenden Antikörper.*

An den histologischen Schnitten wurden folgende Befunde erhoben: Im Bereich der massiven Zellinfiltrate waren an vielen Stellen stark fluoreszierende Zellen zu finden. Daß es sich dabei um eine spezifische Fluoreszenz handelte, schließen wir daraus, daß erstens in der nächsten Umgebung dieser fluoreszierenden Zellen zahlreiche, nichtfluoreszierende rundkernige Zellen zu sehen waren, und zweitens im Kontrollpräparat, welches mit dem fluoreszierenden Antiserum inkubiert worden war, ohne vorher mit einer Antigenlösung behandelt zu werden, keine deutlich fluoreszierenden Zellen zu finden waren. Es fiel auf, daß unter den Zellen, die sich als Exsudat in der Nähe der Irisoberfläche fanden, keine fluoreszierenden Zellen sichtbar waren, während unter den Zellen, die im Glaskörper in der Nähe der Ciliarkörperfortsätze und der Chorioidea gefunden wurden, eine nicht geringe Zahl fluoreszierender Zellen beobachtet werden konnte. Im Sediment der Vorderkammer konnten keine fluoreszierenden Zellen gefunden werden. Unter den Zellen, die durch Abschaben der Lymphknotenschnittfläche gewonnen worden waren, konnte bei einer großen Anzahl positive Fluoreszenz festgestellt werden (Fig. 17–21).

## DISKUSSION

Es war gelungen, mit Hilfe der verwendeten Sensibilisierungsmethode eine Überempfindlichkeit gegenüber menschlichem Gammaglobulin beim Kaninchen zu erzeugen. Daß es sich dabei um eine Überempfindlichkeit vom verzögerten Typus handelte, ist aufgrund folgender Beobachtungen als sehr wahrscheinlich anzunehmen. Erstens konnten im Blutserum der sensibilisierten Tiere keine freien Antikörper gefunden werden. Zweitens wurde bei der intracutanen Antigeninjektion drei Wochen nach dem Sensibilisieren der Tiere eine Hautreaktion festgestellt, die sich nach dem Typus der verzögerten Überempfindlichkeit entwickelte. Drittens konnten mit Hilfe der Technik der fluoreszierenden Antikörper in den Zellen der Regionärlymphknoten aus der Achselhöhle der sensibilisierten Tiere antikörpertragende Zellen nachgewiesen werden. Außerdem haben diese Zellen, wenn sie zusammen mit Antigen verabreicht wurden, an der Haut und im Auge eines nicht vorbehandelten Tieres leichte Entzündungserscheinungen hervorgerufen.



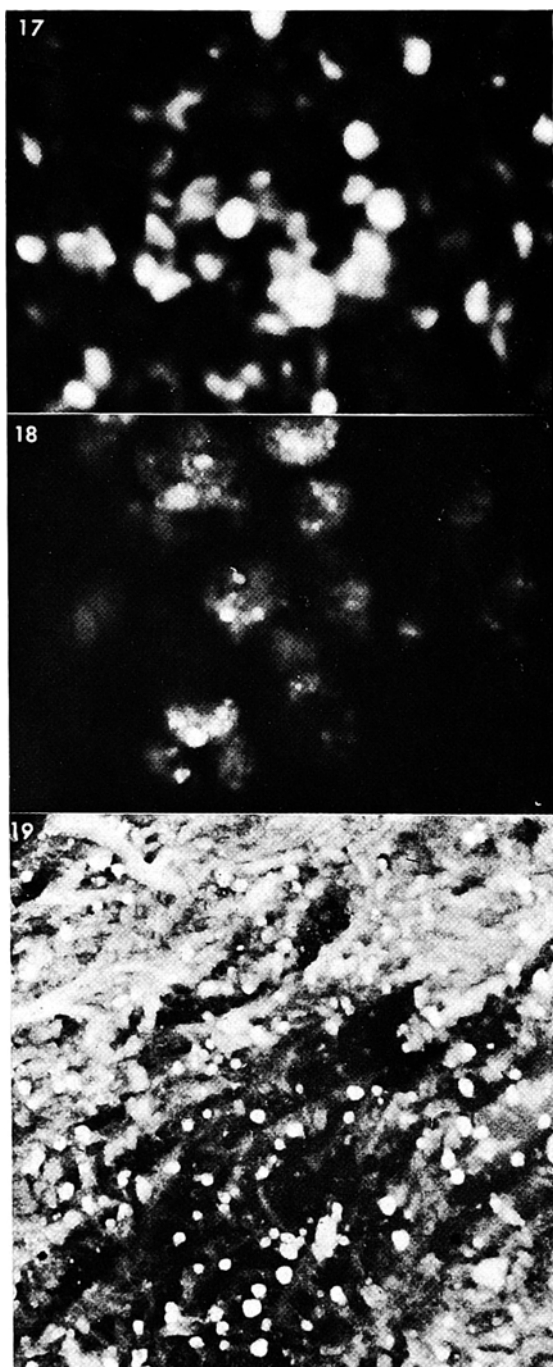


Fig. 19—20.

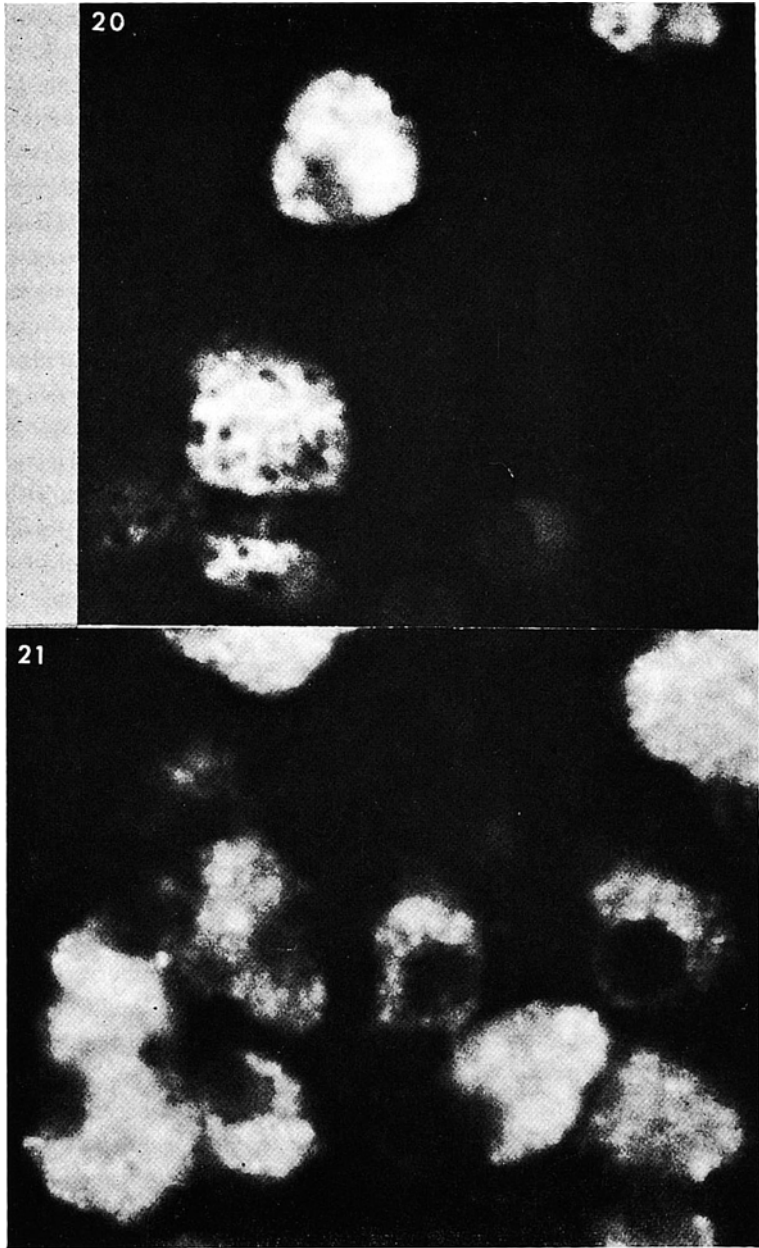


Fig. 20—21.

Bei den sensibilisierten Tieren konnte durch intravitreale Antigeninjektion eine Uveitis verursacht werden, die folgende Merkmale aufwies. Die Entzündungserscheinungen traten verzögert auf und entwickelten sich zu ihrem Höhepunkt erst nach 24–48 Stunden. Sie klangen sehr allmählich ab, wobei eine Synechienbildung des Pupillarrandes eintrat. Bei der histologischen Untersuchung wurde festgestellt, daß die rundkernigen Zellformen den Hauptbestandteil sowohl des Infiltrates in der Uvea als auch des Exsudates im Glaskörper und auf der vorderen Oberfläche der Iris darstellen. Außerdem konnte im Auge des einen Kaninchens eine intensive epitheloidzellige Proliferation erkannt werden.

Die Methode der fluoreszierenden Antikörper deckte eine große Anzahl fluoreszierender Zellen im entzündlichen Infiltrat auf.

Die beschriebenen Merkmale der Entzündung scheinen dafür zu sprechen, daß es sich bei der von uns experimentell erzeugten Uveitis um eine Überempfindlichkeitsreaktion vom verzögerten Typus handelt. Wir möchten noch hinzufügen, daß im Sediment des Kammerwassers, welches auf der Höhe der Entzündungserscheinungen zwei Tage nach der intravitrealen Antigeninjektion gewonnen wurde, vorwiegend rundkernige Zellformen zu finden waren.

Die intravitreale Injektion menschlichen Gammaglobulins in das Auge eines nicht vorbehandelten Tieres konnte keine Entzündungserscheinungen hervorrufen, auch nicht während einer längeren Beobachtungszeit von einem Monat. Es ist interessant, daß die kombinierte Injektion von Lymphzellen aus den Lymphknoten der sensibilisierten Tiere mit Antigen in das Auge eines nicht vorbehandelten Tieres eine leichte Entzündungsreaktion hervorrufen konnte. Diese Beobachtung wurde schon von BOKE & DICKHUES (1963) experimentell gemacht. Sie läßt darauf schließen; wie auch von den genannten Autoren hingewiesen wurde, daß die entzündliche Reaktion auf das Zusammentreffen von Antigen und antikörpertragenden Zellen beruht.

Der Versuch, durch lokale Sensibilisation mit Antigen-Antikörperkomplex und nachträglicher intravenöser Antigengabe eine allergische Uveitis zu erzeugen, blieb ohne Erfolg. Da es sich hier um ein einzelnes Experiment handelte, möchten wir daraus nicht den Schluß ziehen, daß das Ausbleiben der entzündlichen Reaktion auf die Unmöglichkeit einer lokalen Antikörperproduktion zurückzuführen ist. Es müssen mehr Experimente durchgeführt werden, um sicherer über die Möglichkeit zu diskutieren, daß bei der angewandten Art von Sensibilisierung eine lokale Erzeugung von antikörpertragenden Zellen stattfindet.

Die Behandlung der histologischen Präparate nach der Methode der fluoreszierenden Antikörper entdeckte zahlreiche fluoreszierende Zellen im Bereich der massiven Ciliarkörper- und Chorioideainfiltrate, d.h. in der nächsten Umgebung des intravitreal gespritzten Antigens. Unter den entzündlichen Zellelementen, die sich im Irisstroma und in der Nähe der Irisvorderfläche befanden, konnte keine deutliche Fluoreszenz festgestellt werden. Negativ war auch das Ergebnis der Untersuchung eines Zellpräparates aus dem Sediment des Vorderkammerpunkts, welches vom entzündeten Auge eines der Tiere gewonnen wurde. Wir sind geneigt, diese Beobachtung so zu deuten: Bei einer allergischen Entzündungsreaktion sind wahrscheinlich zwei Komponenten vorhanden. Eine immunologisch gesehen spezifische Komponente, die sich am Ort des Zusammentreffens von Antigenen und antikörpertragenden Zellen abspielt und eine unspezifische Komponente, die als begleitende Entzündungsreaktion in der weiteren Umgebung zustande kommt. Wenn dies tatsächlich so sein sollte, sind unter den Zellen in der Vorderkammer, die oft bei den akuten Schüben einer Chorioretinitis auftreten, kaum antikörpertragende Zellformen zu erwarten. Dementsprechend scheint die immunologische Zelldiagnostik mit mehr Aussichten auf Erfolg anwendbar zu sein, wenn es sich um eine Entzündung des vorderen Uveaabschnittes handelt.

Wie wir weiter oben bereits berichteten, haben wir versucht, bei Patienten mit einer Iridocyclitis die Methode der fluoreszierenden Antikörper als diagnostisches Mittel anzuwenden. Wir haben diese Versuche hauptsächlich deswegen aufgegeben, weil uns die Erscheinung der unspezifischen Fluoreszenz beinahe unüberwindbar erschien. Nach den Erfahrungen aus unseren Tierexperimenten möchten wir noch einen anderen Grund für die Schwierigkeiten bei der Anwendung der immunologischen Zelldiagnostik bei der Uveitis anführen. Es ist wahrscheinlich, daß in sehr vielen Fällen von Reizzuständen im vorderen Augenabschnitt und zelliger Exsudation in die Vorderkammer diese Zellen nicht direkt vom Ort der Auseinandersetzung zwischen Antigenen und den antikörpertragenden Zellen im Uveagewebe stammen. Sie sind sicher oft das Produkt einer den Hauptherd begleitenden perifokalen Entzündungsreaktion.

Wir sind überzeugt, daß weitere Untersuchungen auch mit anderen Methoden, z.B. der Markierung mit radioaktiven Isotopen, mehr Klarheit und neue Gesichtspunkte zum Problem der immunologischen Ätiologie-Diagnostik der endogenen Uveitis bringen werden. Vielleicht wird es dann auch möglich sein, durch präzisere Methoden der immunologischen Zelldiagnostik im einzelnen Fall mehr über die Ätiologie des Leidens zu erfahren.

Zur Kammerwasseruntersuchung und ihrem Ergebnis bei Uveitis-Patienten möchten wir folgendes bemerken: Zur Technik der Punktion der vorderen Kammer. Nach unseren Erfahrungen erleichtert das Vorpunktieren der Hornhaut mit einem Duverger-Messer das Einführen der Nadel in die vordere Kammer wesentlich. Zum Ansaugen des Kammerwassers erscheint uns die Blutzucker-Pipette, wie sie in der Züricher Augenklinik verwendet wird, besonders praktisch. Der Inhalt der Vorderkammer wird langsam in die Pipette durch Kapillarität angesaugt, wobei man leicht die angesaugte Menge und das allmähliche Flachwerden der Vorderkammer zugleich verfolgen kann. Hinsichtlich des Sedimentierens finden wir das von uns angegebene Verfahren praktischer, besonders wenn man aus einem Sediment mehrere getrennte Zellpräparate anfertigen will. Außerdem tritt dabei kein Verlust von Kammerwasser ein, denn das Röhrchen ist an dem einen Ende verschlossen, so daß nichts herausfließen kann, wohl aber die Zellen durch ihre Schwerkraft beim Zentrifugieren in die Gummikappe am anderen offenen Ende geschleudert werden. Beim Gebrauch der Zentrifugierröhrchen von VERREY erscheint uns nur unter äußerster Vorsicht ein Verlust von Kammerwasser vermeidbar zu sein. Dies ist wesentlich, wenn man nach dem Sedimentieren der Zellen das Kammerwasser serologisch untersuchen will.

Zur Morphologie des Zellsedimentes. Es ist uns nicht gelungen, eine gültige Korrelation zwischen klinischem Bild und gefundenen Zellformen zu finden. Wohl überwiegen bei den chronisch rezidivierenden Fällen die degenerativen monozytoiden Zellen, bei denen oft das Zytoplasma und der Zellkern durch Vakuolen stark aufgelockert erscheinen. Bei frischen Schüben werden besser erhaltene lympho- und monozytoide Zellen gefunden, Leukozyten nur vereinzelt bei akuten frischen Entzündungen. Trotz dieser Beziehungen erscheint es uns aber gewagt, aus der gefundenen Zellform zwischen granulomatöser oder nichtgranulomatöser Uveitis zu differenzieren oder den weiteren Verlauf der Entzündung vorauszusagen.

Zur Affinität fluoreszierender Gammaglobulinkonjugate möchten wir sagen, daß die Monozyten und die Lymphzellen sich gleich verhalten, während die Körnchen in den polynukleären Leukozyten zu einer besonders intensiven Fluoreszenz neigen.

In unseren Tierexperimenten verwandten wir beim Konjugieren eine Proportion von FITC zu Eiweiß von 5 mg zu 1 g. In den histologischen Präparaten ließ sich dann die spezifische Fluoreszenz deutlich von der unspezifischen oder der Eigenfluoreszenz der Gewebszellen unterscheiden. Bei den Untersuchungen

der Kammerwasserzellen konnten wir, wie wir oben schon mitgeteilt haben, die spezifische von der unspezifischen Fluoreszenz nicht sicher abgrenzen. Wir nehmen an, daß dabei auch folgende Gründe im Spiele sein könnten. Erstens wäre es denkbar, daß unter den von uns untersuchten Patienten (vorwiegend solche mit Iridocyclitis) keine waren, die in ihren Kammerwasserzellen Antikörper gegen das von uns verwendete Antigen, nämlich Toxoplasma-Antigen, enthielten. Zweitens, daß der Antigengehalt in unserer Toxoplasma-Antigenlösung nicht hoch genug und drittens der Antikörpergehalt in unserem Antitoxoplasmaserum nicht genügend hoch war.

Es wäre sinnvoll, bei einer Iridocyclitis in den Kammerwasserzellen nach Antikörpern gegen Uveagewebsbestandteile und in manchen Fällen gegen Linseneiweiß zu suchen. Dazu hätte man aber hochtiterige Antiuvea- und Antilinsensera nötig.

Wir selbst versuchten, Kaninchen gegen menschliches Uveagewebe zu sensibilisieren. Jedoch die verfügbaren Mittel und unsere Erfahrung reichten nicht aus, ein hochtiteriges Antiserum zu erhalten. Wir glauben aber, daß es einem erfahrenen immunologischen Laboratorium gelingen könnte. Somit hätte man die Möglichkeit, Antiuvea-Antikörper in Kammerwasserzellen zu suchen und eventuell nachzuweisen. Dies erscheint uns wichtig, denn es ist sehr wahrscheinlich, daß in vielen chronisch rezidivierenden Uveitiden eine autoimmunne Komponente dieser Art wirksam ist.

Was wir nicht mit der Technik der fluoreszierenden Antikörper erreichen konnten, versuchten wir mit der Methode der doppelten Diffusion in Agar-gel nach OUCHTERLONY. Wir suchten damit freie Antikörper im Kammerwasser gegen Linseneiweiße, Uveabestandteile oder Toxoplasma-Antigene zu finden. Die negativen Ergebnisse dieser Untersuchungsrichtung erklären wir uns dadurch, daß entweder keine präzipitierenden Antikörper gegen die getesteten Antigene vorhanden waren oder, wenn solche vorhanden waren, ihre Konzentration sich unter der Empfindlichkeitsschwelle dieser Methode befand. Als Nebenbefund bei dieser Untersuchung scheint uns erwähnenswert, daß wir stets Gammaglobuline im Kammerwasser fanden; ein mehr oder weniger stark ausgeprägter Präzipitationsstreifen war immer zwischen den Grübchen, in denen das Kammerwasser einerseits und das Antigammaglobulinserum andererseits eingebracht wurde, vorhanden.

Mit der vergleichenden Elektrophorese von Kammerwasser und Blutserum wollten wir feststellen, ob beim Durchlässigwerden der Blut-Kammerwasser-schranke im Laufe einer Uveitis die Eiweißbestandteile des Blutserums dem

Serumgehalt proportionell ins Kammerwasser übergehen oder der eine Bestandteil mehr als der andere, z.B. Gammaglobuline mehr als Albumin. Unsere Ergebnisse beruhen vorwiegend auf der Elektrophorese in Agar-gel auf Objektträgern, wobei eine Eiweißkonzentration im Kammerwasser von 1% und darüber notwendig war. Es zeigte sich dabei, daß das Kammerwasser prozentuell mehr Albumine und weniger Gammaglobuline als das Blutserum enthielt. In der Verteilung der übrigen Eiweißfraktionen ließen sich keine regelmäßig auftretenden Unterschiede feststellen. Daraus möchten wir den Schluß ziehen, daß die Uveitis die Durchlässigkeit der Blut-Kammerwasserschanke in dem Sinne beeinflußt, daß kein elektiver Übertritt des einen oder anderen Eiweißbestandteils aus dem Blutserum ins Kammerwasser stattfindet, wohl aber die kleineren Albuminmoleküle in größerer Menge diffundieren. Ob innerhalb der Gammaglobulinfraktion eine Auswahl von den am Ort der Entzündung benötigten Antikörper möglich ist, so daß daraus ein verhältnismäßig höherer Titer entstehen kann, bleibt weiter eine ungelöste Frage.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Nach einer Übersicht der immunologischen Reaktionen, die zur Antikörperbildung führen, werden deren krankhafte Nebenerscheinungen – die verschiedenen Überempfindlichkeitszustände und die Autoimmunkrankheiten – besprochen. Im Rahmen dieser Betrachtungen wird die Pathogenese der granulomatösen und nichtgranulomatösen Uveitis erörtert sowie Möglichkeiten, durch immunologische Untersuchungsmethoden eine Ätiologie-Diagnose zu stellen. Bei den eigenen Untersuchungen wird von der Auffassung ausgegangen, daß das entzündliche Infiltrat im Uveagewebe und die aus ihm stammenden Exsudatzellen in der Vorderkammer Antikörper gegen das ursächliche Antigen enthalten. Zur Bestimmung der zellgebundenen Antikörper wurde die indirekte Technik der fluoreszierenden Antikörper angewandt. Bisher konnte keine sichere spezifische Fluoreszenz festgestellt werden. Daneben wurden die Zellmorphologie im gefärbten Zellpräparat, die Eiweißbestandteile im Kammerwasser und freie Antikörper mit der Präzipitationstechnik in Agar-gel untersucht. Im Tierexperiment wurde eine allergische Entzündung der Uvea durch intravitreale Eiweißinjektion bei Tieren mit einer verzögerten Überempfindlichkeit verursacht. Bei den histologischen Untersuchungen mit Hilfe der Technik der fluoreszierenden Antikörper wurde festgestellt, daß im Infiltrat der Chorioidea und des Ciliarkörpers zahlreiche antikörperhaltige Zellen zu finden waren. Solche

Zellen konnten nicht auf den histologischen Schnitten in der Vorderkammer gefunden werden, auch nicht im Zellsediment des Vorderkammerpunktats. Es wird daraus gefolgert, daß die entzündliche Reaktion im vorderen Abschnitt der Uvea eine unspezifische Begleiterscheinung der in dem hinteren Abschnitt der Uvea, in der Umgebung des intravitrealen Antigendepots sich abspielenden spezifischen allergischen Entzündung sein könnte.

#### SUMMARY

After a review of the immunological responses giving rise to antibody formation, the author mentions the various possibilities of their clinical manifestations: such as allergy and auto-immune disease. From this point of view the aetiology of granulomatous and nongranulomatous uveitis has been discussed as well as the possibilities of a diagnosis based on the knowledge thereof. The author's investigations were based on the principle that the inflammatory cells in the uveal tissue, as well as those spreading from it into the anterior chamber would contain antibodies against the original antigen. In order to demonstrate the cellbound antibodies the technique of fluorescent antibodies was employed. However no specific fluorescent reaction has so far been encountered. Cytology and electrophoreses were performed on the aqueous fluid. Direct antibodies were searched for by way of the agarprecipitation technique of OUCHTERLONY. An allergic inflammation of the uvea was experimentally induced by intravitreal injection of the same antigen, in rabbits with a delayed type of hypersensitivity to human gammaglobulin. The histological examination of these eyes using the fluorescent antibodies technique established the existence of many cells containing specific antibodies in the infiltrations of the choroid and ciliary body. No specific fluorescence could be found in those cells situated next to the iris in the anterior chamber. There was no fluorescence in the cells obtained by puncture of the anterior chamber, at the culmination of the inflammatory process. The author comes to the conclusion, that the inflammation of the anterior uvea is possibly a non-specific process, due to a specific allergic inflammation, induced in the choroid and ciliary body by the vitreal antigen injection.

#### RÉSUMÉ

Une revue des processus immunologiques généraux est suivie d'une discussion des états de hypersensibilité et des maladies autoimmunes en tant que produits nuisibles de l'activité, au fond utile, de l'appareil immunologique. L'immunogénèse de l'uvéite, granulomateuse et nongranulomateuse, est située dans le cadre



de ces observations. La description des réactions cellulaires qui aboutissent à la formation des anticorps, est suivie d'un essai de définir les traits caractéristiques et les causes possibles des maladies autoimmunes. Les possibilités restreintes des différentes réactions sérologiques en tant que moyens d'éclaircir l'étiologie d'une uvéite sont discutées ensuite. Les recherches, dont les résultats sont rapportés ci-dessous, sont basées sur la conception, que les cellules qui constituent l'infiltration de l'uvéé ainsi que les cellules dans la chambre antérieure, qui probablement en proviennent, produisent et contiennent des anticorps contre l'antigène qui a été la cause du procès inflammatoire. En même temps les cellules dans le sédiment de l'humeur aqueuse furent examinées après coloration d'après Pappenheim. Les protéines dans l'humeur aqueuse furent étudiées par une méthode quantitative et par électrophorèse. Aussi la technique de double diffusion en agar gel d'après Ouchterlony a été essayée pour chercher des anticorps libres dirigés contre le tissu uvéal, les protéines du cristallin et des antigènes toxoplasmiques. Dans des expériences avec des lapins sensibilisés à la gammaglobuline humaine une uvéite allergique a été provoquée par injection intravitréenne de gammaglobuline. L'examen histologique de ces yeux par la technique des anticorps fluorescents a prouvé l'existence de nombreuses cellules, contenant des anticorps spécifiques dans les infiltrats de la choroïde et du corps ciliaire. Dans la chambre antérieure, près de l'iris, des cellules fluorescentes n'ont pas pu être constatées. Le même résultat négatif fut obtenu à l'examen des cellules dans l'humeur aqueuse prélevées par ponction camérulaire au point culminant de l'inflammation. L'auteur en tire la conclusion que la réaction inflammatoire du segment antérieur est peut-être un processus non spécifique, accompagnant l'inflammation allergique spécifique, provoquée dans la choroïde et le corps ciliaire par l'injection intravitréenne de l'antigène.

#### LITERATUR

- ALEXANDER, MUDD, HAUROWITZ, zit. nach MACKAY J. & BURNET F., ed. Ch. Thomas Autoimmune disease. (1962).
- ARONSON, S. B. Hypersensitivity reactions in the uveal tract caused by uveal antigen-antibody reactions. In A. E. MAUMENEÉ & A. M. SILVERSTEIN (eds.) „Immunopathology of uveitis” (1964).
- HOGAN, M. T. & P. ZWEIGART. Homoimmune Uveitis in the Guinea Pig. I. General concepts of auto- and homoimmunity, methods and manifestations. *Arch. Ophthalm.* 69: 105–109 (1963). II. Clinical manifestations of the disease. *Arch. Ophthalm.* 69, 203–207 (1963). III. Histopathologic manifestations of the disease. *Arch. Ophthalm.* 69, 208–219 (1963).
- V. The effect of adrenal corticosteroid. *Arch. Ophthalm.* 69, 379–388 (1963).

- SCHNELLMANN, O. C. & E. A. JAMAMATO. Uveal auto-antibody in ocular disease. *J. Amer. med. Ass.* 196, 225–228 (1966).
- ASHTON, N. Allergic factors in the etiology of uveitis. Trans. XVII. Int. Congr. Ophthal. 2, 214 (1955).
- AUGUSTIN, R., CONNOLLY & G. M. LLOYD. Atopic reagins as a prototype of cytophilic antibodies. Protides 11th. Colloq. (1963).
- BERENS, C., S. ROTHBARD, & D. M. ANGEVINE. Cultural studies on patients with uveitis and other eye diseases. *Amer. J. Ophthal.* 25, 295–301 (1942).
- BILLINGHAM, R. E., L. BREUT, & P. B. MEDAWAR. Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature, Lond.* 172, 1055 (1953).
- BLODI, F. G. Hypersensitivity reactions in the uveal tract due to sympathetic uveitis. In A. E. MAUMENEE & A. M. SILVERSTEIN, (eds.), „Immunopathology of uveitis” (1964).
- BLOOM. Conference on cellbound antibodies of the Nat. Acad. of Sciences May 1963. Ed. by BERNARD AMOS & HILARY KOPROWSKI, 124–125 (1963).
- BÖKE, W. & B. DIECKHUES. Passiver Transfer der Tuberkulinempfindlichkeit auf das Auge im Tierversuch. v. *Graefes Arch. Ophthal.* 166, 494–508 (1963).
- BOYDEN, ST. Cytophilic antibody. Conference on cellbound antibodies of the Nat. Acad. of Sciences May 1963. Ed. by B. AMOS & H. KOPROWSKI (1963).
- The Adsorption of proteins on erythrocytes treated with Tannic Acid and subsequent haemagglutination by antiprotein sera. *J. exp. Med.* 93, 107–120 (1951).
- BREYERE, E. J. & L. B. WILLIAMS. Antigens associated with a tumour virus: Rejection of Isogenic skin grafts from leucemic mice. *Science* 146, 1055 (1964).
- BROCKHURST, W. F. Pharmacological mediators of hypersensitivity reactions. In P. G. M. GELL & R. R. A. COOMBS (eds.) „Clinical aspects of immunology”, 360–385 (1963).
- BURNET, F. M. Enzyme, antigen and virus. Cambridge University Press (1956).
- A modification of JERNES theory of antibody production using the concept of clonal selection. *Aust. J. exp. Biol. med. Sci.* 20, 67–68 (1957).
- The clonal selection theory of acquired immunity. Vanderbilt University Press. Nashville (1959).
- COCHRANE, CH. La technique des anticorps fluorescents. Applications à la microbiologie et au phénomène d’Arthus. *Ann. Inst. Pasteur* 99, 329–350 (1960).
- COLES, R. S. Allergy of the uvea. In FREDERICK H. THEODORE & ABRAHAM SCHLOSSMAN. (eds.) „Ocular allergy” (1958).
- COLLINS, R. C. Experimental studies on sympathetic ophthalmia. *Amer. J. Ophthal.* 32, 1687 (1949).
- Further experimental studies on sympathetic ophthalmia. *idem* 36, 150 (1953).
- O’CONNOR G. R. Antitoxoplasma precipitins in aqueous humour. *Arch. Ophthal.* 57, 52–57 (1957).
- COONS, A. & M. H. KAPLAN. Localisation of antigen in tissue cells II. *J. exp. Med.* 91, 1–15 (1950).
- COONS, A. H., E. H. LEDUC & J. M. CONNOLLY. Studies on antibody production. I. A method for the histochemical demonstration of specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J. exp. Med.* 102, 49 (1955).

- Antibodies and antigens labelled with fluorescein. *Schweiz Z. Path.* 22, 693–699 (1959).
- CROWLE, A. J. Delayed hypersensitivity in health and disease. (1962).
- DAVID, J. R., S. AL-ASKARI, H. S. LAWRENCE, & L. THOMAS. *J. Immunol.* 93, 264–282 (1964).
- DUKE-ELDER, ST. System of Ophthalmology. Vol II: 169–175 (1961).
- ELSCHNIGG, A. Studien zur sympathischen Ophthalmie. II. Die antigene Wirkung des Augenpigments. v. *Graefes Arch. Ophthalm.* 76, 509 (1910).
- EHRENFELD, E. N., K. GERY, & A. DAVIES. Specific antibodies in heart disease. *Lancet* I: 1138 (1961).
- FAVOUR zit. nach A. J. CROWLE (1962) „Delayed hypersensitivity in health and disease“, p. 33.
- FERNANDO, A. N. Immunological studies with J<sup>131</sup> labelled antigen in experimental uveitis. *Arch. Ophthalm.* 63, 515–539 (1960).
- FRANÇOIS, J. & M. RABAEY. Microelectrophoresis in agar of normal and pathological aqueous humor. *Arch. Ophthalm.* 63, 836–849 (1960).
- FRENKEL, J. K. Pathogenesis of toxoplasmosis with a consideration of cyst rupture in besnoitia infection. Toxoplasmosis Symposium Nov. 1960. Ed. by A. E. MAUMENEE. The Williams & Williams Comp.: 799–825 (1960).
- FRIEDENWALD, J. S. Notes on the allergy theory of sympathetic ophthalmia. *Amer. J. Ophthalm.* 17, 1008–1018 (1934).
- FREUND, J. The effect of paraffin oil and mycobacteria on antibody formation and sensitization. *Amer. J. clin. Path.* 21, 645 (1951).
- FUCHS, A. (1920) zit. nach ST. DUKE-ELDER. System of Ophthalm. Vol. II. Anatomy of the visual System. 169–175.
- GELL, P. G. H. & B. BENACERAFF. Delayed hypersensitivity to simple protein antigens. In W. H. TALIAFERRO & J. H. HUMPHREY, (eds.) „Advances in Immunology“ Vol. I: 319–345 (1961).
- GOLDMAN, M. Staining toxoplasma gondii with fluorescein labelled antibody. *J. exp. Med.* 105, 549–573 (1957).
- Staining toxoplasma gondii with fluorescein labelled antibody. *Amer. J. clin. Path.* 35, 541 (1962).
- GOLDMANN, H. & R. WITMER. Antikörper im Kammerwasser. *Ophthalmologica (Basel)* 127, 323–329 (1954).
- GOODNER, E. K. Experimental lens-induced uveitis in rabbits. in: A. F. MAUMENEE & A. M. SILVERSTEIN (eds.) Immunopathology of Uveitis, 233–239 (1964).
- GRABAR, P. Anticorps et „Globulines transporteurs“. Protides of the biological fluids. II. Colloq. Brughes. (1963).
- GRASSMANN, W. & K. HANNIG. Ein quantitatives Verfahren zur Analyse der Serumproteine durch Papierelektrophorese. *Z. physiol. Chemie* 290, 1 (1952).
- HACKETT, E. & AL. THOMSON. Anti-lens antibody in human sera. *Lancet* Sept. 663–666 (1964).
- HAMILTON, L. D. Metabolic stability of RNA and DNA in human leucemic leucocytes; the function of lymphocytes. From „The leucemias, etiology, pathophysiology and treatment.“ New York, Academic Press (1957).

- HIJMANS, DONIACH, ROITT & HOLBOROW Serological overlap between lupus erythematoses, Rheumatoid Arthritis u. M. Hashimoto. *Brit. med. J.* 909-914 (1961).
- HOGAN, M. J. Similarities of ocular, joint and other tissues: anatomic and histochemical observations. In A. E. MAUMENEE & A. M. SILVERSTEIN (eds.) „Immunopathology of uveitis”, (1964).
- & L. E. ZIMMERMAN. Ophthalmic pathology. W. B. Saunders Comp., Philadelphia (1962).
- JERNE, N. K. The natural-selection theory of antibody-formation. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)* 41, 849-857 (1955).
- NORDIC, A. & C. HENRY. The agar plaque technique for recognizing antibody producing cells. In conference on cellbound antibodies of the Nat. Acad. of Sciences. Ed. by BERNARD AMOS & HILARY KOPROWSKI (1963).
- KELLY et al. (1960) zit. nach P. G. H. GELL & B. BENACERAF in TALIAFERRO, W. H. & J. H. HUMPHREY (eds.) „Advances in Immunology” (1961) Vol. 1, p. 319-345.
- LAWRENCE, H. S. „Transfer Factor”: A mechanism of tissue damage in delayed hypersensitivity. In A. E. MAUMENEE & A. M. SILVERSTEIN (eds.) Immunopathology of uveitis.
- V. LOGHEM, J. J. Beschouwingen over Auto-immunziekten. *Ned. T. Geneesk.* 1613-1622 (1965).
- LUNTZ, M. H. Auto-immune response to lens- and Uveae protein. *S. Afr. med. J.* 38, 130-133 (1964).
- MAGARI v. *Graefes Arch. Ophthal.* 159, 257 (1956) Zit. n. ST. DUKE-ELDER: System of Ophthal., Vol. II, 169-175.
- MAISEL, H. Immunopathologic specificity of lens antigens. *Amer. J. Ophthal.* 55, 1208-1215 (1963).
- MARSHALL et al. Method for fluorescein-iso-thiocyanate labelling. *Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.)* 98, 898-900 (1958).
- NAIRN R. C. (ed.) Fluorescein protein tracing. (1962).
- NOZAKI MICHIO et al. Eye and kidney tissue reactions to heterologous anti-uveal antibodies. *Amer. J. Ophthal.* 447-453 (1964).
- OFFRET, G. & H. SARAUX. Etude bactériologique de l'humeur aqueuse humaine. Technique et résultats. *Arch. Ophtal.* 15, 573 et 705 (1955).
- & — Infection focale et Uvéite; foyers streptococciques. *Docum. Ophthal.* XIV, 247-263 (1960).
- OUCHTERLONY, Ö. Antigen-Antibody reactions in gels. *Acta path. microbiol. scand.* 26, 507-515 (1949).
- PAPPENHEIMER, A. M., SCHARFF, M. & J. W. UHR. Delayed hypersensitivity and its possible relation to antibody formation. In J. H. SHAFFER, G. A. LOGRIPPO, M. W. CHASE (eds.) Mechanism of hypersensitivity (1959).
- PAULING, L. A theory of the structure and process of formation of antibodies. *J. Amer. chem. Soc.* 62, 2643 (1940).
- PERKINS, E. S. & R. M. WOOD. Autoimmunity in uveitis. *Brit. J. Ophthal.* 48, 61-69 (1964).
- POTTER (1963) zit. nach v. EIPSTEIN W. (1964): New information on the structure of gammaglobuline in relation to studies of rheumatoid arthritis. In A. E. MAUMENEE & A. M. SILVERSTEIN (eds.) „Immunopathology of Uveitis”.

- RAFFAEL & STOERK zit. nach A. J. CROWLE (1962) „Delayed hypersensitivity in health and disease.” p. 30.
- REMKY, H. Etiological diagnosis of endogenous uveitis. In H. REMKY (ed.) *International Ophthalmology Clinics: The uveal tract and its endogenous inflammations* 789–822 (1965).
- Auto-anticorps, facteurs iridogènes de l’iritis? *Bull. Soc. franç. Ophthal.*: 401–412 (1965).
- RILEY, J. F. *The mast cells*. Ed. Livingstone Edinburgh (1959).
- SAINTE-MARIE, G. *J. Histochem. Cytochem.* 10, 250–256 (1962).
- & C. P. LEBLAND. Thymus-cell population dynamics. In R. A. GOOD & A. E. GABRIELSEN (eds.) „The thymus in immunology”, 207–224 (1964).
- SALZMANN (1912) zit. nach ST. DUKE-ELDER. *System of Ophthal.* Vol. II. *Anatomy of the visual System*: 169–175.
- SEDAN, J. & P. GUILLOT. Uvéites médicamenteuses. *Bull. Soc. franç. Ophthal.* 11, 145 (1955).
- SILVERSTEIN, A. M. Allergic reaction of the eye. In P. G. H. GELL & R. R. A. COOMBS (eds.) „Clinical aspects of immunology”, 555–571 (1963).
- Ectopic antibody formation in the eye. Pathologic implications. In „A. E. MAUMENEE & A. M. SILVERSTEIN (eds.) „Immunopathology of uveitis” (1964).
- & L. E. ZIMMERMANN. Immunogenic endophthalmitis produced in the guinea pig by different pathogenetic mechanisms. *Amer. J. Ophthal.* 48, 435–465 (1959).
- STAVITSKY, A. B. The origine of antibodies. In A. E. MAUMENEE & A. M. SILVERSTEIN (eds.) „Immunopathology of uveitis”, (1964).
- WITEBSKY, E. & F. MILGROM. The nature of autosensitization with particular reference to the eye. In A. E. MAUMENEE & A. M. SILVERSTEIN (eds.) „Immunopathology of uveitis”, (1964).
- WOLKOWICZ, M. J., J. W. HALLET. & I. H. LEOPOLD. Studies on antibody production in the rabbit eye. I. Antibody formation in vitro after intraocular injection of typhoid bacilli. *Amer. J. Ophthal.* 50, 126 (1960).
- WUNDERLY, CH., R. STEIGER & H. R. BÖHRINGER. Neue mehrfache Untersuchungen am gleichen Kammerwasser menschlicher Augen. *Experientia (Basel)* 10, 432–433 (1954).
- WITMER, R. Local antibody-formation in the iris of the second eye. *Docum. ophthal.* XVI, 271–276 (1962).
- Klinik der Uveitis, Labordiagnostik. *Ophthalmologica (Basel)* 149, 390–404 (1965)
- WOODS, A. C. The influence of hypersensitivity on endogenous uveal diseases. *Amer. J. Ophthal.* 30, 257 (1947).
- Pathogenesis of granulomatous uveitis, p. 7–21. Pathogenesis of nongranulomatous uveitis, p. 31 In: *Endogenous Uveitis* (1956).

Aus der Universitäts-Augenklinik Rotterdam. Leitung Prof. Dr. H. E. Henkes. Derzeitige Anschrift: Städt. Krankenanstalten, Augenklinik, 43 Essen.