

XIII

**INTERNATIONALER KONGRESS FÜR PÄDIATRIE
INTERNATIONAL CONGRESS OF PEDIATRICS
CONGRES INTERNACIONAL DE PEDIATRIE
CONGRESO INTERNACIONAL DE PEDIATRIA**



29. August – 4. September 1971, Wien, Österreich

ORGANISATION

Osterreichische Gesellschaft für Kinderheilkunde

AUSPICES

International Pediatric Association

COOPERATION

Wiener Medizinische Akademie für ärztliche Fortbildung

EDITORS

Wissenschaftliches Programmkomitee

**KONGRESSBERICHTE – PROCEEDINGS – COMPTES RENDUS –
PONENCIAS**

VOL. IV

IMMUNOLOGY



Verlag der Wiener Medizinischen Akademie

<http://rcin.org.pl>

ERZUGUNG IMMUNOLOGISCHER TOLERANZ IN EXPERIMENTELLER
ALLERGISCHER ENCEPHALITIS /EAE/.

H. BROKMAN, D. CZARNOCKI, M. MOSSAKOWSKI, Z. RAP,
H. WEINRAUDER

Zentrum der experimentellen und klinischen Medizin der
Polnischen Akademie der Wissenschaften Neuropathologi-
sche Abteilung Warszawa, Dworkowa 3, Polen.

Die Zukunft der Transplantation hängt in erster Linie
von der Erreichung einer spezifischen, der gegenüber dem
zu verpflanzendem Organ länger andauernden Toleranz ab.

In Anbetracht der grossen Ähnlichkeit der immunologi-
schen Mechanismen bei der Transplantatreaktion und der
autoallergischen Krankheiten kann das uns zur Verfügung
stehende Modell der EAE zur Lösung des immunologischen
Transplantationsproblems ausgenützt werden.

Bei der Erzeugung der EAE sind wir in folgender Weise
vorgegangen. Mäuschen von 2500 - 3500 Gramm Gewicht ha-
ben eine einmalige Injektion des Antigens intracutan in
die Extremitätenpfade bekommen. Das Antigen bestand aus
20 Gramm homogenisierter weisser Substanz des frischen
menschlichen Gehirns /Unfall/ mit 10 Ml physiologischer
Kochsalzlösung. Das Homogenat wurde mit 20 Milliliter
des vollen Freund-Adjuvans DIFCO mit Zugabe von 200 Mg
Mycobacterium tbc H 37 gemischt. Die Encephalitis trat
bei nahezu 90% der in dieser Weise immunisierten Tiere
im Laufe von 10-18 Tagen auf.

Zum gegebenen Zeitpunkt wurden die Tiere mit Eunarcon
tödlich narkotisiert, mit physiologischer Kochsalzlösung
mit 10% Formalin perfundiert und dann wurde Gehirn und
Rückenmark entnommen.

Zur histologischen Untersuchung wurden Schnitte aus
den beiden Hemisphären, Basalganglien, Gehirnstamm und
verschiedenen Rückenmarkflächen entnommen und in Paraffin
eingebettet. Die Färbung erfolgte mit folgenden Methoden:
Hematoxylin, Eosin, Kresylviolett, van Gieson und Heiden-
hein.

Als Vorbereitung zu unseren Hauptexperimenten wurde zuerst die Wirkung des 6 Merkaptopurins auf den Verlauf der EAE nachgeprüft. Die Kaninchen haben am Tage der Immunisierung und später insgesamt 18 intravenöse Injektionen des 6 Mp. in einer Menge von 9 Mg pro Kg Körpergewicht bei pH 8 bekommen. Bei den in dieser Weise behandelten Kaninchen ist die klinische und bei sämtlichen Tieren mit Ausnahme von einem auch die histopathologische Manifestation der Krankheit ausgeblieben.

Das wichtigste Bestreben unserer Untersuchungen besteht jedoch im Erziehen einer andauernden Toleranz gegen Hirnantigen. Dies gelang zum Teil anderen Autoren durch Vorbehandlung mit grossen Dosen des Antigens. Bei ähnlichen Versuchen mit flüssigen Antigenen haben verschiedene Forscher die Beobachtung einer Verlängerung der Toleranzperiode durch mit Sensibilisierung gleichzeitig gereichten immuno-suppressiven Mitteln gemacht. Die Erklärung dieser Beobachtung liegt in der Annahme, dass man auf diese Weise die spezifischen Zellklone eliminieren bzw. paralisieren kann. 3,5,6.

Diesen Gedankengang haben wir bei unseren weiteren Experimenten verfolgt. Am Tage der Immunisierung begannen wir mit Behandlung durch das 6 Mp. und setzten diese für eine Dauer von 20 Tagen /18 Injektionen/ fort. Nach einer 5-8 tägigen Pause wurden sodann die Tiere wieder wie vordem sensibilisiert. Diese Pause wird für vollauf ausreichend angesehen, um eine unmittelbare Wirkung des 6 Mp. auf den Verlauf der Immunisierung auszuschliessen.².

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen sind auf angeführter Tabelle geschildert. Sie zeigt den Unterschied zwischen den Kontrolltieren und den in obiger Weise vorbehandelten Kaninchen unter Bezugnahme auf das klinische und histologische Bild. Bei den Kontrolltieren waren beide Bilder stark oder sehr stark ausgeprägt, wobei bei den vorbehandelten Kaninchen bei 3 Tieren keine Veränderungen, bei den anderen wohl typische jedoch entschieden schwach ausgeprägte Veränderungen festgestellt wurden. Typische, ausgesprochen histopathologische Veränderungen,

welche die Kontrollgruppe charakterisieren, bestanden in inflammatorischer lymphozytärer Infiltration in den Meningen und perivascularen Raum des Gehirnes sowie des Rückenmarkes. In einigen Fällen wurden gemischte Gliamesodermale Infiltrationen beobachtet. Gewöhnlich waren die Veränderungen im Rückenmark stärker ausgeprägt als im Gehirn. An manchen Stellen kam eine Proliferation der Glia und vereinzelter Gliaknoten zum Vorschein. Demyelinisation in typischer Form ist nicht beobachtet worden. Waren auch bei manchen der vorbehandelten Tiere Veränderungen festzustellen, so traten diese nur sporadisch in der Form perivascularer lymphozytärer Infiltrate in Meningen und der weissen Hirnsubstanz /Phot./ auf.

Zusammenfassung:

In Anbetracht der Ähnlichkeit der immunologischen Mechanismen, welche einerseits die Transplantation-Reaktion, anderseits die experimentelle EAE charakterisieren, hat man sich das Ziel gestellt, bei Erzeugung der EAE eine Toleranz von längerer Dauer zu erzielen. In unserem Experiment hat man die Kaninchen klassisch mit Hirnhomogenat und vollem Freundschem Adjuvans immunisiert, um am Tage der Sensibilisierung und nachher 18 Tage lang 6 Merkaptopurin intravenös zu applizieren.

Man glaubte, auf diese Weise die spezifischen Klone eher eliminieren zu können.

Nach Absetzen des immuno-suppressiven Mittels war die nach einer 5-8 tägigen erfolgte neue Sensibilisierung von viel geringeren Veränderungen begleitet als bei den Kontrolltieren und zwar sowohl hinsichtlich des klinischen Bildes, wie auch in Anbetracht der anatomisch-histologischen Veränderungen.

Weiterer Erörterung bedarf die Frage der Bedeutung und des Mechanismus der erzielten Toleranz. 1,4.

Literatur

1. J. Chutna /1970/ Internal Archiv of Allergy and applied Immunology 37, 3,278
2. L.W. Hoyer ,R.A.Good,R.M. Candie /1962/ Journal of Experimental Medicine 116 , 911
3. P.I.Paterson /1966/ Advances in Immunology 5, 192
4. P.I.Paterson /1966/ Advances in Immunology 5, 190
5. R.Schwartz,W.Dameshek / 1959/ Nature 183,1682
6. R.Schwartz,W.Dameshek /1963/ Journal of Immunology 96, 706

Kaninchen	Klin. Symptome	Mikr.Veränderungen
<u>Antigen +Adj.compl.</u>		
1	+	+
2	+	+
3	+	+
4	+	++
5	+	-
6	+	++
7	+	++
8	+	++
<u>Antigen + Adj.compl. + 6 Mep. x 18</u>		
1	-	-
2	-	-
3	-	-
4	-	-
<u>Antigen + Adj. compl. + 6 Mep. x 18</u>		
Pause		
<u>Antigen + Adj.comp.</u>		
1	-	-
2	-	-
3	+	+
4	±	-
5	?	±
6	±	+
7	-	-
8	+	+



2

- Bild 1 : typische Veränderungen im Rückenmark /Kontrolle/
- Bild 2 : schwache Veränderungen im Rückenmark /Vorbehandelte/
- Bild 3 : typische perivaskuläre glia-mesodermale Infiltrate in der weissen Hirnsubstanz /Kontrolle/
- Bild 4 : Unbedeutende perivaskuläre Infiltrate in der kortikalen Hirnsubstanz /Vorbehandelte/

Immunological Tolerance Induction in Experimental Allergic Encephalitis.

Summary

Considering the resemblance of immunological mechanisms between graft-reject-reaction and Experimental Allergic Encephalitis /E.A.E./ our Experiment aimed at inducing a more durable tolerance in E.A.E. In our investigation, the rabbits received 6-Mercaptopurin intravenously, concurrently with the classical immunisation with brain suspension and Freund full adjuvant and for 18 days after. We hoped in this way to eliminate more effectively the specific immunological clones. After stopping this drug the new sensibilisation of treated rabbits gave a much weaker response both from clinical and histological point of view than in control animals.

The problems concerning the wider significance and the mechanism of the acquired tolerance needs further consideration.