

The D.N.A. antibodies have been found in the sera of all L.E.D. patients examined but one when tested before treatment or after insufficient treatment. Following cortisone therapy, the reactions are usually negative. D.N.A. antibodies are never found in normal sera or in the sera of patients suffering from illness other than L.E.D.; but the number of sera examined thus far, especially in case of evolutive rheumatoid arthritis, is still too limited to be certain that the antibodies are specific for L.E.D.

The possible role of D.N.A. antibodies in the genesis of the various nuclear changes of L.E.D. is examined. The nature of the antigenic stimulus for the formation of these antibodies is discussed.

244

Das Phänomen der Pan- oder Polyagglutination

L. HOLLÄNDER

Basel, Schweiz

Menschliche (aber auch tierische⁹) Erythrozyten besitzen einen latenten Rezeptor T, welcher unter der Einwirkung gewisser Mikroorganismen oder durch Enzyme, welche diese produzieren, aktiviert wird. Die so «transformierten» Erythrozyten werden durch normale Seren Erwachsener agglutiniert. Das Anti-T, welches diese Agglutination bewirkt, scheint ein Kälteantikörper zu sein, der jedoch mit den üblichen Kälteagglutininen nicht identisch ist, wenn auch sein thermisches Optimum bei niedriger Temperatur liegt und die Antikörper bei 37° nur schwach wirksam sind. Ihr Titer variiert von Individuum zu Individuum, und wie unsere Untersuchungen zeigen konnten, ist die Titerhöhe der Antikörper Anti-T unabhängig vom Isoagglutiningehalt und vom Gehalt an gewöhnlichen Kälteagglutininen der Seren.

Mit Hilfe der transformierten Erythrozyten, d. h. Normalerythrozyten, welche durch Bakterien, Bakterieninfiltrate, Enzyme panagglutinabel gemacht wurden, können die Anti-T aus Seren absorbiert werden. Säuglinge weisen erst im 6. Lebensmonat Anti-T-Antikörper auf. Eine abnormale Agglutinabilität der Erythrozyten, als *In-vitro*-Phänomen, hat erst *Hübener*¹⁵ und dann *Thomsen*³¹ beschrieben. Diese Autoren fanden, daß die Erythrozyten bei Zimmertemperatur gelagerter Blutproben mit der Zeit durch normale Seren agglutinierbar werden, und zwar unbeachtet der Blutgruppe und des Isoagglutiningehaltes. *Friedenreich*¹⁰ machte dann die Feststellung, daß die Ursache dieser *Panagglutinabilität* – welche zur Blutgruppenfehlbestimmung führen kann – in einer bakteriellen Kontamination der Blutproben mit gewissen enzymbildenden Bakterien liegt. An der Oberfläche der

Erythrozyten tritt das Agglutinogen T in Erscheinung, welches mit dem in Normalseren vorkommenden Anti-T reagiert. *Friedenreich* isolierte die Corynebakterien M und J aus panagglutinablen Blutproben. Weitere Mikroorganismen, welche für die abnorme *In-vitro*-Agglutinabilität verantwortlich gemacht worden sind, sind *Vibrio comma* (oder *cholerae*) (*Friedenreich*¹⁰), *Vibrio protheus* (*Chu*³), Corynebakterium *Hectoenii* (*Davidson und Toharsky*^{5,6}), *Clostridium Welchii* (*Chu*³), *Coccobacillus pierantonii* (*Friedenreich*¹⁰) und andere gramnegative Coccobazillen (*Kossovitch und Chabaud*¹⁶). Im weiteren der *Diplococcus pneumoniae* und gewisse Strepto- und Staphylokokken (*Chu*³) sowie andere grampositive Kokken (*Terada*³⁰). Die Panagglutinabilität ist meistens auch durch das Filtrat dieser Mikroorganismen auslösbar. Durch Überimpfung kann die abnorme Agglutinabilität auf frische Blutproben übertragen werden. *Actinomyces* der azidophilen Gruppe, gezüchtet aus Magensaft und Speichel, bewirkt auch eine Panagglutination der Erythrozyten. Diese ist aber nach *von Magnus*²⁰ unabhängig vom Anti-T. *Moskovitz und Treffers*²³ konnten panagglutinable Erythrozyten durch Oxydation mittels Periodat erzeugen. Auch diese Panagglutinabilität war unabhängig vom Anti-T. Viren der Mumps- und Influenzagruppe machen Erythrozyten ebenfalls panagglutinabel^{2, 27, 4}. Unter Wärmeeinfluß können die Viren von den Erythrozyten abgesprengt werden und, indem sie normale Erythrozyten wieder panagglutinabel machen, in der überstehenden Flüssigkeit nachgewiesen werden. Dieser Vorgang kann öfters wiederholt werden und spricht im Sinne enzymatischer Wirkung der Viren auf gewisse Erythrozytenrezeptoren^{13, 14}. Kaninchen, welche mit solchen transformierten Erythrozyten behandelt werden, produzieren Anti-T-Antikörper^{1, 17}.

Die *Polyagglutinabilität* der Erythrozyten ist ein *In-vivo*-Phänomen. Bei den publizierten Fällen war das Phänomen nicht nur passagerer Natur, sondern trat beim Patienten meistens im Anschluß an eine bakterielle Infektion auf. Mit Abklingen der Grundkrankheit verschwindet allmählich die Polyagglutinabilität, und zwar nach den bisherigen Beobachtungen frühestens nach 4 Tagen und spätestens nach einigen Monaten. Der Zusammenhang zwischen dem Hübener-Thomsen-Friedenreich-Phänomen (*In-vitro*-Panagglutinabilität) und der Polyagglutinabilität wurde von *Reepmaker*²⁵ ausführlich diskutiert. *Reepmaker* konnte in einem Fall von Polyagglutinabilität aus dem Urin des Patienten α -hämolytische Streptokokken isolieren. Diese Streptokokken transformierten dann *in vitro* normale Erythrozyten. Das Filtrat dieser Mikroorganismen hatte eine ähnliche Wirkung auf die Erythrozytenoberfläche wie das Filtrat von Cholera vibriolen: Die T-Antigene wurden aktiviert, und durch das Filtrat vorbehandelte Rh+(D+)-Erythrozyten wurden im NaCl-Milieu durch inkomplette Rh-Antikörper (Anti-D) agglutiniert. Wir glauben mit *Reepmaker*, daß zwischen den die *In-vitro*-Panagglutinabilität und die *In-vivo*-Polyagglutinabilität auslösenden Mechanismen allerengste Zusammenhänge bestehen.

Der Prozentsatz, mit welchem Normalseren polyagglutinable Erythrozyten agglutinieren, variiert von Fall zu Fall und ändert im Laufe der Beobachtungszeit. *Stratton*²⁸ beobachtete einen Fall, bei welchem nur 9% der Seren die Patientenerythrozyten agglutiniert haben. Diese Zahl kann aber auch 100% erreichen.

Frischserum gibt stärkere Agglutination als tiefgekühlt aufbewahrtes Serum. Polyagglutinable Erythrozyten, wenn unter Glycerinschutz tiefgefroren, scheinen ihre Eigenschaft, durch anti-T-haltige Seren agglutiniert zu werden, nicht zu verlieren. Nach unserer Erfahrung wird diese Eigenschaft mit der Zeit weniger ausgeprägt, und das mikroskopische Bild zeigt neben Agglutinaten zahlreiche nicht-agglutinierte Erythrozyten (etwa das Bild der Agglutination von A₃-Erythrozyten durch Anti-A-Seren). Die bisher beobachteten Fälle von Polyagglutinabilität verteilen sich auf die Gruppen O, A und B. *Sanger und Race*²⁶ haben jüngstens festgestellt, daß das Antigen-T unabhängig von den Blutgruppenantigenen mit hoher Frequenz ist. Sie konnten auch zeigen, daß gewisse seltene antikörperhaltige Seren neben ihrem spezifischen Antikörpergehalt noch Anti-T enthielten.

So wie *von Magnus* zeigen konnte, daß die Agglutination der durch *Actinomyces* transformierten Erythrozyten unabhängig von Anti-T war, haben *Moreau, Dausset, Bernard und Moullec*²² eine ähnliche Beobachtung bei einem Patienten mit einer chronischen erworbenen hämolytischen Anämie gemacht. Die Erythrozyten dieses Patienten reagierten mit einer großen Anzahl von Seren Erwachsener. Die Antikörper dieser Seren agglutinierten bei Zimmertemperatur optimal die Patientenerthrozyten und waren, wie die Absorptionsversuche zeigen konnten, nicht identisch mit Anti-T. Die Autoren bezeichneten die Antikörper als Anti-Tn und das Antigen an den Patientenerthrozyten als Tn. Das Tn war nicht identisch mit dem Agglutino-gen T. Das Tn wurde im Speichel nicht ausgeschieden und konnte bei 25 Gliedern der Sippschaft des Patienten nicht nachgewiesen werden.

Das Phänomen der Polyagglutinabilität wurde schon vereinzelt bei der autoimmunohämolytischen Anämie beobachtet¹¹. Wir sind heute der Auffassung, daß es sich in einzelnen Fällen kaum um eine echte Polyagglutinabilität handeln konnte, sondern daß sich die durch Autoantikörper beladenen Erythrozyten im viskosen Milieu des zugesetzten Normalserums zusammenballten. Doch ist die Situation nicht in allen Fällen so einfach. Bei dem von *de Muralt, Hässig und de Reynier*²⁴ mitgeteilten Fall war ein positiver direkter Antiglobulintest 15 Tage lang zu beobachten. *Ejby-Poulsen*⁸ konnte beim Meerschweinchen durch intraperitoneale Injektion von Pneumokokken Typus 19 eine Polyagglutinabilität auslösen. Durch Injektion von anti-T-haltigem Serum konnte der Autor bei durch Pneumokokkenenzyme vorbehandelten Tieren eine deutliche hämolytische Anämie auslösen.

*Van Loghem, van der Hart und Land*¹⁹ haben einen Fall von hoher klinischer Bedeutung mitgeteilt. Bei einem Säugling mit Polyagglutinabilität löste der Anti-T-Gehalt einer verabreichten Vollblutkonserve in der 4. Lebenswoche eine schwere hämolytische Reaktion aus. Einen ähnlichen Fall konnte auch *Mollison*²¹ beobachten.

Bei den bisher besprochenen Phänomenen der Pan- und der Polyagglutination handelt es sich um pathologische Veränderungen der Erythrozyten. Auch *Seren*, welche von der Norm abweichende Agglutination aller oder der meisten der geprüften Blutproben zeigen, können ähnliche Phänomene hervorrufen und gleichfalls bei der Blutgruppenbestimmung, aber hauptsächlich bei der Verträglichkeits-

probe, Schwierigkeiten bereiten. So kann z. B. durch bakterielle Kontamination ein panagglutinierendes Serum entstehen. Panagglutinierend können natürlich auch antierythrozytäre Autoantikörper wirken.

Im Zusammenhang mit unserem Thema sollen die *blutgruppenspezifischen Antikörper*, welche die meisten, wenn nicht alle der geprüften Blutproben agglutinieren, kurz gestreift werden. In erster Linie sind diejenigen Seren zu nennen, welche *Antikörper gegen sehr verbreitete*, sogenannte «public» (allgemeine) *Antigene beinhalten*, wie z. B. das Anti-Vel. Diese Antikörper wurden bisher in 2 Exemplaren gefunden. *Sussman und Miller* haben 1952²⁰ das ursprüngliche Anti-Vel beschrieben, welches unter 10000 Blutproben nur viermal ein negatives Resultat gab. Die Antikörper waren Ursache einer hämolytischen Transfusionsreaktion. *Levine, Robinson, Herrington und Sussman*¹⁸ fanden 1955 noch ein zweites Exemplar dieser Antikörper. – Andere Antikörper, welche ein bis dahin unbekanntes und von den Autoren *Eaton, Morton, Pickles und White*⁷ als Yt^a bezeichnetes Antigen definieren, wurden gleichfalls bisher in zwei Exemplaren gefunden. Das ursprüngliche Anti-Yt^a reagierte im indirekten Antiglobulintest mit trypsinvorbehandelten Erythrozyten. Die Reaktion trat bei 37° mit 99,7% der geprüften Blutproben auf. Das Anti-Yt^a wurde bei der Verträglichkeitsprobe, wobei die Patientin vorgängig mehrere Transfusionen anstandslos vertragen hatte, aufgefunden. Die Frage, ob die Antigene Vel und/oder Yt^a schließlich zu einem der neun wohlbekannteten Blutgruppensysteme gehören, muß offenbleiben.

Das Anti-H, das Anti-Tj^a (Anti-P + P₁) und das Anti-U (Anti-Ss) definieren ihrerseits Antigene, welche zu bekannten Blutgruppensystemen gehören. Die Antigene selbst haben eine ganz *besonders hohe Frequenz*. Das Anti-U ist noch insofern bemerkenswert, als daß dieser Antikörper bisher nur in Seren von Angehörigen der Negerrasse gefunden wurde.

Schließlich können noch Seren mit *multiplem Antikörpergehalt* die meisten der geprüften Erythrozytenproben agglutinieren. So haben wir beispielsweise in der letzten Zeit ein Serum von Dr. *M. Metaxas* in Zürich mituntersuchen können, welches durch sein Anti-Jk^a, Anti-Le^a und Anti-H-Gehalt bei Zimmertemperatur fast alle Erythrozytenproben agglutiniert hat. Nur A₁, Jk(a-), Le(a-)-Blutproben wurden nicht agglutiniert.

Abschließend soll noch auf ein Phänomen hingewiesen werden, welches von *Weiner* und Mitarb.^{32, 33} beschrieben und eingehend studiert wurde. Gewisse Seren weisen die Eigenschaft auf, daß sie in Rinderalbumin suspendierte Erythrozyten – unabhängig von ihrer Antigenkonstellation – agglutinieren. Die Ursache des Phänomens ist nicht bekannt. Die Eigenschaft ist auf Neugeborene diaplastentar übertragbar und verschwindet dort allmählich spontan. Über ähnliche Befunde berichtet auch *Hässig*¹².

Mit dieser Übersicht wollten wir auf die zwar seltene, jedoch gewichtige Schwierigkeit hinweisen, welche bei der Blutgruppenbestimmung und/oder Verträglichkeitsprobe, verursacht durch das Phänomen der Pan- oder Polyagglutination, entstehen kann.

Summary

The different factors inducing panagglutination of red cells *in vitro* or polyagglutinability *in vivo* are discussed. These factors are characterized as pathologic alterations of the erythrocytes as well as abnormal antibodies in the serum. The panagglutination and the polyagglutinability may cause some considerable difficulties in blood grouping and compatibility tests. The polyagglutinability may also be the cause of haemolytic transfusion reactions.

Literaturverzeichnis

1. Burnet, F. M. and Anderson, S. G.: Austr. J. exp. Biol. med. Sci. 25: 313 (1947).
2. Burnet, F. M.; McCreagh, J. F. and Stone, J. D.: Brit. J. exp. Path. 27: 228 (1956).
3. Chu, C. M.: Nature, Lond. 161: 606 (1948).
4. Chu, C. M. and Coombs, R. R. A.: Lancet i: 484 (1947).
5. Davidson, I. and Toharsky, B.: J. infect. Dis. 67: 25 (1940).
6. Davidson, I. and Toharsky, B.: J. Immunol. 43: 213 (1942).
7. Eaton, B. R.; Morton, J. A.; Pickles, M. M. and White, L. E.: Brit. J. Haemat. 2: 333 (1956).
8. Ejby-Poulsen, P.: Nature, Lond. 173: 82 (1954).
9. Eyquem, A.; Jochem, E.; Podliachouk, L. et Millot, P.: Ann. Inst. Past. 85: 127 (1953).
10. Friedenreich, V.: The Thomsen hemagglutination phenomenon (Munksgaard, Copenhagen 1930).
11. Gasser, C. et Holländer, L.: Rev. Hémat. 6: 316 (1951).
12. Hässig, A.: Persönliche Mitteilung.
13. Hirst, G. K.: Science 94: 22 (1941).
14. Id.: J. exp. Med. 75: 49 (1942).
15. Hübener, G.: Z. Immunforsch. 45: 223 (1925).
16. Kossowitch, N. et Chabaud, A.: C. R. Soc. Biol., Paris 128: 851 (1938).
17. Lind, P. E. and MacArthur, N. R.: Austr. J. exp. Biol. med. Sci. 25: 247 (1947).
18. Levine, P.; Robinson, E. A.; Herrington, L. B. and Sussman, L. N.: Amer. J. clin. Path. 25: 751 (1955).
19. Loghem, J. J. van; Hart, M. van der and Land, M.: Vox Sang. 5: 125 (1955).
20. Magnus, R. von: Undersøgelse over en Gruppe Actinomyceter isolerede fra menneskets Svaelg (Copenhagen 1936).
21. Mollison, P. L.: Blood transfusion in clinical medicine, 2nd ed., p. 264 (Blackwell, London 1956).
22. Moreau, R.; Dausset, J.; Bernard, J. et Moullec, J.: Bull. Mém. Soc. méd. Hôp. Paris 20/21: 569 (1957).
23. Moskowitz, M. and Treffers, H. P.: Science 111: 717 (1950).
24. Murald, G. de; Hässig, R. et Reynier, H. de: Rev. Hémat. 7: 372 (1952).
25. Reepmaker, J.: J. clin. Path. 5: 266 (1952).
26. Sanger, R. and Race, R. R.: Vox Sang. 3 (New Series): 379 (1958).
27. Stone, J. D.: Austr. J. exp. Biol. med. Sci. 25: 137 (1947).
28. Stratton, F.: Vox Sang. 4: 58 (1954).
29. Sussman, L. N. et Miller, E. B.: Rev. Hémat. 7: 368 (1952).
30. Terada, S.: cit. Davidson, I. and Toharsky, B. (5).
31. Thomsen, O.: Z. Immunforsch. 52: 85 (1927); C. R. Soc. Biol. Paris 96: 556 (1927).
32. Weiner, W.; Tovey, G. H.; Gillespie, E. M.; Lewis, H. B. M. and Holliday, T. S. D.: Vox Sang. 1 (New Series): 279 (1956).
33. Weiner, W. and Hallum, J. L.: Vox Sang. 2 (New Series): 38 (1957).