

IX.

Karyophagus Salamandrae.
Eine in den Darmepithelzellkernen parasitisch
lebende Coccidie.

(Aus dem pathologischen Laboratorium der Kaiserl. Universität Warschau.)

Von Julius Steinhaus.

(Hierzu Taf. V.)

Vor etwa einem halben Jahre, während einer Untersuchung der Salamanderarmschleimhaut, fielen mir in den Epithelzellkernen eigenthümliche, damals noch von Niemandem beschriebene¹⁾ Gebilde auf, deren Natur und Bedeutung zu enträthseln ich mich bemüht habe.

Der Gedanke, dass es sich hier um parasitäre Eindringlinge handelte, drängte sich von selbst auf; doch musste in diesem Falle mehr als in anderen Sorgfalt und Vorsicht aufgewendet werden, — hatten wir es ja hier — wenn mit einem Parasiten — mit einem unerhörten Parasitismus zu thun; Parasiten in Zellkernen — etwas ganz Neues!

Erst vor wenigen Wochen konnte ich die Untersuchung als abgeschlossen ansehen, indem der Lebensgang und der Modus der Vermehrung des neuen Parasiten mir genügend klar wurde.

Die Vorbereitungen zur Publication meiner Ergebnisse waren schon begonnen, als ich (am 15. September v. J.) die vor kurzem erschienene Arbeit des Herrn R. Heidenhain: „Beiträge zur Histologie und Physiologie der Dünndarmschleimhaut“²⁾ erhielt,

¹⁾ Obgleich unbeschrieben, waren sie doch, wie ich später erfahren habe, in morphologischer Hinsicht nicht vollständig unbekannt. Herr Gaule nehmlich, in Gemeinschaft mit Herrn Krehl, hat schon vor 3 Jahren mehrere der unten zu beschreibenden Bilder gesehen. Näheres darüber s. in meinen „Weiteren Beiträgen zur Kenntniß der Becherbildung“ (Anmerk. 1), die noch vor Abfassung dieses Aufsatzes von der Redaction des Arch. f. Physiol. (Du Bois) zum Abdruck aufgenommen worden sind.

²⁾ Pflüger's Arch. Bd. XLIII. Suppl.-Heft (ausgegeb. am 20. Aug. 1888).



worin dieser Forscher unter Anderem die Existenz eines parasitären Organismus (Coccidie) in den Epithelzellkernen des Salamanderdünndarms constatirt und eine kurze Beschreibung einiger Stadien seiner Entwickelung (erläutert durch einige Abbildungen) bringt.

Da Herr Heidenhain den betreffenden Kernparasiten nicht ausführlich beschrieben hat und ihn geradezu „zu weiterer Beachtung“ empfiehlt, so glaube ich, dass die Publication meiner Ergebnisse nicht überflüssig sein wird.

Herr Heidenhain hat drei Stadien der Entwickelung des betreffenden Parasiten gegeben (Taf. II; Fig. XVI, b, c, d). Bei näherer Betrachtung des Bildes XVI, b bin ich zu dem Schlusse gekommen, dass in der Entwickelung des Parasiten ein diesem Bilde entsprechendes Stadium gar nicht existirt, dass das Bild, wenn es das Gesehene genau wiedergiebt, vielmehr einem ganz anderen Formencyklus angehört. Den Beweis dafür liefert Folgendes:

In meiner Arbeit „über Kernmetamorphosen und indirekte Knospung“¹⁾ habe ich einige Figuren abgebildet (Pl. II, Fig. 6, 7), die mit der Heidenhain'schen Fig. XVI, b identisch sind, und habe sie als Anfangsstadien von Kernmetamorphosen gedeutet. Herr Heidenhain machte im Nachtrage²⁾ zu seiner oben erwähnten Arbeit darüber folgende Bemerkung: „Auf den beigefügten Tafeln sind unter anderem die ersten Stadien der Coccidienentwickelung in den Kernen abgebildet, aber zu den sogenannten „Nebenkernen“ gerechnet, eine Deutung, welche der Verfasser wohl nicht gegeben hätte, wenn ihm nicht die späteren Stadien, die sichelförmigen Körperchen, entgangen wären³⁾. Doch zeichnet Verfasser auch andere Bilder als Nebenkerne, welche nicht in die Reihe der Coccidienentwickelung gehören. Mir sind die auffälligen, neben den Kernen in den Zellen so oft auftretenden

¹⁾ Archives de physiologie normale et pathologique. 1. Juillet 1888. №. 5.

²⁾ Im Texte könnte es nicht geschehen, da Herr Heidenhain meine Abhandlung erst nach vollendeter Correctur der seinigen erhielt.

³⁾ Ich kann absolut nicht verstehen, woraus Herr Heidenhain ersehen hat, dass ich die incriminierten Figuren zu den „Nebenkernen“ rechne. Ich habe sie weder im Texte, noch in der Tafelerklärung mit diesem Namen bezeichnet.

Chromatingebilde in meinen zahlreichen Präparaten oft begegnet, aber ich habe mich auf dieselben im Texte nicht eingelassen, weil ich dafür keine bestimmte Deutung habe gewinnen können“.

Es geht aus dieser Bemerkung hervor, dass die betreffenden Chromatingebilde Herrn Heidenhain unklar geblieben waren; andererseits sagt er ausdrücklich (S. 24), dass er nicht alle Stadien der Coccidienentwicklung verfolgt hat. Ist es so, dann drängt sich von selbst die Frage auf: genügen denn derartige fragmentarische Beobachtungen, um mit Sicherheit die Zugehörigkeit der einen oder der anderen Form zu diesem oder zu jenem Formencyklus behaupten zu können? Ich habe in den fraglichen Bildern Kerne mit Hyalosphäre im Innern, worin ein Kernkörperchen sich befindet, dargestellt; ganz daselbe zeigt die Fig. XVI, b von Heidenhain; seine Beschreibung aber lautet folgendermaassen: „Zuerst tritt innerhalb des Kernes . . . ein kleines zellartiges Gebilde auf, welches . . . Protoplasma, Kern und Kernkörperchen sehen lässt (Fig. XVI, b)“¹⁾. Die Hyalosphäre deutet also Heidenhain als Zellenleib, das in ihr liegende, intensiv sich färbende Körnchen als Kern, — wo ist dann das Kernkörperchen? Oder wenn die Hyalosphäre der Kern, das Körnchen der Nucleolus ist, wo ist dann das Protoplasma?

Wie ersichtlich, entspricht die Abbildung der Beschreibung oder vielleicht die Beschreibung der Abbildung nicht.

Ist die Beschreibung richtig, dann — da sie weder zu der Abbildung des Hrn. Heidenhain, noch zu den meinigen passt — hat Hr. Heidenhain irrthümlich meine Abbildungen, als seiner Beschreibung entsprechend, aufgefasst, und ebenso irrthümlich hat er sie als Anfangsstadien der Coccidienentwicklung gedeutet.

Ist die Abbildung richtig, so ist sie mit den meinigen identisch und passt nicht zur Beschreibung. Eine dritte Möglichkeit ist noch gegeben: die Beschreibung ist richtig, die Abbildung war im Original der Beschreibung entsprechend, sie ist nur durch Schuld des Lithographen schlecht reproduciert worden, dann passen aber beide — Beschreibung und Abbildung — zu den meinigen nicht —, und die Meinung, dass ich dieselben

¹⁾ a. a. O. S. 24.

Gebilde vor Augen hatte, die Herr Heidenhain beschrieben hat, entbehrt jeder factischen Unterlage.

Vacuolen entstehen in den Kernen oft und schliessen oft keine geformten Elemente ein; andererseits sind auch nicht selten Vacuolen zu finden, welche verschiedene Kernkörperchen, einzeln oder in grösserer Zahl, auch Gebilde, die ihrer Structur nach den Carnoy'schen „nucléoles-noyaux“ ähnlich sind¹⁾), einschliessen, und wir haben keinen Grund, alle diese Gebilde mit dem bequemen Worte „Parasiten“ zu bezeichnen.

Nicht in den von Herrn Heidenhain incriminirten Abbildungen sind die wahren Anfangsstadien der intranucleären Entwicklung der betreffenden Parasiten zu finden, sondern in den hier beigefügten.

Sie stellen²⁾ kleine, scharf contourirte Zellen mit Kern und Kernkörperchen in den Epithelzellkernen dar (Fig. 1). Da sie sich aus den sichelförmigen Körperchen ausserhalb der Kerne entwickeln, so muss man annehmen, dass sie auf irgend eine Weise in die Kerne eindringen; auf welche Weise dies geschieht, gelang mir nicht zu ermitteln. Sind sie einmal in die Kerne eingedrungen, so vegetiren sie hier nicht harmlos, im Gegentheil, sie wirken sehr nachtheilig auf den Wirth.

Sie wachsen stark (Fig. 2, 3 und 4) und bei diesem Wachsthum wird die Substanz des Wirthes verbraucht; endlich kommt es dazu, dass vom Wirthkerne nur noch die Membran intact bleibt, alles Uebrige ist vom Parasiten verzehrt worden, und er liegt jetzt, von der Kernmembran umschlossen, an Stelle des früheren Zellkernes (Fig. 5).

Herr Heidenhain meint, dass während des Wachsthums des Parasiten die Substanz des Kernes allmählich an die Peripherie des Kernes gedrängt werde (a. a. O. S. 24). Hätte er Bilder, wie das der Fig. 5 zu Gesichte bekommen, und hätte er vor allen Dingen seine Präparate passend tingirt, so wäre er kaum zu diesem Schlusse gelangt.

¹⁾ Vgl. hierzu meinen oben citirten Aufsatz über Becherzellen.

²⁾ aus Schnitten von Därmen, die mit Sublimat fixirt, mit Alkohol gehärtet, in Paraffin eingebettet und auf den Objectträgern mit Hämatoxylin (nach Böhmer), Nigrosin, Eosin (spirituslöslich) und Safranin tingirt waren.

Er hat „stark“ mit Alauncarmine tingirt, wobei und wodurch die Kerne ein homogenes Aussehen erhalten haben, das eigentlich kein Urtheil über den Zustand der Kernsubstanz erlaubt; hätte er richtig tingirt, so hätte er gesehen, dass während des Parasitenwachsthums die Kernsubstanz nicht zusammengepresst wird; sie behält ihr normales Aussehen bei, wird nicht verdrängt, sondern je grösser der Parasit wird, desto weniger von Kernsubstanz bleibt im Kern übrig.

Wir sind an dem Stadium angelangt, wo von dem früheren Kerne nur noch die Membran geblieben ist; aber auch diese bleibt nicht lange verschont, sie verschwindet gleichfalls, und dann liegt unser Parasit inmitten der Zelle, die durch seine Schuld kernlos geworden ist. Manchmal tritt er aus dem Kerne wieder heraus, noch bevor er ihn vollständig zu Grunde gerichtet hat (Fig. 6). In beiden Fällen wandert er wahrscheinlich weiter, um in anderen Kernen sein vernichtendes Werk von Neuem zu beginnen.

Fassen wir den Parasiten schärfer in's Auge und suchen wir seine feinere Structur näher kennen zu lernen, so bemerken wir vorerst, dass er, während sein kernvernichtendes Werk rüstig fortschreitet, in morphologischer Hinsicht sich nicht merklich verändert. Sein Kern weist, wie im Beginn des intranucleären Lebens, ein feines, nicht immer deutliches, mit Hämatoxylin sich färbendes Gerüst und ein safranophiles Kernkörperchen auf; sein Protoplasma ist körnig. Gelegentlich findet man auch zwei und mehrere Exemplare in einem Kerne; sie können gleichzeitig oder ungleichzeitig eingewandert sein und dementsprechend in demselben oder in verschiedenen Entwickelungsstadien sich befinden (Fig. 2).

Damit haben wir das Wesentliche über den Vegetationszustand unseres Parasiten gesagt; wir gehen jetzt zur Darstellung seiner Proliferation über.

Die ersten Veränderungen, die den Eintritt der Proliferationsvorgänge ankündigen, spielen sich im Kerne des Parasiten ab. Bald nach seinem Eindringen in den Epithelzellkern ändern sich die morphologisch-chemischen Verhältnisse im Parasitenkerne — wenn es zur Sporenbildung u. s. w. kommen soll — folgendermaassen. Statt des oben beschriebenen Gerüstes, das sich

durch Hämatoxylin färbt, und des safranophilen Kernkörperchens finden wir nun ein Fadenknäuel, das eine gemischte Färbung aufweist. Aus der Analogie mit den bekannten Vorgängen bei der Karyokinese, wobei ja auch das, bzw. die Kernkörperchen schwinden und das Gerüst sich in ein, bei Hämatoxylinsafraninfärbung gemischt, d. h. dunkelroth sich färbendes Knäuel umwandelt, können wir schliessen, dass der Parasitenkern in Kinese getreten ist (Fig. 7). Dass hier nicht alle die im Kinesenschema verzeichneten Phasen wiederzufinden waren, kann uns nicht wundern; einerseits konnten sie wegen der Kleinheit der Objecte wohl unbemerkt geblieben sein, andererseits haben wir keine Beweise dafür, dass alle diese Phasen wesentliche seien und dass die Karyokinese immer typisch nach dem auf Grund der Untersuchung der Salamander- und Tritonenepithelzellkerne aufgestelltem Schema vor sich gehen müsse; im Gegentheil spricht man jetzt sehr viel von atypischer Karyokinese. So konnten auch wir wohl — da wir es mit den niedersten Repräsentanten des Thierreichs, mit den ersten Anfängen der karyokinetischen Theilung zu thun haben — einem Uebergange von der directen zur indirekten Theilung begegnen, dementsprechend auch nur eine oder wenige der Phasen des Schemas zu Gesichte bekommen. Kurz, aus dem ruhenden Kerne wird ein kinetischer, der in zwei ebenso gebaute zerfällt (Fig. 8). Diese kehren nicht zum Ruhezustande zurück, sondern theilen sich weiter. (Fig. 9 zeigt das Stadium, wo erst einer der Tochterkerne sich weiter getheilt hat.) Diese dritte Kerngeneration unterliegt wieder der Theilung (Fig. 10) und so fort, bis an Stelle des ersten Parasitenkernes sich eine grosse Anzahl gebildet hat (Fig. 11, 12 und 13). Da Zelltheilung mit der Kerntheilung gleichen Schritt hält, haben wir im Kerne eine grosse Zahl kleiner Zellen, die, anfangs unregelmässig zerstreut, später in einem Kranze an der Peripherie der durch ihre Vegetation im Kerne gebildeten Hohlkugel liegen. In diesem Stadium tritt eine interessante Veränderung der Form dieser kleinen Zellen ein: jede verwandelt sich in einen sickelförmigen Körper und alle diese Körper bleiben in prachtvoller Anordnung an der Peripherie der oben erwähnten Hohlkugel im Kerne gruppirt, wobei die früher kranzförmig angeordneten Kerne in dieser Lage verbleiben (Fig. 14). Geht dann der

Theil des Kernes, der sie vom Zellprotoplasma abgrenzt, zu Grunde, so werden sie frei und beginnen auszuwandern (Fig. 15). Oft aber ist der Vorgang mit der Bildung einer Sichelreihe, wie in Fig. 14, noch nicht abgeschlossen. Es tritt noch einmal Kernvermehrung ein: jeder Sichelkern theilt sich in zwei (Fig. 16), die auseinandergehen (Fig. 17). Dann tritt Zelltheilung ein (Fig. 18) und statt einer Sichelreihe finden wir im Kerne deren zwei.

In diesem und in jenem Falle endet der Prozess dadurch, dass die Sicheln aus dem Kerne auswandern, nachdem ihre charakteristische Form sich in eine amöboide verwandelt hat und die Kerne zur anfänglichen Structur des ersten Mutterkerne, zum Ruhezustande zurückgekehrt sind (Fig. 19, 20 und 21).

Die Endproducte dieser Vorgänge, die amöboiden Zellen, stellen also dasselbe dar, was wir im Beginne unserer Darstellung beschrieben haben, nehmlich junge Exemplare desselben Parasiten, den wir sowohl in seiner Vegetation, wie auch in seinen Proliferationszuständen kennen gelernt haben.

Suchen wir jetzt unsere Ergebnisse zu überblicken und über die Natur des Parasiten, der uns hier beschäftigt, in's Klare zu kommen, so ist es vor Allem die Bildung der sichelförmigen Körperchen, die unsere Aufmerksamkeit auf sich lenken muss. In der That, für diejenigen, die mit der Organisation der einzelligen Lebewesen bekannt sind, deuten diese Körperchen direct auf die Abtheilung im System, wo sie untergebracht werden können, nehmlich auf die Sporozoen.

Wie bekannt, werden jetzt die Sporozoen in folgende fünf Gruppen eingetheilt: 1) Gregarinen, 2) Coccidien, 3) Sarcosporidien, 4) Myxosporidien, 5) Microsporidien¹⁾). Unser Parasit kann zu keiner der drei letzten Gruppen gehören, seine Entwicklungsgeschichte, sein Fundort u. s. w. sprechen entschieden dagegen. Mehr schon nähert er sich den Gregarinen; aber auch von diesen unterscheidet er sich in wichtigen Charakteren. So, vor Allem, lebt er während der Vegetationsperiode in morphologischen Elementen des Wirthes, nicht frei, wie die Gregarinen; dann ist hier keine Conjugation zu bemerken, auf die erst Sporen-

) Vgl. hierzu G. Balbiani, *Leçons sur les sporozoaires*. Paris 1884.

bildung bei den meisten Gregarinien folgt; endlich bildet unser Parasit nur eine Spore, während die Gregarinien immer eine grosse Zahl von Sporen bilden. Es bleibt uns also nur die Gruppe der Coccidien, mit denen unser Parasit auch die grösste Verwandtschaft aufweist, übrig. Nur in zwei Punkten sind morphologische Unterschiede zwischen den Coccidien und unserem Parasiten vorhanden: es findet bei ihm keine Incystierung statt und es wird hier kein „noyau de reliquat“ gebildet.

Es fragt sich nun, ob diese Unterschiede genügen, um ihn von den Coccidien zu trennen?

Vor Allem die Incystierung: findet die Sporenbildung im Wasser, im Tractus intestinalis statt, so ist die Nothwendigkeit einer Cyste, um das Eindringen von Wasser u. s. w., das nachtheilig sein kann, unmöglich zu machen, selbstverständlich; findet aber die Sporenbildung in einem Medium statt, das selbst eine Art schützender Cyste bildet, wie in unserem Falle der Zellkern, so kann das Ausbleiben der Incystierung als Anpassung angesehen werden, die aber nicht so tief eingreift, dass sie als Familienunterschied angesehen werden könnte.

Was die Abwesenheit eines „noyau de reliquat“ betrifft, so ist dies zwar für eine Coccidie etwas ungewöhnliches, doch wäre dieser Parasit nicht die einzige, eines „noyau de reliquat“ entbehrende Coccidie. *Isospora rara* von Schneider scheint auch keinen solchen zu besitzen, soviel ich aus der von Balbiani gegebenen Abbildung schlüssen kann¹⁾). Ich wäre auf Grund dieser Erwägungen geneigt, den Parasiten zu den Coccidien zu rechnen, die dann in cystenlose und cystenbildende getheilt werden müssten. Unter letzteren repräsentiren die monosporen mit vielen sichelförmigen Körperchen die Gattung *Eimeria*. Diese wäre unter den cystenlosen durch unseren Parasiten repräsentirt, für welchen wir als Gattungsnamen die Bezeichnung *Karyophagus*, als Speciesnamen: *Salamandrae* — nach dem Fundorte — vorschlagen.

Bis jetzt haben wir keine positiven Data, die den Beweis der Existenz ähnlicher Kernparasiten bei anderen Thieren und beim Menschen liefern könnten; es ist aber doch kaum denkbar,

¹⁾ I. c. p. 83. Fig. 23.

dass nur in den Salamanderkernen Parasiten existiren und pathologische Veränderungen in denselben hervorrufen, das Gegentheil scheint viel wahrscheinlicher und jeder billig denkende Mann wird mit uns solchen Parasiten eine grosse pathologische Bedeutung beimessen müssen.

Zum Schlusse noch einige mikrometrische Werthe. Der Durchmesser der Parasitenkerne in ihrem vegetativem Zustande beträgt durchschnittlich $3,5-5,5\text{ }\mu$, der der Nucleolen $0,8-1,2\text{ }\mu$; der der kinetischen Parasitenkerne (Mutterkerne) $4-6\text{ }\mu$; die Sichelkerne sind $2,5\text{ }\mu$ lang, $0,8\text{ }\mu$ dick. Die Sicheln selbst sind etwa $12\text{ }\mu$ lang und $1\text{ }\mu$ dick. Der Zellenleib des Parasiten im vegetativem Zustande schwankt innerhalb sehr weiter Grenzen, von $4-6\text{ }\mu$ Durchmesser bis zur Grösse eines Salamanderdarmepithelzellkernes, d. h. von etwa $15-20\text{ }\mu$ Länge, $6-12\text{ }\mu$ Dicke.

Herrn Prof. S. M. Lukjanow, unter dessen Leitung ich arbeite, danke ich hiermit herzlichst für die Bereitwilligkeit, mit welcher er mir bei meinen Untersuchungen mit Rath und That beisteht.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel V.

Fig. 1. Junger Parasit im Kerne einer Darmepithelzelle von *Salamandra maculosa*.

Fig. 2. Zwei ältere Exemplare in einem solchen Kerne.

Fig. 3 und 4. Noch ältere, mehr ausgewachsene Exemplare in Kernen.

Fig. 5. Sehr grosser Parasit im Kerne, von welchem nur noch die Membran und zwei Nucleolen links intact geblieben sind.

Fig. 6. Derselbe Parasit (jung) im Zustande der Auswanderung aus dem Kerne.

Fig. 7. Junger Parasit im Kern; sein Kern ist in Kinese getreten.

Fig. 8. Zwei Tochterkerne im Parasiten.

Fig. 9. Der eine der Tochterkerne hat sich weiter getheilt.

Fig. 10. Beide Tochterkerne sind weiter getheilt.

Fig. 11. Noch weitere Kerntheilung.

Fig. 12 und 13. Die jungen Kerne beginnen sich regelmässig an der Peripherie zu gruppiren.

Fig. 14. Die sichelförmigen Körperchen sind gebildet und regelmässig gruppirt.

Fig. 15. Die Membran des Kernes, der die sichelförmigen Körperchen beherbergt,

ist rechts verschwunden und die Körperchen sind nicht mehr so regelmässig gruppirt.

Fig. 16. Die Sichelkerne theilen sich.

Fig. 17. Die jungen Sicheltochterkerne gehen auseinander.

Fig. 18. Jeder zweikernige sichel förmige Körper hat sich in zwei getheilt.

Fig. 19. Die die Sichelgruppe umgebende Partie der Kernmembran ist verschwunden, die Sicheln sind nicht mehr regelmässig gruppirt.

Fig. 20. Der Kern ist vollständig — sammt Membran — verschwunden und die an seiner Stelle sich befindenden sichel förmigen Körperchen fangen an ihre charakteristische Gestalt zu verlieren und amöboid zu werden. Die Kerne kehren zum Ruhezustande zurück.

Fig. 21. Dasselbe, nur sind schon fast alle Sicheln in Amöben verwandelt und alle Kerne zum Ruhezustande zurückgekehrt.

X.

Kleinere Mittheilungen.

1.

Ueber in Lungencavernen vorkommende Mikroorganismen.

Von Charles Seth Evans, Cincinnati, U. S. A.

(Hierzu Taf. VI.)

Ueber die Mikroorganismen, welche in Lungencavernen vorkommen, ist verhältnissmässig wenig bekannt. Vor allen war es Koch, welcher in seiner Mittheilung aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt gewisse Pilzarten nachwies und darauf aufmerksam machte, dass Bakterien in die Cavernen eindringen und sich in deren Secret vermehren könnten. Man möchte nun vielleicht zu der Annahme neigen, dass alle die Pilze, welche in der Luft vorkommen, durch die Athmung in die Lungencavernen getragen und dort einen günstigen Boden für ihre Entwickelung finden würden, allein in den Lungencavernen sind, wie anderswo in der Natur, die Lebensbedingungen für die eine Art günstiger, als für die andere, und es darf uns nicht überraschen, wenn der Kampf um's Dasein nur einzelne bestimmte Arten aufkommen lässt. Von diesen Arten sagt Koch in seiner oben erwähnten Abhandlung, dass sie entweder ein unschädliches Schmarotzerleben in den Cavernen führen oder sich an dem Zerstörungsprozess in den Lungen beteiligten.

Als einen der Schmarotzerpilze nennt Koch den Bacillus des grünen Eiters, den er wiederholt in grossen alten Cavernen gefunden hat, der mir