

## VI.

**Beitrag zur Histologie der Geflügelpocke.**

(Aus dem Kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.)

Von

Dr. Hugo Apolant.

(Hierzu Tafel II.)

Die Häufigkeit, mit der in epithelialen Geschwülsten anscheinend typische histologische Gebilde gefunden werden, lassen die Frage nach der Natur dieser Bildungen nicht zur Ruhe kommen. Nachdem wir durch unsere Untersuchungen an Karzinomen die Überzeugung gewonnen hatten, daß alle hier als Parasiten beschriebenen Zelleinschlüsse, ganz speziell die sogenannten Plimmerschen Körperchen lediglich Degenerationserscheinungen sind, lag es nahe, diejenige Geschwulst genauer zu studieren, die wegen ihres außerordentlich typischen histologischen Bildes Dezennien hindurch von autoritativer Seite als Hauptrepräsentant einer Koccidienerkrankung angesehen wurde, nämlich das *Epithelioma contagiosum*. Die einwandsfreien Übertragungen des *Molluscum contagiosum* beim Menschen, sowie das endemische Auftreten der dem *Molluscum* offenbar sehr nahestehenden Geflügelpocke haben zwar stets eine für die Neisser-Bollingersche Gregarinentheorie viel sicherere Unterlage abgegeben, als sie beim Karzinom für ähnliche Theorien jemals vorhanden war, indessen hat die parasitäre Deutung der sichtbaren Zelleinschlüsse durch den von Marx und Sticker erbrachten Nachweis, daß das Virus der Geflügelpocke das Berkefeld-Filter passiert, unverkennbar einen gewaltigen Stoß erlitten. Freilich ist die Möglichkeit, daß das Virus des Epithelioms von Bildungen, die unterhalb der mikroskopischen Sichtbarkeit stehen, allmählich zu histologisch erkennbaren Körpern auswächst, nicht absolut auszuschließen. Hierin, sowie in der Tatsache, daß die feineren Vorgänge bei der Zelldegeneration noch vielfach der Klärung bedürfen, liegt die Berechtigung einer nochmaligen histologischen Prüfung der Frage.

Die Verschiedenheit des klinischen Bildes, gewisse Differenzen im histologischen Bau, sowie die Unmöglichkeit einer wechselseitigen Übertragung, machen zwar nach unserer Überzeugung den seinerzeit von Bollinger<sup>1)</sup> vertretenen und selbst in den neuesten Lehrbüchern der Dermatologie nicht völlig zurückgewiesenen Standpunkt von der Identität des *Epithelioma contagiosum* bei Menschen und Geflügel unhaltbar, in der uns hier interessierenden Frage bestehen jedoch offenbar weitgehende Analogien, sodaß in der Deutung der mikroskopischen Bilder kaum ein prinzipieller Unterschied statuiert werden kann. In vielen Beziehungen liegen jedoch die Verhältnisse bei der Geflügelpocke erheblich klarer, weil bei dem sehr viel akuteren, stürmischen Verlauf die pathologischen Produkte in größerer Masse gebildet werden und sehr viel mannigfaltiger in die Erscheinung treten. Dies wird ohne weiteres klar, wenn man bedenkt, daß die Inkubationsdauer des *Molluscum*, wie experimentell festgestellt ist, häufig 2—3 Monate beträgt, während die Geflügelpocke am Augenlid der Taube, an dem meine Untersuchungen vorwiegend angestellt wurden, schon 4 Tage nach der Impfung alle für uns in Betracht kommenden Stadien der Erkrankung in schönster Weise erkennen läßt. So lange der Prozeß progredient bleibt, immer neue Partien also frisch infiziert werden, ist es ziemlich gleich, von welchem Krankheitstage man die Untersuchung anstellt, da innerhalb dieser Zeit stets die verschiedenen Stadien angetroffen werden.

Ein wesentlicher Unterschied gegenüber dem *Molluscum* besteht ferner darin, daß bei der Impfung — Schnitte durch die ganze Epitheldecke bis in die *Cutis* — oberflächliche und tiefe Epithelien in ziemlich gleicher Weise infiziert werden, sodaß das histologische Bild nicht die regelmäßige Schichtung aufweist, die für das *Molluscum* so charakteristisch ist.

Die bei der Geflügelpocke auftretenden Zelleinschlüsse bestehen wesentlich in zwei, wie ich glaube, essentiell und genetisch vollständig voneinander zu trennenden Bildungen, von denen die einen das Analogon der bekannten *Molluscumkörper*

<sup>1)</sup> Tagebl. d. 51. Vers. deutsch. Naturf. u. Ärzte. Kassel 1878.

chen bilden, während ich die anderen nach dem, der sie zwar nicht entdeckt, aber zuerst genauer beschrieben hat, kurz als Bendasche Körperchen bezeichnen möchte.

Betrachten wir zunächst die letzteren. Aus der für das Molluscum gültigen Beschreibung und den Abbildungen Bendas<sup>1)</sup> geht hervor, daß die Körperchen meist in der Einzahl und dann stets dem Kern dicht anliegend, zuweilen auch zu zweien oder mehreren und dann diffuser im Protoplasma verteilt, immer aber von einem hellen Hof umgeben, angetroffen werden, und zwar zu einer Zeit, in der keinerlei sonstige Veränderungen an der Zelle sichtbar sind. In einer höheren Zelllage des Molluscum bemerke man stets nur ein Körperchen, das nunmehr den Mittelpunkt der immer weiter um sich greifenden und schließlich zur Bildung des typischen Molluscumkörperchens führenden Zelldegeneration darstellt.

Das Initialkörperchen selbst soll dabei zu Grunde gehen. Benda glaubt auf Grund seiner Untersuchungen das Molluscumkörperchen als Degenerationsprodukt, den Initialkörper dagegen mit großer Wahrscheinlichkeit als Parasiten deuten zu dürfen. Diese Anschauung scheint er später, wie ich einem Referat im Zentralblatt für Allg. Path.<sup>2)</sup> entnehme, in ähnlicher Weise auch auf die Taubenpocke übertragen zu haben, doch konnte ich leider genauere Angaben über die bestehenden Differenzen nicht ermitteln.

Tatsächlich liegen die Verhältnisse bei der Geflügelpocke in vielen Punkten wesentlich anders.

Zur Darstellung der Körperchen bediente ich mich verschiedener Methoden, vor allem der von Benda empfohlenen Gentiana-Vesuvinfärbung, die vorzügliches leistet. Sehr klare Bilder erhält man auch nach Fixation in Flemmingscher Lösung mit Safranin und Gegenfärbung in Indigkarmin-Pikrinsäure. Ganz besonders empfehlen möchte ich jedoch eine

1) Dermat. Zeitschr. 1895.

2) Verh. d. Path. Anat. Sect. d. 69. Vers. Deutsch. Naturforscher und Ärzte. Braunschweig, 1897 (siehe Zentralbl. f. Allg. Path. u. path. Anatomie, Bd. 8).

Modifikation der Pappenheim-Unnaschen Methylgrün-Pyronin-Methode, bei der die Körperchen eigentlich glänzend rot gefärbt werden. Auf den Rat von Herrn Geheimrat Ehrlich ersetzte ich das Pyronin durch Irisamin und verfuhr folgendermaßen: Die in Alkohol oder dem Carnoyschen Alkohol-Chloroform - Essigsäure - Gemisch fixierten Präparate kommen zunächst auf einige Minuten in eine konzentrierte wässrige Irisaminlösung, werden in Wasser abgespült, in einer nicht zu dünnen Methylgrünlösung etwa 10 Sekunden nachgefärbt und abermals kurz in Wasser abgespült. Da die so tingierten Präparate die Alkoholpassage nicht vertragen, so schließt man sie entweder in Lävulose ein oder montiert sie in dickflüssigen, angewärmten Kanadabalsam, nachdem man sie vorher in wasserfreiem Äther entwässert und in Bergamottöl aufgehellt hat.

Größe und Zahl der Bendaschen Körperchen schwankt bei der Geflügelpocke innerhalb außerordentlich weiter Grenzen. Neben feinsten Pünktchen, die fast an der Grenze der mikroskopischen Sichtbarkeit stehen, findet man recht stattliche Gebilde von der Größe eines halben Kerns und darüber, und neben Zellen, die nur ein oder zwei Körperchen enthalten, liegen solche, in denen eine förmliche Aussaat besteht. Die Figg. 1—12, 21—27 und 32—36, Taf. II, geben besser als alle Beschreibungen einen Begriff von der hier herrschenden außerordentlichen Mannigfaltigkeit.

Wie ist nun die Entstehung der Bendaschen Körperchen zu erklären? Sind sie als Parasiten oder als Degenerationserscheinungen aufzufassen? Und in letzterem Falle, sind sie aus dem Protoplasma oder aus Kernbestandteilen abzuleiten?

Für eine Entstehung aus dem Kern spricht zunächst die unzweifelhafte Tatsache, daß, wenn nur ein Körperchen vorhanden ist, dieses so gut wie ausnahmslos in unmittelbarster Nähe des Kerns liegt, den letzteren sogar häufig dellenförmig eindrückend (Taf. II, Fig. 1 und 34). Allzuviel Wert möchte ich jedoch auf diese Lagebeziehung allein nicht legen; denn erstens läßt sich dieses Verhältnis, schon wenn zwei Körperchen vorhanden sind, nur selten noch nachweisen, da ganz ge-

wöhnlich bei schon ausgebildeten Vogelpockenkörperchen die Gruppierung so erfolgt, wie es Taf. II, Fig. 35 zeigt, in dem sich also die Bendaschen Körperchen oppositopol lagern, und zweitens läßt sich bei anderen Körnelungen, die morphologisch eine gewisse Ähnlichkeit mit den Bendaschen Körperchen haben, nämlich dem Keratohyalin zeigen, daß der Ort ihres erstens Auftretens innerhalb der Zelle nach der Form der letzteren außerordentlich wechselt. Spannungsverhältnisse, gegenseitiger Druck u. s. w. spielen hierbei eine große Rolle. Es bedarf daher zur Ableitung der Bendaschen Körperchen aus dem Kern beweisenderer Momente, die allerdings, wie ich glaube, erbracht werden können.

In den meisten Arbeiten wird es so dargestellt, als ob die Veränderungen des Kerns beim Molluscum sekundär dadurch hervorgerufen werden, daß mit der Ausbildung des Molluscumkörperchens der Nucleus, ähnlich wie bei der Fettzelle, allmählich zur Seite gedrängt wird und atrophiert. Daß dieses mehr mechanische Moment bei der Vogelpocke für die Kern-degeneration, wenn überhaupt, nur von ganz untergeordneter Bedeutung ist, geht sowohl daraus hervor, daß man nicht selten evidente Zeichen einer degenerativen Kernveränderung schon zu einer Zeit findet, in der entweder keine oder nur sehr unbedeutende Protoplasmadegenerationen nachweisbar sind (Taf. II, Fig. 16, 31, 37), als auch daraus, daß sehr häufig ein auffallendes Mißverhältnis zwischen der geringen Ausbildung des Molluscumkörperchens und dem hochgradigen Kernschwund besteht (Taf. II, Fig. 36).

Die ersten Zeichen der Degeneration weist gewöhnlich, aber keineswegs immer, der Nucleolus auf. Während sich der selbe unter normalen Verhältnissen nach der Bendaschen Methode kaum färbt, kann er in den kranken Partien schon sehr frühzeitig in toto tief dunkelblau tingiert werden, zuweilen jedoch färben sich nur ein oder zwei Punkte mit Gentiana, während der übrige Teil des Nucleolus noch das Bismarckbraun annimmt (Taf. II, Fig. 19).

Noch reichhaltigere Degenerationsformen kann man an Irisamin-Methylgrün-Präparaten studieren. Normalerweise färbt

sich hierbei der Nucleolus rot-violett, ungefähr in der Nuance des Protoplasmas, während das Kernchromatin einen blau-grünen Ton annimmt. Bei der Degeneration schlägt das Violett des Nucleolus in ein gesättigtes, leuchtendes Rot um. Da nun der Nucleolus häufig nur bruchstückweise degeneriert, so können die verschiedensten Bilder zu stande kommen, unter denen Ringbildungen (Taf. II, Fig. 37) besonders auffallen. Gewöhnlich liegen in diesen Fällen zwei stark blau-grün gefärbte Chromatinkörper in oppositopoler Stellung dem Nucleolus dicht an.

Es erübrigt sich, diese Nucleolusdegenerationen im einzelnen zu beschreiben, da sie keineswegs für die Vogelpocke charakteristische Formen aufweisen.

Neben der Nucleolusdegeneration tritt nun, und zwar häufig ihr sogar vorausgehend, eine mehr oder weniger ausgedehnte Verklumpung des Kernchromatins ein, das dann ebenfalls die Farbenreaktion umgewandelter Nucleoli annimmt. Dieser Prozeß geht klar hervor aus den Fig. 6, 8, 10, 13, 24, 32 und 33, Tafel II. Ganz besonders möchte ich auf Fig. 13, Taf. II aufmerksam machen, in der der Kern völlig mit Chromatinschollen erfüllt ist, während im Protoplasma nur zwei winzige Körnchen sichtbar sind.

Es kann gar keinem Zweifel unterliegen, daß diese Bildungen den Kern verlassen und so zu Benda'schen Körperchen werden, von denen sie tinktoriell auf keine Weise zu unterscheiden sind. Natürlich ist es außerordentlich schwer, diesen Prozeß durch Abbildungen zu veranschaulichen, da nur der feinste Gebrauch der Mikrometerschraube im stande ist, hier im Einzelfall die Entscheidung zu treffen. Ich beschränke mich daher darauf, in Fig. 15, Taf. II ein sehr häufig wiederkehrendes Bild von einer Zelle zu geben, in der der degenerierte Nucleolus der Kernmembran dicht anliegt und offenbar im Begriff war, den Kern demnächst zu verlassen. Aber auch ohne die direkte Beobachtung des Austritts erklärt die Annahme dieses Vorganges am einfachsten und ungezwungensten Bilder wie Fig. 8, 24, 33, Taf. II, in denen man bereits eine Anzahl Körperchen im Protoplasma bemerkt, während andere noch

im Kern zurückgeblieben sind. Schließlich treten auch diese aus, und es entstehen Bilder wie Taf. II, Fig. 25, in denen der Kern auf einen Schatten reduziert ist, während sich das Protoplasma mit Chromatinschollen angefüllt hat. Als charakteristisch verweise ich auch hier wieder auf Taf. II, Fig. 13. Aus irgend welchen Gründen ist hier mit Ausnahme zweier feiner Pünktchen der Austritt noch nicht erfolgt, der Kern scheint fast bis zum Platzen mit Chromatinschollen erfüllt, und es hat durchaus keine Schwierigkeiten, sich vorzustellen, daß die Zelle bei weiterem Leben ein Bild etwa wie Taf. II, Fig. 10 geboten haben würde.

Über das weitere Schicksal der Bendaschen Körperchen kann ich nur Vermutungen aufstellen. Tatsache ist, daß sie schließlich verschwinden. Es erscheint ganz unverständlich, warum Benda dies Verschwinden mit der Natur eines Degenerationsprozesses nicht vereinbaren kann, da wir ganz analoge Verhältnisse beim Keratohyalin haben. Wir wissen nach den neuesten Forschungen mit absoluter Sicherheit, daß das schollige Keratohyalin sich zunächst in das zerfließliche Eleidin umwandelt, das schon nicht mehr dieselben Farbenreaktionen zeigt. Was aus dem Eleidin wird, darüber lassen sich bis jetzt nur Hypothesen aufstellen, sicher ist lediglich, daß es mit dem Verhorngungsprozeß nicht das geringste zu tun hat. In ähnlicher Weise stelle ich mir die weitere Umwandlung der Bendaschen Körperchen vor. Offenbar gehen sie bei der allgemeinen Degeneration, der die Zelle unterliegt, eine flüssige Modifikation ein, die die Zelle imbibirt und sich so dem histologischen Nachweis entzieht.

Die angeführten Tatsachen scheinen mir mit einer parasitären Deutung der Bendaschen Körperchen unvereinbar zu sein. Ganz besonders kommt hierbei, abgesehen von allen anderen, oben erwähnten Momenten der Umstand in Betracht, daß die Größe der angeblichen Parasiten, namentlich bei Berücksichtigung der Marx-Stickerschen Befunde, innerhalb so enorm weiter Grenzen schwanken müßte, wie wir es ohne Sporulation, von der nichts zu sehen ist, bei ähnlichen parasitären Gebilden bisher nicht kennen.

Ganz anders ist die Genese der eigentlichen Vogelpockenkörperchen, die das direkte Analogon der Molluscumkörperchen bilden. Nebenbei sei bemerkt, daß diese Gebilde bei der Vogelpocke fetthaltig sind, sich daher in Osmiumsäure schwärzen und an Formol-Gefrierschnitten mit Scharlach R. in schönster Weise dargestellt werden können. Es erscheint jedoch fraglich, ob dem Fettgehalt eine wesentliche Bedeutung zuzuschreiben ist, da er sehr ungleich stark auftritt und im Anfang häufig fast vollkommen vermißt wird:

Die Gegner der Bollinger-Neißerschen Gregarinentheorie stützten ihre Ansicht, daß das Molluscumkörperchen das Resultat eines Degenerationsvorganges sei, vor allem auch darauf, daß man bei der Entstehung dieser Gebilde einen allmählichen Übergang in das umgebende Protoplasma konstatieren könne. Auch hierin zeigt die Vogelpocke besonders klare und instruktive Bilder.

Den Beginn der Protoplasmadegeneration erblicke ich in einem eigentümlichen Körnigwerden des Zellleibes (Taf. II, Fig. 27 und 31), der sehr bald ein mehr oder minder grob getüpfeltes Aussehen annimmt (Taf. II, Fig. 14, 28, 30). Durch Verschmelzen dieser Tüpfel entstehen allmählich größere, annähernd kugelige Gebilde, die jedoch sehr häufig noch in späteren Stadien ihre Entstehung an der charakteristischen Maulbeerform erkennen lassen (Taf. II, Fig. 38). Hierfür eignet sich ganz besonders Fixation in Hermannscher Flüssigkeit mit folgender Pyrogallusbehandlung. Es ist kaum möglich, in Beschreibung und Abbildung dem Formenreichtum gerecht zu werden, der hier besteht. Die Figg. 14, 17, 18, 28, 29 und 30, Taf. II, mögen als besonders charakteristische Bilder gelten. Auf einen Umstand möchte ich jedoch noch aufmerksam machen. An Präparaten, die nach der Bendaschen Methode hergestellt sind, färbt sich das Vogelpockenkörperchen hellblau, und zwar in einem schon sehr frühen Stadium, so daß man im Anfang des Prozesses die degenerierten blauen Partien von den noch nicht degenerierten braunen sehr gut differenzieren kann (Taf. II, Fig. 19 und 20).

Häufig zeigen nun namentlich größere Körperchen bei dieser Methode eine eigentümliche Struktur, die im einzelnen außerordentlichen Schwankungen unterliegt. Gewöhnlich bemerkt man ein kompakteres Zentrum, von dem aus mehr oder minder feine Septen zur Peripherie ziehen. Hierdurch kommt zuweilen eine sehr entfernte Ähnlichkeit mit Sporencysten zu stande (Taf. II, Figg. 2, 3, 5, 7 und 18). Die außerordentliche Mannigfaltigkeit und Unregelmäßigkeit der Formen veranlaßt uns, diese Bildungen ausschließlich auf Fixationserscheinungen zurückzuführen.

Ein wesentliches Moment für die Auffassung der Vogelpockenkörperchen als Protoplasmadegeneration dürfte darin zu sehen sein, daß in den späteren Stadien des Prozesses ein eigentliches Protoplasma trotz der erheblichen Vergrößerung der Zelle färberisch gar nicht mehr nachzuweisen ist. Der Hauptinhalt der stark gequollenen Zelle erscheint viel mehr vollkommen ödematos und weist neben dem Kernrest und den etwa noch vorhandenen Benda'schen Körperchen lediglich ein großes Vogelpockenkörperchen auf (Taf. II, Fig. 5).

Wenn ich somit die Benda'schen Körperchen als Degenerationsprodukte des Kerns, die Vogelpockenkörperchen als solche des Protoplasmas anspreche, so entsteht die weitere Frage, ob beide in einen direkten kausalen Zusammenhang zu bringen sind. Diejenigen Anhänger der parasitären Theorie, die den Erreger in irgend einem histologisch nachweisbaren Gebilde gefunden zu haben glaubten, mußten einen solchen Zusammenhang notwendigerweise statuieren, sei es nun, daß sie, wie Neißer, das Keimkörperchen zum Ausgangspunkt der Gregarinrentwicklung machten, oder daß sie, wie Benda, die Protoplasmadegeneration direkt auf den vermeintlichen Parasiten zurückführten. Nach unserer Auffassung muß ein direkter Zusammenhang beider Bildungen entschieden geleugnet werden; nur eine indirekte Beziehung besteht insofern, als beide der Tätigkeit desselben Virus ihre Entstehung verdanken. Histologisch drückt sich dies bei der Vogelpocke in folgenden Momenten aus.

1. Man sieht außerordentlich häufig deutliche Anfänge

einer Protoplasmadegeneration ohne die Spur eines Bendaschen Körperchens (Taf. II, Fig. 18, 19, 20, 28, 29 und 30).

2. Das Vogelpockenkörperchen kann seine Ausbildung vollständig erreicht haben, und trotzdem kann die Zelle räumlich absolut getrennt ein oder mehrere Bendasche Körperchen enthalten (Taf. II, Fig. 5).

3. Die räumliche Trennung von Bendaschen Körperchen und Vogelpockenkörperchen gilt im allgemeinen als Regel für alle Stadien der Entwicklung. Nur wenn sehr zahlreiche Bendasche Körperchen bei noch wenig scharf begrenzten Vogelpockenkörperchen vorhanden sind, liegen die ersteren verteilt in letzteren (Taf. II, Figg. 8, 10, 27).

4. Aus den Größenverhältnissen der Bendaschen zu den Vogelpockenkörperchen lassen sich keinerlei Schlüsse für einen inneren Zusammenhang ziehen, da kleine und große Bendasche Körperchen in allen Stadien der Protoplasmadegeneration gefunden werden.

#### Erklärung der Abbildungen auf Taf. II.

Sämtliche Abbildungen sind mit Zeiß apochrom. homog. Immers. 2 mm und Comp. Ocul. 4 gezeichnet.

Fig. 1—20 nach Färbung in Gentianaviolett-Vesuvin.

Fig. 21—31 nach Färbung in Safranin-Jndigkarmin-Pikrinsäure.

Fig. 32—37 nach Färbung in Methylgrün-Irisamin.

Fig. 28 nach Fixation in Hermannscher Flüssigkeit mit folgender Pyrogallus-Behandlung.



