

XX.

Über die als Protozoen beschriebenen Zelleinschlüsse bei Variola.

(Aus dem Pathologisch-anatomischen Institut der Universität Straßburg.)

Von

P. Schrumpf.

(Mit 2 Figuren im Text.)

Seitdem Guarnieri in den Epithelien der Variola- und Vaccinepusteln gewisse Zelleinschlüsse beschrieb, die er für Coccidien hielt und als spezifische Krankheitserreger betrachtete, haben sich zahlreiche Autoren teils für, teils gegen diese parasitäre Ätiologie ausgesprochen. Ganz neuerdings sind zwei Forscher für die Existenz des *Cytoryetes vaccinia* aufs entschiedenste eingetreten und haben diese zu beweisen gesucht, Bosc (Monpellier) und Councilman (Boston). Wenn ich hier auch auf die früheren Arbeiten nicht näher einzugehen brauche, vielmehr auf die sehr vollkommene Literaturangabe in Councilmans Publikation verweisen darf, so muß ich doch die Ergebnisse der Untersuchungen der beiden genannten Forscher in aller Kürze wiedergeben. Bosc,¹⁾ der seit langen Jahren sich mit dem Thema der Zelleinschlüsse beschäftigt, faßt Vaccine, Variola, Schafpocken, Krebs, sogar Syphilis in eine Gruppe zusammen und nennt sie — „Maladies à sporozoaires“. Die Krankheitserreger dieser ganzen Klasse sollen nahe Verwandte Protozoenarten sein; ihre nähere Beschreibung liegt bereits vor, nur die des Syphilisparasiten steht bis jetzt noch aus. Bosc hat verschiedenen Versuchstieren Sporen von *Coccidium oviforme*, *Klossia* und *Monocystis* eingepflanzt und will dadurch fibrom-, adenom-, sarkomähnliche Geschwülste erzeugt haben, deren Zellen dieselben Einschlüsse enthielten, wie sie bei Krebs, Schafpocken, Variola gefunden werden. Speziell bei Schafpocken und Variola-Vaccine sollen die Zelleinschlüsse die

1) a) Entr. d. comptes rendus d. l. Soc. d. Biol.; Sitzung d. 1. 2. 02 und folgende.

b) Les Maladies à sporozoaires. Arch. d. Méd. exper., Mai 1901.

typischen Evolutionsformen der echten Sporozoen zeigen. Die Grundform, die man im Beginn der Erkrankung immer findet, ist ein Kern, umgeben von einem Protoplasmahof, der mit einer Vacuole leicht verwechselt werden kann und inner- oder außerhalb des Zellkernes gelegen ist. Außerdem erscheinen kompliziertere, intranucleäre Formen in Bläschengestalt, oft zu mehreren in einer Kapsel eingeschlossen. Die letzteren wurden bloß bei Variola, nicht bei Vaccine aufgefunden. Beide Arten unterscheiden sich nach Bosc wesentlich durch die Art ihrer Fortpflanzung, die bei den ersteren schizogonisch, bei den letzteren sporogonisch ist. Das Produkt der sporogonischen Vermehrung, die sich nur im Inneren des Zellkernes abspielt, sind Sporen, die sich nach Zerreißung der das Muttertier umgebenden Membran in das Zellplasma zerstreuen = Sporogonien. Bei der im Zellplasma ablaufenden Schizogonie teilt sich die Mutterform des Parasiten in eine große Anzahl von Körperchen, welche von einem kaum sichtbaren protoplasmatischen Substrat umgeben sein sollen und als Merozoiten bezeichnet werden.

Councilman¹⁾ und seine Schüler gelangen in der Hauptsache zu demselben Resultat. Ersterer verwirft jedoch die Ansicht, daß der Erreger der Variola mit dem des Krebses identisch sei. Er erklärt vielmehr, daß die von ihm als *Cytoryctes Vaccinia* beschriebenen Zelleinschlüsse keinerlei Ähnlichkeit hätten mit denjenigen, welche bei Krebs und anderen Tumoren gefunden und beschrieben worden sind. Auch Councilman konstatierte, daß sie bald innerhalb, bald außerhalb des Kernes gelagert wären, ersteres im Beginn der Affektion bei Vaccine und Variola, letzteres, wenn die Krankheit, und zwar nur die Variola, auf ihren Höhepunkt gelangt war. Nicht nur stehen die angeführten Zelleinschlüsse zueinander in einem innigen Zusammenhang, sondern sie gehen auch allmählich ineinander über und bilden einen geschlossenen Entwicklungskreis, der demjenigen der Coccidien entspricht. Die Parasiten zeigen ein schnelles Wachstum. Man findet dieselben Formen bei den verschiedenen Variolafällen im gleichen Stadium

¹⁾ Studies on the Pathology and on the étiology of Variola and of Vaccinia (Publication office of the Journal of Medical Research).

der Erkrankung. Councilman gibt zu, daß die Anfangsformen des *Cytoryetes Vaccinia*, die identisch sind mit denen, die Bosc beschreibt, mit anderen protoplasmatischen Gebilden verwechselt werden können, und zwar mit roten Blutkörperchen, Leukocyten und ihren Zerfallsprodukten, Terminalkörperchen der Nervenendigungen, keratohyalinen Granula, Centrosomen, Kerndegenerationsprodukten, Protoplasmaklumpen, Fibrintrümmern. Ähnliche Degenerationsfiguren sollen in den Schleimhäuten bei Diphtherie auch vorkommen. Councilman gibt ferner zu, daß es ihm oft auch unmöglich gewesen ist, sich bestimmt darüber zu entscheiden, ob er einen Parasit oder eine Degenerationsform vor sich habe. Sehr gute Dienste haben ihm dabei die Mikrophotographie und die Untersuchung bei sehr hellem Bogenlicht mittelst starker Vergrößerung geleistet. Ebenso wie Bosc hält Councilman den Vaccine- und den Variolaeerreger für identisch; beide unterscheiden sich nur durch ihre Entwicklungsweise. Die Vaccinekörperchen vermehren sich nämlich asexuell, passiv; bei Variola hingegen wird eine sexuelle Differenzierung angenommen, mit aktiver Vermehrung und Bildung von Sporen, die ohne einem Zwischenwirt spezifisch infektiösfähig sind. Die Vaccineparasiten sind nach Councilman weniger widerstandsfähig wie die der Variola. Auch nimmt ihre Lebenskraft graduell ab, wenn ihnen von seiten sexueller Arten keine Unterstützung zuteil wird.

Die Übertragung soll durch die Luft stattfinden; in den Luftwegen soll eine primäre Pustel entstehen, von der aus die Infektion des ganzen Körpers auf dem Blutwege geschehen soll. Der Umstand, daß bei der Sektion meist in den Luftwegen eine Pustel nicht gefunden wird, erklärt Councilman dadurch, daß Trachea, Bronchien und Lungen nach Heilung der primären Pustel gegen eine spätere Infektion immunisiert sind. Trotzdem das Blut der Träger aller Infektionskeime sein soll, sind Blutimpfungen immer negativ geblieben.

Methodik. Zur mikroskopischen Untersuchung wurden Hautpusteln von Variola verwandt; die Hautstücke waren in Formalin fixiert, in Alkohol gehärtet. Nach Celloidineinbettung wurden Mikrotomschnitte von durchschnittlich 5–8 μ Dicke gemacht, die sich als hinlänglich dünn erwiesen haben. Diese wurden gefärbt, besonders mit einer Eosin-Methylenblau-mischung. Die ursprüngliche Romanowskysche Methode, ebenso die

Giemsa'sche Azur-Eosinfärbung ergab an Schnitten schlechte Resultate; dagegen habe ich mit folgender Modifikation eine vorzügliche Differenzierung erzielt: zu polychromem Methylenblau wird so viel einer 0,5 pro Mille Eosinlösung zugesetzt, bis sich die Farbstofflösung mit einem deutlich grünlichen Häutchen bedeckt; das Gemisch wird dann durch Kochen mit Borax alkalisch gemacht; die vom Celloidin möglichst sorgfältig befreiten Schnitte werden darin mehrere Stunden gelassen; sie sind danach stark überfärbt, fast schwarz; sie werden dann unter mikroskopischer Kontrolle in mit Essigsäure angesäuertem 96prozentigen Alkohol so lange differenziert, bis die Kerne blau, das Protoplasma rot erscheinen; dann folgt kurze Behandlung mit Äther, zwecks völliger Entwässerung, Aufhellen in Xylolnelkenöl, Einschließen in säurefreiem Kanadabalsam. Die so sehr leicht erzielte Differenzierung ist ganz einwandfrei und unfehlbar. Mit dieser Modifikation gewinnt man den besonderen Vorteil, daß es auf das Verhältnis zwischen Eosin und Methylenblau in der Farbstoffmischung nicht ankommt, ebensowenig auf das Alter und die Herkunft der Farblösungen. Alle Schnittfärbungen gelingen bei einigermaßen sorgfältiger Behandlung.

Ferner wurde gefärbt mit 1. Magentarot-Indigo-Carmin-Pikrinsäure (Borell), 2. Safranin-Methylviolett-Orange G (Feinberg), 3. Triacid (Jacobson-Ehrlich). Keine dieser Methoden gibt befriedigende Resultate, nur die Borell'sche noch für die Anfangsstadien der Einschlüsse. Sehr zweckmäßig ist endlich die Haidenhainsche Eisen-Hämatoxylinfärbung mit oder ohne Gegenfärbung.

An dem mir zu Gebote stehenden Material ist es gelungen, alle die unter dem Namen *Cytoryctes Vaccinae* aufgeführten Gestalten von Zelleinschlüssen, die Bosc und Councilman beschrieben haben, deutlich zu machen. Ich bin aber zu der entgegengesetzten Auffassung gekommen, d. h. ich halte nicht wie diese Forscher die genannten Einschlüsse für parasitäre Organismen, sondern für verschiedenartige Degenerationsprodukte. Diese meine Ansicht zu beweisen, soll weiterhin meine Aufgabe sein.

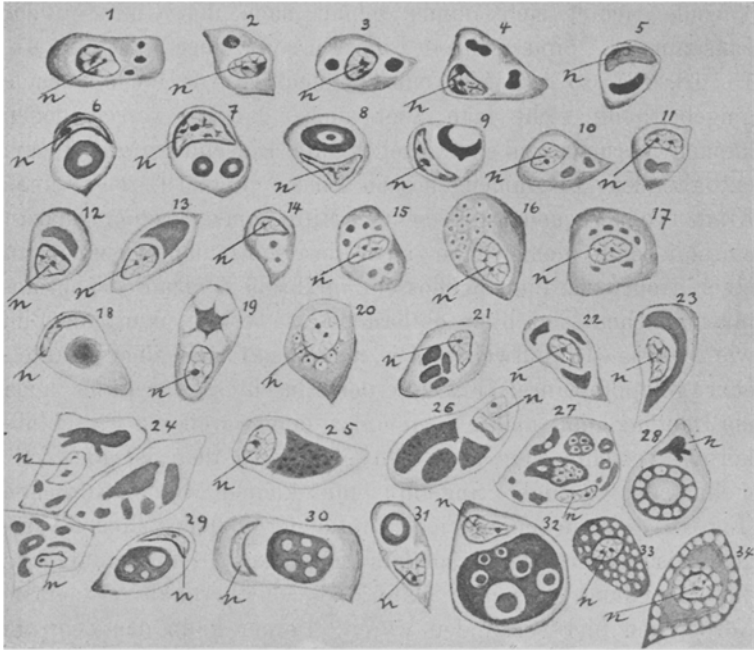
Eine Variolahautpustel entsteht durch eine regellose Wucherung der Epithelzellen des Stratum Malpighi, auf die bald ein zentraler Zerfall, verbunden mit Fibrinbildung und Kokkeninvasion, folgt. An einem senkrecht zur Oberfläche mitten durch eine solche Pustel geführten Schnitt kann man mikroskopisch drei allmählich ineinander übergehende konzentrische Zonen mehrweniger deutlich unterscheiden. Die äußere besteht aus den noch wenig veränderten, bloß stark gewucherten, aber aus ihrem Verband noch nicht gelösten

Epithelzellen; in der mittleren sind diese Zellen in verschiedenem Grade vacuolisiert und vergrößert, die Zellgrenzen sind undeutlich und fehlen oft ganz deswegen, weil die Zellen zu zerfallen beginnen. Das Zentrum der Pustel stellt endlich ein Balkenwerk dar, dessen Maschen ausgefüllt sind mit großen, mehr oder weniger gut erhaltenen, meist stark vacuolisierten Epithelien, Fibrin, Chromatintropfen, Protoplasmaklumpen, Leukocyten, Kokken und allerlei schwer definierbarem Zelldetritus. Innerhalb dieser drei Zonen findet man die verschiedenen Formen der sogenannten Parasiten, und zwar in der äußeren Zone vorzugsweise die extranucleären Anfangsstadien, die eigentlichen Guarnierischen Körperchen, die neuerdings besonders von Hückel eingehend beschrieben wurden und mit den Einschlüssen bei Vaccine identisch sind. In der Mittelzone erscheinen neben letzteren noch die komplizierteren, meist intranucleären, bei Vaccine nicht vorkommenden und besonders von Bosc und Councilman aufgeführten Formen. In der zentralen Zone endlich trifft man an noch einigermaßen gut erhaltenen Zellen gelegentlich dieselben Einschlüsse wie in den beiden anderen Bezirken, doch nur recht selten; meist ist hier der Zerfall schon so weit vorgeschritten, daß scharfe Bilder nur ganz ausnahmsweise sich erhalten haben. Die komplizierten Formen der Mittelzone finden sich nicht in der Außenzone. Wie schon gesagt, sind diese als Parasiten bezeichneten Gebilde, die in jeder Variolapustel faktisch vorkommen, zwei Hauptklassen einzuverleiben, in die extranucleären, welche die häufigeren sind, und die intranucleären.

Extranucleäre Form: In einem mit Eosin-Methylenblau gefärbten Schnitt erscheint das Zellplasma rosarot, der Kern blau, das Kernkörperchen tiefblau, alle scharf gezeichnet, wie auch das Chromatingerüst. Die Epithelzellen selbst, wie auch die Kerne sind deutlich vergrößert. Manche Zellen enthalten zwei, sogar drei Kerne. Die meisten Kerne sind umgeben von einem helleren Hofe. Der Farbe nach kann man nun zwei Unterarten von extranucleären Einschlüssen unterscheiden, blaue und rote. Die ersteren befinden sich in den ganz oberflächlichen Zellschichten und erscheinen als kleine, runde, ovale, halbmond- oder hantelförmige Körperchen, die, umgeben von

einem helleren Hof, neben dem Kern in dem Plasma liegen, oft recht zahlreich und oft etwas dunkler gefärbt wie der Kern; in letzterem ist das Chromatin meist zu mehreren Tropfen zusammengeballt. Derartige Körperchen können um den ganzen Kern herumliegen, kommen aber am häufigsten an dessen beiden Polen vor. Ihr Durchmesser überschreitet nie die Hälfte des Kernes. Bei allen Färbungen, die ich vorgenommen habe, nehmen diese Körperchen dieselbe Farbe an, wie die Chromatintropfen des Kernes. Der umgebende hellere Hof ist zweifelsohne eine konzentrische Vacuole, entstanden durch Retraktion oder Verdrängung des umliegenden Cytoplasmas; dies ist ganz besonders deutlich zu erkennen an mit Eisen-Hämatoxylin gefärbten Schnitten. Ein solches rundes Körperchen, von dem helleren Hof umgeben, kann, besonders bei Doppelfärbung, einen protoplasmatischen Zelleib mit einem zentralen Kern vortäuschen, welcher in dem Zellplasma eingelagert ist. Bei Borellscher Färbung sind diese Körperchen, wenn die Differenzierung gut gelungen ist, glänzend rot, in grünem Medium gelegen. Da nun gewisse Bestandteile des Kernchromatins gleich rot gefärbt sind, während sie normalerweise bloß die grüne Farbe annehmen, so halte ich mich zu der Deutung berechtigt, daß diese Art von Einschlüssen durch versprengte Partikelchen chemisch veränderten Chromatins hervorgerufen werden. Wahrscheinlich ist mir sogar, daß diese Chromatinversprengung als die Folge einer unregelmäßigen Kernteilung zu betrachten ist. Durch Zusammenfließen mehrerer Chromatintröpfchen kann ein größerer Einschluß entstehen, durch welchen das umgebende Cytoplasma und sogar der Kern an die Seite gedrängt werden. Alsdann werden die Kernkörperchen undeutlich und der ganze Kern nimmt ein körniges Aussehen an. Bemerkenswert ist endlich, daß meist ein Komplex von mehreren Zellen diese Art von Einschlüssen zeigt. Fig. 1—5 zeigen die am häufigsten vorkommenden Formen dieser Art. In Fig. 6—9 sehen wir seltenere Gestalten, in denen der versprengte Chromatintropfen eine zentrale Vacuole aufweist, in deren Mittelpunkt in Fig. 8 noch ein zentraler Chromatinpunkt sich erhalten hat. Durch diese größeren Formen werden Kern und Protoplasma stark an die Zellgrenzen gedrängt.

Die Form der roten, extranucleären Einschlüsse ist etwas seltener. Sie kommt in der Regel nur in vereinzelt Zellen vor und ist identisch mit den „Vaccine-Parasiten“. An gut differenzierten Eosin-Methylenblau-Schnitten erkennt man neben dem gutgefärbten, keinerlei Zeichen von Degeneration bietenden



I. Extranucleäre Formen von Zelleinschlüssen in Hautpusteln bei Variola. (n = Kern). In mit Eosin-Methylenblau gefärbten Schnitten sind die Kerne blau, das Protoplasma rosarot, die Zelleinschlüsse in Fig. 1—9 blau, in Fig. 10—34 rot. (Vergr. 1000fach.)

Kern ein oder mehrere scharf abgegrenzte, von dem helleren Plasma sich deutlich abhebende, von einer helleren Zone umgebene rote Körperchen, welche die Größe des Kernes erreichen und sogar überschreiten können. Sie liegen meist in der Nähe des Kernes, ihn oft halbmondförmig umfassend. Wenn sie auch die verschiedensten Formen annehmen können, so sind sie doch meistens rund, oval oder halbmondförmig (Fig. 10, 12, 13). Einen zentralen Körper, den man als Kern auf-

fassen könnte, besitzen sie nicht, ebensowenig eine umgebende Membran. Auch hier erscheint bei genauer Betrachtung, besonders an einfach gefärbten Schnitten der umliegende helle Hof nur als Vacuole, zuweilen aber in einer solchen Größe, daß von dem eigentlichen Plasma nur noch geringe Reste geblieben sind und der Kern ganz beiseite gedrängt ist. Die Vacuole richtet sich immer genau nach den Umrissen des Einschlusses. Sind mehrere Einschlüsse in einer Zelle (Fig. 14, 15, 16, 17), so ist jeder einzelne deutlich von einer Vacuole umgeben; oft sieht man aber auch, daß die verschiedenen kleinen Vacuolen zu einer großen, alle Einschlüsse gemeinsam enthaltenden zusammengefloßen sind. Fig. 19 zeigt einen Kranz von Vacuolen, in seiner Mitte einen Protoplasmarest einschließend; denkt man sich diese einzelnen Vacuolen zu einer großen zusammengefloßen, in ihrem Zentrum den protoplasmatischen Einschluß enthaltend, so erhält man ein Bild wie es Fig. 18 aufweist. Die manchmal gefundene Hantel- oder gelappte Form (Fig. 11) der Einschlüsse gestattet auch die Deutung, daß mehrere kleinere zu einem größeren Einschlußkörper verschmolzen sind. In seltenen Fällen ist die Zelle mehr oder weniger angefüllt mit kleinen roten Körnchen (Fig. 16), von denen ein jeder mit einer kleinen Vacuole umgeben ist, derart, daß besonders auf starkgefärbtem Untergrund die Täuschung entstehen kann, als ob kernhaltige kleinste Körperchen hier vorhanden wären. Ferner kann das Zentrum mancher größeren Einschlüsse die Farbe etwas stärker annehmen als die peripherischen Teile (Fig. 18), wahrscheinlich infolge einer nach Innen zunehmenden Verdichtung der Bestandteile; deshalb darf man aber doch nicht von einem Kern sprechen. Endlich kann ein solcher Einschluß selbst vakuolisieren, an einer oder verschiedenen Stellen (Fig. 28—32), ja in der Mitte dieser sekundären Vacuole kann noch ein roter Punkt erhalten sein. Jedoch trifft man derartige Gebilde recht selten (Fig. 27—32). Je mehr man sich dem Zentrum der Pustel nähert, desto größer werden die roten Einschlüsse; zugleich verliert der Kern seine Färbbarkeit, wird an die Seite gedrängt und zerfällt schließlich ganz. Am längsten erhalten sich die Kernkörperchen. Mitten im zentralen Detritus sieht

man oft große Zellen, an denen man nicht mehr einen Kern, sondern nur noch Reste davon oder an die Peripherie gedrängte Kernkörperchen erkennen kann, eine große Vacuole bildend, welche ausgefüllt ist mit roten, meist runden, aber auch oft ganz unförmlichen Substanzklumpen (Fig. 21—24). Diese können ganz homogen bleiben, oder sie werden deutlich körnig (Fig. 25, 26), wobei ein jedes Körnchen stärker als seine nächste Umgebung gefärbt ist.

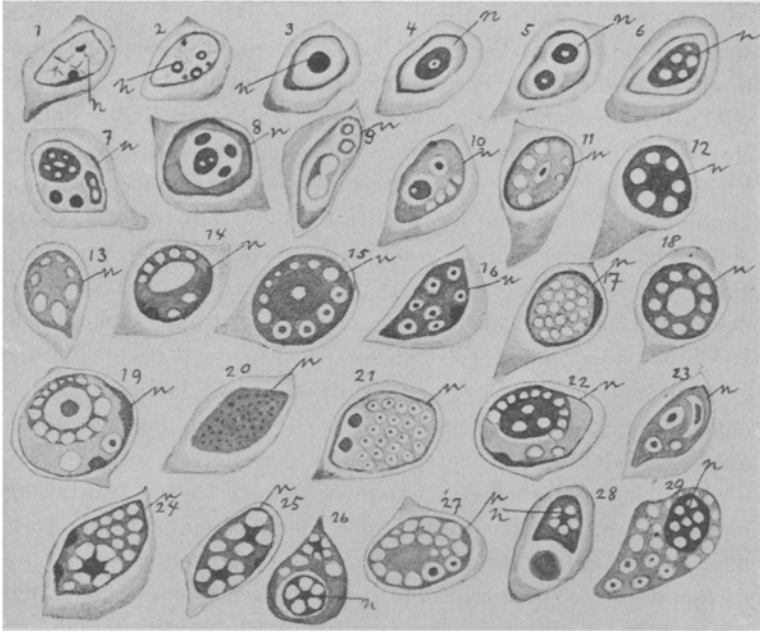
Dieser Art von Einschlüssen glaube ich einen rein protoplasmatischen Ursprung zusprechen zu dürfen. Denn bei allen Färbemethoden nehmen sie ausschließlich die Protoplasmafarbe an, nur intensiver. Sie entstehen dadurch, daß das Protoplasma einer Zelle sich zusammenballt, wobei eine periphere Vacuole zustande kommt. Die Dichte des Cytoplasmas hat in den so entstandenen Körperchen zugenommen, damit auch die Intensität der Färbung. Innerhalb des Zellplasmas können aber auch einfache oder mehrfache Vacuolen auftreten, so daß das Plasma zusammengedrückt wird und alle möglichen Formen annehmen kann. Die protoplasmatischen Einschlüsse können nun ihrerseits ebenfalls vacuolisieren, so daß ganz sonderbare Bilder hervorgerufen werden. Sehr schön ist dies in Fig. 28 zu sehen; neben einem Chromatinklumpen, dem Rest des Kernes, sehen wir daselbst einen großen runden Einschluß mit einer zentralen größeren Vacuole, um die sich ein Kranz kleinerer Vacuolen gebildet hat. Derselbe Prozeß hat in Fig. 32 stattgefunden, nur sind hier die Vacuolen unregelmäßig in den Einschlüssen zerstreut, und jede von ihnen enthält noch in ihrer Mitte einen protoplasmatischen Rest. Ein Zelleib kann sogar so stark vacuolisiert werden, daß er wie ein Komplex von gleich oder verschieden großen Schaumblasen erscheint. Gewöhnlich steckt in jeder dieser Blasen ein Rest des Plasmas: daneben können zwischen den einzelnen Blasen noch scharf gefärbte Partikelchen übrig geblieben sein (Fig. 33). Endlich erscheint bisweilen auch das ganze Cytoplasma als ein körniger Ballen, dessen einzelne Körnchen in je einer kleinsten Vacuole liegen können. Seltener vacuolisiert sich das Plasma zu regelmäßigen gleich großen Blasen, welche einen den Kern oder auch einen Protoplasmaclumpen umgebenden Kranz

bilden. Um den Kern resp. den Einschluß erscheinen alsdann 2 konzentrische Kreise, die durch darauf senkrecht gestellte Radialien in regelmäßige Felderchen segmentiert sind. Enthält jede dieser Vacuolen noch einen zentralen soliden Punkt (Fig. 20), so erscheint der den Kern resp. den Einschluß umgebende Kranz aus kernhaltigen, scharf abgegrenzten Körperchen aufgebaut. Unregelmäßige Vacuolisierung des Zellplasmas, bei welcher keine auffallende Bilder entstehen, ist relativ recht häufig. Fig. 34 läßt eine höchst merkwürdige Vacuolisierungsform des Plasmas erkennen: die innere Zellgrenze ist hier ganz ausgekleidet mit gleich großen Vacuolen, wie auch die äußere Kerngrenze; dazwischen ist unverändertes Protoplasma.

Intranucleäre Einschlüsse kommen am häufigsten in der mittleren, seltener in der zentralen, gar nicht in der äußeren Zone der Variolapustel vor. Ihre einfachste Form ist bei Eosin-Methylenblaufärbung ein ganz kleines, hellglänzendes, dunkelrot bis violett körnchen an irgend einer Stelle des blauen Chromatingerüsts. Bei starker Vergrößerung und genügender Abblendung kann man manchmal in seiner Mitte einen helleren Punkt erkennen (Fig. 1 und 2). Dagegen ist jedes Körnchen regelmäßig von einem etwas helleren Hofe umgeben. Die Zahl dieser Körnchen kann auf 2 und noch mehr steigen; zugleich nimmt die blaue Farbe des Kernes an Intensität ab; die Kernstruktur wird undeutlich, das Chromatin erst körnig, dann homogen und verliert seine normale Färbbarkeit, wird z. B. bei Eosin-Methylenblau rötlichviolett, so daß man neben den richtig roten Einschlüssen violette Chromatinpartikelchen unterscheidet. Schließlich kann der ganze Kern mit den genannten Körperchen dicht ausgefüllt werden (Fig. 20 und 21), während das normale Chromatin verschwunden ist. Bloß die Umrisse des Kernes sind meist noch deutlich blau gefärbt und bilden eine periphere, breitere oder schmalere Zone. Auch die Kernkörperchen sind bald nicht mehr zu erkennen, oder bloß Spuren davon, an die Peripherie gedrängt. Diese Kerneinschlüsse sind immer rund, nur einmal habe ich eine Sichelform gefunden (Fig. 23).

Niemals habe ich ein Bild gesehen, welches die Vermutung erlaubt, daß ein solches Körperchen im Begriff wäre, die

Kerngrenzen zu überschreiten, um in das umliegende Protoplasma zu gelangen. Das Volum des Kernes nimmt dabei meist beträchtlich zu. Einzelne Kerne werden von einem größeren roten, peripher oder zentral liegenden Körper bis zur Hälfte und darüber ausgefüllt; dieser ist von einer deutlichen



II. Intranucleäre Formen von Zelleinschlüssen in Hautpusteln von Variola. (n = Kern.) In mit Eosin-Methylenblau gefärbten Schnitten sind die Kernreste blau, die Einschlüsse violett bis dunkelgranatrot, das Protoplasma rosarot. (Vergr. 1000fach.)

hellen Zone umgeben und zeigt sehr oft ein helleres Zentrum, in dessen Innerem ein kleiner roter „Kernpunkt“ manchmal sichtbar wird (Fig. 4 und 5). Oft läßt endlich ein größerer roter Einschluß mehrere kreisrunde oder ovale, meist scharf abgegrenzte helle Stellen, entweder unregelmäßig zerstreut oder auch kranzförmig an der ganzen Peripherie liegend erkennen (Fig. 6, 12). Manche Kerne, bei denen nur noch die äußere Grenze die normale Kernfarbe angenommen hat, enthalten mehrere rote Einschlüsse, in deren Innerem eine oder mehrere

helle runde Stellen sichtbar sind; diese helleren Abschnitte können einen scharf gefärbten zentralen Punkt enthalten (Fig. 7, 8, 10—12, 14, 15, 18, 19, 21—23). Dieselben sind die höchst sonderbaren Figuren, die dem Beschauer der Abbildungen von Bosc und Councilman so sehr auffallen. Diese Autoren betrachten sie als die Mutterformen des Parasiten vor oder nach dem Entschlüpfen der Sporen. Councilman äußert sogar direkt die Ansicht, daß sie ganz unabhängig von Chromatin entstehen und heranwachsen. Bietet nun ihre Deutung, wie wohl zuzugeben ist, eine gewisse Schwierigkeit, so gelingt sie doch, insbesondere, wenn man an scharf differenzierten Eisen-Hämatoxylinpräparaten die typischen Formen wieder finden kann, was freilich nur bei größerer Übung möglich ist. Nach eingehender Untersuchung und umsichtlicher Vergleichung sehr zahlreicher intranucleärer Einschlüsse in allen ihren verschiedenen Formen bin ich zu folgender Überzeugung gekommen: Die Entstehung dieser Einschlüsse ist prinzipiell derjenigen der extranucleären roten Formen an die Seite zu stellen. Infolge eines Degenerationsprozesses ballt sich nämlich das Chromatin an einer oder an mehreren Stellen des Kernes zu kleineren oder größeren Körnchen zusammen; infolge dieser Kontraktion entsteht um dasselbe ein kleiner, wahrscheinlich mit Kernflüssigkeit gefüllter Raum, die Vacuole. Zugleich werden diese Chromatinteile chemisch oder physikalisch so verändert, daß sie eine andere Farbe wie das normale Chromatin bekommen. An Eosin-Methylenblauschnitten sind alle Stufen zwischen blau und dunkelgranatrot deutlich zu erkennen. Ferner sind bei Borellscher Färbung die kleineren intranucleären Einschlüsse ebenfalls rot gefärbt, ebenso wie die oben beschriebenen extranucleären Chromatinpartikelchen. Der so entstandene Chromatinklumpen kann nun selber vacuolisieren. Durch die mannigfaltige, oft recht sonderbare Anordnung dieser Vacuolen kommen alsdann die komplizierten Formen der „Pseudoparasiten“ zustande. Oder es kann die Vacuolisierung des Kernes das Primäre sein; die zwischen den einzelnen Vacuolen übrig bleibenden Chromatinstückchen werden zusammengepreßt und ändern auch ihr Färbungsvermögen. In der Mehrzahl der Fälle ist diese Vacuolisierung unregelmäßig, d. h. es entstehen

dabei keine systematischen Figuren (Fig. 13, 17, 25, 27). Vielmehr werden diese hervorgerufen, wenn z. B. die Vacuolen in gleicher Größe einen Kranz bilden, der den Kern umgibt, oder wenn sie in einer oder in mehreren Reihen um einen Chromatintropfen herum aufgestellt sind und so eine Art Marguerite herstellen (Fig. 14, 15, 18, 19, 22). Die Regelmäßigkeit der Vacuolenanordnung hängt wahrscheinlich mit der Lage der Chromatinfäden und der Gestaltung des Gerüsts zusammen, wie sich am besten an Eisen-Hämatoxylinfärbung erkennen läßt. Fig. 20 zeigt eine Stelle, deren Chromatin zu zahlreichen Körnchen sich zusammengeballt hat; bildet sich um jedes Körnchen eine kleine Vacuole, so entsteht ein Bild, wie wir es in Fig. 21 haben. In Fig. 24 und 25 sehen wir, wie eine Anzahl gleich großer Vacuolen in ihrer Mitte einen Chromatinballen umfassen. In Fig. 27 stellen die Vacuolen eine spiralförmig verlaufende Reihe dar; zwei von ihnen enthalten einen zentralen Chromatinpunkt. Fig. 26, 28, 29 zeigen endlich recht seltene Formen, in denen sowohl intra- wie auch extranucleäre Einschlüsse zustande gekommen sind; die Vacuolisierung ist an jedem dieser Bilder recht deutlich.

Ganz ähnliche Systeme und Anordnungen der Vacuolen habe ich bei postmortal abgelösten Harnblasenepithelien, wenn Cystitis und Ureteritis ganz ausgeschlossen waren, wiedergefunden. Am zweckmäßigsten ist es, sie in frischem Zustande, ohne Färbemittel zu untersuchen. Ebenfalls habe ich auch in jungem Knorpel durch Vacuolisierung bedingte Bilder von Zeileinschlüssen gesehen. Selbst Pflanzenzellen können so regelmäßig vacuolisieren, daß dadurch Bilder entstehen, die stark an die intranucleären „Pseudoparasiten der Variola“ erinnern. Die Möglichkeit endlich, daß Nucleolen, Altmannsche Zellgranula, in den Zeileib aufgenommene Leukocyten oder rote Blutkörperchen, lokale Verhornungsprozesse, unter Umständen parasitäre Zeileinschlüsse vorspiegeln können, leugne ich nicht ab, wenn ich sie hier auch nur ganz ausnahmsweise beobachtet habe.

Erwäge ich nunmehr die Ergebnisse meiner Untersuchungen und vergleiche sie unter sich sowie mit den Schilderungen anderer, so kann ich nicht umhin, zu erklären, daß ich alle

als Cytoryctes Variolae oder Vaccinia beschriebenen Zelleinschlüsse als Protozoen nicht anerkennen kann. Vielmehr lassen sich alle diese Gebilde aus Degenerationsvorgängen herleiten, und zwar scheinen die extranucleären Formen teils durch abgesprengte Chromatinpartikelchen einer Mitose, teils durch Vacuolisierung und Zusammenballung des Zellplasmas, die intranucleären dagegen durch Körnelung oder vacuoläre Degeneration, mit oder ohne Aufnahme von Chromatinpartikelchen in die Vacuole, produziert zu werden. Dabei wird sowohl das Cytoplasma als auch das Chromatin in seiner chemischen Zusammensetzung so verändert, daß seine Farbenreaktion eine andere wird.

Ich möchte noch zum Schluß einen von Borell¹⁾ ausgeführten Versuch kurz anführen, der in hohem Grade dagegen spricht, daß es Protozoen sind, welche die Variola erzeugen. Borell hat nämlich Variolapustelinhalt durch Chamberland filtriert und das Filtrat noch spezifisch virulent gefunden. Ich glaube kaum, daß so große Protozoen oder selbst ihre Sporen einen Porzellanfilter passieren können. Ferner scheint mir die Councilmansche Infektionstheorie sehr wenig wahrscheinlich. Wie wäre wohl mit ihr die Tatsache zu vereinen, daß im Blut, das doch der Transporteur aller Infektionsteile in die Haut und die Schleimhäute sein soll, keine Spuren von Parasiten oder Sporen derselben gefunden werden, und daß Impfversuche mit dem Blut der Kranken negativ ausfallen? Wie wäre es wohl zu erklären, das nicht an der ganzen Körperoberfläche gleichzeitig die Effloreszenzen ausbrechen?

Leider habe ich kein frisches Material zur Verfügung gehabt, um die Impfversuche zu wiederholen. Daher habe ich auch keinen frischen Variolapustelinhalt untersuchen können. Ich kann mir aber nicht vorstellen, daß so enorm rasch wachsende und sich vermehrende Parasiten nicht deutliche Lebenserscheinungen geben müßten, und für das Vorkommen letzterer liegt bisher noch kein genügender Beweis vor. Selbst v. Wasilewski gibt dieses in seiner letzten Abhandlung über Vaccine zu.²⁾

1) Expériences sur la filtration des virus. Comptes rendus de la Société de Biologie, 1902 p. 59.

2) Zeitschr. f. Hygiene Bd. XXXVIII S. 212.

Variola und Vaccine mögen ja durch einen uns noch unbekannten und wahrscheinlich mit unseren jetzigen Untersuchungsmethoden nicht zu erkennenden Parasiten hervorgerufen werden; aber die als *Cytoryctes Vaccinia* beschriebenen Gebilde dürften wohl keine Parasiten, vielmehr Degenerationsprodukte sein.

XXI.

Untersuchungen über das Vorkommen parasitärer Organismen in Geschwülsten.

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Straßburg.)

Von

Dr. L. Blum, ehemaligem Assistenten des Instituts.

Die Frage nach der parasitären Entstehung der bösartigen Geschwülste ist mehr denn je in neuerer Zeit Gegenstand lebhafter Diskussion geworden, die in zahlreichen Arbeiten ihren Ausdruck gefunden hat. Es kann daher betreffs der Literatur und der historischen Entwicklung dieses Gegenstandes auf die jüngsten Veröffentlichungen, namentlich auf die Arbeit Feinbergs „Die Gewebe und die Ursache der Krebsgeschwülste“, als eines der Hauptvertreter der parasitären Ätiologie, hingewiesen werden. Trotzdem nun die Arbeiten von Nösske, Apolant und Embden und Honda, um nur die neuesten zu nennen, über das Entstehen und das Vorkommen der angeblichen Parasiten einigen Aufschluß gebracht haben, halten die Anhänger der parasitären Entstehung an ihrer Deutung der in den Karzinomen getroffenen Gebilde als Parasiten fest. Ich habe mir unter Berücksichtigung der von Feinberg gegen die oben genannten Arbeiten gemachten Einwände ein Urteil über deren Berechtigung und über die Natur der fraglichen Elemente zu bilden gesucht. Da diese Untersuchungen im pathologischen Institut ausgeführt wurden, so darf ich wohl Veranlassung nehmen, die vor zehn Jahren von gleicher Stelle ausgegangene Publikation von E. Burckardt: „Über ein Coccidium im Schleimkrebs des Menschen und seine Dauersporencysten“