

Aus dem Hygienischen Institut der Universität Kiel
(Direktor: Prof. Dr. F. KLOSE).

Zur Histogenese des Tuberkels in der Chorio-Allantois-Membran des Hühnerembryos.

Von

RICHARD SCHÜRMANN.

Mit 14 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. August 1951.)

Einleitung.

Das bebrütete Hühnerei ist nicht nur ein geeignetes Versuchsprojekt für die Virusforschung und Bakteriologie, sondern es bietet auch für das experimentelle Studium pathologisch-anatomischer Probleme gegenüber anderen Versuchstieren wertvolle Vorteile:

1. Es handelt sich bei ihm um einen embryonalen Organismus, der von Umwelteinflüssen weitgehend unabhängig ist, der im allgemeinen noch nicht mit Krankheitserregern in Berührung gekommen ist und der auf die Zufuhr von pathogenen Keimen jungfräulich, d. h. „normergisch“ reagieren muß.

2. Die Chorio-Allantois-Membran des sich entwickelnden Hühnerembryos besitzt in ihrem reticulären Mesenchym ein morphologisch noch undifferenziertes, leicht zu übersehendes, jedoch hoch reaktionsfähiges Gewebe, in dem alle Lebensvorgänge und Gewebsäußerungen wesentlich rascher als in den Geweben der gebräuchlichen Versuchstiere ablaufen, so daß man in ihr entzündliche Vorgänge gleichsam wie im Zeitrafferfilm beobachten kann.

3. Alle in das Ei durch das Experiment eingebrachten Krankheitserreger können nicht wieder ausgeschieden werden — sie können höchstens in bestimmten Zonen abgelagert werden —, eine Tatsache, die ebenfalls von keinem anderen Versuchstier mit einer solchen Regelmäßigkeit ausgesagt werden kann.

Einen Nachteil dagegen bedeutet die relativ kurze Beobachtungszeit bis zum Schlüpftermin, welche jedoch durch die intensiveren und schnelleren vitalen Abläufe und Reaktionen des Hühnerembryos im Vergleich mit anderen gebräuchlichen Versuchstieren ausgeglichen wird.

Schrifttum und Problemstellung.

In gemeinsam mit KLOSE und KNOTHE durchgeführten Versuchen gelang es uns regelmäßig, durch Beimpfung der Chorio-Allantois-Membran 7tägig bebrüteter Hühnereier mit Tuberkelbakterien schon nach

5 Tagen eine makroskopisch erkennbare Tuberkulose in derselben hervorzurufen. Nachdem seit der Aufhebung der Zwangsbewirtschaftung die Bereitstellung von Hühnereiern für wissenschaftliche Zwecke keine Schwierigkeiten mehr bereitet, beschäftigte uns unter anderem auch die Frage, ob sich mit dieser Methode eine Schnelldiagnose auf das Vorliegen einer Tuberkulose entwickeln ließe. Eine solche Schnelldiagnose wird von klinischer Seite immer dringender für alle diejenigen Fälle gefordert, bei denen die anderen Untersuchungsverfahren versagen, oder bei denen der klassische Tierversuch mit dem Meerschweinchen für den Beginn einer wirkungsvollen Therapie zu lange andauern würde. Unsere Versuche ergaben bisher jedoch, daß der klassische Tierversuch mit Meerschweinchen hinsichtlich des Nachweises geringer Mengen von Tuberkelbakterien der Beimpfung der Chorio-Allantois-Membran überlegen ist, worüber bereits an anderer Stelle berichtet wurde (KLOSE, KNOTHE und SCHÜRMANN).

Bei unseren Versuchen erlangten wir darüber hinaus einen eingehenden Einblick in die *Histogenese des Tuberkels* in der Chorio-Allantois-Membran, welche mit ihrem noch polyblastischen, reticulären, mesenchymalen Gewebe ein ideales Testorgan für das Studium reaktiver Vorgänge in embryonalen Geweben darstellt. Über die Beimpfung der Chorio-Allantois-Membran des sich entwickelnden Hühnerembryos mit Tuberkelbakterien besteht vorwiegend ein amerikanisches Schrifttum. Es sei auf GOODPASTURE und ANDERSON (Versuche mit *Mycobacterium tuberculosis avium*), EMMART und SMITH (Virulenzbestimmungen von Tuberkelbakterien) und auf die Franzosen COSTIL und BLOCH verwiesen. Bei diesen Untersuchungen stehen bakteriologische Fragestellungen im Vordergrund, während ihre pathologisch-anatomischen Beschreibungen zuweilen Widersprüche aufweisen.

Für uns war es nun von Interesse, ob die verschiedenen Phasen des tuberkulösen Geschehens auch in der Chorio-Allantois-Membran zu beobachten seien, nachdem heute die Lehre HÜBSCHMANNs, daß jeder produktiven Phase der Tuberkulose zuerst eine exsudative, noch unspezifische Phase vorangeht — welche freilich oft so kurz und vorübergehend sein kann, daß sie mit den Methoden der Morphologie nicht immer darzustellen ist —, allgemein anerkannt wird. Es war anzunehmen, daß in einem so übersichtlichen Gewebe, wie es die Chorio-Allantois-Membran mit ihrem mesodermalen Anteil darstellt, gerade diese Phasenabläufe klar herauszuarbeiten sein würden. Kürzlich jedoch wurde von DOMAGK wieder darauf hingewiesen, daß produktive Tuberkel auch ohne jegliche vorhergehende exsudative Phase entstehen können und daß sich sekundär im Zentrum dieser produktiven Tuberkel Nekrobiosen bis zur Verkäsung zu entwickeln vermögen, daß also die Er-

kenntnis HÜBSCHMANNs, jede Nekrobiose entwickle sich direkt aus der exsudativen Phase heraus, durchaus nicht immer zutrifft. DOMAGK stützt seine Ansicht auf die histologische Untersuchung zahlreicher experimentell mit Tuberkelbakterien infizierter Versuchstiere, und auch wir selbst gewannen bei der Durchsicht mehrerer hundert mit Tuberkelbakterien infizierter Meerschweinchen den gleichen Eindruck wie DOMAGK. — Außerdem hofften wir auch einen direkten Einblick in die Histogenese der spezifischen tuberkulösen Produkte, nämlich der epitheloiden Zellen und der LANGHANSSchen Riesenzellen gewinnen zu können. Die Diskussion über die kausale und auch formale Genese dieser Zellen ist bekanntlich noch in vollem Gange. So weist ROULET auf bestimmte Leibessubstanzen, insbesondere lipoide Bestandteile der zerfallenden Tuberkelbakterien hin, welche den formativen Reiz zur Bildung der produktiven tuberkulösen Zellelemente im Sinne einer Fremdstoffwirkung abgeben sollen, während es von PRIGGE bei der Besprechung der Grundlagen der Tuberkuloseschutzimpfung offengelassen wird, inwieweit die von den Tuberkelbakterien aufgebauten bzw. von ihnen abstammenden Proteine, Phosphatide, Wachse oder auch Kohlenhydrate das tuberkulogene Vermögen des Tuberkelbacteriums in sich tragen.

Schließlich konnte in jüngster Zeit FRESEN durch die Darstellung reticulärer Strukturen im Tuberkel mit den Methoden der Versilberung neue wertvolle Einblicke in die formale Genese des Tuberkels vermitteln. FRESEN vergleicht das „retotheliale System“, welches die Matrix für die Epitheloiden als auch für die Riesenzellen darstellt, ausdrücklich mit den reticulären Strukturen des embryonalen Mesenchyms, welches wir nun selbst in der Chorio-Allantois-Membran als einem geeigneten Modellgewebe eingehend studieren konnten. Endlich hofften wir darüber eine Antwort zu erhalten, ob und wann Tuberkelbakterien von der Chorio-Allantois-Membran durch den Säftestrom bzw. durch die Allantois- oder Amnionflüssigkeit oder aber auch auf dem Blutwege in andere Organe des Embryos zu gelangen vermögen.

Eigene Versuche.

Material und Technik.

Über die Technik der Beimpfung der Chorio-Allantois-Membran mit aeroben Bakterien ist von anderen Autoren ausführlich berichtet worden (KNOTHE, BEVERIDGE, BURNET). Es sei hier deshalb nur mitgeteilt, daß bei den gemeinsam mit KLOSE und KNOTHE durchgeführten Arbeiten Stämme des *Mycobacterium tuberculosis*, Typ humanus und Typ bovinus, die 3 Wochen auf Petraghani-Nährböden gewachsen waren und uns in ihrer Virulenz ausreichend bekannt waren, benutzt wurden. Dabei wurde in einer Reihe von Versuchen eine konstante Menge von Tuberkelbakterien (1 mg abgewogener Kulturmasse wurde in 20 cm³ physiologischer Kochsalzlösung homogenisiert und in Einzelportionen von 0,2 cm³ geteilt)

auf die Chorio-Allantois-Membran 7tägig bebrüteter Hühnereier der weißen Leghornrasse aufgeträufelt. Die Eier wurden daraufhin weiter bebrütet und laufend in 24stündigem Abstand bis zum 21. Tage geöffnet und untersucht. — In anderen Reihen wurden fallende Verdünnungen von homogenisierten, 6 Wochen alten Petragani-Kulturen derselben Tuberkelbakterienstämme (1 mg abgewogener Kulturmasse wurde in 10 cm³ physiologischer Kochsalzlösung homogenisiert. Es wurde ausgegangen von 0,5 cm³ dieser Masse bis zu einer Verdünnung von 10⁻⁶ bzw. 10⁻⁷) auf die Chorio-Allantois-Membran aufgeträufelt bzw. in die Allantoisflüssigkeit injiziert. Die Eier wurden nach weiterer Bebrütung alle am 10. Tage der Infektion, also am 17. Tage der Bebrütung geöffnet und untersucht. Endlich beimpften wir mit gleicher Methodik 7tägig bebrütete Hühnereier mit sehr großen Mengen (bis zu 1 mg abgewogener Kulturmasse), um möglichst massive Veränderungen hervorzurufen und öffneten sie nach 11 Tagen. Durch diese Versuchsanordnung war es uns möglich, die Histogenese des Tuberkels in der Chorio-Allantois-Membran in ihren Einzelheiten über einen Zeitraum von 14 Tagen zu studieren. Dabei erwies sich das Aufträufeln der Tuberkelbakterien auf die Chorio-Allantois-Membran als schonendste Methode, die bei genügender Erfahrung ein nur geringes mechanisches Trauma setzte und gleichmäßige, gut verwertbare Befunde ergab, während bei der Injektion des Impfgutes in die Allantois alle Schichten der Chorio-Allantois-Membran mit der Kanüle durchbohrt werden mußten, wobei ein erhebliches Trauma an der Impfstelle entstand, was für die Auswertung der Befunde störend war. Sämtliche Membranen wurden nach Betrachtung mit dem unbewaffneten Auge und der Lupe in 4%iges Formol eingelegt, in der aufsteigenden Alkoholreihe gehärtet, in Paraffin eingebettet und in Serien- bzw. Stufenschnitte von 5 μ Dicke zerlegt. Die Schnitte wurden mit Hämatoxylin-Eosin, Eisenhämatoxylin, nach der kombinierten Elastica-van-Gieson-Methode und nach ZIEHL-NEELSEN gefärbt. 12 μ dicke Schnitte wurden außerdem mit Auramin gefärbt und unter dem Fluoreszenzmikroskop betrachtet. Die Embryonen wurden zum Teil gleichfalls in Stufen geschnitten.

Normale Physiologie und Anatomie der Chorio-Allantois-Membran.

Um zu einem vollen Verständnis der histopathologischen Vorgänge zu gelangen, seien kurz die normalen feingeweblichen Strukturen der Chorio-Allantois-Membran besprochen. Die Chorio-Allantois-Membran setzt sich aus drei verschiedenen Schichten zusammen, die von den verschiedenen Keimblättern abstammen (Abb. 1). Sie liegt außerhalb des eigentlichen Embryos und dient während der längsten Zeit der Entwicklung als Atmungsorgan. Gleichzeitig dient die Allantois (Harnsack) zur Aufnahme der löslichen Stoffwechselprodukte (Harn). Erst vom 16.—18. Tage an übernehmen die Lungen die Atmung, obwohl ihre Anlage bereits am 3. Tage der Bebrütung erkennbar wird. Zu diesem Zeitpunkt beginnt die Chorio-Allantois-Membran abzutrocknen. Ein äußeres *ektodermales Epithel* liegt bei der ausgebildeten Chorio-Allantois-Membran der Schalenhaut des Eies dicht an. Es besteht aus einer einfachen Lage flacher, polygonaler Zellen, an welche aus dem Mesenchym ein dichtes Netzwerk von Capillaren heranreicht und zum Teil durch das Ektoderm hindurch mit der Schalenhaut in direkter Verbindung steht. Die *mesodermale Schicht* ist erheblich breiter und setzt sich aus einem lockeren Syncytium reticulärer Zellen zusammen, in deren Maschenwerk die nicht anfärbare, vorwiegend flüssige Intercellularsubstanz liegt. Das Mesoderm wird von zahlreichen Gefäßen durchzogen, deren Wandung sich mit fortschreitender Entwicklung differenziert. So kann man am 16. Tage der Bebrütung an den größeren

Gefäßen um das Endothelrohr eine deutliche Media aus glatten Muskelzellen erkennen. Einige Untersucher glauben perivaskuläre Gewebsspalten gesehen zu haben (SCHRECK), was uns selbst nicht gelang. Das *entodermale Epithel* grenzt den Harnsack ab und ähnelt in seinem Aufbau dem Ektoderm. Im ganzen ist es jedoch zarter angelegt. Aus der uns zugängigen Literatur ist nicht ersichtlich, ob die Chorio-Allantois-Membran mit ihren Gefäßen innerviert ist oder nicht. Nach LANGE soll sie nicht innerviert sein. Wir selbst konnten diese wesentliche Frage bisher nicht bearbeiten, möchten jedoch aus dem Verhalten der terminalen Strombahn annehmen, daß zumindest die Gefäße der Chorio-Allantois-Membran innerviert sind.

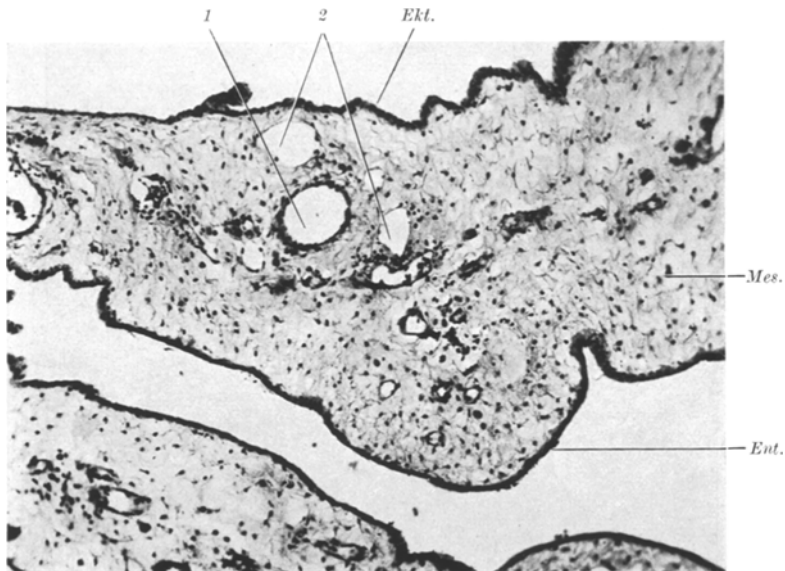


Abb. 1. Querschnitt durch eine normale Chorio-Allantois-Membran am 15. Tage der Bebrütung. *Ekt.* Ektoderm; *Ent.* Entoderm; *Mes.* Mesoderm; 1 Arterie; 2 Venen.

Makroskopische Befunde.

Betrachten wir nun zuerst mit dem unbewaffneten Auge eine Chorio-Allantois-Membran, auf die am 7. Tage der Bebrütung eine konstante Menge von Tuberkelbakterien (s. oben) aufgeträufelt wurde, so sehen wir, wenn das Ei 8 Tage später, also am 15. Tage der Bebrütung geöffnet wird, ausgedehnte Bezirke der Membran übersät mit zahlreichen, stecknadelspitz- bis stecknadelpkopfgroßen, opak-weißen Knötchen (Abb. 2), welche in einzelnen Bezirken zusammengefloßen sind, während an der Impfstelle selbst mehrere bis hirsekorngroße Knötchen dicht nebeneinander liegen. Die ersten Knötchen außerhalb des eigentlichen Impfherdes konnten wir im Durchschnitt bei fehlerfreier Impftechnik am 5. Tage nach der Infektion beobachten. Zuerst sind es nur wenige. Sie liegen schütter verstreut entlang den Gefäßen, verbreiten sich jedoch

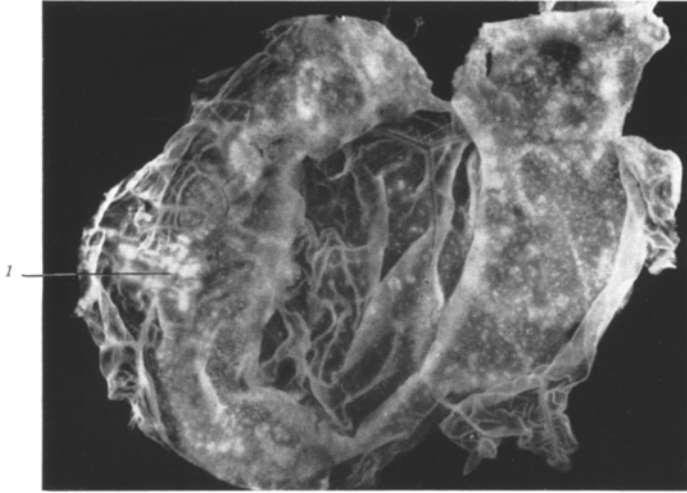


Abb. 2. Ausgedehnte Tuberkulose der Chorio-Allantois-Membran 8 Tage nach Beimpfung mit Tuberkelbakterien (am 15. Tage der Bebrütung). Bei 1 Impfstelle mit miliaren Knötchen.

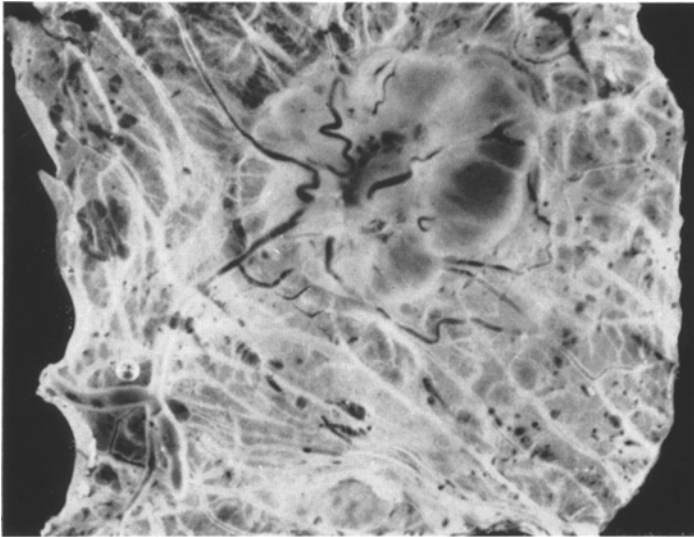


Abb. 3. Ödem der Impfstelle mit Peristase der terminalen Strombahn 24 Std nach Beimpfung mit Augenkammerwasser. Unspezifische Reaktion, die nach wenigen Tagen wieder abklingt. Vergr. 4 : 1.

sehr rasch über die gesamte Chorio-Allantois-Membran und lassen schon makroskopisch eine disseminierte Tuberkulose der Membran vermuten. Am 1.—3. Tage nach der Beimpfung ist dagegen nur an der Impfstelle

selbst ein Befund zu erheben, der jedoch noch unspezifisch ist und auch durch physikalische und chemische Reize hervorgerufen werden kann. So sieht man am 1. Tage ein gut abgegrenztes wasserklares Ödem am Ort der Reizung, in welches peristatisch veränderte Gefäße hinein-
führen (Abb. 3). Am 2. und 3. Tage wird dieses Ödem kleiner, dafür jedoch trübe und kompakt. Bei Anwesenheit von Tuberkelbakterien zeigen sich dann vom 4. Tage an die schon beschriebenen Veränderungen.

Die Beimpfung mit fallenden Mengen einer homogenisierten Tuberkelbakterien-Kulturmasse ergab entsprechend geringere Befunde. Bei Be-

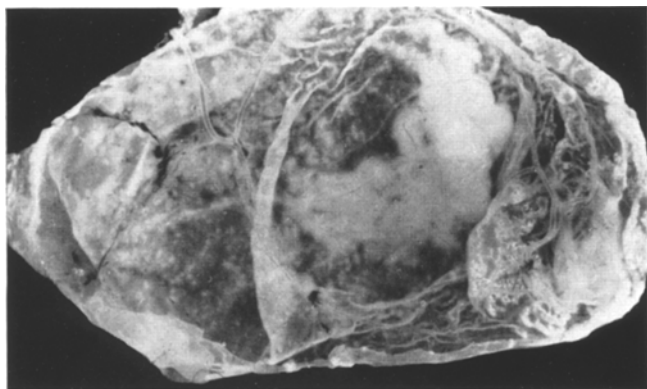


Abb. 4. Ausgedehnte, zum Teil konfluente Tuberkulose 11 Tage nach Beimpfung der Chorio-Allantois-Membran mit großen Mengen von Tuberkelbakterien.

impfung mit sehr großen Mengen waren die Veränderungen auch entsprechend stärker. Die Knötchen waren hierbei zu größeren Herden zusammengefloßen (Abb. 4), die schon makroskopisch nekrotische Massen erkennen ließen, welche beim Einschneiden zum Teil körnig erschienen und knirschten.

Mikroskopische Befunde.

Die histologische Bearbeitung unserer Versuchsreihen zeigte nun, daß die Tuberkelbakterien etwa 2—3 Tage benötigen, um nach dem Aufträufeln auf das Ektoderm der Chorio-Allantois-Membran in größeren Mengen in das Mesoderm hineinzugelangen (Abb. 5). Die Veränderungen am Ektoderm interessieren in diesem Zusammenhange weniger. Im Impfbereich gehen zahlreiche Epithelzellen zugrunde, während andere zur Oberfläche hin papillär wuchern und auch in das Mesoderm hineinsprossen, um dort später als „Epithelperlen“ zu imponieren. Durch die oberflächlichen Nekrosen gelangen die Bakterien in das Mesoderm, wobei wir nach unseren Befunden annehmen dürfen, daß sie

sich hier rasch vermehren und mit dem Säftestrom schnell weitergespült werden. Bisher konnten wir nur ein einziges Mal Tuberkelbakterien innerhalb eines Gefäßes der Chorio-Allantois-Membran auffinden. Sie lagen in einer vergrößerten Endothelzelle und waren offenbar phagocytiert worden.

Dort, wo sich Tuberkelbakterien im Mesoderm einfinden, kommt es als erste Gewebsantwort zu einer sichtbaren Exsudation. Im Sinne der von RICKER herausgearbeiteten Gesetze entwickelt sich eine Peristase

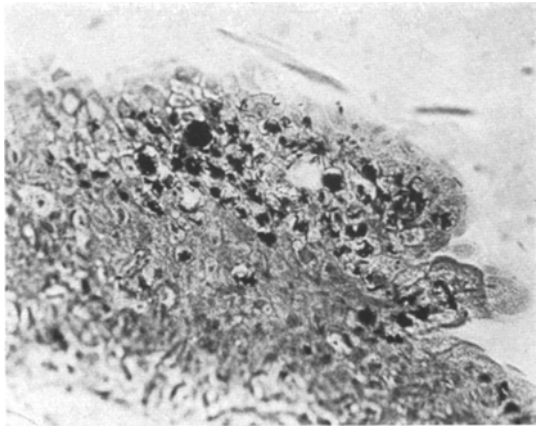


Abb. 5. Dichte Geflechte von Tuberkelbakterien in den Zellen des proliferierten Ektoderms der Chorio-Allantois-Membran. (Färbung nach ZIEHL-NEELSEN.)

der terminalen Strombahn, und es fließt ein Exsudat (besser *Insudat* nach W. W. MÜLLER) in das lockere Maschenwerk des Reticulums ein, in dem bald einzelne Monocyten und zahlreiche aus der terminalen Strombahn ausgewanderte eosinophile Leukocyten erkennbar werden (Abb. 6). Das Überwiegen der Eosinophilen findet seine Erklärung in den besonderen Verhältnissen des Hühnerembryos, dessen weißes Blutbild zu über 50% aus diesen Zellen zusammengesetzt ist (EMMART und SMITH). Diese schnell verfügbaren, kurzlebigen Mikrophagen tragen die erste Kampfphase gegen die eingedrungenen Tuberkelbakterien aus. Sie phagocytieren große Mengen von ihnen, was bei der Ziehl-Neelsen-Färbung gut darstellbar ist, und gehen dabei selbst zugrunde. Als Zeichen der totalen Mobilisation dient das zahlreiche Auftreten jugendlicher Eosinophiler mit rundem Kern in den Herden der Chorio-Allantois-Membran sowie die gleichzeitige Aktivierung der embryonalen Blutbildungsherde. Dieses wird besonders in der Leber sichtbar, in deren retotheliale System, vorwiegend in den adventitiellen Räumen

der größeren Gefäße, alle Reifungsgrade eosinophiler Leukocyten zu erkennen sind.

Je nach der Menge der eingebrachten Bakterien und dem in der einen oder anderen Richtung veränderten Gleichgewicht zwischen Makroorganismus und Mikroben kommt es in stärkerem oder geringerem Ausmaße zur Nekrobiose dieser primär exsudativen, morphologisch noch unspezifischen Herde. Bei Beimpfung mit großen Mengen von Tuberkelbakterien (1 mg feuchter Kulturmasse) lassen sich derartige Nekrosen

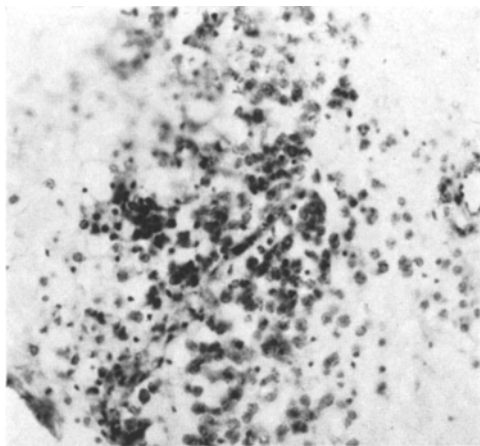


Abb. 6. Eosinophiles Infiltrat im Mesoderm der Membran als exsudativ-entzündliche Reaktion des Gefäßbindegewebsapparates auf die eingedrungenen Tuberkelbakterien.

regelmäßig darstellen. Man erkennt dabei im Zentrum der Knötchen amorphe Massen, zwischen denen zugrunde gegangene Leukocyten und deren Kerntrümmer sowie auffallend viele Krystalle liegen (Abb. 7 und 8), über deren chemische Struktur wir vorerst nichts auszusagen vermögen. Wir möchten jedoch annehmen, daß sich diese Krystalle aus Leibes-
substanzen abgestorbener Bakteriengeflechte gebildet haben. Bei Ziehl-Neelsen-Färbung liegen in den nekrotischen Zentren nur wenige säurefeste Stäbchen bzw. Geflechte, während bei Auraminfärbung und Betrachtung unter dem Fluoreszenzmikroskop in unmittelbarem räumlichen Zusammenhange mit den beschriebenen Krystallen massenhaft hell leuchtende Stäbchen und Geflechte zu erkennen sind.

Jedoch schon während dieser ersten, exsudativen Phase wird das hoch reaktive, ortsständige reticuläre Mesenchym mobilisiert. Seine Reticulumzellen fangen an zu wuchern, richten sich radiär auf den Herd aus und schließen sich enger zusammen. Es bildet sich bald ein Wall palisadenförmig oder auch konzentrisch gestellter, aktivierter syncytial

zusammenhängender Reticulumzellen heraus, wobei diese als Vorstufe echter epitheloider Zellen aufzufassen sind. Die endgültige Differen-

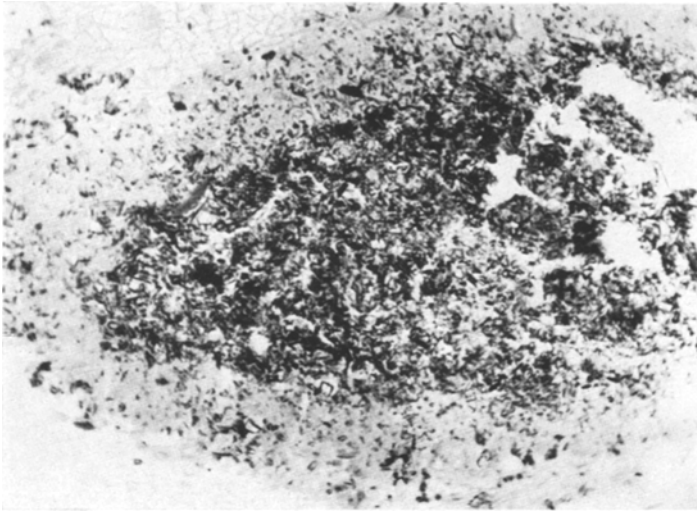


Abb. 7. Großer Tuberkel der Chorio-Allantois-Membran mit zentraler Einschmelzung.



Abb. 8. Derselbe Tuberkel bei Ölimmersion. Im Zentrum zahlreiche Krystalle zwischen nekrotischen Massen (bei I).

zierung zu Epitheloiden kann allerdings bei der begrenzten Beobachtungszeit nicht mehr dargestellt werden. Auffallend ist nun die frühzeitige Entstehung von Riesenzellen, welche den LANGHANSSchen Riesenzellen unverkennbar ähneln (Abb. 9). Diese Riesenzellen liegen bei ausgebildeten Tuberkeln wie ein abschirmender Wall um das exsudative Zen-

trum herum. Sie bestehen aus größeren, syncytial untereinander und mit den anderen Reticulumzellen verbundenen Protoplasmamassen und enthalten dicht gehäufte, in statu nascendi vorwiegend im Zentrum liegende Kerne (Abb. 10), bei denen Mitosen nicht darzustellen sind, so daß man eine endomitotische Kernvermehrung annehmen darf.

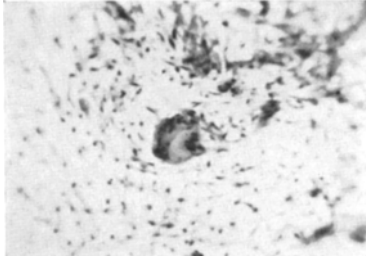


Abb. 9. LANGHANSsche Riesenzelle im Mesoderm der Chorio-Allantois-Membran.

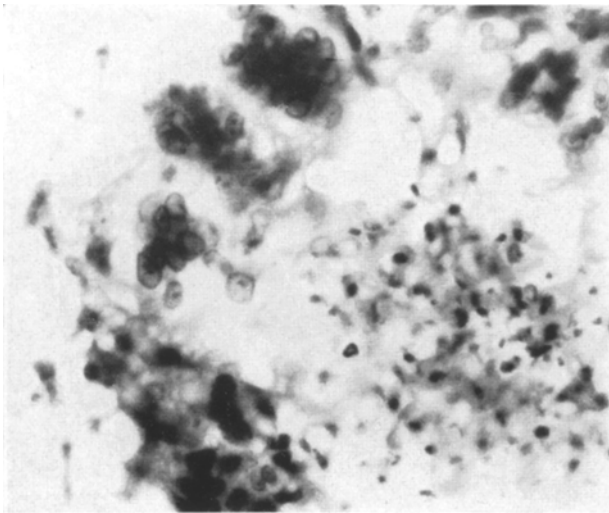


Abb. 10. Wall von Riesenzellen in statu nascendi am Rande des exsudativen Zentrums eines Tuberkels.

Ein bis zum 8. Tage nach der Infektion entwickelter Tuberkel zeigt im typischen Falle (Abb. 11) ein großes exsudatives Zentrum aus Leukocyten in einem Exsudatsee, einen abschirmenden Wall syncytial verbundener Riesenzellen und um diesen herum eine breitere Zone radiär oder auch konzentrisch gelagerter, gewucherter Reticulumzellen, die wir als „präepitheloide Zellen“ bezeichnen möchten. Zahlreiche Tuberkelbakterien sowie Bakteriengeflechte liegen in den Riesenzellen als auch

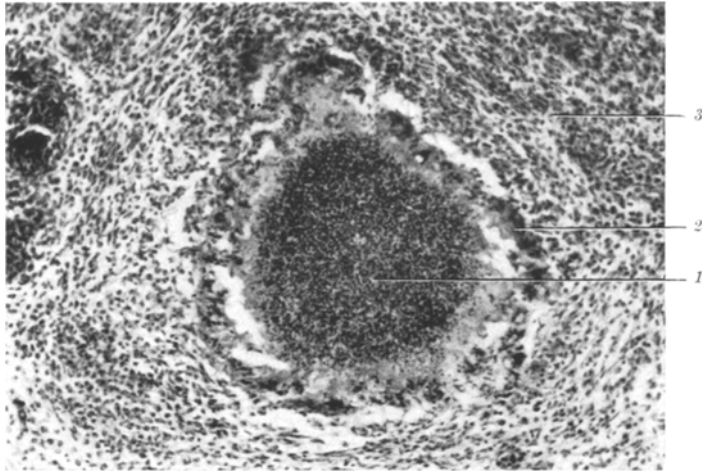


Abb. 11. Junger exsudativer Tuberkel im Mesoderm der Chorio-Allantois-Membran. Bei 1 exsudatives Zentrum, bei 2 abschirmender Wall aus Riesenzellen, bei 3 breiter Saum „präepitheloider Zellen“.

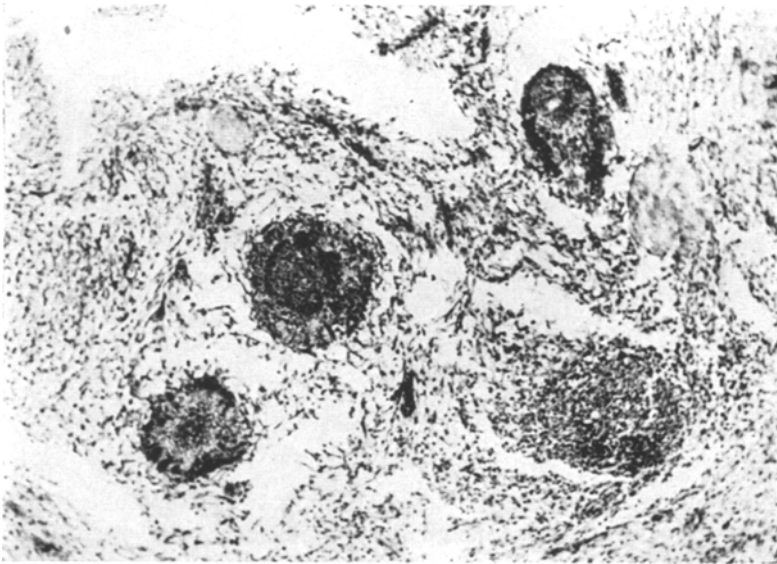


Abb. 12. Drei exsudative, ein vorwiegend produktiver Tuberkel im Mesoderm der Chorio-Allantois-Membran 12 Tage nach Infektion eines 7 Tage bebrüteten Hühnereies.

in den präepitheloiden Zellen, während im Zentrum des Tuberkels nur noch wenige Keime anzutreffen sind.

Diese schematisch gehaltene Darstellung der formalen Genese des Tuberkels im Mesoderm der Chorio-Allantois-Membran des sich entwickelnden Hühnerembryos kann natürlich mannigfachen Variationen



Abb. 13. Ausgedehnte Tuberkulose des Augenrandes eines geschlüpften Hühnchens nach Infektion der Chorio-Allantois-Membran am 8. Tage der Bebrütung.

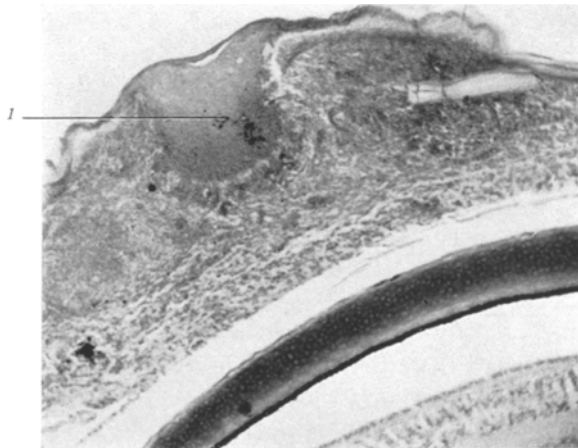


Abb. 14. Verkäsender Tuberkel am Auge desselben Hühnchens. Bei 1 Bakteriengeflechte. (Ziehl-Neelsen-Färbung.)

unterworfen sein. So besteht beim Einbringen weniger Tuberkelbakterien oft nur eine kurze exsudative Phase, welche dem Untersucher entgehen kann, ohne daß es später zu produktiven Vorgängen kommen muß. Bei später Kontrolle der Membran erkennt man neben exsudativen Tuberkeln oft auch produktive Tuberkel (Abb. 12); wobei man annehmen darf, daß ihre exsudative Phase gering war und bereits abgeklungen ist.

Wir konnten außerdem bei Beimpfung der Chorio-Allantois-Membran mit den oben mitgeteilten hohen Dosen in einem Falle tuberkulöse Prozesse im Hühnerembryo selbst erzeugen. Diese Veränderungen traten im Bereich der Lidränder beider Augen auf (Abb. 13). Ihr histopathologisches Bild glich den Tuberkeln der Chorio-Allantois-Membran (Abb. 14). Wir nehmen an, daß hierbei die Tuberkelbakterien durch die Amnionflüssigkeit vorgedrungen sind.

Besprechung der Befunde.

Wenn zum Schluß die Ergebnisse kurz besprochen werden sollen, so kann festgestellt werden, daß die Tuberkulose in der Chorio-Allantois-Membran des bebrüteten Hühnerembryos sowohl durch eine einleitende exsudative Phase als auch durch eine ihr folgende produktive Phase bestimmt wird. Dabei ist es jedoch bemerkenswert, daß die produktiven Gewebsäußerungen schon relativ frühzeitig zur Entwicklung kommen. Damit ergibt sich ein gewisser Gegensatz zu der jüngst von FRESÉN vertretenen Auffassung über die kausale Genese der produktiven tuberkulösen Veränderungen, welche „auf eine unzureichende Aktivierung prospektiver Potenzen des polyblastischen Mesenchyms in Richtung der Ausbildung von Einzelzellen bei schwachem Reiz, sei es im Sinne der Fremdkörper- oder Fremdstoffwirkung“ bezogen werden. Wir möchten im Gegensatz hierzu, zumindest für die Entwicklung der Riesenzellen in der Chorio-Allantois-Membran, annehmen, daß gerade „sehr starke Reize“ die Differenzierung der Reticulumzellen zu Epitheloiden zu hemmen vermögen, und daß die Riesenzellen ihre Entstehung dieser Hemmung zu verdanken haben. Jedenfalls sahen wir bei Beimpfung mit geringen Mengen von Tuberkelbakterien bei sonst vorwiegend produktivem Phasenverlauf keine Riesenzellen. Man muß weiterhin im Auge behalten, daß die Bildung von Riesenzellen direkt mit ihren phagocytären Eigenschaften zusammenhängen kann, indem nur von größeren Protoplasamassen stärkere Geflechte des *Mycobacterium tuberculosis* umflossen und phagocytiert werden können.

Es kann weiterhin ausgesagt werden, daß in der Chorio-Allantois-Membran alle produktiven Zellulationen, sei es, daß sie in Richtung zur epitheloiden Zelle verlaufen oder zur Riesenzelle führen, immer von den reticulären Zellverbänden des Mesenchyms ihren Ausgang nehmen, und daß damit in einem Modellbeispiel die von FRESÉN im Tierexperiment und bei der Tuberkulose des Menschen festgestellte Abstammung aus dem „retothelialen System“ voll und ganz bestätigt werden kann.

Wir glauben weiterhin gezeigt zu haben, daß nekrobiotische Vorgänge im Tuberkel der Chorio-Allantois-Membran sich in Analogie zur Verkäsung bei der Tuberkulose des Menschen aus der ersten exsudativen

Phase heraus entwickeln und nicht erst sekundär aus den produktiven Veränderungen abzuleiten sind und bestätigen damit die Erkenntnisse HÜBSCHMANNs.

Es ergab sich außerdem, daß bei konstanter Virulenz der Tuberkelbakterien das Ausmaß der tuberkulösen Veränderungen in der Chorio-Allantois-Membran direkt proportional der Anzahl der eingebrachten Erreger ist.

Das Übergreifen tuberkulöser Prozesse von der Chorio-Allantois-Membran auf den Hühnerembryo selbst konnte bei Anwendung hoher Dosen in einem Falle im Bereich der Augenlider beobachtet werden, wogegen bei weiteren histologisch untersuchten Embryonen keine tuberkulösen Veränderungen gefunden wurden, so daß über eine mögliche hämatogene Generalisation innerhalb der begrenzten Versuchszeit von 14 Tagen noch nichts Abschließendes ausgesagt werden kann. Alle Embryonen waren beim Öffnen der Eier am Leben!

Die amerikanischen Forscher wiesen bei ihren Experimenten immer wieder auf das frühzeitige Auftreten von Monocyten bzw. großen mononucleären Zellen hin, was wir selbst in diesem Ausmaße nicht beobachten konnten. Dabei ist zu erwähnen, daß jene ihre morphologischen Befunde zum Teil aus Abstrichen der Chorio-Allantois-Membran erhoben, welche beim Eröffnen der Eier angefertigt wurden. Es liegt in der Methodik dieser Abstriche, daß viele der aktivierten reticulären, noch lebenden Zellen aus ihrem syncytialen Verband herausgebrochen werden, ihre protoplasmatischen Ausläufer einziehen und dadurch im Abstrich als Monocyten imponieren.

Endlich möchten wir nochmals darauf hinweisen, daß das bebrütete Hühnerei nicht nur für die Virusforschung und Bakteriologie zum unentbehrlichen „Versuchstier“ geworden ist, sondern daß auch pathologisch-anatomische Probleme sehr wohl an ihm studiert werden können.

Zusammenfassung.

Die Histogenese des Tuberkels in der mit Tuberkelbakterien, Typ humanus und bovinus, beimpften Chorio-Allantois-Membran des sich entwickelnden Hühnerembryos wird besprochen. Die Gewebsäußerungen des mesenchymalen Reticulums der Chorio-Allantois-Membran beginnen mit einer exsudativen, noch unspezifischen Phase, aus der heraus sich nekrobiotische Prozesse in Analogie zur Verkäsung entwickeln können. Produktive Phasen beginnen schon frühzeitig. Dabei differenzieren sich die Reticulumzellen zu Präepitheloiden und bei Hemmung durch sehr starke Reize zu Riesenzellen. Das Ausmaß der tuberkulösen Veränderungen ist direkt proportional der eingebrachten Menge von Tuberkelbakterien. Ein Übergreifen tuberkulöser Prozesse auf den Embryo selbst

von der Chorio-Allantois-Membran durch die Amnionflüssigkeit wurde einmal beobachtet. Die Chorio-Allantois-Membran ist ein geeignetes Objekt zum Studium pathologisch-anatomischer Probleme.

Literatur.

BEVERIDGE and BURNET: The cultivation of viruses and rickettsiae in the chick embryo. London: Medical Research Council, Ser. No 256. 1946. — BURNET: Handbuch der Virusforschung von DOERR u. HALLAUER, Bd. 1. Wien: Springer 1938. — COSTIL et BLOCH: C. r. Soc. Biol. Paris **128**, 40 (1938). — DOMAGK: Klin. Wschr. **1951**, 139. — FRESÉN: Virchows Arch. **317**, 491, 517 (1950). — Beitr. Klin. Tbk. **103**, 47 (1950). — GOODPASTURE and ANDERSON: Amer. J. Path. **8**, 149 (1937). — HÜBSCHMANN: Pathologische Anatomie der Tuberkulose. Berlin: Springer 1928. — Die Histogenese der Tuberkulose im Rahmen der allgemeinen Krankheitslehre. Stuttgart: Georg Thieme 1947. — KLOSE, KNOTHE u. SCHÜRMANN: Ärtzl. Wschr. **1951**, 881. — KNOTHE: Habilschr. Kiel 1951. — LANGE u. Mitarb.: Zit. nach BEVERIDGE and BURNET. — MEYER, W. W.: Klin. Wschr. **1950**, 697. — PRIGGE: Med. Klin. **1948**, 565. — RICKER: Pathologie als Naturwissenschaft. Relationspathologie. Berlin: Springer 1924. — ROULET: Klin. Wschr. **1949**, 41. — Virchows Arch. **298**, 311 (1936). — SCHRECK: Graefes Arch. **151**, 46 (1950).

Dr. med. RICHARD SCHÜRMANN, Kiel, Hospitalstr. 34,
Hygienisches Institut der Universität.
