

Aus dem Pathologischen Institut der Universität Bonn  
(Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

## Elektronenmikroskopische Untersuchung von *Pneumocystis Carinii*

Von

**W. WESSEL und D. RICKEN**

Mit techn. Unterstützung von U. EDER

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 7. Mai 1958)

Morphologie und Entwicklungseyclus der *Pneumocystis Carinii* sind seit der Mitteilung von VANEK und JIROVEC (1952) Gegenstand zahlreicher lichtmikroskopischer Untersuchungen gewesen (VANEK, JIROVEC, HAMPERL, GIESE, PLIESS, BRUNS u. a.). Elektronenmikroskopische Untersuchungen wurden 1953 von DIEKMANN, LINDNER und STOPKA angestellt, konnten aber keine ganz zufriedenstellenden Ergebnisse bringen, da sie an Lungen von an *Pneumocystis-Pneumonie* verstorbenen Säuglingen, also an Leichenmaterial durchgeführt waren. Wir konnten inzwischen die Tierversuche von WELLER (1) (2) — Erzeugung einer Lungen-*Pneumocystose* bei Ratten — mit Erfolg wiederholen, wodurch die Möglichkeit gegeben war, elektronenmikroskopische Untersuchungen am Frischmaterial durchzuführen. Ihre Ergebnisse sollen im folgenden dargelegt und zu den bis jetzt bekannten lichtmikroskopischen Befunden bei *Pneumocystis Carinii* in Beziehung gesetzt werden.

**Zur Nomenklatur.** Nach den Untersuchungen von JIROVEC und VANEK (1) (2) weist *Pneumocystis Carinii* verschiedene Formen auf, die in ihrer Gesamtheit den charakteristischen, wabenförmigen Alveolarinhalt bilden, im einzelnen aber entweder als *zartwandige Cysten* mit jeweils einem *Innenkörperchen* oder als grampositive sog. *Napf- oder Sichelcysten* (GIESE, PLIESS) oder als derbwandigere Cysten mit mehreren, höchstens aber acht im Inneren liegenden Körperchen imponieren. Diese Formen lassen sich zu einem Entwicklungseyclus ordnen, der von der Cyste mit einem Innenkörperchen über die Napf- oder Sichelcyste zur *Muttercyste* mit 8 Cystenkörperchen abläuft und von JIROVEC und VANEK als Sporogonie gedeutet wird, wobei die feulgenpositiven Cystenkörperchen als Sporen angesehen werden. PLIESS lässt jedoch die Frage der Sporogonie offen. Die Innensubstanz der Cysten stellt eine zarte PAS-positive Masse dar; bei den Napf- und Sichelcysten, und nur bei diesen, ist sie grampositiv. Im letzteren Falle wird diese Masse von

JIROVEC und VANEK als Sporoblast, von PLEISS als Cystenmatrix bezeichnet, da aus ihr die „Sporen“ bzw. die Cystenkörperchen gebildet werden sollen.

#### Material und Methode

Junge Ratten bekamen 8—10 Wochen lang steigende Dosen Cortison (bis 25 mg pro Tag) und Hostamycin subcutan (bis 5000 E pro Tag). Auf der Höhe der Erkrankung, die durch ständige Gewichtsabnahme, zunehmende Schwäche und schließlich durch eine deutlich erhöhte Atemfrequenz gekennzeichnet war, wurden die Tiere getötet. Kleine Lungenstückchen wurden in gepufferter 1%iger  $\text{OSO}_4$  nach PALADE fixiert und in Butyl-Methyl-Metacrylat (5:1) eingebettet. Die Blöckchen wurden mit einem Porter-Blum-Ultramikrotom geschnitten und mit einem Zeiss-Elektronenmikroskop untersucht. Zum Vergleich untersuchten wir mit den üblichen Methoden gefärbte Paraffinschnitte aus denselben Lungenanteilen unter dem Lichtmikroskop.

#### Befunde

Bei der experimentellen Rattenpneumocystose sind *lichtmikroskopisch* größere Alveolarbezirke förmlich ausgestopft mit Pneumocystenwaben, die vornehmlich aus etwa  $5\text{ }\mu$  großen, runden oder unregelmäßig gestalteten Cysten mit einem Innen-

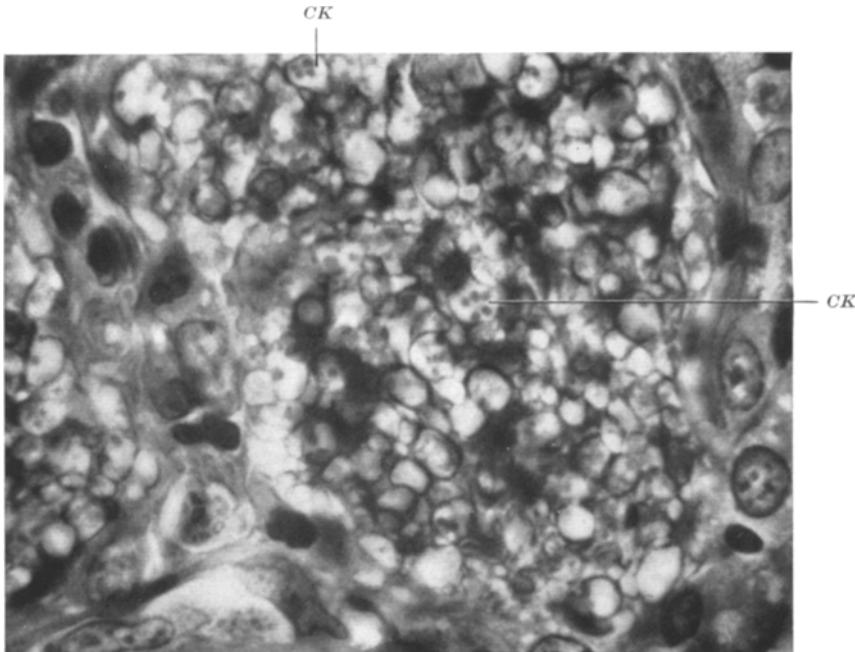


Abb. 1. PAS-Reaktion. Mit Pneumocysten gefüllte Lungenalveole der Ratte. Im Alveolarinhalt einige Pneumocysten mit Cystenkörperchen (CK). Vergr.: 1400fach, Lichtmikroskop

körperchen und einer PAS-positiven Membran bestehen (Abb. 1). Das Innenkörperchen ist etwa  $1\text{ }\mu$  groß, unscharf begrenzt und liegt entweder in einer schleierartigen, schwach PAS-positiven Innensubstanz oder in einem optisch leeren Innenraum.

Es finden sich allerdings auch Cysten, die zwar die schwach PAS-positive Innensubstanz aufweisen, ein Innenkörperchen aber vermissen lassen. In geringerer Zahl als diese Cystenformen, die zudem von Lungenlappen zu Lungenlappen, aber auch von Lobulus zu Lobulus des gleichen Lungenlappens schwankt, fallen bei der Färbung nach GRAM-WEIGERT 5—7  $\mu$  große, runde Cysten auf, deren Membran gramnegativ ist und sich schwach mit der Kernechtrot-Gegenfärbung anfärbt. Ein Innenkörperchen läßt sich in diesen Cysten nicht erkennen. Dafür stellt sich aber eine der Membran anliegende, dichte grampositive, napf- oder sichelförmige Innen-

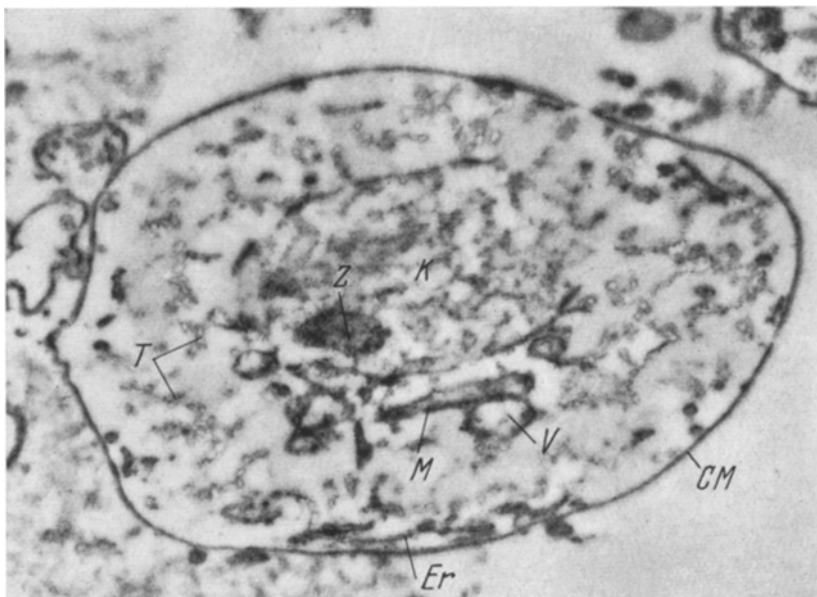


Abb. 2. Reife einkernige Pneumocyste mit Cystenmembran (CM), tubulären Elementen (T) im Protoplasma, langgestreckten mitochondrienähnlichen Strukturen (M). In der Mitte der Zelle ein ovaler Bezirk, das Innenkörperchen, das an einen Kern erinnert (K), mit einer osmiophilen, aus kleinsten fädigen Elementen bestehenden Zone (Z). Ergastoplasmähnliche Strukturen (Er). Angeschnittene Vacuole (V). Vergr.: 21000fach

substanz dar, die oft feine, unregelmäßige Vorsprünge gegen das optisch leere Cysteninnere bildet. Hier handelt es sich um die Napf- und Sicheleysten. In ebenfalls wechselnder Anzahl findet man etwa 7  $\mu$  große, runde oder ovale Muttercysten mit 2 bis höchstens 8 Cystenkörperchen. Die Membran dieser Cysten ist etwas dicker und zeigt oft Doppelbrechungen. Die Cystenkörperchen selbst erscheinen teils als mäßig scharf begrenzte, etwa 1  $\mu$  große, runde Gebilde und sind, oft der Membran anliegend, in eine zarte schwach PAS-positive Innensubstanz eingebettet, teils sind sie scharf konturiert, von runder bis ovaler Gestalt, gut 1  $\mu$  groß und liegen dann in einem ansonsten optisch leeren Innenraum (Abb. 1). Diese letzteren Cystenkörperchen, die oft ein kleines sich stärker anfärbendes, gewissermaßen verdichtetes Zentrum aufweisen, sieht man auch einzeln oder zu mehreren in manchmal rosettenförmiger Anordnung im freien Raum zwischen den übrigen Cystenformen liegen, ohne daß eine umschließende Cystenmembran zu erkennen ist. Hier muß man wohl annehmen, daß diese Cystenkörperchen durch Platzen der Cystenmembran frei geworden sind.

Neben diesen verschiedenen Formen von *Pneumocystis Carinii* enthalten die Alveolen desquamierte und oft verfettete Alveolarepithelien und vereinzelte Leuko- und Erythrocyten. Die Alveolarsepten sind im allgemeinen schmal-, besonders

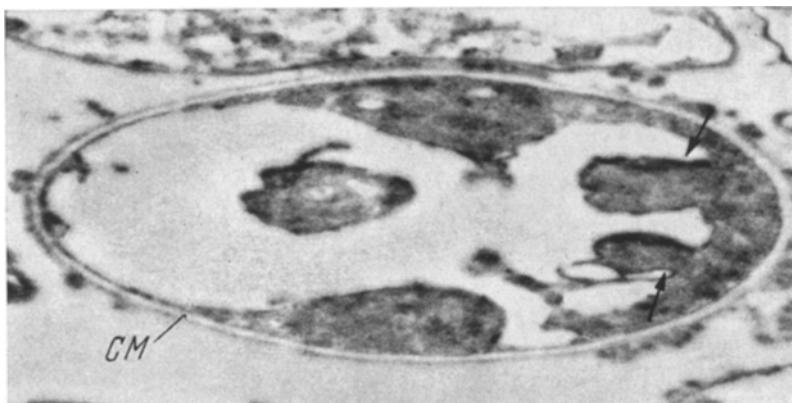


Abb. 3. Noduliform mit Ausbildung einer doppelten Cystenmembran (CM). Teile der dichten wandständigen Substanz (Matrix) schnüren sich ab (↑) und bilden die Cystenkörperchen. Vergr.: 21000fach

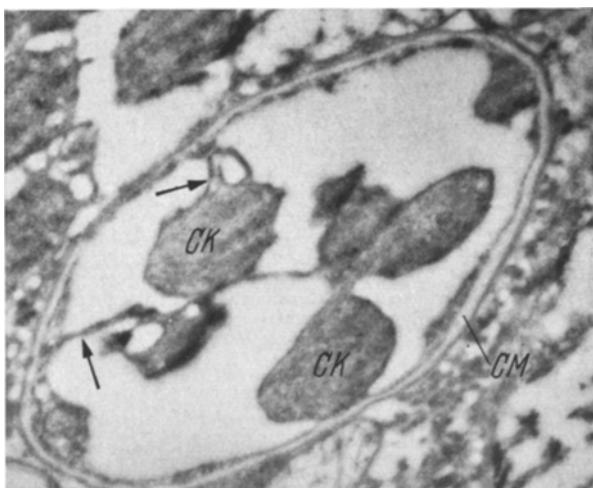


Abb. 4. Fast beendete Abschnürung der noch nicht ausgereiften Cystenkörperchen (CK), die nur noch durch einen schmalen Strang (↓) mit der inneren Lamelle der Doppelmembran (CM) in Verbindung stehen. Im Inneren der Cystenkörperchen sieht man tubuläre Strukturen, die oft perl schnurartig angeordnet sind. Vergr.: 21000fach

in den Lungengebieten mit starker Pneumocystose erscheinen sie wie zusammen gedrückt, oft sind sie aber auch verbreitert und enthalten dann histiocytäre Elemente sowie Plasmazellen und Lymphocyten.

Die elektronenmikroskopischen Befunde bestätigen im wesentlichen die lichtoptisch gewonnenen Erkenntnisse.

Die *Cysten mit einem Innenkörperchen* (Abb. 2) zeichnen sich durch eine relativ zarte Außenmembran aus, die mitunter aus zwei sehr eng aneinanderliegenden Lamellen aufgebaut erscheint. Das Zentrum der Cyste wird von einem kernähnlichen Gebilde eingenommen, das oft unscharf gegen die Umgebung abgegrenzt ist und eine kleine stark osmiophile, aus kleinsten tubulären Elementen aufgebaute Zone besitzt. Zwischen der Außenmembran und dem Innenkörper erstreckt sich ein ringförmiger Bereich, der hell und strukturarm erscheint; er wird von einem System von Kanälchen durchzogen und enthält vereinzelt längliche oder runde Strukturen,

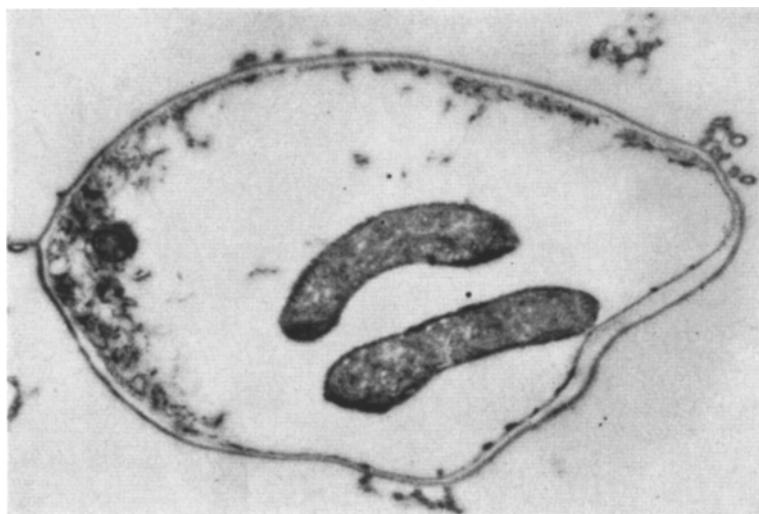


Abb. 5. Pneumocyste mit schon abgeschnürten, aber noch nicht ganz ausgereiften Cystenkörperchen, welche sich durch eine äußere Membran und zahlreiche annuläre, osmiophile Strukturen im Inneren auszeichnen. Vergr.: 21000fach

die an primitive Mitochondrien erinnern. Vielfach findet man ferner eine dicht neben dem Cystenkörperchen liegende größere Vacuole, die in Abb. 2 angeschnitten ist. Außerdem sieht man mitunter kurze, ergastoplasmaähnliche Strukturen, die sich meist in der Nähe der Außenmembran befinden.

Die *Napf cyste* weist, im Vergleich zur vorhergehenden Form, eine Verdichtung der Innenstrukturen auf, die sich halbmond- oder napfförmig der Außenmembran anlegen. Oft ist der halbmondförmige Bezirk unter Auflösung des Innenkörperchens weiter verdichtet und erscheint beinahe homogen. In solchen Fällen stellt die Außenmembran dann eine deutliche Doppelmembran mit einem elektronenoptisch leeren, etwa 500 Å breiten interlamellären Raum dar. Bei einigen dieser Formen sieht man rundliche bis ovale Abschnürungen von Teilen der verdichtenen Innensubstanz (Abb. 3), die teilweise noch mit der inneren Lamelle der Doppelmembran im Zusammenhang stehen. Hierfür gibt die Abb. 4 ein Beispiel, wo die Abschnürung noch nicht ganz abgeschlossen ist und noch schmale verbindende Stränge bestehen.

Vielfach weisen jedoch die abgeschnürten Teile keine Verbindung mehr untereinander und mit der Doppelmembran auf und liegen dann zu mehreren als sog. Cystenkörperchen im elektronen- und lichtoptisch leeren Innenraum der *Muttercyste*. Die Cystenkörperchen sind sehr dicht, erscheinen fast homogen und sind von einer nicht sehr deutlichen Membran begrenzt (Abb. 5).



Abb. 6. Pneumocyste mit mehreren noch nicht ganz ausgereiften Cystenkörperchen (CK) und umgebender doppelter Cystenmembran (CM). Die Cystenkörperchen besitzen bereits eine aufgelockerte Struktur mit zentralem dichtem Anteil. Oberhalb der Pneumocyste der Rest einer geplatzten Cystenmembran (M). Vergr.: 21 000fach

Am häufigsten findet man im Alveolarinhalt Cysten, die wie bei der vorher beschriebenen Form eine gut ausgebildete breite Doppelmembran als äußere Begrenzung besitzen, deren *Cystenkörperchen* jedoch aufgelockerter erscheinen, wobei sich eine zentrale, oft aus konzentrischen Lamellen zusammengesetzte Zone von

einer optisch fast leeren trennen läßt. Außerdem weisen solche Cystenkörperchen stets eine gut ausgebildete äußere Membran auf (Abb. 6). Mitunter beginnen sich

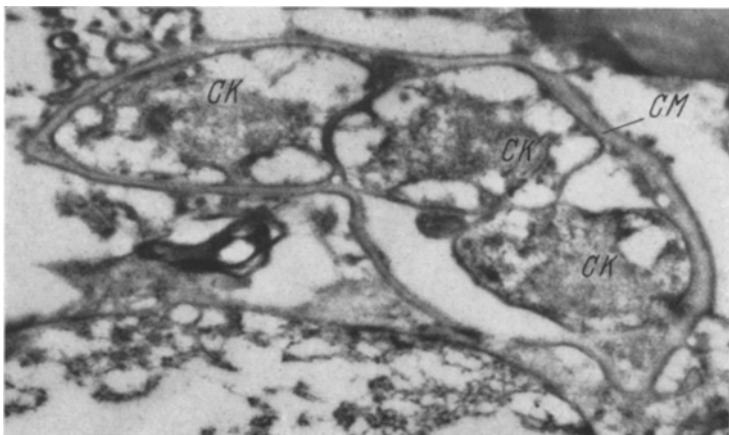


Abb. 7. Pneumocyste mit mehreren ausgebildeten Cystenkörperchen, die bereits als Tochterindividuen zu erkennen sind und den ganzen Cystenraum ausfüllen. Die Cystenmembran (CM) ist verbreitert und der interlamelläre Raum mit einer fast homogenen, osmophilien Substanz angefüllt. (CK) Cystenkörperchen. Vergr.: 21000fach

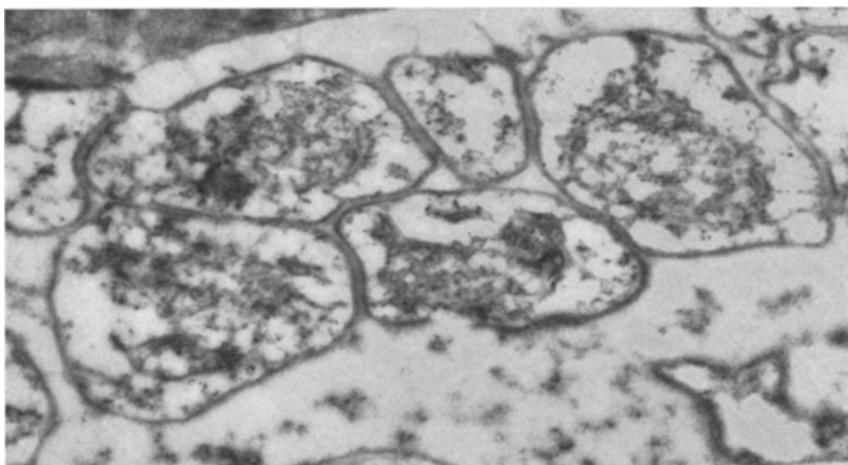


Abb. 8. Pneumocysten im Jugendstadium. Vergr.: 19000fach

auch in der dichteren Zone Strukturen zu bilden von beinahe kernähnlichem Aussehen. In einigen Fällen kann sich die äußere Membran der Cystenkörperchen an mehreren Stellen ablösen.

Relativ selten sind die Stadien, bei denen die Cystenkörperchen so an Ausdehnung zugenommen haben, daß sie den ganzen Innenraum ausfüllen (Abb. 7). Es fällt dann auf, daß der Raum zwischen den Lamellen der Außenmembran, welcher

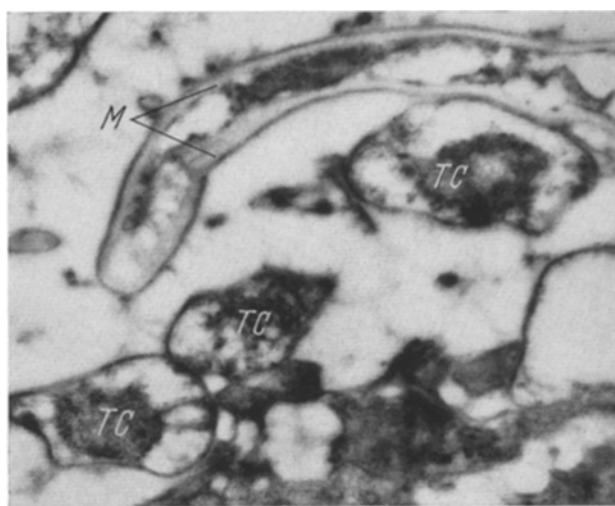


Abb. 9. Geplatzte Cystenmembran (M) mit austretenden Tochtercysten (TC).  
Vergr.: 21000fach

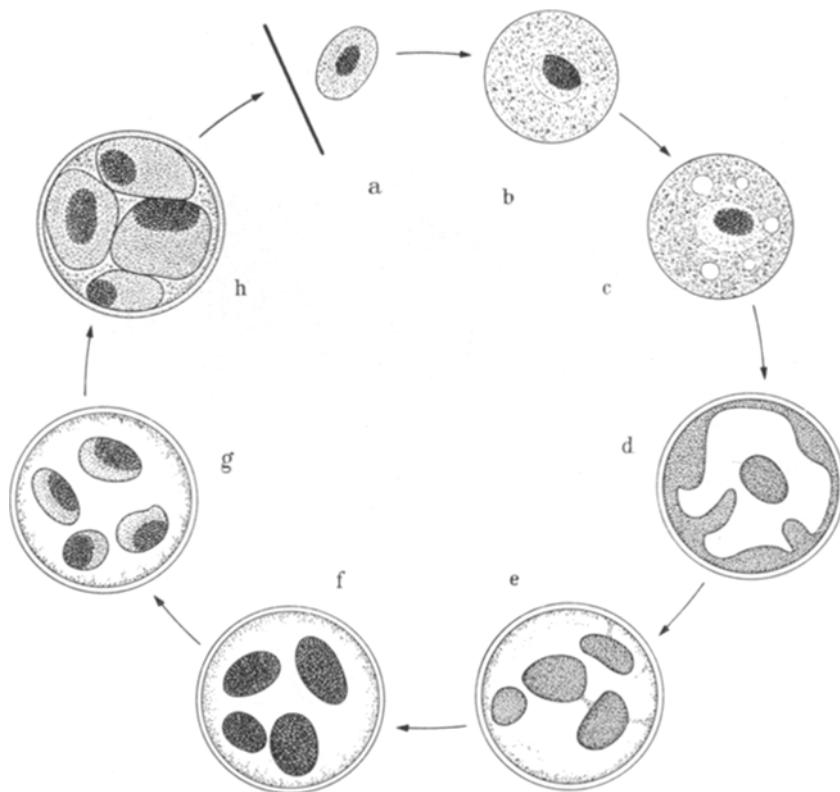


Abb. 10a—h. Entwicklungszyklus der Pneumocysten in schematischer Darstellung: a. Jugendstadium, b und c Cyste mit einem Innenkörperchen, d Napfform mit Matrixsubstanz, e und f Cyste mit mehreren unreifen Cystenkörperchen, g und h Cyste mit ausgereiften Cystenkörperchen (Tochterindividuen)

bei den anderen Formen leer erscheint, mit einer schwach osmiophilen, fast strukturlosen Substanz angefüllt ist, wobei in den Dreiecksbezirken, die durch das Anein-

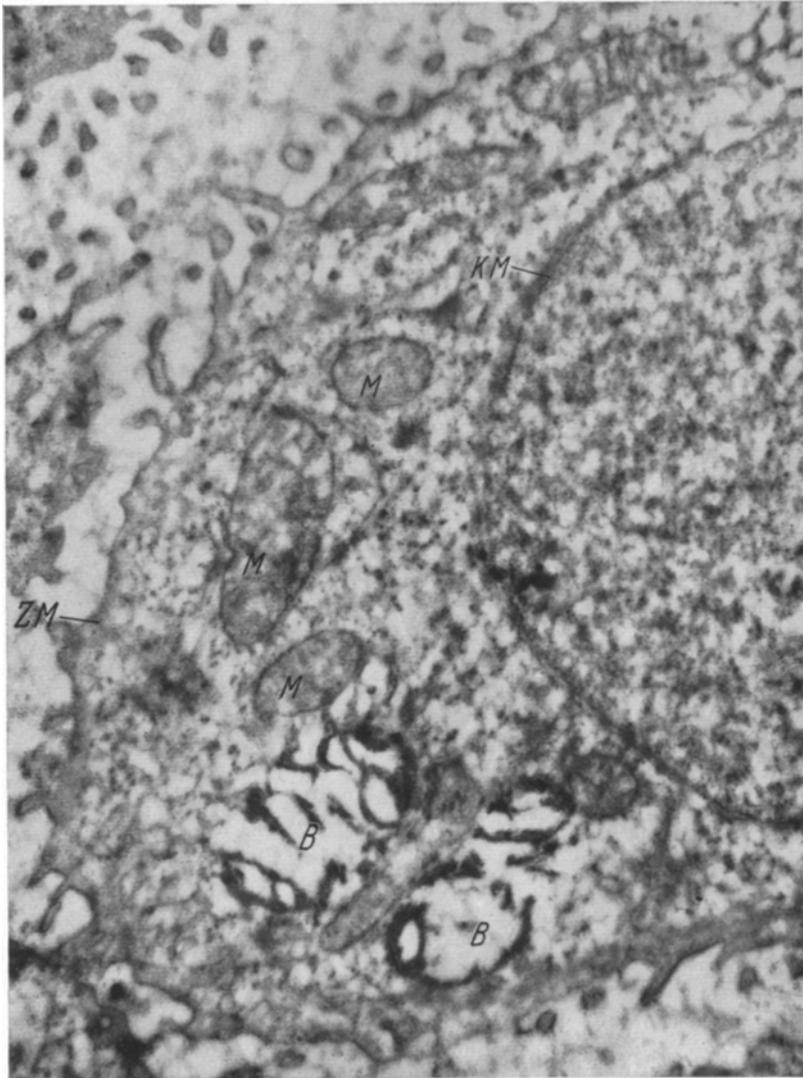


Abb. 11. Ausschnitt aus einer Alveolarepithelzelle mit Degenerationsbezirken (B), Mitochondrien (M), Kernmembran (KM), Zellmembran (ZM). Vergr.: 21 000fach

anderstoßen zweier Cystenkörper mit der Außenmembran gebildet werden, in vielen Fällen eine kleine, aus tubulären Elementen bestehende Zone sichtbar wird. Die Cystenkörperchen selbst erscheinen wesentlich besser ausgebildet als bei den vorhergehenden Stadien und erinnern mit ihren Innenstrukturen bereits an die „einkernigen“ Cysten der Abb. 2. Einen ähnlichen Aufbau besitzen auch die in Abb. 8

in einer Gruppe zusammenliegenden Cysten, bei denen es sich wohl um Jugendstadien handelt, die nach dem Platzen einer reifen Muttercyste freigeworden und in den Alveolarraum ausgetreten sind. Schließlich sind noch halbmondförmige Gebilde zu erwähnen, die meist neben einer Gruppe von Jugendstadien liegen und wohl als Reste von geplatzten Cystenmembranen aufzufassen sind (Abb. 9). Im Cytoplasma der Alveolarepithelien, die teils desquamiert sind, teils noch der Wand anhaften, findet man Degenerationsbezirke, die eine große Ähnlichkeit mit den Befunden von SCHULZ sowie von GIESE und GIESEKING aufweisen (Abb. 11).

### Besprechung

Die elektronenmikroskopische Untersuchung bestätigt also im wesentlichen die schon von anderen Verfassern gegebene Darstellung des Entwicklungscyclus, ergänzt sie aber in einigen Punkten, und zwar besonders hinsichtlich Entwicklung und Struktur der Innen- und Cystenkörperchen.

Die Cysten mit einem Innenkörperchen, wie sie die Abb. 2 wiedergibt, weisen mit ihren Innenstrukturen die größte Ausreifung auf. Aus ihnen entwickelt sich durch Verdichtung der Innensubstanz unter Ausbildung einer sichelförmigen Randzone und Auflösung des Innenkörperchens die Napfcyste, welche die Entwicklung zur Muttercyste einleitet. Im Inneren der Cyste entsteht nun durch weitere Verdichtung eine stark osmiophile Substanz, welche die Matrix für die später durch Abschnürung entstehenden Cystenkörperchen bildet (Abb. 3). Dieses Stadium entspricht also der grampositiven Cyste von JIROVEC und VANEK (1) sowie der Napfcyste von GIESE und PLIESS, für die die Ausbildung einer deutlichen, derben Membran bei noch nicht entwickelten Cystenkörperchen typisch sein soll.

Nachdem sich die Abschnürung aus der osmiophilen Matrix vollzogen hat, liegen sie zunächst als wenig strukturierte Körper ohne begrenzende Membran im Cystenraum. Dieser Cystenform mit noch nicht ausgereiften Cystenkörperchen folgt eine Entwicklungsphase, bei der die Cystenkörperchen eine zentrale, dichtere Zone, umgeben von einer peripheren helleren Region, aufweisen (Abb. 6). Als letztes Stadium dieses Reifungscyclus möchten wir die Muttercyste mit ausgereiften Cystenkörperchen ansehen, wobei letztere den gesamten Cystenraum ausfüllen und an ihrer Innenstruktur bereits als Tochterindividuen zu erkennen sind (Abb. 7). Die Tochterindividuen zeigen nunmehr, wenn auch in etwas primitiverer Form, den gleichen Aufbau wie die in Abb. 2 dargestellte Cyste mit einem Innenkörper. Die Muttercyste platzt dann schließlich durch den ständig steigenden Innendruck beim Größerwerden der Tochterindividuen, wobei diese frei werden und in die Alveolarlichtung gelangen. Die Abb. 10 stellt diesen Reifungscyclus in etwas schematisierter Form dar.

Eine andere Vermehrungsform, etwa nach Art der binären Teilung (VANEK und JIROVEC), konnten wir elektronenmikroskopisch nicht finden. Wir sind deshalb der Ansicht, daß die Cystenkörperchen aus der *osmiophilen Matrix der Napfzyste durch Abschnürung hervorgehen und nicht durch wiederholte Zweiteilung aus einem Cystenkörperchen*. So erklärt es sich wohl auch, daß in Tupfpräparaten sowohl ungerade wie gerade Zahlen von Cystenkörperchen in den Mutterzysten feststellbar sind.

JIROVEC und VANEK (2) halten die Cystenkörperchen für Sporen. Gegen die Sporennatur spricht jedoch das Fehlen einer für Sporen typischen dicken Außenmembran.

Die *Außenmembran* zeigt bei den einzelnen Cystenformen ein unterschiedliches Verhalten, worauf bereits PLIESS hingewiesen hat. Er unterscheidet dünn- und derbwandige Cysten und vermutet, daß Grenzflächenphänomene für diese Unterschiede ursächlich in Frage kommen. Elektronenmikroskopisch stellen sich diese Differenzen sozusagen als quantitatives Phänomen dar. Während nämlich bei dünnwandigen Cysten die beiden Lamellen der Doppelmembranen dicht aneinanderliegen, weichen sie bei den derbwandigen auseinander, gleichzeitig tritt zwischen ihnen eine Substanz auf, die offenbar reich an Mucopolysacchariden ist, wie die PAS-Färbung zeigt (HAMPERL, PLIESS). Wir haben also eine echte Dickenzunahme der Außenmembran unter gleichzeitigem Hinzutreten einer lichtoptisch bzw. färberisch gut darstellbaren, elektronenoptisch jedoch bei der hier angewandten Fixierung nicht sichtbar zu machenden Substanz vorliegen. Erst im ausgereiften Stadium tritt ein leicht osmophiles Material hinzu (Abb. 7), das im Licht- wie im Elektronenmikroskop zu dem Bild einer stärker konturierten Membran führt, so daß die Mutterzysten mit mehreren ausgereiften Cystenkörperchen die schärfste Außenkontur besitzen (PLIESS). Nach Platzen der Cyste und Austritt der Tochterindividuen fällt die Cystenmembran offenbar zusammen und liegt dann oft als halbmondförmiges Gebilde neben den gerade ausgetretenen Jugendformen (Abb. 9).

Auch über die *statischen Verhältnisse* der Pneumocysten läßt sich nach den elektronenmikroskopischen Bildern etwas aussagen. Während die Cysten mit einem Innenkörper und die Jugendstadien sich offenbar ihrer Umgebung anpassen und oft zusammengedrückt erscheinen, bleiben die Mutterzysten fast immer entfaltet und von runder bis ovaler Form. Dies dürfte einmal auf ihre festere Außenmembran und zum anderen auf ihren hohen Innendruck zurückzuführen sein.

Die elektronenmikroskopische Ähnlichkeit der Pneumocysten mit den Protozoen, das Fehlen der für Pilze typischen Außenmembran und

die Tatsache, daß Sprossungen nicht beobachtet werden konnten, legen den Gedanken nahe, daß die Pneumocysten bei den *Protozoiden* und nicht bei den Pilzen einzuordnen sind.

### Zusammenfassung

Im Tierversuch wurde bei Ratten eine Pneumocystose der Lungen erzeugt und das so gewonnene Frischmaterial elektronenmikroskopisch untersucht. Aus den einzelnen in der Alveole auftretenden Cystenformen ließ sich ein Entwicklungscyclus aufstellen, der von der einfachen Cyste mit einem Innenkörperchen über eine Napf- oder Sichelform zur Muttercyste mit 8 ausgereiften Cystenkörperchen führt. Die Cystenkörperchen vermehren sich nicht durch Teilung, sondern entstehen durch Verdichtung und Abschnürung aus einer Matrix. Sie entwickeln sich in der Muttercyste zu reifen Tochterindividuen mit Innenkörperchen und treten dann beim Platzen der Cystenmembran in den Alveolarraum aus.

Über die bekannten lichtoptischen Befunde hinaus war es elektronenmikroskopisch möglich, die Membranverhältnisse der derb- und zartwandigen Cysten zu studieren. Außerdem konnte nachgewiesen werden, daß das zwischen den Cysten gelegene, lichtmikroskopisch nicht weiter bestimmbarer und als Detritus angesehene Material teilweise aus geplatzten Cystenmembranen und Jugendstadien besteht.

Auf Grund ihrer Feinstruktur wären die Pneumocysten den Protozoiden zuzuordnen.

### Summary

Using material from pneumocystis-infected rats the developmental cycle of the parasite was studied with the electron-microscope. The results are summarized in a shematical drawing (Fig. 10) based on the original electron micrographs (Fig. 2—9). The parasite seems to belong to the protozooids.

### Literatur

- DIEKMANN, H. E., E. LINDNER u. E. STOPKA: Befunde bei interstitieller plasmacellulärer Pneumonie. Beitr. path. Anat. **114**, 48 (1954). — GLESE, W.: Pathogenese und Ätiologie der interstitiellen plasmacellulären Säuglingspneumonie. Verh. dtsch. Ges. Path. **36**, 284 (1952). — GLESE, W., u. R. GIESEKING: Die submikroskopische Struktur des fibrillären Grundgerüstes der Alveolarwand. Beitr. path. Anat. **117**, 17 (1957). — HAMPERL, H.: Zur Frage des Parasitennachweises bei der interstitiellen plasmacellulären Pneumonie. Klin. Wschr. **1952**, 820. — JIROVEC, O., u. J. VANEK: (1) Zur Morphologie der *Pneumocystis Carinii* und zur Pathogenese der *Pneumocystis*-Pneumonie. Zbl. allg. Path. path. Anat. **92**, 424 (1954). — (2) Weitere Beiträge zur Morphologie von *Pneumocystis Carinii*. Zbl. allg. Path. path. Anat. **94**, 499 (1955). — PLIESS, G.: Das mikrokulturelle Verhalten von Alveolarzellen und

von *Pneumocystis Carinii* bei der interstitiellen, plasmacellulären Säuglingspneumonie. Frankfurt. Z. Path. **68**, 153 (1957). — SCHULZ, H.: Über den Gestaltwandel der Mitochondrien im Alveolarepithel unter  $\text{CO}_2$ - und  $\text{O}_2$ -Atmung. Naturwissenschaften **43**, 205—206 (1956). — VANEK, J., u. O. JIROVEC: Parasitäre Pneumonie. Interstitielle Plasmazellenpneumonie der Frühgeborenen, verursacht durch *Pneumocystis Carinii*. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. **158**, 120 (1952). — WELLER, R.: (1) Erzeugung von *Pneumocystose* im Tierversuch. Z. Kinderheilk. **76**, 366 (1955). — (2) Weitere Untersuchungen über Rattenpneumocystose, im Hinblick auf interstitielle Pneumonie der Frühgeborenen. Z. Kinderheilk. **78**, 166 (1956). — Weitere ausführliche Literaturangaben s. bei G. PLIESS.

Dr. W. WESSEL, Pathologisches Institut der Universität,  
Bonn a. Rh.-Venusberg