

Experimentelle Herpesvirus SA 8-Pneumonien (Bronchopneumonien) bei Kenia-Pavianen (*Papio cynocephalus*)*

Manfred Brack, Jörg W. Eichberg, Richard L. Heberling und Seymour S. Kalter
Deutsches Primatenzentrum, Göttingen, Bundesrepublik Deutschland und
Southwest Foundation for Research and Education, San Antonio/Texas, USA

Experimentally Induced Herpesvirus SA 8-Pneumonia (Bronchopneumonia) in Kenya Baboons (*Papio cynocephalus*)

Summary. Captive baboons of three age groups were experimentally infected with Herpesvirus SA 8-strain 0430.

Intravenous inoculation of the virus induced minor, transient, interstitial pneumonia of a nonspecific type in newborn baboons.

Intratracheal inoculation, in contrast, invariably produced multifocal or diffuse necrotizing inclusion body bronchopneumonia within two days in newborn, two months and one year old baboons. Differences in the outcome of the experimental intratracheal infections were noticed, depending on the animals age. All the newborns either died from the extensive pulmonary damage or had to be sacrificed because of serious illness. Older animals, in contrast, survived the initial impact with only minor clinical symptoms and repair of the necrotic and inflammatory lesions. The healing stages were characterized by interstitial fibrosis and transient tumorlike bronchial and bronchiolar epithelial proliferations, which lasted for approximately two months.

Intranuclear inclusion bodies in ganglionic cells, ganglioneuritis and neuritis in different parts of the pulmonary plexus in intratracheally infected animals suggested the viral invasion of the pulmonary autonomous nervous system.

Key words: Herpesvirus SA 8 – Inclusion body pneumonia – Pseudotumors – Baboons

Zusammenfassung. Paviane dreier Altersklassen wurden experimentell (intravenös, intratracheal) mit Herpesvirus SA 8-Stamm 0430 infiziert.

* Mit dankenswerter Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bonn-Bad Godesberg – Br 414/1, 2

Sonderdruckanforderungen an: Dr. M. Brack, Deutsches Primatenzentrum GmbH, Gosslerstr. 19, D-3400 Göttingen, Bundesrepublik Deutschland

Intravenöse Injektion löste bei neugeborenen Pavianen geringgradige, vorübergehende, interstitielle Pneumonien ohne spezifische Komponenten aus.

Intratracheale Instillation der Virussuspension führte ungeachtet des Alters der Versuchstiere zu fokalen bis ausgedehnten nekrotisierenden Einschlußkörper-Bronchopneumonien. Aus den schon zwei Tage p.i. ausgebildeten Nekrosen und Entzündungen entwickelten sich im späteren Verlauf der intratrachealen Infektionen interstitielle Fibrosen und vorübergehend tumorähnliche Epithelproliferationen.

Intranucleäre Einschlußkörper in Ganglienzellen, Ganglioneuritis und Neuritis im Bereich des Pulmonalplexus intratracheal infizierter Tiere sprechen für eine Ausbreitung der Infektion auf das autonome Nervensystem der Lunge.

Einleitung

Erkrankungen des Respirationstrakts können bei Menschen und Tieren gelegentlich den Verlauf cytotocider Herpesvirusinfektionen entscheidend beeinflussen. Bekannt wurden komplizierende Pneumonien unterschiedlichen Ausmaßes unter anderem bei *H. simiae*-Infektionen von Makaken und Menschen (Soto und Deauville 1964; Espana 1973; Hull 1973) und *H. tamarinus*-Infektionen von *Saguinus* spp. und *Aotus trivirgatus* (Holmes et al. 1964; Hunt und Melendez 1966; Emmons et al. 1968; Garner und Stookey 1968; Tate et al. 1971).

Zunächst nicht näher definierte Pneumonien verursachten ebenfalls den Tod mehrerer neugeborener Paviane (*P. cynocephalus*) der Southwest Foundation for Research and Education (SFRE). Aus den erkrankten Lungen wurde wiederholt ein Herpesvirus SA 8-Stamm (Stamm 0430) isoliert. Ungeklärt blieb zunächst der anzunehmende Kausalzusammenhang zwischen den Herpesvirus-Infektionen und den Pneumonien, auch die Art der dabei aufgetretenen Lungenschäden war, wie erwähnt, nicht weiter definiert. Zur gezielten Klärung dieser offengebliebenen Fragen wurden deshalb gesunde Paviane der SFRE-Kolonie experimentell infiziert.

Material und Methoden

a) *Virus*. Isolierung, Identifizierung und Vermehrung des Herpesvirus SA 8-Stammes 0430 wurden bereits beschrieben (Eichberg et al. 1973).

b) *Versuchstiere*. 8 Neugeborene für intravenöse Infektionen; 5 Neugeborene für intratracheale Infektionen; 8 etwa zwei bis drei Monate alte Paviane und 15 etwa einjährige Tiere, alle für intratracheale Infektionen.

Als nichtinfizierte Kontrollen dienten zwei am ersten Lebenstag getötete neugeborene Paviane und sieben Jungtiere im Alter zwischen zwei und sieben Monaten.

Allen Versuchstieren wurden ungeachtet des Infektionsweges 0,5 ml einer in VERO-Zellen vermehrten, $10^{5.5}$ TCID₅₀/ml enthaltenden Virussuspension appliziert. Auf Kontrollversuche mit Injektion nur der Suspensionsflüssigkeit wurde aus ethischen Gründen verzichtet. Intravenös wurde via V. femoralis injiziert, intratracheal percutan im unteren Halsdrittel der Trachea instilliert. Ver-

suchstiere und Kontrollen wurden anschließend zu den in Tabelle 1 angegebenen Zeitpunkten unter dissoziativer Anaesthetie (Sernylan®) und totalem Blutentzug getötet. Sofort nach Eintritt des klinischen Todes wurde Material für virologische, bakteriologische und parasitologische Untersuchungen entnommen, im Anschluß daran wurden Proben aller Brust-, Bauch- und Beckenorgane in 10% neutral gepuffertem Formalin fixiert. Die nachfolgende Schilderung beschränkt sich auf die Darstellung der weiteren Bearbeitung der Lungen.

c) Histologische Färbungen. Die Hälfte eines jeden fixierten Lungenstücks wurde in Paraplast eingebettet, die andere Hälfte für Gefrierschnitte reserviert. Die Paraplastschnitte der Lungen wurden routinemäßig mit Ehrlichs Haematoxylin-Eosin gefärbt. Zusätzliche Färbemethoden waren: Trichrom (Masson-Goldner), Azan, van Gieson, Turnbolls Blau, Silberimprägnation nach Gomori und, nach Umfixierung in Zenkers Gemisch, Phosphorwolframsäure-Haematoxylin (Mallory). An Gefrierschnitten wurden Sudan II und Sudan Schwarz B-Färbungen angewendet. Schließlich wurden für die elektronenmikroskopische Demonstration des Herpesvirus SA 8 im erkrankten Lungengewebe umgrenzte Bezirke ausgewählter lichtmikroskopischer Schnitte nach der von Rossi et al. (1970) angegebenen Methode konvertiert.

Ergebnisse

Häufigkeit, Art, Ausdehnung und Verteilung der durch Herpesvirus SA 8 ausgelösten Schäden am Respirationstrakt hingen weitgehend vom Applikationsmodus des Virus, weniger deutlich auch vom Alter der Versuchstiere und der Infektionsdauer ab (Tabelle 1). Ähnlich verhielt es sich mit den Läsionen in anderen Organen und der Rückisolierung des Virus (Tabelle 2).

1. Intravenöse Infektionen

a) Trachea

Keine makroskopisch oder lichtmikroskopisch erkennbaren Schäden der Tracheaschleimhaut.

b) Lunge

2–5 Tage p.i. akute, ab 8. Tag p.i. subakute intralobuläre, nicht desquamative interstitielle Pneumonien. Einschlußkörperbildungen waren nicht nachweisbar, Schädigungen von Bronchocyten oder Pneumocyten nicht erkennbar. Die Entzündungszellansammlungen bestanden bis zum 5. Tag p.i. überwiegend aus neutrophilen Granulocyten und Lymphocyten, anschließend kamen unterschiedlich deutliche Histiocytschwellungen, ab 8. Tag p.i. auch Histiocytenproliferationen hinzu. Reticulin- oder Kollagenfaserzubildungen waren nicht nachweisbar.

Vasculäre Schäden beschränkten sich auf einzelne Endothelzelldesquamationen in muskulären Arteriolen und Venulen oder ausnahmsweise umschriebene Medianekrosen geringen Umfangs in pulmonalen Arteriolen.

Das Verteilungsmuster der interstitiellen Pneumonien wechselte von diffus-infiltrierend 2–5 Tage p.i. zu mehr multifokaler Ausbreitung 8 Tage p.i. Schließlich waren 14 Tage p.i. nur schwach ausgeprägte interstitielle Infiltrate fleckförmig verstreut vorhanden, ergänzt durch peribronchiale und perivascularäre Lymphoidfollikelproliferationen.

Tabelle 1. Übersicht über die Veränderungen des Respirationstrakts bei Herpesvirus SA 8-infizierten

Versuchs- tier- gruppe	Versuchs- tier- Nr.	Infek- tions- dauer (Tage)	Trachea		Bronchien (Bronchiolen)				
			Ent- zündung	Ne- krose	Ent- zündung	Ne- krose	Ein- schluß- körper	Basal- zell- proli- feration	Epithel- proli- feration
Neu- geborene i.v.	B 858	2	—	—	—	—	—	—	—
	B 865	2	—	—	—	—	—	—	—
	B 856	5	—	—	—	—	—	—	—
	B 843	5	—	—	—	—	—	—	—
	B 866	8	—	—	—	—	—	—	—
	B 828	8	—	—	±	—	—	—	—
	B 823	14	—	—	+	—	—	—	—
	B 824	14	—	—	—	—	—	—	—
Neu- geborene i.t.	B 846	2	+	+	—	±	±	—	—
	B 849	2	±	+	±	+	+	—	—
	B 853	3	±	—	+	+++	+++	—	—
	B 826	3	—	—	+	+++	+++	—	—
	B 825	5	—	—	++	+	+	—	—
2monatige i.t.	B 834	2	—	—	—	+	+	—	—
	B 819	2	—	—	±	+	+	—	—
	B 839	5	—	±	±	+	—	—	—
	B 821	5	±	+	+	++	++	—	—
	B 822	8	+	+	++	++	+	+	—
	B 827	8	—	—	+	+	±	+	—
	9951	14	++	—	++	—	—	+	++
	9941	14	++	—	++	—	—	±	++
Ein- jäh- rige i.t.	B 766	2	—	—	±	±	+	—	—
	B 743	2	+	±	+	+	±	—	—
	B 746	5	+	+	+	++	++	—	—
	B 750	5	+	+	±	++	++	—	—
	B 762	8	+	+	+	+	—	+	—
	B 748	8	+	—	+	+	—	+	—
	B 744	14	+	—	++	—	—	+	++
	B 735	14	±	—	++	—	—	±	+
	B 807	19	+	—	+++	—	—	?	++
	B 808	30	+	—	++	—	—	+	+
	B 818	30	±	—	±	—	—	±	+
	B 813	60	+	—	+	—	—	—	±
	B 810	60	+	—	+	—	—	—	±
	B 806	120	+	—	+	—	—	—	—
	B 832	120	+	—	—	—	—	—	—

2. Intratracheale Infektionen

a) Trachea

2–5 Tage p.i. resultierten in der Mehrzahl der Versuchstiere akute, multifokale nekrotische Tracheitiden (Tracheobronchitiden) mit makroskopisch unauffälli-

Pavianen

Alveolen			Interstitium			Capillar- sprossung	Lymph- follikel- proli- feration	Ganglio- neuritis (Neuritis)
Ent- zün- dung	Ne- krose	Ein- schluß- körper	Ent- zün- dung	Ne- krose	Faser- bildung			
—	—	—	+	—	—	—	—	—
—	—	—	+	—	—	—	—	—
—	—	—	+	—	—	—	—	—
—	—	—	+	—	±	—	—	—
—	—	—	±	—	—	—	—	—
—	—	—	++	—	—	—	—	—
±	—	—	++	—	+	—	±	—
—	—	—	±	—	—	—	±	—
<hr/>								
—	—	—	—	—	—	—	—	—
±	±	+	±	—	—	—	—	—
++	++	++	±	++	—	—	—	+
++	+++	+++	+	+++	—	—	—	?
++	+	±	++	++	+	±	+	?
<hr/>								
—	±	±	—	±	—	—	—	—
±	+	+	—	±	—	—	—	—
+	+++	+++	++	+	—	—	±	+
++	+	+++	++	+	—	—	±	?
++	++	±	++	+	+	+	±	++
++	±	—	++	—	+	+	+	++
++	—	—	++	—	++	±	++	—
++	—	—	++	—	++	+	++	+
<hr/>								
±	±	±	±	±	—	—	—	—
+	+	±	+	±	—	—	—	—
+	+++	++	++	+++	—	—	+	+
+	++	++	++	+	—	—	±	++
++	++	—	++	±	±	+	±	+
++	+	—	++	±	—	+	+	+
+++	+	—	++	++	++	++	++	++
+	—	++	+	—	++	+	++	+
+++	—	—	++	—	—	?	±	—
+	—	—	+	—	++	±	++	—
—	—	—	—	—	—	—	++	—
—	—	—	±	—	—	—	++	—
±	—	—	±	—	++	—	++	—
—	—	—	—	—	+	—	+++	—
—	—	—	—	—	—	—	+	—

gen, histologisch umschriebenen, meist auf das Flimmerepithel beschränkten und niemals die *Lamina propria tracheae* durchbrechenden Koagulationsnekrosen geringen Umfangs. Meist wiesen Gruppen von Tracheocyten Cytoplasma- und Kernschwellungen auf mit zentripetal zunehmender Tendenz zu Karyorrhexis oder Pyknose. 8 Tage p.i. waren nur noch in Einzelfällen Nekrosen zu

Tabelle 2. Lokalisation Herpesvirus SA 8-verursachter Läsionen in Pavianen

Versuchs- gruppe	Ver- suchs- tier- Nr.	Infek- tions- dauer (Tage)	Haut	Mund- höhle	Trachea	Lunge	Cardio- vasc. System	Ver- dauungs- kanal	Leber und Gallen- blase
Neugeborene i.v.	B 865	2	—	—	—	?	—	—	—
	B 858	2	—	—	—	?	—	—	?
	B 843	5	?	+	—	?	?	—	—
	B 856	5	+	—	—	?	—	—	?
	B 828	8	—	—	—	?	?	—	—
	B 866	8	—	—	—	?	—	—	?
	B 823	14	—	—	—	?	?	—	?
	B 824	14	—	—	—	±	?	—	?
Neugeborene i.t.	B 846	2	—	—	+	+	—	+	—
	B 849	2	—	—	+	+	—	—	—
	B 826	3	—	—	+	+	?	—	?
	B 853	3	—	—	—	+	—	+	—
	B 825	5	+	+	—	+	?	—	?
2monatige i.t.	B 819	2	—	—	—	+	—	—	—
	B 834	2	—	—	—	+	—	?	—
	B 821	5	—	—	+	+	—	—	?
	B 839	5	—	—	+	+	—	?	?
	B 822	8	—	—	+	+	—	—	—
	B 827	8	—	+	—	+	—	—	?
	9941	14	—	—	+	+	—	—	—
	9951	14	—	—	+	+	—	—	—
Einjährige i.t.	B 743	2	—	—	—	+	—	—	—
	B 766	2	—	—	+	+	—	?	—
	B 746	5	—	—	+	+	—	?	?
	B 750	5	—	—	+	+	—	?	?
	B 748	8	—	—	+	+	?	?	?
	B 762	8	—	—	+	+	—	?	?
	B 735	14	—	—	+	+	—	?	?
	B 744	14	—	—	+	+	—	?	?
	B 807	19	—	+	+	+	?	?	?
	B 808	30	—	—	+	+	?	?	?
	B 818	30	—	—	+	+	—	?	?
	B 810	60	—	—	+	+	—	?	?
	B 813	60	—	—	+	+	—	—	—
	B 806	120	—	—	+	+	—	?	—
	B 832	120	—	—	+	—	—	—	?

i.v. = intravenöse Infektion

i.t. = intratracheale Infektion

? = fragliche Herpesvirus 0430-Spezifität (Veränderungen auch bei nichtinfizierten Pavianen gefunden);

Niere	Harn- blase	Lymph-Milz knoten	Neben- nieren	Zentral- nerven- system	Neutrale Antikörper Titer ^a	Virus-Rückisolierung ^a		
					Tag 0	ter- minal		
—	—	—	?	—	—	ND	ND	Nebenniere
—	?	—	?	?	—	ND	ND	negativ
—	—	—	+	+	+	ND	ND	Milz, Niere, Nebenniere
—	?	—	—	+	+	ND	ND	Nebenniere
±	+	—	—	+	+	ND	ND	Milz, Nebenniere
—	—	?	—	+	+	ND	ND	Milz
—	—	?	?	+	+	ND	ND	negativ
?	—	—	—	—	—	ND	ND	negativ
—	—	—	?	—	—	ND	ND	Lunge, Trachea
—	—	—	—	—	—	ND	ND	negativ
?	—	?	?	—	+	ND	ND	Milz, Lunge, Niere, Trachea
—	—	?	—	—	+	ND	ND	Lunge, Trachea, Milz, Niere, ZMS
—	ND	?	?	—	+	ND	ND	Lunge, Trachea
—	?	—	?	—	—	10	10	Lunge, Trachea
—	—	—	?	—	—	10	10	Lunge, Trachea
—	—	?	?	—	—	10	10	Lunge, Trachea
—	—	—	?	—	—	10	10	Lunge
—	—	—	?	—	+	10	40	Lunge, Trachea
—	—	?	?	—	+	ND	20	Lunge
—	?	—	—	—	—	ND	ND	negativ
?	?	?	?	—	+	ND	ND	negativ
?	?	?	?	—	—	10	10	Lunge, Trachea
?	—	?	?	—	+	10	10	Trachea
?	—	?	?	—	+	10	10	Lunge, Trachea
—	—	—	?	—	+	10	10	Lunge, Trachea
?	?	?	?	—	+	10	10	Lunge
?	?	—	?	—	+	10	10	Lunge
?	?	—	—	—	?	10	80	Lunge
?	—	?	?	—	+	10	160	Lunge
?	—	?	—	+	+	10	10	ND
?	—	?	?	—	+	10	10	ND
?	—	—	?	—	+	10	80	ND
?	?	—	—	—	+	10	10	ND
?	?	—	?	—	?	10	10	ND
?	?	?	?	—	+	10	ND	ND
?	—	—	—	—	—	ND	10	ND

ND=Untersuchung nicht durchgeführt

^a Nach Eichberg et al. (1973)

beobachten, deren Charakter der gegebenen Beschreibung entsprach. Intranucleäre Einschußkörper waren insgesamt selten und am ehesten in Epithelzellen aus Randpartien der Nekroseherde zu sehen.

Als Entzündungszellen waren 2–5 Tage p.i. hauptsächlich Lymphozyten und neutrophile Granulocyten in der direkten Umgebung der Nekrosen angesammelt, ab 8. Tag p.i. gesellten sich vermehrt Pasmazellen hinzu, 1–4 Monate p.i. dominierten Lymphocyten. Mit fortschreitender Infektionsdauer (ab 14 Tage p.i.) tendierten die Zellinfiltrate zu diffuser, die ganze Propria erfassender Verteilung.

b) Lunge

In allen Altersklassen resultierten nekrotische Bronchopneumonien mit vorübergehender Einschußkörperbildung. 2–3 Tage p.i. waren regelmäßig kleine, sektorartige Nekrosen in Lobularbronchien, Terminalbronchiolen und respiratorischen Bronchiolen vorhanden, die in Einzelfällen bis zur Totalnekrose gingen (Abb. 1). Ebenfalls in Einzelfällen griffen die Nekrosen auf benachbarte Acini, pulmonale Arteriolen oder kleine muskuläre Arterien über. Die cytologischen Schäden entsprachen den in der Trachea beschriebenen mit Cytoplasma-Eosinophilie und -Schwellung, Kernwandhyperchromatosen, Kernschwellungen und Nucleolysis, Karyoplasmaverlust, Pyknose, Karyorrhexis und/oder Kerneinschlüssen vom Typ Cowdry A meist ohne Halo. Soweit die zerstörten Zellen differenzierbar waren, handelte es sich hauptsächlich um Bronchocyten, weniger häufig um mesenchymale Zellen, in zerstörten Alveolen um Pneumocyten Typ 1. Elektronenoptisch ließen sich in Zellkernen aus Randgebieten der Alveolennekrosen zahlreiche Herpesviruspartikel darstellen (Abb. 2).

Endothelzelldesquamationen oder -nekrose in pulmonalen Arteriolen, Venulen und interalveolären Capillaren führten zu Dysorrhien als eiweißreiche Ödeme, Hämorrhagien und diskrete Fibrinausfällungen in Alveolen von Nekroseherden und ihrer Umgebung. Nur in Neugeborenen waren deutliche Mikrothrombosen in interalveolären Kapillaren der Randpartien von Nekroseherden nachweisbar. Entzündungsreaktionen waren 2 Tage p.i. generell schwach ausgeprägt, sie bestanden im wesentlichen aus einzelnen Granulocyten ohne spezielle Ortsbezogenheit.

Mit fortschreitender Infektionsdauer veränderte sich das Bild zunächst quantitativ, später auch qualitativ.

5 Tage p.i. Ausgedehnte, z.T. konfluierende Nekrosen mit totaler Zerstörung ganzer Alveolengruppen mit oder ohne gleichzeitige Totalnekrose benachbarter Lobularbronchien, Bronchiolen und/oder kleinkalibriger muskulärer Arterien oder Arteriolen (Abb. 3). Herdnekrosen auch in Segmentbronchien. Massenhaft intranucleäre Einschußkörper (Typ Cowdry A mit deutlichen Halo's) in Bronchocyten, Pneumocyten und, wenn auch weniger häufig, in mesenchymalen Zellen.

Lymphocytär-granulocytäre Desquamationspneumonie in nichtnekrotischen Teilen aller Lungenlappen, lymphocytäre Peribronchitis, Peribronchiolitis und

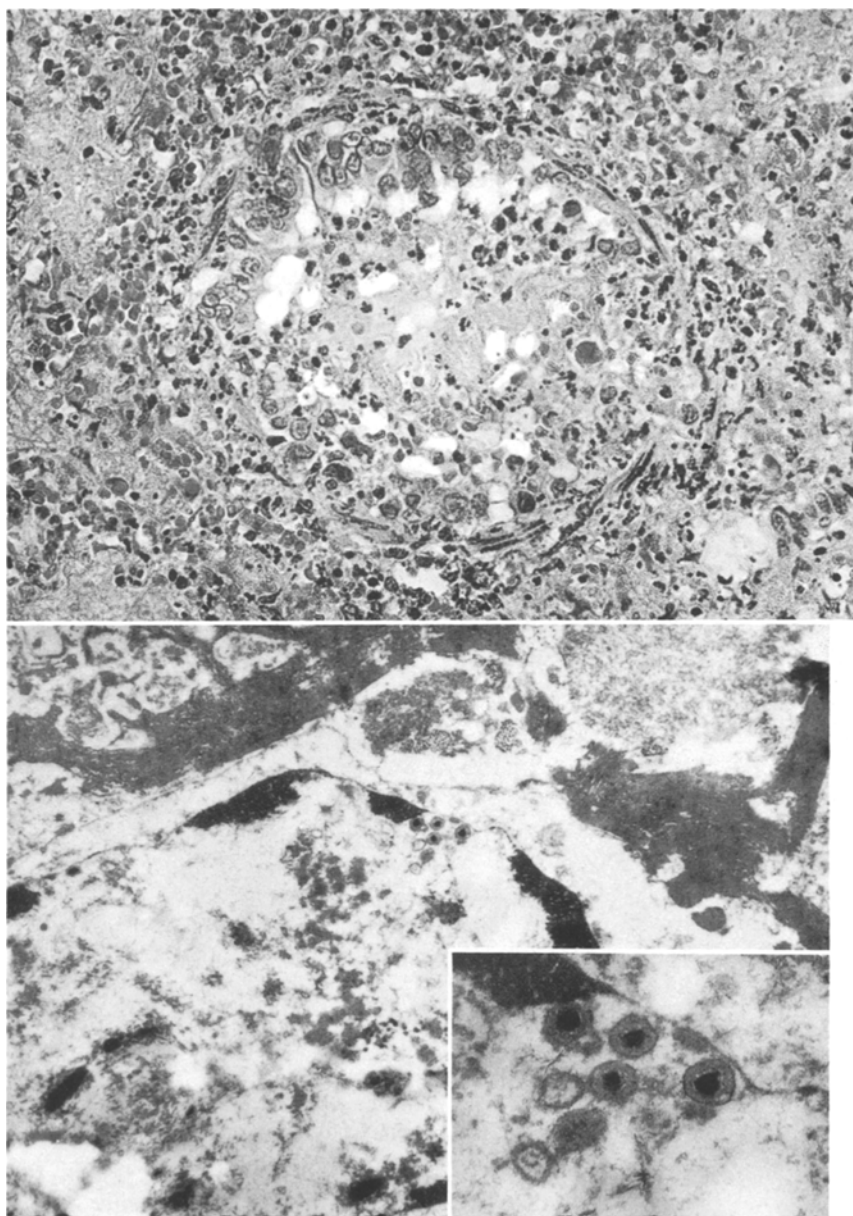


Abb. 1. (B 853): Totalnekrose eines Terminalbronchiolus. Zahlreiche Kerneinschlüsse vom Typ Cowdry A in Bronchocyten. 3 Tage p.i., H.-E., $250\times$ (Nachvergrößerung $3,5\times$)

Abb. 2. (B 853): Herpesvirus SA 8-Partikel in Bronchocytenkern aus teilnekrotischem Terminalbronchiolus. 3 Tage p.i. $17000\times$ (Ausschnitt $82400\times$)

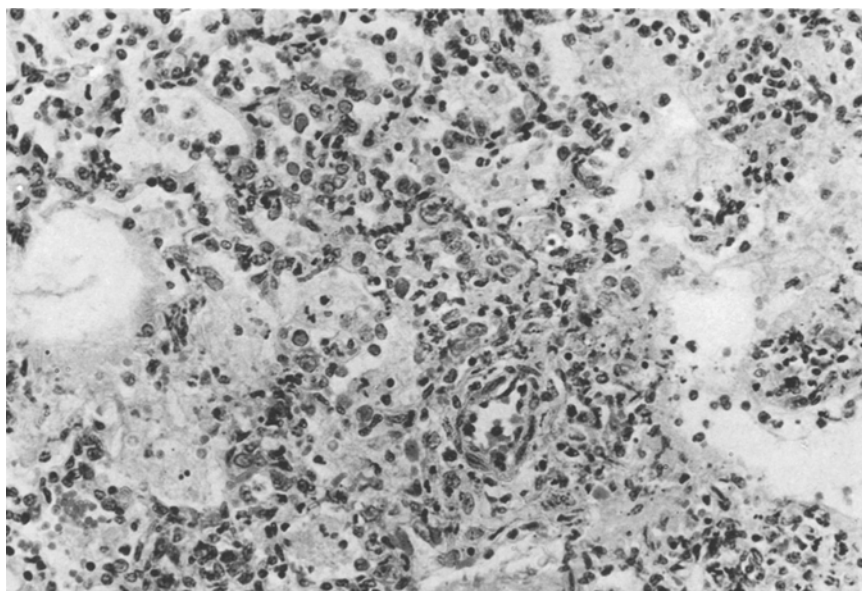


Abb. 3. (B 831): Einschlusskörper-Pneumonie, Alveolen- und Arteriolennekrose. 5 Tage p.i., H.-E., 200 \times (Nachvergrößerung 3,5 \times)

Periarteriitis mit auffallender Beteiligung eosinophiler Granulocyten. Beginnende Lymphoidfollikelproliferation.

Erste Regenerationserscheinungen bestanden in Kernschwellungen interstieller Histiocyten und Endothelzellen nicht-nekrotischer Lungenteile.

8 Tage p.i. Beschränkung der Nekrosen auf kleine Alveolengruppen einschließlich benachbarter Bronchiolen und kleinerer Blutgefäße (hauptsächlich Arteriolen). Ödeme und Fibrinexsudate waren undeutlicher ausgeprägt und weniger umfangreich als bei den vorher genannten Tieren.

Stark ausgeprägte granulocytär-lymphocytäre Pneumonie vor allem in der Umgebung der Nekroseherde, ausgebreitete lymphocytär-plasmacelluläre Bronchitis, Peribronchitis, Arteriolitis und Periarteriolitis mit Emigration zahlreicher neutrophiler und eosinophiler Granulocyten.

Regenerationserscheinungen: starke RHS-Proliferation in Form perlschnurartig aufgereihter, leptochromatischer, bläschenartiger RHS-Zellkerne in Intervolveolaresepten, verbunden mit feiner Reticulinfaserzubildung. Daneben zentripetal gerichtete Kapillarsprossung, ausgehend von der Peripherie der Nekrosen oder von funktionsfähig gebliebenen Blutgefäßen aller Kaliber (arteriell und venös). Desquamation abgestorbener bronchialer und bronchiolärer Epithelfetzen und Basalzellproliferation in Terminal- und respiratorischen Bronchiolen (ungeordnete Schichten hyperchromatischer Basalzellen).

14 Tage p.i. Nekrosen waren nur noch in Form kleiner, umschriebener Ansammlungen amorpher eosinophiler Materials, z.T. noch immer mit Blutbeimengungen.

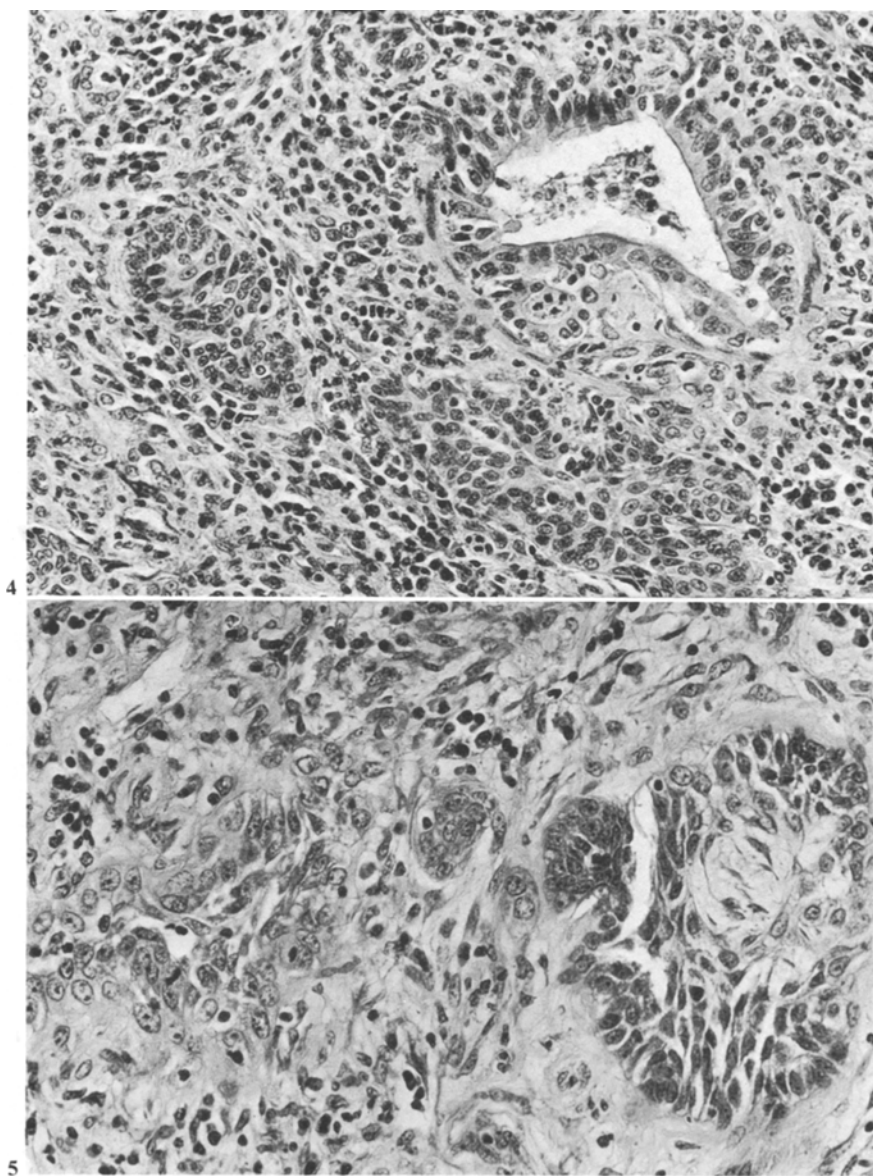


Abb. 4. (B 744): peribronchioläre, in Alveolen vordringende Epithelproliferation. 14 Tage p.i., H.-E., $100\times$ (Nachvergrößerung $3,5\times$)

Abb. 5. (9951): Plattenepitheloide „tumorlets“. 14 Tage p.i. H.-E., $250\times$ (Nachvergrößerung $3,5\times$)

gen erkennbar, durchzogen von neugebildeten, plumpen Alveolarsepten. In allen Lungenteilen Haemosiderose von Pneumocyten und von interstitiellen RHS-Zellen.

Entzündungsreaktionen lagen als ausgeprägte plasmacellulär-lymphocytäre Bronchitiden, Peribronchitiden, Periarteriitis und interstitielle Pneumonie vor.

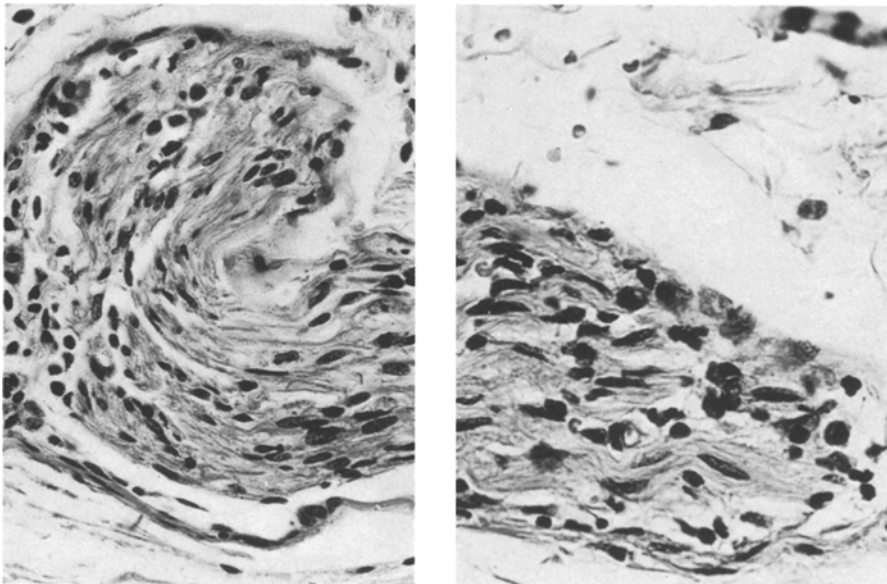


Abb. 6. Fokale lymphozytäre Neuritis peribronchialer Nervenfasern; links: 8 Tage p.i. (B 822) – 250 \times ; rechts: 14 Tage p.i. (B 744) – 400 \times . (Nachvergrößerung 3,5 \times)

Damit einher gingen starke Proliferationen pulmonaler Lymphoidfollikel. Soweit die Alveolen noch in die Entzündungsprozesse einbezogen waren, handelte es sich um mittelgradige überwiegend lymphocytaire Zellansammlungen in einzelnen Alveolengruppen.

Regenerationserscheinungen waren gekennzeichnet durch Alveolenneubildung nach o.b. Muster, massive interstitielle (herdförmige) Fibrosen und von Terminal- und respiratorischen Bronchiolen ausgehende Bildung von „tumors“. Dabei handelte es sich um von den betroffenen Bronchiolen ausstrahlende, von Basalmembranen umgebene, tumorähnliche Zapfen plattenepithelartiger, z.T. argentauffiner Zellen (Abb. 4, 5).

1 Monat p.i. Nekrosen waren nicht mehr erkennbar. Entzündungserscheinungen bestanden noch als multifokale, chronische, fibrosierende interstitielle Pneumonien mit ausgeprägter Lymphoidfollikelaktivierung.

Die vorher soliden „tumors“ enthielten jetzt teilweise zentrale Lumina, ihre Zellen waren dann mehr cuboid als plattenepitheloid. Wie vorher auch dehnten sie sich auf peribronchioläre Bindegewebe und in benachbarte Alveolen aus.

2 Monate p.i. Fortgeschrittene interstitielle Fibrosen mit Verödung ganzer Acini; ausgeprägte Lymphoidfollikelaktivierung, kleinere Epithelzellverbände um einzelne respiratorische Bronchiolen als Reste von „tumors“.

4 Monate p.i. Deutliche Lymphoidfollikelaktivierung, bei einem Tier gering- bis mittelgradige interstitielle Fibrose.

Ein zusätzlicher Befund bei intratracheal infizierten Pavianen war das offensichtliche Übergreifen der Infektion auf das *autonome pulmonale Nervensystem*. 3 Tage p.i. traten in einzelnen Ganglienzellen pulmonaler und/oder peritrachealer Ganglien intranukleäre Kerneinschlüsse auf, oder die Zellen fielen der eosinophilen Degeneration anheim, 5–14 Tage p.i. standen lymphocytär-plasmacelluläre Neuritiden oder Ganglioneuritiden pulmonaler Nervenfasern im Vordergrund (Abb. 6). In späteren Infektionsstadien lagen keine Hinweise auf eine Miterkrankung des pulmonalen Nervensystems vor. Korrespondierend zu den pulmonal-neuralen Veränderungen waren bei intratracheal infizierten Pavianen Nekrosen des ZNS und Gliaknotenencephalitiden weitgehend auf das Einstromgebiet des N. vagus in der Medulla oblongata begrenzt (Brack et al. 1980).

Im Rahmen bakteriologischer Kontrolluntersuchungen wurde nur bei einem Tier (B 807) über Kommensalismus hinausgehendes Bakterienwachstum registriert als Reinkulturen von *Pasteurella multocida* in Lunge, Milz, Leber und Großhirn.

Diskussion

Spontan auftretende Herpesvirus SA 8-Pneumonien wurden mehrfach bei Pavian-Säuglingen der Southwest Foundation for Research and Education-Kolonie beobachtet (Eichberg et al. 1973). Erkrankungen des Respirationstrakts, obwohl nicht Leitsymptom spontaner Herpesvirusinfektionen von Primaten, gehören keineswegs zu den Ausnahmefunden cytocider Herpesvirusinfektionen. Experimentell läßt sich *H. simiae* durch Aerosole auf Kaninchen übertragen (Chapell 1960), doch sind dafür 500 mal größere Virusdosen notwendig als für erfolgreiche subkutane Infektionen (Benda und Polomik 1969). Spontane *H. simiae*-Pneumonien treten gelegentlich bei Makaken und Menschen auf (España 1973; Hull 1973; Soto und Deauville 1964). Liverpool Vervet Virus-Infektionen gehen gelegentlich bei grünen Meerkatzen (Clarkson et al. 1967), *H. tamarinus*-Infektionen bei Pinché-Äffchen (*Saguinus oedipus*), Schwarzrückentamarinen (*S. nigricollis*) oder Mirikinas (*Aotus trivirgatus*) (Emmons et al. 1968; Garner und Stookey 1968; Hunt und Melendez 1966; Tate et al. 1971) und Delta-Herpesvirus/Patas Monkey Virus-Infektionen bei Husarenaffen (*Erythrocebus patas*) mit „Lungenschäden“ (Nekrosen, Entzündungen) einher.

Sofern Lungenläsionen spontan bei nichthumanen Primaten im Verlaufe solcher Infektionen mit „Simian Herpesviruses“ auftraten (und eingehender beschrieben wurden) äußerten sie sich als fokale bronchiale und/oder alveoläre Epithelnekrosen mit Kerneinschlußkörperbildung, alveoläre Hämorrhagien und exsudative Pneumonien (Clarkson et al. 1967; Emmons et al. 1968; Garner und Stookey 1968; Hull 1973; Hunt und Melendez 1966; Sheldon und Ross 1966; Soto und Deauville 1964; Tate et al. 1971; Wolf et al. 1974).

H. hominis-induzierte Lungenerkrankungen des Menschen kommen als Bestandteil systemischer Neugeborenen-Infektionen (Bell und Williams 1961; Bird et al. 1963; Haynes et al. 1968; Hutfield 1966; Zavoral et al. 1970) oder als Begleitbefund auch in höheren Altersgruppen vor (Douglas et al. 1969; Güthert

1965; Herout et al. 1966; Morgan und Finland 1949; Rosen und Hajdu 1971; Seitelberger und Jellinger 1958; Tucker und Scofield 1961).

Herout et al. (1966) beschreiben Finalstadien von *H. hominis*-Pneumonien des Menschen als purulente, pseudomembranöse Tracheobronchitis mit Bildung intranucleärer Einschlüsse in Randzonen der Schleimhautulzera, riesencelluläre Bronchiolitis mit Nekrose der Entzündungszellen, purulente alveoläre und interstitielle Pneumonien. Fokale Plattenepithelmetaplasien von Bronchus und Alveolenepithelien, teilweise mit intranucleären Einschußkörpern kamen hinzu. Seitelberger und Jellinger (1958) und Tucker und Scofield (1961) weisen auf alveoläre Hämorrhagien und Fibrinausgüsse hin und Güthert (1965) auf Einschußkörper in Gefäßendothelien, Adventitiazellen und Bindegewebszellen. Daraus und aus der Verbindung mit Virämien wird der Schluß gezogen, daß Capillarendothelschäden den fokalen Lungennekrosen vorangehen (Spencer 1977).

Die Ergebnisse der vorliegenden Experimente waren damit nur teilweise vergleichbar.

a) Intravenöse Injektion einer konzentrierten Virussuspension als Modell einer rein vaskulären Lungeninfektion nach Virämie erzeugte in keinem Falle eine typische Herpesvirus-Pneumonie, d.h. Bronchus-, bzw. Alveolennekrosen mit entsprechenden Folgeveränderungen. Die vasculäre Lungenpassage des intravenös injizierten Virus wird dennoch belegt durch die Rückisolierung des Herpesvirus SA 8 aus Milz und Nebenniere und typische Nebennierenveränderungen der Versuchstiere. Andererseits verlief die Passage über den kleinen Kreislauf keineswegs reaktionslos, sondern führte zu passageren interstitiellen Entzündungserscheinungen. Tiefergreifende vasculäre Schäden, insbesondere Schäden der interalveolären Capillaren gingen damit nicht einher, nachweisbare Fibrinexsudationen oder Faserzubildungen blieben während des Beobachtungszeitraums aus.

b) Intratracheale, d.h. simulierte aerogene Infektion schädigte bei Pavianen aller Altersklassen primär Bronchocyten und führte dementsprechend zu nekrotisierenden (Tracheo)-Broncho-Bronchiolitiden. Schon 2 Tage p.i. als diskrete bronchiale oder bronchioläre Nekrosen vorhanden, dehnten sich die Zerstörungen bei Neugeborenen bereits einen Tag später, bei allen anderen Altersklassen am fünften Tag p.i. über große Lungenabschnitte aus unter Nekrose auch von Alveolen und Blutgefäßen. Die Ausbreitung der Nekrosen geschah primär per continuitatem. Zunächst waren nur Alveolen in der unmittelbaren Umgebung nekrotischer Bronchiolen (Bronchien) zerstört und auch bei später erfolgter Ausbreitung bestand immer ein räumlicher peribronchialer Zusammenhang, nur gelegentlich lagen zerstörte Blutgefäße (Arterien, Arteriolen) im Zentrum von Nekroseherden. Der nekrotische Zellzerfall und die vorausgegangene lichtmikroskopische Bearbeitung lassen eine elektronenmikroskopische Differenzierung der befallenen Pneumocyten in den Alveolen nur mit Einschränkungen zu. Immerhin spricht vor allem das Fehlen lamellarer Cytoplasmainschlüsse für die Charakterisierung als Typ 1 Pneumocyten, während das Fehlen von Cytoplasmafortsätzen oder Mikrovilli in Kenntnis der Vorgeschichte sicherlich wenig Beweiskraft hat. Intravasculäre Fibrinausfällungen waren strikt auf die Randpartien größerer Nekroseherde beschränkt, sie wurden niemals in kleinen, vermutlich beginnenden Nekrosen oder unabhängig von bereits fortgeschrittenen Ne-

krosen beobachtet. Insofern bestätigen die vorliegenden Versuche die für menschliche *H. hominis*-Pneumonien postulierte primäre Capillarendothelschädigung nicht. Sie zeigen aber, daß sich den primären Lungenschäden nach aerogener Infektion zumindest bei Neugeborenen Virämien sekundär anschließen können.

c) Der diagnostische Wert der Einschußkörperbildung ist zumindest zeitlich begrenzt. Mit verstärkt einsetzender entzündlicher Abwehrreaktion 8 Tage p.i. verschwanden gleichzeitig die 5 Tage p.i. reichlich vorhanden gewesenen Einschlüsse durch Zerfall und Desquamation oder Phagocytose der zerstörten Zellen.

Ein ähnlich vorübergehendes Ereignis waren die Regenerationserscheinungen der Bronchial-/Bronchiolarepithelien unter dem Bilde sog. „tumorlets“. Sie entwickelten sich 2–4 Wochen p.i. als zunächst plattenepitheloide, sehr bald kanalisierte, multizentrisch auftretende und radiär von Bronchien/Bronchiolen ins umgebende Bindegewebe und angrenzende Alveolen vordringende Zellzapfen. 2 Monate p.i. nur noch in abgeschwächter Form erkennbar, waren sie 4 Monate p.i. nicht mehr nachweisbar. Mit diesen gutartigen und letztlich selbstlimitierenden Wachstumseigenschaften der Herpesvirus SA 8 induzierten „tumorlets“ in Pavianen stimmen auch das Fehlen von Mitosen, das Vorhandensein gut ausgebildeter Basalmembranen und das Vorkommen argentaffiner Zellen überein. Sie entsprechen damit Befunden nach mechanischen Verletzungen der Respirationsschleimhäute des Hundes (Greenberg und Willms 1962), chemischen Verätzungen der Trachea- und Bronchialschleimhaut von Kaninchen oder Lungenresektionen bei Menschen (s. Spencer 1977).

Literatur

- Bell H, Williams ME (1961) Visceral herpes simplex without cutaneous lesions. *Obstet Gynecol* 17:625–631
- Benda R, Polomik F (1969) Cause of air-borne infection caused by B-virus (Herpesvirus simiae). I. Lethal inhalation dose of B-virus. *J Hyg* 13:24–30
- Bird T, Ennis JE, Wort AJ, Gardner PS (1963) Disseminated herpes simplex in newborn infants. *J Clin Pathol* 16:423–431
- Brack M, Eichberg JW, Heberling RL, Kalter SS (1980) Experimentelle Herpesvirus SA 8 – Encephalitis bei Kenia Pavianen (*Papio cynocephalus*) *Virchows Arch. [Pathol Anat]* 388:199–212
- Chappell WA (1960) Animal infectivity of aerosols of monkey B-virus. *Ann NY Acad Sci* 85:931–934
- Clarkson MJ, Thorpe E, McCarthy K (1967) A virus disease of captive monkeys (*Cercopithecus aethiops*) caused by a new herpesvirus. *Arch ges Virusforsch* 22:219–234
- Douglas RG jr, Anderson S, Weg JG, Williams T, Jenkins DE, Knight V, Beall AC jr (1969) Herpes simplex virus pneumonia. Occurrence in an allotransplanted lung. *J Am Med Assoc* 210:902–904
- Eichberg JW, Kalter SS, Heberling RL, Brack M (1973) Experimental herpesvirus infection of baboons (*Papio cynocephalus*) and African green monkeys (*Cercopithecus aethiops*) and recovery of virus by tissue explants. *Arch ges Virusforsch* 43:304–314
- Emmons RW, Gribble DH, Lennette EH (1968) Natural fatal infection of an owl monkey (*Aotus trivirgatus*) with Herpes T-virus. *J Infect Dis* 118:153–159
- Espana C (1973) Herpesvirus simiae infection in *Macaca radiata*. *Am J Phys Anthropol* 38:447–454
- Garner FM, Stookey JL (1968) Syllabus: Diseases of nonhuman primates. No. ML 17368. Armed Forces Institute of Pathology Publication, Washington DC
- Greenberg SD, Willms RK (1962) Regeneration of respiratory epithelium. *Arch Pathol* 16:53–58

- Haynes RE, Azimi PH, Cramblett HG (1968) Fatal herpesvirus pathologic and virologic characteristics. *J Am Med Assoc* 206:312-319
- Herout V, Vortel V, Vondrackova A (1966) Herpes simplex involvement of the lower respiratory tract. *Am J Clin Pathol* 46:411-419
- Holmes AW, Caldwell RG, Dedmon RE, Deinhardt F (1964) Isolation and characterization of a new herpes virus. *J Immunol* 92:602-610
- Hull RN (1973) The simian herpesviruses. In: Kaplan AS (ed) *The herpesviruses*. Academic Press, New York, pp 389-426
- Hunt RD, Melendez LV (1966) Spontaneous herpes-T infection in the owl monkey (*Aotus trivirgatus*). *Pathol Vet* 3:1-26
- Hutfield DC (1966) Fatal effects of herpes genitalis on the newborn infant. *J Obstet Gynecol Br Commonw* 73:1020-1022
- Morgan HR, Finland M (1949) Isolation of herpes virus from a case of atypical pneumonia and erythema multiforme exudativum. *Am J Med Sci* 217:92-95
- Rosen P, Hajdu SI (1971) Visceral herpesvirus infections in patients with cancer. *Am J Pathol* 56:459-465
- Rossi GL, Luginbühl H, Probst D (1970) A method for ultrastructural study of lesions found in conventional histological sections. *Virchows Arch [Pathol Anat]* 350:216-224
- Seitelberger F, Jellinger K (1958) Akute nekrotisierende (Einschlußkörperchen) Enzephalitis. *Wien Z Nervenheilk* 15:262-275
- Sheldon WG, Ross MA (1966) A generalized herpesvirus infection in owl monkeys. *US Army Med Res Lab Rep No 670, DA Project No 3A 013501 B 71 P*
- Soto PJ, Deauville DA (1964) Spontaneous simian giantcell pneumonia with coexistent B virus infection. *Am J Vet Res* 25:793-804
- Spencer H (1977) *Pathology of the lung*, vol 2, 3rd edn. Pergamon Press, Oxford
- Tate CL, Lewis JC, Huxsoll DL, Hildebrandt PK (1971) *Herpesvirus T* as the cause of an encephalitis in an owl monkey (*Aotus trivirgatus*). *Lab Anim Sci* 21:743-745
- Tucker ES III, Scofield GF (1961) Hepatoadrenal necrosis. Fatal systemic herpes simplex infection. Review of the literature and report of two cases. *Arch Pathol* 7:538-547
- Wolf RH, Smetana HF, Allen WP, Felsenfeld AD (1974) Pathology and clinical history of Delta herpesvirus in patas monkeys. *Lab Anim Sci* 24:218-221
- Zavoral JH, Ray WL, Kinnard PG, Nahmias AJ (1970) Neonatal herpetic infection. A fatal consequence of penile herpes in a serviceman. *J Am Med Assoc* 213:1492-1493

Angenommen am 22. Januar 1981