

**Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen von Lunge und  
Pleura der mit *Litomosoides sigmodontis* infizierten *Mastomys coucha***

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades beim  
Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

ELKE MARIA HERMINE LÜTKEFELS



Aus dem Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuerin: Prof. Dr. Ilse Käufer-Weiss

und

dem Institut für Parasitologie der Justus-Liebig-Universität Gießen

Betreuer: Prof. Dr. Horst Zahner

und

dem Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover

Betreuer: Prof. Dr. Dr.h.c. Dr.sc.h.c. Wolfgang Drommer

**Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen von Lunge und  
Pleura der mit *Litomosoides sigmodontis* infizierten *Mastomys coucha***

INAUGURAL-DISSERTATION  
zur Erlangung des Doktorgrades beim  
Fachbereich Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Eingereicht von  
ELKE MARIA HERMINE LÜTKEFELS  
Tierärztin aus Werne

Gießen 2003

Mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin  
der Justus-Liebig-Universität Gießen

Dekan: Prof. Dr. Dr.h.c. B. Hoffmann

1. Berichterstatter: Prof. Dr. I. Käufer-Weiss

2. Berichterstatter: Prof. Dr. H. Zahner

Tag der mündlichen Prüfung: 24.03.2003

Inmitten von Schwierigkeiten  
liegen günstige Gelegenheiten.

(Albert Einstein)

MEINEN ELTERN



---

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>2</b>
<b>2.1</b>	<b><i>Mastomys coucha</i> .....</b>	<b>2</b>
<b>2.2</b>	<b>Filariosen .....</b>	<b>3</b>
2.2.1	Allgemeines .....	3
2.2.2	<i>Litomosoides sigmodontis</i> .....	8
2.2.2.1	Wirtsspektrum von <i>L. sigmodontis</i> .....	8
2.2.2.2	Entwicklung von <i>L. sigmodontis</i> in der Baumwollratte .....	9
2.2.2.3	Experimentelle Übertragung von <i>L. sigmodontis</i> .....	10
2.2.2.4	Entwicklung von <i>L. sigmodontis</i> in der Vielzitzenmaus .....	11
2.2.2.5	Klinik der <i>L. sigmodontis</i> -Infektion .....	11
2.2.2.6	Pathogenese der <i>L. sigmodontis</i> -Infektion .....	12
2.2.3	Pathologie von Lunge und Pleura bei <i>L. sigmodontis</i> -Infektionen .....	14
2.2.3.1	Pathologie von Lunge und Pleura bei der <i>L. sigmodontis</i> -Infektion der Baumwollratte .....	14
2.2.3.2	Pathologie von Lunge und Pleura bei der <i>L. sigmodontis</i> -Infektion der weißen Ratte .....	15
2.2.3.3	Pathologie von Lunge und Pleura bei der <i>L. sigmodontis</i> -Infektion des Gerbil .....	15
2.2.3.4	Pathologie von Lunge und Pleura bei der <i>L. sigmodontis</i> -Infektion der Vielzitzenmaus .....	16
<b>2.3</b>	<b>Morphologie von Lunge und Pleura .....</b>	<b>19</b>
2.3.1	Allgemeines .....	19
2.3.2	Alveolarepithel .....	21
2.3.2.1	Alveolarepithelzelle Typ I .....	21
2.3.2.2	Alveolarepithelzelle Typ II .....	22
2.3.3	Surfactant .....	23
2.3.3.1	Aufbau und Metabolismus des Surfactant .....	23
2.3.3.2	Zusammensetzung des Surfactant .....	24
2.3.3.3	Funktion des Surfactant .....	25

2.3.4	Alveolarmakrophagen .....	26
2.3.5	Bronchien/Bronchioli .....	28
2.3.5.1	Zilientragende Zellen .....	28
2.3.5.2	Becherzellen .....	29
2.3.5.3	Clara-Zellen .....	29
2.3.6	Gefäße/Kapillaren .....	31
2.3.7	Lymphapparat .....	31
2.3.7.1	Lymphgefäße .....	31
2.3.7.2	Bronchus-assoziiertes lymphatisches Gewebe .....	32
2.3.8	Interstitium .....	32
2.3.9	Nerven .....	32
2.3.10	Pleura .....	33
<b>3</b>	<b>EIGENE UNTERSUCHUNGEN .....</b>	<b>34</b>
<b>3.1</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>34</b>
3.1.1	Versuchstiere, Zucht und Haltung .....	34
3.1.1.1	<i>Mastomys coucha</i> , Vielzitzenmaus .....	34
3.1.1.2	<i>Sigmodon hispidus</i> , Baumwollratte .....	34
3.1.1.3	<i>Litomosoides sigmodontis</i> .....	35
3.1.1.4	<i>Ornithonyssus (Bdellonyssus) bacoti</i> .....	35
3.1.2	Infektion der Zwischenwirte und der Endwirte .....	35
3.1.3	Versuchsgruppen .....	36
3.1.4	Blutentnahme .....	36
3.1.5	Mikrofilariämie (Mikrofilariendichte) .....	36
3.1.6	Tötung und Probenentnahme .....	37
3.1.7	Präparation für die Licht- und Elektronenmikroskopie .....	37
3.1.8	Auswertung .....	39
<b>3.2</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>41</b>
3.2.1	Höhe der Mikrofilariämie und Anzahl der Parasiten .....	41
3.2.2	Histomorphologische Untersuchung .....	43
3.2.2.1	Befunde des Parenchyms .....	45
3.2.2.2	Befunde der Gefäße .....	52
3.2.2.3	Befunde der Bronchioli .....	55

---

3.2.2.4	Befunde der Pleura .....	58
3.2.2.5	Abbildungen .....	64
3.2.3	Ultrastrukturelle Untersuchung .....	83
3.2.3.1	Abbildungen .....	88
<b>4</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>110</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>127</b>
<b>6</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>130</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>133</b>
<b>8</b>	<b>ANHANG .....</b>	<b>168</b>
<b>8.1</b>	<b>Bezugsquellen für Chemikalien .....</b>	<b>168</b>
<b>8.2</b>	<b>Lösungen .....</b>	<b>169</b>
<b>8.3</b>	<b>Abkürzungen .....</b>	<b>170</b>



# 1 EINLEITUNG

In tropischen und subtropischen Regionen der Erde gehören Filariosen zu den wichtigsten Erkrankungen des Menschen. Die größte Bedeutung kommt der lymphatischen Filariose zu, die durch Infektionen mit den Filarien *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* und *B. timori* hervorgerufen wird. Ungefähr 120 Mio. Menschen sind nach Angabe von KARAM u. OTTESEN (2000) an lymphatischer Filariose erkrankt. Ein Infektionsrisiko besteht für über eine Milliarde Menschen (MICHAEL et al., 1996).

Die Bedeutung der Filariosen erklärt sich aus ihrer großen ethischen Relevanz und den massiven sozialen und wirtschaftlichen Folgen.

Humanmedizinisch relevante Filarien besitzen eine hohe Wirtsspezifität und lassen sich daher nur schwer auf Versuchstiere übertragen. Aus diesem Grunde sind erst durch die Etablierung geeigneter Tiermodelle vornehmlich mit nagetierspezifischen Filarien Fortschritte in der Erforschung der Pathologie der Filariosen und Studien zur Wirksamkeitsüberprüfung von Chemotherapeutika möglich geworden (SCHACHER, 1973; LÄMMLER, 1977). Filariosen, die durch Infektionen mit *Litomosoides sigmodontis* (vormals *L. carinii*) ausgelöst werden, stellen die am weitesten verbreiteten Modellinfektionen für die Erforschung der lymphatischen Filariose dar (HAQUE u. CAPRON, 1986). Hierbei hat die Vielzitzenmaus (*Mastomys coucha*) eine besondere Bedeutung erlangt, da sie relativ einfach mit dieser Filarie zu infizieren ist und sich als weitaus günstiger in Zucht und Haltung erweist als deren originärer Wirt, die Baumwollratte *Sigmodon hispidus*.

ZIEGLER (1988) führte Untersuchungen zur Pathogenese der bei Filariosen auftretenden Anämie durch. Aus diesen Versuchen lag zu Beginn der vorliegenden Studie unausgewertetes Lungenmaterial vor. Die Pathologie der Lunge und der Pleura ist besonders interessant, da die adulten Filarien nach ihrer Lungenpassage in der Brusthöhle anzutreffen sind. Zu diesem Aspekt der Pathologie sind nur sehr wenige Angaben in der Literatur zu finden. Ultrastrukturelle Untersuchungen sind bislang noch nicht durchgeführt worden.

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es daher, durch licht- und transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen der Lunge einschließlich der Pleura diese Lücke zu schließen und weitere Hinweise auf die Pathogenese dieser experimentellen Filariose zu erhalten.

## 2 LITERATURÜBERSICHT

### 2.1 *Mastomys coucha*

Weltweit werden in Pest- (RANDERIA, 1978; WILLIAMS et al., 1982) und Lassa-Fieber-Forschung (RANDERIA, 1978), Onkologie (RANDERIA, 1978; SOGA, 1978; SOLLEVELD, 1979), Gerontologie (SOLLEVELD, 1981) sowie experimenteller Parasitologie (LÄMMLER et al., 1977; ZAHNER, 1985) Vielzitzenmäuse (Genus *Mastomys*) als Versuchstiere eingesetzt.

Der Name Vielzitzenmaus bezieht sich auf die 14 bis 18 Zitzen der *Mastomys*; die normale Farbmaus (Genus *Mus*) besitzt lediglich 12 oder weniger Zitzen (SOLLEVELD, 1981).

Die Verwendung der auch als „multimammate rat“ bezeichneten *M. coucha* (SMITH, 1834) für die Erforschung der Filariosen bietet sich an, da die Vielzitzenmaus für eine Vielzahl von Filarien empfänglich ist. Hierzu zählen *L. sigmodontis* (LÄMMLER et al., 1968; PRINGLE u. KING, 1968), *Acanthocheilonema vitae* (vormals *Dipetalonema vitae*) (SÄNGER u. LÄMMLER, 1979), *B. malayi* und *B. pahangi* (AHMED, 1967).

Die Ziele der Filarienforschung mit dem Modell *Mastomys* sind Entwicklung filarizider Substanzen (LÄMMLER et al., 1977; SÄNGER et al., 1981), Erkenntnisgewinn über immunologische Prozesse (ZAHNER et al., 1970a u. b; SCHÖNFELD, 1998) und nicht zuletzt Verständnis der Pathologie der Filariosen (PRINGLE, 1974; ZAHNER et al., 1987).

Die natürliche Verbreitung des Genus *Mastomys* erstreckt sich über weite Teile Afrikas. Chromosomenanalysen von Vielzitzenmäusen aus verschiedenen Regionen Afrikas zeigen, daß drei verschiedene Chromosomensätze ( $2N = 32$ ,  $2N = 36$ ,  $2N = 38$ ) vorkommen (MATTHEY, 1966). Die Form mit  $2N = 38$  wurde nach damals gültigen Kriterien der Taxonomie als eigene Spezies angesehen und *M. erythroleuceus* benannt (PETTER, 1957). Die beiden anderen Formen weisen keine morphologischen Unterscheidungskriterien auf, aber bei der elektrophoretischen Untersuchung ihres Hämoglobins kann ein jeweils charakteristisches Laufverhalten beobachtet werden (GREEN et al., 1978). Daraufhin ist die Form mit  $2N = 36$  *M. coucha* und die mit  $2N = 32$  *M. natalensis* genannt worden (GREEN et al., 1980). Diese Unterscheidung ist wichtig, da ein Unterschied zwischen diesen beiden Typen bezüglich der Empfänglichkeit für Pathogene besteht (ISAÄCSON et al., 1983).

Als Versuchstiere werden fast ausschließlich aus Südafrika stammende *Mastomys* verwendet (DAVIS u. OETTLE, 1958). Dies gilt auch für den Stamm Gießen „GRA“ (gelbes Fell, rote Augen), dessen Herkunft von LÄMMLER et al. (1977) dargelegt worden ist. Dieser Stamm

besitzt einen Chromosomensatz von  $2N = 36$  und ist damit als *M. coucha* zu bezeichnen (KRUPPA et al., 1990). Zu Zeiten früherer Untersuchungen haben diese Erkenntnisse noch nicht vorgelegen, so daß damals *M. coucha* noch als *M. natalensis* bezeichnet wurde.

## 2.2 Filariosen

### 2.2.1 Allgemeines

Infektionen mit Nematodenspezies der Superfamilie Filarioidea (WEINLAND, 1858) stellen für die Menschheit ein großes Problem dar, wobei *W. bancrofti*, *B. malayi*, *B. timori*, *Onchocerca volvulus*, *Loa loa*, *Mansonella ozzardi*, *M. perstans* (vormals *Dipetalonema perstans*) und *M. streptocerca* (vormals *D. streptocerca*) humanpathogen sind (MANSON-BAHR u. BELL, 1987).

Die wichtigste Filariose ist die durch eine Infektion mit *W. bancrofti*, *B. malayi* und *B. timori* ausgelöste lymphatische Filariose. Nach neueren Angaben von MICHAEL et al. (1996) und KARAM u. OTTESEN (2000) sind ungefähr 120 Mio. Menschen an lymphatischer Filariose erkrankt, wobei der Anteil an Infektionen mit *W. bancrofti* bei 106 Millionen liegt. Infektionen mit *B. malayi* machen 13 Millionen Fälle aus. Für über eine Milliarde Menschen besteht ein dauerndes Infektionsrisiko, und etwa drei Milliarden Menschen leben in den Gebieten, in denen die lymphatische Filariose auftritt (MICHAEL et al., 1996).

Bei der lymphatischen Filariose werden folgende Krankheitsbilder unterschieden (OTTESEN, 1984; VON LICHTENBERG, 1987; WHO, 1992):

Die asymptomatische mikrofilariämische Form, von der etwa 74 Mio. Menschen betroffen sind (OTTESEN u. RAMACHANDRAN, 1995), wird häufig in endemischen Gebieten in der Frühphase der Infektion beobachtet. Nach unter Umständen jahrelanger Existenz geht sie in der Regel über in die akute lymphatische Filariose. Diese ist durch Lymphangitis, Ödembildung und rezidivierendes Fieber gekennzeichnet. Allerdings sind die Patienten in der Regel amikrofilariämisch (OTTESEN, 1992). Später entwickelt sich aus dieser Form die chronische obstruktive lymphatische Filariose, bei der es zu einer Obstruktion der Lymphgefäße aufgrund von granulomatösen und proliferativen Entzündungsreaktionen kommt (VON LICHTENBERG, 1987; JUNGSMANN et al., 1992). Die dadurch bewirkte Zirkulationsstörung der Lymphe führt zusammen mit einer Bindegewebszubildung zur Elephantiasis der Gliedmaßen. Weiterhin sind Nebenbefunde wie Glomerulonephritiden und Endarteriitiden zu erheben. Pathologische Veränderungen des lymphatischen Systems als

Folgen einer Filariose finden sich nach Angabe von OTTESEN u. RAMACHANDRAN (1995) bei 43 Mio. Menschen.

Eine weitere amikrofilariämische Verlaufsform, die bei etwa 1 % der mit *W. bancrofti* oder *B. malayi* infizierten Menschen auftritt, wird als Tropische Pulmonale Eosinophilie (TPE) bezeichnet (OTTESEN, 1984 u. 1992; NUTMAN et al., 1989; OTTESEN u. RAMACHANDRAN, 1995). Im Gegensatz zu den anderen Verlaufsformen können sehr hohe Antikörpertiter gegen Filarien-spezifische Antigene in Serum (OTTESEN, 1984) und bronchoalveolärer Lavage (NUTMAN et al., 1989) festgestellt werden. Klinisch kennzeichnend sind asthmaähnliche oder andere allergische Symptome und eine Hypereosinophilie (VON LICHTENBERG, 1987). Histologisch läßt sich eine eosinophile Pneumonie feststellen (DANARAJ et al., 1966). In chronischen Fällen entwickelt sich eine Lungenfibrose (OTTESEN, 1984).

Die Pathogenese der einzelnen Krankheitsbilder ist letztlich noch nicht geklärt, doch spricht einiges neben einer genetischen Komponente (KING u. NUTMAN, 1991) für das Vorliegen von immunpathologischen Prozessen (OTTESEN et al., 1977; PIESENS et al., 1980; KING u. NUTMAN, 1991; OTTESEN, 1992). So wird eine asymptomatisch-amikrofilariämische Form postuliert, da in endemischen Gebieten ein Teil der Bevölkerung immunologisch deutlich auf Filarienantigene reagiert, ohne daß eine Mikrofilariämie oder klinische Symptome nachweisbar wären. Zu dieser Gruppe würden neben möglicherweise subklinisch infizierten auch immune Menschen gehören.

*O. volvulus*-Infektionen verursachen die Onchozerkose bzw. die sogenannte „Flußblindheit“, die durch Augenerkrankungen und Dermatitiden gekennzeichnet ist.

Der Parasit *Loa loa* wandert durch das subkutane Bindegewebe und durch die Konjunktiva. Bei der Wanderung kommt es zu meist schmerzlosen Schwellungen der Haut und Unterhaut, die als sogenannte „Calabar-Schwellung“ bezeichnet werden. Der Name stammt von Calabar, einem Ort in Nigeria mit hoher Loiasis-Inzidenz (MARTY u. ANDERSEN, 1995).

Infektionen des Menschen mit *Mansonella*-Species rufen keine oder nur geringgradige klinische Symptome hervor, bei denen es sich um Dermatitiden, Alterationen der Inguinallymphknoten und Gelenkschmerzen handeln kann (MARTY u. ANDERSEN, 1995).

**Tab. 1 Geographische Verteilung der wichtigsten humanpathogenen Filarien (WHO, 1992 modifiziert nach DAFA'ALLA, 1997)**

Parasit	geographische Verbreitung
<i>Wuchereria bancrofti</i>	Asien, Afrika, Südamerika, Pazifik-Inseln
<i>Brugia malayi</i>	Südostasien
<i>Brugia timori</i>	Südostasien
<i>Onchocerca volvulus</i>	Jemen, Afrika, Süd- und Mittelamerika
<i>Loa loa</i>	West- und Zentralafrika
<i>Mansonella ozzardi</i>	Südamerika, Karibik
<i>Mansonella perstans</i>	Afrika, Südamerika
<i>Mansonella streptocerca</i>	West- und Zentralafrika

Den Filariosen des Tieres kommt dagegen mit Ausnahme der Dirofilariose des Hundes meist eine geringe Bedeutung zu. Daher erfolgt hier nur eine tabellarische Zusammenfassung:

**Tab. 2 Übersicht über die wichtigsten pathogenen Filarien der Haussäugetiere (nach ROMMEL et al., 2000)**

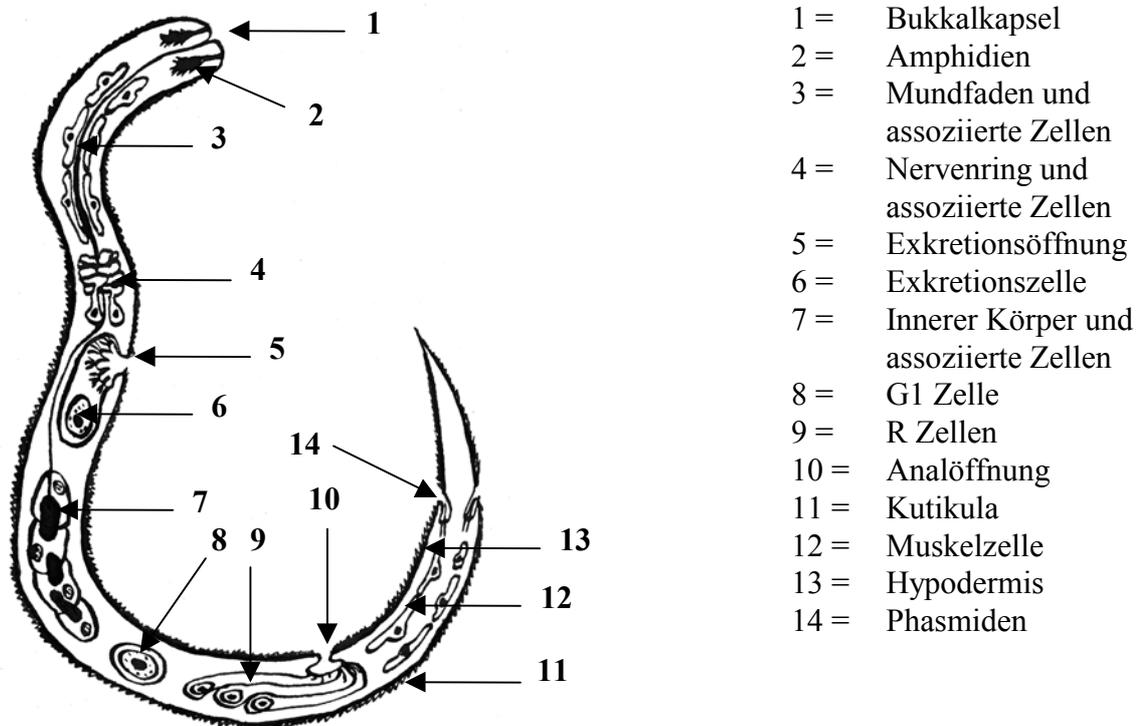
Parasit	Tierart	geographische Verbreitung	Erkrankung	Lokalisation pathologischer Veränderungen
<i>Parafilaria multipapillosa</i>	Pferd Esel Maultier	Süd-, Südwest- u. Osteuropa Nordafrika Südamerika Asien	Parafilariose; Sommerbluten	- Haut - subkutanes u. intermuskuläres Bindegewebe
<i>Setaria equina</i>	Pferd Esel Maulesel Maultier Dromedar	weltweit	Setariose	- Peritonealhöhle - Pleurahöhle - Gehirn - Rückenmark - Augen
<i>Onchocerca cervicalis</i>	Equiden	weltweit	Onchozerkose	- Nackenband - Haut - Augen
<i>Onchocerca reticulata</i>	Equiden	Ost- u. Südeuropa	Onchozerkose	- Gleichbeinbänder - Beugesehnen - Haut

Fortsetzung von Tab. 2:

<i>Stephanofilaria species</i>	Rind	Deutschland	Stephanofilariose; Sommerwunden	- Haut
<i>Stephanofilaria stilesi</i>	Rind	Rußland Nordamerika Australien	Stephanofilariose	- Haut
<i>Parafilaria bovicola</i>	Rind Büffel	Afrika Asien Südeuropa Schweden	Parafilariose	- Haut - Unterhaut - Muskulatur
<i>Setaria digitata</i>	Rind Büffel (Pferd, Schaf, Ziege)	weltweit	Setariose (Epizootische zerebrospinale Nematodose)	- Peritonealhöhle (- Gehirn, Rückenmark, Augen)
<i>Onchocerca gutturosa</i>	Rind (Pferd)	weltweit	Onchozerkose	- Nackenband - Tibiofemoral- u. - Tarsalbänder
<i>Onchocerca lienalis</i>	Rind	gemäßigtes u. subtropisches Klima	Onchozerkose	- Magen-Milz-Band
<i>Onchocerca gibsoni</i>	Rind	Nordamerika Asien Afrika Australien	Onchozerkose	- Unterhaut
<i>Onchocerca armillata</i>	Rind Ziege	Afrika Indien	Onchozerkose	- Aorta - arterielle Gefäße
<i>Dirofilaria immitis</i> *	Hund Katze Wildkar- nivoren (Pferd)	Mittelmeerländer Nord-, Mittel- u. Südamerika Afrika Südasien Japan Australien	Kardiovaskuläre Dirofilariose; Herzwurmkrankheit	- Herz - Pulmonalarterien
<i>Dirofilaria repens</i> *	Hund Katze Wildkar- nivoren	Südeuropa Afrika Rußland Indien Südostasien	Kutane Dirofilariose	- subkutanes Bindegewebe
<i>Brugia malayi</i> *	Hund Katze Affe	Süd- und Ostasien	Brugiose	- Lymphgefäße
<i>Brugia pahangi</i>	Hund Katze Affe	Südostasien	Brugiose	- Lymphgefäße

\* Erreger einer Zoonose

Der Entwicklungszyklus der Filarien wurde von WILLIAMS u. BROWN (1945 u. 1946) aufgedeckt: Im Endwirt, also im Mensch oder anderen Vertebraten, leben die adulten getrenntgeschlechtlichen Parasiten in den verschiedenen Körpergeweben. Die viviparen Weibchen setzen dort Larven 1 frei, die auch als Mikrofilarien bezeichnet werden. Die Mikrofilarien gelangen in das Blut oder anderes Gewebe des Endwirtes, um durch blutsaugende Arthropoden als Zwischenwirte und Vektoren aufgenommen zu werden. In diesen entwickeln sich die Mikrofilarien über zwei Häutungen zu infektiösen Larven 3, die bei einer erneuten Blutmahlzeit des Zwischenwirtes auf einen Endwirt übertragen werden. Nach zwei weiteren Häutungen werden die Filarien adult.



**Abb. 1:** Schematischer ultrastruktureller Aufbau einer Mikrofilarie  
 (modifiziert nach McLAREN, 1972)

### 2.2.2 *Litomosoides sigmodontis*

Bei *L. sigmodontis* handelt es sich um einen parasitär lebenden Nematoden der Superfamilie *Filaroidea*. Die am häufigsten als Modellinfektion verwendete und vormals als *L. carinii* bezeichnete Filarie ist 1989 aufgrund taxonomischer Erkenntnisse in *L. sigmodontis* umbenannt worden (BAIN et al., 1989). Ein Bestimmungsschlüssel zur Morphologie der Gattung *Litomosoides* findet sich bei FORRESTER u. KINSELLA (1973). Angaben zum licht- und elektronenmikroskopischen Aufbau der adulten weiblichen und männlichen *L. sigmodontis* machen FRANZ u. ANDREWS (1986a u. b). Eine Zusammenfassung der ultrastrukturellen Merkmale von *L. sigmodontis* liefert McLAREN (1972).

#### 2.2.2.1 Wirtsspektrum von *L. sigmodontis*

Die Erstbeschreibung von *L. sigmodontis* erfolgt 1919 durch TRAVASSOS als *Filaria carinii* bei der Gattung *Sciurus* in Sao Paulo, Brasilien. Der natürliche Wirt der Filarie ist die Baumwollratte *Sigmodon hispidus* (CHANDLER, 1931; CULBERTSON u. ROSE, 1944; SCOTT, 1946; WILLIAMS, 1948), deren natürliches Vorkommen auf die Südstaaten der USA und Mittelamerika beschränkt ist. Zu einem hohen Prozentsatz weist sie natürlicherweise eine Infektion mit *L. sigmodontis* auf. Nach VAZ (1934) finden sich natürliche Infektionen auch bei den Gattungen *Sciurus* und *Neotomys* in Brasilien, *Mus* in Venezuela und *Holochilus* in Argentinien. Die Übertragung von *L. sigmodontis* erfolgt über die tropische Rattenmilbe *Ornithonyssus (Bdellonyssus) bacoti* (WILLIAMS, 1948).

Da sich die Zucht und Haltung der Baumwollratte schwierig gestalten, sind experimentelle Übertragungsversuche auf andere Versuchstiere durchgeführt worden. Dabei können Albinoratten (WILLIAMS u. BROWN, 1946; BRIGGS, 1957; OLSON, 1959a u. b; SINGH u. RAGHAVAN, 1962), Laborratten (Piebaldratten) (HAWKING u. BURROUGHS, 1946) und Nilratten (*Arvicanthis niloticus*) (SCHÜTZE et al., 1970) mit *L. sigmodontis* infiziert werden. Auch eine Übertragung auf Feldmäuse (*Microtus arvalis*) (WENK u. HEIMBURGER, 1967; PETIT et al., 1992) und Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) (HAWKING u. BURROUGHS, 1946; WENK u. HEIMBURGER, 1967) ist erfolgreich. Als eingeschränkt empfänglich erweist sich *Mus musculus* und somit auch die Albinomaus (HAWKING u. BURROUGHS, 1946; WENK u. HEIMBURGER, 1967). Gerbils (*Meriones unguiculatus*) stellen gute experimentelle Endwirte dar (ZEIN-ELDIN, 1965; SCHNEIDER et al., 1968; THOMPSON et al., 1968), da sich bei ihnen eine längere Patenz als bei den oben genannten Versuchstieren nachweisen läßt.

Die Übertragungsversuche von LÄMMLER et al. (1968) und PRINGLE u. KING (1968) auf Vielzitzenmäuse (*M. coucha*) machten weitere Fortschritte in der Erforschung der Filariosen möglich, da ein adäquates Versuchstier für eine experimentelle *L. sigmodontis*-Infektion gefunden worden war.

#### 2.2.2.2 Entwicklung von *L. sigmodontis* in der Baumwollratte

Eine Zusammenfassung des Lebenszyklus von *L. sigmodontis* findet sich bei BERTRAM (1966): Die adulten *L. sigmodontis* halten sich im Normalfall in der Pleurahöhle der Baumwollratte auf (CHANDLER, 1931). Einige adulte Filarien sind auch im Herzbeutel anzutreffen. Bei einem massiven Wurmbefall der Pleurahöhle kommen auch in der Peritonealhöhle adulte Filarien vor. Die männlichen Filarien erreichen eine Länge von etwa 24 bis 28 mm bei einem maximalen Durchmesser von 130 bis 140 µm (CHANDLER, 1931). Die 50 bis 65 mm langen, im Durchmesser etwa 300 bis 325 µm großen viviparen Weibchen produzieren im Laufe ihres Lebens eine extrem große Anzahl bescheideter Mikrofilarien. Die Mikrofilarien gelangen in das Blut und werden dann von der blutsaugenden tropischen Rattenmilbe *Ornithonyssus (Bdellonyssus) bacoti* (HIRST, 1913) aufgenommen (WILLIAMS u. BROWN, 1945 u. 1946). Das Verbreitungsgebiet von *O. bacoti* erstreckt sich über weite Teile der USA, Kanadas, Südamerikas, Afrikas und Australiens (WILLIAMS, 1946). In der infizierten Milbe entwickeln sich die Mikrofilarien über zwei Häutungen in etwa zwei Wochen zur infektiösen metazyklischen Larve 3 mit einer Größe zwischen 0,5 und 0,95 mm (HUGHES, 1950; SCOTT et al., 1951; BERTRAM, 1966). Diese wird bei einer erneuten Blutmahlzeit auf den Endwirt übertragen. Aus der Bißstelle wandern die Larven über die Lymphbahnen, den venösen Teil des Blutkreislaufs und das rechte Herz in die Lunge, aus der sie letztlich in die Pleurahöhle austreten (WENK, 1967). Die im Endwirt erfolgende Häutung zur Larve 4 findet nach etwa acht Tagen in der Brusthöhle statt. Eine weitere Häutung zum präadulten Stadium wird 24 Tage p.i. ebenfalls in der Brusthöhle durchgeführt (SCOTT et al., 1951). Die adulte Filarie entsteht bis zu ca. 42 Tagen p.i. durch eine Ausdifferenzierung. Am 52. Tag p.i. erscheinen Mikrofilarien im Blut; damit ist dann die Phase der Präpatenz beendet und die Patenz eingetreten (SCOTT, 1946; HAWKING u. SEWELL, 1948; HAWKING, 1954; BERTRAM, 1966). Die Mikrofilariendichte steigt schnell an, wobei die Mikrofilariämie keine tageszeitabhängigen Schwankungen in der Höhe der Freisetzung aufweist (BELL u. BROWN, 1945). Der maximale Gehalt von Mikrofilarien inklusive des Zeitpunktes seines

Auftretens und auch die Dauer der Parasitämie variieren. Hierauf haben individualspezifische Eigenschaften und auch teilweise die Höhe der Infektionsdosis Einfluß (BERTRAM, 1966). Die adulten *L. sigmodontis* sind noch bis zu einem Jahr nach der Infektion und in seltenen Fällen auch deutlich länger in der Baumwollratte nachweisbar (BERTRAM, 1966). Abgestorbene adulte *L. sigmodontis* werden eingekapselt, wobei es zur Verkalkung kleinerer Abschnitte kommen kann. Die latente Form der *L. sigmodontis*-Infektion ist sehr selten bei der Baumwollratte und anderen Versuchstieren zu beobachten (JAQUET, 1980). Bei dieser Form zeigen die Endwirte eine Amikrofilariämie, obwohl adulte Filarien und auch Mikrofilarien in der Pleurahöhle nachweisbar sind (BAGAI u. SUBRAHMANYAM, 1970).

### 2.2.2.3 Experimentelle Übertragung von *L. sigmodontis*

Die experimentelle Infektion von Versuchstieren erfolgt meistens durch Saugenlassen infizierter Milben am Endwirt (BERTRAM et al., 1946; HAWKING u. BURROUGHS, 1946; WENK u. HEIMBURGER, 1967; LÄMMLER et al., 1968). Diese Methode besitzt den Vorteil, daß sie auch bei Verwendung für große Tierzahlen einfach und nicht zu arbeitsaufwendig ist. Allerdings weist sie den Nachteil auf, daß die Infektion nicht quantitativ zu steuern ist. So sind schon bald Versuche unternommen worden, eine standardisierte Infektion mit *L. sigmodontis* zu erzielen. Dafür sind frisch aus infizierten Milben gewonnene metazyklische Larven applizierbar (SCOTT, 1946). Bei einem späteren Vergleich mehrerer Vorgehensweisen zur gezielten Infektion hat sich die subkutane Injektion einer definierten Menge infektiöser Larven 3 als am günstigsten erwiesen (SCOTT u. MacDONALD, 1953).

Als einfache quantitative Methode zur Infektion mit *L. sigmodontis* bietet sich zudem folgende Vorgehensweise an: Aus natürlich infizierten Tieren werden am siebten Tag nach der Infektion die Larven 3 gewonnen und eine definierte Infektionsdosis davon anderen Versuchstieren intrathorakal injiziert (PETRANYI u. MIETH, 1972). Eine ähnliche Vorgehensweise verwenden AH und BURKE (1976) zur Infektion von Gerbils. Jedoch isolieren sie am 10. bzw. 30. Tag p.i. die Larven 4 aus infizierten Tieren, um diese dann anderen Versuchstieren intrathorakal oder intraperitoneal zu applizieren.

Bei Baumwollratten ist eine subkutane Injektion von nur fünf metazyklischen Larven ausreichend, um eine manifeste Infektion zu bewirken (KANADA u. TASAKA, 1966). Verschiedene parasitäre Entwicklungsstadien sind im Rahmen immunologischer Untersuchungen weißen Ratten und auch Baumwollratten übertragen worden. So weisen Larven, die weißen Ratten in die Bauchhöhle transferiert werden, im Vergleich zu Larven, die

unter gleichen Umständen Baumwollratten verabreicht werden, ein verzögertes Wachstum in der Frühphase ihrer weiteren Entwicklung auf. Am Ende der Entwicklung bestehen allerdings keine Unterschiede mehr in der Länge der Würmer (OLSEN et al., 1954). Nach subkutaner Infektion weißer Ratten erreichen nur 2 % der Larven die Brusthöhle, wohingegen es bei Baumwollratten 42 % sind. Bei der Übertragung nicht mehr wandernder Larven entwickeln sich diese weitgehend vergleichbar zu denen in Baumwollratten (OLSON, 1959a).

#### 2.2.2.4 Entwicklung von *L. sigmodontis* in der Vielzitzenmaus

Bei der Infektion der Vielzitzenmaus mit *L. sigmodontis* sind die adulten Filarien normalerweise in der Pleurahöhle lokalisiert (LÄMMLER et al., 1968). Aber auch hier kann es bei einem massiven Wurmbefall der Pleurahöhle zu einer Besiedelung des Herzbeutels und der Peritonealhöhle kommen (LÄMMLER et al., 1968).

Der Verlauf der Mikrofilariämie ist bei der Infektion der Vielzitzenmaus und der Baumwollratte ebenfalls vergleichbar. Mit Eintritt der Patenz um den 50. bis 52. Tag p.i. (LÄMMLER et al., 1968; PRINGLE u. KING, 1968) nimmt die Mikrofilariendichte im Blut rasch zu, um 120 bis 150 Tage p.i. ihr Maximum zu erreichen (ZAHNER et al., 1987). Die Dauer der Mikrofilariämie kann beträchtlich variieren, wobei eine positive Korrelation zur Befallsintensität besteht. Zum einen treten Fälle auf, bei denen schon 200 Tage p.i. keine Mikrofilariämie mehr nachweisbar ist, zum anderen gibt es Tiere, die noch 400 Tage p.i. mikrofilariämisch sind (ZAHNER et al., 1987). Die adulten Parasiten können nach LÄMMLER et al. (1968) sogar noch 500 Tage p.i. in der Vielzitzenmaus nachweisbar sein. Im allgemeinen sterben aber etwa 300 Tage p.i. die adulten Filarien ab.

#### 2.2.2.5 Klinik der *L. sigmodontis*-Infektion

Baumwollratten mit einer natürlichen *L. sigmodontis*-Infektion unbekannter Dauer zeigen bis auf eine palpierbare Milz, die bis auf das Zweieinhalbfache einer normalen Milz vergrößert sein kann, keine klinischen Symptome (WHARTON, 1947). Allerdings finden sich bei experimentell infizierten Baumwollratten in der Zeit zwischen 24 und 32 Tagen p.i. geringfügig vermehrt Todesfälle im Vergleich zu den Kontrolltieren (JAQUET, 1980). Die *L. sigmodontis*-Infektion hat bei der Vielzitzenmaus keinen Einfluß auf deren Entwicklung und Körpergewicht (PRINGLE, 1974). Mit dem Beginn der Patenz läßt sich speziell bei Tieren mit einer hohen Mikrofilariämie eine Anämie feststellen (GRÜNER et al., 1973), die von ZIEGLER (1988) als Dyserythropoese klassifiziert worden ist. Auch die infizierten

Vielzitzenmäuse weisen eine ab dem 70. Tag p.i. feststellbare Milzvergrößerung auf. In der Phase der hohen Parasitämie kann die Milz das 18 bis 28fache des Gewichtes einer unveränderten Milz erreichen (ZAHNER et al., 1987). Ebenso kommen vor allem bei stark infizierten Vielzitzenmäusen im Vergleich zu den Kontrolltieren vermehrt Todesfälle vor, die aber erst 60 bis 69 Tage p.i. eintreten (LÄMMLER et al., 1968).

#### 2.2.2.6 Pathogenese der *L. sigmodontis*-Infektion

Die Frage, wie der Wanderungsweg der Larven 3 von *L. sigmodontis* vom Ort der Übertragung auf den Endwirt, also der Bißstelle der Milbe *O. bacoti*, bis in die Brusthöhle als der Lokalisation der adulten Parasiten verläuft, war lange Zeit Anlaß für Spekulationen. So nimmt WAGNER (1956) an, daß die Larven hämatogen in den Thorax gelangen. Allerdings kommen nur etwa 50 % der Larven auch an ihrem Ziel an, denn etwa 50 % werden auf ihrem Wanderungsweg abgefangen (SCOTT u. MacDONALD, 1953). WENK stellt 1967 bei natürlichen Infektionen von Baumwollratten und Labormäusen fest, daß die Larven 3 in 24 Stunden von der Bißstelle der infizierten Milbe in die Lunge gelangen. Ihr Wanderungsweg führt über die Lymphspalten der Kutis in die regionären Lymphknoten. Von diesen gelangen sie in weitere Lymphknoten oder auch direkt über die Venen in das rechte Herz und von hier in die Lunge, um dann in die Pleurahöhle auszutreten (WENK, 1967). Die Besiedelung der Peritonealhöhle erklärt sich durch eine Einwanderung über den Ductus thoracicus (WENK, 1967).

Die dann in der Pleurahöhle produzierten und in großer Zahl in der Pleuraflüssigkeit enthaltenen bescheideten Mikrofilarien durchwandern die Pleura pulmonalis, um anschließend über Lunge und Herz in das periphere Blutgefäßsystem zu gelangen (WAGNER, 1956). Für diese Wanderung benötigen die Mikrofilarien in der Regel nur einen Tag und manchmal nur eine Stunde (KERSHAW, 1949). Die Persistenz der Mikrofilarien in der Zirkulation bewegt sich zwischen Tagen und Monaten (KERSHAW, 1949). Die mittlere Überlebenszeit von Mikrofilarien im peripheren Blut beträgt 14 Tage und im Kapillarsystem der Lunge nur zwei Tage, wobei die Mikrofilariämie in der Lunge fünf- bis zehnmals so groß ist. Dieses Phänomen erklärt sich aus der Tatsache, daß bei einem Gleichgewicht von Fekundität und Parasitämie nur eine von acht Mikrofilarien in das periphere Gefäßsystem übertritt, denn die anderen sieben werden im Kapillarsystem der Lunge abgefangen. Dabei werden große Mengen oberflächenspezifischer IgM-Antikörper gebunden (WENK, 1986). Möglicherweise dient die hohe Zahl von Mikrofilarien in der Lunge sowohl der spezifischen als auch der unspezifischen

Suppression der Immunantwort des Wirtes (WENK, 1986). Der bei einer *L. sigmodontis*-Infektion stark vergrößerten Milz kommt wahrscheinlich keine Bedeutung bei der Eliminierung von Mikrofilarien zu (HAWKING, 1962; AHMED, 1967; PRINGLE, 1974), denn bei splenektomierten Tieren ist kein oder zumindest nur ein sehr geringer Anstieg der Mikrofilariämie feststellbar (HAWKING, 1962).

Je mehr adulte Filarien in Pleura- oder Peritonealhöhle der Baumwollratte vorhanden sind, desto kürzer werden die weiblichen *L. sigmodontis* (BERTRAM, 1966). Dieses Phänomen tritt auch bei der *L. sigmodontis*-Infektion der Vielzitzenmaus auf (LÄMMLER et al., 1968). ZAHNER et al. (1987) liefern Hinweise dafür, daß durch *L. sigmodontis*-Infektion hervorgerufene Organveränderungen aufgrund von immunpathologischen Vorgängen entstehen.

## **2.2.3 Pathologie von Lunge und Pleura bei *L. sigmodontis*-Infektionen**

### **2.2.3.1 Pathologie von Lunge und Pleura bei der *L. sigmodontis*-Infektion der Baumwollratte**

Die ersten Beschreibungen der Pathologie von Lunge und Pleura bei mit *L. sigmodontis* infizierten Baumwollratten finden sich bei SCOTT u. CROSS (1945): Sie beobachten die Bildung von tumorähnlichen Massen im Bereich des Mediastinums, die in ihrem Zentrum zerstörte Würmer und Eier enthalten. In erster Linie fällt ihnen aber eine Entzündungsreaktion mit Bindegewebsproliferation und Ansammlung von neutrophilen Granulozyten, die zum Teil die vereinzelt vorkommenden Würmer zu phagozytieren scheinen, und nur wenigen eosinophilen Granulozyten auf. Fixierte und unfixierte Histozyten mit teilweise pleomorphen Kernen machen etwa 15 % der Zellpopulation aus, wobei vielkernige Riesenzellen nicht beobachtet werden (SCOTT u. CROSS, 1945). Hinweise auf ein tumoröses Geschehen im Bereich des Mediastinums können durch weitere Studien anderer Autoren nicht bestätigt werden. So untersucht WHARTON (1947) ebenfalls das Fettgewebe im Bereich des Mediastinums und interpretiert die Veränderungen als lymphoide Hyperplasie mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten und Plasmazellen.

Die Pleura weist nach WHARTON (1947) lokale oder auch generalisierte Proliferationen mit knötchenartigen Strukturen oder vielgestaltigen Auswüchsen auf, die ein fibröses Stroma mit nur wenigen Plasmazellen und ein flaches Mesothel besitzen. Die Papillen imponieren als ödematöse kugelige Strukturen mit einer Infiltration von Lymphozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten. Im späteren Stadium finden sich Plasmazellen und Fibrozyten als Entzündungszellinfiltrate. Die hyperplastischen Mesothelzellen im Bereich dieser knotigen Strukturen bilden einen mehrreihigen ödematisierten Verband, der ebenfalls von Entzündungszellen infiltriert wird (WHARTON, 1947).

Größere Bronchiolen erscheinen ödematisiert und enthalten viele eosinophile Granulozyten (WHARTON, 1947).

Angaben zur Pathologie experimenteller Infektionen von Baumwollratten sind aus zusätzlichen Publikationen zu entnehmen (TASAKA, 1965; SCHNEIDER et al., 1968; MOHAN, 1976).

### **2.2.3.2 Pathologie von Lunge und Pleura bei der *L. sigmodontis*-Infektion der weißen Ratte**

Mit *L. sigmodontis* infizierte weiße Ratten weisen in der Pleurahöhle einen erhöhten Gehalt von eosinophilen Granulozyten auf (OLSON, 1959b). MOHAN (1973) gewinnt ein spärliches zellreiches Pleuraexsudat, welches viele Mikrofilarien enthält, die sich zum Teil noch in den Eihüllen befinden und noch nicht gestreckt sind. Die den Hauptanteil der Zellen bildenden Mesothelzellen liegen oftmals als Aggregate vor, und die außerdem vorhandenen eosinophilen Granulozyten besitzen entweder Dough-nut-förmige oder, falls es sich um ältere Zellen handelte, gelappte Kerne (MOHAN, 1973). Spätere Untersuchungen von NELSON et al. (1976) bestätigen die Bildung eines Pleuraexsudates. Zudem kann ein Zellzahlanstieg in dem Exsudat bis zur Patenz festgestellt werden (NELSON et al., 1976). Dabei ist der Anstieg bei den Lymphozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten weniger deutlich als bei den Makrophagen, welche vergrößert erscheinen und ein granuliertes Zytoplasma besitzen (NELSON et al., 1976). Vereinzelt sind mitotisch aktive Makrophagen zu beobachten, und die Pleurahöhle weist einen erhöhten Mastzellgehalt auf (NELSON et al., 1976).

Zudem entwickeln sich bei weißen Ratten und Baumwollratten villöse Auswüchse der Pleura (MOHAN, 1973). Während der Patenz können Mikrofilarien sowohl intra- als auch extravaskulär und auch interzellulär angetroffen werden (MOHAN, 1973). Die Gewebereaktion besteht vor allem aus einer Zellinfiltration und -proliferation von eosinophilen Granulozyten, die zum Teil Anzeichen von Karyorrhesis aufweisen (MOHAN, 1973).

### **2.2.3.3 Pathologie von Lunge und Pleura bei der *L. sigmodontis*-Infektion des Gerbil**

SCHNEIDER et al. (1968) berichten, daß Gerbils ebenfalls eine Ödematisierung, Proliferation und Fibrose des Mesothels als Reaktion auf eine *L. sigmodontis*-Infektion zeigen. Zusätzlich sind subpleurale vor allem aus Lymphozyten bestehende Zellinfiltrate und auch peribronchiale Infiltrate und Ablagerungen von Hämosiderin zu beobachten (SCHNEIDER et al., 1968). Mikrofilarien kommen sowohl intravaskulär als auch parenchymal vor (SCHNEIDER et al., 1968).

#### 2.2.3.4 Pathologie von Lunge und Pleura bei der *L. sigmodontis*-Infektion der Vielzitzenmaus

Die ersten Befunde zur Pathologie der Pleura stammen von PRINGLE (1974). Die Hauptveränderung besteht danach in einer villösen Pleuritis mit einem vermehrten Auftreten von eosinophilen Granulozyten und einem leicht erhöhten Mastzellgehalt in der Pleurahöhle. WEINER u. SOULSBY (1976) beobachten Ablagerungen eines gelatinösen Materials um die Würmer, die der viszeralen Pleura anhaften. Desweiteren kommt es zur Bildung eines fibrösen Gewebes mit Infiltration von mononukleären Zellen, deren Hauptanteil aus Lymphozyten besteht.

Detaillierte Beschreibungen der histopathologischen Befunde liegen durch ZAHNER et al. (1987) vor. Die wesentlichen Befunde sollen im Folgenden dargestellt werden:

Bei experimentell infizierten Vielzitzenmäusen kann 24 Tage p.i. eine kubische Gestalt der Mesothelzellen festgestellt werden, deren Zytoplasma wolkig und vakuolisiert erscheint. Zum Ende der Präpatenz hin (42 Tage p.i.) ist das Mesothel generell mehrschichtig bei deutlich kubischer Zellform. Es liegt eine villöse Pleuritis mit stark vaskularisierten Zotten und überwiegender Infiltration von mononukleären Zellen und eosinophilen Granulozyten vor. Große Bereiche der Oberfläche weisen Auflagerungen auf, die aus Fibrin und einzelnen Zellen bestehen. In Arealen ohne fibrinöse Auflagerungen ist ein erhöhter Besatz von Mikrovilli zu beobachten, wobei es zu einer Zunahme der Anzahl und der Größe der Mikrovilli gekommen ist. Schon 90 Tage p.i. flachen die das noch immer mehrschichtige Pleuramesothel bildenden Zellen wieder ab. Zwischen dem 90. und dem 120. Tag p.i. enthält das lockere Zottenstroma nestartig angeordnete lymphozytäre, plasmazelluläre und wenige granulozytäre Infiltrate. Der Gehalt von Mastzellen nimmt, allerdings mit individuellen Schwankungen, bis 200 Tagen p.i. zu. Die Bildung von Zotten erstreckt sich 120 Tage p.i. über die gesamte Pleurafläche (ZAHNER, 1985). Die 150 Tage p.i immer noch vielschichtige Pleura weist deutlich abgeflachte Mesothelzellen auf. Die Mikrovilli erscheinen verkürzt und zahlenmäßig reduziert. Die 200 Tage p.i. nicht mehr so erhabenen Pleuraproliferationen enthalten Fibroblasten und Fibrozyten. Von diesem Untersuchungstermin an ist eine Verminderung der submesothelial oder im Zottenstroma gelegenen Mastzellen feststellbar. Pleurabereiche, die keine Auflagerungen erkennen lassen und deren Proliferationen auch nicht miteinander verklebt sind, besitzen einen im Vergleich zu 150 Tagen p.i. erhöhten Besatz von Mikrovilli. Die zum Zeitpunkt 500 Tage p.i. deutlich verkleinert erscheinenden zellarmen und

von Fasern durchsetzten Zotten zeigen 400 Tage p.i. einen oftmals schon wieder einschichtigen aus flachen Zellen bestehenden mesothelialen Überzug (ZAHNER, 1985). In der Zeit zwischen dem 42. und 250. Tag p.i. läßt sich eine intrazelluläre Hämosiderinspeicherung sowohl im submesothelialen Bereich als auch in den perivaskulären Infiltraten feststellen. Bereits 24 Tage p.i. finden sich submesothelial gelegene Makrophagenakkumulationen, und mit Eintritt der Patenz kommen auch Ansammlungen von Granulozyten im subpleuralen Bereich vor. An Schaumzellen erinnernde Zellen sammeln sich 90 Tage p.i. zwischen dem Mesothel und der submesothelialen Plasmazellschicht an (ZAHNER, 1985). Zwischen dem 90. und dem 120. Tag p.i. ändert sich die Art der an der subpleuralen Infiltration beteiligten Zellen, denn dann bestimmen mononukleäre Zellen das Bild. Zum Zeitpunkt 150 Tage p.i. hat sich der Plasmazellanteil an diesen Infiltraten dermaßen vergrößert, daß sich dicke mantelartige Schichten bilden. Die Einlagerung von kollagenen Fasern in den submesothelialen Bereich ist 200 Tage p.i. zu beobachten. Speziell einhergehend mit dem Absterben der adulten Filarien läßt sich im weiteren Infektionsverlauf eine Verringerung der submesothelialen, dann vor allem aus Makrophagen bestehenden Zellansammlungen feststellen. Der Anteil der Plasmazellen an dem subpleuralen Infiltrat ist zum Zeitpunkt 400 Tage p.i. zugunsten von polymorphkernigen Leukozyten deutlich verringert.

Das Lungenparenchym der mit *L. sigmodontis* infizierten Vielzitzenmäuse zeigt in der Phase der Präpatenz nur eine verstärkte Abschilferung von Alveolarepithelzellen (ZAHNER, 1985). In der Patenz finden sich 60 Tage p.i. erste auffällige histopathologische Befunde in Form einer vaskulären Stauung mit leicht erhöhtem Hämosideringehalt. Besonders bei Tieren mit hoher pulmonaler Mikrofilariämie treten schwere zum Teil fokale Ödeme auf, die schon zum Tag 90 p.i. deutlich reduziert erscheinen. Weiterhin sind herdförmige Emphyseme und Atelektasen zu beobachten. Die Bildung von Granulomen, die vor allem aus Makrophagen, neutrophilen Granulozyten aber auch Lymphozyten, Plasmazellen und nur gelegentlich aus eosinophilen Granulozyten bestehen, kann ab dem 90. Tag p.i. festgestellt werden (ZAHNER u. RUDOLPH, 1986). Außerdem finden sich ab diesem Zeitpunkt perivaskuläre Infiltrate, die zuerst aus mononukleären Zellen, später hauptsächlich aus Plasmazellen bestehen. Gleichartige Infiltrate lassen sich peribronchial nachweisen. Nach den Ergebnissen der Studie von BREITBACH (1986) sind bei Ratte, Maus, Meerschweinchen und Kaninchen nur die Wände der extrapulmonalen Luftwege von Knorpel gestützt und damit als Bronchien zu

bezeichnen. Folglich kommen intrapulmonal bei diesen Spezies und mit hoher Wahrscheinlichkeit auch bei der Vielzitzenmaus lediglich Bronchioli vor, so daß nachfolgend dieser Terminus verwendet wird. Die Anzahl im Parenchym gelegener einerseits überwiegend mononukleärer Infiltrate mit vielen Plasmazellen und andererseits hauptsächlich von neutrophilen Granulozyten gebildeten Granulome nimmt bis zum Tag 120 p.i. zu. Der Hämosideringehalt ist auch weiterhin noch leicht erhöht, allerdings lassen sich die Ödeme fast nicht mehr feststellen. Ansammlungen verschiedener Zellarten am Endothel der Blutgefäße sind besonders zwischen 120 und 150 Tagen p.i. zu beobachten, wobei sich teilweise noch die Mikrofilarien oder ihre Residuen in den Blutgefäßen erkennen lassen. Gefäße und Bronchioli sind 90 Tage p.i. von gemischt-mononukleären und 200 Tage p.i. hauptsächlich von plasmazellulären manschettenartigen Infiltraten mit nur geringem Anteil an - überwiegend eosinophilen - Granulozyten umgeben. Mit abnehmender Parasitämie weisen diese Infiltrate ebenfalls einen Rückgang auf, wobei sie jedoch deutlich über das bei den Kontrolltieren zu beobachtende Maß hinaus bis 400 Tagen p.i. erhalten bleiben. Die Proliferation der perivaskulär und peribronchiolär gelegenen Zellen ist bis zum Tag 200 p.i. so stark, daß sich dichte Zellagen entwickeln. Wenn an der Zellinfiltration Granulozyten beteiligt sind, handelt es sich dabei meist um eosinophile. Die Auflagerungen an den Gefäßendothelien vermindern sich in der Regel 250 Tage p.i. Die in das Interstitium eingewanderten teils nestartig angeordneten Plasmazellen persistieren bis 400 Tagen p.i. Die Zahl der peribronchiolär gelegenen Mastzellen weist im Gegensatz zu den Kontrolltieren erhebliche individuelle Schwankungen auf, wobei weder eine Korrelation zum Infektionsverlauf noch zur Höhe der Mikrofilariämie feststellbar ist.

## 2.3 Morphologie von Lunge und Pleura

### 2.3.1 Allgemeines

Die Lunge setzt sich nach WEIBEL (1973) aus drei funktionellen Untereinheiten zusammen:

1: „conducting zone“: Diese Zone bilden die Bronchien, Bronchioli, Arterien und Venen. Die Bronchien und Bronchioli leiten die eingeatmete Luft zu den tiefer gelegenen Atemwegen; die Lungenarterien und -venen sorgen für den Transport des Blutes durch das Kapillarsystem (BREEZE u. WHEELDON, 1977).

2: „respiratory zone“: Diese Zone ist aufgebaut aus den Alveolen und Kapillaren. Sie ermöglicht den engen Kontakt zwischen Luft und Blut, durch den es zum Gasaustausch kommt.

3: „intermediate oder transitory zone“: Diese Zone besteht hauptsächlich aus den Alveolargängen, wobei aber eine eindeutige Abgrenzung von den Alveolen nicht möglich ist. Sie bildet die Verbindung zwischen der „conducting“ und der „respiratory zone“.

Das Lungenparenchym im eigentlichen Sinne wird von der „intermediate“ und der „respiratory zone“ gebildet, wobei die Alveolen das Charakteristikum dieses Gewebes darstellen.

Die Lunge eines Menschen weist schätzungsweise 300 Millionen Alveolen auf. Die Alveolen befinden sich in kleinen Gruppen von 10 bis 16 Stück an den Wänden der Endstücke der sich immer weiter aufzweigenden Alveolargänge (WEIBEL, 1973).

Die aus den vier verschiedenen Zelltypen Epithelzellen, Endothelzellen, Interstitielle Zellen und Alveolarmakrophagen gebildeten Interalveolarwände werden durch Alveolarporen durchbrochen, die auch nach ihrem Entdecker KOHNSche Poren genannt werden. So entsteht eine Verbindung zwischen zwei benachbarten Alveolen (BERTALANFFY, 1964). Der Gasaustausch zwischen der Alveolarluft und dem Kapillarblut erfolgt über die etwa 0,2 bis 0,4  $\mu\text{m}$  dicke Blut-Luft-Schranke, die von Kapillarendothel, Zellausläufern der Alveolarepithelzellen Typ I und dazwischen liegender Basalmembran gebildet wird (LOW, 1952).

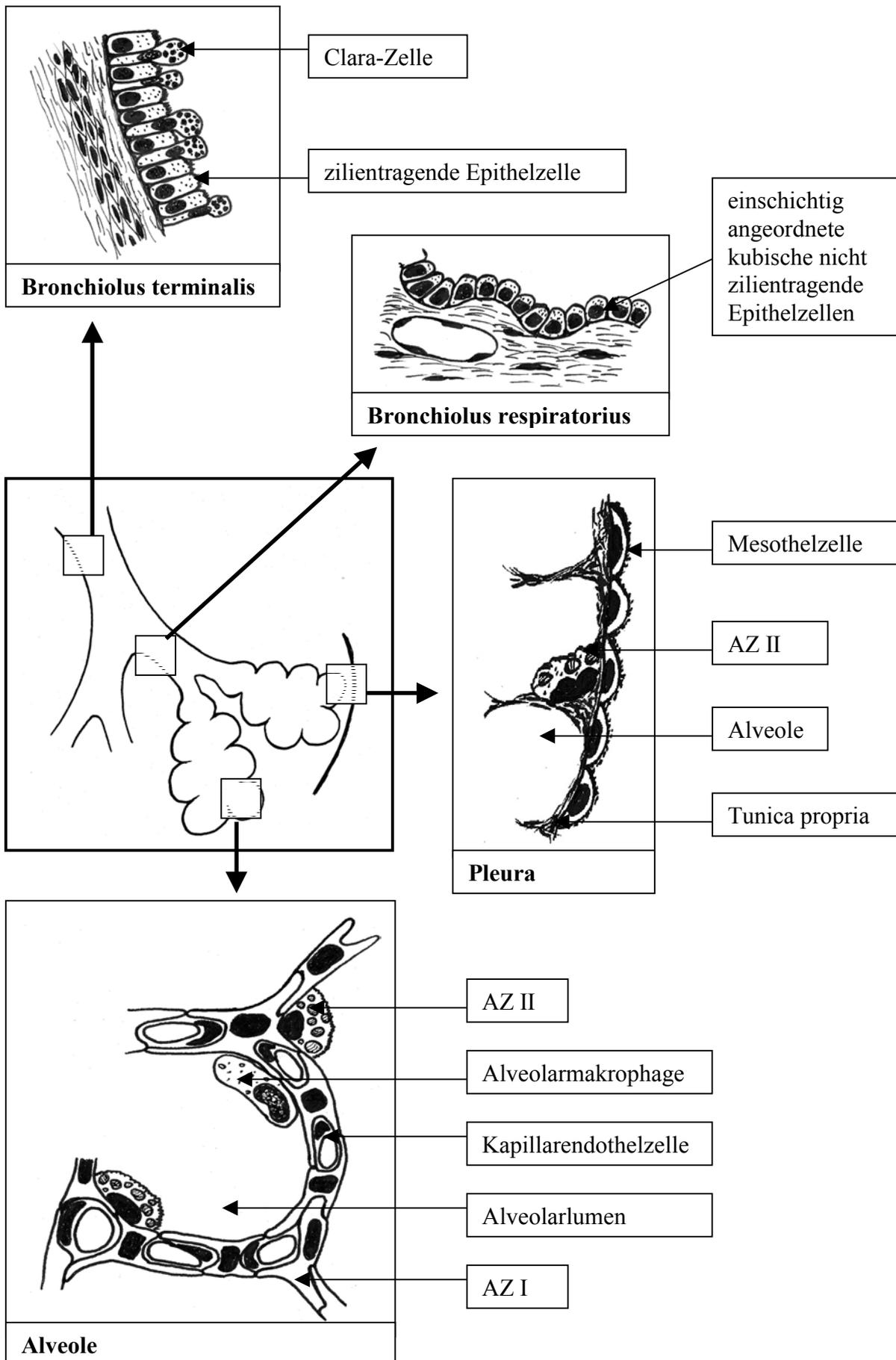


Abb. 2: Schema des Lungenaufbaus

### 2.3.2 Alveolarepithel

Das Alveolarepithel setzt sich zusammen aus den Alveolarepithelzellen Typ I (AZ I), die die Oberfläche bilden, und den Alveolarepithelzellen Typ II (AZ II), die sekretorische Funktionen besitzen. Diese beiden Zelltypen sind durch „tight junctions“ miteinander verbunden, so daß ein kontinuierliches Epithel entsteht (SCHNEEBERGER u. KARNOVSKY, 1976).

#### 2.3.2.1 Alveolarepithelzelle Typ I

Synonyme: Typ-I-Pneumozyt, squamöse oder membranöse Alveolarepithelzelle, Deckzelle, Cellula respiratoria s. squamosa, AEZ I, AZ I

Die AZ I sind sehr dünne langgestreckte komplex verzweigte Zellen, die etwa 97 % der Alveolaroberfläche bilden (MORGENROTH u. KISSLER, 1980). Allerdings besitzen sie nur etwa das doppelte Volumen wie die AZ II, und ihre Anzahl liegt sogar unter der der AZ II (GILLESPIE et al., 1964; TYLER et al., 1971; MORGENROTH u. KISSLER, 1980; SIMONESCU, 1980; CRAPO et al., 1982). Eine Typ-I-Zelle bildet etwa 4000  $\mu\text{m}^2$  Alveolaroberfläche, das ist fast viermal soviel wie die Fläche einer Kapillarendothelzelle. Dieses erfolgt durch die bis zu 50  $\mu\text{m}$  langen, 0,1 - 0,3  $\mu\text{m}$  dünnen zytoplasmatischen Zellausläufer (WEIBEL, 1973). Die nicht zur Mitose befähigten AZ I rekrutieren sich aus umgewandelten AZ II (HIRAI et al., 1983).

Ultrastrukturell weisen AZ I im perinukleären Zytoplasma ein nur geringfügig ausgebildetes rauhes endoplasmatisches Retikulum, wenige Mitochondrien sowie einzelne Lysosomen, Vakuolen und kleine Vesikel auf (GILLESPIE et al., 1964; WEIBEL, 1973; WILLIAMS, 1977). Die AZ I liegen an einer etwa 0,1 - 0,2  $\mu\text{m}$  breiten Basalmembran, die mit der Basalmembran des Kapillarendothels abschnittsweise fusioniert (GILLESPIE et al., 1964; SIMONESCU, 1980).

Zu den Funktionen der AZ I gehört die Bildung der Blut-Luft-Schranke. Diese auch als respiratorische Membran bezeichnete, 0,2 - 0,4  $\mu\text{m}$  dicke Schicht besteht aus den Fortsätzen der Endothelzellen und der AZ I und der mittig gelegenen Basalmembran (WEIBEL, 1973). Außerdem sind die AZ I bedeutsam für die mechanisch-statische Stabilität der Alveolen. Die bei induzierten Ödemen vermehrt in den dünnen Zytoplasmaausläufern enthaltenen Vesikel (SCHNEEBERGER, 1976; LAUWERYNS u. BAERT, 1977; GARDINER, 1978) sprechen für eine Beteiligung am transepithelialen Transport von hochmolekularen Substanzen über Pinozytosevesikel (GAIL u. LENFANT, 1983).

### 2.3.2.2 Alveolarepithelzelle Typ II

Synonyme: Typ-II-Pneumozyt, granuläre Alveolarepithelzelle, Nischenzelle, Septalzelle, Cellula magna s. granularis, AEZ II, AZ II

Die AZ II sind kubische Zellen, die häufig in den von den Kapillaren im Interstitium gebildeten Nischen der Alveolarwand anzutreffen sind (MORGENROTH u. KISSLER, 1980). Dieser Tatsache verdanken sie auch einen weiteren Namen: Nischenzellen. Die AZ II bilden nur 3 % der Alveolaroberfläche, obwohl sie mit einem Anteil zwischen 12 und 16 % an der Gesamtzellzahl der Lunge zahlreicher sind als die AZ I (HAIES et al., 1981; CRAPO et al., 1982; KAUP u. DROMMER, 1985).

Die AZ II weisen einen dem Alveolarlumen zugewendeten Mikrovillisaum auf. Die im Durchmesser 0,1 µm großen Mikrovilli (FORREST, 1979) enthalten Aktin-Filamente. Die AZ II sind reich an Zellorganellen. So besitzt das Zytoplasma zahlreiche Mitochondrien und Multivesikularkörperchen sowie viel rauhes endoplasmatisches Retikulum und ein gut entwickeltes perinukleär lokalisiertes Golgifeld (WEIBEL, 1973; FORREST, 1979; KAUP, 1982; GRONIOWSKI, 1983). Die charakteristischen intrazytoplasmatischen Strukturen stellen jedoch die 0,5 - 1 µm großen rundlichen bis ovalen osmiophilen Einschlußkörperchen dar. Diese werden aufgrund ihrer dicht geschichteten oder konzentrisch angeordneten osmiophilen Lamellen als Lamellarkörperchen (lamellar bodies) bezeichnet (FORREST, 1979; KAUP, 1982; GRONIOWSKI, 1983). Ihre Begrenzung bildet eine einfache Membran (MORGENROTH u. KISSLER, 1980). Die Lamellarkörperchen nehmen 18 - 24 % des Zytoplasmas ein (MASSARO u. MASSARO, 1975). Allerdings scheint die Anzahl der Lamellarkörperchen je nach Spezies zu schwanken, denn bei Pferden wurden bis zu acht Lamellarkörperchen pro AZ II gezählt (GILLESPIE u. TYLER, 1967a u. b), wohingegen bei Ratten 150 plus minus 30 lamellar bodies pro Zelle enthalten sind (YOUNG et al., 1981).

Es ist bekannt, daß die AZ II mitotisch aktiv sind. Angenommen wird, daß die AZ I von ihnen gebildet werden, denn nach Verletzungen der Alveolaroberfläche ist eine Proliferation der Typ-II-Zellen zu beobachten (MASON u. WILLIAMS, 1977; GAIL u. LENFANT, 1983; HIRAI et al., 1983). Auch lassen sich bei einem Absterben von AZ I bei den AZ II vermehrt Mitosen feststellen (BOWDEN, 1981).

Die Hauptaufgabe der AZ II besteht in der Produktion und Sekretion der Komponenten oberflächenaktiver Substanzen, des sogenannten „Surfactant“ (WRIGHT u. DOBBS, 1991). Im endoplasmatischen Retikulum werden die Bestandteile des Surfactant gebildet (CHEVALLIER u. COLLET, 1972; MASON, 1987). Danach erfolgt der Transport durch den

Golgiapparat in die Lamellarkörperchen. Es liegen allerdings auch Untersuchungsergebnisse vor, nach denen die Sekretion unter Umgehung des Golgiapparates direkt vom endoplasmatischen Retikulum in die lamellar bodies erfolgen kann (SHIMURA et al., 1984). Diese stellen damit die intrazelluläre Speicherform der oberflächenaktiven Substanzen dar, die an die Zelloberfläche wandern. Von dort werden sie wahrscheinlich unter Beteiligung der Mikrovilli im Rahmen eines Emiozytosevorganges als Exozytosevakuolen in das Alveolarlumen hinausgeschleust (GOERKE, 1974).

Den AZ II kommt auch eine große Bedeutung bei der Clearance des Surfactant zu. Weiterhin scheinen sie durch die Sekretion einer Reihe von Proteinen in die Immunabwehr involviert zu sein (SHERMAN u. GANZ, 1992; ROONEY et al., 1994). Es liegen Anhaltspunkte darauf vor, daß sie an der Synthese kollagener Proteine beteiligt sind (CROUCH et al., 1987). Außerdem sind sie wichtig für die Resorption von Flüssigkeit und Elektrolyten aus der Hypophase mit Abgabe in das Interstitium (MASON et al., 1982). Möglicherweise kommt den AZ II Bedeutung im Rahmen von Metabolisierung und Entgiftung von Fremdmaterial zu (DEVEREUX u. FOUTS, 1981; DEVEREUX et al., 1981 u. 1982). Sie scheinen wichtig zu sein für die Anpassung an einen unterschiedlichen Sauerstoffgehalt (FORMAN u. FISCHER, 1981). Auch wird diskutiert, daß sie die Hypophase des oberflächenaktiven Films modulieren (MASON u. WILLIAMS, 1977; MASON et al., 1977).

### **2.3.3 Surfactant**

#### **2.3.3.1 Aufbau und Metabolismus des Surfactant**

Der Surfactantfilm setzt sich aus zwei Anteilen zusammen. Einerseits besteht er aus einem zum Lumen der Alveolen hin einheitlich osmiophilen ca. 4,2 µm breiten partikelfreien Film, der als Epiphase bezeichnet wird. Andererseits wird er von der darunter befindlichen heterogenen Hypophase gebildet, die Vesikel, Lamellen und tubuläres Myelin enthalten kann (WEIBEL, 1973; MANABE, 1979). Der nichtpolare Teil der Surfactant-Substanz liegt lumenseitig, wohingegen der polare Anteil zur Hypophase hin ausgerichtet ist.

Das von den AZ II synthetisierte Surfactant breitet sich nach seiner Sekretion aus den Lamellarkörperchen über netzartige Formen, die sich als „tubuläres Myelin“ elektronenmikroskopisch darstellen, über die Alveolaroberfläche aus. Die Auftrennung der Lipid- und Proteinkomponenten findet bei der Formierung des Monolayers statt (GOERKE, 1974; KAUP, 1982; ROONEY et al., 1994). Somit liegt das Surfactant in zwei Speichern vor,

nämlich dem intrazellulären Pool der zytoplasmatischen Lamellarkörperchen der AZ II und dem extrazellulären Pool des bereits aus den AZ II in die Alveolen sezernierten Surfactant.

Um das auf Dauer relativ konstante Verhältnis der beiden Pools (DETHLOFF et al., 1986) zueinander zu gewährleisten, müssen die Exozytose- und Endozytosevorgänge in den Alveolarepithelzellen koordiniert ablaufen (WRIGHT u. DOBBS, 1991), wobei die Regulation über eine Vielzahl von Mechanismen erfolgt.

Der Hauptabfluß des Surfactant aus dem extrazellulären Pool erfolgt durch die Aufnahme in die AZ II. Hier laufen dann sowohl das Recycling zu neuem Surfactant als auch der Abbau weiterer Bestandteile ab (JACOBS et al., 1984; ROONEY et al., 1994). Ein geringer Teil des Surfactant wird von Makrophagen phagozytiert oder über die Luftwege mit Unterstützung durch den mukoziliären Apparat ausgeschieden (HOCKING u. GOLDE, 1979b; KISSLER, 1980; WRIGHT u. DOBBS, 1991).

### **2.3.3.2 Zusammensetzung des Surfactant**

Nach neueren Untersuchungen entstehen durch die normale Lungenfunktion unterschiedliche Subfraktionen des Surfactant, die mittels verschiedenartiger Zentrifugation gewonnen werden können. Diese Subfraktionen unterscheiden sich durch ihre Struktur, ihre Funktion und ihren Proteingehalt, jedoch sind in ihren Phospholipidmustern nur geringe Unterschiede feststellbar. Die erste Subfraktion scheint aus frisch sezerniertem Surfactant, die zweite aus dem Surfactantmonolayer und frisch sezerniertem Surfactant und die dritte Fraktion aus altem abzutransportierenden Surfactant zu bestehen (GUTHMANN et al., 1995).

Den Hauptanteil an der Zusammensetzung des Surfactant bilden die Lipide mit 90 % (CLEMENTS, 1970; KING, 1974), bei denen es sich zu 80 bis 90 % um Phospholipide handelt (TOSHIMA u. AKINO, 1972; HARWOOD et al., 1975). Hieran machen die Phosphatidylcholine etwa 50 - 70 % aus (GOERKE, 1974; TANAKA u. TAKEI, 1983). Den größten Anteil an letzteren besitzt das Dipalmitodylcholin mit ca. 30 % (KING u. CLEMENTS, 1972; GOERKE, 1974; KIKKAWA et al., 1975; HALLMAN u. GLUCK, 1976; TANAKA u. TAKEI, 1983; ROONEY et al., 1994), welches im Zusammenhang mit spezifischen Proteinen die Herabsetzung der Oberflächenspannung bewirkt (GUTHMANN et al., 1995).

Als weitere Bestandteile des Surfactant kommen die sauren Phospholipide Phosphatidylglyzerol, Phosphatidylserin und Phosphatidylinositol sowie die neutralen Phospholipide Phosphatidylethanolamin, Sphingomyelin und Lysolecithin vor.

Die ebenfalls enthaltenen Plasmalogene, die von den AZ II sezerniert werden (GUTHMANN et al., 1995), fungieren zusammen mit Vitamin E als Radikalfänger, um die Peroxidation der Surfactantlipide zu begrenzen.

Etwa 10 % des Surfactant bestehen aus Proteinen, von denen die Hälfte von den spezifischen Serumproteinen SP-A, SP-B, SP-C und SP-D gebildet wird. Ihre Funktion scheint in der Unterstützung der Phospholipidwirkung zu liegen (POSSMAYER, 1988; HOOK, 1991; WRIGHT u. DOBBS, 1991; ROONEY et al., 1994). Hauptsächlich in der Hypophase können verschiedene Serumproteine wie IgG und Albumin nachgewiesen werden (KAUP u. DROMMER, 1985).

Der Surfactantfilm enthält außerdem neben Enzymen wie Hydrolasen, Proteasen und alkalische und saure Phosphatase auch organspezifische Apoproteine (GIKAS et al., 1977; BENSON, 1980; WILLIAMS u. BENSON, 1981; BOUDREAU et al., 1983), Mukopolysaccharide und Ascorbinsäure (SKOZA et al., 1983).

### 2.3.3.3 Funktion des Surfactant

Die Funktion des Surfactant beruht auf seiner antiatelektatischen Wirkung (KRISTIC, 1991) in Form einer Herabsetzung der Oberflächenspannung an der Grenze zwischen Alveolarwand und Luft. Dadurch werden bei der expiratorischen Verkleinerung der Alveolarlumina ein Kollaps der Alveolen verhindert und zusätzlich Atemarbeit gespart. Schon lange vor der Erstbeschreibung einer solchen oberflächenaktiven Substanz ist von VON NEERGARD (1929) aufgrund seiner Erkenntnisse über die Atemmechanik ihre Notwendigkeit erkannt worden.

Eine zusätzliche Bedeutung der Verminderung der Oberflächenkräfte liegt darin, daß hierdurch eine Steuerung des interstitiellen Flüssigkeitsstromes möglich ist und einer Ödembildung vorgebeugt wird (GUYTON u. MOFFAT, 1981). Vermutlich ist das Surfactantsystem auch bedeutsam für den Gasaustausch (STANASZEK et al., 1976) und die Gleitfähigkeit des Bronchialmukus (LACHMANN, 1985). Weiterhin scheint das Surfactant über zwei Mechanismen an der unspezifischen Abwehr beteiligt zu sein. So versteht ROBERTSON (1980) unter dem „surface flux“ das Bestreben des Oberflächenfilms, sich bei jeder Expiration, wenn die endexpiratorische Alveolaroberflächenspannung nahe Null ist,

gegen die Bronchiolen hin auszubreiten. Dadurch wird der Abtransport aller inhalierten und oberflächenadhärent abgelagerten Fremdpartikel zu den Bronchioli und von dort über das mukoziliäre Transportsystem zum Pharynx ermöglicht. Der zweite Mechanismus beruht auf einer Beeinflussung der Alveolarmakrophagen über das sogenannte „precoating“ von Bakterien, denn anscheinend sind diese nur beim Vorhandensein von normalem Surfactant in der Lage, phagozytierte Bakterien abzutöten (ROBERTSON, 1980; SHERMAN u. GLANZ, 1992).

### 2.3.4 Alveolarmakrophagen

Synonyme: Alveolarphagozyten, Körnerzellen, Staubzellen

Bei den pulmonalen Alveolarmakrophagen (AM) handelt es sich um aus dem Knochenmark ausgewanderte Monozyten, die dem MPS angehören (BLUSSE VAN OUD ALBLAS u. VAN FURTH, 1979). Die von BLUSSE VAN OUD ALBLAS u. VAN FURTH (1979) durchgeführten Marker-Untersuchungen lassen vermuten, daß sich zumindest partiell die Population der AM durch Zuwanderung von Monozyten über das Blut erhält. Der größte Teil scheint sich jedoch durch Teilung von AM zu regenerieren (SHELLITO et al., 1987).

Lichtmikroskopisch stellen sich die AM als große runde oder ovale Zellen mit einem Durchmesser zwischen 15 und 50 µm dar, wobei der oftmals exzentrisch liegende polymorphe Kern einen prominenten Nukleolus besitzt. Die Kern-Plasma-Relation beträgt etwa 1 zu 3 (BOWDEN, 1971; KLIKA et al., 1975; HOCKING u. GOLDE, 1979a u. b; RICHARDS et al., 1980).

Das granula- und vakuolenreiche Zytoplasma weist auf ultrastruktureller Ebene zahlreiche Mitochondrien und teils große Lysosomen und Phagolysosomen auf (HOCKING u. GOLDE, 1979a). Daneben kommen freie Ribosomen sowie glattes und rauhes endoplasmatisches Retikulum vor, deren Mengen vom Aktivierungszustand der Zelle abhängen (SOROKIN, 1988). Im juxt nukleären Bereich befindet sich ein gut ausgebildeter Golgiapparat mit zahlreichen kleinen Vesikeln (FELS u. COHN, 1986). Besonders interessant ist jedoch die Vielzahl an intrazytoplasmatischen membranbegrenzten und mit osmiophilen Lamellen angefüllten Einschlüssen, die überwiegend aus Phospholipiden bestehen. Hierbei handelt es sich um sekundäre Lysosomen bzw. Residualkörper (BOWDEN, 1971; WEIBEL, 1973; HOCKING u. GOLDE, 1979a; MORGENROTH u. KISSLER, 1980). Die amöboide Beweglichkeit dieser Zellen beruht auf der Ausbildung von Pseudopodien. Diese

Zytoplasmaausläufer sind frei von Organellen, enthalten aber feine Filamente sowie granuliertes Material.

Durch die größere rundere Gestalt, die Vielzahl an Mitochondrien und das bei nicht aktivierten Zellen gering ausgebildete rauhe endoplasmatische Retikulum lassen sich die AM von anderen Gewebsmakrophagen unterscheiden (BOWDEN, 1971; MANN et al., 1971; KLIKA et al., 1975).

Die zentrale Funktion der AM besteht in der unspezifischen aber auch in der spezifischen Abwehr. So bilden sie aufgrund ihrer bakteriziden und phagozytierenden Eigenschaften die Hauptstütze der pulmonalen Abwehr (FELS u. COHN, 1986). Ihre Fähigkeit zur Phagozytose ist entscheidend für die Entgiftung bzw. Entfernung von belebtem oder unbelebtem Fremdmaterial aus den Alveolarlumina und den Alveolarsepten, aber auch bedeutsam für physikalische Transportvorgänge (COHEN u. GOLD, 1975; GREEN et al., 1977). Außerdem sind die AM im Dienste der zellvermittelten Immunität tätig, indem sie als Effektorzellen dienen und in Wechselwirkungen zu anderen Zellen des Immunsystems stehen. Insbesondere präsentieren sie hierbei den Lymphozyten Antigene (LUSSIER et al., 1978). Dazu besitzen sie regulierende Wirkung auf die Immunantwort (HOLT u. BATTY, 1980). Außerdem induzieren sie die Produktion von Faktoren, die eine vermehrte Bildung von Granulozyten und Monozyten im Knochenmark stimulieren und die Einwanderung dieser Zellen in die Lunge bewirken. Zudem sezernieren sie Proteasen, Antiproteasen, Lysozym, Prostaglandin und Fibronectin (GORDON, 1977; COHEN, 1979; HSUEH u. KUHN III, 1979; VILLIGER et al., 1981). Nicht zuletzt spielen sie eine Rolle beim Metabolismus des Surfactant (HOCKING u. GOLDE, 1979b; REASOR, 1981; SHERMAN u. GANZ, 1992; ROONEY et al., 1994). Zusätzlich stimulieren die AM durch die Synthese wachstumsfördernder Stoffe die Fibroblastenaktivität, wobei zwischen dieser und der Phagozytoseaktivität der AM ein proportionales Verhältnis besteht (BOWDEN, 1987).

Der größte Anteil der AM wird über die Luftwege in den Digestionstrakt abtransportiert (SPRITZER et al., 1968). Es scheinen aber auch Abwanderungen über die Lymphwege oder in das Interstitium vorzukommen (WEIBEL, 1973; GREEN et al., 1977).

### 2.3.5 Bronchien/Bronchioli

Synonyme: Bronchi/Bronchuli

Die Schleimhaut im Bereich der Bronchien besteht aus einem mehrreihigen hochprismatischen Epithel, das einer Basalmembran aufliegt, sowie der darunter befindlichen Lamina propria. Insgesamt sind an der Bildung des Epithels 13 verschiedene Zelltypen bei den einzelnen Tierspezies beschrieben worden (BREEZE u. WHEELDON, 1977). Aber nicht jeder Zelltyp kommt bei allen Tierarten vor. Weiterhin sind Unterschiede zwischen den einzelnen Abschnitten des Bronchialbaumes feststellbar. Den Hauptanteil an den Epithelzellen bilden die zilientragenden Zellen, Becherzellen und Clara-Zellen (BREEZE u. WHEELDON, 1977; GAIL u. LENFANT, 1983), daher soll auch nur auf sie an dieser Stelle näher eingegangen werden.

#### 2.3.5.1 Zilientragende Zellen

Die zilientragenden Zellen kommen überwiegend in der Trachea vor und nehmen nach distal hin ab (MOSIMANN u. KOHLER, 1990). Diese annähernd zylindrischen Zellen sind etwa 20 µm hoch und apikal 7 und basal 2 µm breit (FRASCA et al., 1968; PAVELKA et al., 1976; BREEZE u. WHEELDON, 1977). Eine Zelle trägt etwa 250 Zilien, die ungefähr einen Durchmesser von 0,3 µm bei einer Länge von 6 µm besitzen (FRASCA et al., 1968). Die Struktur der Zilien mit Basalkörperchen und „Rootlets“ gleicht der anderer zilientragender Zellen (BREEZE u. WHEELDON, 1977). Zwischen den Zilien befinden sich kürzere und schmalere Mikrovilli, die etwa 2 µm lang sind und einen Durchmesser von 0,1 µm besitzen (MARIN et al., 1979; DALEN, 1983). Besonders zahlreich sind die Mikrovilli bei unreifen Flimmerzellen, die sich noch in der Ziliogenese befinden (BREEZE u. WHEELDON, 1977). Unter den Basalkörperchen der Zilien sind viele sehr große Mitochondrien lokalisiert. Zudem besteht dort ein gut ausgebildeter Golgiapparat (PAVELKA et al., 1976; BREEZE u. WHEELDON, 1977). Die Golgizone, die Lamellen, dilatierte Zisternen und Vesikel besitzt, und die ausgeprägte Verzweigungen aufweisenden Mitochondrien nehmen oftmals das gesamte supranukleäre Feld ein (FRASCA et al., 1968). Weiterhin finden sich viele Vesikel und Mikrotubuli zwischen den Basalkörpern und wenig unter diesen im Zytoplasma (PAVELKA et al., 1976). Der basale Zellanteil enthält das rauhe endoplasmatische Retikulum, freie Ribosomen, Multivesikularkörperchen sowie vereinzelt Lysosomen und Glykogenablagerungen (BREEZE u. WHEELDON, 1977). Die ovoiden Zellkerne sind im mittleren bis basalen Zelldrittel lokalisiert (PAVELKA et al., 1976). Die Interzellularkontakte

erfolgen im apikalen Seitenbereich der Zellen über „tight junctions“ und im basalen Bereich über Desmosomen (FRASCA et al., 1968; MARIN et al., 1979).

Die Funktion der zilientragenden Zellen besteht im Transport des über der Zilienoberfläche liegenden Schleimes in Richtung Larynx (SLEIGH, 1981). Die Fortbewegung des Schleimes erfolgt durch die in zwei Phasen zu unterteilende Bewegung der Zilien. Beim Menschen liegt die Schlagfrequenz der Zilien bei 10 bis 15 Zyklen pro Minute (AFZELIUS u. MOSSBERG, 1980; YAGER et al., 1980).

### 2.3.5.2 Becherzellen

Synonyme: Goblet cell, mucous cell, small granular mucous cell

Die Becherzellen kommen am häufigsten im Bereich der Bronchien vor. Ihre Anzahl nimmt in Richtung Bronchioli ab, allerdings kommen sie im Übergangsbereich Bronchus-Bronchiolus zusammen mit Clara-Zellen vor. Im Bronchiolus terminalis sind im allgemeinen keine Becherzellen mehr nachweisbar (MOSIMANN u. KOHLER, 1990).

Die Becherzellen enthalten vor allem im apikalen Bereich mehrere muköse Granula und Ribosomen (BREEZE u. WHEELDON, 1977). Die Granula weisen eine unterschiedliche Größe auf und können auch in der Zelle zu größeren Granula fusionieren. Bei den Granula handelt es sich auf ultrastruktureller Ebene um feinflockiges Material, welches von einer „unit membrane“ umgeben ist (FRASCA et al., 1968; BASKERVILLE, 1979). Außerdem besitzen die Becherzellen supranukleär einen ausgeprägten Golgiapparat und ein gut entwickeltes rauhes endoplasmatisches Retikulum. Dagegen sind Mitochondrien nur spärlich vorhanden.

Die Becherzellen sezernieren den mukösen Anteil der Schleimschicht. Die gebildeten Sekretgranula gelangen an die apikale Zelloberfläche. Anschließend löst sich die Zellmembran bei diesem Prozeß auf, so daß der Schleim in das Bronchiallumen abgegeben werden kann. Damit erfolgt die Sekretion nach dem apokrinen Typ (FREEMAN, 1962).

### 2.3.5.3 Clara-Zellen

Die Clara-Zellen machen den Hauptanteil des Epithels aus (BREEZE u. WHEELDON, 1977; ROBINSON u. SORENSON, 1978; TYLER, 1983), mit Ausnahme der Maus sind sie jedoch in ihrem Vorkommen auf die Bronchioli terminales und respiratorii begrenzt (CUTZ u. CONEN, 1971; GAIL u. LENFANT, 1983). Die zylindrischen Zellen, die einen Besatz von Mikrovilli aber keine Zilien aufweisen, bilden mit den zilientragenden Zellen ein einschichtiges iso- bis hochprismatisches Epithel (PLOPPER et al., 1980). Ihr apikales

Zytoplasma ragt in Form von Kappen („apical caps“) in das Lumen der Bronchioli (CLARA, 1937; GAIL u. LENFANT, 1983).

Die Clara-Zellen verschiedener Spezies erscheinen bei lichtmikroskopischer Betrachtung relativ ähnlich, jedoch finden sich auf ultrastruktureller Ebene Unterschiede. So zeigen die Clara-Zellen von Maus, Ratte, Meerschweinchen, Hamster, Kaninchen, Schwein, Schaf und Pferd ein gut entwickeltes glattes endoplasmatisches Retikulum in den „apical caps“ (CUTZ u. CONEN, 1971; PLOPPER et al., 1980), welches dem Menschen fehlt (SMITH et al., 1979). Dagegen besitzen Menschen und Primaten ein deutlich ausgebildetes rauhes endoplasmatisches Retikulum (SMITH et al., 1979; PLOPPER et al., 1980, GAIL u. LENFANT, 1983). Der Zellkern ist bei der Ratte in der Zellmitte und bei der Maus im basalen Zelldrittel lokalisiert (SMITH et al., 1974; STINSON u. LOOSLI, 1978). Bei Maus, Ratte, Kaninchen und Mensch weist er Einbuchtungen auf, beim Rind stellt er sich gelappt dar (SMITH et al., 1974 u. 1979; STINSON u. LOOSLI, 1978). Der Golgiapparat liegt bei Maus, Ratte, Kaninchen Rind und Mensch lateral des Nukleus (CUTZ u. CONEN, 1971; SMITH et al., 1974 u. 1979; GAIL u. LENFANT, 1983). Die vielen im basalen bis mittleren Zellbereich länglichen und apikal sphärischen Mitochondrien der Ratte lassen keine Cristae erkennen (SMITH et al., 1974). Auch bei der Maus können zahlreiche runde bis ovale Mitochondrien nachgewiesen werden, die wenige Cristae und eine homogene osmiophile Matrix enthalten (STINSON u. LOOSLI, 1978; SMITH et al., 1979). Die „apical caps“ vieler Spezies weisen zahlreiche elektronendichte Granula auf, jedoch besitzen Rind, Hund, Katze und Frettchen lediglich einzelne Granula, wenig glattes endoplasmatisches Retikulum, aber reichlich Glykogenablagerungen (PLOPPER et al., 1980), wobei letztere auch beim Kaninchen zahlreich vorkommen (SMITH et al., 1979).

Die Clara-Zellen sind zusammen mit den AZ II an der Bildung der Hypophase des Surfactant im Alveolarlumen und an der oberflächlichen Schleimschicht im Bereich der Bronchioli beteiligt (CUTZ u. CONEN, 1971; WIDDICOMBE u. PACK, 1982; GAIL u. LENFANT, 1983). Außerdem fungieren sie bei Schleimhautschäden als Ersatzzellen, da sie sich in zilienträgende Zellen umwandeln können (EVANS et al., 1978; LUM et al., 1978; GAIL u. LENFANT, 1983).

### 2.3.6 Gefäße/Kapillaren

Im Bereich der Lunge ist der Arbeitskreislauf, der durch die Aa. und Vv. pulmonales gebildet wird, vom Ernährungskreislauf, der aus den Aa. und Vv. bronchiales besteht, zu unterscheiden (BUCHER u. WARTENBERG, 1997). Das desoxygenierte Blut fließt über die Aa. pulmonales in das die Alveolen umgebende Kapillarnetz, wo der Gasaustausch erfolgt. Anschließend gelangt das nun oxygenierte Blut über Venulen und Venen unter Zufluß von venösem Blut aus den Septen und der Pleura in die Pulmonalvenen. Die der Aorta entspringenden Bronchialarterien versorgen die Lunge mit oxygeniertem Blut.

Bei dem Kapillarendothel handelt es sich um ein kontinuierliches Endothel (WEIBEL, 1973). Die Endothelzellen bilden etwa 30 % der gesamten Zellpopulation der Lunge (RYAN u. RYAN, 1977 u. 1982; SIMONESCU, 1980; CRAPO et al., 1982). Die Endothelzellen zeigen nur einen schmalen Zytoplasmasaum um ihre Kerne, so daß sich die Zellen in Form von dünnen Flächen mit einer Dicke von etwa 0,1 bis 0,2 µm ausbreiten. Das Zytoplasma enthält wenige Zellorganellen aber zahlreiche Mikrovesikel, die als „shuttle vesicles“ beim transendothelialen Transport von Makromolekülen dienen (WEIBEL, 1973). Außerdem stellen diese Vesikel ein Membranreservoir dar (TYLER et al., 1971; SIMONESCU, 1980; RYAN u. RYAN, 1982). Weiterhin liegen Untersuchungsergebnisse vor, nach denen die Endothelzellen biologisch aktive Substanzen synthetisieren.

Die etwa 0,2 bis 0,4 µm dicke Blut-Luft-Schranke enthält Ausläufer der Endothelzellen und der AZ I. Zwischen beiden Zellen befindet sich eine Basalmembran, die sowohl doppelt als auch einfach ausgebildet sein kann, indem die endothel- und die epithelseitige Basalmembran fusionieren. Ultrastrukturell unterscheidet sich die Basalmembran nicht von der anderer Organe. So ist eine osmiophile Lamina densa vorhanden, die beiderseits von einer osmiophoben Lamina rara umgeben ist (VACCARO u. BRODY, 1981).

### 2.3.7 Lymphapparat

#### 2.3.7.1 Lymphgefäße

Die zahlreich vorkommenden Lymphgefäße, die teilweise mit Klappen ausgestattet sind, umgeben die Bronchien und Gefäße. Der Abfluß der Lymphe erfolgt über größere den Lungenhilus verlassende Lymphgefäße in die Lymphknoten an den Bronchien und der Bifurcatio tracheae (WAIBL, 1999). Die Lymphgefäße lassen sich in oberflächliche und tiefe untergliedern (KUBIK, 1976; LAUWERYNS u. BAERT, 1977). Die oberflächlichen, die

durch das interlobuläre Septum in Richtung Hilus ziehen, dienen der Drainage der Pleura pulmonalis. Die im juxtaalveolären Bereich beginnenden tiefen Lymphgefäße gehen im Bereich der Interlobularsepten in die oberflächlichen Lymphgefäße über. In den Alveolarsepten gibt es nach allgemeiner Meinung keine Lymphgefäße (LAUWERYNS, 1970; WEIBEL, 1973; KUBIK, 1976).

### **2.3.7.2 Bronchus-assoziiertes lymphatisches Gewebe**

Das lymphatische Gewebe der Lunge ist Teil des Mucosa-Associated Lymphoid Tissue (MALT) und wird als Bronchus-Associated Lymphoid Tissue (BALT) bezeichnet (BIENENSTOCK et al., 1973; McDERMOTT et al., 1982). Es besteht sowohl aus Lymphknoten als auch aus lymphatischen Knötchen, die fokal peribronchial und perivaskulär anzutreffen sind (BREEZE u. WHEELDON, 1977), und aus lymphatischen Infiltraten (KALTREIDER, 1976; KAZMIEROWSKI et al., 1977). Die lymphatischen Infiltrate finden sich diffus unterschiedlich stark ausgebildet in den Alveolarsepten.

### **2.3.8 Interstitium**

Das in der Regel sehr dünne Interstitium als Grundlage der Alveolarsepten weist nur wenige elastische und retikuläre Fasern sowie schmale Bündel von Kollagenfibrillen auf, die als Grundlage eines sehr dichten Kapillarnetzes fungieren (BERTALANFFY, 1964). Vereinzelt sind Fibroblasten und von der kapillären Basalmembran umschlossene Perizyten anzutreffen (WEIBEL, 1973). Daneben kommen Makrophagen, Fibrozyten, Granulozyten, Lymphozyten und Mastzellen im Interstitium vor (BUCHER u. WARTENBERG, 1997; LIEBICH, 1999).

### **2.3.9 Nerven**

Sowohl die glatte Muskulatur der Gefäße und des Bronchialsystems als auch die Drüsen werden durch das vegetative Nervensystem innerviert. Die vom Nervus vagus und Nervus sympathicus stammenden Nervenfasern gelangen in Begleitung der Bronchien und Lymphgefäße in die Lunge (SOROKIN, 1988; BUCHER u. WARTENBERG, 1997; WAIBL, 1999). Die Nerven übernehmen zusammen mit den in der Lunge vorkommenden Presso-, Chemo- und Dehnungsrezeptoren die Steuerung der Lungenfunktionen an Gefäßen und luftführenden Abschnitten (WAIBL, 1999). So fungieren kleine nicht myelinisierte perivaskuläre Fasern als vasomotorische Nerven. Peribronchiale Fasern des Nervus sympathicus wirken über eine Erschlaffung der glatten Bronchialmuskulatur als

Bronchodilatoren und solche des Nervus parasympathicus über eine Muskelkontraktion als Bronchokonstriktoren (THEWS, 2000).

### 2.3.10 Pleura

Die Pleura, die sich generell in Pleura visceralis bzw. Pleura pulmonalis (Lungenfell) und Pleura parietalis (Brustfell) unterteilen läßt, wird vom Mesothel und der Lamina propria serosae gebildet (WAIBL, 1999). Bei dem Mesothel handelt es sich um einen plattenepithelartigen Verband einschichtig angeordneter Zellen, die einen Besatz von Mikrovilli aufweisen (SOROKIN, 1988). Durch die Elastizität der Pleura weisen die Mesothelzellen einer kollabierten Lunge prismatische Gestalt auf (BUCHER u. WARTENBERG, 1997).

Die sekretorische Aktivität der Mesothelzellen führt in Verbindung mit einem Flüssigkeitsaustritt durch die interzellulären Spalten des Mesothels hindurch zu einer Anfeuchtung, die eine reibungsfreie Bewegung zwischen Pleura pulmonalis und Pleura parietalis bei den in- und expiratorischen Vorgängen ermöglicht (REISS, 1999). Die Mesothelzellen sind auch zur Resorption befähigt.

Als Lamina propria serosae wird das unter den Mesothelzellen gelegene Gitterwerk aus kollagen-elastischen Fasern bezeichnet, welches locker mit der Pleura pulmonalis verbunden ist (BUCHER u. WARTENBERG, 1997; LIEBICH, 1999; WAIBL, 1999). In älterer Literatur wird diese Schicht noch als Tunica propria bezeichnet (KNOCHE, 1979; BREITBACH, 1986). Ihre Fasern erstrecken sich auch in das Lungenparenchym und bilden als inter- und intralobuläres sowie peribronchiales und perivaskuläres Bindegewebe das Interstitium der Lunge (WAIBL, 1999). Eine Schicht besteht aus elastischen Fasern, zwei Schichten werden durch sich im rechten Winkel kreuzende Kollagenfasern gebildet. Die Lamina propria serosae enthält außerdem einige glatte Muskelfasern und Blutgefäße mit arterio-venösen Anastomosen. Aber auch afferente Nerven und Lymphgefäße sind in der Lamina propria serosae anzutreffen (KUBIK, 1976; STAUB, 1984).

### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Material und Methoden

##### 3.1.1 Versuchstiere, Zucht und Haltung

###### 3.1.1.1 *Mastomys coucha*, Vielzitzenmaus

Als Versuchstiere wurden 36 weibliche *M. coucha* Stamm Gießen „GRA“ verwendet, die aus dem Institut für Parasitologie der Justus-Liebig-Universität Gießen stammten. Einzelheiten über den Ursprung und die institutseigene Versuchstierzucht sind bei LÄMMLER et al. (1977) nachzulesen.

Die Tiere wurden in Gruppen in Makrolon<sup>®</sup>-Käfigen auf Hobelspaneinstreu in klimatisierten Räumen bei ca. 22 °C Raumtemperatur und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 % gehalten. Trinkwasser stand ad libitum zur Verfügung. Die Fütterung erfolgte jeweils morgens, wofür ein Mischfutter mit nachfolgend genannter Zusammensetzung eingesetzt wurde (SCHÖNFELD u. ZAHNER, 2000):

Hafer:	9,0 kg	Hühnervollkorn:	2,0 kg
Gerste:	3,0 kg	Sonnenblumenkerne:	2,5 kg
Weizen:	3,0 kg	Garnelen:	0,5 kg
Mais:	2,5 kg		

###### 3.1.1.2 *Sigmodon hispidus*, Baumwollratte

Für die Stammhaltung von *L. sigmodontis* kam der ursprüngliche Wirt, die Baumwollratte, aus der Versuchstierzucht des Institutes für Parasitologie der Justus-Liebig-Universität Gießen zur Verwendung. Die Haltung der Baumwollratten erfolgte bis zu einem Alter von 10 Wochen in Gruppen, danach einzeln in Makrolon<sup>®</sup>-Käfigen auf Hobelspaneinstreu bei einer Raumtemperatur von ca. 22 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 %. Trinkwasser stand ad libitum zur Verfügung.

Altromin<sup>®</sup> (Alleinfutter für Ratten und Mäuse; Altromin GmbH, Lage) diente als Futter.

### 3.1.1.3 *Litomosoides sigmodontis*

Der *L. sigmodontis*-Stamm wurde auf der Baumwollratte als dem natürlichen Wirt gehalten. Die Übertragung auf *M. coucha* geschah über blutsaugende Milben (*Ornithonyssus* (*Bdellonyssus*) *bacoti*) als Zwischenwirt.

### 3.1.1.4 *Ornithonyssus* (*Bdellonyssus*) *bacoti*

Für die Zucht und Haltung der Milben wurden Glaszylinder (Höhe 45 cm, Durchmesser 25 cm) mit einer ca. 6 cm hohen Einstreu aus chemisch unbehandelten Hobelspänen und etwas Watte benutzt. Die Haltung erfolgte bei einer Raumtemperatur von 29 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 80 %, wobei die Glaszylinder in mit Detergens versetztem Wasser standen, um ein Entweichen der Milben zu verhindern.

Die Fütterung der Milben (Blutmahlzeit) geschah durch Einsetzen von vier bis sechs Tage alten Albinomäusen, Albinoratten, *M. coucha* oder fünf bis acht Wochen alten Gerbils (*Meriones unguiculatus*).

## 3.1.2 Infektion der Zwischenwirte und der Endwirte

Die Infektion der Zwischen- und Endwirte erfolgte am Institut für Parasitologie der Justus-Liebig-Universität Gießen nach LÄMMLER et al. (1968) durch Saugenlassen infizierter Milben. Für die erstmalige Infektion einer herangezüchteten ausreichend großen Milbenpopulation wurde eine mit *L. sigmodontis* infizierte Baumwollratte mit einer Mikrofilariämie von 600 bis 2000 Mikrofilarien/mm<sup>3</sup> in den die Milben enthaltenden Glaszylinder eingesetzt. Nach vier bis sechs Stunden verbrachte man die Baumwollratte in einen grobmaschigen in den Glaszylinder eingehängten Drahtkäfig, damit die vollgesogenen Milben zurück in den Glaszylinder fallen konnten. Danach wurde das Tier in dem Drahtkäfig für weitere 24 Stunden über mit Detergens versetztem Wasser gehalten, um eine vollständige Befreiung von noch anhaftenden Milben zu gewährleisten.

Die Milben erhielten 7 Tage p.i. eine Blutmahlzeit. Um die Infektion der Versuchstiere und die Reinfektion der Milbenpopulation zu sichern, wurden ab 14 Tagen p.i. kontinuierlich nicht infizierte *M. coucha* (Tag 0), infizierte Baumwollratten (Tag 3), nicht infizierte *M. coucha* (Tag 7), infizierte Baumwollratten (Tag 10) und so weiter eingesetzt.

### 3.1.3 Versuchsgruppen

Die *M. coucha* als Versuchstiere im eigentlichen Sinn wurden in drei Kontrollgruppen (nicht infizierte *M. coucha*) und sechs Versuchsgruppen (infizierte *M. coucha*) unterteilt, wobei die Gruppengröße bei jeweils vier Tieren lag.

Die Tiere wurden im Alter von fünf Wochen infiziert und zu folgenden Zeitpunkten getötet:

<b>Gruppe I:</b>	<b>25 Tage p.i.</b>
<b>Gruppe II:</b>	<b>45 Tage p.i.</b>
<b>Gruppe III:</b>	<b>73 Tage p.i.</b>
<b>Gruppe IV:</b>	<b>142 Tage p.i.</b>
<b>Gruppe V:</b>	<b>247 Tage p.i.</b>
<b>Gruppe VI:</b>	<b>345 (Tier Nr. 1) und 352 Tage p.i. (Tier Nr. 2 bis 4)</b>

Die Tiere der Kontrollgruppen besaßen zu den Untersuchungszeitpunkten folgendes Alter:

<b>Gruppe K I:</b>	<b>3 Monate</b>
<b>Gruppe K II:</b>	<b>6 Monate</b>
<b>Gruppe K III:</b>	<b>12 Monate</b>

### 3.1.4 Blutentnahme

Blut wurde zum Zeitpunkt der Tötung mittels einer Pasteurpipette aus dem retrobulbären Venenplexus entnommen. Die Tiere waren zu diesem Zeitpunkt nüchtern.

### 3.1.5 Mikrofilariämie (Mikrofilariendichte)

Die Bestimmung der Mikrofilariämie erfolgte nach der Methode von RÄTHER und MEYERHÖFER (1967). Hierfür wurden 0,05 ml Blut mit einer Leukozytenpipette aufgezogen und anschließend mit 3 %iger Essigsäure verdünnt (1 : 20). Die anschließende Auszählung der Mikrofilarien geschah in der Fuchs-Rosenthal-Kammer. Für die Berechnung der Mikrofilariämie fand folgende Formel Verwendung:

$$\frac{\text{Anzahl Mikrofilarien}}{\text{mm}^3 \text{ Blut}} = \frac{\text{Gesamtzahl gezählter Mikrofilarien}}{\text{Verdünnungsfaktor} \times \text{Kammervolumen}}$$

### 3.1.6 Tötung und Probenentnahme

Die Tötung der Versuchstiere erfolgte nach Betäubung mit CO<sub>2</sub> durch Dekapitation.

Die bei den infizierten *M. coucha* intrathorakal gelegenen Parasiten wurden durch Eröffnung des Thorax gewonnen und über Nacht bei +4 °C in physiologischer Kochsalzlösung aufbewahrt. Die Auszählung und Differenzierung nach weiblichen und männlichen Filarien geschah am nächsten Tag unter dem Stereomikroskop.

Von allen *M. coucha* wurden Gewebeproben der Lungen und des Knochenmarks für die mikroskopische Untersuchung entnommen. Die Auswertung des Knochenmarks erfolgte durch ZIEGLER (1988).

### 3.1.7 Präparation für die Licht- und Elektronenmikroskopie

Die Lungenproben wurden unmittelbar im Anschluß an die Entnahme mit 3 %igem Glutaraldehyd (320 mOsmol) in 0,166 M Cacodylatpuffer (320 mOsmol, pH 7,2) überschichtet. Im Anschluß erfolgte die Herstellung von Geweblöcken mit einer Kantenlängen von ca. 1 mm aus den Lungen mit Pleura pulmonalis. Nach zweistündiger Fixation der Blöcke in 3 %iger Glutaraldehydlösung wurden sie zweimal für jeweils 10 Minuten in 0,166 M Cacodylatpuffer gewaschen und anschließend für die Dauer von zwei Stunden in 1 %igem Osmiumtetroxid (310 mOsmol, pH 7,2) nachfixiert. Nach wiederholtem Waschen in 0,166 M Cacodylatpuffer schloß sich nach Entwässerung in der aufsteigenden Azetonreihe die Einbettung der Lungenproben in Durcupan<sup>®</sup> an.

Die Semidünnschnitte wurden auf einem Ultramikrotom Ultracut E (Fa. Reichert, Wien) hergestellt. Für das Schneiden der etwa 0,5 µm dicken Semidünnschnitte kamen Glasmesser zum Einsatz, die mit einem LKB-Knifemaker 7800 angefertigt wurden. Die Semidünnschnitte wurden auf Glasobjektträger aufgezogen und über einer Bunsenbrennerflamme hitzefixiert. Anschließend erfolgte die Färbung mit basischem Methylenblau über der Bunsenbrennerflamme. Nach mehrmaligem Spülen mit Leitungswasser und zum Schluß mit Aqua destillata trockneten die Objektträger an der Luft. Danach erfolgte das Eindeckeln mit Corbit-Balsam<sup>®</sup> und Deckgläschen.

Für die fotografische Dokumentation der Semidünnschnitte kam ein Agfapan-Film APX 25<sup>®</sup> der Agfa-Gevaert AG Leverkusen zum Einsatz.

Die Ultradünnschnitte wurden mit einem Diamantmesser ebenfalls auf einem Ultramikrotom Ultracut E angefertigt und auf Kupfernetze (200 mesh) aufgebracht. Die Kontrastierung verlief automatisch in zwei Schritten mit dem LKB Bromma 2168-Ultrostainer Carlsberg System und den Lösungen Ultrostain<sup>®</sup> 1 (Uranylacetat) und 2 (Bleicitrat).

Die elektronenmikroskopische Auswertung erfolgte mit einem Elektronenmikroskop EM 10C der Firma Zeiss (Oberkochen, Deutschland) bei 60 kV Röhrenspannung. Die verwendeten Planfilm-Negative Scientia<sup>®</sup> stammten von der Firma Agfa-Gevaert.

Sowohl die Negative der Semidünnschnitt-Bilder als auch die Planfilm-Negative wurden auf Multigrade IV RC De Luxe<sup>®</sup> der Firma Ilford, England als Filmmaterial abgezogen.

### 3.1.8 Auswertung

Von jeder Vielzitzenmaus waren mindestens fünf und maximal 10 Durcupan<sup>®</sup>-Blöckchen mit Lungengewebe und Pleura pulmonalis angefertigt worden. Von jedem Blöckchen wurde ein Objektträger mit mehreren Semidünnschnitten hergestellt.

Im nächsten Schritt erfolgte die Begutachtung aller angefertigter Semidünnschnitte von allen Vielzitzenmäusen zu allen Versuchszeitpunkten, um pro Tier nach Möglichkeit sechs für eine weitere Auswertung geeignete Schnitte zu finden. Auf diesen Schnitten sollten möglichst viele Bronchioli und große Bezirke von Parenchym und Pleura für eine Auswertung vorhanden sein. Desweiteren sollten diese Schnitte gut gefärbt sein und wenige Veränderungen wie Atelektasen, Emphyseme, Stauungen, Ödeme und Erythrozyten in den Alveolarlumina aufweisen, denn solche Veränderungen traten auch bei Kontrollen auf und wurden daher als tötungsbedingte Artefakte eingeschätzt.

Daran schloß sich die lichtmikroskopische Auswertung von diesen sechs Semidünnschnitten einer jeden *M. coucha* getrennt nach den verschiedenen morphologischen Einheiten der Lunge an.

Abschließend wurden die Lokalisationen, die bei der lichtmikroskopischen Untersuchung charakteristische Veränderungen aufwiesen, für die transmissionselektronenmikroskopische Untersuchung aufgearbeitet. Pro Untersuchungstermin konnten so Parenchym, Bronchioli und Pleura von drei Vielzitzenmäusen ultrastrukturell ausgewertet werden.

Die morphologische Begutachtung des Lungenparenchyms beinhaltete die Untersuchung auf Mikrofilarien und ihre semiquantitative Einschätzung und eine ebenfalls semiquantitative Beurteilung der Alveolarwanddicke. Die semiquantitative Beschreibung der herdförmigen zellulären Infiltrate des Parenchyms erfolgte getrennt nach Anzahl und Größe der Infiltrate. Außerdem wurden die an der Bildung beteiligten Zellen semiquantitativ bewertet. Die Morphologie der AZ I und der Kapillarendothelzellen wurde untersucht und auch die der AZ II unter Berücksichtigung ihrer geschätzten Größe, Häufigkeit und maximalen Größe und Anzahl ihrer Lamellarkörperchen. Die AM wurden gleichfalls auf ihre Anzahl, Größe, Lokalisation, Kern-Plasma-Relation und die Beschaffenheit ihres Zytoplasmas hin beurteilt.

Die Untersuchung der Gefäße (Arterien, Venen, kleinere Gefäße) war vor allem auf die semiquantitative Bewertung der perivaskulären Infiltrate ausgerichtet. Gleichzeitig wurde die Beschaffenheit der Gefäßwände begutachtet.

Die Auswertung der Bronchioli umfaßte die Feststellung des Epitheltyps, die Morphologie der zilientragenden Epithelzellen und der Clara-Zellen sowie ihr zahlenmäßiges Verhältnis zueinander, die Dicke der Tunica muscularis im Verhältnis zur Epithelhöhe, die Charakterisierung und semiquantitative Erfassung eines möglicherweise vorhandenen zellulären Infiltrates unter der Tunica muscularis sowie eine gleichartige Beschreibung des Inhaltes der Lumina der Bronchioli.

Die Pleura wurde auf das Vorhandensein von Proliferationen untersucht. Die Zellmorphologie der Mesothelzellen sollte benannt und der Besatz von Mikrovilli semiquantitativ angegeben werden. Außerdem wurde die Anzahl der Pleuraschichten ausgezählt, wobei die zwischen Lamina propria serosae und Mesothelzellen vorkommenden und vornehmlich aus infiltrierenden Entzündungszellen bestehenden Zellagen als Grundlage dienten. Die semiquantitative Ermittlung von faserigem Material (Bindegewebe) und des Ausmaßes der Vaskularisation der Pleuraproliferationen schlossen sich an.

Es erfolgte eine semiquantitative Bestimmung der an der Infiltration der Pleura und des unmittelbar subpleural gelegenen Lungengewebes beteiligten Zellen.

Für die semiquantitative Auswertung wurden Werte von 0 bis +++ vergeben.

Dabei bedeutet:

0 = nicht vorhanden;

+ = selten vorhanden - nur bei intensiver Suche feststellbar;

++ = mäßig vorhanden - zahlreich bzw. deutlich, aber nicht das Bild beherrschend;

+++ = häufig vorhanden - das Bild beherrschend - ins Auge springend;

Nach der Auswertung wurden die Ergebnisse in Zahlenwerte transferiert, um mit ihnen rechnen zu können. Dabei wurde + gleich 1, ++ gleich 2, +++ gleich 3 gesetzt und 0 blieb 0. Anschließend wurde aus den sechs Einzelwerten der arithmetische Mittelwert für jedes Versuchstier berechnet.

Bei der Angabe von Verhältnissen wie 1 : 4 und 3 : 2 wurde das mittlere Verhältnis berechnet und dieses gerundet:  $4 : 6 \Rightarrow 1 : 1,5 \Rightarrow 1 : 2$ .

## 3.2 Ergebnisse

### 3.2.1 Höhe der Mikrofilariämie und Anzahl der Parasiten

Die Anzahl der Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut sowie der larvalen und adulten Filarien in der Brusthöhle zum Zeitpunkt der Tötung inklusive der arithmetischen Mittelwerte und Standardabweichungen sind in der Tabelle 3 aufgeführt:

Bedingt durch die Sektionstermine war eine Mikrofilariämie erstmals 73 Tage p.i. feststellbar. Relativ hohe Mikrofilarienwerte pro mm<sup>3</sup> Blut fanden sich zu den Untersuchungszeitpunkten 73, 142 und 247 Tage p.i. Der Maximalwert lag bei 847 Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut (Tier Nr. 2, 142 Tage p.i.). Das Tier Nr. 2 des Untersuchungszeitpunkts 352 Tage p.i. war dagegen amikrofilariämisch. Insgesamt gesehen wiesen die Werte innerhalb der Gruppen beträchtliche Differenzen auf. Daher wurden die arithmetischen Mittelwerte und die Standardabweichungen der Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut berechnet.

Ebenfalls erhebliche Schwankungen fanden sich bei der Anzahl der larvalen und adulten Filarien in der Pleurahöhle, so daß auch hier arithmetische Mittelwerte und Standardabweichungen errechnet wurden. Bei den meisten Vielzitzenmäusen konnten zwischen 6 und 67 Parasiten in der Brusthöhle isoliert werden. Nur zwei Tiere zeigten einen deutlich höheren Gehalt mit 118 (Tier Nr. 2, 25 Tage p.i.) und als Maximum 272 Parasiten (Tier Nr. 2, 247 Tage p.i.).

Das Geschlechterverhältnis wies deutliche Variationen auf. So lag das Verhältnis der weiblichen zu den männlichen Parasiten zwischen 93 % zu 7 % (Tier Nr. 3, 25 Tage p.i.) und 42 % zu 58 % (Tier Nr. 2, 352 Tage p.i.). In der Mehrzahl der Fälle bewegte es sich jedoch zwischen 3 : 2 und 1 : 1.

Tab. 3 Mikrofilariämie und Zahl larvaler und adulter Parasiten in der Brusthöhle  
*L. sigmodontis*-infizierter *M. coucha*

Gruppe	Tier Nr.	Mikrofilarienzahl/ mm <sup>3</sup> Blut		larvale oder adulte Filarien in der Pleurahöhle					
		absolut	$\bar{x} \pm s$	weiblich		männlich		Summe (100 %)	$\bar{x} \pm s$
				Anzahl	%	Anzahl	%		
K I 3 Mo.	1	0	0 +/- 0	0	0	0	0	0	0 +/- 0
	2	0		0	0	0	0	0	
	3	0		0	0	0	0	0	
	4	0		0	0	0	0	0	
K II 6 Mo.	1	0	0 +/- 0	0	0	0	0	0	0 +/- 0
	2	0		0	0	0	0	0	
	3	0		0	0	0	0	0	
	4	0		0	0	0	0	0	
K III 12 Mo.	1	0	0 +/- 0	0	0	0	0	0	0 +/- 0
	2	0		0	0	0	0	0	
	3	0		0	0	0	0	0	
	4	0		0	0	0	0	0	
I 25 d p.i.	1	0	0 +/- 0	18	72	7	28	25	56 +/- 41
	2	0		65	55	53	45	118	
	3	0		41	93	3	7	44	
	4	0		23	61	15	39	38	
II 45 d p.i.	1	0	0 +/- 0	21	58	15	42	36	19 +/- 11
	2	0		9	64	5	36	14	
	3	0		11	79	3	21	14	
	4	0		8	57	6	43	14	
III 73 d p.i.	1	256	268 +/- 101	7	44	9	56	16	13 +/- 5
	2	138		4	67	2	33	6	
	3	381		10	56	8	44	18	
	4	297		10	67	5	33	15	
IV 142 d p.i.	1	278	407 +/- 321	6	55	5	45	11	13 +/- 6
	2	847		14	67	7	33	21	
	3	413		9	64	5	36	14	
	4	91		4	67	2	33	6	
V 247 d p.i.	1	200	248 +/- 257	32	48	35	52	67	107 +/- 110
	2	56		128	47	144	53	272	
	3	625		31	52	29	48	60	
	4	113		18	58	13	42	31	
VI 345/ 352 d p.i.	1	172	50 +/- 81	10	77	3	23	13	19 +/- 14
	2	0		8	42	11	58	19	
	3	13		23	57	17	43	40	
	4	16		5	83	1	17	6	

d p.i. = Tage post infectionem;  $\bar{x} \pm s$  = arithmetischer Mittelwert +/- Standardabweichung

### 3.2.2 Histomorphologische Untersuchung

Die Auswertung aller angefertigten Semidünnschnitte sollte eine Aussage darüber ermöglichen, ob es sich bei Veränderungen wie Atelektasen, Emphysemen, Stauungen, Ödemen und Erythrozyten in den Alveolarlumina um mit der Infektion in Verbindung stehende Befunde oder Artefakte handelt.

Die erhobenen Befunde sind aus Tabelle 4 ersichtlich:

Alle Tiere wiesen herdförmig bis diffus atelektatische Bereiche auf, deren Ausprägung unabhängig vom Untersuchungszeitpunkt zwischen gering- und hochgradig schwankte.

Alveoläre Emphyseme fanden sich bei nahezu allen Tieren, jedoch waren sie weniger deutlich als die Atelektasen. Interstitielle Emphyseme konnten nicht beobachtet werden.

Mit Ausnahme des Tieres Nr. 4 der Kontrollgruppe I zeigten zwei Drittel der Tiere mittelgradige und die übrigen hochgradige Stauungserscheinungen.

Bei drei Tieren aus den Kontrollgruppen (Tier Nr. 3 und 4, K I und Tier Nr. 4, K II) und zwei infizierten Vielzitzenmäusen aus der ältesten Gruppe (Tier Nr. 2 und 3, 345 bzw. 352 Tage p.i.) waren keine Aussagen darüber zu treffen, ob ein alveoläres Ödem vorlag, da die Alveolen großflächig bis diffus mit Erythrozyten angefüllt waren. Bei den anderen Tieren fanden sich zu keinem Termin Hinweise auf das Vorliegen eines alveolären Ödems. Veränderungen, die für ein interstitielles Ödem sprachen, waren nicht auffindbar.

Der größte Teil aller Tiere wies zu allen Untersuchungszeitpunkten frei in den Alveolen befindliche Erythrozyten in geringer bis mittlerer Menge auf.

Tab. 4 Allgemeiner Status des Lungenparenchyms bei *L. sigmodontis*-infizierten *M. coucha*

Gruppe	Tier Nr.	Atelektase	alveoläres Emphysem	Stauung	alveoläres Ödem	Ery. in Alveolen
K I 3 Mo.	1	++	+	++	0	+
	2	+	+	++	0	+
	3	++	+	++	n.b.	+++
	4	++	0	0	n.b.	+++
K II 6 Mo.	1	+	+	+++	0	0
	2	+++	+	++	0	+
	3	+++	+	+++	0	+
	4	+++	+	++	n.b.	+++
K III 12 Mo.	1	++	0	++	0	++
	2	++	+	+++	0	++
	3	++	+	++	n.b.	++
	4	+++	0	++	0	+
I 25 d p.i.	1	+++	+	++	0	++
	2	++	+	+++	0	+
	3	++	+	+++	0	0
	4	++	0	+++	0	++
II 45 d p.i.	1	+++	+	++	0	+
	2	++	+	+++	0	+
	3	++	+	++	0	++
	4	++	+	+++	0	0
III 73 d p.i.	1	++	0	+++	0	0
	2	++	+	+++	0	+
	3	++	+	++	0	+
	4	++	+	++	0	0
IV 142 d p.i.	1	++	+	++	0	0
	2	++	+	++	0	+
	3	++	+	++	0	+
	4	+++	+	++	0	+
V 247 d p.i.	1	++	+	++	0	++
	2	+	++	++	0	++
	3	+	+	++	0	++
	4	+	+	++	0	+
VI 345/ 352 d p.i.	1	+	+	++	0	+
	2	++	+	++	n.b.	+++
	3	+++	+	+	n.b.	+++
	4	+	+	+++	0	++

Ery. = Erythrozyten;

n.b. = nicht beurteilbar;

d p.i. = Tage post infectionem

Bei der lichtmikroskopischen Untersuchung wurden je sechs Lungenlokalisationen einer jeden *M. coucha* getrennt nach den verschiedenen morphologischen Einheiten der Lunge ausgewertet. Die im Vergleich mit den Kontrollen festgestellten wesentlichen morphologischen Veränderungen von Lunge und Pleura sind den Tabellen 5a bis f zu entnehmen.

### 3.2.2.1 Befunde des Parenchyms

Die Befunde, die das Parenchym betreffen, wie Höhe der Mikrofilariämie, Anzahl von AZ II und AM, Alveolarwanddicke und Pigmentablagerung, sind in Tab. 5a zusammengestellt:

Mikrofilarien konnten im Lungenparenchym entsprechend der Sektionstermine erstmals 73 Tage p.i. nachgewiesen werden, wobei sie intravasal lokalisiert waren. Einzelne Mikrofilarien waren im Anschnitt auf einer Länge von etwa 40 µm erkennbar (Abb. 5). Sie stellten sich als spindelförmige in den Gefäßen gelegene Strukturen dar, deren schollige Innenstruktur aus dunkelblauen Zellkernen und mittelblauem Zytoplasma bestand. Das Innere maß schätzungsweise 3 bis 4 µm (Abb. 5 und 9). Sowohl im Längs- als auch im Querschnitt fiel der helle nicht angefärbte zirkuläre Bereich mit einer Stärke von etwa 1 µm auf, der die Larven von dem umgebenden Gewebe scharf demarkierte. Hierbei handelte es sich um die Scheide und das zwischen Scheide und Kutikula gelegene Material der Mikrofilarien (Abb. 5 und 9).

Der lichtmikroskopische Nachweis der Mikrofilarien 73 Tage p.i. entsprach dem Ergebnis, welches bei der Bestimmung der Mikrofilariämie nach der Methode von RÄTHER und MEYERHÖFER (1967) erzielt wurde (Tab. 3). Weiterhin fanden sich weitgehende Übereinstimmungen zwischen der durch Zählung bestimmten Höhe der Mikrofilariämie und der semiquantitativen Einschätzung am Schnittpräparat. So zeigten die beiden Vielzitzenmäuse mit der höchsten Mikrofilariämie (Tier Nr. 2, 142 Tage p.i., Abb. 5 und Tier Nr. 3, 247 Tage p.i., Abb. 7 und 9) einen hochgradigen Gehalt von Mikrofilarien im Lungenparenchym. *Mastomys* mit geringer Mikrofilariämie wiesen auch in der Lunge nur wenige Mikrofilarien auf. Bei dem Tier Nr. 2 des Untersuchungstermins 352 Tage p.i., welches sich bei der Blutuntersuchung als amikrofilariämisch erwies, konnten bei der histologischen Untersuchung keine Mikrofilarien dargestellt werden. Allerdings traten auch Unterschiede auf. So ließen sich bei der Untersuchung der Lunge von Tier Nr. 3, 73 Tage p.i. mit einer Mikrofilariämie von 381 Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut nur wenige Mikrofilarien

erkennen. Dagegen zeigte Tier Nr. 2, 247 Tage p.i. bei einer Mikrofilariämie von 56 Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut im Lungenparenchym mittelgradig Mikrofilarien.

Die AZ II der nicht infizierten Tiere besaßen runde bis quadratische Zellkerne. Der Kern lag in der Regel exzentrisch und wurde oft durch große Vakuolen komprimiert, so daß er Einbuchtungen und Vorwölbungen aufwies. Das hellblaue Nukleoplasma zeigte einen dunkelblauen Rand und oftmals einen runden dunkelblauen Nukleolus. Das Zytoplasma war fast vollständig ausgefüllt durch kleine bis größere helle Vesikel mit einem Durchmesser zwischen 1 und 8 µm. Diese enthielten als Lamellarkörperchen Einschlüsse in Form eines teils lamellär geschichteten, leicht graugrün gefärbten Materials, wobei selten Hinweise auf eine Fusion zu größeren Strukturen vorlagen (Abb. 3 und 4). Die Größe der Zellen lag bei ungefähr 12 x 12 µm mit im Durchmesser etwa 6 µm großen Kernen.

Die Zahl der AZ II war 73 und 142 Tage p.i. vor allem herdförmig geringgradig erhöht (Abb. 6). Das Tier Nr. 1 vom 247. Tag p.i ließ letztmalig eine geringe Zunahme dieses Zelltyps erkennen, danach erfolgte eine Reduktion bis auf die Kontrollwerte. Die geschätzte Größe der AZ II wies keine Unterschiede zwischen den einzelnen Untersuchungszeitpunkten auf.

Die Lamellarkörperchen besaßen terminunabhängig eine mehr oder weniger deutliche Schichtung (Abb. 6 und 9), einige gaben sich aber auch als große homogene Einschlüsse zu erkennen (Abb. 13). Lediglich bei einer Ausnahme (Tier Nr. 2, 25 Tage p.i.) fand sich eine Homogenisierung der Lamellarkörperchen. Größe und Anzahl der Lamellarkörperchen unterschieden sich im Verlauf der Untersuchung nicht wesentlich.

Die AM der Kontrollen lagen oftmals der Alveolarwand an. Teilweise befanden sie sich auch scheinbar frei in den Alveolarlumina (Abb. 4). Insbesondere diese Zellen wiesen dann feine zytoplasmatische Ausläufer auf. Die im Durchmesser zwischen 10 und 14 µm großen AM besaßen etwa 8 µm große Kerne. Die Kern-Plasma-Relation lag bei 1 : 1 bis 1 : 2. Die runden im allgemeinen im Zentrum gelegenen Kerne zeigten kleine Einbuchtungen. Daher erschienen die Kerne kuboid bis bohnenförmig mit plumpen Enden. Das hellblaue Nukleoplasma wies einen dunkelblauen Rand mit wenigen randständigen Chromatinbrocken auf. Bei einzelnen Zellen war der runde Nukleolus deutlich erkennbar. Das hellblaue Zytoplasma enthielt in geringer Menge kleine, im Durchmesser weniger als 1 µm messende Vesikel, die oftmals nur

als weiße Punkte imponierten. Weiterhin kamen noch kleinere dunkelblaue Vesikel in sehr geringer Menge vor.

Die Zahl der AM war ab 25 Tagen p.i. bei fast allen Tieren bis 142 Tagen p.i. geringgradig erhöht. Danach erfolgte eine Abnahme auf Werte der Kontrolltiere mit Ausnahme von drei Tieren, von denen eins (Tier Nr. 2, 247 Tage p.i.) eine mittelgradige Zunahme aufwies.

Die Größe der AM, die schätzungsweise zwischen 8 und 16 µm betrug, war nur geringen Schwankungen unterworfen, die nicht im Zusammenhang mit dem Infektionsverlauf zu stehen schienen.

Deutliche Variationen des Kern-Plasma-Verhältnisses, das zwischen 1 : 1 und 1 : 2 lag, waren nicht feststellbar.

Die AM zeigten ab dem Untersuchungstermin 25 Tage p.i. einen größeren Gehalt von dunkelblauen runden intrazytoplasmatischen Ablagerungen. Hierbei handelte es sich wahrscheinlich um phagozytiertes Material und Pigmentablagerungen in Form von Hämosiderin. Ab 142 Tagen p.i. ließen nur noch einzelne Tiere diese Einlagerungen erkennen (Tier Nr. 1, 142 Tage p.i. und Tier Nr. 2 und 3, 247 Tage p.i.).

Im Bereich der Alveolarsepten war, etwas verzögert im Vergleich zur Entwicklung bei den AM, ab dem 73. Tag p.i. die nicht zellassozierte Ablagerung eines gleichartigen Materials feststellbar. Bei einzelnen Tieren trat diese bis zum Ende des Untersuchungszeitraumes auf.

Die Alveolarwände der Kontrolltiere wiesen, von Gesichtsfeld zu Gesichtsfeld variierend, einzelne Kollagenfaserbündel in Form von schmalen hellen faserähnlichen Strukturen auf. In den Septen waren nur wenige Zellen lokalisiert, wobei es sich fast ausnahmslos um AZ I und Kapillarendothelzellen handelte. In den Nischen, die von den Septen gebildet wurden, waren einzelne AZ II angeordnet (Abb. 4). In Arealen ohne Emphyseme oder Atelektasen konnten nur wenige AZ II pro Gesichtsfeld bei tausendfacher Vergrößerung gefunden werden.

Die Alveolarwanddicke erschien ab 25 Tagen p.i. bis zum Versuchsende geringgradig vermehrt. Lediglich bei Tier Nr. 2, 247 Tage p.i. war eine mittelgradige Verdickung der Alveolarsepten zu beobachten. Es bestand der Verdacht auf eine Vermehrung des Bindegewebes, die ursächlich für die Verbreiterung der Alveolarsepten gewesen sein dürfte.

Die AZ I der Kontrolltiere besaßen rechteckige bis quadratische teils auch dreieckige Kerne mit ungleich langen Seiten. Die Größe der Kerne lag bei etwa 4 x 6 µm. Das Nukleoplasma

war relativ dunkelblau gefärbt. Im Randbereich fanden sich oftmals ein Chromatinsaum oder mehrere Chromatinbröckchen. Das hellblaue Zytoplasma wies keine lichtmikroskopisch sichtbaren Zellorganellen auf. Die Zellgrenzen waren nicht erkennbar.

Die Kapillarendothelzellen der nicht infizierten Vielzitzenmäuse stellten sich als längliche bis sichelförmig gebogene Zellen dar. Der längsovale hell- bis dunkelblau gefärbte Kern besaß eine Größe von etwa  $1 \times 6 \mu\text{m}$ . Im Kern fanden sich sehr gleichmäßig verteilte feine dunkle Chromatingranula. Das Zytoplasma war homogen hellblau gefärbt. Die Zellgrenzen waren nicht klar sichtbar.

Die Morphologie der AZ I und der Kapillarendothelzellen ließ lichtmikroskopisch zwischen Kontrolltieren und infizierten Vielzitzenmäusen keine Unterschiede erkennen.

Auf die tabellarische Darstellung dieser Untersuchungskriterien wird daher verzichtet.

Tab. 5a Befunde des Lungenparenchyms bei *L. sigmodontis*-infizierten *M. coucha*

Gruppe	Tier Nr.	MF Menge	AZ II Menge	AM Menge	Alveolarwanddicke	Pigment	
						in AM	„frei“
K I 3 Mo.	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	+	-	-	-
	4	-	-	+	-	-	-
K II 6 Mo.	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-
K III 12 Mo.	1	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-
I 25 d p.i.	1	-	-	+	-	-	-
	2	-	-	+	+	+	-
	3	-	-	+	+	+	-
	4	-	-	+	+	+	-
II 45 d p.i.	1	-	-	+	+	+	-
	2	-	-	+	-	-	-
	3	-	-	+	-	-	-
	4	-	-	-	+	-	-
III 73 d p.i.	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	-	+
	3	+	+	+	+	-	+
	4	++	-	+	+	+	+
IV 142 d p.i.	1	++	+	-	+	+	+
	2	+++	+	+	+	-	-
	3	++	+	-	+	-	-
	4	++	-	-	+	-	-
V 247 d p.i.	1	++	+	-	+	-	-
	2	++	-	++	++	+++	+
	3	+++	-	+	+	++	+
	4	+	-	-	+	-	-
VI 345/ 352 d p.i.	1	+	-	-	-	-	+
	2	-	-	-	+	-	-
	3	+	-	-	+	-	+
	4	+	-	-	+	-	-

MF = Mikrofilarien; AZ II = Alveolarepithelzellen Typ II; AM = Alveolarmakrophagen;  
d p.i. = Tage post infectionem

Eine Übersicht über die Entwicklung von herdförmigen Infiltraten im Lungenparenchym hinsichtlich Zahl, Größe und zellulärer Zusammensetzung ermöglicht Tab. 5b:

Das Lungenparenchym der Kontrolltiere zeigte mit Ausnahme zweier Vielzitzenmäuse (Tier Nr. 2 und 4, K II) keine Herdveränderungen. Diese Tiere besaßen wenige herdförmige Infiltrate, die aus Fibrozyten in mittlerer Menge und wenigen Makrophagen bestanden.

Die Befunde 25 und 45 Tage p.i. entsprachen denen der Kontrollen, denn auch hier besaßen zwei Tiere (Tier Nr. 3 und 4, 25 Tage p.i.) vergleichbare herdförmige Infiltrate. Die anderen Vielzitzenmäuse ließen keine derartigen Zellansammlungen im Parenchym erkennen.

Ab dem 73. Tag p.i. kamen bei allen Tieren in geringer bis mittlerer Menge herdförmige Infiltrate vor. Diese wurden von unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten in mittlerer Menge und geringen Mengen an Makrophagen gebildet (Abb. 7). Bei einigen Tieren war zudem die Einlagerung einzelner AZ II Zellen in die Infiltrate feststellbar.

Die Herdveränderungen des Parenchyms enthielten ab diesem Zeitpunkt auch Bindegewebe in geringer Menge. Einige länger infizierte Tiere (Tier Nr. 1 und 2, 247 Tage p.i. und Tier Nr. 1, 345 Tage p.i.) ließen eine mittelgradige Bindegewebszubildung erkennen.

Plasmazellen waren als Bestandteil der Parenchyminfiltration erstmals bei Tier Nr. 3, 73 Tage p.i. feststellbar. Zu den folgenden Untersuchungsterminen ließen sich Plasmazellen bei allen Tieren in geringer bis mittlerer Menge in den Herdveränderungen nachweisen.

Lymphozyten fanden sich lediglich bei zwei *Mastomys* (Tier Nr. 3, 142 Tage p.i. und Tier Nr. 4, 247 Tage p.i.) als geringgradige Bestandteile der Infiltrate.

Die Infiltrate waren 73 Tage p.i. deutlich erkennbar. Zu den beiden folgenden Untersuchungsterminen konnte eine Vergrößerung der Infiltrate bis auf Maximalwerte festgestellt werden. Am letzten Untersuchungstermin lagen die kleineren Infiltrate in verringerter Zahl vor, wobei die Befunde dann denen 73 Tage p.i. glichen.

Tab. 5b Infiltrate des Lungenparenchyms bei *L. sigmodontis*-infizierten *M. coucha*

Gruppe	Tier Nr.	herdförmige Infiltrate							
		Menge	Größe	Zusammensetzung					
				MP	FB	LZ	PZ	AZ II	BD
K I 3 Mo.	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-
K II 6 Mo.	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	+++	++	++	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	+++	+	++	-	-	-	-
K III 12 Mo.	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-
I 25 d p.i.	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	+++	+	++	-	-	-	-
	4	+	+	+	+	-	-	-	-
II 45 d p.i.	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-
III 73 d p.i.	1	+	++	+	+	-	-	-	+
	2	++	++	+	++	-	-	+	+
	3	+	++	++	++	-	+	+	+
	4	+	++	+	++	-	-	-	+
IV 142 d p.i.	1	++	++	+	++	-	+	+	+
	2	++	+++	+	+++	-	+	-	+
	3	++	++	+	++	+	+	-	+
	4	++	+++	+	++	-	++	-	+
V 247 d p.i.	1	++	++	+	++	-	+	+	++
	2	++	+++	+	++	-	++	-	++
	3	++	+++	+	++	-	++	+	+
	4	+	+	+	+	+	+	-	+
VI 345/ 352 d p.i.	1	+	++	-	++	-	++	-	++
	2	+	+	+	+	-	++	-	+
	3	++	++	-	++	-	++	-	+
	4	++	++	+	++	-	++	+	+

MP = Makrophagen; FB = unterschiedlich ausgereifte Fibroblasten; LZ = Lymphozyten; PZ = Plasmazellen; AZ II = Alveolarepithelzellen Typ II; BD = Bindegewebe; d p.i. = Tage post infectionem

### 3.2.2.2 Befunde der Gefäße

Eine Zusammenstellung der Veränderungen im Gefäßbereich findet sich in Tab. 5c:

Die Kapillaren wiesen zwischen den Kontrolltieren und den infizierten Vielzitzenmäusen keine lichtmikroskopisch erkennbaren Unterschiede auf.

In den Kapillarlumina ließen sich ab 45 bis 142 Tagen p.i. etwas mehr neutrophile Granulozyten nachweisen. Dagegen waren 247 und 345 bzw. 352 Tage p.i., mit Ausnahme von Tier Nr. 4, kaum neutrophile Granulozyten in den Kapillaren erkennbar.

Die Arterien und Arteriolen einiger Kontrolltiere zeigten perivaskuläre Ansammlungen von geringgradig Makrophagen und Fibrozyten. Bei einem Kontrolltier (Tier Nr. 4, 3 Monate) fanden sich in der Umgebung arterieller Gefäße vereinzelt Mastzellen. Ebenso sporadisch waren bei infizierten *Mastomys* verschiedener Untersuchungszeitpunkte perivaskulär geringgradig Mastzellen feststellbar. Das sich 25 und 45 Tage p.i. bietende Bild glich weitgehend dem der Kontrollen. Tier Nr. 2, 45 Tage p.i. ließ erstmals in der Umgebung arterieller Gefäße einzelne Lymphozyten erkennen. Diese traten auch bei einzelnen Vielzitzenmäuse an späteren Terminen und gehäuft zum Versuchsende auf.

Die Befunde wichen 73 Tage p.i. nur insofern ab, als daß bei Tier Nr. 4 erstmalig eine Beteiligung von Plasmazellen bestand. Ein regelmäßiges gering- bis mittelgradiges Vorkommen von Plasmazellen war während der beiden letzten Untersuchungszeitpunkte zu beobachten.

Mit Ausnahme von Tier Nr. 2, 73 Tage p.i. bestanden ab 73 Tagen p.i. bei allen Tieren perivaskuläre Ansammlungen von geringgradig Makrophagen und unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten.

Die Gefäßwände wiesen zu allen Untersuchungszeitpunkten keine von den Kontrollen abweichenden Befunde auf.

Intravasal waren in den arteriellen Gefäßen bei einigen Kontrolltieren geringgradig Makrophagen und Lymphozyten nachweisbar. Ab dem 25. Tag p.i. enthielten die arteriellen Gefäße regelmäßig Lymphozyten in geringer bzw. mittlerer (Tier Nr. 3 und 4, 73 Tage p.i.) Menge. Makrophagen waren 73 und 142 Tage p.i. regelmäßig in geringer Menge vorhanden. In geringem Umfang konnten neutrophile Granulozyten intravasal bei einzelnen Tieren im Zeitraum zwischen 45 und 142 Tagen p.i. angetroffen werden.

Die Venen und Venulen der Kontrolltiere besaßen in ihrer Umgebung insbesondere bei den älteren Vielzitzenmäusen geringe Mengen an Makrophagen und Fibrozyten. Auch kamen vereinzelt Lymphozyten (Tier Nr. 3, K II und Tier Nr. 4, K III) sowie Plasmazellen (Tier Nr. 4, K III) vor.

Die venösen Gefäße wiesen an den ersten drei Untersuchungsterminen keine abweichenden Befunde in ihrer Umgebung auf. Eine plötzliche Vermehrung der perivaskulär gelegenen Plasmazellen und unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten war 142 Tage p.i. erkennbar (Abb. 8). Die nun mittelgradigen Infiltrate blieben bis zum Versuchsende erhalten (Abb. 9 und 10). Damit einhergehend zeigten alle *Mastomys* geringgradig Makrophagen in der Nachbarschaft der Gefäße.

Die Gefäßwände infizierter Tiere stellten sich im Vergleich mit den Kontrolltieren unverändert dar.

Die venösen Gefäße enthielten Makrophagen und Lymphozyten in geringer Menge, womit der intravasale Gehalt von weißen Blutzellen dem der arteriellen Gefäße glich. Ein Tier (Tier Nr. 2, K III) wies intravasal einzelne neutrophile Granulozyten auf. Die Befunde 25 und 45 Tage p.i. entsprachen denen der Kontrolltiere.

Ab 73 Tagen p.i. kam es zu einer deutlichen Vermehrung der intravasal gelegenen weißen Blutzellen. So waren Lymphozyten 73 Tage p.i. gering- bis mittelgradig vorhanden. Zum nächsten Termin lagen sie in mittlerer bis großer (Tier Nr. 4, 142 Tage p.i., Abb. 8) Zahl teils adhärent in den Gefäßlumina. Anschließend war eine Verminderung auf einen geringgradigen Gehalt 345 bzw. 352 Tage p.i. feststellbar. Nur einige der Tiere aus der Gruppe 73 Tage p.i. zeigten intravasal Makrophagen in geringer Menge. An den beiden folgenden Untersuchungsterminen waren diese Zellen bei allen Tieren geringgradig auffindbar. Die am längsten infizierten *Mastomys* ließen keine intravasal gelegenen Makrophagen erkennen. Neutrophile Granulozyten fanden sich in geringer Menge bei allen Tieren 73 Tage p.i. in den Lumina venöser Gefäße. Danach trat eine derartige Verminderung auf, daß zu den beiden letzten Terminen fast keine neutrophilen Granulozyten mehr nachweisbar waren.

Durch die mit fortschreitender Infektion vermehrte Ansammlung von Entzündungszellen im perivaskulären Gewebe kam es ab 73 Tagen p.i. (Tier Nr. 3 und 4) zu einer manschettenartigen Umlagerung der größeren Gefäße. Diese blieb bis zum Versuchsende bestehen, wobei sich das Maximum 247 Tage p.i. bei Tier Nr. 3 fand (Abb. 9 und 10).

Tab. 5c Befunde der Gefäße bei *L. sigmodontis*-infizierten *M. coucha*

Gruppe	Tier Nr.	Arterien/Arteriolen									Venen/Venulen					
		perivaskulär					intravasal				perivaskulär				intravasal	
		MP	FB	LZ	PZ	MZ	MP	LZ	NG	MP	FB	LZ	PZ	MP	LZ	NG
K I 3 Mo.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	2	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	3	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	-
K II 6 Mo.	1	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-
K III 12 Mo.	1	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
	2	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+
	3	+	+	-	-	-	-	+	-	+	++	-	-	-	+	-
	4	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-
I 25 d p.i.	1	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
	2	+	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-
	3	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-
	4	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	+	-
II 45 d p.i.	1	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
	2	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-
	3	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-
	4	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-
III 73 d p.i.	1	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	++	+
	3	++	+	+	-	-	+	++	+	+	+	-	+	+	++	+
	4	+	+	-	+	-	+	++	+	+	+	-	-	+	+	+
IV 142 d p.i.	1	+	+	-	-	-	+	+	-	+++	++	-	++	+	++	-
	2	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	++	+	+	+
	3	+	+	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	+	++	-
	4	+	++	-	+	-	+	+	-	+	++	-	++	+	+++	+
V 247 d p.i.	1	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	++	-	++	-
	2	+	+	+	+	+	+	+	-	+	++	-	++	+	++	-
	3	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	++	+	++	-
	4	+	+	+	+	-	-	+	-	+	++	-	++	+	++	-
VI 345/ 352 d p.i.	1	+	+	+	+	-	-	+	-	+	++	+	+	-	+	-
	2	+	+	-	+	-	-	+	-	+	+	-	++	+	+	-
	3	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-
	4	+	+	+	++	-	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-

MP = Makrophagen; FB = unterschiedlich ausgereifte Fibroblasten; LZ = Lymphozyten; PZ = Plasmazellen; MZ = Mastzellen; NG = neutrophile Granulozyten; d p.i. = Tage post infectionem

### 3.2.2.3 Befunde der Bronchioli

Mit Ausnahme von Tier Nr. 1, K III war bei allen Versuchstieren ein Bronchiolusanschnitt in einem oder mehreren Semidünnschnitten angeschnitten.

Die Befunde, die die Bronchioli betreffen, wie die Verhältnisse von zilientragenden zu zilienfreien Epithelzellen und Höhe von Tunica muscularis zur Epithelhöhe, Inhalt der Lumina und Beschaffenheit der peribronchiolären Infiltrate, sind in Tab. 5d zusammengefaßt:

Die Bronchioli der Kontrolltiere besaßen in der Regel ein mehrreihiges hochprismatisches Epithel mit zilientragenden und zilienfreien Epithelzellen. Die Bronchioli terminales wiesen ein einschichtiges iso- bis hochprismatisches Epithel auf, in dem zilientragende Zellen zu beobachten waren (Abb. 11). Die wenigen erkennbaren Bronchioli respiratorii waren dagegen durch ein einschichtiges isoprismatisches Epithel ausgekleidet, wobei Zellen mit Zilienbesatz fehlten (Abb. 11).

Die zilientragenden Zellen enthielten einen basal liegenden runden bis kuboiden Kern mit dunkelblau gefärbtem Rand und hellblauem Nukleoplasma. In der Regel proximal des Nukleus lagen bis schätzungsweise 1 µm große dunkelblaue Vesikel im Zytoplasma. Der Kern besaß einen Durchmesser von ungefähr 7 µm. An der Oberfläche fand sich ein feiner dichter Zilienbesatz, der ungefähr ein Viertel der Zellhöhe ausmachte. Die Kern-Plasma-Relation betrug etwa 1 : 1 bis 1 : 2.

Die nicht mit Zilien besetzten Epithelzellen (Clara-Zellen) zeigten eine mehr längliche Zellform mit luminal keulenförmig aufgetriebenem Ende. Das hellblaue Zytoplasma wies insbesondere in der apikalen Hälfte bis im apikalen Drittel zahlreiche dunkelblaue Granula mit einem Durchmesser zwischen weniger als 1 µm und 2 µm auf. Die hell- bis mittelblau gefärbten Zellkerne mit dunkelblauem Rand hatten einen Durchmesser von etwa 7 µm und eine runde, ovale bis kuboide Form.

Das Bronchialepithel der infizierten Tiere ließ im Vergleich mit den Kontrolltieren keine morphologischen Unterschiede erkennen (Abb. 12).

Das numerische Verhältnis der zilientragenden Zellen zu den zilienfreien Zellen lag im histologischen Präparat bei den Kontrolltieren der Gruppe K I im Mittel bei 1 : 1. Die Gruppen K II und K III zeigten im Mittel ein Verhältnis von 1 : 2. Das weiteste Verhältnis mit 1 : 3 wies Tier Nr. 2 der Gruppe K II auf. Bei den infizierten Vielzitzenmäusen schwankte das Verhältnis zwischen 1 : 1 und 1 : 2.

Das Verhältnis der Dicke der Tunica muscularis zur Epithelhöhe lag bei den Kontrollen bei 1 : 3, wobei im Mittel keine Unterschiede zwischen den drei Gruppen auffielen. Bei den infizierten Tieren stellte sich das Verhältnis ähnlich dar. Das Verhältnis betrug 25 Tage p.i. im Mittel 1 : 3. An den folgenden Untersuchungszeitpunkten lag es bei 1 : 2, wobei lichtmikroskopisch nicht entschieden werden konnte, ob ursächlich eine Verbreiterung der Tunica muscularis oder eine Abflachung des Epithels in Frage kam.

Die Lumina der Bronchioli enthielten von Tier zu Tier graduell stark variierend Zelldetritus und Mukus. So war beispielsweise bei Tier Nr. 1, K III kein Inhalt erkennbar, dagegen wiesen die Lumina der Bronchioli von Tier Nr. 4, K I und Tier Nr. 2, K II eine hochgradige Füllung auf, so daß die Lumina zu mehr als der Hälfte verlegt waren. Im Verlauf der Infektion fiel im Vergleich zu den Kontrolltieren im Mittel eine geringere Füllung der Lumina 25 und 45 Tage p.i. auf.

Die Kontrolltiere zeigten peribronchiolär in einem nur schwach ausgebildeten kollagenen Bindegewebe geringgradig Makrophagen, Fibrozyten und Lymphozyten. Mastzellen konnten in geringer bis mittlerer Menge (Tier Nr. 3, K III) nachgewiesen werden (Abb. 11). Bis 142 Tagen p.i. stellte sich das Bild weitgehend vergleichbar dar, jedoch ließen sich mit fortschreitender Infektionsdauer geringfügig weniger peribronchiolär lokalisierte Zellen finden. Ab 247 Tagen p.i. bestand eine geringgradige Vermehrung von unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten in der unmittelbaren Umgebung der Bronchioli. Die Zahl der Lymphozyten war gering- bis mittelgradig erhöht. Plasmazellen ließen sich ab diesem Untersuchungszeitpunkt erstmals und zwar in geringer bis mittlerer Menge erkennen. Es lag ein mittel- bis hochgradiger Gehalt von Mastzellen vor. Eine Vermehrung der in der Nähe der Bronchioli vorkommenden AZ II war nicht feststellbar (Abb. 12).

Tab. 5d Befunde der Bronchioli bei *L. sigmodontis*-infizierten *M. coucha*

Gruppe	Tier Nr.	Verhältnis zilierte zu zilienfreie Epithelzellen	Verhältnis T. musc. zu Epithelhöhe	Inhalt der Bronchiolumina	peribronchioläre Infiltrate					
					MP	FB	LZ	PZ	MZ	AZ II
K I 3 Mo.	1	1 : 1	1 : 2	+	+	-	-	-	+	-
	2	1 : 1	1 : 2	+	+	-	-	-	+	-
	3	1 : 1	1 : 3	++	-	-	-	-	-	-
	4	1 : 1	1 : 4	+++	+	-	+	-	-	-
K II 6 Mo.	1	1 : 1	1 : 2	+	+	-	-	-	+	-
	2	1 : 3	1 : 3	+++	-	-	-	-	-	-
	3	1 : 1	1 : 3	++	+	+	-	-	-	+
	4	1 : 2	1 : 3	++	+	+	-	-	+	-
K III 12 Mo.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	n.b.	n.b.	n.b.						
	3	1 : 1	1 : 2	-	+	+	+	-	++	-
	4	1 : 2	1 : 3	+	-	-	-	-	-	-
I 25 d p.i.	1	1 : 1	1 : 3	+	+	-	+	-	+	-
	2	1 : 2	1 : 2	++	+	-	-	-	+	-
	3	1 : 1	1 : 3	+	+	-	-	-	++	-
	4	1 : 1	1 : 3	-	+	-	-	-	-	-
II 45 d p.i.	1	1 : 1	1 : 2	++	-	-	-	-	-	-
	2	1 : 1	1 : 2	+	+	-	-	-	+	-
	3	1 : 1	1 : 1	++	+	-	-	-	-	-
	4	1 : 1	1 : 2	-	-	-	-	-	-	-
III 73 d p.i.	1	1 : 1	1 : 2	+	-	-	-	-	+	-
	2	1 : 2	1 : 2	++	-	-	-	-	-	-
	3	1 : 1	1 : 2	+	-	-	-	-	-	-
	4	1 : 1	1 : 3	+++	+	-	-	-	+	-
IV 142 d p.i.	1	1 : 1	1 : 2	+	-	-	-	-	-	-
	2	1 : 1	1 : 2	+++	-	-	-	-	+	-
	3	1 : 2	1 : 3	-	-	-	-	-	-	-
	4	1 : 2	1 : 1	++	-	-	-	-	-	-
V 247 d p.i.	1	1 : 1	1 : 1	++	+	-	+	+	+	-
	2	1 : 1	1 : 2	++	+	-	-	+	+++	-
	3	1 : 1	1 : 3	++	+	-	+	++	++	-
	4	1 : 1	1 : 2	+	-	-	-	-	-	-
VI 345/ 352 d p.i.	1	1 : 1	1 : 2	++	-	+	++	+	+	-
	2	1 : 1	1 : 2	-	-	+	+	++	+	-
	3	1 : 2	1 : 2	++	+	+	+	+	++	-
	4	1 : 1	1 : 2	++	+	++	-	++	+	-

T. musc. = Tunica muscularis; MP = Makrophagen; FB = unterschiedlich ausgereifte Fibroblasten; LZ = Lymphozyten; PZ = Plasmazellen; MZ = Mastzellen; AZ II = Alveolarepithelzellen Typ II; n.b. = nicht beurteilbar; d p.i. = Tage post infectionem

#### 3.2.2.4 Befunde der Pleura

Die Aufstellung der Befunde der Pleura hinsichtlich Ausbildung von Lamina propria serosae und Mikrovilli, Form der Mesothelzellen, Anzahl der Zellagen zwischen Lamina propria serosae und Mesothel sowie Verteilungsmuster der Pleuraproliferationen und ihrer Vaskularisation durch Lymphgefäße liefert Tab. 5e:

Die Pleura der Kontrolltiere bestand aus einem einschichtigen Mesothel (Abb. 3 und 13). Die flachen Mesothelzellen besaßen sehr lang ausgezogene spindelförmige Kerne mit einer Größe von etwa  $1 \times 12 \mu\text{m}$  und einem dunkelblauen Kernrand. Das Nukleoplasma wies in der Mitte eine mehr hell- bis mittelblaue Färbung auf. Weder im Zytoplasma noch im Nukleoplasma fanden sich lichtmikroskopisch erkennbare Materialablagerungen. Bereits 25 Tage p.i. hypertrophierten die Mesothelzellen, von denen die meisten eine flache und einzelne schon eine kuboide Gestalt aufwiesen, wobei die Dickenzunahme auf die Kernregion begrenzt erschien. Einzelne Mesothelzellen ließen mitotische Teilungsfiguren erkennen. Die Mesothelzellen waren 45 Tage p.i. teilweise noch flach, aber im Vergleich zum Bild 25 Tage nach der Infektion zeigten sie häufiger eine kuboide Form (Abb. 14). Die 73 Tage p.i. größtenteils kuboiden Mesothelzellen besaßen nur undeutlich erkennbare Zellkerne, die von viel Zytoplasma umgeben waren. Ab 142 Tagen p.i. wurden die Mesothelzellen wieder flacher, wobei aber auch bis zuletzt herdförmig kuboide Zellen erhalten blieben. Im gesamten Untersuchungszeitraum wiesen die infizierten Vielzitzenmäuse, soweit dies lichtmikroskopisch beurteilbar war, eine einschichtige Anordnung der Mesothelzellen auf.

Der Besatz von Mikrovilli der Mesothelzellen war bei den Kontrolltieren nur andeutungsweise erkennbar. Die Mikrovilli schienen 25 Tage p.i. deutlich vermehrt und verlängert zu sein. Bereits ab 45 Tagen p.i. waren die Mikrovilli zwar noch vermehrt und verlängert aber weniger auffällig. Eine weitere Reduktion konnte bis 73 Tagen p.i. festgestellt werden. Dann blieb das Erscheinungsbild bis 247 Tagen p.i. annähernd konstant. Am letzten Untersuchungstermin wurde bei zwei von vier Tieren der Ausgangsbefund der Kontrolltiere erreicht.

Die Abgrenzung der Pleura pulmonalis zum Lungenparenchym erfolgte durch die im basalen Bereich der Pleura lokalisierte Lamina propria serosae, die aufgrund ihres Fasergehaltes bei fast allen Tieren zu allen Untersuchungszeitpunkten als prominente helle Linie auffiel (Abb. 13). Ihre deutliche Erkennbarkeit war entscheidend für die Beurteilung der Pleuraproliferationen hinsichtlich Anzahl der Zellagen und Charakter der zellulären Infiltration.

Die Ausbildung von geringgradigen herdförmigen Pleuraproliferationen war bereits 25 Tage p.i. bei Tier Nr. 3 feststellbar. Alle *Mastomys* wiesen 45 Tage p.i. herdförmige mittel- bis hochgradige Proliferationen auf, die im Mittel aus drei bis vier Zellagen bestanden (Abb. 14). Lichtmikroskopisch entstand der Eindruck, daß es hierzu durch eine zelluläre Infiltration zwischen dem im gesamten Versuchsverlauf einschichtig bleibenden aber hypertrophen Mesothel und der Lamina propria serosae gekommen war. Die nodulären Pleuraproliferationen zweier Vielzitzenmäuse (Tier Nr. 1 und 4, 45 Tage p.i.) zeigten einzelne optisch leere dünnwandige Gefäße mit einem Durchmesser von etwa 6 µm, bei denen es sich um Lymphgefäße gehandelt haben dürfte. Auch kamen einige lichtmikroskopisch nicht weiter ansprechbare Zellen mit deutlicher Vakuolisierung des Zytoplasmas vor. Ab 45 Tagen p.i. konnte im apikalen Bereich einzelner Proliferationen eine schaumige Beschaffenheit des Interzellularbereiches erkannt werden (Abb. 14). Diese war wahrscheinlich Ausdruck einer fokalen Lockerung des Zellverbandes. Neben den 73 Tage p.i. vorkommenden, im Mittel zwischen drei und acht Zellagen aufweisenden Pleuraproliferationen fanden sich einzelne Proliferationen mit 15 und 30 Zellagen (Tier Nr. 3, Abb. 15 und 16 und Tier Nr. 4). Im Vergleich zum vorherigen Untersuchungszeitpunkt kam es bei mehr Zellen zur Bildung größerer Vakuolen. Auch waren mehr Lymphgefäße, die keinen zellulären Inhalt besaßen, zu beobachten (Abb. 15 und 16). Ab 142 Tagen p.i. konnte eine mittel- bis hochgradige Vaskularisation durch Lymphgefäße festgestellt werden, die einzelne Lymphozyten und Makrophagen enthielten und sehr oberflächlich gelegen waren (Abb. 17). Das Tier Nr. 3 zeigte einzelne auf der Pleuraoberfläche befindliche Makrophagen. Die Anzahl der Zellagen im Bereich der herdförmigen Proliferationen nahm zu, um das Maximum der arithmetischen Mittelwerte mit 23 Lagen 142 Tage p.i. zu erreichen. Ab diesem Zeitpunkt kam es auch zu mehr oder weniger regelmäßig anzutreffenden diffusen Proliferationen. Damit einhergehend überstieg auch die Zahl der Zellagen der Pleura, errechnet als arithmetischer Mittelwert der Zellagen in Bereichen ohne fokale Proliferate bzw. der wenigsten Zellagen bei diffuser Verdickung der Pleura, den Wert 1. Die diffusen Proliferationen erreichten ihre stärkste Ausbildung mit im Mittel 46 Zellagen 247 Tage p.i., wobei die Tiere Nr. 2, 3 und 4 ausschließlich diffuse Proliferationen erkennen ließen. Anschließend nahm die Zahl der Zellagen der Proliferationen deutlich ab, so daß 345 bzw. 352 Tage p.i. wieder mehr herdförmige Pleurafortsätze vorkamen, die im Mittel etwa neun Zellagen aufwiesen (Abb. 20).

Tab. 5e Befunde der Pleura bei *L. sigmodontis*-infizierten *M. coucha*

Gruppe	Tier Nr.	Lamina propria serosae	Mikrovilli	Mesothelzellform		Zelllagen	Proliferationen		
				flach	kuboid		herdf.	diffus	Vask.
K I 3 Mo.	1	+	+	+++	-	1	-	-	-
	2	++	+	+++	-	1	-	-	-
	3	++	+	+++	-	1	-	-	-
	4	++	+	+++	-	1	-	-	-
K II 6 Mo.	1	+++	+	+++	+	1	-	-	-
	2	++	+	+++	-	1	-	-	-
	3	+++	+	+++	+	1	-	-	-
	4	+++	+	+++	+	1	-	-	-
K III 12 Mo.	1	+++	+	+++	-	1	-	-	-
	2	++	+	+++	+	1	-	-	-
	3	++	+	+++	-	1	-	-	-
	4	+++	+	+++	+	1	-	-	-
I 25 d p.i.	1	+++	+++	+	+	1	-	-	-
	2	+++	+++	++	++	1	-	-	-
	3	+++	+++	++	+	1	+/5	-	-
	4	+++	+++	++	+	1	-	-	-
II 45 d p.i.	1	+++	+++	++	++	1	++/3	-	+
	2	+++	++	+	+++	1	+++/3	-	-
	3	+++	++	++	+	1	++/4	-	-
	4	+++	+++	+	++	1	++/4	-	+
III 73 d p.i.	1	++	++	+	++	1	++/3	+/2	-
	2	+++	++	+	+++	1	++/5	-	++
	3	+++	++	+	++	1	+++/8	-	++
	4	+++	++	++	++	1	+++/6	-	+
IV 142 d p.i.	1	+	++	+++	+	13	++/23	++/22	+++
	2	+++	++	++	+	5	+++/23	+/10	++
	3	++	+++	+	++	1	+++/17	-	++
	4	++	++	+	+	3	+++/16	-	++
V 247 d p.i.	1	+++	++	++	+	5	++/12	++/37	+++
	2	+++	++	+	+	5	-	+++/46	++
	3	+++	++	++	+	3	-	+++/20	+
	4	+++	+++	+++	+	5	-	+++/22	+++
VI 345/ 352 d p.i.	1	+++	++	++	+	1	++/6	++/21	+++
	2	++	+	+++	+	2	++/6	++/4	++
	3	++	+	+++	-	1	+++/10	-	+++
	4	++	++	+++	+	3	++/13	++/22	++

herdf. = herdförmig; Vask. = Vaskularisation durch Lymphgefäße;

/Zahl = arithmetischer Mittelwert der Anzahl der Zellagen der Proliferationen;

d p.i. = Tage post infectionem

Einen Überblick über die zellulären Infiltrate der Pleura und des subpleuralen Parenchyms sowie über den Gehalt von Bindegewebe bietet Tab. 5f:

Die Größe der Alveolarlumina des subpleuralen Bereichs war insgesamt gesehen größeren Schwankungen unterworfen. So besaßen einzelne Tiere aus verschiedenen Sektionsterminen nur wenig kleinere Lumina mit unwesentlich verbreiterten Septen (Abb. 14 und 20). Andere Tiere zeigten dagegen enge Alveolarlumina und dickere Septen (Abb. 15, 17 und 18).

Die Pleura der Kontrolltiere wies mit Ausnahme des Tieres Nr. 4 der Kontrollgruppe II keine Infiltrate auf. Dieses Tier enthielt einzelne morphologisch AZ II gleichende Zellen in der Pleura.

Im unmittelbar der Pleura angrenzenden subpleuralen Lungenparenchym fanden sich bei den nicht infizierten Vielzitzenmäusen wenige AZ II, die bei den älteren Kontrollen etwas zahlreicher auftraten (Abb. 3 und 13). Das Parenchym der älteren Kontrolltiere erschien subpleural dichter beziehungsweise atelektatischer als bei den Kontrolltieren der 3 Monate-Gruppe. Allen Kontrolltieren gemeinsam waren die subpleural vereinzelt vorkommenden Makrophagen und Fibrozyten. Lymphozyten und Plasmazellen konnten nicht nachgewiesen werden.

Die Befunde der *Mastomys* der Untersuchungszeitpunkte 25 und 45 Tage p.i. entsprachen weitgehend denen der Kontrolltiere. Die Pleura beziehungsweise die sich bildenden Proliferationen wiesen einzelne Makrophagen und unterschiedlich ausgereifte Fibroblasten auf. Zudem fand sich 45 Tage p.i. Bindegewebe in geringer Menge zwischen den apikalen Zellen.

Die Mesothelzellen ließen die Ablagerung dunkelblauer, im Durchmesser etwa 1 µm großer Pigmente in geringer Menge erkennen. Diese Pigmente waren bis zum Versuchsende nachweisbar.

Die Alveolarsepten erschienen 25 Tage p.i. geringgradig verdickt. Dieses Phänomen war besonders subpleural in Bereichen mit kleineren Alveolarlumina zu beobachten, über denen sich knotige Pleuraproliferationen befanden. Zudem bestand der Eindruck, daß sich der Gehalt von Bindegewebe und die Zytoplasmamenge einzelner Zellen dieser Septen geringgradig erhöht hatten. Im subpleuralen Bereich fiel eine geringgradige Vermehrung von Makrophagen

auf. Ab dem 45. Tag p.i. wurde die subpleurale Ablagerung eines homogenen blaugrünen Materials in Kugelform sichtbar, bei dem es sich um Lipidtropfen gehandelt haben dürfte.

Der Gehalt von Makrophagen und unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten nahm pleural und subpleural bis 73 Tagen p.i. zu, um dann mit Werten zwischen gering- und mittelgradig bis zum Ende der Untersuchung stabil zu bleiben (Abb. 15, 17, 18 und 19).

Mit der Infiltration der Pleura durch Zellen, die morphologisch Alveolarepithelzellen Typ II entsprechen, verhielt es sich ähnlich (Abb. 16, 17 und 18). Im subpleuralen Bereich kamen AZ II 73 und 142 Tage p.i. in mittlerer Menge vor (Abb. 18), danach lagen sie mit geringen Werten im Bereich der Kontrollen.

Der Bindegewebsgehalt der Pleuraproliferationen erreichte 73 Tage p.i. sein relatives Maximum (Abb. 15 und 16), um sich zu den folgenden Terminen bei mittelgradigen Gehalten zu stabilisieren (Abb. 19), die aber deutlich oberhalb der Kontrollen lagen. Das, wie bei Tier Nr. 3, 73 Tage p.i., Abb. 15, hochgradig nachweisbare Bindegewebe war besonders im Bereich der Spitzen der villösen Pleuraproliferationen lokalisiert.

In der Pleura waren Lipidablagerungen erstmals 73 Tage p.i. auffindbar, im subpleuralen Bereich konnten sie im Vergleich zum vorherigen Untersuchungstermin etwas häufiger beobachtet werden. Die Lipide ließen sich in der Pleura und subpleural bis zum Versuchsende nachweisen.

Die ab 73 Tagen p.i. in der Pleura vorkommenden Plasmazellen bildeten 142 und 247 Tage p.i. hochgradige Infiltrate (Abb. 19). Anschließend war ein Absinken des Plasmazellgehaltes feststellbar. Im subpleuralen Gewebe fanden sich Plasmazellen erstmals 73 Tage p.i. vereinzelt bei Tier Nr. 1. Ab 247 Tagen p.i. zeigten fast alle Tiere Plasmazellen in geringer Menge.

Die Pleura wies ab 73 Tagen p.i. bis zum Versuchsende geringgradig Lymphozyten auf (Abb. 15). Subpleural kamen Lymphozyten nur vereinzelt während der beiden letzten Untersuchungszeitpunkte vor.

Mastzellen konnten in den Pleuraproliferationen zuerst bei Tier Nr. 3 und 4, 73 Tage p.i. nachgewiesen werden. Zu allen weiteren Terminen waren sie in geringer Zahl erkennbar, wobei 142 und 247 Tage p.i. auch ein mittlerer Gehalt vorlag.

Bei Tier Nr. 2, 247 Tage p.i. enthielten zahlreiche der in den Pleuraproliferationen gelegenen Makrophagen intrazytoplasmatische Ablagerungen, die Erythrozytenfragmenten glichen. Daher war von einer Erythrophagozytose auszugehen.

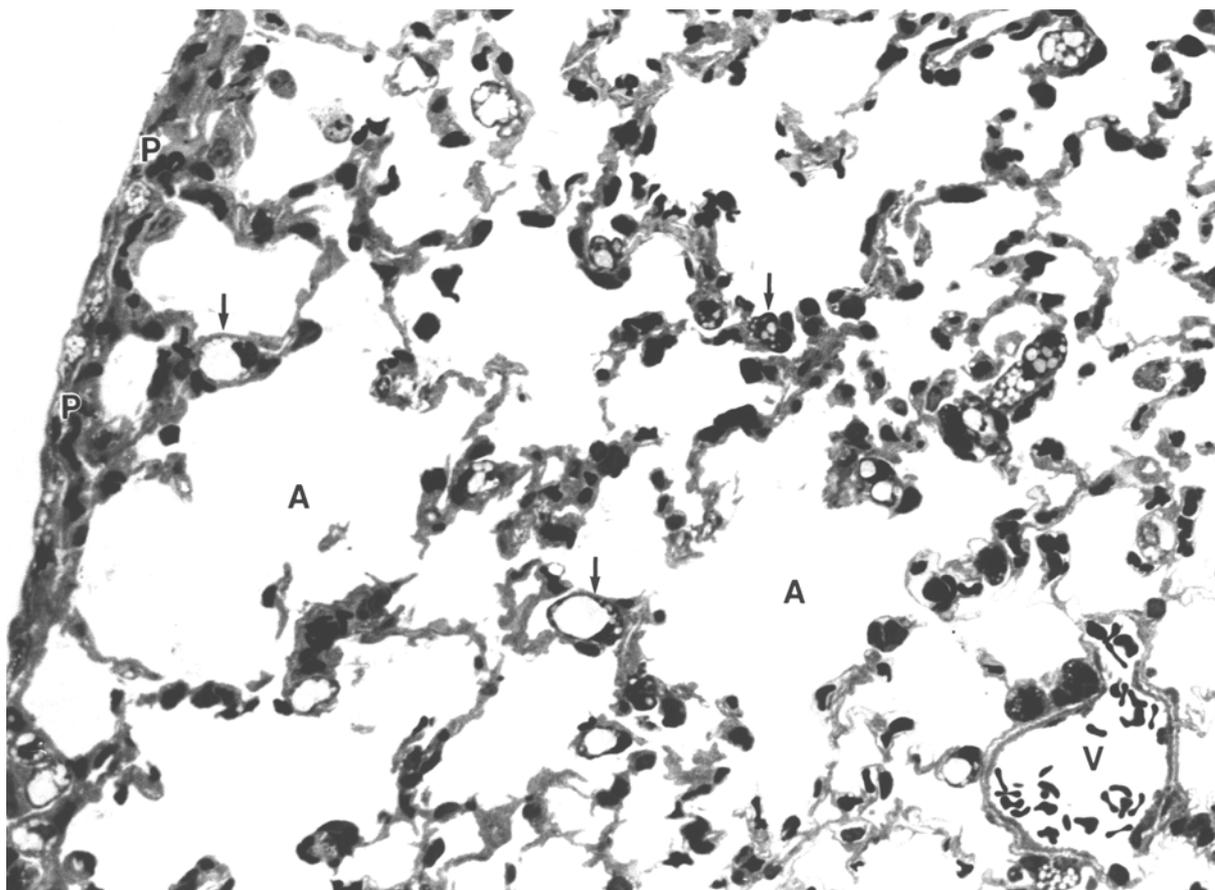
Tab. 5f Pleurale und subpleurale Befunde bei *L. sigmodontis*-infizierten *M. coucha*

Gruppe	Tier Nr.	Pleura bzw. -proliferationen							subpleural					
		MP	FB	LZ	PZ	MZ	„AZ II“	BD	MP	FB	LZ	PZ	AZ II	„D.“
K I 3 Mo.	1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-
	2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
K II 6 Mo.	1	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
	4	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+
K III 12 Mo.	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	++
	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
I 25 d p.i.	1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	++	-	-	-	+	++
	3	+	+	-	-	-	+	+	+	++	-	-	+	++
	4	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	++
II 45 d p.i.	1	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+
	2	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
	3	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+
	4	-	+	-	-	-	-	+	++	-	-	-	++	+++
III 73 d p.i.	1	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	++
	2	+	+	+	-	-	+	++	+	+	-	-	+	+++
	3	+	+	+	+	+	+	+++	++	+	-	-	++	++
	4	+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	++	+
IV 142 d p.i.	1	+	++	+	+++	+	++	+++	+	+	-	+	++	+++
	2	+	+	+	++	+	++	++	+	+	-	-	++	+++
	3	+	+	+	+	+	++	++	-	+	-	-	+	+
	4	+	+	+	++	++	++	++	+	++	-	-	+	++
V 247 d p.i.	1	+	+	+	+++	++	++	++	-	+	-	-	+	++
	2	+	++	+	+++	++	+	++	++	+++	+	++	+	+++
	3	+	+	+	+++	+	++	++	+	+	-	+	+	++
	4	+	++	+	+++	+	+	++	-	+	+	+	+	++
VI 345/ 352 d p.i.	1	+	+	+	+	+	++	++	+	+	+	+	+	+
	2	-	+	-	+	+	+	++	+	+	-	+	+	+
	3	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
	4	+	++	+	+++	+	++	+++	+	+	-	-	+	+++

MP = Makrophagen; FB = unterschiedlich ausgereifte Fibroblasten; LZ = Lymphozyten; PZ = Plasmazellen; MZ = Mastzellen; „AZ II“ = morphologisch Alveolarepithelzellen Typ II gleichende Zellen; BD = Bindegewebe; AZ II = Alveolarepithelzellen Typ II; „D.“ = Dichte des Lungenparenchyms (breite Septen, gering entfaltete Alveolarlumina); d p.i. = Tage post infectionem

### 3.2.2.5 Abbildungen

**In den gedruckten Exemplaren sind alle Vergrößerungsangaben um 32 % zu verringern.**

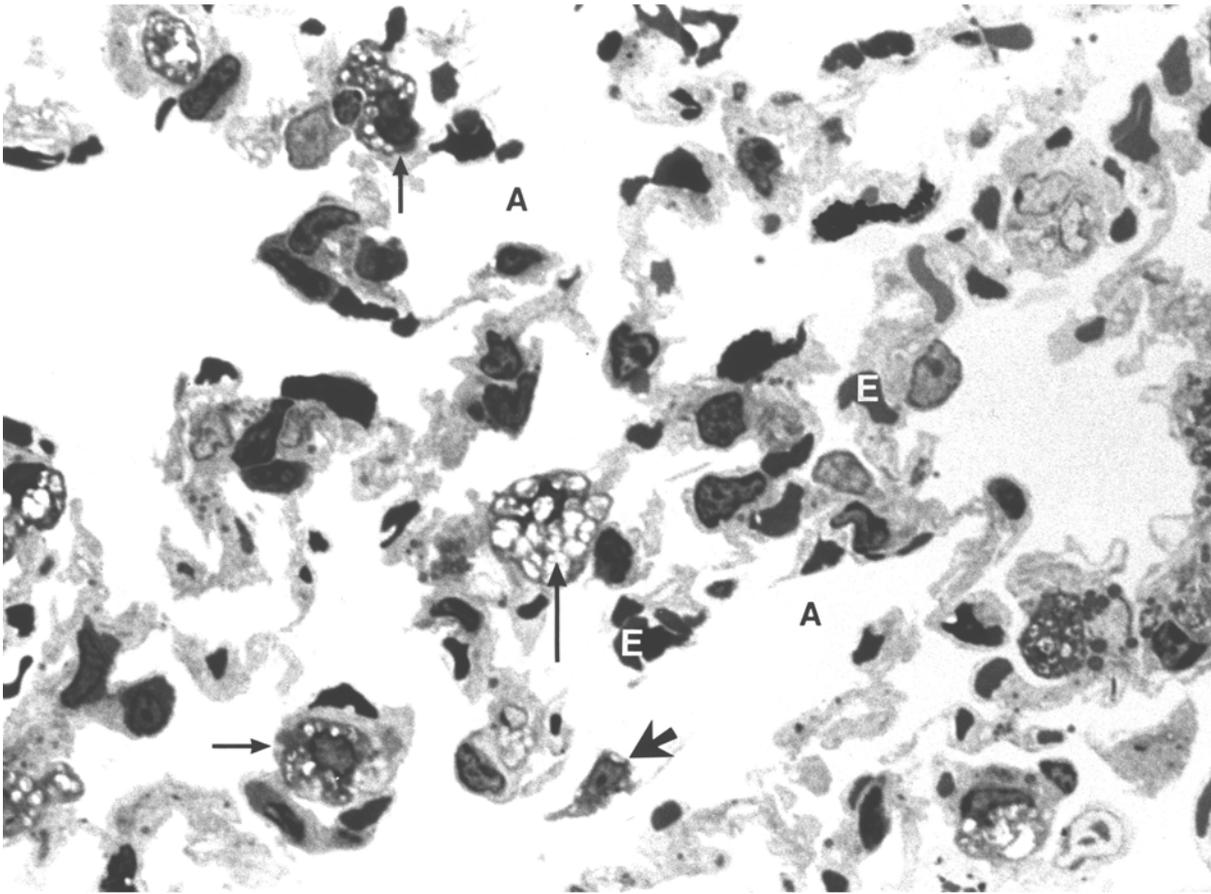


**Abb. 3:**

Lungenparenchym mit in den Nischen der Alveolarlumina (A) gelegenen AZ II (Pfeile) mit für Vielzitzenmäusen typischen teils großen Lamellarkörperchen (siehe auch Abb. 4); einzelne Erythrozyten enthaltende Vene (V); fokale Begrenzung durch Pleura (P).

Gruppe K III, 12 Monate, Tier Nr. 2

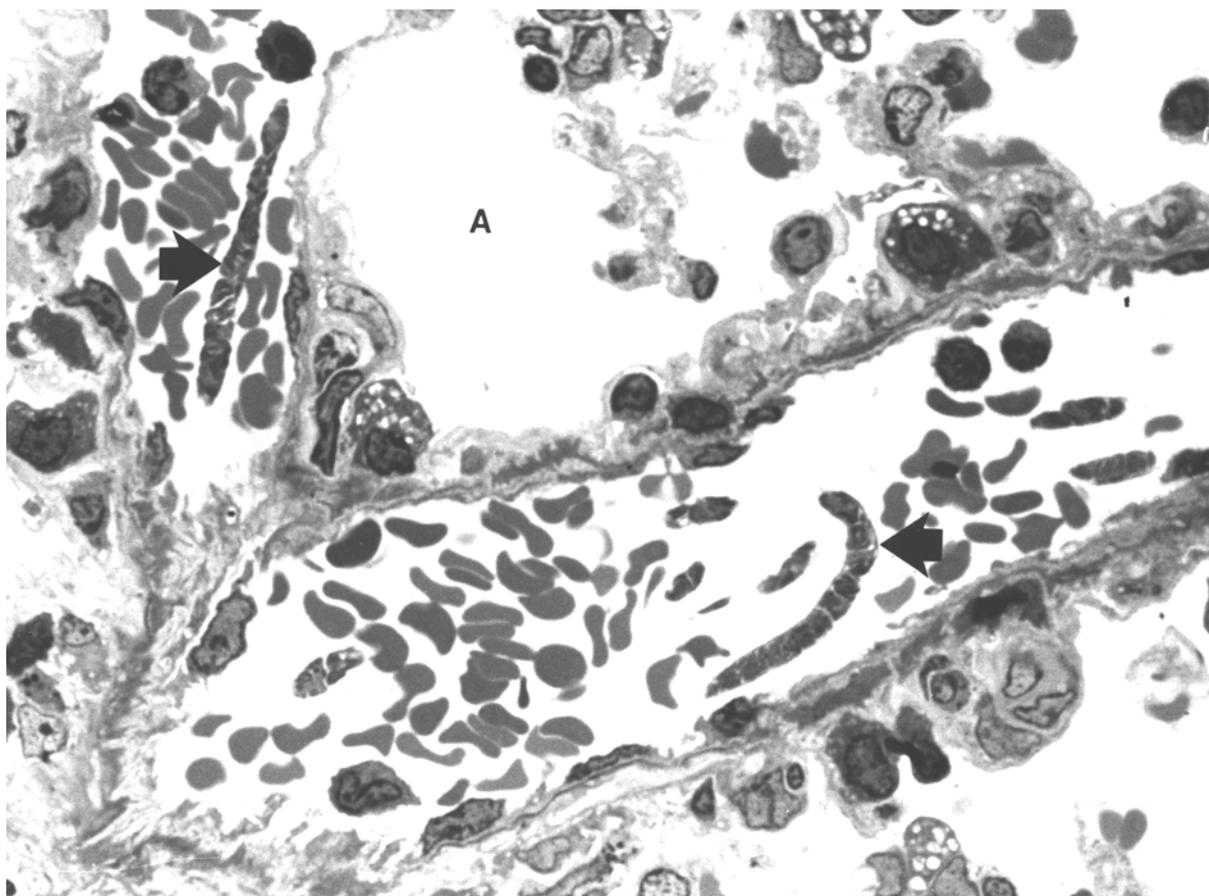
Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 510 x

**Abb. 4:**

In den Nischen der Alveolarlumina (A) gelegene AZ II (kurze dünne Pfeile) mit teils großen homogenen Lamellarkörperchen (langer dünner Pfeil); Alveolarmakrophage (dicker Pfeil); Erythrozyt (E).

Gruppe K II, 6 Monate, Tier Nr. 1

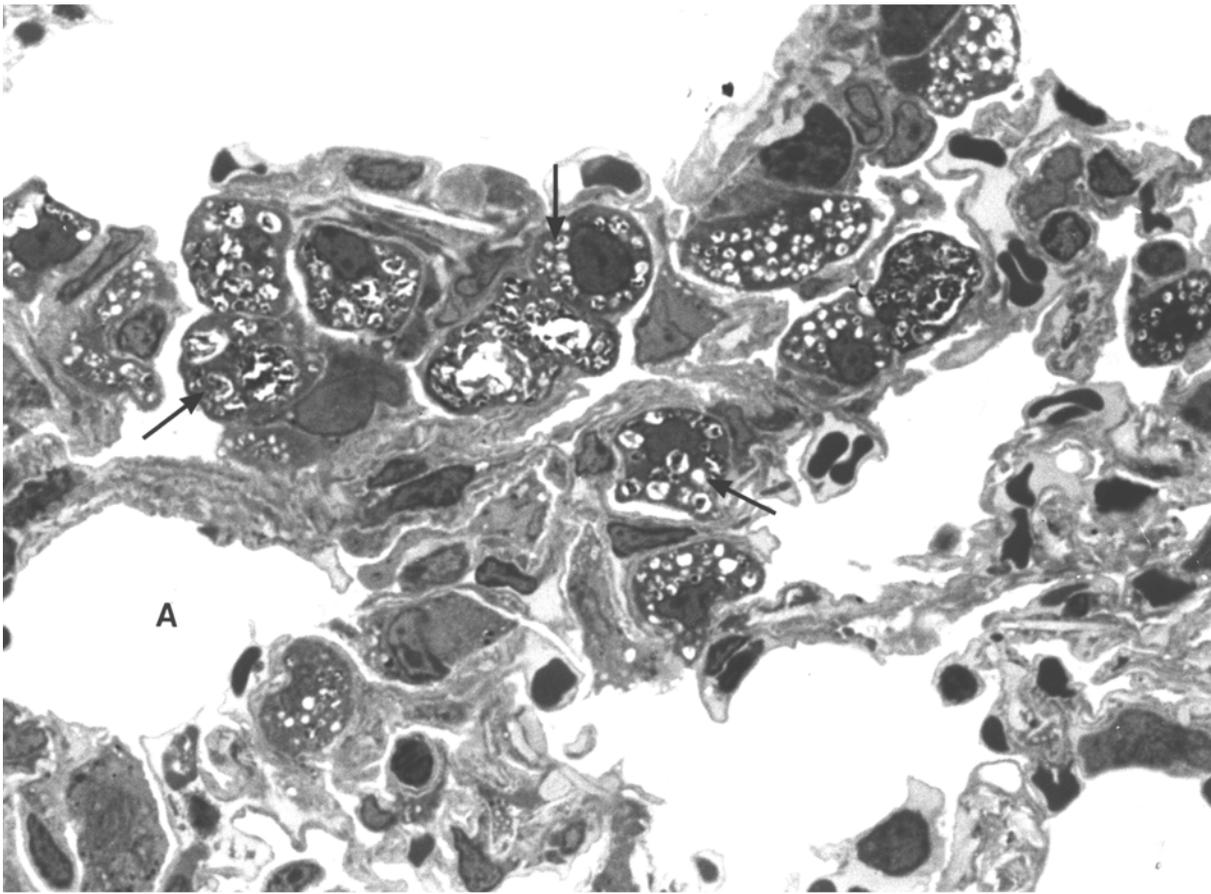
Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 1270 x

**Abb. 5:**

Mikrofilarienanschnitte von *L. sigmodontis* (Pfeile) im Lumen eines venösen Gefäßes; Alveolarlumen (A).

Gruppe IV, 142 Tage p.i., Tier Nr. 2

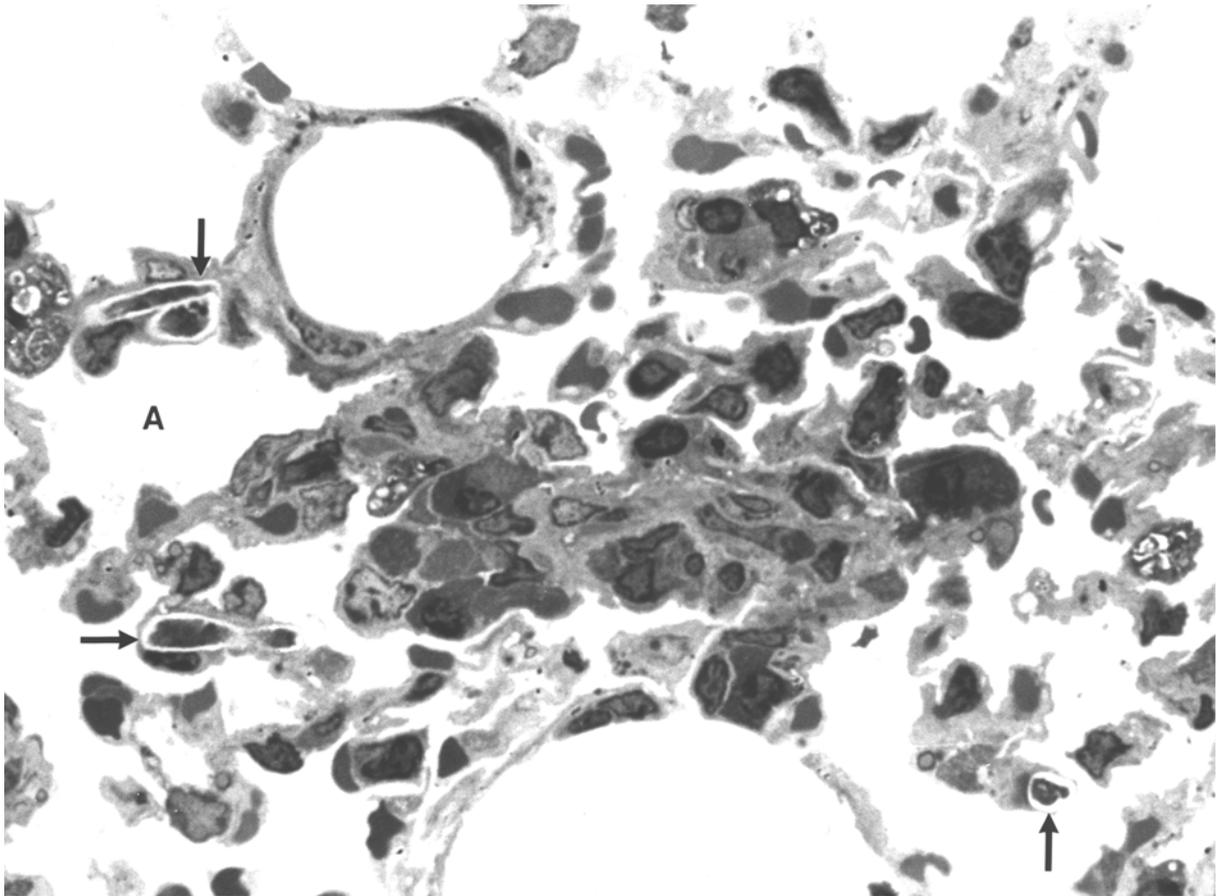
Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 1270 x

**Abb. 6:**

Fokale Vermehrung der AZ II; Lamellarkörperchen (Pfeile) mit deutlicher Strukturierung; Alveolarlumen (A).

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 3

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 1270 x

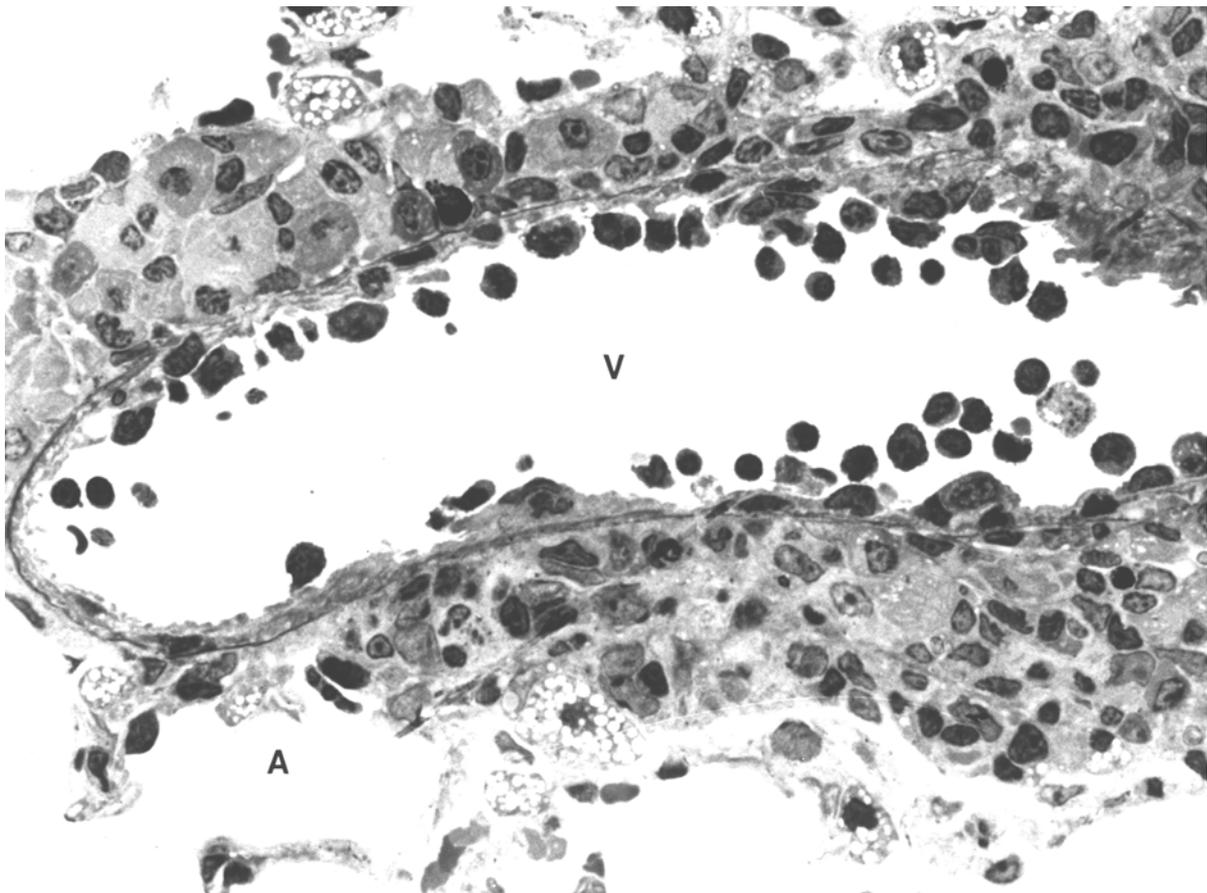


**Abb. 7:**

Lungenparenchym mit herdförmiger Ansammlung von Makrophagen und unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten; in der Umgebung mehrere in Kapillarlumina gelegene Mikrofilarien (Pfeile); Alveolarlumen (A).

Gruppe V, 247 Tage p.i., Tier Nr. 3

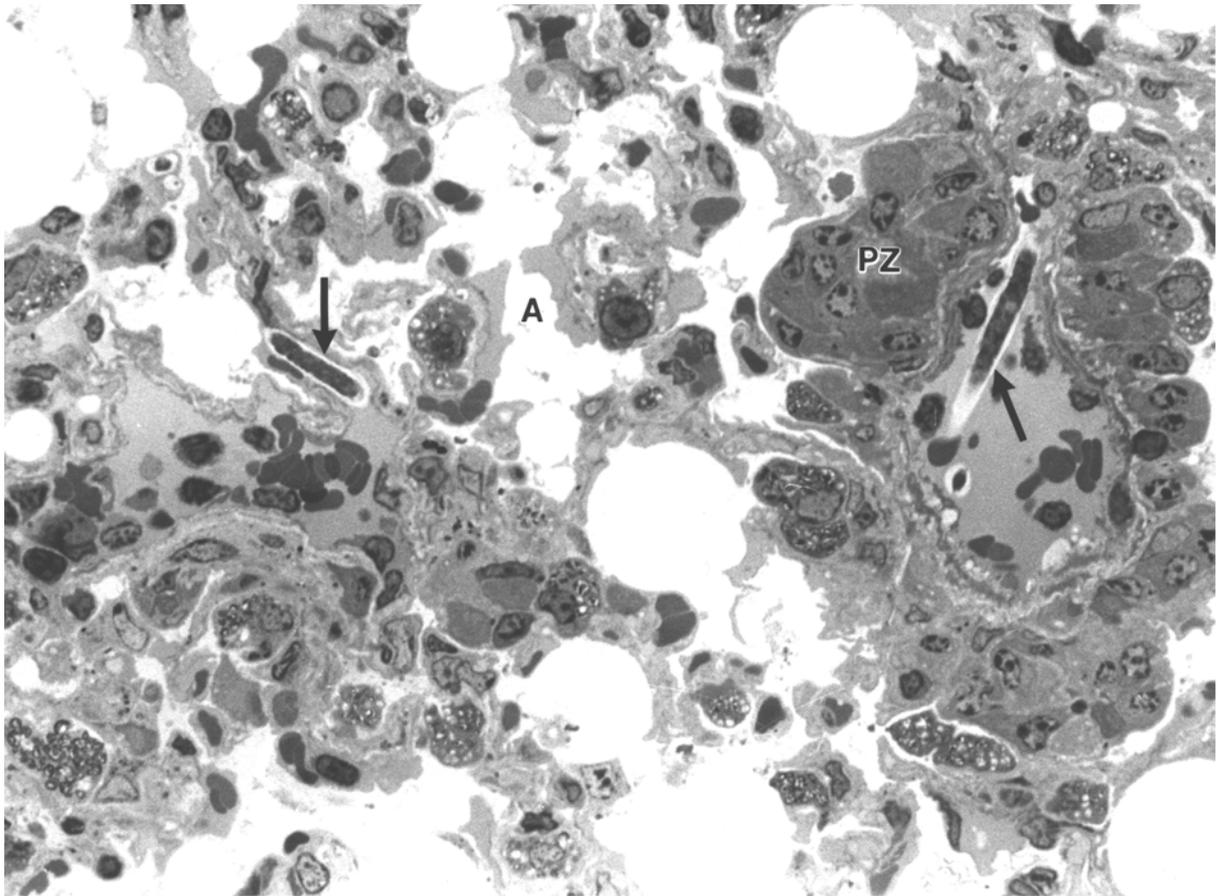
Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 1270 x

**Abb. 8:**

Längsanschnitt eines venösen Gefäßes (V) mit zahlreichen im Gefäßlumen befindlichen teils adhärennten Lymphozyten und Makrophagen; mittelgradige perivaskuläre Ansammlung von Makrophagen, unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten sowie einzelnen Lymphozyten und Plasmazellen; Alveolarlumen (A).

Gruppe IV, 142 Tage p.i., Tier Nr. 4

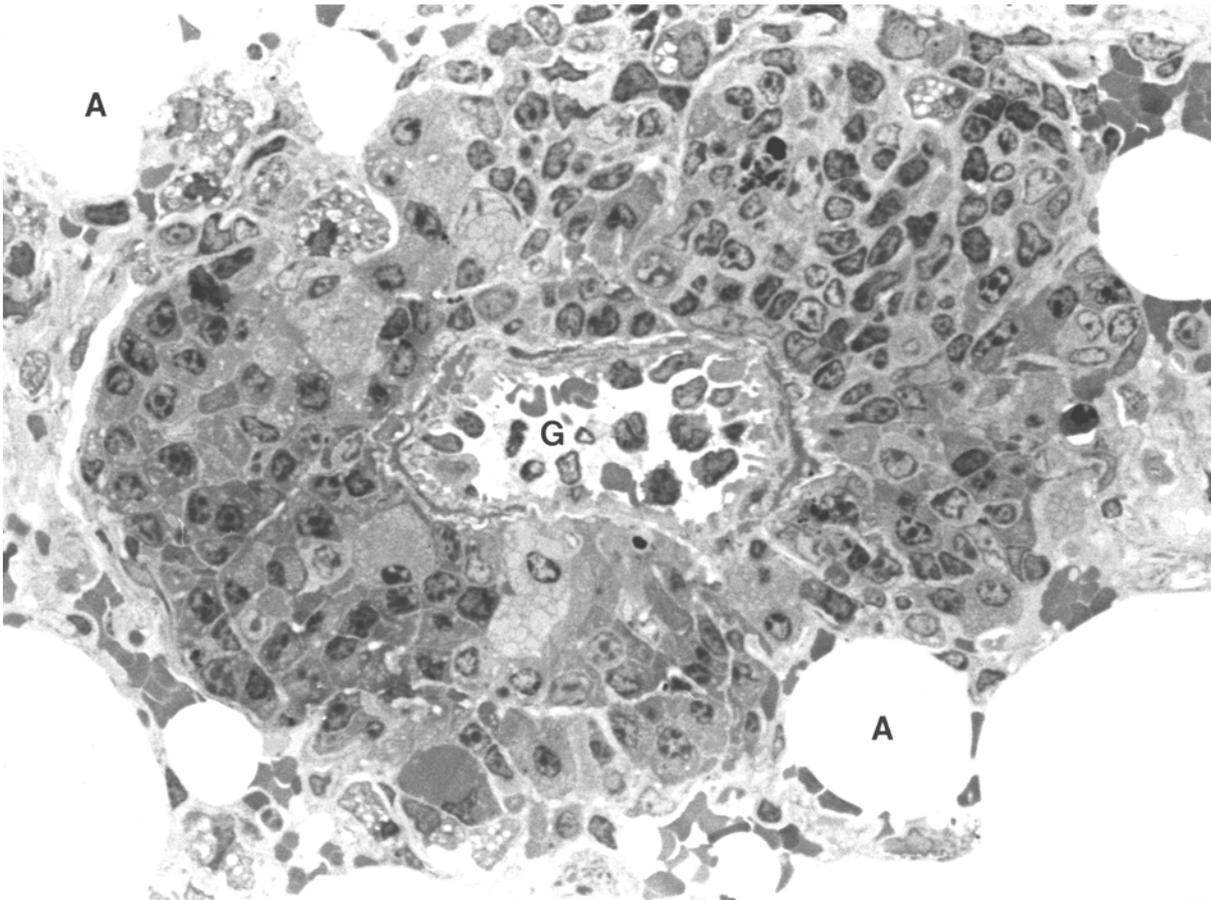
Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 800 x

**Abb. 9:**

Venöse Gefäße mit Mikrofilarien (Pfeile) im Lumen und überwiegend perivaskulären plasmazellulären Infiltraten (PZ); eingengtes Alveolarlumen (A); den Kontrollen entsprechende Anzahl von AZ II.

Gruppe V, 247 Tage p.i., Tier Nr. 3

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 800 x

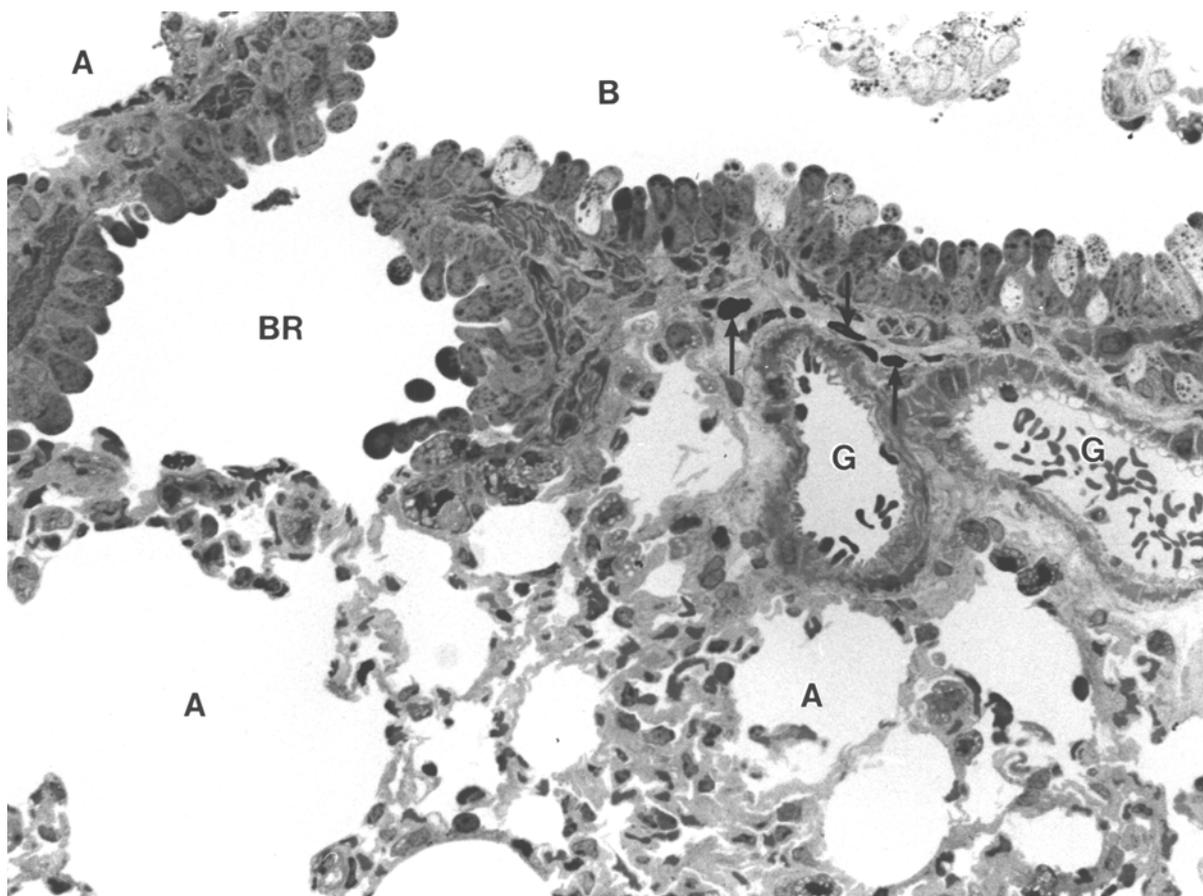


**Abb. 10:**

Manschettenartige perivaskuläre lymphoplasmazelluläre Infiltration; Gefäß (G); Alveolarlumen (A).

Gruppe V, 247 Tage p.i., Tier Nr. 3

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 800 x

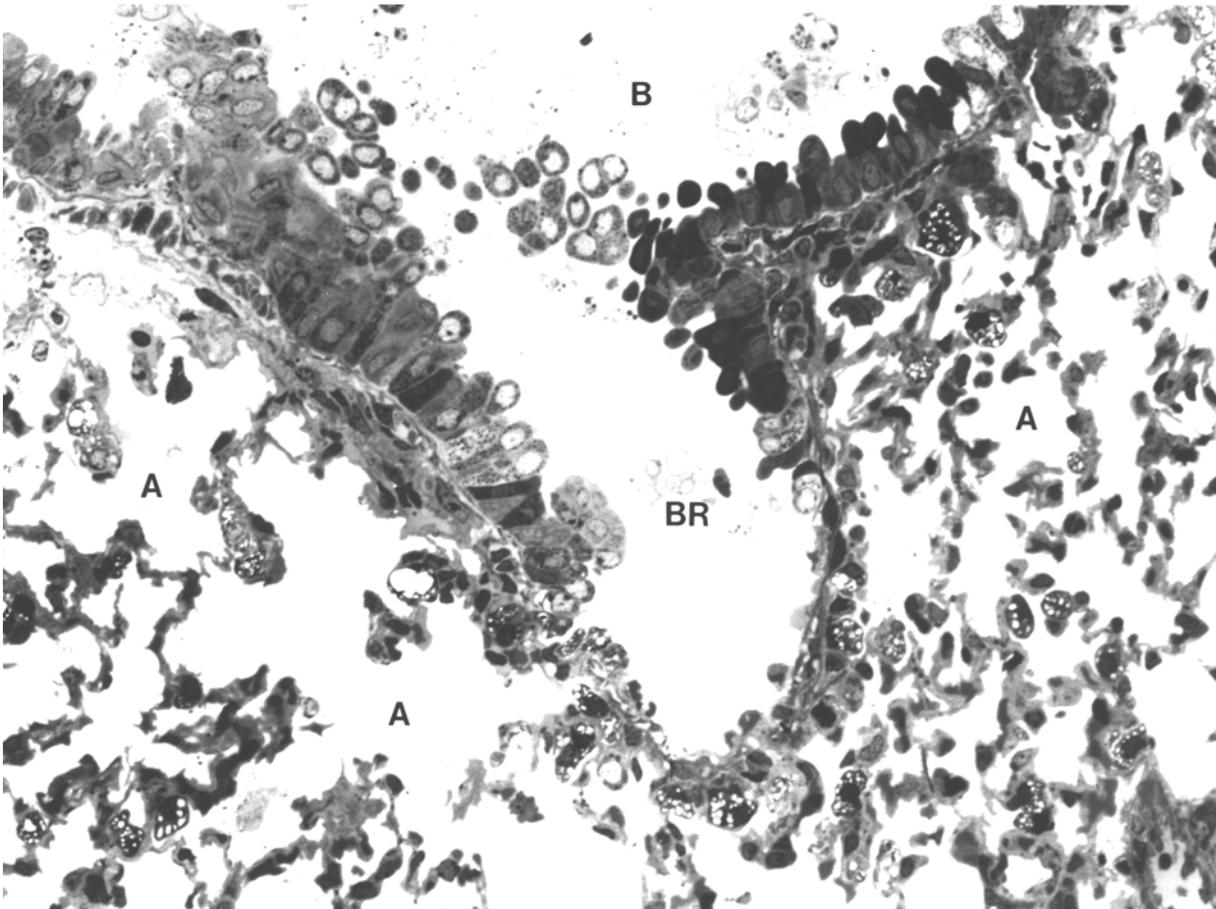


**Abb. 11:**

Längsanschnitt eines Bronchiolus terminalis (B) und Bronchiolus respiratorius (BR) mit entsprechendem Epithel; in der Umgebung mehrere Gefäße (G) und Mastzellen (Pfeile); voll entfaltete Alveolarlumina (A).

Gruppe K I, 3 Monate, Tier Nr. 2

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 510 x

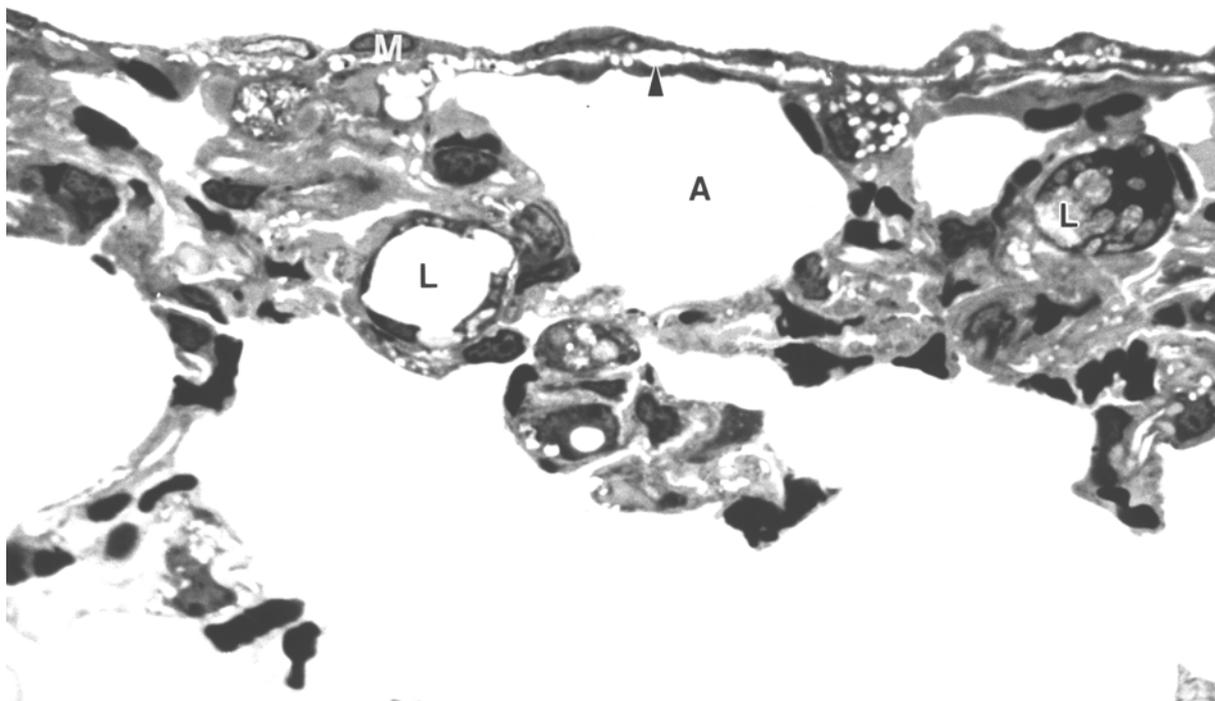
**Abb. 12:**

Längsschnitt durch Bronchiolus terminalis (B) und Bronchiolus respiratorius (BR) mit entsprechendem Epithel und AZ II im umgebenden Lungenparenchym; Alveolarlumen (A).

Merke: am Tag 247 p.i. keine morphologischen Unterschiede zu den Kontrolltieren bei mehreren Tieren.

Gruppe V, 247 Tage p.i., Tier Nr. 4

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 510 x

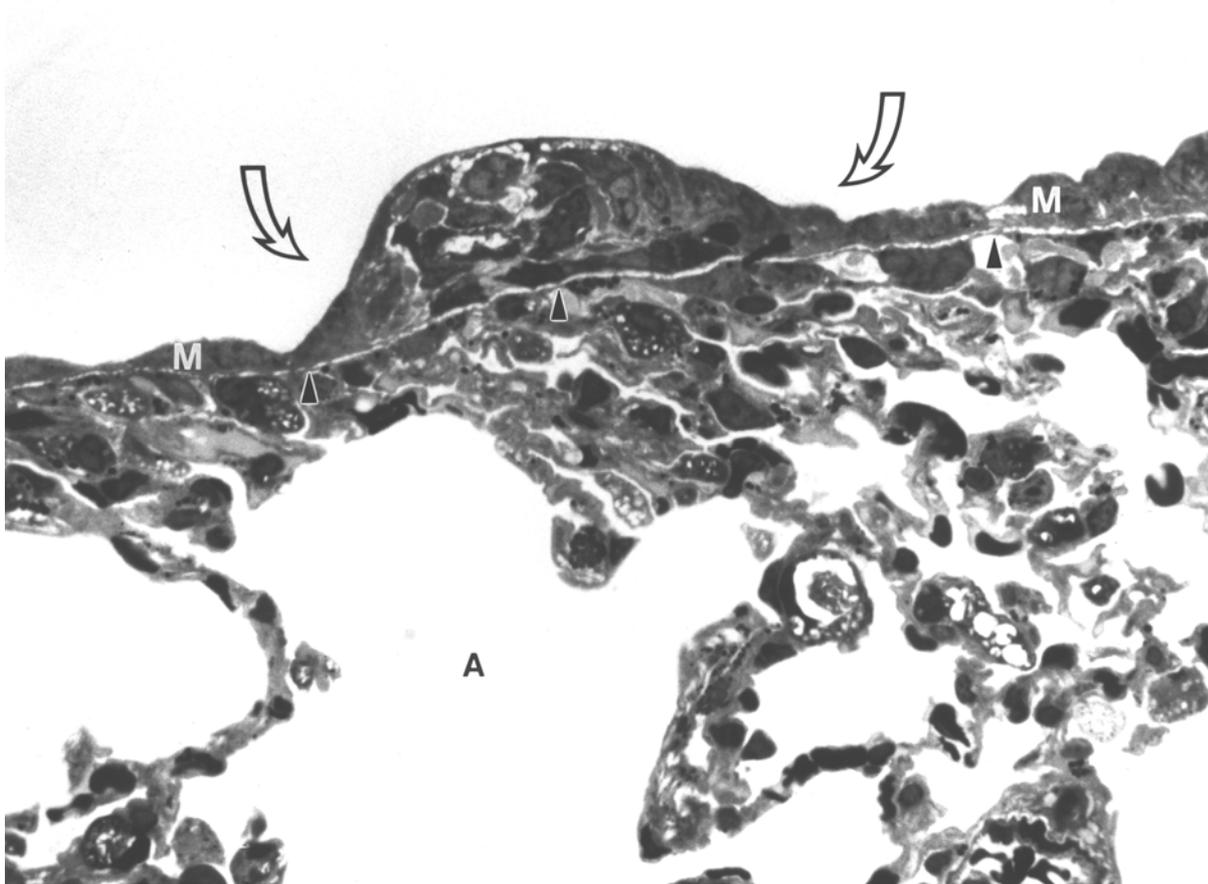


**Abb. 13:**

Pleura eines Kontrolltieres bestehend aus flachen Mesothelzellen (M), aufsitzend auf einer deutlichen Lamina propria serosae (Dreieck); AZ II mit teils großen Lamellarkörperchen (L); Alveolarlumen (A).

Gruppe K III, 12 Monate, Tier Nr. 1

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 1270 x

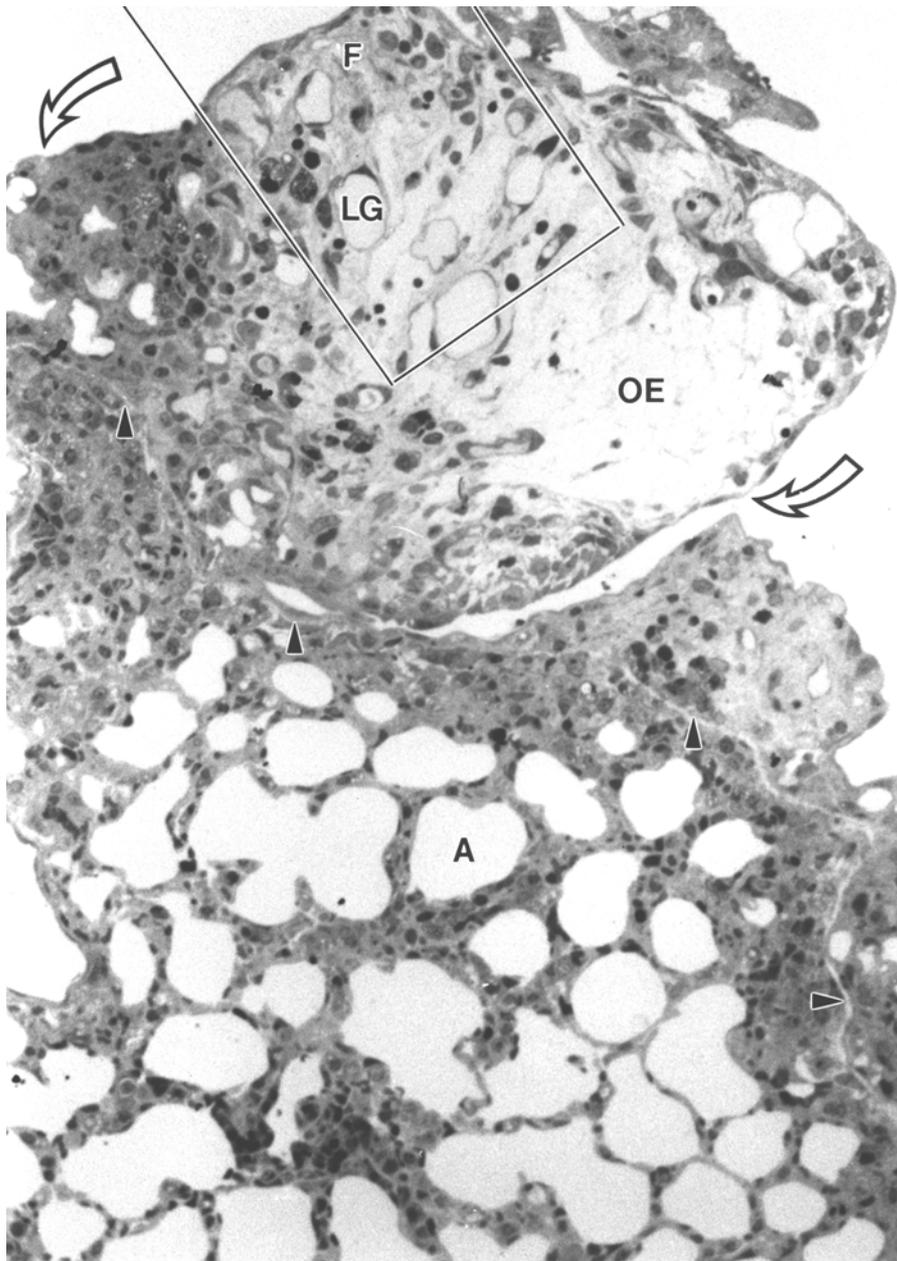


**Abb. 14:**

Pleuraproliferation mit mehreren Zellagen (Pfeile); Hypertrophie der Mesothelzellen (M); Lamina propria serosae (Dreiecke); Alveolarlumen (A).

Gruppe II, 45 Tage p.i., Tier Nr. 2

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 800 x

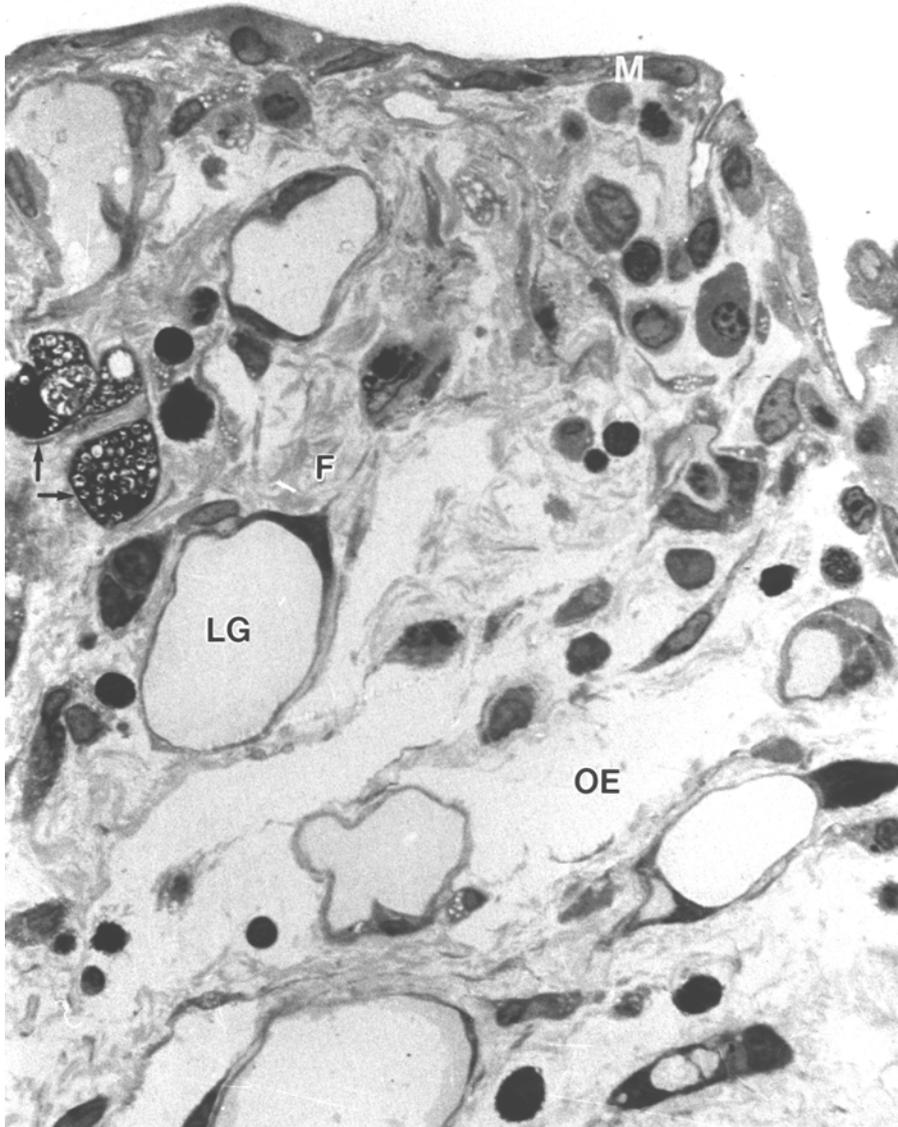


**Abb. 15:**

Herdförmige villöse Pleuraproliferationen (Pfeile) mit apikaler Fibrosierung (F), Dilatation von Lymphgefäßen (LG), Ödematisierung (OE) und geringgradiger lymphoplasmazellulärer Infiltration bei erkennbarer Lamina propria serosae (Dreiecke); Verbreiterung der alveolären Interstitien durch zelluläre Infiltration; Alveolarlumen (A).

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 3

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 250 x

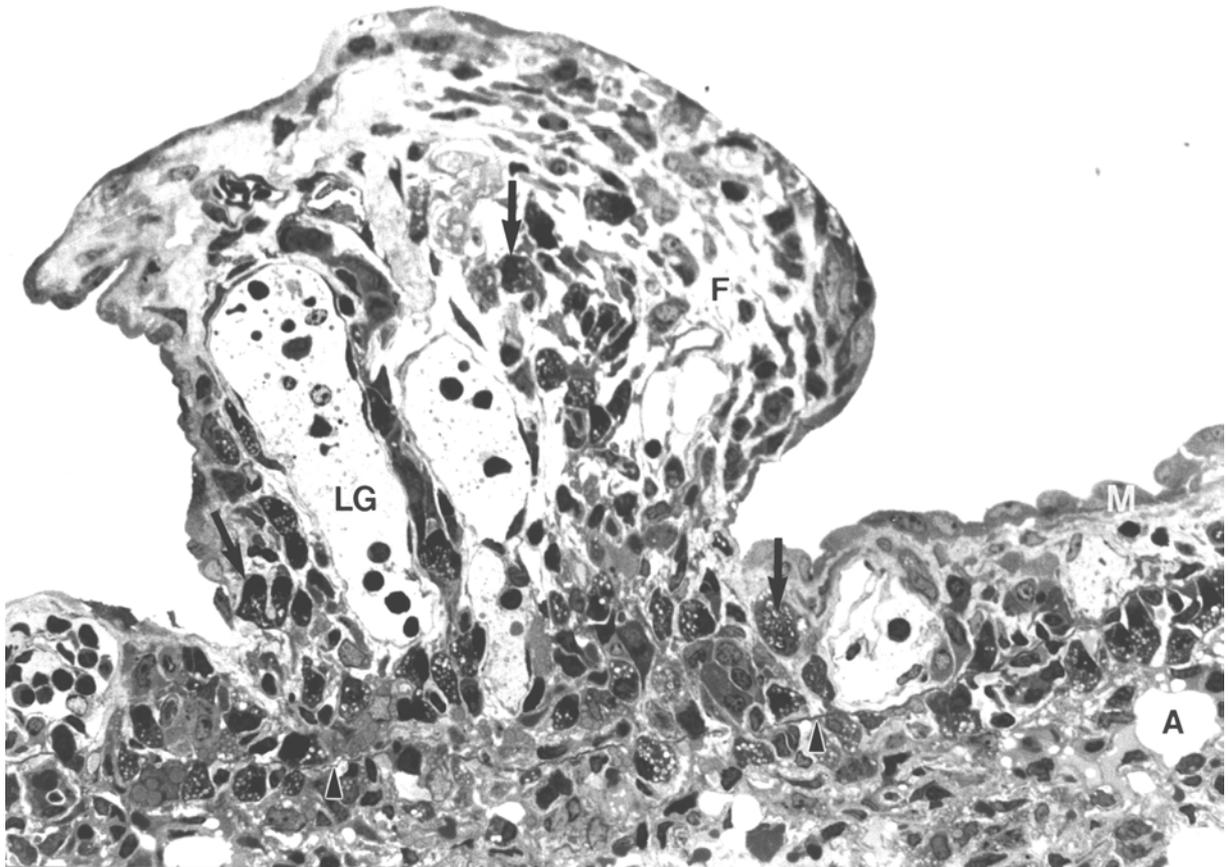


**Abb. 16: Ausschnitt aus Abb. 15**

Pleuraproliferation mit deutlicher Fibrosierung (F), Dilatation von Lymphgefäßen (LG) und Ödematisierung (OE); in der Proliferation einige Zellen mit einer Morphologie entsprechend der von AZ II (Pfeile) und geringgradige Infiltration von einzelnen Lymphozyten und Plasmazellen; Mesothelzelle (M).

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 3

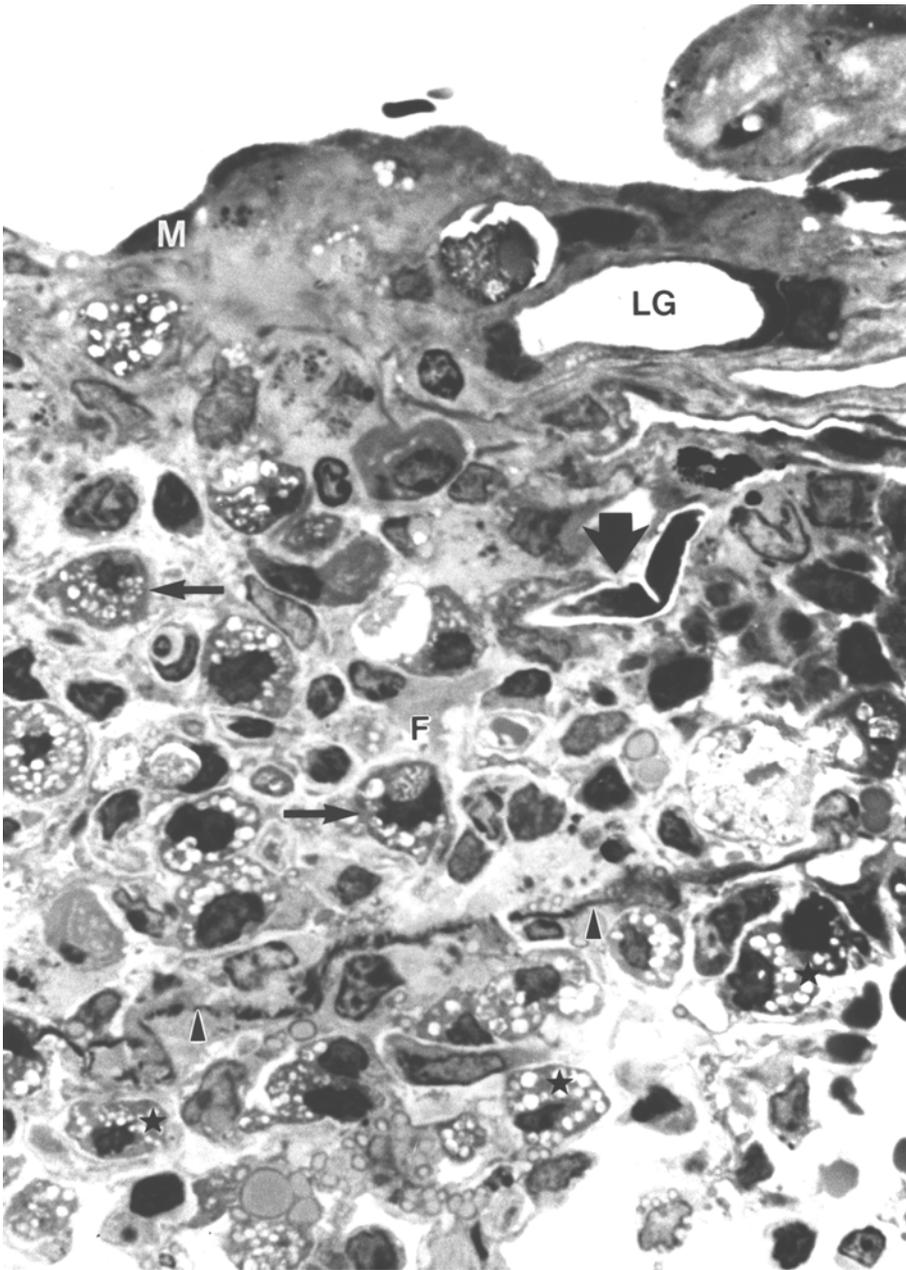
Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 1270 x

**Abb. 17:**

Herdförmige villöse Pleuritis mit geringgradiger lymphoplasmazellulärer Infiltration, dilatierten Lymphgefäßen (LG), gefüllt mit einzelnen Lymphozyten und Makrophagen, und Fibrosierung (F); abschnittsweise kuboide Gestalt der Mesothelzellen (M); oberhalb der Lamina propria serosae (Dreiecke) zahlreiche mit ihren Lamellarkörperchen morphologisch den AZ II entsprechende Zellen (Pfeile); subpleural Verdichtung des Parenchyms durch zelluläre Infiltration des Interstitiums und vermindertem Luftgehalt der Alveolarlumina (A).

Gruppe IV, 142 Tage p.i., Tier Nr. 2

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 510 x

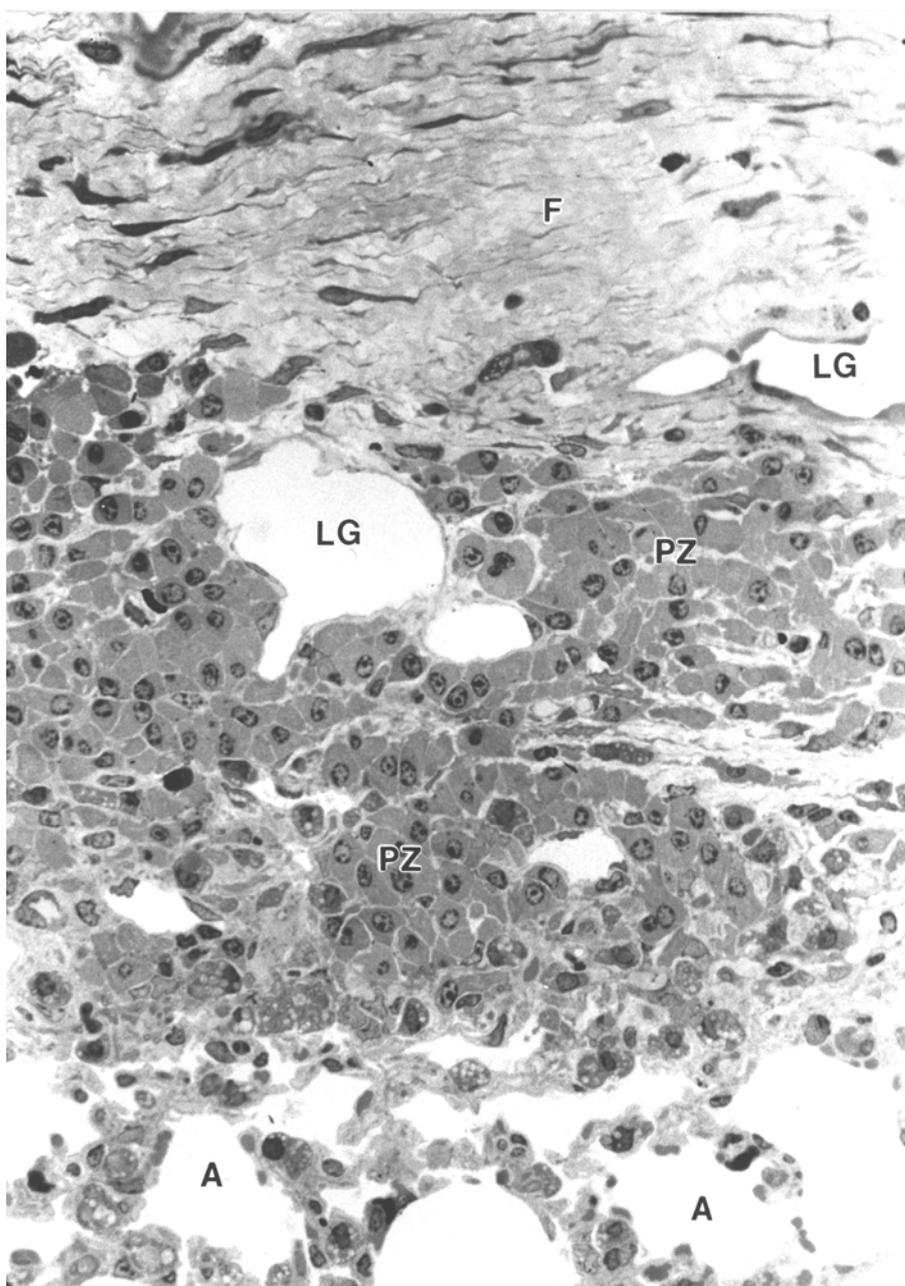


**Abb. 18:**

Hochgradige Pleuritis mit Fibrosierung (F), Dilatation der Lymphgefäße (LG), lymphohistiozytärer Infiltration und Ansammlung von AZ II entsprechenden Zellen (dünne Pfeile); in der Pleura ein Mikrofilarienanschnitt (dicker Pfeil); subpleural Verdichtung des Parenchyms durch geringgradig vermehrte AZ II (Sterne); Mesothelzelle (M); Lamina propria serosae (Dreiecke).

Gruppe IV, 142 Tage p.i., Tier Nr. 3

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 1270 x

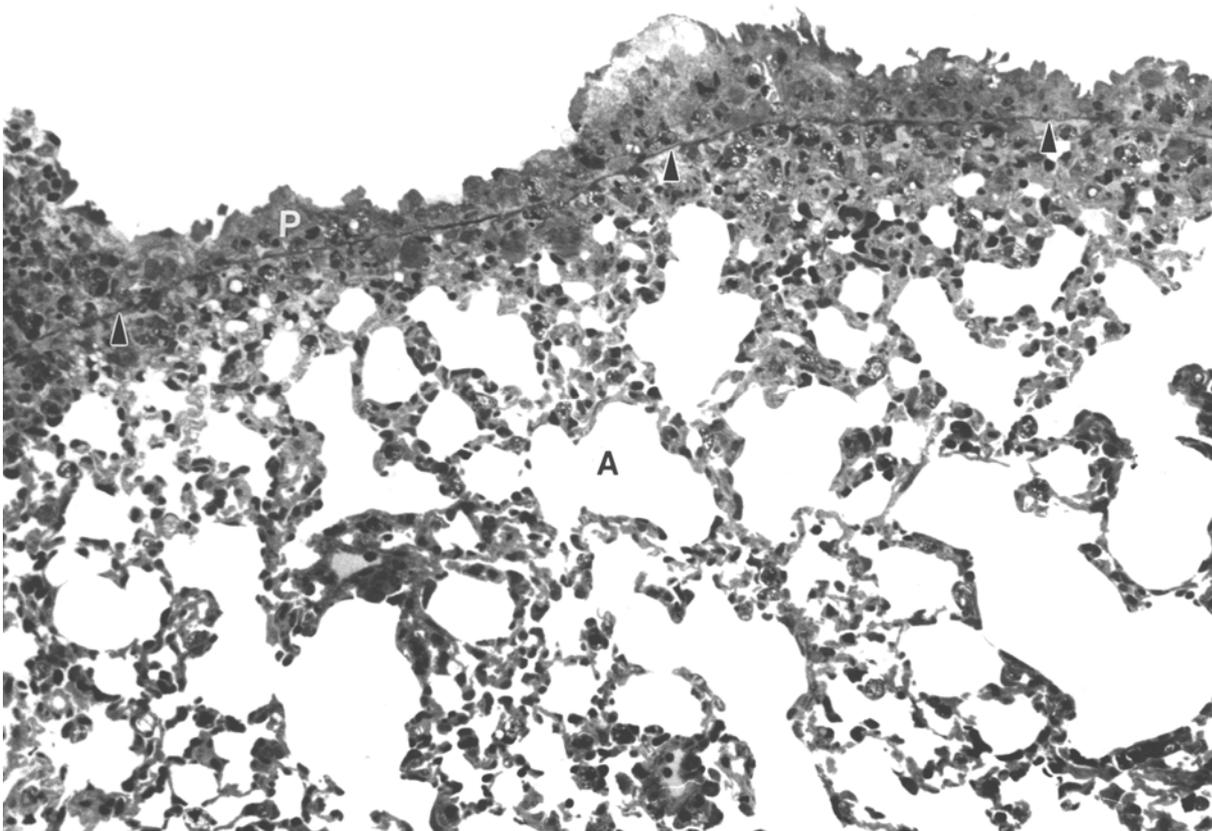


**Abb. 19:**

Ausgeprägte Fibrosierung (F) der Pleura sowie bandartige hochgradige pleurale Infiltration von Plasmazellen (PZ); Dilatation der Lymphgefäße (LG); Alveolarlumen (A).

Gruppe IV, 142 Tage p.i., Tier Nr. 1

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 510 x

**Abb. 20:**

Chronische Pleurafibrose mit kurzen Zotten; Lamina propria serosae (Dreiecke); subpleurale zelluläre Infiltration der Interstitien; Pleura (P); Alveolarlumen (A).

Gruppe VI, 352 Tage p.i., Tier Nr. 4

Semidünnschnitt, Methylenblau-Färbung, Vergrößerung: 250 x

### 3.2.3 Ultrastrukturelle Untersuchung

Das Lungenparenchym der Kontrolltiere wies transmissionselektronenmikroskopisch eine Morphologie auf, die der anderer Säuger weitgehend entsprach. So wurden die Alveolen durch ein Epithel ausgekleidet, das von AZ I mit sehr schlanken Ausläufern und durch AZ II gebildet wurde (Abb. 21 u. 22). Die in den Alveolarlumina gelegenen Zellen konnten als AM verifiziert werden (Abb. 21).

Das Alveolarepithel lag einer Basalmembran auf, die aus der zentralen Lamina densa und der beidseits davon gelegenen Lamina rara bestand. Die äußere Lamina rara stand in Kontakt mit der Basalmembran des Endothels der Kapillaren. Vielfach flossen die beiden Strukturen so zusammen, daß der Eindruck entstand, es habe nur eine Basalmembran zwischen Epithel und Endothel bestanden. Die Dicke dieser Blut-Luft-Schranke betrug ungefähr 0,15 bis 0,35  $\mu\text{m}$  (Abb. 23).

Die Morphologie der AZ II wies bei den Kontrolltieren tier- und lokalisationsabhängige Schwankungen auf. Einige AZ II zeigten Lamellarkörperchen mit einer lamellären Struktur, wobei die Anordnung der Lamellen sehr oft unregelmäßig erschien (Abb. 24 u. 25). An der Zelloberfläche dieser AZ II fand sich ein unregelmäßiger Besatz von fingerförmigen dünn ausgezogenen Mikrovilli (Abb. 24). Jedoch traten häufiger auch größere Lamellarkörperchen auf, die ein wolkiges bis homogenes Material enthielten (Abb. 22 und 24). Die Mikrovilli erschienen in diesen Fällen kurz und stummelförmig. In der Nähe der Mikrovilli ließ sich oftmals ausgeschleustes Surfactant als lamellär geschichtetes Material erkennen (Abb. 24 u. 25).

Bei den infizierten Vielzitzenmäusen fanden sich die nicht lamellierten Lamellarkörperchen gleichfalls (Abb. 26). Einzelne AZ II, die bereits lichtmikroskopisch durch große intrazytoplasmatische Vakuolen auffielen, zeigten ultrastrukturell Lamellarkörperchen, die aus einem großen Hohlraum und wenigen osmiophilen Lamellen bestanden (Abb. 27). Es waren auch bei der ultrastrukturellen Untersuchung keine Anhaltspunkte für eine Hyperplasie der AZ II oder für Atypien der Lamellarkörperchen erkennbar, die mit der Infektion der Tiere im Zusammenhang hätten stehen können.

Ab 73 Tagen p.i. konnten in den Lumina der Gefäße in größerer Zahl Mikrofilarien von *L. sigmodontis* nachgewiesen werden, die zwischen den Erythrozyten lagen (Abb. 28 u. 29). Zu allen Untersuchungsterminen befanden sich die Mikrofilarien nicht nur in größeren Blutgefäßen sondern auch in Kapillaren (Abb. 29). Auch bei der ultrastrukturellen Untersuchung fiel die Scheide der Mikrofilarien zusammen mit dem Material, welches den Spalt zwischen Scheide und Kutikula ausfüllte, als optisch leere osmiophobe Hülle auf (Abb. 28 und 29). Darunter befand sich die geringelt erscheinende Kutikula (Abb. 28 und 29). Im Bereich des inneren Körpers waren Zellkerne erkennbar, die von osmiophilem Zytoplasma umschlossen wurden (Abb. 29).

Vereinzelt wurden eosinophile Granulozyten mit ihrer typischen Kristallstruktur in der Nähe von Mikrofilarien angetroffen (Abb. 30). Das Gefäßendothel wies in enger Nachbarschaft zu den Mikrofilarien keine ultrastrukturellen Veränderungen auf. Die ab 73 Tagen p.i. festgestellte entzündliche Infiltration des perivaskulären Raums konnte ultrastrukturell verifiziert werden, wobei lymphoplasmazelluläre Infiltrate dominierten.

Bei der transmissionselektronenmikroskopischen Untersuchung bestätigte sich, daß die Veränderungen des Lungenparenchyms weitgehend auf den subpleuralen Bereich begrenzt waren. Mit Ausnahme der perivaskulären Infiltrate entsprachen die Befunde in tieferen Schichten des Gewebes weitgehend denen der Kontrolltiere.

Sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei den infizierten *Mastomys* konnten herdförmige geringgradige alveoläre Ödeme nachgewiesen werden.

Im Bereich der Bronchioli waren auch ultrastrukturell keine pathologischen Veränderungen feststellbar. Die zilienträgenden Epithelzellen, die morphologisch denen anderer Säuger entsprachen, wiesen im Vergleich zwischen Kontrolltieren und infizierten Tieren keine Unterschiede auf (Abb. 31). Auch die Clara-Zellen ließen im Infektionsverlauf keine Befunde erkennen. Ihre tierartspezifisch stark variierende Ultrastruktur stellte sich bei der Vielzitzenmaus wie folgt dar: Die Clara-Zellen enthielten in ihren deutlich ausgebildeten apical caps viel glattes endoplasmatisches Retikulum und große osmiophile Granula. Diese Lysosomen kamen in geringer Anzahl auch unterhalb des etwa in der Zellmitte gelegenen Kerns vor. Der Zellkern zeigte eine längsovale Form mit nur einzelnen kleinen Einbuchtungen. Lateral des Zellkerns war der Golgiapparat erkennbar. Die großen

Mitochondrien, die sich überwiegend im apikalen Bereich der Zellen befanden, waren rund bis rundoval mit einzelnen Cristae. Das raue endoplasmatische Retikulum fand sich überwiegend basal.

Die Pleura erwies sich ultrastrukturell als einschichtige Lage von fast ausnahmslos langgestreckten flachen Mesothelzellen mit ebenfalls flachen Kernen (Abb. 32). An der Oberfläche der Mesothelzellen war ein Besatz von einzelnen langen Mikrovilli erkennbar. Es fielen die an der Zelloberfläche gelegenen zahlreichen Vesikel auf, die als Membranreservoir bei Entfaltung der Lunge dienen. Im Zytoplasma waren sowohl zahlreiche große Mitochondrien vom Cristae-Typ nachweisbar als auch rauhes endoplasmatisches Retikulum, das für die Kollagenfibrillensynthese mitverantwortlich ist. Die unterhalb der Mesothelzellen lokalisierte Lamina propria serosae bestand aus einer breiten Schicht von Kollagenfibrillen. Hierbei verliefen die Fibrillen in Bündeln längs und quer zur Schnittfläche (Abb. 32).

Bereits 25 Tage p.i. konnte eine Hypertrophie und Abrundung einzelner Mesothelzellen beobachtet werden, so daß diese Zellen eine längsovale bis kuboide Form annahmen (Abb. 33). Bei stärkerer Vergrößerung (Abb. 34) wurde deutlich, daß es zu einer erheblichen Vermehrung des rauhen endoplasmatischen Retikulums gekommen war, wobei die einzelnen Schläuche dilatiert erschienen und mit einem feinen granulären Material angefüllt waren. Der Golgiapparat war deutlicher erkennbar als bei den Kontrolltieren. Zudem bestand eine Vermehrung der Mitochondrien vom Cristae-Typ. Im Vergleich zu den Kontrollen fanden sich zahlreiche lysosomale Strukturen und Lipidtropfen. Die Zahl und Länge der Mikrovilli hatten deutlich zugenommen.

45 Tage p.i. war eine weitere Vergrößerung der Mesothelzellen nachweisbar, die nun vermehrt eine kuboide Gestalt angenommen hatten. Die Menge des rauhen endoplasmatischen Retikulums entsprach ungefähr der nach 25 Tagen p.i. Dagegen schien sich der Gehalt von lysosomalen Strukturen und Lipidtropfen gesteigert zu haben.

Die bereits ab 45 Tagen p.i. zu beobachtende Ausbildung von größeren abgerundeten Pleuraproliferationen verstärkte sich 73 Tage p.i. (Abb. 35). Die Proliferationen basierten 45 Tage p.i. auf einer Hypertrophie der Mesothelzellen und einer Infiltration von einzelnen Makrophagen und unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten. Im Zytoplasma der Mesothelzellen dominierte das teilweise hochgradig dilatierte raue endoplasmatische

Retikulum mit intraluminal gelegenen feinkörnigen Material (Abb. 36). Einzelne Mesothelzellen enthielten sehr große intrazytoplasmatische Lipidvesikel, der Gehalt an Mitochondrien entsprach dem des vorhergehenden Untersuchungszeitpunktes. Die Mikrovilli der Mesothelzellen waren im Vergleich zu den vorhergehenden Untersuchungszeitpunkten in etwa gleicher Häufigkeit vorhanden (Abb. 37).

In den Proliferationen fanden sich ab 73 Tagen p.i. unter anderem einzelne sogenannte „AZ II ähnliche Zellen“, die oberhalb der Kollagenfaserschicht lagen, welche die Lamina propria serosae ausmachte (Abb. 35). Somit handelte es sich nicht um Anschnitte von Alveolen. Die Ultrastruktur dieser Zellen unterschied sich nicht von der von AZ II im Lungenparenchym, denn auch sie wiesen intrazytoplasmatisch gelegene Strukturen auf, die sich wie teilweise deutlich geschichtete Lamellarkörperchen darstellten (Abb. 35).

Im Vergleich zu den vorhergehenden Untersuchungszeitpunkten konnten ober- und unterhalb der Lamina propria serosae ab diesem Zeitpunkt vermehrt Lipidtropfen in Zellen nachgewiesen werden, bei denen es sich um einzelne Mesothelzellen und Makrophagen (Abb. 39) handelte.

Insbesondere im apikalen Bereich der Pleuraproliferate war eine deutliche fokale Neubildung von Bindegewebe feststellbar (Abb. 37). Diese partiell flächenhafte Fibrosierung der Pleura blieb bis zum Versuchsende bestehen.

Hauptsächlich in den Pleuraproliferationen, aber auch submesothelial fanden sich ab 73 Tagen p.i. geringgradig vermehrt Entzündungszellen. Hierbei handelte es sich um Plasmazellen mit ihrem typischen Ergastoplasma, die ab 142 Tagen p.i. in großer Zahl anzutreffen waren (Abb. 38). Darüber hinaus konnten auch einzelne eosinophile Granulozyten nachgewiesen werden (Abb. 37). Die vermehrt intrapleural vorkommenden Mastzellen besaßen zahlreiche osmiophile Granula in ihrem Zytoplasma, die gegen eine Degranulation sprachen (Abb. 39).

In der Pleura gelang 142 Tage p.i. der Nachweis von abgestorbenen Mikrofilarien, die nicht innerhalb des Gefäßlumens sondern zwischen zahlreichen Entzündungszellen lagen. Diese Zellen enthielten vermehrt rauhes endoplasmatisches Retikulum, jedoch auch Lipidtropfen und osmiophile lysosomale Strukturen. Daher dürfte es sich um aktivierte Makrophagen gehandelt haben, die möglicherweise mit der Phagozytose von abgestorbenen Mikrofilarien beschäftigt waren (Abb. 40).

Im weiteren Infektionsverlauf war eine Abflachung der Mesothelzellen erkennbar, die 247 Tage p.i. fast wieder ihre anfängliche längliche Form aufwies. Damit einhergehend erfolgte eine Reduktion der Zellorganellen. Die Verkürzung der Mikrovilli ließ sich ultrastrukturell bestätigen. Angrenzend an die Mesothelzellen war weiterhin eine breite Fibrosierungszone der

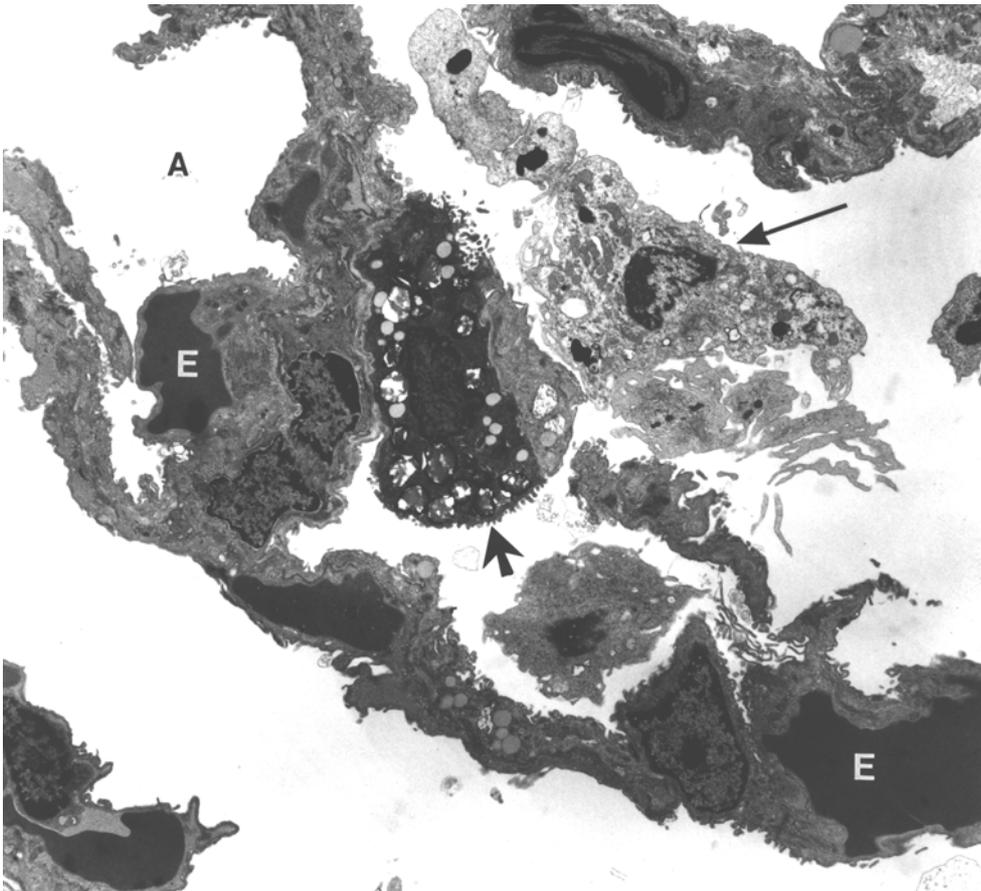
Pleura vorhanden. Die in die Pleuraproliferationen eingelagerten Makrophagen enthielten intrazytoplasmatisch zahlreiche osmiophile Vesikel (Abb. 41). Wahrscheinlich handelte es sich hierbei um Hämosiderin.

Die ab 45 Tagen p.i. bis zum Versuchsende hin lichtmikroskopisch nachweisbaren optisch oft leeren Areale im apikalen Bereich der Pleuraproliferationen konnten bei der ultrastrukturellen Untersuchung als hochgradig dilatierte Lymphgefäße verifiziert werden (Abb. 41). In ihrer Nachbarschaft fanden sich mehrere Makrophagen mit zahlreichen intrazytoplasmatischen Vesikeln und Ablagerungen eines osmiophilen Materials, bei dem es sich um Hämosiderin gehandelt haben dürfte.

Die lichtmikroskopisch ab 45 Tagen p.i. beobachtete schaumige Beschaffenheit des Interzellularbereiches im apikalen Bereich einzelner Pleuraproliferationen beruhte sowohl auf einer ausgeprägten Vakuolisierung des Zytoplasmas als auch auf einem interzellulären Ödem. Hierdurch war es zur Lockerung des Zellverbandes der Pleura gekommen. An der Oberfläche einer derartigen Herdveränderung ließ sich ein dünner Film von Mesothelzellen erkennen, die auch Mikrovilli trugen. Unter diesen Zellen lagen durch Kollagenfibrillen voneinander abgegrenzte Fibrozyten, Makrophagen und Lymphozyten (Abb. 42).

## 3.2.3.1 Abbildungen

In den gedruckten Exemplaren sind alle Vergrößerungsangaben um 32 % zu verringern.

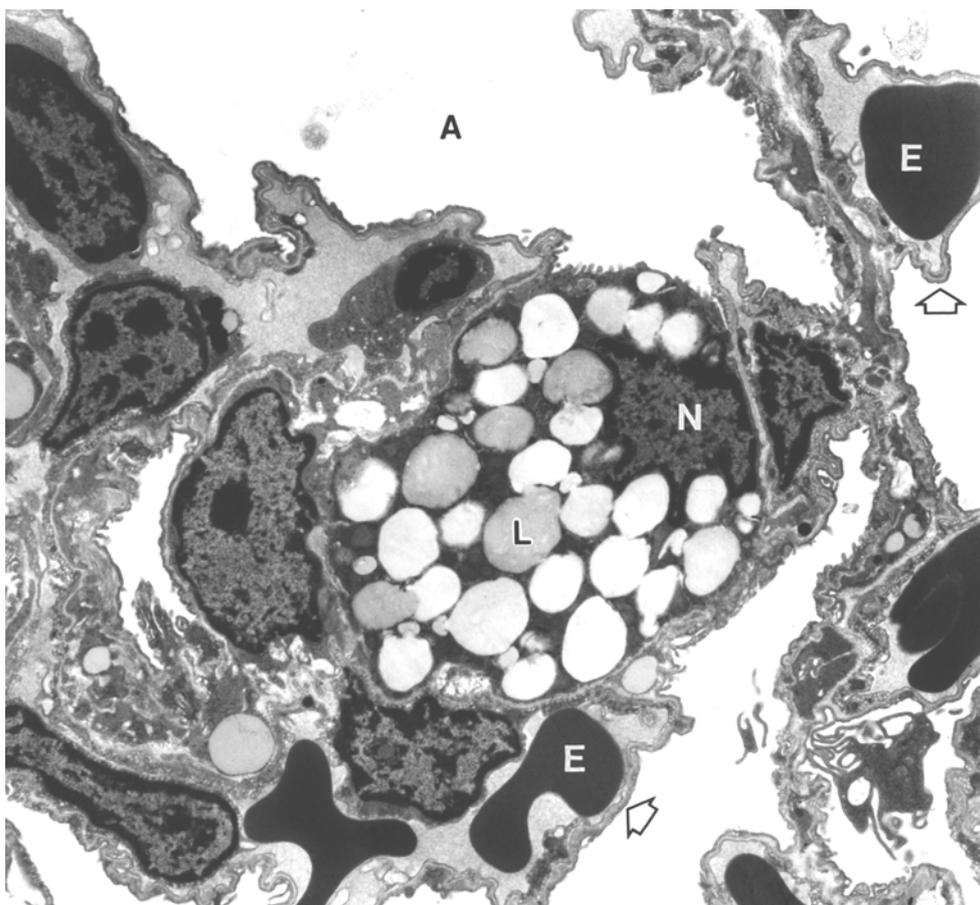


**Abb. 21:**

Lungenparenchym mit schmalen Alveolarsepten, ausgekleidet durch AZ I und AZ II (dicker Pfeil); im Alveolarlumen (A) gelegener Makrophage (dünner Pfeil) mit osmiophilen Vesikeln; Erythrozyt (E) im Kapillarlumen.

Gruppe K I, 3 Monate, Tier Nr. 2

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 4000 x

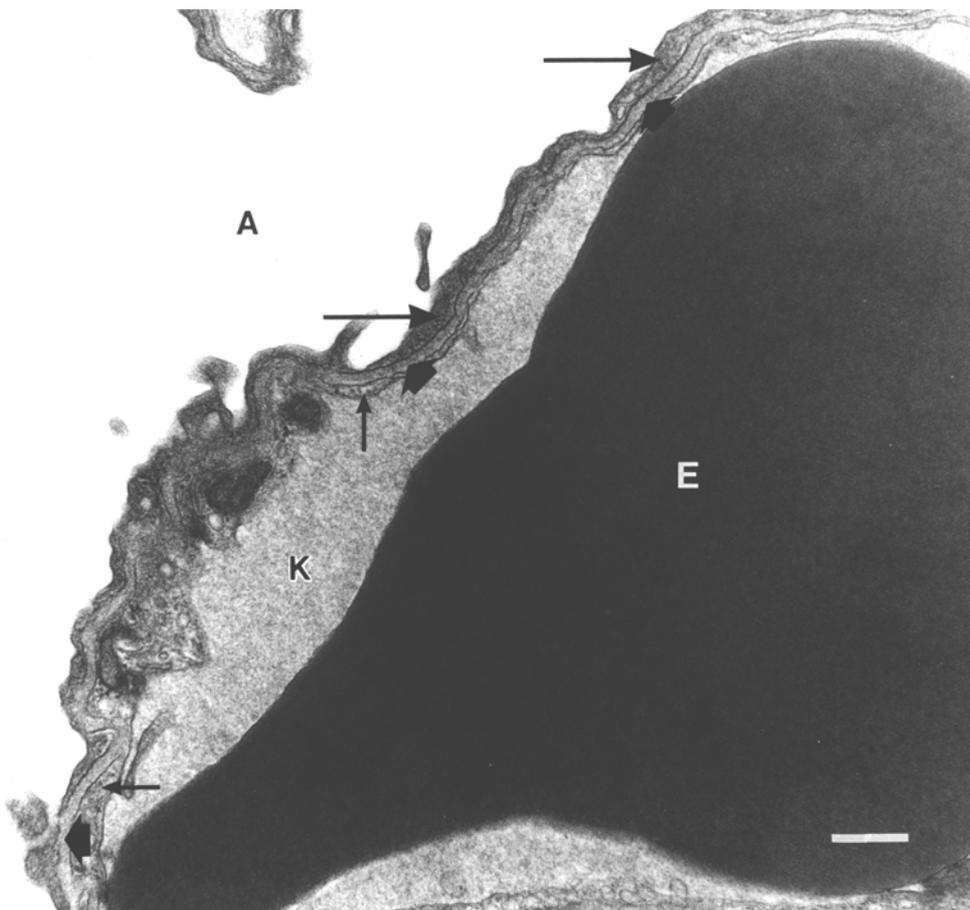


**Abb. 22:**

In einer Nische des Alveolarlumens (A) gelegene AZ II mit homogenen Lamellarkörperchen (L) und randständigem Zellkern (N); Kapillarlumen mit Erythrozyt (E); schmale Blut-Luft-Schranke (Pfeile).

Gruppe K III, 12 Monate, Tier Nr. 4

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 5040 x

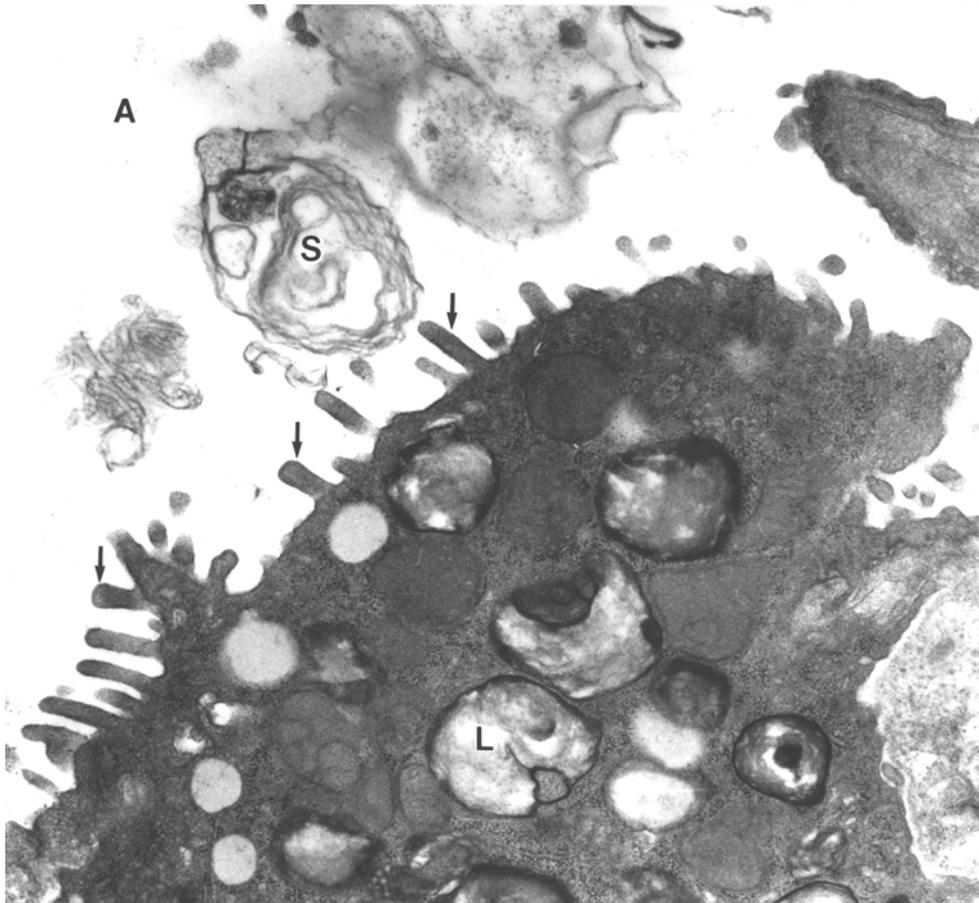


**Abb. 23:**

Blut-Luft-Schranke bestehend aus Alveolarepithel (lange dünne Pfeile), Basalmembran (dicke Pfeile) und Endothel (kurze dünne Pfeil); Alveolarlumen (A); Kapillarlumen (K); Erythrozyt (E).

Gruppe K I, 3 Monate, Tier Nr. 2

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 31680 x; Maßstab = 0,3  $\mu\text{m}$

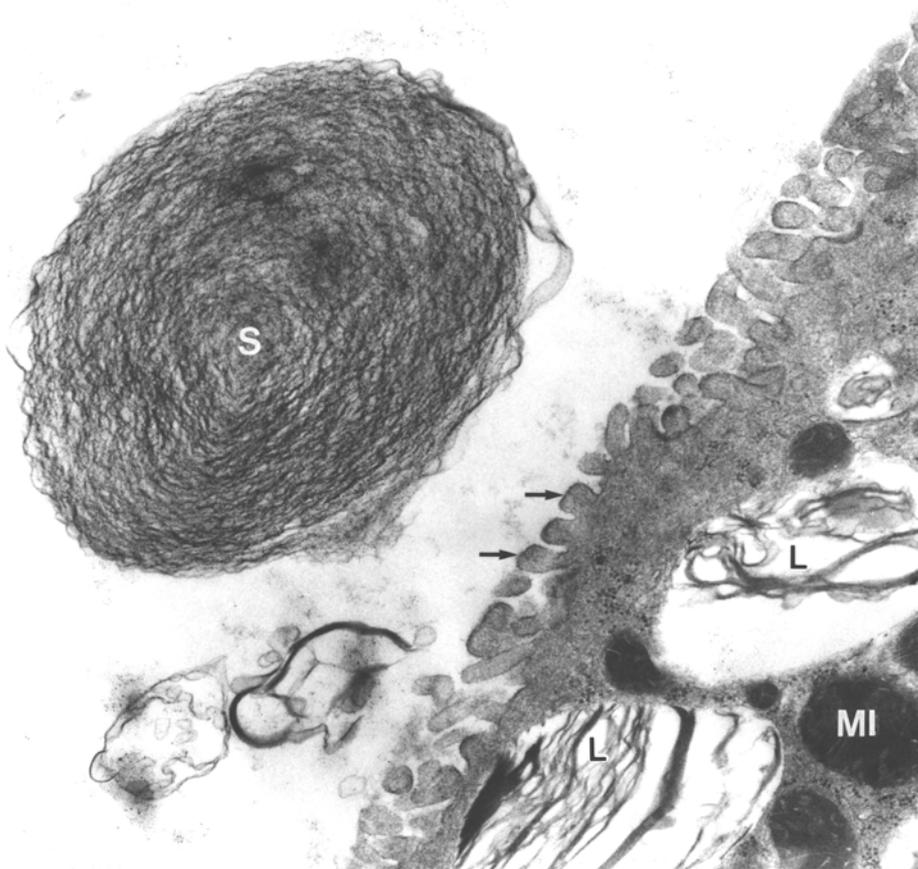


**Abb. 24:**

Teilvergrößerung einer AZ II: intrazytoplasmatisch gelegene unterschiedlich strukturierte Lamellarkörperchen (L); an Zelloberfläche längliche Mikrovilli (Pfeile); im Alveolarlumen (A) teils lamellär geschichtetes Surfactant (S).

Gruppe K III, 12 Monate, Tier Nr. 2

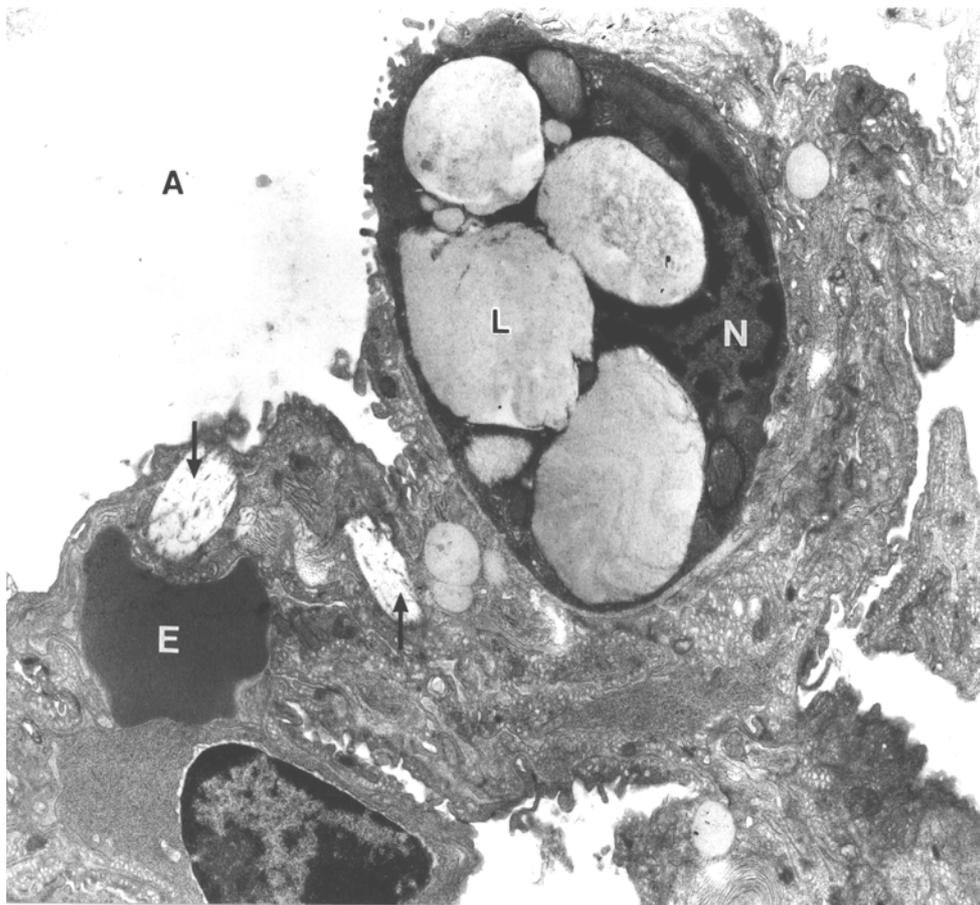
TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 19200 x

**Abb. 25:**

Im Alveolarlumen konzentrisch geschichtetes Surfactantmaterial (S); AZ II mit Besatz von kurzen Mikrovilli (Pfeile); Zytoplasma mit unregelmäßig lamellär geschichteten Lamellarkörperchen (L) und Mitochondrien (MI) vom Cristae-Typ.

Gruppe K II, 6 Monate, Tier Nr. 3

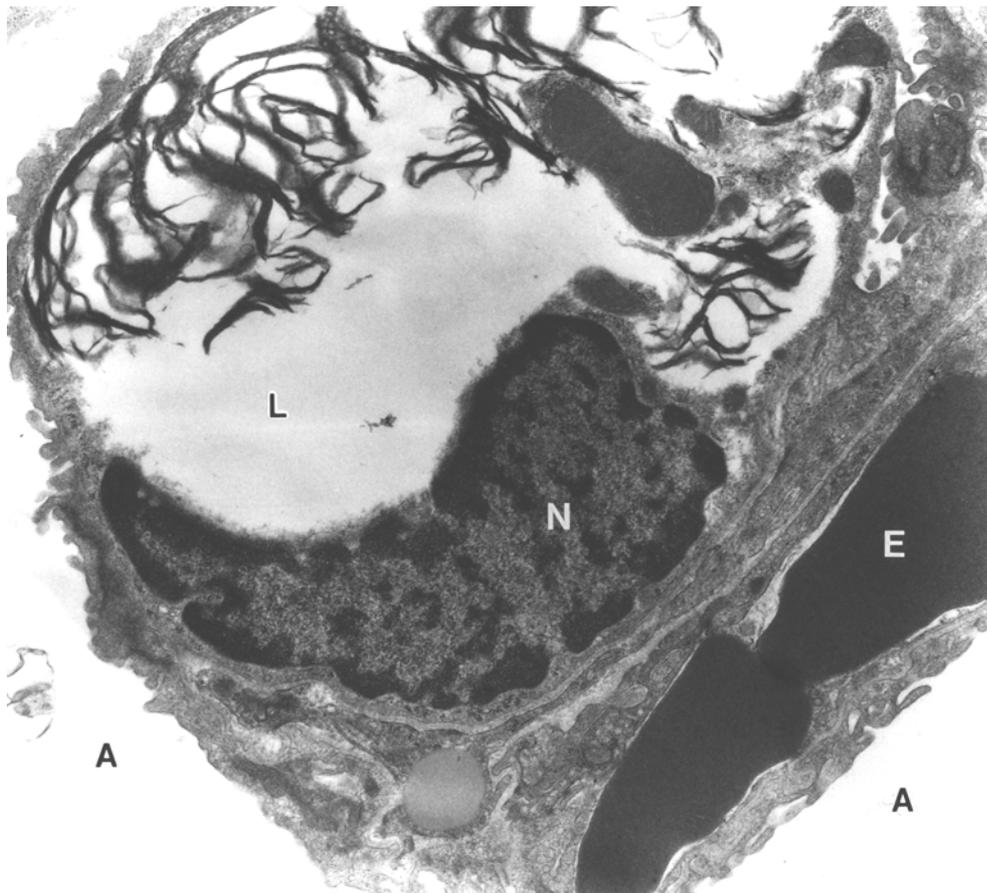
TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 25600 x

**Abb. 26:**

Bei Kontrolltieren und infizierten Vielzitzenmäusen vorkommende große homogene Lamellarkörperchen (L) einer AZ II; an den Zellrand gedrängter Zellkern (N); in Alveolarsepten Kollagenfibrillen (Pfeile); Erythrozyt (E) im Kapillarlumen; Alveolarlumen (A).

Gruppe I, 25 Tage p.i., Tier Nr. 2

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 10080 x

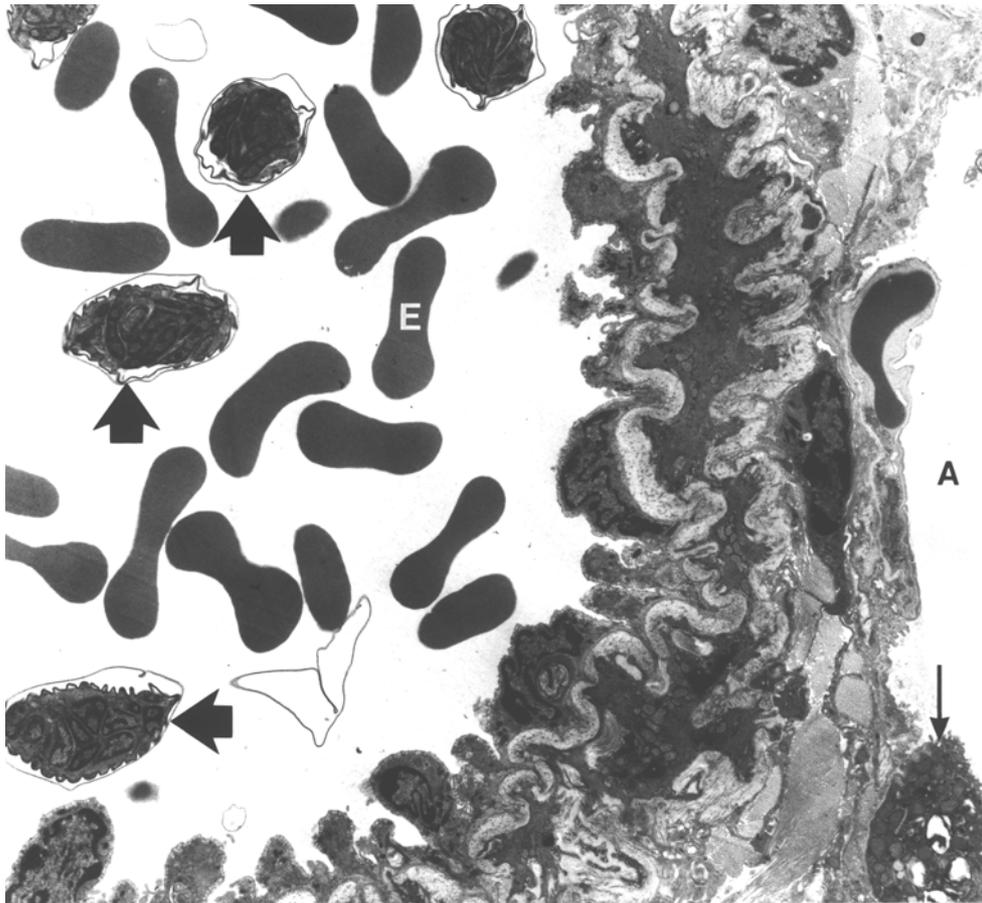


**Abb. 27:**

AZ II mit großem einzelne osmiophile Lamellen enthaltenden Lamellarkörperchen (L) und an den Rand gedrängtem Zellkern (N); Kapillarlumen mit zwei Erythrozyten (E); Alveolarlumen (A).

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 4

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 16000 x

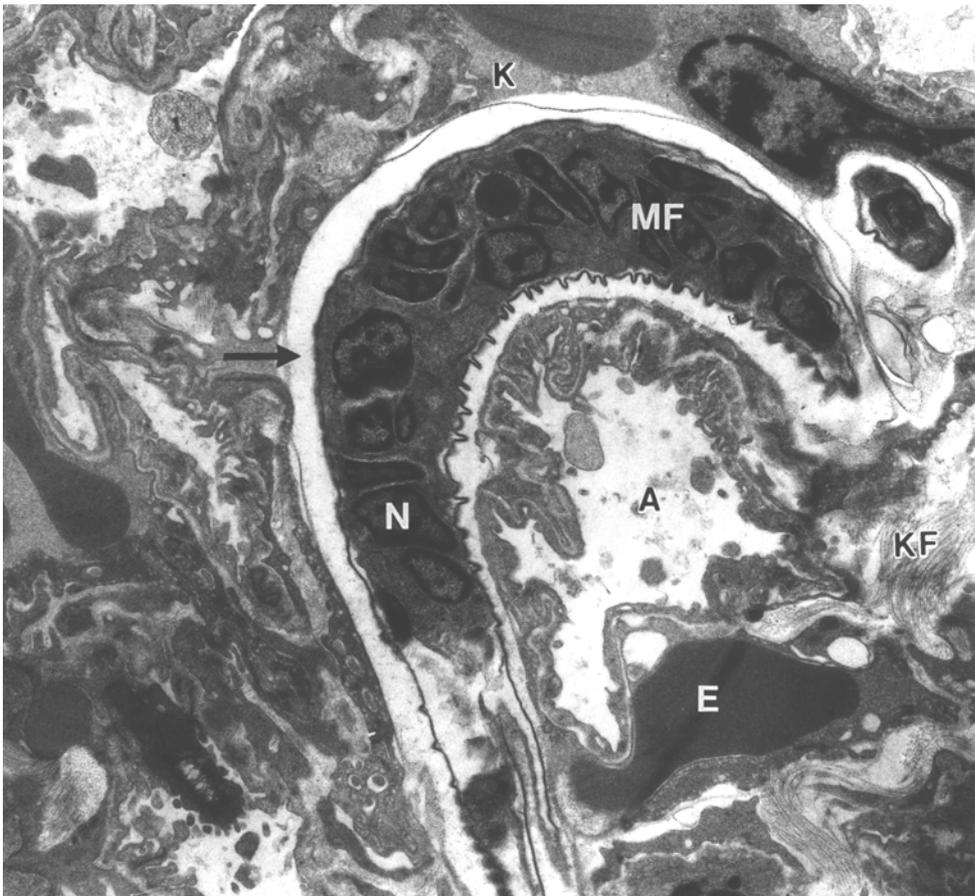


**Abb. 28:**

Mikrofilarien von *L. sigmodontis* (dicke Pfeile) 73 Tage p.i. in Blutgefäßen des Lungenparenchyms nachweisbar; peripher befindliche Scheide der Mikrofilarien durch osmiophobes Material von teils gezackt verlaufender Kutikula getrennt; unveränderte Gefäßwand einer Arteriole; Erythrozyt (E); Alveolarlumen (A); AZ II (dünner Pfeil).

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 1

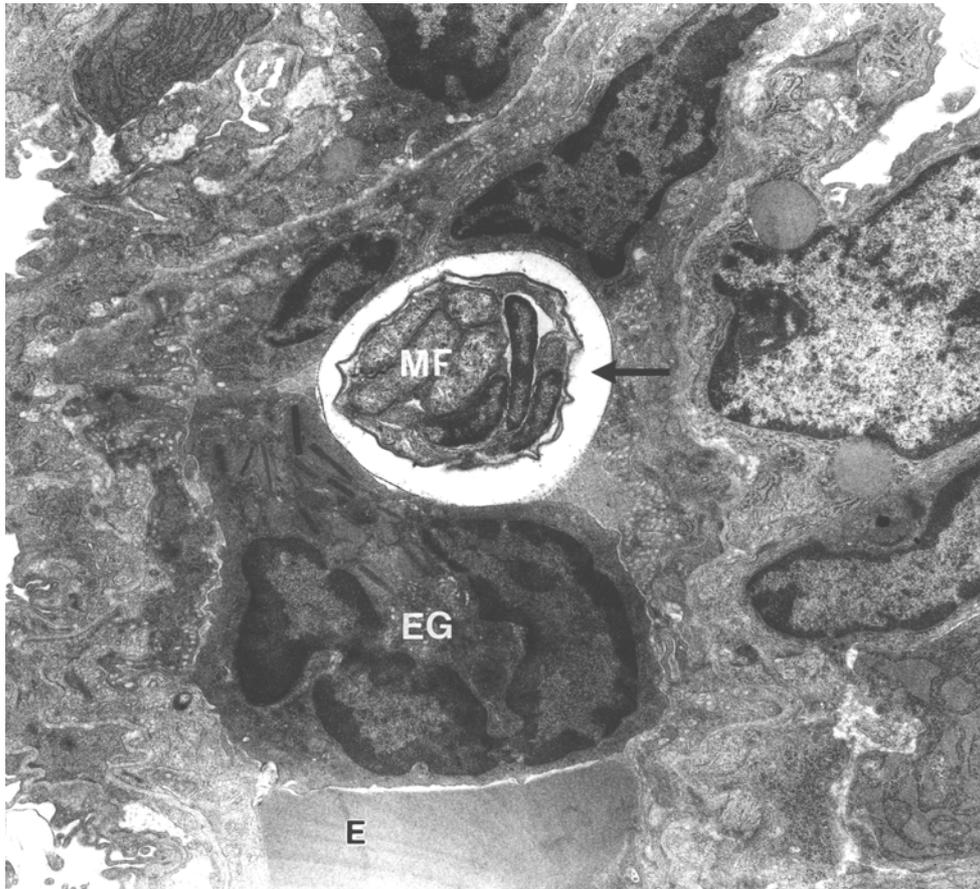
TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 4000 x

**Abb. 29:**

Im Kapillarlumen (K) gelegene Mikrofilarie (MF) mit Scheide, zwischen Scheide (außen) und Kutikula (innen) gelegenem osmiophoben Material (Pfeil) und Zellkernen (N); Alveolarlumen (A); Erythrozyt (E); Kollagenfibrillen (KF).

Gruppe IV, 142 Tage p.i., Tier Nr. 2

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 8000 x



**Abb. 30:**

Quer angeschnittene Mikrofilarie (MF) im Kapillarlumen mit osmiophobem Material (Pfeil) im Spalt zwischen Scheide (außen) und Kutikula (innen); in unmittelbarer Nähe intravasal gelegener eosinophiler Granulozyt (EG) mit charakteristischen intrazytoplasmatischen Kristallen; Erythrozyt (E).

Gruppe IV, 142 Tage p.i., Tier Nr. 2

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 10080 x

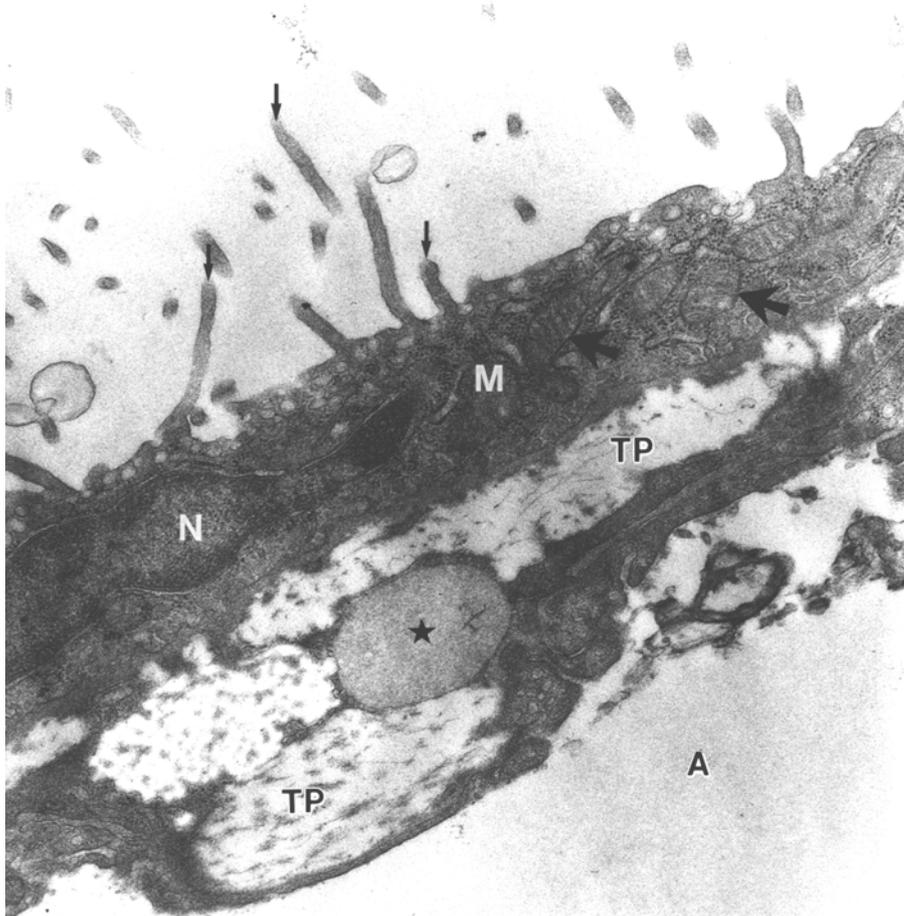


**Abb. 31:**

Kleinere zilientragende Epithelzellen (Pfeile) mit basalen Zellkernen (N) und längere Clara-Zellen (CZ) mit mittig bis apikal gelegenen Zellkernen (N) sowie den typischen „apical caps“ mit dunklen Granula am 25. Tag p.i. ohne Veränderungen des Bronchialepithels.

Gruppe I, 25 Tage p.i., Tier Nr. 2

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 4000 x

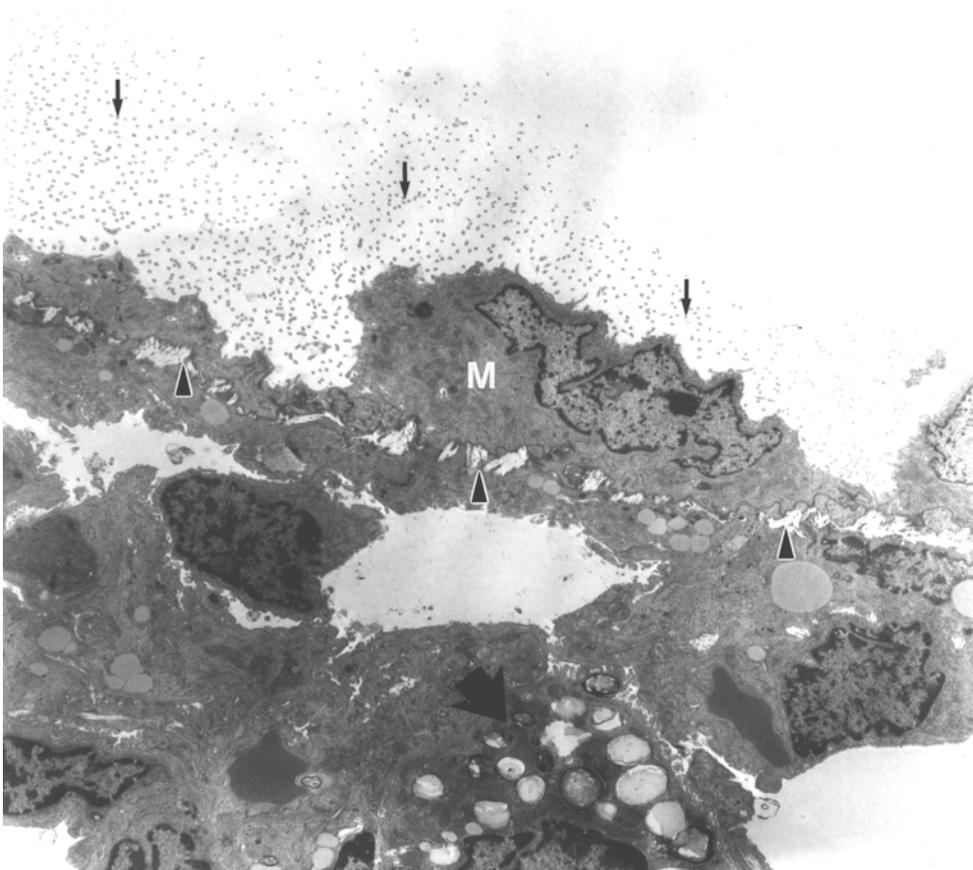


**Abb. 32:**

Pleura eines Kontrolltieres mit einschichtig angeordneten flachen Mesothelzellen (M); an der Oberfläche einzelne lange Mikrovilli (dünne Pfeile), im Zytoplasma mehrere Mitochondrien (dicke Pfeile) vom Cristae-Typ; unter den Mesothelzellen gelegene Lamina propria serosae (TP) bestehend aus quer verlaufenden Kollagenfibrillenbündeln; Zellkern (N) einer Mesothelzelle; Lipidvesikel (Stern); Alveolarlumen (A).

Gruppe K III, 12 Monate, Tier Nr. 1

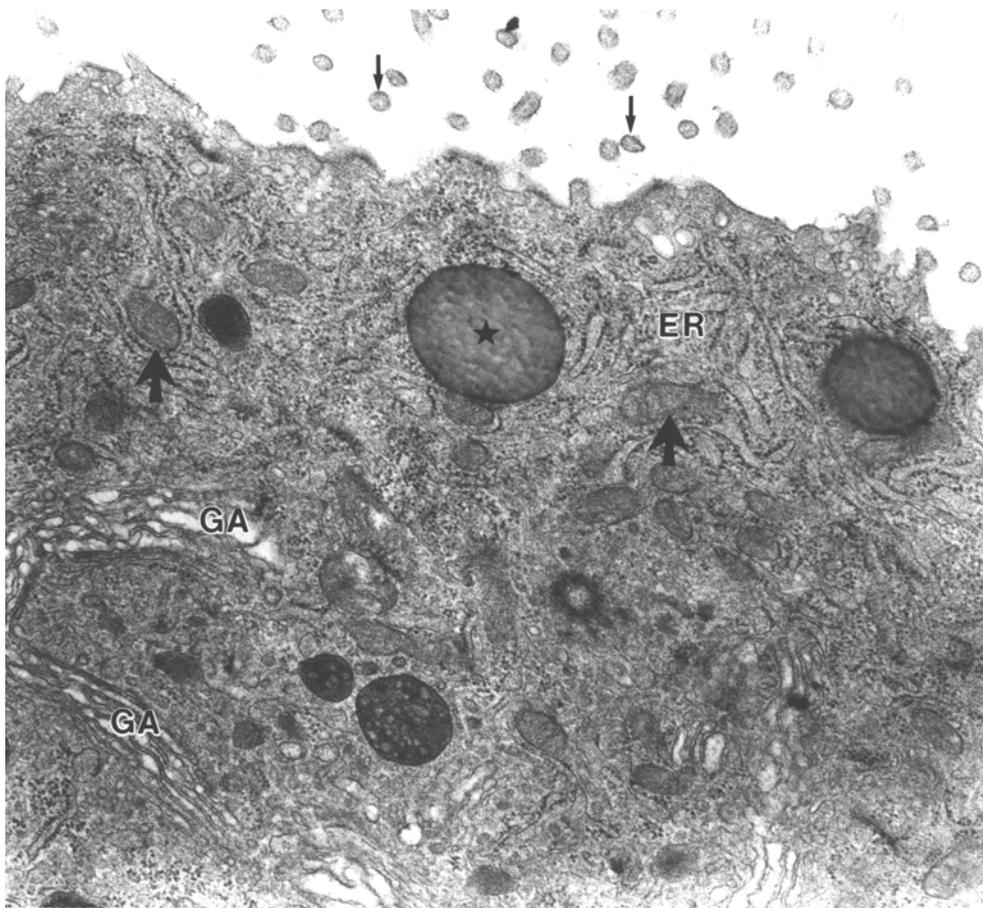
TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 25600 x

**Abb. 33:**

Pleura mit hypertrophen kuboiden Mesothelzellen (M) und zahlreichen querschnittenen Mikrovilli (dünne Pfeile); unterhalb der Lamina propria serosae (Dreiecke) mehrere Lipidtropfen und eine AZ II (dicker Pfeil) mit homogenen Lamellarkörperchen.

Gruppe I, 25 Tage p.i., Tier Nr. 1

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 4000 x



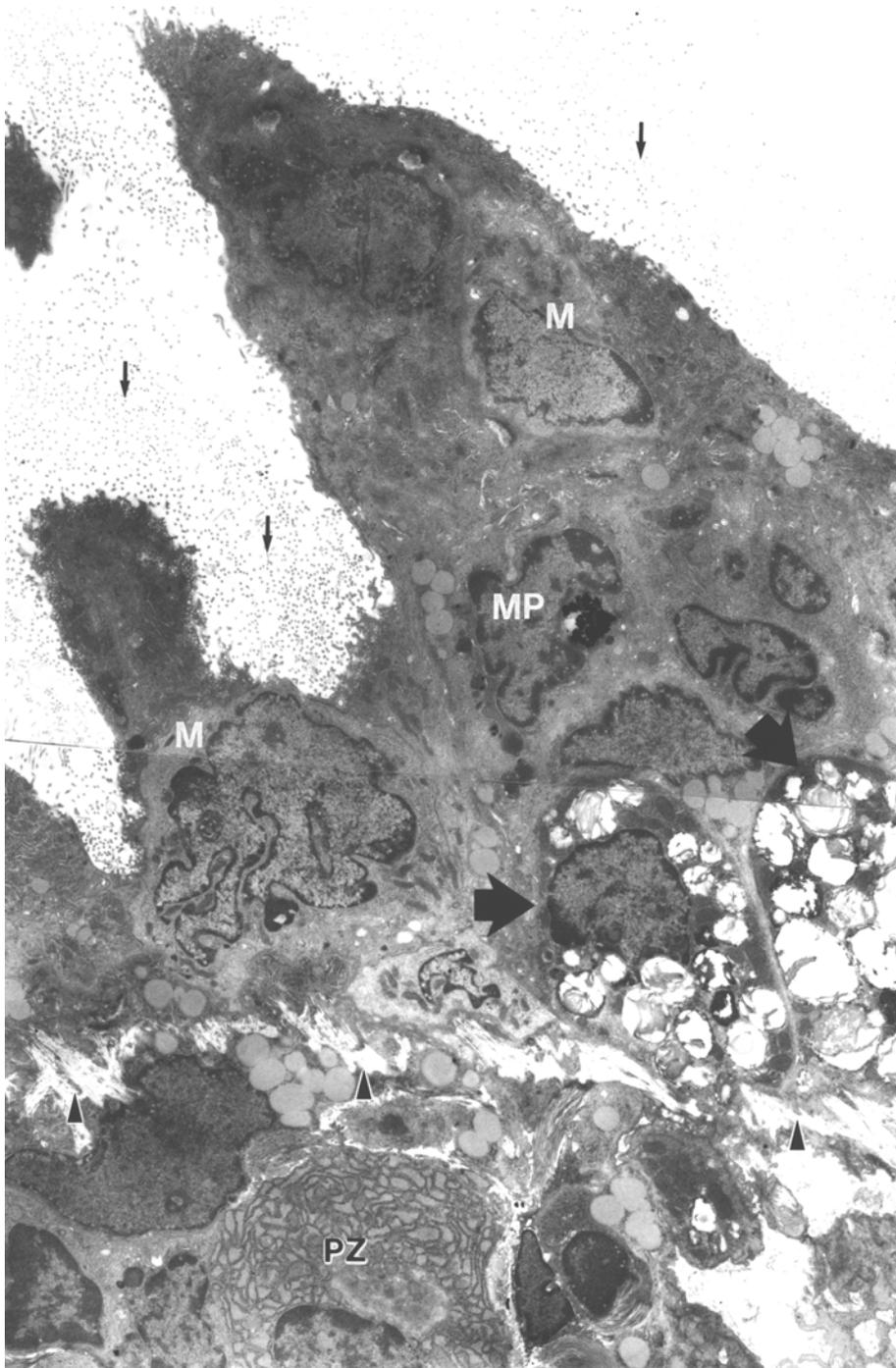
**Abb. 34:**

Teilvergrößerung einer Mesothelzelle 25 Tage p.i.:

Erhöhter Gehalt von rauhem endoplasmatischem Retikulum (ER), Mitochondrien vom Cristae-Typ (dicke Pfeile), Lysosomen, Lipidvesikeln (Stern) und auffälligem Golgiapparat (GA); Schläuche des rauhen endoplasmatischen Retikulum dilatiert und mit feingranulärem Material angefüllt; zahlreiche quer angeschnittene Mikrovilli (dünne Pfeile).

Gruppe I, 25 Tage p.i., Tier Nr. 2

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 31680 x

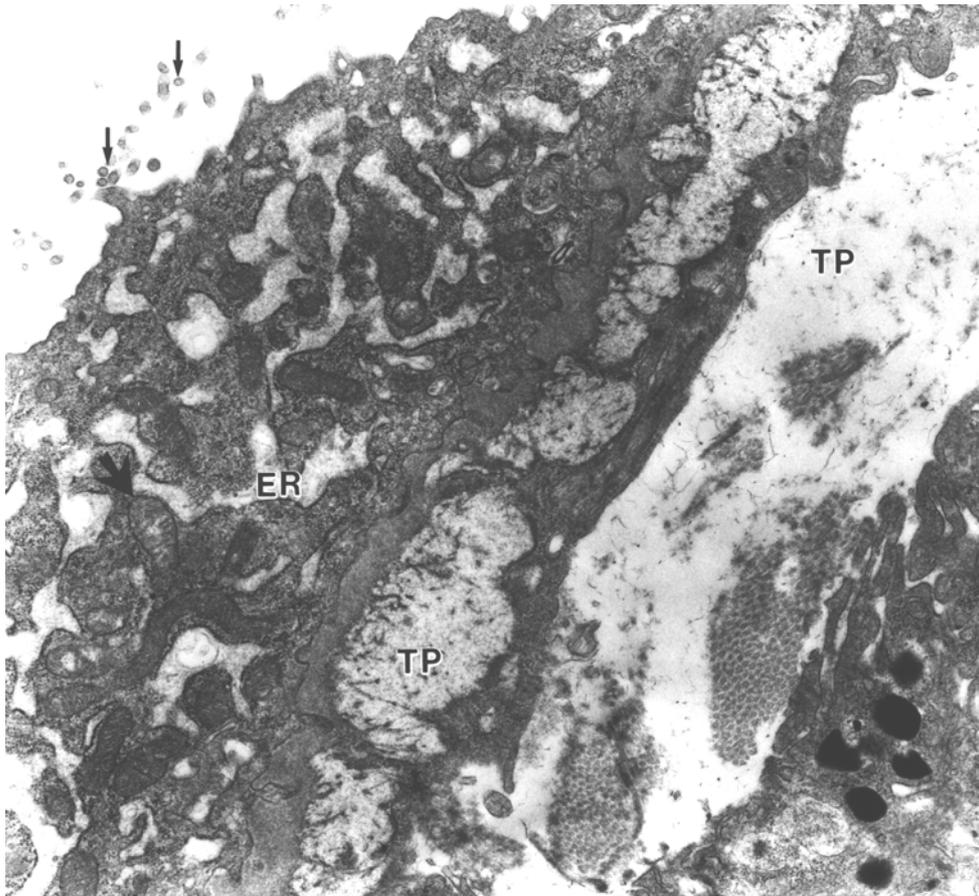


**Abb. 35:**

Pleuraproliferation mit großen Mesothelzellen (M) und deutlichem Besatz von Mikrovilli (dünne Pfeile); im Bereich der Proliferation zwei Zellen mit Morphologie entsprechend den AZ II (dicke Pfeile); in der Proliferation gelegener Makrophage (MP) mit intrazytoplasmatischem osmiophilen Material, wahrscheinlich Hämosiderin; Plasmazelle (PZ) im durch die Lamina propria serosae (Dreiecke) abgegrenzten Lungenparenchym.

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 4

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 4000 x



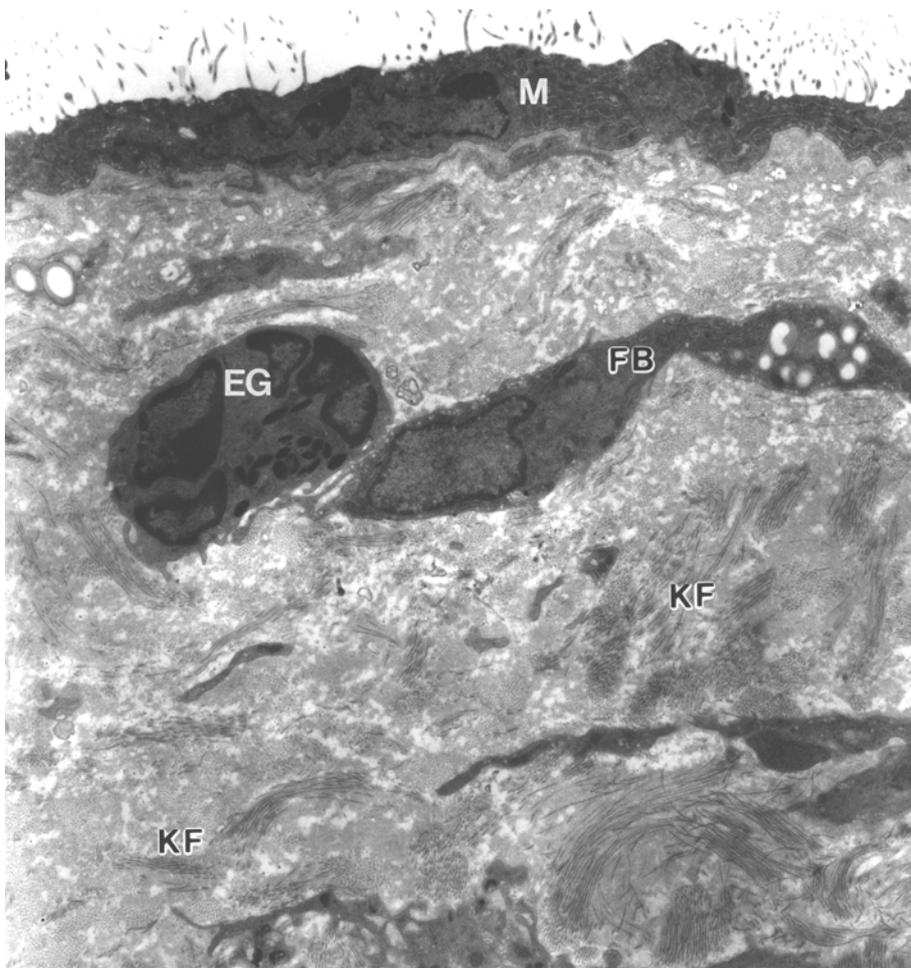
**Abb. 36:**

Teilvergrößerung einer Mesothelzelle 73 Tage p.i.:

Im Zytoplasma hochgradig vermehrtes und dilatiertes rauhes endoplasmatisches Retikulum (ER) mit intraluminal gelegenen feingranuliertem Material; an der Oberfläche quergeschnittene Mikrovilli (dünne Pfeile); Mitochondrium (dicker Pfeil); Lamina propria serosae (TP).

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 3

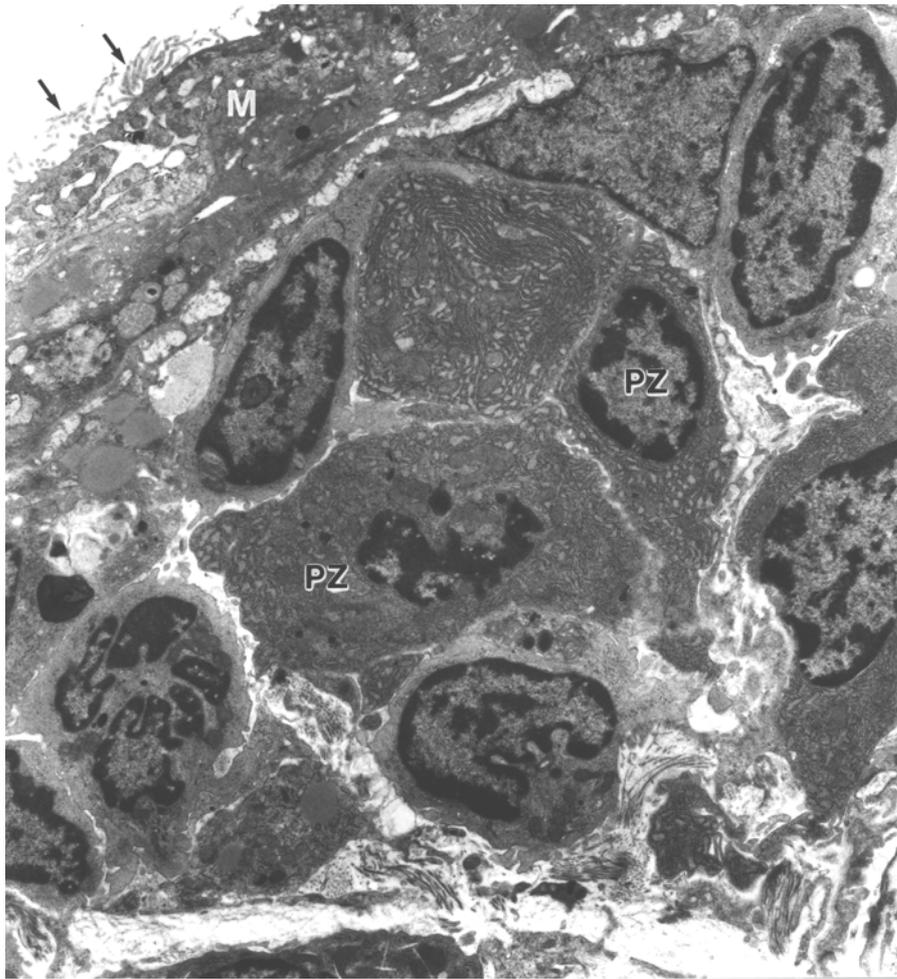
TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 16000 x

**Abb. 37:**

Hochgradige Fibrosierung der Pleura; horizontal und longitudinal geschnittene Kollagenfibrillen (KF); in die Pleura eingelagerter eosinophiler Granulozyt (EG) mit typischen intrazytoplasmatischen Kristallen und Fibroblast (FB); beginnende Abflachung der Mesothelzellen (M).

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 4

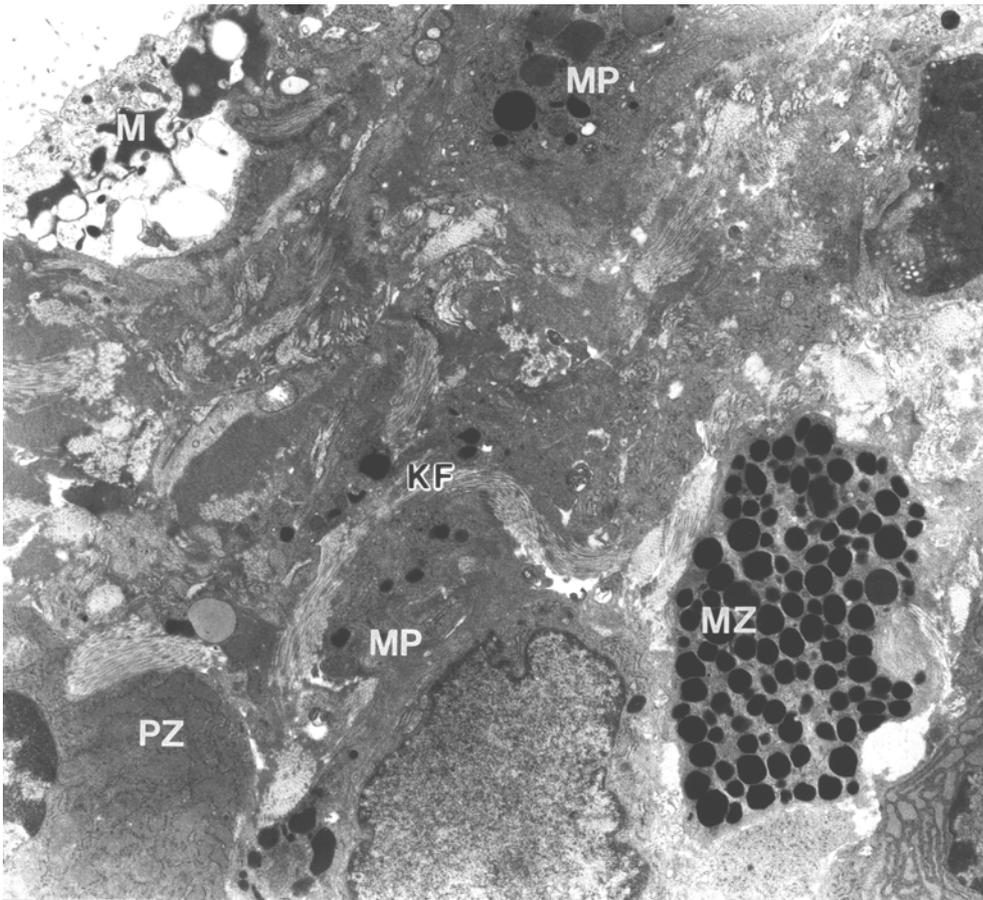
TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 5040 x

**Abb. 38:**

Zahlreiche Plasmazellen (PZ) mit deutlichem Ergastoplasma in der Pleura, getrennt durch schmale Kollagenfibrillenbündel; Mesothelzelle mit vielen Mikrovilli (Pfeile) und hochgradig dilatierten Schläuchen des rauhen endoplasmatischen Retikulums.

Gruppe III, 73 Tage p.i., Tier Nr. 3

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 5040 x

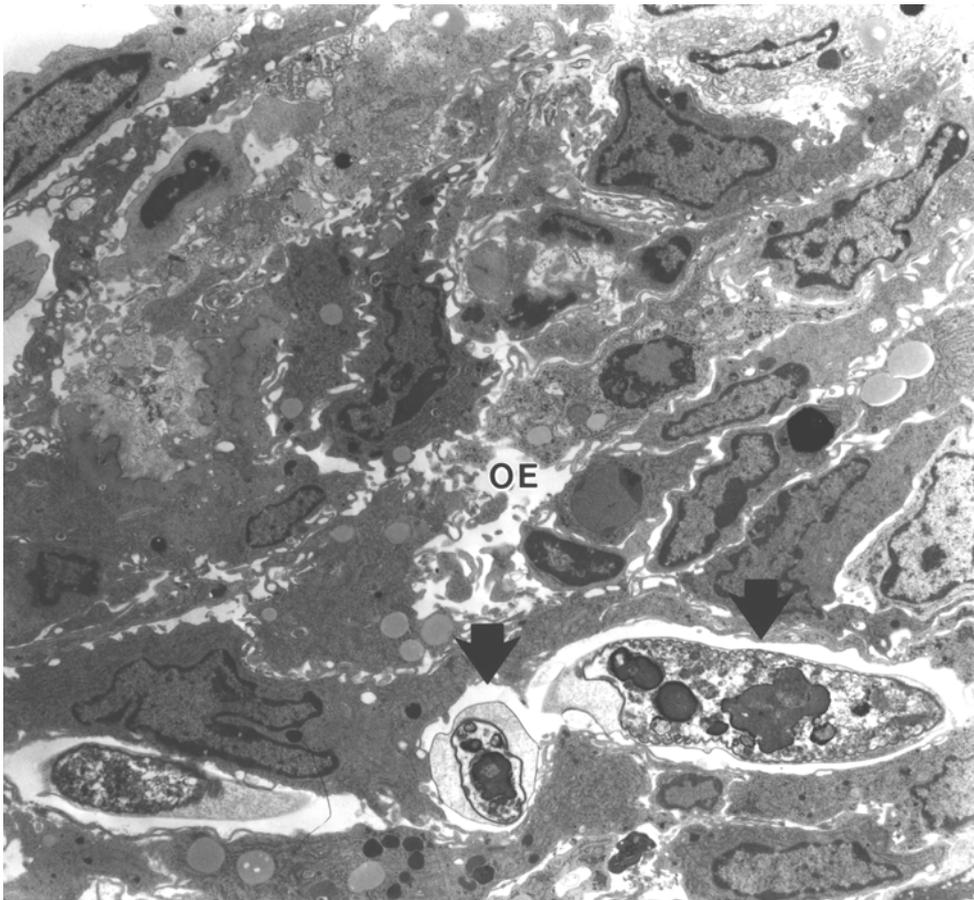


**Abb. 39:**

Degenerierte Mesothelzelle (M) mit mehreren intrazytoplasmatischen Vakuolen; Fibrosierung der Pleura durch Züge von Kollagenfibrillen (KF); in die Pleura eingelagert: Plasmazelle (PZ) mit dilatiertem Ergastoplasma, Makrophagen (MP) mit intrazytoplasmatischen Lipidvesikeln und Mastzelle (MZ) mit zahlreichen osmiophilen Granula.

Gruppe VI, 352 Tage p.i., Tier Nr. 4

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 6400 x

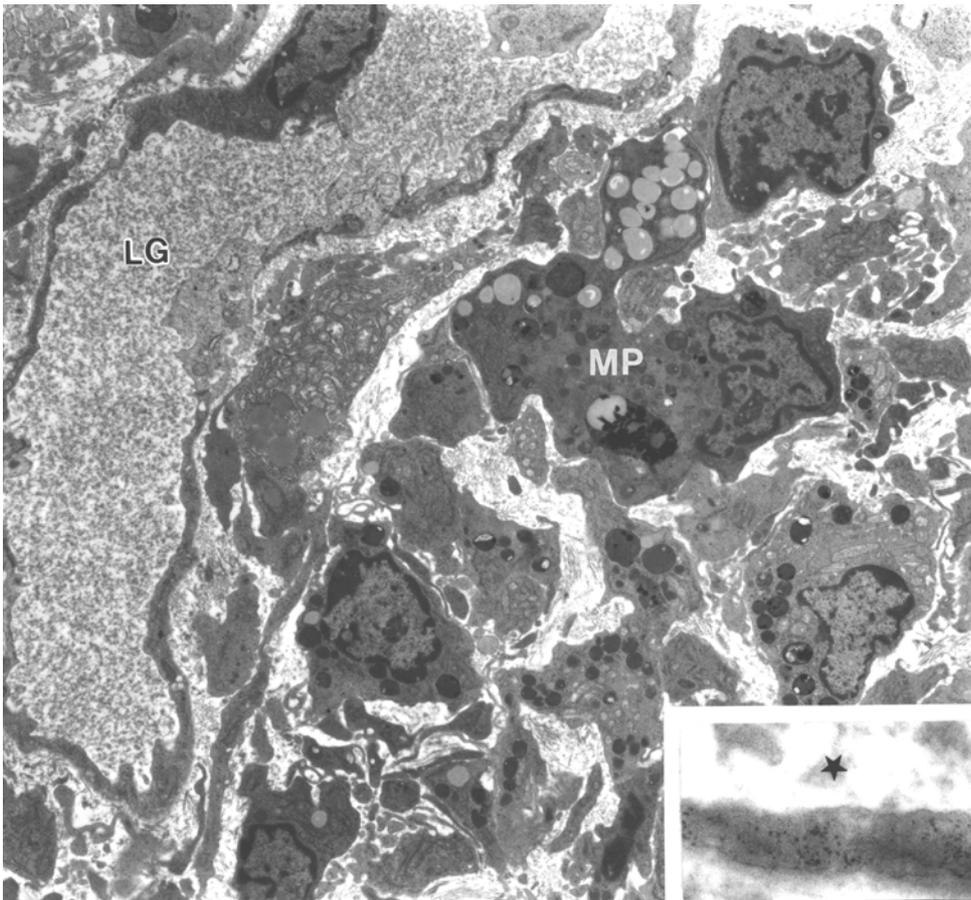


**Abb. 40:**

Degenerierte Mikrofilarie (Pfeile) im Interzellularbereich; in der Nachbarschaft mehrere Makrophagen mit erhöhtem Gehalt von rauhem endoplasmatischen Retikulum, Lipidtropfen und osmiophilen lysosomalen Strukturen als Anzeichen ihrer Aktivierung; gelockerter Zellverband durch interzelluläres Ödem (OE).

Gruppe IV, 142 Tage p.i., Tier Nr. 3

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 4000 x

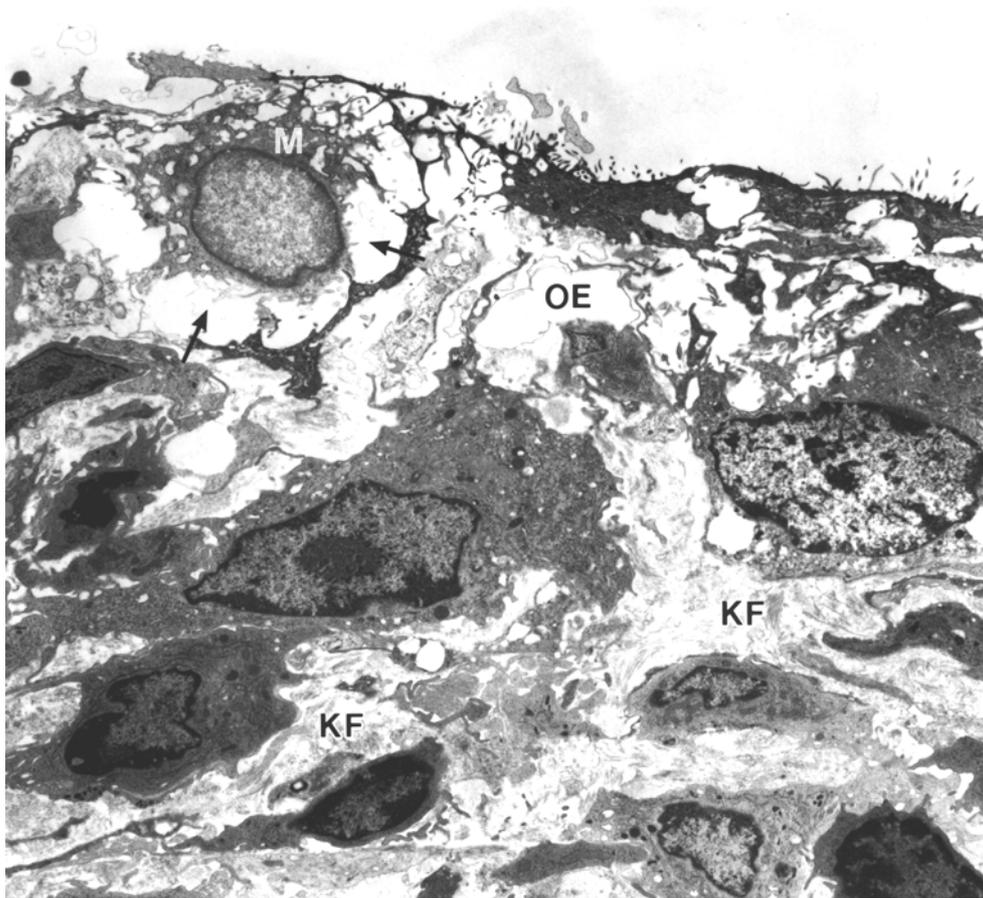
**Abb. 41:**

In einer Pleuraproliferation gelegenes dilatiertes Lymphgefäß (LG), umgeben von zahlreichen Makrophagen (MP) mit osmiophilen intrazytoplasmatischen Hämosiderinablagerungen.

Bildausschnitt: Wand des Lymphgefäßes ohne Basalmembran; Lumen des Lymphgefäßes (Stern).

Gruppe V, 247 Tage p.i., Tier Nr. 2

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 4000 x, Bildausschnitt: Vergrößerung: 31680 x



**Abb. 42:**

Pleuraproliferation mit ausgeprägter Lockerung des Zellverbandes durch interzelluläres Ödem (OE); degenerierte und hochgradig vakuolisierte (Pfeile) Mesothelzelle (M); im unteren Bildbereich zwischen Makrophagen, Lymphozyten und Fibrozyten gelegene Kollagenfibrillen (KF).

Gruppe VI, 352 Tage p.i., Tier Nr. 4

TEM-Aufnahme, Vergrößerung: 4000 x

## 4 DISKUSSION

Aufgabe der vorliegenden Arbeit ist es, durch morphologische Untersuchungen von Lunge und Pleura der mit *L. sigmodontis* infizierten *M. coucha* einen Beitrag zur Klärung der Pathogenese dieser experimentellen Filariose zu leisten.

In der bekannten Literatur finden sich keine Angaben über die Ultrastruktur von Lunge und Pleura der Vielzitzenmaus. Daher erscheint eine vorangestellte Betrachtung der tierartspezifischen Eigenheiten sinnvoll:

Die lichtmikroskopischen und ultrastrukturellen Merkmale dieses Organs nicht infizierter *Mastomys* gleichen weitgehend den aus der Literatur bekannten Charakteristika anderer Säuger.

Auffällig sind die Größenvariationen der Lamellarkörperchen der Vielzitzenmaus, die scheinbar ein Charakteristikum der Spezies darstellen. Viele Lamellarkörperchen lassen zudem die ansonsten typischerweise vorkommende Lamellierung nicht erkennen. Dies kann darauf zurückzuführen sein, daß die Schnittebene parallel zur Oberfläche einer Lamelle der Lamellarkörperchen verläuft. Da Lipide das hauptsächliche biochemische Korrelat der osmiophilen Lamellen ausmachen, kommt jedoch wahrscheinlicher eine präparativ bedingte und damit artifizielle Auflösung der Lipide in Frage (GOLDFISCHER et al., 1968; WEIBEL, 1973).

Die starke tierartspezifische Variationen aufweisenden Clara-Zellen zeigen bei den *Mastomys* Charakteristika insbesondere von Maus und Ratte. Die apikal gelegenen großen runden bis längsovalen Mitochondrien mit nur andeutungsweise ausgebildeten Cristae ähneln denen von Ratte und Maus (SMITH et al., 1974, STINSON u. LOOSLI, 1978). Was das Vorhandensein von osmiophilen Granula in den „apical caps“ angeht, so gleicht das Bild bei der Vielzitzenmaus dem anderer Säuger, jedoch kommen diese Granula bei der Vielzitzenmaus in geringem Umfang auch unterhalb des Zellkerns vor. Die starke Ausbildung eines in den „apical caps“ gelegenen glatten endoplasmatischen Retikulums entspricht den Befunden bei Maus, Ratte, Meerschweinchen, Hamster, Kaninchen, Schwein, Schaf und Pferd (CUTZ u. CONEN, 1971; SMITH et al., 1979; PLOPPER et al., 1980). Der nach Beschreibung von SMITH et al. (1974) und STINSON u. LOOSLI (1978) bei der Maus im basalen Zelldrittel und bei der Ratte in der Zellmitte lokalisierte Zellkern ist bei der Vielzitzenmaus in der Zellmitte anzutreffen. Deutliche Einbuchtungen des ovalen Kerns oder gar eine Lappung, wie

sie beim Rind vorkommt (SMITH et al., 1979), können nicht festgestellt werden. Vergleichbar zu vielen anderen Spezies befindet sich der Golgiapparat bei der *Mastomys* lateral des Zellkerns (CUTZ u. CONEN, 1971; SMITH et al., 1974 u. 1979; GAIL u. LENFANT, 1983).

Auf die Auszählung der an der Bildung des Lungenparenchyms beteiligten Zellen, die einen Vergleich ihrer Häufigkeiten mit Werten anderer Säuger aus der Literatur ermöglicht hätte, ist verzichtet worden. Gründe sind die nach KAUP (1982) nur eine einigermaßen genaue Ansprechbarkeit der Zellen am Semidünnschnitt und die biomathematische Tatsache, daß die Gruppengröße von vier Tieren keine Berechnung von Normwerten erlaubt.

Der sowohl lichtmikroskopisch als auch ultrastrukturell geführte Nachweis von Mikrofilarien in pulmonalen Blutgefäßen ab dem Untersuchungstermin 73 Tage p.i. erklärt sich aus dem Eintritt der Patenz um den 50. bis 52. Tag p.i. (LÄMMLER et al., 1968; PRINGLE u. KING, 1968). Die Morphologie der Mikrofilarien von *L. sigmodontis* entspricht den Angaben, die McLAREN (1972) veröffentlicht hat.

Die arithmetischen Mittelwerte der Anzahlen der Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut weisen auf einen annähernd glockenförmigen Verlauf der Mikrofilariämie im Untersuchungszeitraum hin. Das Maximum liegt bei 142 Tagen p.i. Dieser Verlauf entspricht den Ergebnissen von ZAHNER et al. (1974 u. 1987). Innerhalb der einzelnen Untersuchungszeitpunkte variiert die Höhe der Mikrofilariämie stark, so besitzt beispielsweise Tier Nr. 2, 142 Tage p.i. eine extrem hohe Mikrofilariämie mit 847 Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut. Bei Tier Nr. 4, ebenfalls 142 Tage p.i. können lediglich 91 Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut gezählt werden. Erhebliche individuelle Unterschiede in der Höhe der Mikrofilariämie beschreiben schon ZAHNER et al. (1974), wobei sie als Ursache eine Abhängigkeit von der Anzahl adulter Filarien annehmen.

Die latente Form der *L. sigmodontis*-Infektion, bei der die Endwirte eine Amikrofilariämie zeigen, obwohl adulte Filarien und auch Mikrofilarien in der Pleurahöhle nachweisbar sind (BAGAI u. SUBRAHMANYAM, 1970), ist bei der Baumwollratte und anderen Versuchstieren selten zu beobachten (JAQUET, 1980). In der vorliegenden Untersuchung kann sie nur bei einer *Mastomys* (Tier Nr. 2) 352 Tage p.i. festgestellt werden, wobei sich die Befunde von Lunge und Pleura dieses Tieres nicht nennenswert von denen der drei mikrofilariämischen *Mastomys* der Gruppe unterscheiden.

Die Infektion der *M. coucha* mit der Filarie *L. sigmodontis* führt zu pathologischen Veränderungen von Lunge und Pleura, wobei letztere die Hauptbefunde aufweist. Das Lungenparenchym einschließlich der dort vorkommenden Gefäße zeigt weniger starke Alterationen. Die Bronchioli der infizierten Vielzitzenmäuse stellen sich während des gesamten Untersuchungszeitraumes wie die der Kontrolltiere dar.

Die von ZAHNER et al. (1987) festgestellte positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der pathologischen Veränderungen und der Höhe der Mikrofilariämie zeichnet sich auch im Rahmen der eigenen Untersuchungen bei den Alterationen der Pleura ab. Außerdem deutet sich ein positiver Zusammenhang zwischen dem Grad der Pleurabefunde und der Menge an intrathorakal gelegenen Parasiten an. Beispielsweise zeigt Tier 2, 247 Tage p.i., welches mit 272 Filarien den höchsten Gehalt von intrathorakal gelegenen Parasiten besitzt, die stärksten Pleuraveränderungen in Form diffuser Proliferate mit im Mittel 46 Zellagen.

#### **Pleura:**

Bei der vorliegenden Untersuchung des Respirationstraktes nach der Infektion der Vielzitzenmaus mit *L. sigmodontis* bestätigt sich die chronische villöse Pleuritis als Hauptveränderung, die schon lange von vorangehenden Untersuchungen bekannt ist (PRINGLE, 1974).

Die aufgezeichnete Entwicklung der Pleuraalterationen deckt sich weitgehend mit den aus der Literatur bekannten Angaben, die mehrheitlich von ZAHNER stammen.

Die kuboide Gestalt der Mesothelzellen, die von ZAHNER et al. (1987) 24 Tage p.i. bei der *Mastomys* beschrieben wird, kann ebenfalls im Rahmen der eigenen Untersuchungen 25 Tage p.i. beobachtet werden. Der von ZAHNER et al. (1987) ab 42 Tagen p.i. bei den Mesothelzellen festgestellte erhöhte Besatz von Mikrovilli deutet sich bei den eigenen Untersuchungen bereits 25 Tage p.i. an. Jedoch liegen den von ZAHNER gemachten Aussagen rasterelektronenmikroskopische Befunde zu Grunde, die über die Darstellung der Pleuraoberfläche eine größere Aussagekraft besitzen.

Die Hypertrophie der Mesothelzellen, die sich durch die Änderung der Zellform darstellt, spricht in Verbindung mit der Vermehrung und der Verlängerung der Mikrovilli und dem erhöhten Gehalt von rauhem endoplasmatischem Retikulum und Mitochondrien für eine mit der Frühphase der Infektion in Zusammenhang stehende Aktivierung der Mesothelzellen. Als Auslöser ist einerseits die mechanische Irritation der Pleura durch Larven 3 anzusehen, die aus

dem Lungenparenchym in den Pleuralspalt austreten. Die Larven 3 wandern wahrscheinlich auch bei der *Mastomys* sehr früh in den Thorax aus, denn bei natürlich infizierten Baumwollratten und Labormäusen gelangen die Larven 3 in 24 Stunden von der Bißstelle der infizierten Milbe in die Lunge (WENK, 1967). Nach Angabe von MOHAN (1976) finden sich bei der mit *L. sigmodontis* infizierten Baumwollratte bereits 3 Tage nach Transplantation von Würmern in die Pleurahöhle Veränderungen. Andererseits wird es sich bei der Aktivierung um eine Reaktion des Wirtes auf Substanzen handeln, die von den Mikrofilarien präsentiert werden.

Die Vermehrung und Verlängerung der Mikrovilli und die Zunahme von intrazytoplasmatischen Lipidvesikeln sind Indizien für die Aktivierung der sekretorischen und resorptiven Funktionen der Mesothelzellen, die sowohl mit der Parasitenwanderung an sich als auch mit der Bildung eines Pleuraergusses (PRINGLE, 1974) in Verbindung stehen wird.

Die eigenen Befunde weisen auf eine Reduktion der Hypertrophie der Mesothelzellen im Zeitraum zwischen 73 und 142 Tagen p.i. hin. Damit entsprechen diese Befunde den von ZAHNER et al. (1987) bei der *Mastomys* gemachten Beobachtungen, nach denen sich die Mesothelzellen 150 Tage p.i. deutlich abgeflacht darstellen.

Für den von ZAHNER et al. (1987) beschriebenen erhöhten Besatz von Mikrovilli 200 Tage p.i. im Vergleich zu 120 und 150 Tagen p.i. finden sich im Rahmen der eigenen Untersuchungen keine morphologischen Anhaltspunkte. Die Mesothelzellen zeigen lichtmikroskopisch 247 Tage p.i. ihre ursprüngliche flache Form, wohingegen ZAHNER (1985) 400 Tage p.i. als Termin für das Vorhandensein eines wieder einschichtigen aus flachen Zellen bestehenden mesothelialen Überzugs angibt. Ultrastrukturell können im Rahmen der eigenen Untersuchung 247 Tage p.i. ein deutlich reduzierter Gehalt von Zellorganellen und eine Verkürzung der Mikrovilli nachgewiesen werden. Eine Erhöhung des Besatzes von Mikrovilli erscheint zudem pathophysiologisch unlogisch, wenn andere Charakteristika wie Zellgröße und Gehalt von rauhem endoplasmatischen Retikulum und Mitochondrien auf eine reduzierte Aktivität der Mesothelzelle hindeuten. Aufgrund der eigenen Befunde ist das Maximum der Aktivierung der Mesothelzellen zu den Untersuchungszeitpunkten 25 und 45 Tage p.i. erreicht.

Die im Rahmen der eigenen Untersuchungen festgestellte Einschichtigkeit des Mesothels steht im Gegensatz zu der Angabe von ZAHNER et al. (1987), nach der das Mesothel zum Ende der Präpatenz hin (42 Tage p.i.) generell mehrschichtig ist. Jedoch kann die Bildung fokaler Proliferationen der Pleura ab Tag 45 p.i. bestätigt werden. Diese beruhen allerdings auf einer

entzündlich bedingten Vermehrung der Zellagen zwischen Lamina propria serosae und einschichtig angeordneten Mesothelzellen, deren Form sich von flach zu kuboid verändert.

Als Grund dieser unterschiedlichen Beschreibung der Proliferate ist die genauere Auswertbarkeit von Semidünnschnitten im Vergleich zu den von ZAHNER et al. (1987) untersuchten Hämatoxylin-Eosin gefärbten Paraffin-eingebetteten Schnittpräparaten anzuführen. Bei den Semidünnschnitten kann fast ausnahmslos die Lamina propria serosae dargestellt werden, die die Pleura vom subpleuralen Lungenparenchym abgrenzt.

Die bei den eigenen Untersuchungen im weiteren Infektionsverlauf festgestellte Ausdehnung der Pleuraproliferate in Höhe und Breite bestätigt in Verbindung mit der Infiltration der Pleura durch Entzündungszellen die von ZAHNER et al. (1987) beschriebene villöse Pleuritis.

Die für den 120. Tag p.i. angegebene Bildung von Pleurazotten über die gesamte Pleuroberfläche hinweg (ZAHNER, 1985) kann 142 Tage p.i. belegt werden, denn ab diesem Termin zeigt die Pleura eine diffuse Vermehrung der Zellagen. Die Pleura weist nach ZAHNER et al. (1987) 200 Tage p.i. ein nicht mehr so erhabenes Profil der Pleurazotten auf, wobei der Grund in der diffusen Ausbildung mehrerer Zellagen liegt, durch die das Vorhandensein von Villi zugunsten einer gleichmäßigen Verbreiterung der Pleura reduziert ist.

Eine über den 352. Tag p.i. hinausgehende Beurteilung der Pleuraalterationen ist aufgrund des Versuchsansatzes nicht möglich. Jedoch scheint es sich bei dem Rückgang der generellen Vielschichtigkeit der Pleura hin zu fokalen Proliferaten, der sich bei den eigenen Untersuchungen zwischen 247 und 345 bzw. 352 Tagen p.i. abzeichnet, um den Übergang zu dem von und ZAHNER et al. (1987) beschriebenen späteren Bild zu handeln. Hiernach erscheinen die Zotten 400 Tage p.i. zellarm und von Fasern durchsetzt. Aufgrund der eigenen Untersuchungsbefunde wird es sich hierbei ebenfalls um Kollagenfasern handeln. Das morphologische Bild bei Tier Nr. 1, 345 Tage p.i., welches eine mit 172 Mikrofilarien pro mm<sup>3</sup> Blut relativ hohe Mikrofilariämie aufweist, und gleichzeitig eine großflächige Ausbildung zahlreicher Schichten der Pleura mit bis 21 Lagen im arithmetischen Mittel zeigt, spricht für die Angabe von ZAHNER et al. (1987), nach der Pleuraproliferationen in schweren Fällen auch bis 500 Tage p.i. erhalten bleiben.

Die von ZAHNER et al. (1987) mit dem Eintritt der Patenz beschriebene Vaskularisation der Zotten beruht auf einer Proliferation und Dilatation der Lymphgefäße der Pleura, denn bei der ultrastrukturellen Untersuchung kann das für Lymphgefäße im Vergleich zu Blutgefäßen

charakteristische Fehlen der Basalmembran nachgewiesen werden. Die Vermehrung und Vergrößerung der Lymphgefäße geht mit der zeitgleich beginnenden Fibrose der Pleura einher. Die Pleurafibrose induziert über eine Abflußbehinderung der Lymphe die Proliferation der Lymphgefäße. Die Lymphstauung wiederum führt über eine chronische Ödematisierung und eine Kollagenfibrillen-Neosynthese, wie sie im Rahmen der eigenen Untersuchung dargestellt werden können, zu einer Fibrose. Dieser Prozeß, bei dem sich beide Veränderungen gegenseitig begünstigen und aufrechterhalten, ist schon von der Entstehung der Elephantiasis bei der chronischen obstruktiven lymphatischen Filariose bekannt (VON LICHTENBERG, 1987; PALMER u. REEDER, 2001). Die Folgen eines lange bestehenden proteinreichen Lymphödems sind jedoch in keiner Weise für eine Filariose pathognomonisch (VON LICHTENBERG, 1987).

Bei der Entzündung der Pleura der mit *L. sigmodontis* infizierten Vielzitzenmaus, die schon lange in der Literatur beschrieben ist (PRINGLE, 1974, ZAHNER et al., 1987), findet sich im Rahmen der eigenen Untersuchung eine Infiltration von Makrophagen, unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten, Lymphozyten, Plasmazellen und Mastzellen. Das zahlreiche Vorkommen von eosinophilen Granulozyten und Mastzellen (ZAHNER et al., 1987) kann weder lichtmikroskopisch noch ultrastrukturell belegt werden.

Die von ZAHNER et al. (1987) aufgezeigte lymphozytäre, plasmazelluläre und vereinzelte granulozytäre Infiltration des Zottenstromas zwischen 90. und 120. Tag p.i. läßt sich aufgrund der anders gewählten Untersuchungstermine erst ab 142 Tage p.i. deutlich nachweisen. Die Plasmazellen kommen so zahlreich unterhalb der apikalen Fibrosierungszone vor, daß nicht nur Nester (ZAHNER, 1985) sondern auch bandartige Infiltrate festgestellt werden können. Nach ZAHNER u. RUDOLPH (1986) und ZAHNER et al. (1987) bestehen auch massenhafte Infiltrate von Plasmazellen submesothelial. Bei den eigenen Untersuchungen zeigt die mehrheitlich deutlich erkennbare Lamina propria serosae diese Infiltration als auf die Pleura beschränkt. Ein Grund für das hochgradige Vorkommen von Plasmazellen ist in der ab 73 Tagen p.i. vorliegenden hohen Mikrofilariämie und der damit einhergehenden Antigen-Präsentation durch die Oberfläche der Mikrofilarien zu sehen, auf die der Wirtsorganismus durch eine Umwandlung von B-Lymphozyten zu Plasmazellen mit dem Ziel der Antikörper-Produktion reagiert. So kann neben einem erhöhten Plasmazellgehalt auch eine vermehrte Anzahl von Lymphozyten der Pleura nachgewiesen werden. Die ultrastrukturell dargestellte Erweiterung und Füllung des rauhen endoplasmatischen Retikulums ist als Anzeichen der

sekretorischen Aktivität der Plasmazellen zu verstehen, die die Grundlage der aus der Literatur bekannten erhöhten Immunglobulinpiegel liefert (ZAHNER et al., 1970a u. b; ZAHNER, 1974 u. 1985; TANDON et al., 1983). Der zum letzten Termin der eigenen Untersuchungen deutlich reduzierte Gehalt von Plasmazellen in den Pleuraproliferaten entspricht der niedrigen Mikrofilariämie. Schon die Beobachtung von WHARTON (1947), nach der Baumwollratten mit in einer Pleurahöhle nachweisbaren *L. sigmodontis* auch Alterationen der Pleura der Gegenseite zeigen, spricht mehr für eine immunologische, eventuell allergische, Reaktion auf Parasitenprodukte als für eine mechanische Ursache der Veränderungen.

Der Gehalt von Mastzellen in der Pleura nimmt, beginnend mit Tag 73 p.i., bis 247 Tagen p.i. zu, um dann bis zum Versuchsende bei etwas reduzierten Werten konstant zu bleiben. Damit liegen Befunde vor, die weitgehend vergleichbar zu der Angabe von ZAHNER et al. (1987) sind, wo nach bis Tag 200 p.i. ein Anstieg zu verzeichnen ist. Jedoch schließt sich nach ihren Untersuchungen eine Verminderung des Gehaltes von Mastzellen an, auch wenn bei stark infizierten Vielzitzenmäusen bis 320 Tagen p.i. zahlreiche Mastzellen erkennbar sind. Bei den eigenen Untersuchungen ist dieses nicht deutlich ersichtlich. Im Rahmen der eigenen Untersuchungen können keine submesothelialen Mastzellen gefunden werden, obwohl durch die verwendete Methylenblau-Färbung über die Metachromasie eine deutliche Darstellung dieser Zellart gewährleistet ist. Hinweise auf die von ZAHNER (1985) angenommene positive Korrelation zwischen der Existenz adulter Filarien und dem Ausmaß der Infiltration von Mastzellen finden sich im Rahmen der eigenen Untersuchungen ab 73 Tagen p.i. Die Mastzellen selber töten die Parasiten nicht ab, aber durch die Anlockung von eosinophilen und neutrophilen Granulozyten sowie Thrombozyten an den Ort der Infektion können sie direkten Einfluß auf das Überleben des Parasiten haben (LEE et al., 1986). ZAHNER (1985) kann durch in vitro Untersuchungen zeigen, daß aus der Peritonealflüssigkeit infizierter *Mastomys* gewonnene Mastzellen eine deutliche Steigerung des zytotoxischen Effektes bei Entzündungszellen bewirken, die sich an Mikrofilarien angelagert haben. Die durch Bindung von Antigen-spezifischem IgE sensibilisierten Mastzellen setzen nach erneutem Kontakt mit dem entsprechenden parasitären Antigen Histamin und andere allergene Mediatoren frei (VON LICHTENBERG, 1987). Dieser Mechanismus erklärt die asthma-ähnlichen Symptome bei der Tropischen Pulmonalen Eosinophilie des Menschen im Sinne einer Typ I-Überempfindlichkeit/Anaphylaxie. Außerdem sind die Mastzellen unter anderem über ihre Histaminfreisetzung an der Proliferation von Fibroblasten als Grundlage der Entwicklung

einer Fibrose beteiligt (LEE et al., 1986). Zudem ist es vorstellbar, daß es bei einer allergischen Reaktion zu einer vermehrten Mukussekretion kommt, da nach GAIL u. LENFANT (1983) die Degranulation von Mastzellen in der Zellkultur menschlicher Bronchialzellen die Sekretion von Mukus-Glykoprotein steigern kann. Diese Hyperkrinie, auf die die eigenen Untersuchungen jedoch keine morphologischen Anhaltspunkte ergeben haben, würde die Insuffizienz der Lunge durch entzündliche Alterationen und Fibrose noch verstärken.

Bei den von ZAHNER (1985) 90 Tage p.i. zwischen Mesothel und Plasmazellschicht beobachteten und an Schaumzellen erinnernden Zellen dürfte es sich um die Zellen handeln, die im Rahmen der eigenen lichtmikroskopischen Untersuchung als „morphologisch Alveolarepithelzellen Typ II gleichende Zellen“ bezeichnet worden sind. Als Grund des Vergleichs sind die intrazytoplasmatisch gelegenen sowohl licht- als auch ultrastrukturell Lamellarkörperchen gleichenden Organellen anzuführen. Da aber auch Alveolarmakrophagen nach Phagozytose von tubulärem Myelin ähnliche Einschlüsse aufweisen, erscheint zur endgültigen Abklärung eine immunhistochemische Untersuchung mittels der sauren Phosphatasereaktion sinnvoll. AZ II zeigen diese Reaktion im Gegensatz zu Makrophagen nur schwach oder gar nicht (SOROKIN, 1967; GOLDFISCHER et al., 1968). Allerdings konnte aufgrund der Einbettung des Gewebes in Durcupan<sup>®</sup> keine immunelektronenmikroskopische Untersuchung durchgeführt werden und Paraffin-Material stand nicht zur Verfügung.

Der Nachweis von AZ II auch oberhalb der Lamina propria serosae und damit in der Pleura ist als Folge der Infektion der Vielzitzenmaus mit *L. sigmodontis* zu werten, da es sich bei den AZ II normal-histologisch um in den Nischen der Alveolen angeordnete Zellen handelt. Als Mechanismus ist sowohl eine aktive Auswanderung als auch eine passive Verschleppung der AZ II durch die in den Pleuralspalt auswandernden infektiösen Larven vorstellbar, da die Lamina propria serosae aus einem durchlässigen Geflecht querverlaufender Kollagenfasern besteht.

Im Rahmen der eigenen Untersuchungen kann in der Pleura die Ablagerung von Hämosiderin ab 45 Tagen p.i. bis zum Versuchsende beobachtet werden. Die AM weisen ab 25 Tagen p.i. Anhaltspunkte für intrazytoplasmatische Hämosiderinablagerungen auf. Die Alveolarsepten zeigen ab 73 Tagen p.i. ebenfalls Hämosiderinablagerungen, die bei einzelnen Tieren bis zum Versuchsende nachgewiesen werden können. Damit entsprechen die Befunde in etwa den

Ergebnissen von ZAHNER et al. (1987), die in der Zeit zwischen dem 42. und 250. Tag p.i. eine intrazelluläre Hämosiderinspeicherung sowohl submesothelial als auch perivaskulär feststellen können. Die Bildung von Hämosiderin tritt im Rahmen des Abbaus von Erythrozyten auf. Da das Hämosiderin erstmals im Zeitraum um die Patenz herum beobachtet wird, liegen seiner Entstehung offensichtlich Blutungen zugrunde, die im Zusammenhang mit dem Eintritt der Mikrofilarien in das Blutgefäßsystem aufgetreten sind. Weniger wahrscheinlich ist es, daß die Auswanderung der infektiösen Larven in den Thorax die Ursache darstellt, da sie wahrscheinlich wenige Stunden nach der Infektion abläuft und Hämosiderin innerhalb weniger Stunden bis Tage gebildet wird (WENK, 1967).

### **Submesotheliale Veränderungen:**

Sowohl bei den von ZAHNER et al. (1987) durchgeführten Studien als auch im Rahmen der eigenen Untersuchungen findet sich 24 bzw. 25 Tage nach Infektion der Vielzitzenmaus mit *L. sigmodontis* submesothelial ein vermehrter Zellgehalt, der aus Makrophagen und unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten besteht, und bis zum Versuchsende nachweisbar bleibt.

Der mit Eintritt der Patenz von ZAHNER et al. (1987) submesothelial festgestellte vermehrte Gehalt von Granulozyten kann nicht als Infiltration des Interstitiums oder Ansammlung im Alveolarlumen bestätigt werden. Aufgrund der besseren Beurteilbarkeit der Semidünnschnitte wird deutlich, daß aber die submesothelialen Gefäße und hier insbesondere die Kapillaren einen hohen Gehalt von neutrophilen Granulozyten aufweisen. Als Grund bleibt ein Tropismus der neutrophilen Granulozyten bzw. eine Leukozytostase zu vermuten, denn nach ZIEGLER (1988) besteht lediglich zum Zeitpunkt der Häutung des Parasiten von der Larve 4 zum präadulten Stadium eine Leukozytose. Danach sinkt der Leukozytenwert, wobei einige Tiere eine Leukopenie zeigen. Eine Hypereosinophilie, wie sie im Rahmen der Tropischen Pulmonalen Eosinophilie des Menschen auftritt (VON LICHTENBERG, 1987; PALMER u. REEDER, 2001), kann ZIEGLER (1988) nicht nachweisen. Auch finden sich im Rahmen der eigenen Untersuchungen keine Anhaltspunkte für eine granulomatöse Entzündung unter Beteiligung von Lymphozyten, eosinophilen Granulozyten und Makrophagen oder für Meyers-Kouvenaar-Körperchen, bei denen es sich um sternförmige eosinophile Präzipitate in der Umgebung abgestorbener Mikrofilarien handelt, die ein Charakteristikum der Tropischen Eosinophilen Pneumonie des Menschen darstellen (VON LICHTENBERG, 1987).

Die von ZAHNER et al. (1987) 200 Tage p.i. beobachtete Vermehrung von kollagenen Fasern in den submesothelialen Bereich zeichnet sich im Rahmen der eigenen Untersuchungen nur undeutlich ab. Die beinahe im gesamten Versuchsverlauf nachweisbare erhöhte Dichte des Parenchyms, die sich in einer Verbreiterung der Septen und einer geringen Größe der Alveolarlumina äußert, hängt wahrscheinlich mit einer subpleuralen Atelektase zusammen, die insbesondere in Bereichen knotiger Pleuraproliferationen vorkommt. Durch eine Abnahme der Spannung ist eine Verbreiterung der Septen vorstellbar.

Insbesondere in derartig veränderten Arealen ist eine Hyperplasie der AZ II feststellbar. Als Grund dürfte der Versuch des Organismus anzusehen sein, über eine vermehrte Bildung von Surfactant die Belüftungsstörung in diesen Arealen auszugleichen (KISSLER, 1980).

Der von ZAHNER et al. (1987) aufgezeigte Zusammenhang zwischen dem Absterben adulter Parasiten und der Verminderung submesothelialer Infiltrate kann anhand der vorliegenden Ergebnisse nicht bestätigt werden.

Die sich im Verlauf der Infektion entwickelnde chronische fibrosierende Pleuritis wird erhebliche funktionelle Auswirkungen nach sich ziehen. Die resultierende respiratorische Insuffizienz dürfte einer der Gründe sein, daß ab 60 bis 69 Tagen p.i. bei stark infizierten Vielzitzenmäusen vermehrt Todesfälle zu verzeichnen sind (LÄMMLER et al., 1968).

Die in der Literatur und den eigenen Untersuchungen aufgezeigten Veränderungen der Pleura der *Mastomys* nach Infektion mit *L. sigmodontis* entsprechen weitgehend denen der Baumwollratte als dem originären Wirt dieser Filarie. So sind die von WHARTON (1947) beschriebenen lokalen oder auch generalisierten Pleuraproliferationen mit nodulärer bis polymorpher Gestalt, die ein fibröses Stroma und eine Infiltration von wenigen Plasmazellen, Lymphozyten, neutrophilen und eosinophilen Granulozyten aufweisen, als Anzeichen einer villösen Pleuritis zu werten. Das im späteren Infektionsverlauf verstärkte Auftreten von Plasmazellen und Fibrozyten (WHARTON, 1947) gleicht dem Verlauf bei der Vielzitzenmaus. Die von WHARTON (1947) als ödematös bezeichneten Pleuraproliferationen beruhen sehr wahrscheinlich auf einer entzündlich bedingten Abflußstörung der Lymphe, wie sie sich auch bei der Vielzitzenmaus darstellt. Auch die bei der *Mastomys* beobachtete Fibrose der Pleura mit Dilatation von Lymphgefäßen ist bei der Baumwollratte feststellbar (WHARTON, 1947). Die Mesothelzellen im Bereich der

Pleuraproliferationen werden im Verlauf der Infektion, wie auch bei der *Mastomys*, hyperplastisch. Die Beschreibung ihrer Anordnung im Bereich der knotigen Pleuraproliferate durch WHARTON (1947) als mehrreihiger Verband, der von Entzündungszellen infiltriert wird, entspricht der Darstellung von ZAHNER et al. (1987) bei der Vielzitzenmaus.

Zur Pathologie der Pleura anderer Versuchstiere nach einer Infektion mit *L. sigmodontis* liegen in der Literatur nur spärliche Angaben vor, die aber auf ein gleiches Reaktionsmuster im Vergleich zur Vielzitzenmaus hinweisen (MOHAN, 1976). Jedoch bestehen zwischen den Versuchstieren Unterschiede in der Stärke ihrer Reaktion. Gerbils weisen eine Ödematisierung, Proliferation und Fibrose des Mesothels auf; subpleural finden sich vor allem aus Lymphozyten bestehende Zellinfiltrate (SCHNEIDER et al., 1968), die bei der Vielzitzenmaus nicht auffällig sind. Insgesamt gesehen sind jedoch die infektionsbedingten Veränderungen der Lunge im Vergleich zur Baumwollratte schwerer und länger anhaltend (SCHNEIDER et al., 1968), was die speziesspezifischen Einflüsse unterstreicht. Bei der weißen Ratte beschreibt MOHAN (1973) die Bildung villöser Auswüchse der Pleura.

### **Parenchym:**

Das Lungenparenchym der mit *L. sigmodontis* infizierten Vielzitzenmaus weist im Vergleich zur Pleura geringere Veränderungen auf, die hauptsächlich aus einer herdförmigen überwiegend perivaskulären Infiltration von Makrophagen, unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten und Plasmazellen bestehen.

Die zellulären Infiltrate des Lungenparenchyms ohne Bezug zu einer weiteren Struktur des Parenchyms treten relativ spärlich auf, wohingegen zahlreiche gleichartig zusammengesetzte perivaskuläre Infiltrate beobachtet werden können. Daher erscheint es wahrscheinlich, daß es sich auch bei ersteren um Anschnitte perivaskulärer Infiltrate ohne erkennbares Gefäß handelt. Unterstützt wird diese Annahme durch die Tatsache, daß die Mikrofilarien über den Blutweg in die Pleurahöhle gelangen, wobei sie Gefäßwände und Pleura durchdringen müssen und diese dabei mechanisch schädigen. Weiterhin wird die zelluläre Infiltration eine Folge der Freisetzung von Antigenen der Mikrofilarien darstellen, die bei der Tropischen Pulmonalen Eosinophilie des Menschen für den Fall beschrieben ist, daß Mikrofilarien im Gefäßsystem der Lunge degenerieren (NUTMAN et al., 1989).

Die ab dem 90. Tag p.i. nach ZAHNER et al. (1987) nachweisbare Bildung von Granulomen, die vor allem aus Makrophagen und neutrophilen Granulozyten aber auch aus Lymphozyten,

Plasmazellen und einzelnen eosinophilen Granulozyten aufgebaut sind, kann nicht nachvollzogen werden, auch wenn im Parenchym ab dem 73. Tag p.i. herdförmige Ansammlungen von Makrophagen, unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten und ab dem 142. Tag p.i. zahlreichen Plasmazellen und einzelnen Lymphozyten beobachtet werden können. Die bis zum letzten Untersuchungszeitpunkt nachgewiesene Persistenz der im Interstitium gelegenen Plasmazellen korreliert mit ihrem Nachweis 400 Tage p.i. durch ZAHNER et al. (1987). Die selbst beobachteten Infiltrate zeigen nicht den typischen Aufbau eines Granuloms (WEISS, 1990), eine granulozytäre Beteiligung an den Infiltraten ist nicht erkennbar. Im Zentrum der Infiltrate finden sich weder nekrotisches Material noch Parasiten oder deren Residuen. Die Anzahl und Größe der Infiltrate nimmt zum letzten Untersuchungstermin ab, somit scheint ein positiver Zusammenhang zur Höhe der Mikrofilariämie zu bestehen.

Die in der Präpatenz von ZAHNER (1985) beschriebene vermehrte Abschilferung von Alveolarepithelzellen kann im Rahmen der eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden. Es ist jedoch eine deutliche Vermehrung der AM in der Frühphase der Infektion erkennbar. Bei der Tropischen Pulmonalen Eosinophilie des Menschen können MANGHANI et al. (1992) ultrastrukturell ebenfalls eine Zunahme der AM nachweisen, wobei die Zellen viel Zytoplasma und zahlreiche Phagolysosomen mit aufgenommenem Detritus besitzen. Bei Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnittpräparaten sind die pulmonalen Zellen nur eingeschränkt differenzierbar, so daß eine Verwechslungsgefahr zwischen AZ II und AM aufgrund ihrer intrazytoplasmatischen Einlagerungen besteht. Die weiterhin differentialdiagnostisch in Betracht zu ziehende Hyperplasie von AZ II kann erst nach Einsetzen der Patenz beobachtet werden.

Die von ZAHNER et al. (1987) mit Beginn der Patenz nachgewiesene vaskuläre Stauung läßt sich aufgrund der eigenen Untersuchungen nicht sicher mit der Infektion der *Mastomys* korrelieren, denn vergleichbare Stauungserscheinungen können auch bei den Kontrolltieren festgestellt werden. Sie beruhen vermutlich auf einer agonalen Herzinsuffizienz mit Rückstau von Blut in den Lungenkreislauf. Die in diesem Zusammenhang zu erwähnenden Ansammlungen von Erythrozyten in den Alveolarlumina sind ebenfalls bei Kontrolltieren und infizierten *Mastomys* feststellbar. Damit handelt es sich um ein Artefakt, welches wahrscheinlich durch agonale Blutaspilation der durch Dekapitation getöteten Tiere

verursacht worden ist. Für eine ansonsten ursächlich in Betracht zu ziehende agonal geschädigte Blut-Luft-Schranke finden sich keine morphologischen Hinweise.

ZAHNER et al. (1987) beobachten 60 Tage p.i. fokale Ödeme, die schon zum Tag 90 p.i. deutlich reduziert erscheinen und sich 120 Tage p.i. nicht mehr nachweisen lassen. Die vorliegende Untersuchung ermöglicht keine diesbezügliche Aussage, da die Sektionstermine nicht identisch gewählt worden sind. Allerdings können lichtmikroskopisch insbesondere zu den Zeitpunkten, die an den von ZAHNER beschriebenen Zeitraum des Auftretens der Ödeme angrenzen oder in diesen hineinfallen - nämlich 45, 73 und 142 Tage p.i. - keine Ödeme nachgewiesen werden. Bei der ultrastrukturellen Untersuchung sind geringgradige alveoläre Ödeme darstellbar, die sich jedoch im Grad ihrer Ausprägung nicht zwischen Kontrolltieren und infizierten Vielzitzenmäusen unterscheiden. Damit dürfte es sich auch bei dieser Veränderung um ein Artefakt handeln, welches im Zusammenhang mit der Tötung der Tiere stehen kann. *Mastomys* mit *Brugia malayi* und *Acanthocheilonema vitae*-Infektionen entwickeln keine Ödeme (ZAHNER u. RUDOLPH, 1986).

Die in der Präpatenz beschriebenen herdförmigen Emphyseme und Atelektasen (ZAHNER et al., 1987) finden sich bei den eigenen Untersuchungen in annähernd gleich deutlicher Ausprägung sowohl bei den Kontrolltieren als auch bei unterschiedlich lange infizierten Vielzitzenmäusen. Daher ist auch hier von einem Artefakt auszugehen. Beim Zuschneiden der Gewebeblöcke kann es durch Druckeinwirkung zu fokalen Atelektasen und emphysematösen Veränderungen benachbarter Areale des Parenchyms kommen.

Bei den eigenen Untersuchungen können die Mikrofilarien von *L. sigmodontis* bei der Vielzitzenmaus nur intravasal dargestellt werden, wohingegen MOHAN (1973) bei der weißen Ratte der Mikrofilarien-Nachweis sowohl intra- als auch extravaskulär gelingt. Als entzündliche Reaktion auf die Parasitose steht eine Infiltration von eosinophilen Granulozyten, die zum Teil Anzeichen von Karyorrhesis aufweisen, im Vordergrund (MOHAN, 1973). Insofern weisen diese Wirte ein anderes Reaktionsmuster auf, welches mehr der Tropischen Pulmonalen Eosinophilie des Menschen entspricht (DANARAJ et al., 1966; MANGHANI et al., 1992; PALMER u. REEDER, 2001). Vergleichbar zu den eigenen Untersuchungsergebnissen bei der Vielzitzenmaus kann MOHAN (1973) bei der mit *L. sigmodontis* infizierten weißen Ratte keine Granulombildung nachweisen.

Auch beim Gerbil kommen die Mikrofilarien intravaskulär und parenchymal vor (SCHNEIDER et al., 1968). Möglicherweise liegt als Grund der differierenden Angaben über

die Lokalisation der Mikrofilarien die schlechtere Auswertbarkeit von Hämatoxylin-Eosin gefärbten Schnittpräparaten zugrunde, bei denen das Vorhandensein von Mikrofilarien im Parenchym allein schon wegen ihrer größeren Dicke vorgetäuscht wird.

Gerbils entwickeln bei Infektionen mit *B. malayi*, *B. pahangi* und *B. patei* neben einer chronischen interstitiellen Pneumonie Granulome, wobei Mikrofilarien gelegentlich anzutreffen sind (VINCENT et al., 1976).

Die von CASTLEMAN u. WONG (1982) bei der okkulten Dirofilariose des Hundes ermittelten ultrastrukturellen Befunde sprechen für eine granulomatöse Pneumonie mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten, so daß diese Veränderungen Ähnlichkeiten zu den von ZAHNER et al. (1987) bei der *L. sigmodontis*-Infektion der Vielzitzenmaus beschriebenen aufweisen. Die beobachtete Fibrose läßt ebenfalls Vergleiche zur Tropischen Pulmonalen Eosinophilie zu (DANARAJ et al., 1966; CASTLEMAN u. WONG, 1982; OTTESEN, 1984).

### **Gefäße:**

Im Infektionsverlauf lassen sich im Bereich der Gefäßwände von Arterien, Arteriolen, Venen, Venulen und Kapillaren keine morphologischen Veränderungen registrieren. Dies erscheint insbesondere deshalb erstaunlich, da die Verbreitung der infektiösen Larven und der Mikrofilarien hämatogen erfolgt. Jedoch kann auch WHARTON (1947) keine Gefäßalterationen bei der mit *L. sigmodontis* infizierten Baumwollratte feststellen. Entsprechend der Angabe von ZAHNER et al. (1987) zeigen die Endothelien besonders bis 150 bzw. 142 Tagen p.i. adhärenzte Ansammlungen verschiedener Zellarten.

Als Hinweise auf eine Auseinandersetzung des Wirtsorganismus mit den Filarien sind zusätzlich zu den adhärenzten Zellen die perivaskulären Infiltrate zu interpretieren. ZAHNER et al. (1987) berichten über mononukleäre und später plasmazelluläre Infiltrate, die ab dem 90. Tag p.i. auftreten. Am 150. Tag p.i. sind die Gefäße von gemischt-mononukleären und ab 200 Tagen p.i. hauptsächlich von plasmazellulären manschettenartigen Infiltraten mit nur geringem Anteil an überwiegend eosinophilen Granulozyten umgeben (ZAHNER et al., 1987). Insbesondere die Ansammlungen von Plasmazellen, die, wie sich bei den selbst durchgeführten Untersuchungen bestätigt, im fortgeschrittenen Infektionsverlauf manschettenartig die Gefäße umgeben, sprechen für eine entsprechende Antikörper-Bildung am Ort der Antigen-Freisetzung. Bei der Tropischen Pulmonalen Eosinophilie des Menschen werden die Mikrofilarien-Antigene durch Degeneration von Mikrofilarien im Gefäßsystem der

Lunge freigesetzt (NUTMAN et al., 1989). So läßt sich auch bei der Infektion mit *L. sigmodontis* erklären, daß bei einem Gleichgewicht von Fekundität und Parasitämie nur eine von acht Mikrofilarien in das periphere Gefäßsystem übertritt. Die anderen sieben werden im Kapillarsystem der Lunge abgefangen, wobei nach Untersuchungen von WENK (1986) große Mengen oberflächenspezifischer IgM-Antikörper gebunden werden.

Der von ZAHNER et al. (1987) beobachtete mit der abnehmenden Parasitämie einhergehende Rückgang der perivaskulären Infiltrate deutet sich auch bei den eigenen Untersuchungen an, wobei der mit der geringeren Mikrofilariämie einhergehende reduzierte Antigen-Stimulus als Grund anzusehen sein dürfte.

Bei Infektionen des Gerbil mit *B. malayi*, *B. pahangi* und *B. patei* können VINCENT et al. (1976) eine obstruktive Endarteriitis und akute Nekrosen der Gefäßwände sowie perivaskuläre Infiltrate von Entzündungszellen beobachten. Vergleichbare Veränderungen des Gefäßsystems sind bei der Infektion des Gerbil mit *L. sigmodontis* nicht nachzuweisen (SCHNEIDER et al., 1968). Insofern scheint es sich hierbei um eine für *Brugia*-Infektionen typische Alteration zu handeln. Erstaunlich ist, daß vergleichbare Veränderungen der Venen nicht auffindbar sind, denn hier finden sich nur perivaskuläre Ansammlungen von Entzündungszellen.

Die Untersuchungsergebnisse von CASTLEMAN u. WONG (1982) bei der Dirofilariose des Hundes sprechen für die Entwicklung von perivaskulären Plasmazellinfiltraten und Endothelzelldegenerationen.

### **Bronchioli:**

Bei der *L. sigmodontis*-Infektion der Vielzitzenmaus weisen die Bronchioli weder lichtmikroskopisch noch ultrastrukturell erkennbare Veränderungen auf.

Lediglich im peribronchiolären Bereich kann zu den beiden letzten Untersuchungsterminen eine gering- bis mittelgradige Vermehrung von Makrophagen, Fibrozyten, Lymphozyten, Plasmazellen sowie Mastzellen beobachtet werden. Dieser Befund entspricht damit weitgehend den Angaben von ZAHNER et al. (1987), die das Vorkommen peribronchiolärer Infiltrate ab Tag 90 p.i beschreiben, die zuerst aus mononukleären Zellen, später hauptsächlich aus Plasmazellen bestehen. Als Grund dieser zellulären Infiltration ist eine Auseinandersetzung des Wirtsorganismus mit der Filarie anzusehen, bei der es zu einer Stimulierung des BALT sowie zu einer Umwandlung von B-Lymphozyten zu Plasmazellen gekommen ist. Jedoch kann die Beteiligung von eosinophilen Granulozyten in geringer

Menge an den Infiltraten 200 Tage p.i. ebenso wenig nachvollzogen werden wie die Ausbildung dicker zellulärer Manschetten im peribronchiolären Bereich. Die peribronchiolären Infiltrate treten im Rahmen der eigenen Untersuchungen erst spät auf. Der von ZAHNER et al. (1987) festgestellte mit der abnehmenden Parasitämie einhergehende Rückgang der Infiltrate ist nicht zu beobachten. Der Gehalt von peribronchiolär lokalisierten Mastzellen schwankt, wobei sich vergleichend zu der Angabe von ZAHNER et al. (1987) weder eine Korrelation zum Infektionsverlauf noch zur Höhe der Mikrofilariämie andeutet.

Bei mit *L. sigmodontis* infizierten Baumwollratten zeigen sich Ödematisierungen größerer Bronchioli und Ansammlungen zahlreicher eosinophiler Granulozyten in den Lumina (WHARTON, 1947), die bei *Mastomys* nicht zu beobachten sind. Ein möglicher Grund ist in der Tatsache zu sehen, daß es bei der Vielzitzenmaus nur zu einer insgesamt geringgradigen Ansammlung von eosinophilen Granulozyten in der Lunge kommt, die zudem nur intravasal nachgewiesen werden können.

SCHNEIDER et al. (1968) beobachten bei Gerbils, die mit *L. sigmodontis* infiziert sind, nicht näher charakterisierte peribronchiale Infiltrate und Hämosiderinablagerungen. Die Veränderungen im Bereich der luftführenden Wege stehen, wie auch bei der Vielzitzenmaus, im Rahmen der pathologischen Veränderungen nicht im Vordergrund.

Da die Wanderung von *L. sigmodontis* über das Blutgefäßsystem erfolgt, sind nur geringgradige Veränderungen im Bereich des luftführenden Systems zu erwarten. Eine Hypertrophie der Muskulatur der Tunica muscularis oder eine Bronchialepithelhyperplasie, wie sie beispielsweise beim Igel bei einer Verlegung des Lumens durch Lungenwürmer auftritt (DÖPKE, 2002), kann nicht festgestellt werden. Das als zusätzlicher Indikator herangezogene Verhältnis von Dicke der Tunica muscularis zur Höhe des Epithels bleibt während der Infektion konstant.

Die im Zusammenhang mit der Wanderung der Larven von *L. sigmodontis* und der Entstehung der Pleuraveränderungen interessierende Beschaffenheit des Inhaltes der Pleurahöhle kann im Rahmen dieser Untersuchung nicht beurteilt werden, da entsprechendes Material nicht zur Verfügung steht. Die Untersuchung des frei in der Brusthöhle befindlichen Materials wäre informativ, denn in der Literatur finden sich nur spärliche Angaben über die Zusammensetzung. So beschreibt PRINGLE (1974) bei der *L. sigmodontis*-Infektion der

*Mastomys* ein vermehrtes Auftreten von eosinophilen Granulozyten und einen leicht erhöhten Mastzellgehalt in der Pleurahöhle.

Bei weißen Ratten, die mit *L. sigmodontis* infiziert sind, können OLSON (1959b) und MOHAN (1973) einen erhöhten Gehalt von eosinophilen Granulozyten und viele Mikrofilarien, die noch zum Teil von den Eihüllen umgeben sind, nachweisen. Daneben finden sich abgeschilferte Mesothelzellen, die oftmals Aggregate bilden. Die im Rahmen der eigenen Untersuchungen beobachtete Ödematisierung des Mesothels dürfte über eine Lockerung des Zellverbandes zu einer vermehrten Freisetzung von Mesothelzellen in die Pleurahöhle führen. NELSON et al. (1976) bestätigen diese Befunde bei der weißen Ratte, zudem kann das Vorhandensein von Lymphozyten, neutrophilen Granulozyten, Makrophagen und Mastzellen gezeigt werden. Da das Pleuraexsudat bei der *Mastomys* im Vergleich zur Baumwollratte nur spärlich vorhanden ist (PRINGLE, 1974), empfehlen auch NELSON et al. (1976) weitere Untersuchungen des Exsudates zur Abklärung speziesspezifischer Einflüsse.

Für die Untersuchung des Mediastinums ist kein entsprechendes Material asserviert worden. Das Mediastinum erscheint unter dem Gesichtspunkt wichtig, daß SCOTT u. CROSS (1945) bei ihrer Erstbeschreibung der Pathologie von Lunge und Pleura bei mit *L. sigmodontis* infizierten Baumwollratten die Bildung von tumorähnlichen Massen im Bereich des Mediastinums anführen, die in ihrem Zentrum zerstörte Würmer und Eier enthalten. Allerdings finden sich bei Untersuchungen anderer Autoren keine weiteren Hinweise auf ein tumoröses Geschehen. WHARTON (1947) interpretiert die im Fettgewebe des Mediastinums vorliegenden Befunde bei der *L. sigmodontis*-Infektion der Baumwollratte als lymphoide Hyperplasie mit Beteiligung von eosinophilen Granulozyten und Plasmazellen.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

1. 24 weibliche *Mastomys coucha* (*M. coucha*) Stamm GRA Gießen mit einem Alter von fünf Wochen wurden auf natürlichem Weg durch eine Blutmahlzeit infizierter Milben (*Ornithonyssus bacoti*) mit der Filarie *Litomosoides sigmodontis* (*L. sigmodontis*) infiziert.  
Die Untersuchung von jeweils vier Tieren erfolgte zu den Zeitpunkten 25, 45, 73, 142, 247 und 345 beziehungsweise 352 Tage p.i.  
Als Kontrollen dienten je vier nicht infizierte *M. coucha* mit einem Alter von drei, sechs und 12 Monaten.
2. Die Blutentnahme zur Bestimmung der Höhe der Mikrofilariämie fand zu jedem angegebenen Untersuchungszeitpunkt statt.  
Die Tiere wurden im Anschluß getötet und die Lunge mit Pleura pulmonalis für die elektronenmikroskopische Untersuchung präpariert.  
Bei den infizierten *M. coucha* wurden die larvalen und adulten Filarien *L. sigmodontis* aus der Pleurahöhle gewonnen, ausgezählt und das Geschlecht bestimmt.
3. Die semiquantitative Auswertung von Lunge und Pleura erfolgte licht- und transmissionselektronenmikroskopisch, bei der Lunge getrennt nach den verschiedenen morphologischen Einheiten.  
Die morphologischen Befunde entsprechen weitgehend den Angaben in der Literatur.
4. Mikrofilarien konnten erstmals im Blut und in den Organen von Tieren nachgewiesen werden, die 73 Tage p.i. seziiert wurden. Eine große Anzahl war bis 247 Tage p.i. zu beobachten; danach nahm die Anzahl der Mikrofilarien ab. Alle infizierten Tiere enthielten lebende Larven oder Adulte von *L. sigmodontis* in der Pleurahöhle. Die Anzahl variierte entsprechend der natürlichen Infektion. Der Mittelwert und die Standardabweichung der Wurmbürde ( $\bar{x} \pm s$ ) betragen 38  $\pm$  55.

5. Erste morphologische Veränderungen fanden sich 25 Tage p.i. in Form einer Aktivierung des Mesothels mit Hypertrophie der Zellen, Vermehrung von rauhem endoplasmatischem Retikulum und Mitochondrien sowie deutlicherem Besatz von Mikrovilli. Die maximale Aktivierung des Mesothels war nach dieser Untersuchung entgegen den Angaben in der Literatur 25 und 45 Tage p.i. erreicht. Zum Versuchsende zeigten die Mesothelzellen die ursprüngliche Morphologie.
- VI. 6. Der Hauptbefund bestand in einer hochgradigen villösen Pleuritis, die ab 73 Tagen p.i. festgestellt werden konnte. Sie erreichte ihr Maximum 247 Tage p.i. Entgegen früherer Angaben im Schrifttum entwickelte sich im Verlauf der Infektion keine Mehrschichtigkeit des Mesothels. Die Verdickung der Pleura basierte stattdessen auf bandartigen Plasmazellinfiltraten sowie einer ausgedehnten Fibrosierung. Daneben konnte eine geringe Anzahl von lymphohistiozytären Zellen beobachtet werden.
- Die Pleuraproliferate enthielten, beginnend 73 Tage p.i., im gesamten weiteren Untersuchungszeitraum zusätzlich Mastzellen.
- Zeitgleich ließen sich in den Pleurazotten morphologisch den Alveolarepithelzellen Typ II gleichende Zellen darstellen, bei denen es sich um die in der Literatur beschriebenen Schaumzellen handeln dürfte. Wahrscheinlich haben diese Zellen ihren Ursprung im Lungenparenchym, vielleicht waren sie durch wandernde Larven von *L. sigmodontis* in die Pleura verschleppt worden.
- Die in der Literatur beschriebene überwiegende Beteiligung von eosinophilen Granulozyten an der Infiltration der Pleura ließ sich an diesem Untersuchungsmaterial nicht belegen.
- In Ergänzung zu den bisher bekannten Befunden war durch die ultrastrukturelle Untersuchung erstmals nachgewiesen worden, daß die ab 45 Tagen p.i. beobachtete Vaskularisation der Pleurazotten auf einer Proliferation und Dilatation der Lymphgefäße beruhte.
- Die chronische Fibrose dürfte zu einer pulmonalen Insuffizienz führen.

7. Die sowohl in der Pleura als auch im Parenchym ab 25 Tagen p.i. vorhandene Hämosiderose weist auf Blutungen hin, die durch parasitäre Wanderungen ausgelöst worden sein können.
  
8. Das Lungenparenchym zeigte geringgradigere Veränderungen in Form von überwiegend perivaskulären Infiltraten von Makrophagen, Plasmazellen und unterschiedlich ausgereiften Fibroblasten, die ab 73 Tagen p.i. anzutreffen waren. Größe und Anzahl der Infiltrate erreichten 247 Tage p.i. ihr Maximum. Im Rahmen der eigenen Untersuchung konnte weder die in der Literatur beschriebene Ausbildung von Granulomen noch eine eosinophile Pneumonie beobachtet werden.  
Eine geringgradige Hyperplasie von Alveolarepithelzellen Typ II, bei der es sich um die Folge einer Dystelektase handeln dürfte, war 73 und 142 Tage p.i. erstmals nachweisbar.
  
9. Die Kapillaren wiesen im Untersuchungszeitraum keine morphologischen Veränderungen auf. Kleinere arterielle Gefäße zeigten ab 45 Tagen p.i. eine perivaskuläre Infiltration von Lymphozyten. Ab 73 Tagen p.i. kam es durch Lymphozyten und Plasmazellen zu einer manschettentartigen Umlagerung größerer arterieller und venöser Gefäße. Diese blieb bis zum Versuchsende bestehen, wobei sich das Maximum 247 Tage p.i. fand. Die perivaskulären Zellansammlungen sind als Anzeichen immunologischer Auseinandersetzung des Wirtes mit parasitärem Antigen zu verstehen.
  
10. Die Bronchioli entwickelten durch die Infektion mit *L. sigmodontis* keine morphologischen Veränderungen.  
Peribronchiolär fanden sich ab 247 Tagen p.i. geringgradig vermehrt Lymphozyten, Plasmazellen, Mastzellen und unterschiedlich ausgereifte Fibroblasten als Zeichen immunologischer Reaktionen.  
Die in der Literatur beschriebene Beteiligung von eosinophilen Granulozyten an teils manschettentartigen Infiltraten in der Umgebung der Bronchioli konnte in dieser Untersuchung nicht nachvollzogen werden.

## 6 SUMMARY

Histopathological and electron microscopical studies of lung and pleura in *Litomosoides sigmodontis* infected *Mastomys coucha*.

1. Female *Mastomys coucha* (*M. coucha*) (strain GRA Giessen) at an age of five weeks were infected with the filarial parasite *Litomosoides sigmodontis* (*L. sigmodontis*) on the natural route by infected mites (*Ornithonyssus bacoti*), which were allowed to suck blood.  
Four animals each were necropsied 25, 45, 73, 142, 247, 345 and 352 days p.i., respectively.  
Three groups (n = 4) of uninfected *M. coucha* were used as controls at an age of three, six and 12 months.
2. Microfilaraemia levels were determined before killing.  
Lungs were isolated immediately after death and prepared for electron microscopy.  
Larval and adult *L. sigmodontis* were isolated from the pleural cavity, sexed and counted.
3. Semiquantitative investigations of the lungs and visceral pleura were carried out by light- and electron microscopy considering the various morphological subunits of the lung.  
The morphological findings are basically consistent with reports from literature.
4. Microfilariae were first detected in the blood and in the organs of animals necropsied 73 days p.i. High levels were usually observed until 247 days p.i.; thereafter numbers of microfilariae declined. All infected animals carried life larval or adult stages of *L. sigmodontis* in the pleural cavity. The numbers varied according to natural infection. The mean worm burden ( $\bar{x} \pm s$ ) was 38 +/- 55.

5. Morphological changes were observed already 25 days p.i. The mesothelium was activated, showed cellular hypertrophy and prominent microvilli. Inside cells the rough endoplasmatic reticulum and the number of mitochondria were increased. In contrast to descriptions in the literature in this study the mesothelium was 25 and 45 days p.i. maximally activated. The picture tended to normal at the end of the observation period.
  
6. Major alterations consisted of a severe villous pleuritis first seen at 73 days p.i., which reached a maximum in animals investigated 247 days p.i. In contrast to earlier data a multilayered mesothelium could not be demonstrated during the infection. Instead thickening of the pleura was based on ribbon-like plasma cell infiltrations and extensive fibroses. Additionally few lymphocytes and macrophages were observed.  
From day 73 p.i. onwards the proliferating pleura contained mast cells.  
In addition, cells with morphology of alveolar epithelial cells type II were present, which seem to be the foamy cells as reported in the literature. The origin of these cells is most likely the lung parenchyma. Perhaps they were carried off into the pleura by migrating larvae of *L. sigmodontis*.  
The presence of eosinophilic granulocytes in pleural infiltrates, as reported in the literature, was not demonstrated in this material.  
In addition to so far known findings the ultrastructural study showed that the vascularisation of pleural proliferations, which could be observed from 45 days p.i. onwards, was based on proliferated and dilatated lymphatic vessels.  
Chronic fibrosis may result in pulmonary insufficiency.
  
7. Haemosiderosis in lung parenchyma and pleura occurred and was first detected 25 days p.i. These are indicative for parasitic migration.
  
8. From 73 days p.i. onwards there was a mild parenchymal lung lesion, characterized by predominantly perivascular infiltrates of macrophages, plasma cells and fibroblasts of varying maturity. Numbers and sizes of infiltrates peaked in animals investigated 247 days p.i.

In this study there were no hints at neither formation of granulomas nor eosinophilic pneumonia as described in the literature.

A moderate hyperplasia of alveolar epithelial cells type II was observed at 73 and 142 days p.i. Possibly this was a result of dystelectasis.

9. Morphological alterations of the capillaries could not be detected during the evaluation period. Smaller arteries showed perivascular infiltrates of lymphocytes from 45 days p.i. onwards. From 73 days p.i. onwards lymphocytes and plasma cells surrounded larger arterial and venous vessels like a cuff, particularly in animals investigated 247 days p.i. These perivascular cell accumulations indicate an immunological reaction between parasitic antigen and host.
  
10. The bronchioli were free of morphological alterations due to the filarial infection. *M. coucha* necropsied 247 days p.i. showed mild peribronchiolar infiltrates of lymphocytes, plasma cells, mast cells and fibroblasts of different maturity. This can be interpreted as a sign of immunological activity.  
The participation of eosinophilic granulocytes on cuff-like peribronchiolar infiltrates, which was reported in the literature, could not be demonstrated in this study.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

Afzelius BA, Mossberg B (1980)

Immotile cilia.

Thorax 35, 401 - 404

Ah HS, Burke TM (1976)

*Litomosoides carinii*: an approach to quantitatively controlled infections in jirds.

J Parasitol 62, 651 - 652

Ahmed SS (1967)

Studies on the laboratory transmission of sub-periodic *Brugia malayi* and *B. pahangi*.

II. Transmission to intact and splenectomized rats and cotton rats.

Ann Trop Med Parasitol 61, 432 - 436

Bagai RC, Subrahmanyam D (1970)

Nature of acquired resistance to filarial infection in albino rats.

Nature 228, 682 - 683

Bain O, Petit G, Diagne M (1989)

*Litomosoides*, parasites of rodents; taxonomic consequences.

Ann Parasitol Hum Comp 64, 268 - 289

Baskerville A (1979)

Ultrastructure of the bronchial epithelium of the pig.

Zentralbl Veterinärmed A 17, 796 - 802

Bell SD, Brown HW (1945)

Studies on the microfilarial periodicity of *Litomosoides carinii*, filariid parasite of the cotton rat.

Amer J Trop Med 25, 137 - 140

Benson BJ (1980)

Properties of an acid phosphatase in pulmonary surfactant.  
Proc Natl Acad Sci USA 77, 808 - 811

Bertalanffy FD (1964)

Respiratory tissue: structure, histophysiology, cytodynamics.  
Part I. Review and basic cytomorphology.  
Int Rev Cytol 16, 233 - 328

Bertram DS (1966)

Dynamics of parasitic equilibrium in cotton rat filariasis.  
Adv Parasitol 4, 255 - 319

Bertram DS, Unsworth K, Gordon RM (1946)

The biology and maintenance of *Liponyssus bacoti* Hirst, 1913, and an investigation into its role as a vector of *Litomosoides carinii* to cotton rats and white rats, together with some observations on the infection in the white rats.  
Ann Trop Med Parasitol 40, 228 - 255

Bienenstock J, Johnston N, Perey DY (1973)

Bronchial lymphoid tissue.  
I. Morphologic characteristics.  
Lab Invest 28, 686 - 692

Blusse van Oud Alblas A, van Furth R (1979)

Origin, kinetics and characteristics of pulmonary macrophages in the normal steady state.  
J Exp Med 149, 1504 - 1518

Boudreau J, Beaudoin AR, Nadeau D (1983)

Sequential isolation of lamellar bodies and surfactant fractions from rat lungs.  
Can J Biochem Cell Biol 61, 231 - 239

Bowden DH (1971)

The alveolar macrophage.  
Curr Top Pathol 55, 1 - 36

Bowden DH (1981)

Alveolar response to alveolar injury.  
Thorax 36, 801 - 804

Bowden DH (1987)

Macrophages, dust and pulmonary diseases.  
Exp Lung Res 12, 89 - 107

Breeze RG, Wheeldon EB (1977)

The cells of the pulmonary airways.  
Am Rev Respir Dis 116, 705 - 777

Breitbach C (1986)

Zur mikroskopischen Anatomie der Lunge von Ratte, Maus, Meerschweinchen und Kaninchen - eine vergleichende Literaturstudie.  
Vet med Diss, München

Briggs NT (1957)

Factors influencing the appearance of precipitates on larvae of *Litomosoides carinii* in cotton rat and white rat sera.  
Amer J Trop Med Hyg 6, 387

Bucher O, Wartenberg H (1997)

Mikroskopische Anatomie. III Atmungsapparat.  
In: Bucher O, Wartenberg H: Cytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen. 12. Auflage.  
Verlag Hans Huber, Bern, Göttingen, Toronto, Seattle

Castleman WL, Wong MM (1982)

Light and electron microscopic pulmonary lesions associated with retained microfilariae in canine occult dirofilariasis.

Vet Pathol 19, 355 - 364

Chandler AC (1931)

New genera and species of nematode worms.

Proc US Nat Mus 78, 1 - 11

Chevallier G, Collet AJ (1972)

In vivo incorporation of cholin-3H, leucin-3H and galactose-3H in alveolar type II pneumocytes in relation to surfactant synthesis.

A quantitative radioautographic study in mouse by electron microscopy.

Anat Rec 174, 289 - 310

Clara M (1937)

Zur Histobiologie des Bronchialepithels.

Z Mikrosk Anat Forsch 41, 321 - 347

Clements JA (1970)

Pulmonary surfactant.

Am Rev Respir Dis 101, 984 - 990

Cohen AB (1979)

Potential adverse of lung macrophages and neutrophils.

Fed Proc 38, 2644 - 2647

Cohen AB, Gold WM (1975)

Defense mechanisms of the lungs.

Ann Rev Physiol 37, 325 - 350

- Crapo JD, Barry BE, Gehr P, Bachhofen M, Weibel ER (1982)  
Cell number and cell characteristics of the normal lung.  
Am Rev Respir Dis 126, 332 - 337
- Crouch ED, Moxley MA, Longmore W (1987)  
Synthesis of collagenous proteins by pulmonary type II epithelial cells.  
Am Rev Respir Dis 135, 1118 - 1123
- Culbertson JT, Rose HM (1944)  
Chemotherapy of filariasis in the cotton rat by administration of Neostam.  
Science 99, 245
- Cutz E, Conen P (1971)  
Ultrastructure and cytochemistry of Clara cells.  
Am J Pathol 62, 127 - 134
- Dafa'alla TH (1997)  
Characterisation of two novel genes of *Litomosoides sigmodontis*.  
Vet med Diss, Gießen
- Dalen H (1983)  
An ultrastructural study of the tracheal epithelium of the guinea pig with special reference to the ciliary structure.  
J Anat 136, 47 - 67
- Danaraj TJ, Pacheco G, Shanmugaratnam K, Breaver PC (1966)  
The etiology and pathology of eosinophilic lung (tropical eosinophilia).  
Am J Trop Med Hyg 15, 183 - 189
- Davis HS, Oettle AG (1958)  
The multimammate mouse *Rattus (Mastomys) natalensis* Smith:  
a laboratory adapted African wild rodent.  
Proc Zool Soc Lond 131, 293 - 299

Dethloff LA, Gilmore LB, Hook GE (1986)

The relationship between intra- and extra-cellular surfactant phospholipids in the lung of rabbits and the effects of silicia-induced lung injury.

Biochem J 239, 59 - 67

Devereux TR, Fouts JR (1981)

Xenobiotic metabolism by alveolar type II cells isolated from rabbit lung.

Biochem Pharmacol 30, 1231 - 1237

Devereux TR, Jones KG, Bend JR, Fouts JR, Statham N, Boyd MR (1982)

In vitro metabolic activation of the pulmonary toxin, 4-ipomeanol in non ciliated bronchiolar epithelial (Clara) and alveolar type II cells isolated from rabbit lung.

J Pharmacol Exp Ther 220, 223 - 227

Devereux TR, Serabjit-Singh CJ, Slaughter SR, Wolf CR, Philpot RM, Fouts JR (1981)

Identification of cytochrome P-450 isozymes in non-ciliated bronchiolar epithelial (Clara) and alveolar type II cells isolated from rabbit lung.

Exp Lung Res 2, 221 - 230

Döpke C (2002)

Kasuistische Auswertung der Untersuchungen von Igel (Erinaceus europaeus) im Einsendungsmaterial des Instiuts für Pathologie von 1980 bis 2001.

Diss, Tierärztl Hochsch, Hannover

Evans MJ, Cabral-Anderson LJ, Freeman G (1978)

Role of the Clara cell in renewal of the bronchiolar epithelium.

Lab Invest 38, 648 - 653

Fels AO, Cohn ZA (1986)

The alveolar macrophage.

J Appl Physiol 60, 353 - 369

Forman HJ, Fischer AB (1981)

Antioxidant enzymes of rat granular pneumocytes.

Constitutive levels and effect of hyperoxia.

Lab Invest 45, 1 - 6

Forrest JB (1979)

Structural aspects of gas exchange.

Fed Proc 38, 209 - 214

Forrester DJ, Kinsella JM (1973)

Comparative morphology and ecology of two species of *Litomosoides* (Nematoda: Filarioidea) of rodents in Florida, with a key to the species of *Litomosoides* Chandler 1931.

Int J Parasitol 3, 255 - 263

Franz M, Andrews P (1986a)

Histology of adult *Litomosoides carinii* (Nematoda: Filarioidea).

Z Parasitenkd 72, 387 - 395

Franz M, Andrews P (1986b)

Fine structure of adult *Litomosoides carinii* (Nematoda: Filarioidea).

Z Parasitenkd 72, 537 - 547

Frasca JM, Auerbach O, Parks VR, Jamieson JD (1968)

Electron microscopic observations of the bronchial epithelium of dogs.

I. Control dogs.

Exp mol Path 9, 363 - 379

Freeman JA (1962)

Fine structure of the goblet cell mucous secretory process.

Anat Rec 144, 341 - 357

Gail DB, Lenfant CJ (1983)

Cells of the lung: biology and clinical implications.

Am Rev Respir Dis 127, 366 - 387

Gardiner TH (1978)

Quantitative changes in permeability of rat lung epithelium in lung edema.

J Appl Physiol 44, 576 - 580

Gikas EG, King RJ, Mescher EJ, Platzker ACG, Kitterman JA, Ballard PL, Benson BJ, Tooley WH, Clements JA (1977)

Radioimmunoassay of pulmonary surface-active material in the tracheal fluid of the fetal lamb.

Am Rev Respir Dis 115, 587 - 593

Gillespie JR, Pangborn J, Addison R, Tyler WS (1964)

Ultrastructure of the pulmonary blood-air barrier of the horse.

Anat Rec 148, 285

Gillespie JR, Tyler WS (1967a)

Quantitative electron microscopy of the interalveolar septa of the horse lung.

Am Rev Respir Dis 95, 477 - 483

Gillespie JR, Tyler WS (1967b)

Capillary and cellular changes in alveolar walls of emphysematous horse lungs.

A quantitative electron microscope study.

Am Rev Respir Dis 95, 484 - 490

Goerke J (1974)

Lung surfactant.

Biochim Biophys Acta 344, 241 - 261

Goldfischer S, Kikkawa Y, Hoffman L (1968)

The demonstration of acid hydrolase activities in the inclusion bodies of type II alveolar cells and other lysosomes in the rabbit lung.

J Histochem Cytochem 16, 102 - 109

Gordon S (1977)

Macrophage neutral proteinases and defense of the lung.

Fed Proc 36, 2707 - 2711

Green CA, Gordon DH, Lyons NF (1978)

Biological species in *Praomys (Mastomys) natalensis* (Smith), a rodent carrier of Lassa virus and Bubonic plague in Africa.

Am J Trop Med Hyg 27, 627 - 629

Green CA, Keogh H, Gordon DH, Pinto M, Hartwig EK (1980)

The distribution, identification, and naming of the *Mastomys natalensis* species complex in South Africa (Rodentia: Muridae).

J Zool, Lond 192, 17 - 23

Green GM, Jakab GJ, Low RB, Davies GS (1977)

Defense mechanisms of the respiratory membrane.

Am Rev Respir Dis 115, 479 - 514

Groniowski JA (1983)

Fine structural basis of pulmonary surfactant.

Int Rev Exp Path 25, 183 - 238

Grüner D, Zahner H, Lämmler G (1973)

*Litomosoides carinii*-Infektion der *Mastomys natalensis*: Veränderungen der hämatologischen Parameter.

Z Parasitenkd 42, 221 - 233

Guthmann F, Haupt R, Schlame M, Stevens PA, Rüstow B (1995)

Alveolar surfactant subfractions differ in their lipid composition.  
Int J Biochem Cell Biol 27, 1021 - 1026

Guyton AC, Moffat DS (1981)

Role of surface tension and surfactant in the transepithelial movement of fluid and the development of pulmonary edema.  
Prog Resp Res 15, 62 - 74

Haies DM, Gil J, Weibel ER (1981)

Morphometric study of rat lung cells.  
I. Numerical and dimensional characteristics of parenchymal cell population.  
Am Rev Respir Dis 123, 533 - 541

Hallman M, Gluck L (1976)

Phosphatidylglycerol in lung surfactant.  
III. Possible modifier of surfactant function.  
J Lipid Res 17, 257 - 262

Haque A, Capron A (1986)

Filariasis: antigens and host-parasite interactions.  
In: Pearson TW (Hrsg): Parasite Antigens.  
Marcel Dekker Inc, New York, 217 - 402

Harwood JL, Desai R, Hext P, Tetley T, Richards R (1975)

Characterization of pulmonary surfactant from ox, rabbit, rat and sheep.  
Biochem J 151, 707 - 714

Hawking F (1954)

The reproductive system of *Litomosoides carinii*, a filarial parasite of the cotton rat.  
III. The number of microfilariae produced.  
Ann Trop Med Parasitol 48, 382 - 385

Hawking F (1962)

The role of the spleen in controlling the number of microfilariae (*Dirofilaria immitis*, *D. repens*, *Litomosoides carinii* and *Dipetalonema vitae* in the blood.

Ann Trop Med Parasitol 56, 168 - 172

Hawking F, Burroughs AM (1946)

Transmission of *Litomosoides carinii* to mice and hamsters.

Nature 158, 98

Hawking F, Sewell P (1948)

The maintenance of a filarial infection (*Litomosoides carinii*) for chemotherapeutic investigations.

Br J Pharmacol 3, 285 - 296

Hirai KI, Yamauchi M, Witschi H, Cote MG (1983)

Disintegration of lung peroxisomes during differentiation of type II to type I cells in butylated hydroxytoluene-administered mice.

Exp Mol Pathol 39, 129 - 138

Hirst S (1913)

On three new species of gamasid mites found on rats.

Bull Ent Res 4, 119 - 124

Hocking WG, Golde DW (1979a)

The pulmonary-alveolar macrophage. Part I.

N Engl J Med 301, 580 - 587

Hocking WG, Golde DW (1979b)

The pulmonary-alveolar macrophage. Part II.

N Engl J Med 301, 639 - 645

Holt PG, Batty JE (1980)

Alveolar macrophages.

V. comparative studies on the antigen presentation activity of guinea-pig and rat alveolar macrophages.

Immunology 41, 361 - 366

Hook GE (1991)

Alveolar proteinosis and phospholipidoses of the lungs.

Toxicol Pathol 19, 482 - 513

Hsueh W, Kuhn III CS (1979)

Prostaglandin secretion in rabbit alveolar macrophages and its relationship to phagocytosis.

Chest 75, Suppl 2, 249 - 251

Hughes TE (1950)

Some stages of *Litomosoides carinii* in *Liponyssus bacoti*.

Ann Trop Med Parasitol 44, 285 - 290

Isaacson M, Taylor P, Arntzen L (1983)

Ecology of plague in Africa: response of indigenous wild rodents to experimental plague infection.

Bull WHO 61, 339 - 344

Jacobs H, Jobe A, Ikegami M, Miller D, Jones S (1984)

Reutilization of phosphatidylcholine analogues by the pulmonary surfactant system.

The lack of specificity.

Biochim Biophys Acta 793, 300 - 309

Jaquet C (1980)

*Litomosoides carinii* (Travassos, 1919) Chandler, 1931 (Filaroidea) in cotton rats (*Sigmodon hispidus*, Say et Ord, 1825) and jirds (*Meriones unguiculatus*, Milne-Edwards, 1867): comparison of the infection in relation to the immune response.

Thesis subm. to the Faculty of Science of the University of Neuchatel

Jungmann P, Figueredo-Silva J, Dreyer G (1992)

Bancroftian lymphangitis in northeastern Brazil: a histopathological study of 17 cases.

J Trop Med Hyg 95, 114 - 118

Kaltreider HB (1976)

Expression of immune mechanisms in the lung.

Am Rev Respir Dis 113, 347 - 379

Kanda T, Tasaka S (1966)

Studies on cotton rat filariasis using quantitative inoculation with larvae of *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919).

Jap J Parasitol 15, 138 - 147

Karam M, Ottesen E (2000)

The control of lymphatic filariasis.

Med Trop (Mars) 60, 291 - 296

Kaup FJ (1982)

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Normalstruktur der Rattenlunge und ihre Veränderungen im protrahierten Schockgeschehen.

Diss, Tierärztl Hochsch, Hannover

Kaup FJ, Drommer W (1985)

Das Surfactantsystem der Lunge.

Teil I: Morphologie, Zusammensetzung und Funktion des Surfactantsystems bei Mensch und Tier - eigene Befunde und Literaturübersicht.

Berl Münch Tierärztl Wschr 98, 73 - 80

Kazmierowski JA, Aduan RP, Reynolds HY (1977)

Pulmonary host defense: coordinates interaction of mechanical, cellular and humoral immune systems of the lung.

Bull Eur Physiopathol Respir 13, 103 - 116

Kershaw WE (1949)

Observations on *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919), Chandler 1931.

II. The migration of the first-stage larva.

Ann Trop Med Parasitol 43, 96 - 115

Kikkawa Y, Yoneda K, Smith F, Packard B, Suzuki K (1975)

The type II epithelial cells of the lung.

II. Chemical composition and phospholipid synthesis.

Lab Invest 32, 295 - 302

King CL, Nutman TB (1991)

Regulation of the immune response in lymphatic filariasis and onchocerciasis.

Immunol Today 12, A 54 - 58

King RJ (1974)

The surfactant system of the lung.

Fed Proc 33, 2238 - 2247

King RJ, Clements JA (1972)

Surface active materials from dog lung.

II. Composition and physiological correlations.

Am J Physiol 223, 715 - 726

Kissler W (1980)

Surfactantüberproduktion - eine Ursache von Makrophagenkumulation in unbelüfteten Lungenbezirken.

Verh Dtsch Pathol Ges 64, 215 - 218

Klika E, Rychterova V, Tesik I, Jarkovska D, Borecka A (1975)

Ultrastructure of pulmonary macrophagic system.

Acta Univ Carol Med Monogr, Praha 69, 1 - 100

Knoche H (1979)

Atmungsorgane.

In: Knoche H: Lehrbuch der Histologie. Cytologie, Histologie, mikroskopische Anatomie.

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 211 - 223

Kristic RV (1991)

Respiratory System.

In: Kristic RV: Human Microscopic Anatomy.

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, 124 - 159

Kruppa TF, Iglauer F, Ihnen E, Miller K, Kunstyr I (1990)

*Mastomys natalensis* or *Mastomys coucha*.

Correct species designation in animal experiments.

Trop Med Parasitol 41, 219 - 220

Kubik S (1976)

Anatomie der Lymphgefäße der Lunge.

In: Eckert P (Hrsg): Volumenregulation und Flüssigkeitslunge.

Georg ThiemeVerlag, Stuttgart, 10 - 16

Lachmann B (1985)

Possible function of bronchial surfactant.

Eur J Respir Dis 67, Suppl 142, 49 - 61

Lämmle G (1977)

Experimental chemotherapy and chemoprophylaxis of filariasis.

Pestic Sci 8, 563 - 576

Lämmler G, Gothe R, Zahner H, Schütze H-R (1977)

Parasitäre Modell-Infektionen und -Infestationen als Grundlage angewandter Forschung.

Tierärztl. Umschau 7, 354 - 358

Lämmler G, Saupe E, Herzog H (1968)

Infektionsversuche mit der Baumwollrattenfilarie *Litomosoides carinii* bei *Mastomys natalensis* (Smith, 1843).

Z Parasitenkd 30, 281 - 290

Lauweryns JM (1970)

The juxta-alveolar lymphatics in the human adult lung.

Histologic studies in 15 cases of drowning.

Am Rev Respir Dis 102, 877 - 885

Lauweryns JM, Baert JH (1977)

Alveolar clearance and the role of the pulmonary lymphatics.

Am Rev Respir Dis 115, 625 - 683

Lee TDG, Swieter M, Befus AD (1986)

Mast cell responses to helminth infection.

Parasitol Today 2, 186 - 191

Lichtenberg von F (1987)

Inflammatory responses to filarial connective tissue parasites.

Parasitology 94, Suppl, 101 - 122

Liebich H-G (1999)

11 Atmungsapparat.

In: Liebich H-G: Funktionelle Histologie der Haussäugetiere. 3. Auflage.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 232 - 245

Low FN (1952)

Electron microscopy of rat lung.  
Anat Rec 117, 437

Lum H, Schwartz LW, Dungworth DL, Tyler WS (1978)

A comparative study of cell renewal after exposure to ozone or oxygen.  
Response of terminal bronchiolar epithelium in the rat.  
Am Rev Respir Dis 118, 335 - 345

Lussier LM, Chandler DK, Sybert A, Yaeger H Jr. (1978)

Human alveolar macrophages: antigen-independent binding of lymphocytes.  
J Appl Physiol 45, 933 - 938

Manabe T (1979)

Freeze-fracture study of alveolar lining layer in adult rat lungs.  
J Ultrastruct Res 69, 86 - 97

Manghani DK, Dastur DK, Udwardia FE (1992)

The lung in tropical eosinophilia compared to that in pulmonary hypertension.  
Fine structural basis of respiratory disability.  
Zentralbl Pathol 138, 108 - 116

Mann PE, Cohen AB, Finley TN, Ladman AJ (1971)

Alveolar macrophages. Structural and functional differences between nonsmokers and smokers of marihuana and tobacco.  
Lab Invest 25, 111 - 120

Manson-Bahr PEC, Bell DR (1987)

Manson's tropical diseases. 9. Auflage.  
Baillière Tindall, London, Philadelphia, Toronto, Sydney und Tokyo

Marin ML, Lane BP, Gordon RE, Drummond E (1979)

Ultrastructure of rat tracheal epithelium.

Lung 156, 223 - 236

Marty AM, Andersen EM (1995)

Helminthology.

In: Doerr W, Seifert G (Hrsg): Spezielle pathologische Anatomie:

Vol 8, Tropical Pathology. 2. Auflage.

Springer-Verlag, Berlin, 927 - 930

Mason RJ (1987)

Surfactant synthesis, secretion and function in alveoli and small airways.

Review of the physiologic basis for pharmacologic intervention.

Respir 51, Suppl 1, 3 - 9

Mason RJ, Dobbs LG, Greenleaf RD, Williams MC (1977)

Alveolar type II cells.

Fed Proc 36, 2697 - 2702

Mason RJ, Williams MC (1977)

Type II alveolar cell. Defender of the alveolus.

Am Rev Respir Dis 115, 81 - 91

Mason RJ, Williams MC, Widdicombe JH (1982)

Secretion and fluid transport by alveolar type II epithelial cells.

Chest 81, Suppl, 61 - 63

Massaro GD, Massaro D (1975)

Stereologic evaluation of granular pneumocytes lamellar bodies in different species.

Proc Soc Exp Biol Med 149, 333 - 335

Matthey R (1966)

Cytogénétique et taxonomie des rats appartenant au sous-genre *Mastomys* Thomas (Rodentia: Muridae).

Mammalia 30, 105 - 119

McDermott MR, Befus AD, Bienenstock J (1982)

The structural basis for immunity in the respiratory tract.

Int Rev Exp Pathol 23, 47 - 112

McLaren DJ (1972)

Ultrastructural studies on microfilariae (Nematoda: Filarioidea).

Parasitology 65, 317 - 332

Michael E, Bundy DAP, Grenfell BT (1996)

Re-assessing the global prevalence and distribution of lymphatic filariasis.

Parasitology 112, 409 - 428

Mohan RN (1973)

Pathological changes in white rats infected with *Litomosoides carinii*.

Trans R Soc Trop Med Hyg 67, 883 - 884

Mohan RN (1976)

Pathology of filarial infections with lumen dwelling parasites.

J Com Dis 8, 118 - 136

Morgenroth K, Kissler W (1980)

Morphologie der Alveolaroberfläche.

Prax Klin Pneumol 34, 67 - 75

Mosimann W, Kohler T (1990)

9 Atmungsorgane.

In: Mosimann W, Kohler T: Zytologie, Histologie und mikroskopische Anatomie der Haussäugetiere.

Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, 146 - 152

Neergard von K (1929)

Neue Auffassung über einen Grundbegriff der Atemmechanik.

Z Ges Exptl Med 66, 373 - 394

Nelson DS, Subrahanyam D, Rao YV, Metha K (1976)

Cellular morphology in pleura exudate of albino rats infected with *Litomosoides carinii*.

Trans R Soc Trop Med Hyg 70, 254 - 255

Nutman TB, Vijayan VK, Pinkston P, Kumaraswami V, Steel C, Crystal RG, Ottesen EA (1989)

Tropical pulmonary eosinophilia: analysis of antifilarial antibody localized to the lung.

J Infect Dis 160, 1042 - 1050

Olsen LJ, Scott JA, MacDonald EM (1954)

Factors in the racial immunity of the white rat to cotton rat filarial worms.

J Parasitol 40, Suppl 2, 14

Olson LJ (1959a)

The survival of migratory and post-migratory stages of *Litomosoides carinii* in white rats.

J Parasitol 45, 182 - 188

Olson LJ (1959b)

The cellular response of white rats to *Litomosoides carinii* larvae as influenced by cortisone, age, and previous infection.

J Parasitol 45, 519 - 532

Ottesen EA (1984)

Immunological aspects of lymphatic filariasis and onchocerciasis in man.  
Trans R Soc Trop Med Hyg 78, Suppl, 9 - 18

Ottesen EA (1992)

Infection and disease in lymphatic filariasis: an immunological perspective.  
Parasitology 104, Suppl, 71 - 79

Ottesen EA, Ramachandran CP (1995)

Lymphatic filariasis infection and disease: Control strategies.  
Parasitol Today 11, 129 - 131

Ottesen EA, Weller PF, Heck L (1977)

Specific cellular immune unresponsiveness in human filariasis.  
Immunology 33, 413 - 421

Palmer PES, Reeder MM (2001)

26 Filariasis and Elephantiasis.

In: The imaging of tropical diseases: With epidemiological, pathological, and clinical correlation. Vol 2.

Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 325 - 368

Pavelka M, Ronge HR, Stockinger G (1976)

Vergleichende Untersuchungen am Trachealepithel verschiedener Säuger.

Acta Anat 94, 262 - 282

Petit G, Diagne M, Marechal P, Owen D, Taylor D, Bain O (1992)

Maturation of the filaria *Litomosoides sigmodontis* in Balb/c mice; comparative susceptibility of nine other inbred strains.

Ann Parasitol Hum Comp 67, 144 - 150

Petranyi G, Mieth H (1972)

Eine rationelle Methode zur quantitativen Infektion adäquater Labortiere mit *Litomosoides carinii*.

Z Tropenmed Parasit 23, 2 - 9

Petter F (1957)

Remarques sur la systématique des rats africains et description d'une forme nouvelle de l'air.

Mammalia 21, 125 - 132

Piessens WF, McGreevy PB, Piessens PW, McGreevy M, Koiman I, Saroso JS, Dennis DT (1980)

Immune responses in human infections with *Brugia malayi*.

Specific cellular unresponsiveness to filarial antigens.

J Clin Invest 65, 172 - 179

Plopper CG, Hill LH, Mariassy AT (1980)

Ultrastructure of the nonciliated bronchiolar epithelial (Clara) cell of mammalian lung.

III. A study of man with comparison of 15 mammalian species.

Exp Lung Res 1, 171 - 180

Possmayer F (1988)

A proposed nomenclature for pulmonary surfactant-associated proteins.

Am Rev Respir Dis 138, 990 - 998

Pringle G (1974)

Notes on the host-parasite relationship during infection of *Praomys (Mastomys) natalensis* with the filarial parasite *Litomosoides carinii*.

Ann Trop Med Parasitol 68, 205 - 224

Pringle G, King DF (1968)

Some developments in techniques for the study of the rodent filarial parasite *Litomosoides carinii*.

I. A preliminary comparison of the host efficiency of the multimammate rat, *Praomys (Mastomys) natalensis*, with that of the cotton rat, *Sigmodon hispidus*.

Ann Trop Med Parasitol 62, 462 - 468

Raether W, Meyerhöfer W (1967)

Quantitative Untersuchungsmethoden zum Nachweis von Mikrofilarien (*Litomosoides carinii*) mit Hilfe der Zählkammern nach Fuchs-Rosenthal und Jessen sowie Anreicherungsverfahren.

Z Tropenmed Parasitol 18, 99 - 108

Randeria JD (1978)

The inbreeding of the Y and Z strains of *Praomys natalensis* with special reference to the laboratory uses of the *Mastomys*.

J S Afr Vet Assoc 49, 197 - 199

Reasor MJ (1981)

Drug-induced lipidosis and the alveolar macrophage.

Toxicology 20, 1 - 33

Reiss G (1999)

7 Respirationssystem.

In: Linss W, Fanghänel J (Hrsg): Histologie. Zytologie, allgemeine Histologie, mikroskopische Anatomie.

Walter de Gruyter Verlag, 135 - 148

Richards F, Smith P, Heath D (1980)

The influence of hypoxia on the population density of alveolar macrophages in the lungs of rats.

Invest Cell Pathol 3, 409 - 413

Robertson B (1980)

Interaction of pulmonary surfactant and alveolar macrophages in the nonspecific defence system of the lung.

Eur J Respir Dis 61, Suppl 108, 16 - 18

Robinson NE, Sorenson PR (1978)

Pathophysiology of airway obstruction in horses: a review.

J Am Vet Med Assoc 172, 299 - 303

Rommel M, Eckert J, Körting W, Kutzer E, Schnieder T (2000)

In: Veterinärmedizinische Parasitologie. Begündet von Boch J und Supperer R.  
5. Auflage.

Parey-Verlag, Berlin, Hamburg

Rooney SA, Young SL, Mendelson CR (1994)

Molecular and cellular processing of lung surfactant.

FASEB 8, 957 - 967

Ryan JW, Ryan US (1977)

Pulmonary endothelial cells.

Fed Proc 36, 2683 - 2691

Ryan JW, Ryan US (1982)

Metabolic functions of the pulmonary vascular endothelium.

Adv Vet Sci Comp Med 26, 79 - 98

Sänger I, Lämmle G (1979)

On *Dipetalonema vitae* infection of *Mastomys natalensis*.

Tropenmed Parasitol 30, 81 - 87

Sänger I, Lämmle G, Kimming P (1981)

Filarial infections of *Mastomys natalensis* and their relevance for experimental chemotherapy.

Acta Trop 38, 277 - 288

Schacher JF (1973)

Laboratory models in filariasis: a review of filarial life-cycle patterns.

Southeast Asian J Trop Med Public Health 4, 336 - 349

Schneeberger EE (1976)

Ultrastructural basis for alveolar-capillary permeability of protein.

Ciba Found Symp 38, 3 - 28

Schneeberger EE, Karnovsky MJ (1976)

Substructure of intercellular junctions in freeze-fractured alveolar-capillary membranes of mouse lung.

Circ Res 38, 404 - 411

Schneider CR, Blair LS, Schardein JL, Boche LK, Thompson PE (1968)

Comparison of early *Litomosoides carinii* infection in cotton rats and gerbils.

J Parasit 54, 1099 - 1105

Schönfeld K (1998)

Zelluläre und humorale Immunreaktionen der *Mastomys coucha* auf Infektionen mit der Filarie *Litomosoides sigmodontis*.

Vet med Diss, Gießen

Schönfeld K, Zahner H (2000)

Immunomodulatory effects in *Litomosoides sigmodontis*-infected *Mastomys coucha*.

Parasitol Res 86, 101 - 108

Schütze H-R, Herzog H, Lämmler G (1970)

Zur Infektion der Nilratte (*Arvicanthis niloticus* Desmarest, 1822) mit der Baumwollrattenfilarie *Litomosoides carinii*.

Z Parasitenkd 34, 95 - 96

Scott JA (1946)

Observations on the rate of growth and maturity of *Litomosoides carinii*, a filarial worm of the cotton rat.

J Parasitol 32, 570 - 573

Scott JA, Cross JB (1945)

Tumor formation as a reaction to *Litomosoides carinii*, a filariid of the cotton rat.

J Parasitol 31, Suppl, 15 - 16

Scott JA, MacDonald EM (1953)

Experimental infections in cotton rats.

Exp Parasitol 2, 129 - 140

Scott JA, MacDonald EM, Terman B (1951)

A description of the stages in the life cycle of the filarial worm *Litomosoides carinii*.

J Parasitol 37, 425 - 432

Shellito J, Esparza C, Armstrong C (1987)

Maintenance of the normal rat alveolar macrophage cell population. The role of monocyte influx and alveolar macrophage proliferation in situ.

Am Rev Respir Dis 135, 78 - 82

Sherman MP, Ganz T (1992)

Host defence in the pulmonary alveoli.

Annu Rev Physiol 54, 331 - 350

Shimura S, Maeda S, Takismima T (1984)

Giant lamellar bodies in alveolar type II cells of rats exposed to a low concentration of ozone.

Respiration 46, 303 - 309

Simonescu M (1980)

Ultrastructural organization of alveolar-capillary unit.

In: Porter R, Whelan J (Hrsg): Ciba Foundation Symposium on metabolic activities of the lung, London 1980.

Excerpta Medica, Amsterdam, Oxford, 78, 11 - 36

Singh D, Raghavan NGS (1962)

The duration of patent infection of *Litomosoides carinii* in the albino rat.

Indian J Malariol 16, 193 - 201

Skoza L, Snyder A, Kikkawa Y (1983)

Ascorbic acid in bronchoalveolar wash.

Lung 161, 99 - 109

Sleigh MA (1981)

Ciliary function in mucus transport.

Chest 80, Suppl, 791 - 795

Smith MN, Greenberg SD, Spjut HJ (1979)

The Clara cell: a comparative ultrastructural study in mammals.

Am J Anat 155, 15 - 30

Smith P, Heath D, Moosavi H (1974)

The Clara cell.

Thorax 29, 147 - 163

Soga J (1978)

Historical background of *Mastomys* research.

In: Soga J, Sato H (Hrsg): *Praomys (Mastomys) natalensis*.

The significance of their tumors and diseases for cancer research.

The Daiichi Printing Co Ltd, Niigata, Japan, 1 - 8

Solleveld HA (1979)

Types and quality of animals in cancer research.

Acta Zool Pathol Antwerp 72, 5 - 18

Solleveld HA (1981)

*Praomys (Mastomys) natalensis* in aging research with emphasis on autoimmune phenomena.

Publ Inst Exp Gerontology TNO, Rijswijk, The Netherlands

Sorokin SP (1967)

A morphologic and cytochemical study on the great alveolar cell.

J Histochem Cytochem 14, 884 - 897

Sorokin SP (1988)

25 The respiratory system.

In: Weiss L (Hrsg): Cell and tissue histology. A textbook of histology. 6. Auflage.

Urban und Schwarzenberg Verlag, Baltimore, München, 753 - 814

Spritzer AA, Watson JA, Auld JA, Guetthof MA (1968)

Pulmonary macrophage clearance. The hourly rates of transfer of pulmonary macrophages to the oropharynx of the rat.

Arch Environ Health 17, 726 - 730

Stanaszek WF, Ecanow B, Levinson RS (1976)

Oxygen solubilization by lung surfactant.

J Pharm Sci 65, 142 - 143

Staub NC (1984)

The importance of the lymphatic system in the lung.

In: Courtice FC, Garlick DG, Perry MA (Hrsg): Progress in Microvascular Research, Vol 2.

Committee in Postgraduate Education, London

Stinson SF, Loosli CG (1978)

Ultrastructural evidence concerning the mode of secretion of electron-dense granules by Clara cells.

J Anat 127, 291 - 298

Tanaka Y, Takei T (1983)

Lung surfactants.

I. Comparison of surfactants prepared from lungs of calf, ox, dog and rabbit.

Chem Pharm Bull 31, 4091 - 4099

Tandon A, Zahner H, Sanger I, Muller A-H, Reiner G (1983)

Time courses of antibody levels in *Mastomys natalensis* after infections with *Litomosoides carinii*, *Dipetalonema vitae*, *Brugia malayi* or *B. pahangi*, determined by ELISA.

Z Parasitenkd 69, 681 - 692

Tasaka S (1965)

Histopathological studies on experimental filariasis of the cotton rat.

Jap J Parasitol 14, 414 - 425

Thews G (2000)

VI Atmung. Lungenatmung.

In: Schmidt RF, Thews G, Lang F (Hrsg): Physiologie des Menschen. 28. Auflage.

Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 565 - 591

Thompson PE, Boche L, Blair LS (1968)

Effects of amodiquine against *Litomosoides carinii* in gerbils and cotton rats.

J Parasit 54, 834 - 837

Toshima N, Akino T (1972)

Alveolar and tissue phospholipids of rat lung.

Tohoku J Exp Med 108, 253 - 263

Travassos L (1919)

*Filaria carinii* n. sp.

Rev Soc Bras Sci 3, 189 - 190

Tyler WS (1983)

Comparative subgross anatomy of lungs.

Pleuras, interlobular septa, and distal airways.

Am Rev Respir Dis 128, 32 - 36

Tyler WS, Gillespie JR, Nowell JA (1971)

Modern functional morphology of the equine lung.

Equine Vet J 3, 84 - 94

Vaccaro CA, Brody JS (1981)

Structural features of alveolar wall basement membrane in the adult rat lung.

J Cell Biol 91, 427 - 437

Vaz Z (1934)

Ackertia gen. nov. for *Litomosa burgosi* de la Barrera, 1926, with notes on the synonyma and morphological variations of *Litomosoides carinii* (Travassos, 1919).

Ann Trop Med Parasitol 28, 143 - 149

Villiger B, Kelley DG, Engleman W, Kuhn III C, McDonald JA (1981)

Human alveolar macrophage fibronectin: synthesis, secretion and ultrastructural localization during gelatine-coated latex particle binding.

J Cell Biol 90, 711 - 720

Vincent AL, Frommes SP, Ash LR (1976)

*Brugia malayi*, *Brugia pahangi*, *Brugia patei*: pulmonary pathology in jirds, *Meriones unguiculatus*.

Exp Parasitol 40, 330 - 354

Wagner WH (1956)

Modellinfektionen in der experimentellen Chemotherapie der Filariosen.

Z Tropenmed Parasitol 7, 163 - 177

Waibl H (1999)

5 Atmungsapparat.

In: Frewein J, Gasse H, Leiser R, Roos H, Thomè H, Vollmerhaus B, Waibl H (Hrsg):

Nickel R, Schummer A, Seiferle E: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.

II: Eingeweide. 8. Auflage.

Verlag Paul Parey, Berlin, 223 - 297

Weibel ER (1973)

Morphological basis of alveolar-capillary gas exchange.

Physiol Rev 53, 419 - 495

Weiner DJ, Soulsby EL (1976)

Fate of *Litomosoides carinii* adults transplanted into the pleural or peritoneal cavity of infected and naive multimammate rats (*Mastomys natalensis*).

J Parasit 62, 886 - 893

Weiss E (1990)

7 Entzündung

In: Stünzi H, Weiss E (Hrsg): Allgemeine Pathologie für Tierärzte und Studierende der Tiermedizin. 6. Auflage.

Verlag Paul Parey, Berlin Hamburg, 260 - 273

Wenk P (1967)

Der Invasionsweg der metazyklischen Larven von *Litomosoides carinii* Chandler 1931 (Filariidae).

Z Parasitenkd 28, 240 - 263

Wenk P (1986)

The function of non circulating microfilariae: *Litomosoides carinii* (Nematoda: Filarioidea).

Dtsch Tierärztl. Wschr 93, 414 - 418

Wenk P, Heimburger L (1967)

Infektionsversuche mit der Baumwollrattenfilarie *Litomosoides carinii* Chandler 1931 (Filariidae) bei inadäquaten Wirten.

Z Parasitenkd 29, 282 - 298

Wharton DRA (1947)

Pathological changes in natural and experimental filariasis in the cotton rat.

J Inf Dis 80, 307 - 318

(WHO) World Health Organisation (1992)

Lymphatic filariasis. The disease and its control.

Fifth report on the WHO Expert Committee on Filariasis.

WHO Tech Rep Ser 821

Widdicombe JG, Pack RJ (1982)

The Clara cell.

Eur J Respir Dis 63, 202 - 220

Williams JE, Arntzen L, Isaacson M (1982)

Advantages and use of laboratory-reared African multimammate mice (*Mastomys coucha*) in the diagnosis of plague.

Ann Soc Belg Med Trop 62, 247 - 251

Williams MC (1977)

Development of the alveolar structure of the fetal rat in late gestation.

Fed Proc 36, 2653 - 2659

Williams MC, Benson BJ (1981)

Immunocytochemical localization and identification of the major surfactant protein in adult rat lung.

J Histochem Cytochem 29, 291 - 305

Williams RW (1946)

The laboratory rearing of the tropical rat mite, *Liponyssus bacoti* (Hirst).

J Parasitol 32, 252 - 256

Williams RW (1948)

Studies on the life cycle of *Litomosoides carinii*, filariid parasite of the cotton rat, *Sigmodon hispidus litoralis*.

J Parasitol 34, 24 - 43

Williams RW, Brown HW (1945)

The development of *Litomosoides carinii* filariid parasite of the cotton rat in the tropical rat mite.

Science 102, 482 - 483

Williams RW, Brown HW (1946)

The transmission of *Litomosoides carinii*, filariid parasite of the cotton rat, by the tropical rat mite, *Liponyssus bacoti*.

Science 103, 224

Wright JR, Dobbs LG (1991)

Regulation of pulmonary surfactant secretion und clearance.  
Annu Rev Physiol 53, 395 - 414

Yager JA, Ellman H, Dulfano MJ (1980)

Human ciliary beat frequency at three levels of the tracheobronchial tree.  
Am Rev Respir Dis 121, 661 - 665

Young SL, Kremers SA, Apple JS, Crapo JD, Brumley GW (1981)

Rat lung surfactant kinetics/Biochemical and morphometric correlation.  
J Appl Physiol 51, 248 - 253

Zahner H (1974)

*Litomosoides carinii*-Infektion der *Mastomys natalensis*:  
Serologische Verlaufsuntersuchungen mit der Komplementbindungsreaktion und  
indirekten Hämagglutination.  
Z Parasitenkd 43, 181 - 196

Zahner H (1985)

Zur Histopathologie und Immunologie der *Litomosoides carinii*-Infektion der  
*Mastomys natalensis*.  
Vet med Habilitationsschrift, Gießen

Zahner H, Herzog H, Saupe E, Enders B (1970a)

Präzipitierende Antikörper im Serum von *Mastomys natalensis* im Verlauf der  
*Litomosoides carinii*-Infektion.  
Z Parasitenkd 34, 128 - 140

Zahner H, Lämmle G, Schütze HR (1974)

*Litomosoides carinii*-Infektion der *Mastomys natalensis*:  
Zusammenhänge zwischen Mikrofilariämie und Adultenpopulation.  
Z Parasitenkd 43, 89 - 97

Zahner H, Rudolph R (1986)

Comparative histopathological studies in experimental filarial infections.

Zentralbl Bakt Hyg A 265, 553 - 554

Zahner H, Rudolph R, Nolte I (1987)

Histopathological and electron microscopical studies in *Litomosoides carinii* infected *Mastomys natalensis*.

Zentralbl Veterinärmed B 34, 51 - 66

Zahner H, Schütze HR, Lämmler G, Enders B (1970b)

Das Albumin-Globulin-Verhältnis im Serum von *Mastomys natalensis* (Smith, 1834) im Verlauf einer *Litomosoides carinii*-Infektion.

Z Parasitenkd 33, 267 - 281

Zein-Eldin EA (1965)

Experimental infection of gerbils with *Litomosoides carinii* via intravenous injection.

Tex Rep Biol Med 23, 530 - 536

Ziegler C (1988)

Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen des Knochenmarkes der mit *Litomosoides carinii* infizierten *Mastomys natalensis*.

Vet med Diss, Gießen

## 8 ANHANG

### 8.1 Bezugsquellen für Chemikalien

#### Fluka Feinchemikalien GmbH, Neu Ulm

- Durcupan - ACM<sup>®</sup>

Komponente A/M, Epoxyharz, 44611

Komponente B, Härter 964, 44612

Komponente C, Beschleuniger, 44613

Komponente D, Weichmacher 44614

#### I. Hecht, Kiel-Hassee

- Corbit-Balsam (Eukitt<sup>®</sup>)

#### Dr. Walter Hert GmbH, München

- Osmium (VIII) Oxid

#### Leica

- Ultrastain 1<sup>®</sup> (Uranylacetat)

- Ultrastain 2<sup>®</sup> (Bleicitrat)

#### E. Merck, Darmstadt

- Azeton reinst, 13

- Löfflers Methylenblaulösung, 1287

#### Carl Roth KG, Karlsruhe

- Cacodylsäure Natriumsalz Trihydrat, 5169

#### Serva Feinbiochemica GmbH et Co, Heidelberg

- Glutaraldehyd, 23114

## 8.2 Lösungen

### 0,166 M Cacodylatpuffer

35,5 g Cacodylsäure Natriumsalz Trihydrat

Aqua destillata ad 1000 ml

Puffer mit 1 N HCl auf pH 7,2 einstellen und bei +4 °C aufbewahren

Osmolalität: 320 mOsmol

### Osmiumtetroxidlösung

500 mg OsO<sub>4</sub>-Kristalle

50 ml 0,166 M Cacodylatpuffer, pH 7,2

In dunkler, fest verschlossener Flasche bei +4 °C aufbewahren

Osmolalität: 310 mOsmol

### Glutaraldehyd

12,5 ml 25 %ige Glutaraldehydlösung

0,166 M Cacodylatpuffer, pH 7,2 ad 100ml

jeweils frisch ansetzen

entspricht einer 3 %igen Glutaraldehydlösung

Osmolalität: 320 mOsmol

### 8.3 Abkürzungen

A	Alveolarlumen
Aa.	Arteriae
Abb.	Abbildung
AM	Alveolarmakrophage
AZ I	Alveolarepithelzelle/n Typ I
AZ II	Alveolarepithelzelle/n Typ II
„AZ II“	morphologisch Alveolarepithelzellen Typ II gleichende Zellen
B	Bronchiolus terminalis
BD	Bindegewebe
BR	Bronchiolus respiratorius
CZ	Clara-Zelle
„D.“	Dichte des Lungenparenchyms (breite Septen, gering entfaltete Alveolarlumina)
d p.i.	Tage post infectionem
E	Erythrozyt
EG	eosinophiler Granulozyt
ER	rauhes endoplasmatisches Retikulum
Ery.	Erythrozyten
F	Fibrosierung
FB	Fibroblast/en
G	Gefäß
GA	Golgiapparat
herdf.	herdförmig
K	Kapillarlumen
KF	Kollagenfibrillen
L	Lamellarkörperchen
LG	Lymphgefäß
<i>L. sigmodontis</i>	<i>Litomosoides sigmodontis</i>
LZ	Lymphozyten
M	Mesothelzelle
<i>M. coucha</i>	<i>Mastomys coucha</i>

---

MF	Mikrofilarie/n
MI	Mitochondrium
Mio.	Millionen
Mo.	Monate
MP	Makrophage/n
MZ	Mastzelle/n
N	Nukleus
n.b.	nicht beurteilbar
NG	neutrophile Granulozyten
Nr.	Nummer
OE	Ödematisierung
P	Pleura
PZ	Plasmazelle/n
S	Surfactant
Tab.	Tabelle
Tage p.i.	Tage post infectionem
TEM	transmissionselektronenmikroskopisch
T. musc.	Tunica muscularis
TP	Lamina propria serosae
V	Vene
Vask.	Vaskularisation durch Lymphgefäße
Vv.	Venae

Zum Abschluß möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. I. Käufer-Weiss und Herrn Prof. Dr. H. Zahner für die Überlassung des interessanten Themas, ihre stets gewährte freundliche Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit und die kritische Korrektur des Manuskripts.

Herrn Prof. Dr. Dr.h.c. mult. E. Weiss danke ich für die freundliche Aufnahme an das Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität in Gießen und die gute Zusammenarbeit.

Meinem ehemaligen Chef Herrn Prof. Dr. Dr.h.c. Dr.sc.h.c. W. Drommer danke ich für das in mich gesetzte Vertrauen, den lange währenden Spagat zwischen ganzer Stelle und nicht abgeschlossener Dissertation erfolgreich zu beenden. Besonders möchte ich mich bei ihm sowohl für seine Unterstützung bedanken, durch die die Weiterführung der Dissertation in Hannover möglich wurde, als auch für die Einführung in die Welt der Ultrastruktur.

Herrn Prof. Dr. W. Baumgärtner, Ph.D., Herrn Prof. Dr. E. Burkhardt, Herrn Prof. Dr. K. Frese und Herrn Prof. Dr. J. Pohlenz danke ich sehr für die hervorragende Ausbildung auf dem Gebiet der Pathologie und die jederzeit gewährte freundschaftliche Beratung und Hilfe.

Frau K. Franke und Frau K. Rohn aus dem elektronenmikroskopischen Labor (Institut für Pathologie, Tierärztliche Hochschule Hannover) gilt ein herzliches Dankeschön für die Herstellung von so manchem Semi und noch mehr Ultras.

Frau B. Behrens (Institut für Pathologie, Tierärztliche Hochschule Hannover) gilt mein großer Dank für ihr Engagement hinsichtlich der Durchführung der fotografischen Arbeiten.

Herrn Dr. K. Failing von der AG Biomathematik und Datenverarbeitung der Justus-Liebig-Universität Gießen danke ich für die Beratung bei Fragen der Statistik.

Carola Döpke, meinem „Kuckuck“, danke ich insbesondere für ihre Freundschaft.

Bei allen nicht namentlich aufgeführten Freunden und Kollegen möchte ich mich von Herzen für die schöne und lehrreiche Zeit am Institut für Veterinär-Pathologie der Justus-Liebig-Universität Gießen und am Institut für Pathologie der Tierärztlichen Hochschule Hannover bedanken.

Besonderer Dank gilt Vladimir, dessen Freundschaft mir sehr am Herzen liegt.

Last but not least: Liebe Eltern, ohne eure in vielfältigster Weise gewährte Unterstützung wäre diese Arbeit niemals fertig geworden. Danke!