

Elektronenmikroskopische Untersuchungen der Cornea bei experimenteller Shigellen-Keratitis

W. WESSEL und P. RÁCZ*

Pathologisches Institut der Universität Bonn (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL)

Eingegangen am 14. September 1966

Im Jahre 1955 verimpfte SERÉNY (1955) erstmalig aus menschlichem Darm gewonnene Shigellen der verschiedenen Typen (wie z.B. *Shigella flexneri* 3, Sonne, Schmitz etc.) in den Conjunctivalsack gesunder Meerschweinchen und konnte damit eine Keratoconjunctivitis erzeugen. Weitere Untersuchungen von RÁCZ und TENNER (1963), VOINO-YASENETSKY und VOINO-YASENETSKAYA (1962) sowie SERÉNY (1955) zeigten an einer großen Zahl von Meerschweinchen, daß nur die menschen-pathogenen Shigellen in die Epithelzellen der Cornea bzw. Conjunctiva eindringen.

Die stets reproduzierbare und mit großer Gesetzmäßigkeit ablaufende Shigellen-Keratoconjunctivitis gibt Gelegenheit, einen elektronenmikroskopischen Beitrag zur allgemeinen Pathologie der Entzündung nicht vascularisierter Gewebe zu leisten.

Den im ersten Abschnitt der vorliegenden Arbeit beschriebenen ultrastrukturellen Cornea-Veränderungen wollen wir in einem zweiten Abschnitt die Ergebnisse morphometrischer Messungen an der veränderten Hornhaut anschließen, um quantitative Hinweise auf Verteilung und Grad des entzündlichen Ödems sowie den Anteil der eingewanderten Leukocyten am Volumen der stark verdickten Cornea zu erhalten. Die in den ersten Stunden zwischen die Hornhautlamellen eingewanderten und dort eingeschlossenen Leukocyten lassen charakteristische Alterungsvorgänge erkennen, die an anderer Stelle beschrieben werden sollen (WESSEL).

Über die elektronenoptische Struktur der normalen Cornea von Mensch, Affe, Rind, Ratte, Katze und Maus [JAKUS (1961), WHITEAR (1960), PEDLER (1962), ROUILLER u. Mitarb. (1954)] liegen bereits mehrere Arbeiten vor, so daß wir auf die Normalbefunde nur insoweit einzugehen brauchen, wie sie für das Verständnis unserer Ergebnisse notwendig sind oder die bisher bekannten Befunde überschreiten.

Material und Methode

Für unsere Versuche verwendeten wir rein gezüchtete *Shigella-Flexneri* 3-Bakterien, deren Virulenz durch Einbringen in den Conjunctivalsack eines gesunden Meerschweinchens gesteigert wurde, bevor die weitere Übertragung auf die Conjunctivae von insgesamt 50 Meerschweinchen erfolgte.

Die Tiere wurden in Zeitabständen von 2—96 Std nach der Verimpfung getötet, die Cornea herauspräpariert und teils in gepufferter Osmiumsäure, teils in gepuffertem Glutaraldehyd (6,5%ig) bei pH 7,4 fixiert. Nach der Entwässerung in Aceton zerteilten wir die Cornea in schmale Streifen und stellten diese in schräg gelagerte Gelatinekapseln, um eine genaue

* Stipendiat der Alexander v. Humboldt-Stiftung.

Orientierung der Stückchen bei der Einbettung in Vestopal zu ermöglichen. Neben Vestopalbetteten wir die Cornea teilweise auch in dem wasserlöslichen Durcupan ein.

Die Blöcke schnitten wir mit einem Porter-Blum-Ultramikrotom und untersuchten die Schnitte in einem Siemens-Elmiskop I.

Ergebnisse

I. Veränderungen an der Cornea

Makroskopisch tritt 8 Std nach Verimpfung der Shigellen eine Trübung der Cornea mit einer Dickenzunahme auf das Dreifache ein. Die verdickte Cornea ist im Gegensatz zur normalen leicht schneidbar. Nach 16—24 Std lassen sich mit Fluorescein zahlreiche flache Erosionen nachweisen.

Die lichtmikroskopischen Veränderungen wurden bereits von RÁCZ u. TENNER (1963) beschrieben.

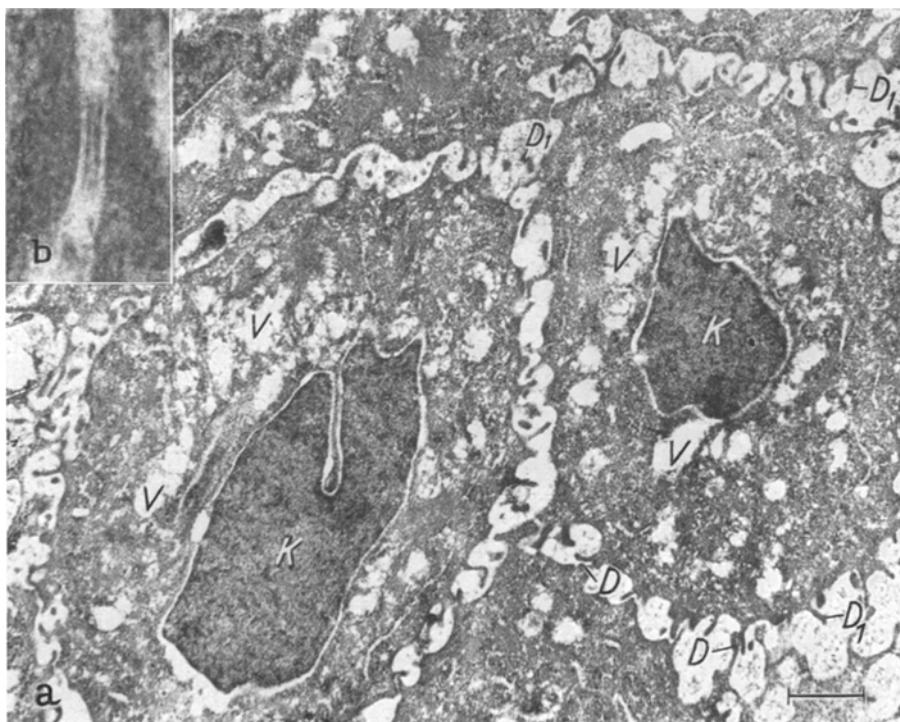


Abb. 1. a Cornea-Epithel nach 6 Std. Beginnende multizentrische Vacuolenbildung (V) im Cytoplasma ohne Beteiligung der spärlichen Mitochondrien bzw. des endoplasmatischen Reticulum. Die Desmosomen haben sich meist schon abgelöst und liegen als dichte, knopfartige Gebilde im interzellulären Raum (D_1). Daneben noch erhaltene Desmosomen (D). Die Flüssigkeit im interzellulären Raum enthält Substanzen (Proteine, Lipide), die sich als feingranuläres Material darstellen. Zellkerne homogen (K). Vergrößerung: 10000fach. b Desmosom kurz vor der Ablösung mit deutlicher Schichtung bestehend aus drei hellen und zwei dunklen Schichten. Vergrößerung: 85000fach

Elektronenmikroskopisch liegen die Zellen des fünfschichtigen *Epithels* in den ersten 3 Std nach der Verimpfung noch im normalen Verband. Als erste Veränderung sieht man in den oberen Lagen des Epithels eine Dissoziation der Zellen. Dabei erweitert sich der interzelluläre Spaltraum zunächst an den nicht durch Desmosomen stabilisierten Stellen; die normalerweise zwischen den Zellen bestehenden Verzahnungen lösen sich.

Als nächstes vollzieht sich die Auflösung der Desmosomen. Diese bestehen im Cornea-Epithel ebenso wie etwa im Plattenepithel der Portio normalerweise aus Verdichtungen zweier aneinander grenzender Zellmembranen. Bei beginnender Dissoziation sieht man oft in der Mitte des Intercellularspaltes im Bereich der Desmosomen eine dichte Linie, die sich gelegentlich auch in zwei Linien aufspalten kann (Abb. 1). Bevor sich die Desmosomen bei fortgeschrittenner Dissoziation der Zellen vollends lösen, entstehen an den Enden schmaler Cytoplasma-Fortsätze knopfartige Verdickungen, die sich nach vollständiger Ablösung der Zellen zu unstrukturierten, homogen osmiophilen, runden Bezirken umwandeln.

Während die weit gewordenen Intercellularräume in den ersten Stunden eine klare Flüssigkeit enthalten, die keine elektronenoptisch nachweisbare Substanzen einschließt, findet man mit makroskopisch zunehmender Trübung in den



Abb. 2. Ausschnitt der oberen Epithelschichten der Cornea mit abgeflachten Zellen. Von der Oberfläche (↓) dringt ein eiweißreiches Exsudat in die erweiterten interzellulären Räume ein, welches zwischen den obersten Schichten stark osmiophil ist (E_1) und sich kaum abgrenzen lässt. Zwischen den tieferen Schichten (E_2 , E_3 , E_4) nimmt die Osmiophilie immer mehr ab bis sich in E_4 keine osmiophilen Substanzen mehr darstellen. Die Desmosomen (D) sind z.T. noch erhalten. Vergrößerung: 30000fach

Intercellularräumen ein eiweißreiches Exsudat mit osmiophilen Partikeln (Abb. 2). Das Exsudat enthält in dem erweiterten interzellulären Spaltraum zwischen den oberen Epithelschichten reichlich osmiophile Substanzen, die zu den tieferen Schichten hin immer mehr abnehmen. Gleichzeitig kommt es im Cytoplasma einerseits zu einer schnellen Abnahme der bei Bleikontrastierung elektronenoptisch gut darstellbaren Glykogen-Partikel, andererseits entwickeln sich zahl-

reiche, nicht membran-umschlossene Vesikel in der perinukleären Cytoplasmazone. In den mittleren Epithelschichten wachsen die Vesikel in wenigen Stunden zu großen Vacuolen an, die schließlich zu einer einzigen, fast das ganze Cytoplasma einnehmenden Vacuole zusammenfließen können (Abb. 3). Zwischen



Abb. 3. Siegelringförmige Epithelzelle aus den mittleren Schichten des Corneaepithels. Die zunächst multizentrisch entstandenen kleinen Vacuolen sind hier zu einer großen zusammengeflossen (V), bei der es sich nicht um eine vacuolare Ausweitung des perinucleären Spaltraumes handelt, wie der zwischen Kern und Vacuole liegende Cytoplasmasaum (→) und der noch sichtbare perinucleäre Spalt zeigen. Der halbmondförmige Kern (K) weist eine fleckige Anordnung des Chromatins auf. Vergrößerung: 31 000fach

Vacuole und dem meist halbmondartig eingedellten Kern findet sich in diesen „Siegelringzellen“ ein schmaler Cytoplasmasaum. Bemerkenswert ist dabei, daß die degenerative Vacuolisierung nicht wie bei anderen Zellen das endoplasmatische Reticulum oder die Mitochondrien betrifft. Allerdings sind diese Organellen in allen Zellen der bradytrophen Cornea nur spärlich entwickelt. Die Abb. 3 läßt

außerdem erkennen, daß es sich bei der Vacuole nicht um eine kugelförmige Ausweitung des perinukleären Spaltraumes handelt. Das übrige Cytoplasma ist aufgehellt und besitzt kaum noch Organellen oder Glykogen-Partikel.

Die normalerweise unregelmäßig gestalteten und vielfach gelappten Kerne, die sonst eine gleichmäßig dichte Struktur besitzen, hellen sich fleckförmig auf und enthalten nach der Ablösung der Zellen aus dem epithelialen Verband nur noch einzelne dichtere Inseln in einer an osmophilen Substanzen verarmten Kernsubstanz.

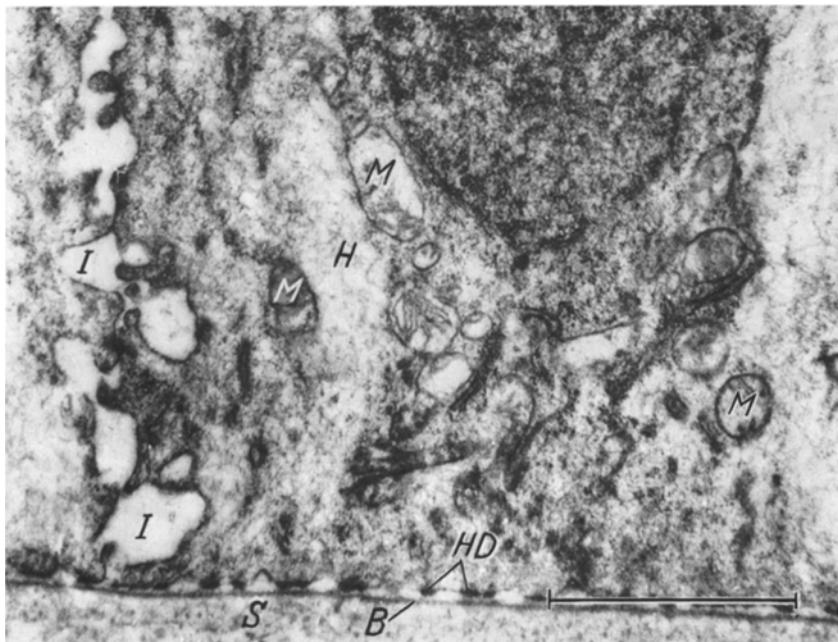


Abb. 4. Basale Zelle des Corneaepithels. Spärlich vorhandene Organellen mit wolkiger Auflockerung des Hyaloplasmas (*H*). Die Mitochondrien (*M*) sind arm an Cristae. Weite interzelluläre Spalten (*I*). Zwischen Zelle und Basalmembran (*B*) sog. Halbdesmosomen (*HD*), die sich aus mehreren punktförmigen Verdichtungen zusammensetzen und Zeichen der beginnenden Ablösung aufweisen. Substantia propria (*S*) mit locker liegenden kollagenen Fibrillen. Vergrößerung: 32000fach

Nach Abstoßung der oberen Epithellagen richten sich meist die Basalzellen durch hydropische Schwellung auf, die sonst stark gewunden verlaufenden seitlichen Zellmembranen werden mehr geradlinig ausgezogen. Dabei treten die mit Cristae spärlich ausgerüsteten Mitochondrien besser hervor (Abb. 4). An der Basis der in Abb. 4 gezeigten Basalzelle werden an der basalen Zellgrenze die Haftorganellen bei der beginnenden Ablösung besonders deutlich. Sie bestehen aus stellenweise dicht nebeneinander liegenden rundlichen Verdichtungen von etwa 200 Å Durchmesser und unterscheiden sich damit von den Desmosomen an den seitlichen Zellgrenzen.

Die *Shigellen* sieht man manchmal außen an den Zellen in tiefen Einbuchtungen der Zellmembran. Bei nur wenigen Epithelzellen findet man Bakterien im Cytoplasma. Dabei fällt auf, daß die betroffenen Zellen nicht einzelne, sondern stets mehrere Bakterien enthalten (Abb. 5). Während die von uns vor der Verimpfung in der Kultur gehaltenen *Shigellen* elektronenoptisch deutliche große

Kern-Äquivalente erkennen lassen, fehlen diese bei den im Cytoplasma liegenden Bakterien (Abb. 5). Außerdem nimmt die Osmophilie des Bakterien-Plasmas beträchtlich zu. Lichtmikroskopisch erscheinen die intracellulären Bakterien wesentlich größer als die frei im Exsudat liegenden.

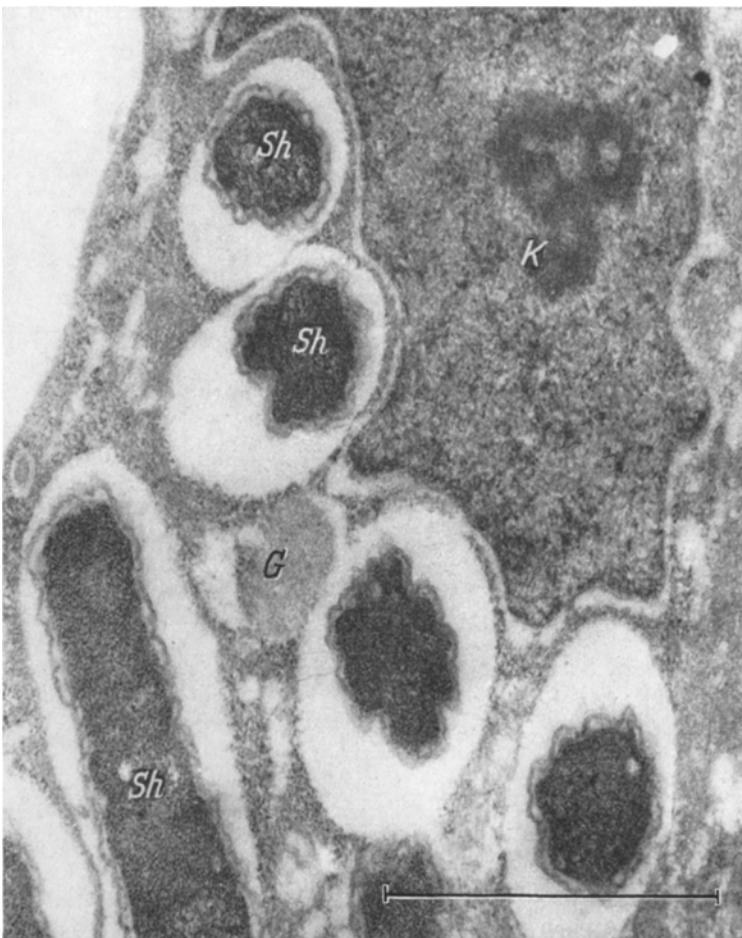


Abb. 5. Epithelzelle der mittleren Schichten nach 24 Std mit mehreren, z.T. in flachen Kernbuchten liegenden Shigellen (Sh). Daneben ein Bacterium im Längsschnitt. Der große freie Saum um die Shigellen und ihre stark geschrägte Außenmembran weisen darauf hin, daß sie ursprünglich die Vacuolen ausgefüllt hatten und bei der Präparation stark geschrumpft sind. Kernäquivalente, die wir bei den Bakterien der Kultur häufig fanden, sind hier nicht erkennbar. Bei „G“ ist ein schwach osmophiles Granulum in eine Cytoplasmavacuole einbezogen, die ein Bacterium enthält. Zellkern (K). Vergrößerung: 45000fach

Die in der *Basalmembran* normalerweise bereits vorhandenen umschriebenen Auflockerungen werden in den ersten Stunden nach Beginn des Versuches größer. Mit dieser Auflockerung geht eine zunehmende Fragilität einher, so daß bereits geringe mechanische Insulte bei der Präparation der Cornea genügen, um den Rest des Epithels im Bereich der Basalmembran abzulösen.

In der *Substantia propria*, die aus lamellär geschichteten kollagenen Faserbündeln mit spindelförmigen, in interlamellären „Saftspalten“ liegenden Stromazellen sowie einer mucopolysaccharidreichen Zwischensubstanz besteht, be-

ginnen die Entzündungsvorgänge mit einer Verbreiterung der Saftspalten durch einströmende Flüssigkeit. Wenige Stunden später wandern polymorphekernige Leukocyten in diese flüssigkeitgefüllten, stark erweiterten Gewebsspalten („Ödemstraßen“) ein.

Die flach ausgebreiteten Stromazellen der Substantia propria besitzen einen glatt begrenzten oder leicht gebuchteten Kern, in welchem das Chromatin meist randständig ist. Das Cytoplasma ist arm an Mitochondrien wie bei allen bradytropen Geweben und besteht aus einem elektronenoptisch dichten, feingranulären Material.

Im Rahmen der Entzündungsvorgänge stellen sich im Cytoplasma der Stromazellen neben den von JAKUS (1961) sowie KAYE und PAPPAS (1962) beschriebenen kleinen Vesikeln zwei Gangsysteme gut dar, die bereits bei den normalen Zellen angedeutet sichtbar sind.

Bei dem einen *Gangsystem* handelt es sich um das endoplasmatische Reticulum, welches sich durch Anordnung und Struktur deutlich von den gleichartigen Organellen anderer Zellen unterscheidet. Die Schläuche des endoplasmatischen Reticulum sind nach ihrem Abgang vom perinukleären Spaltraum streng ausgerichtet und verlaufen in gerader Linie parallel zueinander zur Zellperipherie, wobei sie hin und wieder durch seitliche Abzweigungen verbunden sind. Der Ribosomen-Besatz besteht im Gegensatz zu anderen Zellen oft nicht aus rundlichen, sondern aus langgestreckten Elementen. Das Lumen besitzt etwa den drei- bis vierfachen Durchmesser im Vergleich zu anderen Zellen (Abb. 6b). Außerdem erscheinen die Schläuche des endoplasmatischen Reticulum nicht leer, sondern mit einem feinkörnigen, leicht osmiophilen Material gefüllt. Dadurch heben sie sich in den Bildern nur wenig vom übrigen Cytoplasma ab.

Vor den Ausmündungen der langgestreckten Tubuli des endoplasmatischen Reticulum an den Zellpolen finden sich stets zwischen und neben schmalen Cytoplasmafortsätzen teils feinfädige, teils feinkörnige Elemente, die mit 30 Å etwa den 0,15fachen Durchmesser der kollagenen Fibrillen der Substantia propria besitzen (Abb. 6c). Da sich diese Elemente in der interfibrillären Zwischensubstanz verlieren, gewinnt man den Eindruck, daß sie in die Lamellen hineindiffundieren. Das endoplasmatische Reticulum weitet sich bei den entzündlichen Veränderungen noch mehr aus und stellt sich dann auch lichtmikroskopisch mit der PAS-Färbung dar.

Neben dem endoplasmatischen Reticulum sieht man gelegentlich ein von diesem unabhängiges, *zweites Gangsystem*, bestehend aus tiefen Einstülpungen der Zellmembran, welches in einem sackartigen Hohlraum endet. Es ist anzunehmen, daß auch dieses Gangsystem einem schnellen Stoffaustausch zwischen Stromazellen und Hornhaut-Lamellen dient (Abb. 6a). Die hier aufgeführten strukturellen Besonderheiten sind noch einmal in Abb. 7 halbschematisch dargestellt.

Die schmalen Cytoplasma-Fortsätze der Stromazellen ziehen sich 8—12 Std nach Verimpfung der Shigellen in Richtung auf das Perikaryon zurück. Die Retraktion wird nach Einwanderung der Leukocyten, etwa 24 Std nach Verimpfung, noch deutlicher. Nur am Rand der Saftspalten sieht man noch schmale Säume von Stromzell-Fortsätzen. Ein Teil der Fortsätze wird abgeschnürt und geht in den „Ödemstraßen“ zugrunde.

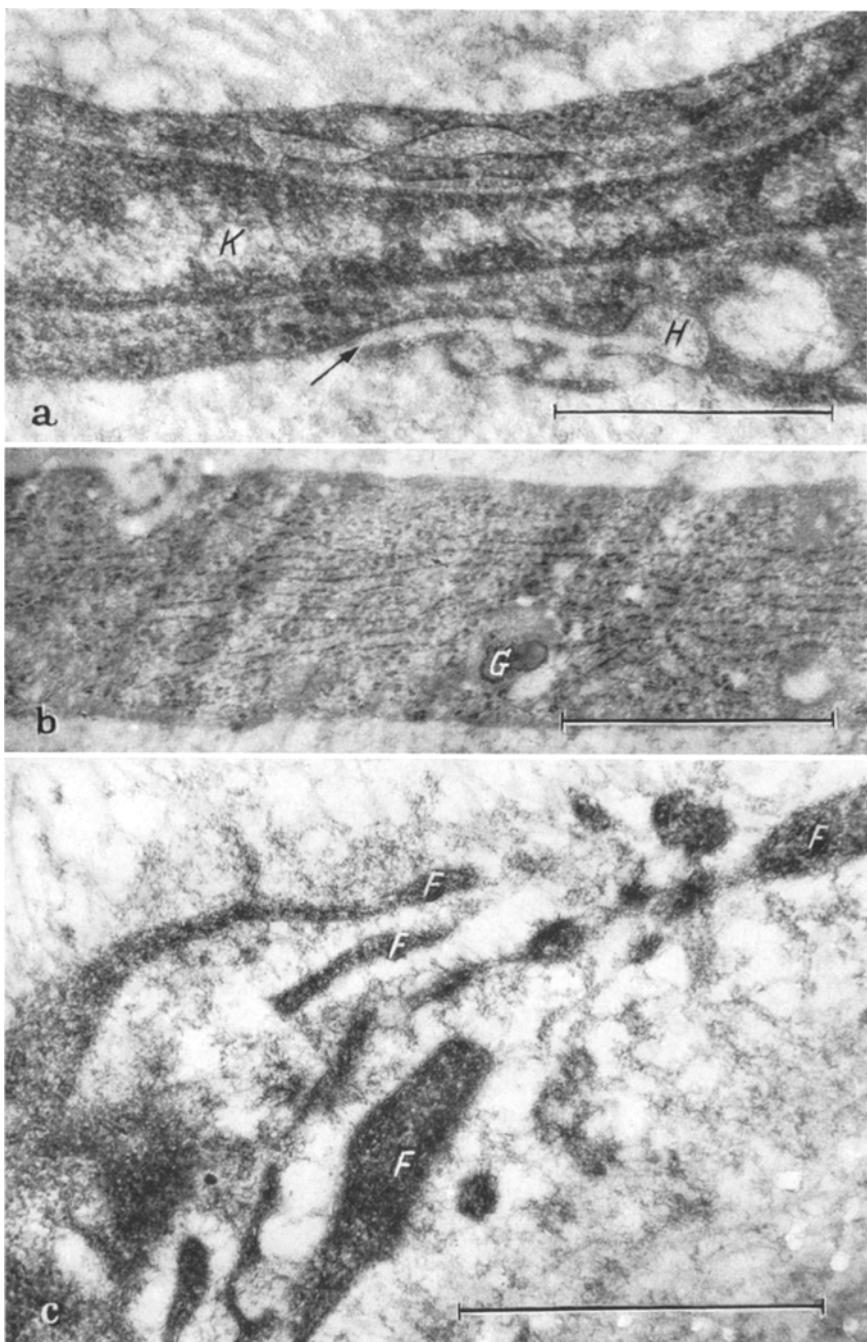


Abb. 6. a Stromazelle mit flach ausgezogenem Kern (*K*). Darunter ein ovaler Hohlraum (*H*), der eine breite Verbindung (→) mit dem extracellulären Raum erkennen läßt. Vergrößerung: 36 000fach. b Stromazelle der Substantia propria mit breiten, parallel verlaufenden Membranen des endoplasmatischen Reticulums, welches ein leicht osmophilches Material einschließt. Die membranständigen Ribosomen sind z.T. länglich. Daneben schwach kontrastierte Granula (*G*). Vergrößerung: 35 000fach. c Zellpole zweier aneinanderstoßender Stromazellen. Zwischen den Fortsätzen (*F*) ein feinfädiges Material, bei dem es sich um präkollagene Fibrillen handeln könnte. Vergrößerung: 48 000fach

Im weiteren Verlauf der Entzündung, nach 48—96 Std, treten die Schläuche des endoplasmatischen Reticulum noch stärker hervor, die sich in paralleler Anordnung vom Perikaryon bis in die Zellpole hinziehen, wo sie offenbar ein feingranuläres oder feinfädiges Material nach außen an die Umgebung abgeben.

In den von der Entzündung am stärksten betroffenen oberen Lagen gehen einige der von Leukocyten umgebenen Stromazellen zugrunde.

In jedem Stadium unserer Versuche ließen sich Stromazellen und Leukocyten einwandfrei unterscheiden. Übergänge der einen in die andere Zellform konnten wir nie beobachten [s. a. DOERR u. Mitarb. (1965)]. Einige Stromazellen bilden dichte, zum Teil lamellär gebaute Granula aus.

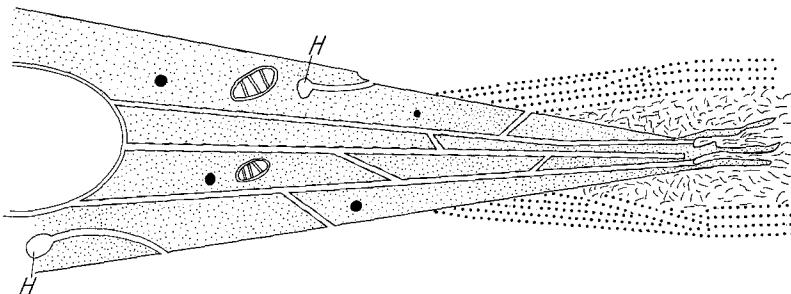


Abb. 7. Schematische Darstellung einer Stromazelle mit ausgerichtetem, parallel zwischen Kern- und Zellpolen verlaufendem sehr breitem endoplasmatischen Reticulum, das von länglichem Ribosomen begrenzt wird. Die gerade verlaufenden Anteile des Reticulums enden meist zwischen zahlreichen Cytoplasmafortsätzen an den Zellpolen. Zwischen den Fortsätzen ein feinfädiges Material, dem sich zu beiden Seiten die Fibrillen der angrenzenden Hornhautlamellen anschließen. Das Cytoplasma enthält Hohlräume (H), die von der Zellmembran begrenzt werden und durch breite Gänge nach außen münden. Ferner sieht man im Cytoplasma osmiophile Granula

Das zweite Strukturelement der Substantia propria, die kollagenen *Fibrillen*, die in sich einander überkreuzenden Bündeln angeordnet sind, weisen beim Ablauf der Entzündung ebenfalls charakteristische Veränderungen auf. Die am stärksten betroffenen äußeren Schichten der Substantia propria lassen bereits wenige Stunden nach Versuchsbeginn neben den großen Ödem-Straßen der Saftspalten ein ausgeprägtes „*interfibrilläres Ödem*“, d.h. eine ödematöse Durchtränkung der interfibrillären, mucopolysaccharidreichen Zwischensubstanz erkennen. Diese erscheint elektronenoptisch aufgehellt als Zeichen der Wasseraufnahme. Gleichzeitig quellen die einzelnen Fibrillen in den entzündungsnahen Bezirken auf etwa den doppelten Durchmesser (= 430 Å gegenüber 220 Å in den Kontrollen, Abb. 8 b u. c).

Auf Querschnitten der gequollenen Fibrillen fallen sehr dichte, kleine Punkte auf, die sich bei normalen Fibrillen nicht darstellen, und stark osmiophilen Molekülgruppen entsprechen könnten (Abb. 8 b).

Das interfibrilläre Ödem ist in den oberflächlichen Bezirken der Substantia propria am stärksten ausgeprägt, nimmt zur Tiefe hin zunächst ab, um in den endothelialnahen Bereichen wieder zuzunehmen. Auf den sich daraus ergebenden Gradienten werden wir bei der Beschreibung der morphometrischen Ergebnisse eingehen. Außerdem sieht man am Rand der einzelnen Hornhaut-Lamellen in unmittelbarer Nähe der interlamellären Seen eine stärkere Ausprägung des Ödems als im Inneren der Lamellen.

Vier Tage nach Verimpfung der Shigellen findet man an den Rändern der seenartig erweiterten interlamellären Spalträume einen schmalen Saum aus

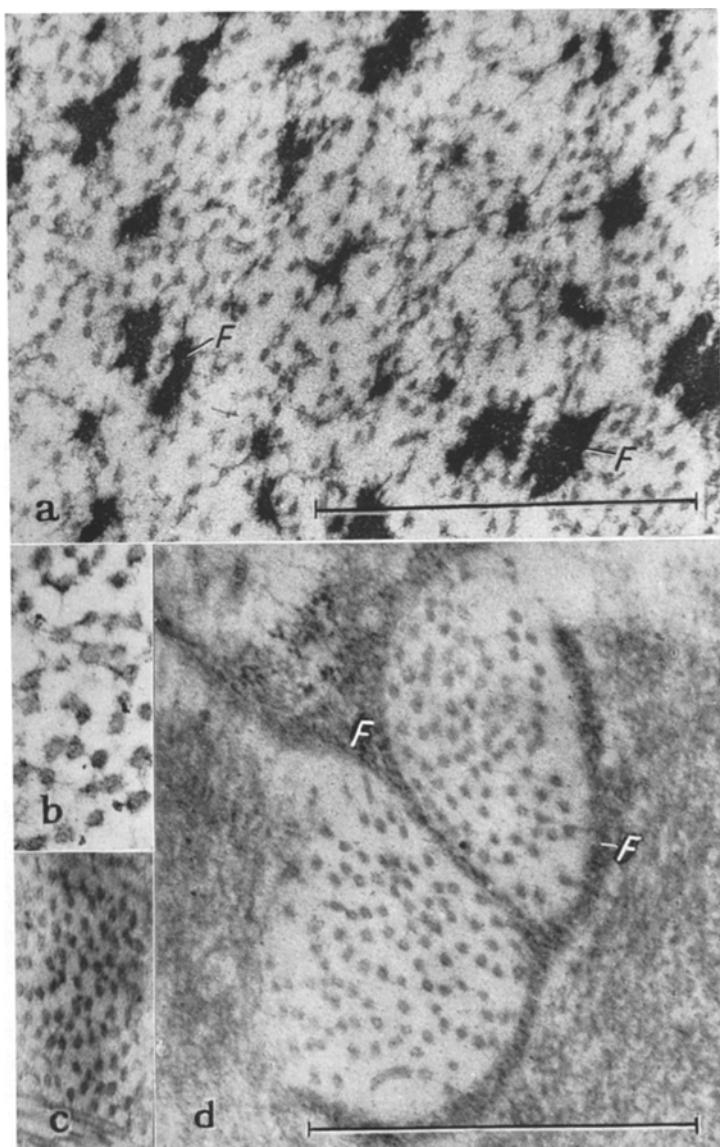


Abb. 8a—d. Ausschnitte aus Hornhautlamellen. Vergrößerung: 51000fach. a Hornhautlamelle nach 4tägiger Versuchsdauer mit quer getroffenen kollagenen Fibrillen, die durch eine Quellung der interfibrillären Substanz auseinander gedrängt sind. Dazwischen stark kontrastierte, unregelmäßige, quer geschnittene Fibrinabscheidungen (F), die manchmal Reste untergehender Fibrillen enthalten. b Stark gequollene kollagene Fibrillen aus den epithelialnahen Anteilen (Zone D der Abb. 10) mit erheblicher Zunahme des Durchmessers. c Ausschnitt einer normalen Hornhautlamelle zum Vergleich. Die Fibrillen besitzen einen relativ kleinen Durchmesser und geringen Abstand. d Hornhautlamelle nach 4 Tage dauernder Keratitis. Fibrillenbindel von Fibrinabscheidungen (F) umgeben. Vergrößerter, unregelmäßiger Abstand der Fibrillen

Fibrin, coaguliertem Eiweiß und untergehenden Fibrillen. Dieser zwischen 0,2 und $0,8\mu$ breite Saum trennt die in den weiten interlamellären Räumen liegenden Leukocyten von den noch intakten Fibrillen.

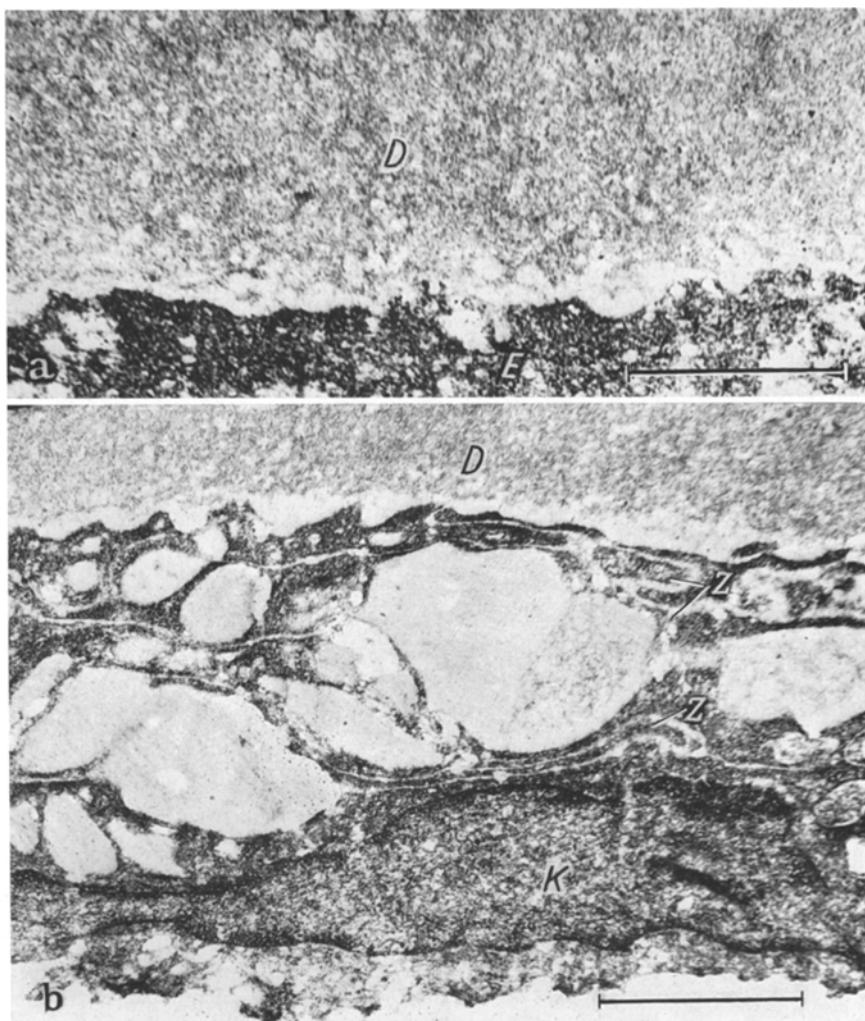


Abb. 9. a Anteile der Descemetschen Membran (*D*) mit fleckförmiger Auflockerung. An der Grenze zum Endothel (*E*) ein heller Saum durch vermehrt einströmendes Kammerwasser. Bei der hier gewählten starken Kontrastierung und harten photographischen Abzugstechnik zeigt die Descemetsche Membran einen feingranulären Bau. Vergrößerung: 28000fach, b Endothelzelle mit degenerativen Veränderungen und starker Vacuolisierung des Cytoplasmas zwischen Kern (*K*) und Descemet (*D*). Daneben die stark geschlängelt verlaufenden Zellmembranen (*Z*). Vergrößerung 26000fach

In den am stärksten betroffenen oberen Schichten der Substantia propria ist stellenweise Fibrin in das Innere der Cornea-Lamellen eingesickert und entlang den Fibrillen niedergeschlagen. Auf Querschnitten findet man diese Niederschläge in Form feinfädig verflochtener, unregelmäßig begrenzter, dichter Bezirke (Abb. 8a). Längsschnitte zeigen, daß die Niederschläge eine langgestreckte Form besitzen und dem Verlauf der Fibrillen folgen. Neben Fibrin sieht man oft auch untergehende Fibrillen. An einigen Stellen sind die Fibrinabscheidungen zu großen Bezirken zusammengeflossen und schließen ganze Fibrillenbündel ein (Abb. 8d). Gelegentlich sieht man in den oberen Schichten der Lamina propria,

daß die erweiterten interlamellären Spalträume von histiocytären Zellelementen ausgekleidet werden, die von Endothel-Zellen kaum zu unterscheiden sind.

Bei unseren Präparationen besteht die *Descemet'sche Membran* aus punktförmigen, bei der Nachkontrastierung mit Blei stark hervortretenden Verdichtungen und etwas kontrastärmeren Fibrillen von etwa 80 Å Durchmesser, die sich in den Schnittbildern nur eine kurze Strecke weit (bis etwa 1500 Å) verfolgen lassen (Abb. 9a). Sie wird von den entzündlichen Veränderungen weniger betroffen als die *Lamina propria*. Immerhin findet man aber eine zum Endothel hin zunehmende Auflockerung mit Bildung unregelmäßiger, unscharf begrenzter vacuolärer Räume in Nähe des Endothels (Abb. 9a). Bemerkenswert ist, daß die zur *Substantia propria* gerichteten Partien der Descemetschen Membran kaum verändert sind, auch wenn die Entzündungsvorgänge — wie Ödem und Leukozyten-Invasion — nur wenig entfernt sind. Offenbar besitzt die Descemetsche Membran eine große mechanische Widerstandskraft, während sie gegen eindringende Flüssigkeit empfindlich ist. Die Abb. 9a zeigt, daß zwischen Descemetscher Membran und Endothel durch eingesickertes Kammerwasser ein heller, flüssigkeitsreicher Saum entstanden ist, während das Endothel der Descemetschen Membran normalerweise dicht anliegt.

Das *Endothel* zeigt in den ersten 24 Std der Shigellen-Keratitis keine wesentlichen Veränderungen. Nach 48—96 Std erweitern sich die interzellulären Spalträume zu großen Vacuolen. Gleichzeitig läßt das endoplasmatische Reticulum Zeichen der vacuolären Degeneration erkennen. Dabei fällt auf, daß die Cytoplasma-Zone oberhalb des flach ausgebreiteten Kernes kleinvacuolär verändert ist, während das Cytoplasma auf der anderen Seite des Kerns, zwischen Kern und Descemetscher Membran, durch größere Vacuolen gekennzeichnet ist (Abb. 9b), die stellenweise ein körniges Material enthalten.

II. Morphometrische Befunde an der Cornea

Morphometrische Methoden wendeten wir bei unseren Versuchstieren nach 48stündiger Shigellen-Keratitis an, um auf der Höhe der entzündlichen Vorgänge quantitative Aspekte über die Änderung des mittleren Fibrillendurchmessers, über das Ödem der interfibrillären mucopolysaccharidreichen Zwischensubstanz sowie über den Volumen-Anteil der Leukozyten und der „interlamellären Seen“ am Gesamtvolume der Cornea zu erhalten. Zur Kontrolle maßen wir normale Meerschweinchen-Corneae unter gleichen Bedingungen aus.

Da die Werte vom Endothel zum Epithel auf Querschnitten durch die Cornea charakteristische Schwankungen zeigen, legten wir bestimmte Meß-Zonen innerhalb der *Substantia propria* fest: Die Zone unmittelbar unter der Descemetschen Membran (A), die Zone an der Grenze zwischen hinterem und mittlerem Drittel (B), sowie die Grenzzone zwischen mittlerem und vorderem Drittel (C) und schließlich die subepitheliale Zone (D) (s. Abb. 10). Zur Auswertung kamen Corneae von je drei Tieren für die in Abb. 10 dargestellten Kurven 1—3.

Die Untersuchungen zeigen, daß an der Verdickung der Cornea als Folge der Entzündung mehrere Faktoren beteiligt sind, deren Größe an den einzelnen Meßpunkten wechselt. Bei den Faktoren handelt es sich um:

1. eine Quellung der Hornhaut-Fibrillen,
2. eine diffuse Wasseraufnahme der interfibrillären Substanz der Hornhaut-Lamellen,
3. ein Einströmen von Flüssigkeit zwischen die Hornhaut-Lamellen mit „interlamellärer Seenbildung“,
4. Einwanderung von Granulocyten zwischen die Lamellen.

Die Quellung der Fibrillen ermittelten wir durch Bestimmung der mittleren Fibrillen-Durchmesser an den genannten vier Meßpunkten. Die Ergebnisse sind in Abb. 10 wiedergegeben. Hier zeigt sich, daß die kollagenen Fibrillen stark aufquellen und nach 48stündiger Keratitis in den epithel-nahen Propria-Anteilen mit 430 Å fast den doppelten Durchmesser gegenüber der Norm aufweisen. Außerdem besteht ein Gradient von den endothelnahen Bezirken der Substantia propria zur Cornea-Oberfläche, dem Schwerpunkt der Entzündung. Legt man

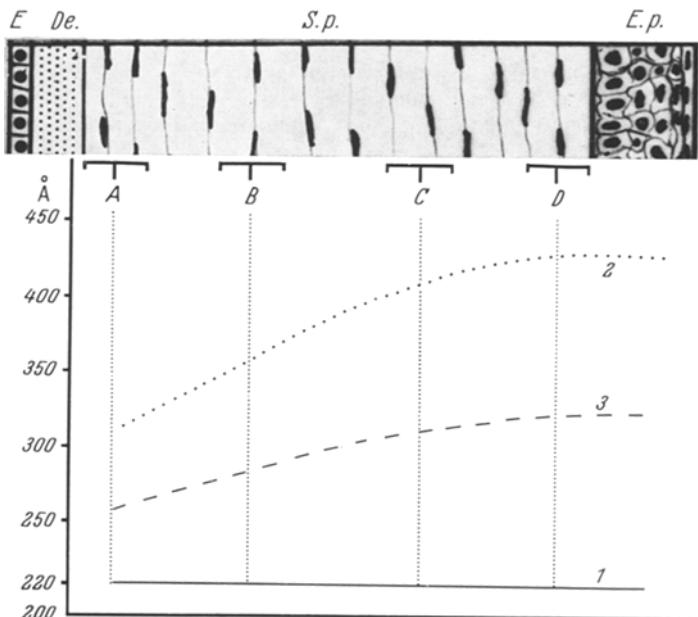


Abb. 10. Änderung der Durchmesser der Hornhautfibrillen durch Quellung im Verlaufe der Shigellenkeratitis. Über der Kurve ein halbschematischer Querschnitt durch die Meerschweinchencornea mit Endothel (E), Descemet (De), Substantia propria (S.p.) und Epithel (Ep). Innerhalb der Substantia propria die 4 Meßzonen A, B, C und D, in denen jeweils 150 Fibrillendurchmesser bestimmt wurden. Die ausgezogene Kurve „1“ zeigt mit 220 Å die Mitteldurchmesser der Fibrillen in den 4 Meßzonen der normalen Cornea. Nach 48 Std dauernder Keratitis („2“) starke Schwellung der Fibrillen mit deutlichem Gradienten von der endothelnahen Meßzone A zur epithel-nahen Zone D. Nach 96 Std (Kurve „3“) sind die mittleren Fibrillendurchmesser auf Werte zwischen 260 und 310 Å abgesunken

nach 48stündiger Versuchsdauer für die gesamte Substantia propria einen mittleren Durchmesser von 370 Å zugrunde, so würde dies einer etwa 2,8fachen Zunahme des Gesamtvolumens der Fibrillen entsprechen. Die Abb. 10 zeigt allerdings weiter, daß diese starke Quellung nur von kurzer Dauer ist und nach zwei Tagen wieder auf die Hälfte absinkt (Kurve „3“).

Als Maß für die Volumen-Zunahme bzw. Wasseraufnahme der interfibrillären Zwischensubstanz bestimmten wir auf Lamellen-Querschnitten die Zahl der Fibrillen pro μ^2 . Dabei stellt sich heraus, daß die Zahl auf die Hälfte der Norm abgesunken ist. Wie bei den Fibrillen, so ergibt sich auch hier ein Gradient in Richtung der Epithel-Oberfläche. Allerdings ist die Flüssigkeits-Durchtränkung der interfibrillären Substanz unmittelbar an der Descemet durch das vermehrt einströmende Kammerwasser größer als im Bereich der Meß-Zone B.

Im Vergleich zu der Volumen-Zunahme der Substantia propria durch Quellung der Fibrillen und der interfibrillären Substanz erscheint die Volumen-

Vermehrung durch eingewanderte Leukocyten und die Bildung „interlamellärer Seen“ gering. Wir versuchten auch hier, durch Anwendung morphometrischer Methoden [HENNIG u. MEYER-ARENDE (1963), WEIBEL (1963)] genaue Werte zu erhalten, indem wir die Corneaen dreier Meerschweinchen in mehreren Stufen schnitten und die mit 2000facher Vergrößerung aufgenommenen Cornea-Querschnitte auf ein Punkt-Raster projizierten. Dabei ergaben sich bei den 48 Std-Tieren die in der Tabelle aufgeführten Mittel-Werte.

Tabelle. Prozentuale Anteile der Volumina der eingewanderten Leukocyten (1) und des „interlamellären Ödems“ (2) am Volumen der Substantia propria in den Meßzonen A—D, 48 Std nach Verimpfung der Shigellen

Die zunächst sehr groß erscheinenden „Seen“ des interlamellären Ödems nehmen bei quantitativer Überprüfung am Ort ihrer stärksten Ausprägung nicht mehr als 18% des Volumens der Substantia propria ein. Die relativ starke Beteiligung der Zone A ist auf eine Schädigung des Endothels mit vermehrtem Einströmen des Kammerwassers zurückzuführen. Die leukocytäre Infiltration nimmt zur Tiefe hin schnell ab.

Meßzone	1 Leukocyten	2 interlamelläres Ödem	1 + 2
A (am Endothel)	5	9	14
B	4,5	8	12,5
C	11	14	25
D (am Epithel)	15	18	33

Diskussion

Bei der Keratitis steht eine starke Quellung der einzelnen Schichten makroskopisch sowie licht- und elektronenmikroskopisch im Vordergrund. Es erhebt sich die Frage, woher die Flüssigkeit stammt, die zu dieser Quellung führt. Nach unseren Befunden kommen drei verschiedene Quellen in Betracht, von denen aus das Epithel, die epithel-nahen Anteile der Substantia propria und die Descemettsche Membran mit Flüssigkeit durchtränkt werden. In das Epithel dringt die Flüssigkeit von der Cornea-Oberfläche her ein, wie die elektronenmikroskopischen Befunde beweisen. Es kommt hier in den ersten Stunden unserer Versuche zunächst zu einer starken Erweiterung der interzellulären Spalträume, die sich mit Flüssigkeit füllen. Diese besitzt anfangs keinen elektronenoptischen Kontrast; später diffundieren osmophile Substanzen aus dem Exsudat an der Cornea-Oberfläche in die Interstitial-Räume ein. In wenigen Stunden schreitet die Erweiterung der interzellulären Räume und ihre Anfüllung mit Flüssigkeit von der Oberfläche zur Basalmembran fort.

Gleichzeitig mit der Erweiterung der interzellulären Spalträume der oberen Epithelschichten kommt es zu einer Ausweitung der normalerweise nur wenige Å breiten interlamellären Spalten der epithel-nahen Schichten der Substantia propria. Die Ausweitung beruht zweifellos darauf, daß Flüssigkeit zwischen die Hornhaut-Lamellen einströmt. Da zu diesem Zeitpunkt des Entzündungs-Ablaufes die basale Epithelschicht und die Basalmembran fest gefügt sind, muß man annehmen, daß die Flüssigkeit von der Seite her, offenbar aus den Capillaren des Limbus corneae, in die interlamellären Spalten gelangt. In späteren Versuchsstadien kommt im Bereich der Descemetschen Membran und den tiefen Schichten

der Substantia propria eine ödematöse Durchtränkung hinzu, die nach unseren Befunden auf ein verstärktes Einströmen von Kammerwasser zurückzuführen ist. Demnach ist die Frage nach der *Herkunft der Flüssigkeit*, die zu einer starken Quellung der entzündeten Cornea führt, folgendermaßen zu beantworten: Die Flüssigkeits-Ansammlungen im Epithel bzw. den interzellulären Spalträumen sind von der Cornea-Oberfläche her eingedrungen, die oberen Schichten der Substantia propria werden von seitlich einströmender Flüssigkeit aus den Capillaren des Limbus cornea und die Descemetsche Membran von vermehrt einsickerndem Kammerwasser durchtränkt. Auf diesen letzten Punkt werden wir bei der Besprechung der Endothel-Veränderungen zurückkommen.

Der *Grad der Durchtränkung* bzw. die Menge der eingeströmten Flüssigkeit ist nicht einheitlich über die ganze Cornea verteilt. Wie die morphometrischen Befunde zeigen, ist die Quellung der kollagenen Fibrillen und der interfibrillären mucopolysaccharidreichen Zwischensubstanz sowie die Erweiterung der mit Flüssigkeit angefüllten interlamellären Spalträume in den oberen Schichten der Substantia propria am stärksten und nimmt zum Endothel hin ab. Die Flüssigkeits-Verteilung läßt also einen deutlichen Gradienten erkennen, wobei die größten Werte im Bereich des Schwerpunktes der Entzündung an der Cornea-Oberfläche liegen.

Bei der gesetzmäßig ablaufenden Shigellen-Keratitis kann man die *Ablösung des Cornea-Epithels* gut verfolgen und auf diese Weise einen Beitrag zur formalen Genese von Erosionen leisten, die in ähnlicher Weise wahrscheinlich auch an anderen mehrschichtigen Plattenepithelien entstehen. An der Cornea besitzen die oberflächlichen, stark abgeplatteten und kondensierten Epithelzellen eine starke Verzahnung und dadurch einen festen Zusammenhalt mit den seitlichen Nachbarzellen. Die Verzahnung mit den nächst tieferen Zellen ist geringer, so daß bei einer Schädigung zunächst die interzellulären Spalträume zwischen den einzelnen Epithelschichten erweitert werden (s. a. Abb. 2). Anschließend kommt es zur schichtweisen Ablösung der abgeplatteten oberen Epithel-Lagen. Eine wesentliche Quellung findet in diesen kondensierten Zellen nicht statt. Bei den mittleren und tieferen Schichten des Epithels, die durch höhere, glykogenreiche Zellen ausgezeichnet sind [GRAUMANN (1964), TETERWAK-WLODARSKA und GODEWSKI (1963)], schwellen die Zellen, wodurch zunächst die tiefen Verzahnungen mit den Nachbarzellen weitgehend verschwinden. Anschließend wird der interzelluläre Spaltraum durch einströmende Flüssigkeit ausgeweitet, wobei nur die Desmosomen noch kurze Zeit bestehen bleiben und schließlich ebenfalls abreissen. Die Desmosomen entsprechen in ihrem Bau denen der tieferen Epidermis-Schichten [SELBY (1958), HORSTMANN und KNOOP (1958)] und dem nicht verhornten Plattenepithel der Portio vaginalis des Uterus [MORICARD u. Mitarb., (1958), FASSKE u. Mitarb. (1960)]. Offenbar sind die Shigellen-Toxine und die Enzyme der zerfallenden Leukocyten nicht imstande, die Desmosomen aufzulösen. Auch die Hyaluronidase vermag die Desmosomen des Cornea-Epithels nicht zu zerstören [GRAUMANN (1964)].

Für die Ablösung des Epithels von der Basalmembran ist wahrscheinlich die Quellung der Basalzellen von großer Bedeutung. Es ist anzunehmen, daß bei der Quellung an den Halb-Desmosomen zwischen Basalzellen und Basalmembran Scherkräfte auftreten, die zu einer Lockerung des Zusammenhaltes zwischen

Epithel und Basalmembran führen. Es genügt dann ein geringer mechanischer Insult, um das Epithel abzulösen und eine Erosion entstehen zu lassen.

Verschiedentlich wird angenommen, daß zwischen den Epithel-Zellen eine „Kittsubstanzen“ besteht, welche die Zellen zusammenhält. Sie soll nach histochemical Untersuchungen perjodreaktiv und sudanophil sein (GRAUMANN, 1964). Es ist unwahrscheinlich, daß die helle, in dem 0,1—0,2 μ breiten interzellulären Spaltraum liegende, wenig osmiophile Substanz allein die lichtmikroskopisch-histochemisch deutlich sichtbare sudanophile „Kittsubstanzen“ darstellt, zumal die lichtmikroskopische Sudanophilie im allgemeinen mit einer elektronenmikroskopischen Osmiophilie einhergeht. Bei den histochemisch als „Kittsubstanzen“ erscheinenden Anteilen dürfte es sich im wesentlichen um die stärker osmiophile Cytoplasma-Zone entlang den sehr reichlich verzahnten Zellgrenzen handeln.

Etwa 16—24 Std nach Verimpfung der Shigellen haben einige Epithelzellen am Rande kleiner Erosionen Bakterien aufgenommen. Die Aufnahme erfolgt durch Phagocytose, da die Bakterien keine Bewegungsorganellen wie z.B. Geißeln besitzen, die ein aktives Eindringen ermöglichen würden. Außerdem sieht man in vielen Fällen Shigellen, von denen einige in tiefen Cytoplasma-Buchtten außen an der Zellmembran liegen, während sich andere in einer Phagocytose-Vacuole im Cytoplasma befinden. Aus diesen Bildern läßt sich ohne Schwierigkeiten ein Phagocytose-Vorgang rekonstruieren. Im Gegensatz zu den Shigellen, die man nach 12—16 Std in Leukocyten des Exsudates findet, zeigen sie in Epithelzellen keine Auflösungsscheinungen und sind offenbar in der Lage, sich hier zu vermehren, wobei sie gewissermaßen von den Epithelzellen vor dem Zugriff der Leukocyten und ihrer Enzyme geschützt werden. Da nach den Versuchen von SERÉNY (1959) avirulente Shigellen nicht in die Epithelzellen gelangen, muß man wohl annehmen, daß die von uns verwendeten virulenten Bakterien eine Substanz abscheiden, welche die Epithelzellen zur Phagocytose anreizt. Es könnte sich dabei um einen Stoff handeln, der als Detergens wirkt und die Phagocytose durch Verminderung der Oberflächenspannung begünstigt (FLOREY, 1962). Es käme vielleicht auch Hyaluronidase in Betracht.

Es gibt jedoch auch Krankheits-Vorgänge am Cornea-Epithel, bei denen die Phagocytose nicht von der Virulenz der Bakterien, sondern vom Zustand der Epithelzellen abhängt. So konnten beispielsweise SHELDON und ZETTERQUIST (1956) nachweisen, daß Bakterien besonders oft bei Vitamin A-Mangel in den keratinisierten Cornea-Epithelzellen auftreten.

Wie ist nun die Beobachtung zu deuten, daß die in den Epithelzellen befindlichen Shigellen im Lichtmikroskop größer erscheinen als die extrazellulär liegenden? Auch im elektronenmikroskopischen Schnitt fällt auf, daß die intrazellulären Bakterien etwas größer sind. Allerdings erscheint der Größenunterschied geringer als im Lichtmikroskop. Dieses Verhalten könnte darauf beruhen, daß bei der elektronenmikroskopischen Präparation eine stärkere Schrumpfung eintritt. Darauf würde einmal die starke Fältelung der Bakterien-Membran und zum anderen die Tatsache hinweisen, daß die Phagocytose-Vacuolen im Cytoplasma der Epithelzellen von den Bakterien nur teilweise ausgefüllt werden. Es ist anzunehmen, daß die Bakterien *in vivo* die Vacuolen vollständig einnahmen. Wahrscheinlich beruht die Vergrößerung der Bakterien nach ihrem Eintritt in die Zelle auf einer stärkeren Wasseraufnahme.

Die Epithelzellen der Cornea verhalten sich hinsichtlich der Phagocytose von Bakterien anders als die Zellen des RES. Während von den Epithelzellen fast ausschließlich die virulenten Stämme phagocytiert werden [SERÉNY (1959); RÁCZ

und TENNER (1963)], nehmen die Zellen des RES vorwiegend Stämme geringer Virulenz auf, wie BROZZI (1964) bei Versuchen mit *Salmonella typhimurium* zeigen konnte. TAKEUCHI u. Mitarb. (1965) fanden, daß Ruhrbakterien in Epithelzellen unverändert erscheinen, während sie in Leukozyten und Macrophagen deutliche Auflösungserscheinungen erkennen lassen.

Im Gegensatz zu den entsprechenden Stroma-Zellen der Kaninchen-Cornea ist das endoplasmatische Reticulum beim Meerschweinchen umsäumt von zum Teil stäbchenförmig erscheinenden Ribosomen. Auch scheint die straffe Ausrichtung des endoplasmatischen Reticulum bei der Kaninchen-Cornea nicht so deutlich zu sein [KAYE und PAPPAS (1962)]. Das zwischen und neben den Zellfortsätzen an den Zellpolen der Stroma-Zellen liegende feinfädige Material konnten wir erstmalig in der Cornea darstellen. Es könnte sich hier um präkollagene Fibrillen handeln, an deren Aufbau die Stroma-Zellen beteiligt sind. Danach käme diesen Zellen nicht nur eine nutritive Funktion für den Bestand der Substantia propria zu, sondern auch ein Baustoffwechsel für die Bildung der Fibrillen. Das feinfädige Material erstreckt sich stellenweise zwischen die kollagenen Fibrillen in den Randbereichen der Hornhaut-Lamellen.

Die Ausweitungen der interlamellären Spalträume in den oberen Lagen der Substantia propria stellen keine Schrumpfungs-Artefakte dar, wie bei den Untersuchungen von SHELDON (1956) an der Ratten-Cornea [KAYE u. PAPPAS (1962)], sondern entsprechen einer vitalen Reaktion, wie die gleichartig untersuchten Kontrollen mit dicht aufeinander liegenden Hornhaut-Lamellen erkennen lassen. Die erweiterten interlamellären Räume sind *in vivo* mit Ödem-Flüssigkeit angefüllt.

Als Ursache für die Trübung der entzündlichen Cornea wird allgemein eine Quellung angenommen, welche vor allem die mucopolysaccharidreiche interfibrilläre Substanz [GRAUMANN (1964)] betreffen soll. Nach MAURICE (1957) wird dadurch die regelmäßige Packung der Stroma-Fibrillen gestört und eine unregelmäßige Lichtstreuung hervorgerufen. Nach unseren Befunden kommt es tatsächlich zu Schwankungen in Zahl und Verteilung der Fibrillen. Es quillt nicht nur die interfibrilläre Substanz, sondern es quellen auch die Fibrillen selbst. Neben diesen morphologisch relativ geringfügig erscheinenden Inhomogenitäten kommen bei der eitrigen Keratitis weitere Faktoren hinzu, die zweifellos eine Verstärkung der Trübung bewirken. Hierzu gehören vor allem die mit eiweißhaltiger Ödem-Flüssigkeit gefüllten, unregelmäßig begrenzten, interlamellären Spalträume, an deren Grenze zwei Medien zusammentreffen, die verschiedene Brechungsindices besitzen. Hinzu kommen in unserem Fall die in die oberen Schichten eingewanderten Leukozyten, welche die Opazität weiter verstärken. Es wäre weiterhin eine micelläre Zusammenlagerung von Proteinen in der Ödem-Flüssigkeit in Betracht zu ziehen, die nach Art eines Tyndall-Phänomens wirken würde.

Bei schwerer Keratitis kann es zur Schädigung der Descemetschen Membran mit Ausbildung einer Descemetocèle kommen [KREIBIG (1961)]. Unsere Befunde lassen vermuten, daß hierbei die Schädigung des Endothels eine besondere Rolle spielt, die ein Einströmen des Kammerwassers und eine starke Auflockerung der Descemetschen Membran ermöglicht. Dabei sind die Veränderungen der Descemetschen Membran auf der Seite der Substantia propria weniger ausgeprägt

als auf der Seite des Endothels. Nach den Untersuchungen von SHANTHAVEE-RAPPA und BOURNE (1964) ist anzunehmen, daß das Endothel mit seiner Enzym-Ausstattung eine große Bedeutung für Erhaltung und Funktion der Descemet-schen Membran besitzt.

Mit der von uns angewendeten Präparationstechnik stellt sich die Descemet-sche Membran in Form sehr dichter, kleiner Punkte und zahlreicher, etwa 80 Å dicker Fibrillen dar. Eine deutliche, regelmäßige Vernetzung wie sie von JAKUS (1956) nach Extraktion mit Citratpuffer elektronenmikroskopisch dargestellt wurde, fanden wir nicht.

Auf die besondere Bedeutung des Endothels für die Permeabilität der Cornea wurde vor allem von SPEAKMAN (1959) hingewiesen. Aber erst die Versuche von MAURICE (1960) sowie KAYE und PAPPAS (1962) gaben Auskunft über die Größe der Permeabilität und die Wege, auf denen der Stofftransport in der Cornea erfolgt. Es ist in unserem Fall anzunehmen, daß die durch die Entzündung hervorgerufene Schädigung des Endothels zu einer Permeabilitätsstörung geführt hat mit Einsickern des Kammerwassers in die Descemetsche Membran und die endothel-nahen Anteile der Substantia propria.

Die Verzahnung der Endothelzellen untereinander ist bei den einzelnen Tierarten unterschiedlich. So verlaufen die seitlichen Zellmembranen bei Ratte und Mensch im Gegensatz zum Kaninchen sehr unregelmäßig [JAKUS (1961), KAYE und PAPPAS (1962)]. Bei unseren Meerschweinchen fanden wir ebenfalls einen stark geschlängelten Verlauf. Durch den entzündlichen Reiz und die Schädigung des Endothels erweitern sich die interzellulären Spalträume erheblich, wobei die Schlußleisten im allgemeinen erhalten bleiben. Außerdem bilden sich im Cytoplasma zwischen Kern und Zellbasis ausgedehnte Vacuolen. Diese Bereitschaft zur vacuolären Degeneration, die nach Ablösung der Zellen aus dem Verband zu siegelring-ähnlichen Formen führen könnte, erinnert sehr an das Verhalten von Mesothel-Zellen, mit denen die Cornea-Endothelien auch hinsichtlich ihrer Ultrastruktur verglichen werden [KAYE und PAPPAS (1962)].

Zusammenfassung

Bei 50 Meerschweinchen wurde eine eitrige Keratoconjunctivitis durch Verimpfung virulenter Shigellen in den Conjunctivalsack erzeugt. Nach 2—96 Std untersuchten wir die in der Cornea ablaufenden Veränderungen im Elektronenmikroskop. Dabei ließen sich die Ablösungs-Vorgänge und degenerativen Veränderungen des Epithels bis zur Entwicklung von Erosionen in allen Einzelheiten darstellen. Die Shigellen wurden von den Epithelzellen durch Phagocytose aufgenommen und blieben hier lebensfähig. In der Substantia propria traten nach 2—4 Std „interlamelläre Seen“ auf, in welche einige Stunden später polymorphe kernige Leukocyten einwandern. Die sonst flach ausgebreiteten Stromazellen runden sich ab. An den Zellpolen fanden wir ein feinfädiges Material von etwa 80 Å Durchmesser, bei dem es sich wahrscheinlich um präkollagene Fibrillen handelt. Morphometrische Untersuchungen ließen eine ungleichmäßige Flüssigkeitsverteilung in der Substantia propria mit einem Gradienten vom Endothel zum Epithel erkennen. Das Endothel wies eine vacuoläre Degeneration des Cytoplasmas auf, die zu einer Permeabilitätsstörung mit vermehrter Flüssigkeits-Durchtränkung der Descemetschen Membran führte.

The Cornea in Experimental Keratitis Produced by Shigella An Electronmicroscopic Study

Summary

The corneae of 50 guinea pigs with experimental Keratitis were studied with the electron microscope. The Keratitis was produced by introduction of virulent Shigella into the conjunctival sac. Dissociation of the epithelial cells and development of erosions were demonstrated. After 2—4 hours the superficial region of the stroma exhibited wide clear spaces with edema. A few hours later heterophil leucocytes invaded the interlamellar spaces.

At the poles of the stroma cells very thin filaments of 80 Å diameter, which are supposed to be precollagen were irregularly arranged.

Morphometric methods revealed the distribution of edema fluid within the stroma and showed a gradient from endothelium to epithelium. The diameter of collagen fibrils increased from 220 Å to 430 Å in the superficial region.

The endothelium showed a vacuolar degeneration. Descemet's membrane appeared mottled by an augmentation of water content.

Literatur

- BROZZI, G.: Correlation between virulence and phagocytosis of genetic recombinant between *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Nature (Lond.)* **202**, 819—821 (1964).
- DOERR, W., B. v. BARSEWISCH, H. FRITSCH, J. A. ROSSNER u. G. ULE: Paul Busse Grawitz und die Vorgänge bei der Entzündung. *Med. Klin.* **60**, 1828—1834 (1965).
- FASKE, E., K. MORGENTHOTH, H. THEMANN u. A. VERHAGEN: Elektronenmikroskopische Untersuchungen menschlicher Collumcarcinome und ihres Stromas. *Arch. Gynäk.* **192**, 571—588 (1960).
- FLOREY, H.: General pathology, 3rd edit. p. 108—110. London: Lloyd Luke Ltd. 1962.
- GRAUMANN, W.: Die Sinnesorgane. In: *Hdb. der Histochemie*, Bd. II/2, S. 478—485. Stuttgart: Gustav Fischer 1964.
- HENNIG, A., and J. R. MEYER-ARENDE: Microscopic volume determination and probability. *Lab. Invest.* **12**, 460—464 (1963).
- HORSTMANN, E., u. A. KNOOP: Elektronenmikroskopische Studien an der Epidermis. *Z. Zellforsch.* **47**, 348—362 (1958).
- JAKUS, M. A.: Studies on the cornea. II. The fine structure of the Descemet's membrane. *J. biophys. biochem. Cytol.*, Suppl. **2**, 243—252 (1956).
- The fine structure of the human cornea. In: *The structure of the eye*, p. 343 (edit. G. K. SMELSER). New York: Academic Press 1961.
- KAYE, G. I., and G. D. PAPPAS: Studies on the cornea. I. *J. Cell Biol.* **12**, 457—480 (1962).
- KREIBIG, W.: Das Auge und sein Hilfsapparat. In: *Lehrbuch der Speziellen Pathologie (KAUFMANN-STAEMLER)*, Bd. III, S. 1023—1118. Berlin: W. de Gruyter & Co. 1961.
- MAURICE, D. M.: The structure and transparency of the cornea. *J. Physiol. (Lond.)* **136**, 263—281 (1957).
- The movement of fluorescein and water in the cornea. *Amer. J. Ophthalm.* **49**, 1011—1021 (1960).
- MORICARD, R., N. HINGLAIS-GUILAUD et R. CARTIER: Cytologie comparée en microscopie optique et électronique de l'épithélium pavimenteux cervical normal et pathologique. *Gynéc. et Obstét.* **57**, 453—489 (1958).
- ODLAND, G. F.: The fine structure of the interrelationship of cells in the human epidermis. *J. biophys. biochem. Cytol.* **4**, 529 (1958).
- PEDLER PH.: The fine structure of the corneal epithelium. *Exp. Eye Res.* **1**, 286—289 (1962).
- RÁCZ, P., u. K. TENNER: Die Bedeutung des intrazellulären Wachstums der pathogenen Microorganismen bei der Keratokonjunktivitis shigellosa und listeriosa. *Verh. dtsch. Ges. Path.* **47**, 403—406 (1963).

- ROUILLER, C., D. DANON et A. RYTER: Application de la microscopie électronique à l'étude de la cornée. *Acta anat.* (Basel) **20**, 39—51 (1954).
- SELBY, C. C.: An electron microscope study of the epidermis of mammalian skin in thin sections. *J. biophys. biochem. Cytol.* **1**, 429 (1955).
- SERENY, B.: Experimentelle Keratoconjunctivitis shigellosa. Kandidatendiss. Budapest 1955.
- SHANTHAVEERAPPA, T. R., and G. H. BOURNE: Monoamine oxidase distribution in the rabbit eye. *J. Histochem. Cytochem.* **12**, 281—288 (1964).
- SHELDON, H.: An electron microscope study of the epithelium in the normal mature and immature mouse cornea. *J. biophys. biochem. Cytol.* **2**, 253—263 (1956).
- , and H. ZETTERQUIST: An electron microscope study of the corneal epithelium in the Vitamin A deficient mouse. *Bull. Johns Hopk. Hosp.* **98**, 372—405 (1956).
- SPEAKMAN, J. S.: Stain permeability and ultrastructure of the corneal endothelium. *Arch. Ophthal.* **62**, 882—896 (1959).
- TAKEUCHI, A., H. SPRINZ, E. H. LABREC and S. B. FORMAL: Experimental bacillary dysentery. An electron microscopic study of the response of the intestinal mucosa to bacterial invasion. *Amer. J. Path.* **47**, 1011—1044 (1965).
- TEREWAK-WŁODARSKA, and H. G. GODLEWSKI: Distribution of phosphorylases and glycogen in the cornea of rodents and the human. *Fol. histochem. Cytochem.* **1**, 47—56 (1963).
- VOINO-YASENETSKY, M. V., and M. K. VOINO-YASENETSKAYA: Experimental pneumonia caused by bacteria of the shigella group. *Acta Morph. Acad. Sci. hung.* **11**, 439—454 (1962).
- WEIBEL, E. R.: Principles and methods of the morphometric study for the lung and other organs. *Lab. Invest.* **12**, 131—155 (1963).
- WESSEL, W.: Ultrastrukturelle Degenerationsvorgänge und Degranulierung extravasaler Leukocyten bei eitriger Keratitis. *Virch. Arch. path. Anat.* **342**, 129—143 (1967).
- WHITEAR, M.: An electron microscope study of the cornea in mice with special reference to the innervation. *J. Anat. (Lond.)* **94**, 387 (1960).

Priv.-Doz. Dr. W. WESSEL
Pathologisches Institut der Universität
53 Bonn, Venusberg