

## Elektronenmikroskopische Untersuchungen an humanen Hornhautnarben und an einem getrübten Hornhauttransplantat

W. SCHWARZ und D. Graf KEYSERLINGK

II. Anatomisches Institut der Freien Universität Berlin  
(Direktor: Prof. Dr. W. SCHWARZ)

Eingegangen am 6. Dezember 1968

### *Electron-Microscopic Studies of Human Corneal Scars and an Opaque Corneal Transplant*

*Summary.* Distribution curves of the thickness of fibrils and the volume percent of collagen in scars after alkali-burns, after operations, and in an opaque graft are compared with those of normal cornea and sclera. In scars the diameter of fibrils is larger (26—50 m $\mu$ ) than in normal cornea (14—30 m $\mu$ ). The vol. % of collagen in scars (17.0 vol. %) is similar to that in normal cornea, (14.5). The average volume of amounts to 50.0 vol. % in the sclera. Filaments with a diameter of 10 m $\mu$  are present only in scars. Within the opaque graft, regions resembling normal cornea are interspersed with typical scar tissue. The enlargement of fibrils combined with increased variation of their diameters seem to explain why the scars and homograft were opaque.

*Zusammenfassung.* Die Verteilungskurven der Fibrillendicke und der Volumenprozentgehalt des Kollagens in Narben nach Laugenverätzung, *post operationem* und in einem getrübten Transplantat werden miteinander und mit der normalen Cornea und Sklera verglichen. In Narben ist der Fibrillendurchmesser (26—50 m $\mu$ ) größer als in der normalen Cornea (14—30 m $\mu$ ). Der Volumenprozentgehalt des Kollagens in der Narbe beträgt 17 Vol.-% (der Sklera 50,0 Vol.-%) und ist ähnlich wie in der normalen Cornea (14,5 Vol.-%). Darüber hinaus werden Filamente mit einem Durchmesser von 10 m $\mu$  nur in Narbengebieten gefunden. Innerhalb des getrübten Transplantats sind Regionen, die einen Aufbau wie in der normalen Cornea zeigen, durchsetzt mit typischem Narbengewebe. Die Vergrößerung in Verbindung mit der zunehmenden Variation der Durchmesser der Fibrillen in der Narbe scheint die Hauptursache für die Trübung der Narbe und des Transplantats zu sein.

### Einleitung

Narben sind der Ausdruck eines Restitutionsversuches des Organismus auf eine vorangegangene Läsion. Diese Restitution soll am Stroma der Cornea, das selbst ein modifiziertes Bindegewebe ist, untersucht werden. Durch die Narbenbildung in der Cornea wird zwar ein Teil der Funktion der Hornhaut, nämlich ihre Festigkeit und damit der Schutz des Innenauges wieder hergestellt, ihre spezifische Aufgabe als durchsichtiger Teil des optischen Apparates geht aber verloren. Daher ist die Frage nach der Feinstruktur der Hornhautnarbe eng verknüpft mit der Frage nach der Ursache der erhöhten Lichtstreuung dieses Gewebes. Aus früheren Untersuchungen (SCHWARZ, 1952, 1953 a, b; VAN DEN HOOFF, 1952, 1955; FRANCOIS et al., 1954; ROUILLER et al., 1954; JAKUS, 1964; SCHWARZ u. KEYSERLINGK, 1966) geht hervor, daß folgende morphologische Tatsachen wahrscheinlich für die Transparenz der gesunden Cornea verantwortlich sind: 1. Die geringe Dicke der Kollagenfibrillen mit der typischen Verteilungskurve ihrer Durchmesser und 2. der streng parallele Verlauf der Fibrillen innerhalb einer Lamelle und zur Hornhautoberfläche. 3. Der konstante Abstand der einzelnen Fibrillen voneinander.

So hat SCHWARZ (1953b) nach Isolierungsversuchen der Fibrillen bei der Hornhauttrübung und der Corneanarbe dickere Fibrillen als bei der normalen Cornea gefunden. Danach vermutet er, daß auch bei der Trübung von Transplantaten eine Differenzierung zu dickeren Fibrillen eintritt, wie sie in der Narbe und in der Sklera vorliegt. Mit der Ultradünnchnittsmethode sind die Befunde an der Hornhautnarbe bestätigt worden (JAKUS, 1964; SCHWARZ u. KEYSERLINGK, 1967; PAYRAU et al., 1967). Es zeigte sich, daß die Fibrillen in der Corneanarbe einen größeren Durchmesser mit erheblicher Schwankungsbreite besitzen. Aufälligerweise war der Volumenprozentgehalt des Kollagens in der Narbe nicht wesentlich gegenüber der normalen Cornea erhöht, und auch der parallele Verlauf der Fibrillen war nicht sehr gestört (SCHWARZ u. KEYSERLINGK, 1967). PAYRAU et al. (1967) fanden in getrübten Hornhauttransplantaten neben normal dicken Fibrillen auch andere mit einem größeren, oder aber mit einem kleineren Durchmesser.

Wir haben nun Narbengewebe nach einer Verätzung und ein getrübtes Hornhauttransplantat elektronenmikroskopisch untersucht. Wie in früheren Arbeiten von SCHWARZ u. KEYSERLINGK (1966, 1967) wurden die Befunde morphometrisch ausgewertet. Dabei wurde der Fibrillendurchmesser und seine Variationsbreite, der Volumenprozentgehalt des Kollagens und die Relation dicker zu dünnen Fibrillen bestimmt. Auf diese Weise können die kolloidchemisch wichtigen Größen gemessen und damit ein weiterer Anhalt für den Grund der Trübung gewonnen werden.

### Material und Methode

Die Hornhautnarbe nach Laugenverätzung stammt von einem 55 Jahre alten Patienten. Das eingetrübte Transplantat wurde von einem 51 Jahre alten Patienten mit folgenden klinischen Daten gewonnen<sup>1</sup>. Anamnese: 1966 penetrerende Keratoplastik nach Hornhautnarbe. Status (1967): Visus Re + 12,0 = 0,3/50. Kein Nieden. Lichtschein und Projektion ++++. Bindegewebe: reizfrei. Hornhaut: ganz eingetrübt und vaskularisiert. Vorderkammer: tief. Therapie: 2. Keratoplastik. Mit einem 8,5 Trepan wurde das eingetrübte Transplantat mit umgebenden Wirtsgewebe gewonnen. Die Narbe zwischen Wirt und Transplantat war als weißlicher Ring zu erkennen. Wirtsgewebe, Narbengewebe und 1. Transplantat wurden mit einer Rasierklinge getrennt, dann fixiert und eingebettet. Fixierung mit 6%igem Glutaraldehyd im Michaelispuffer pH 7,3 für 3 Std. Nachfixierung mit 1%iger Osmiumsäure in Michaelispuffer pH 7,3 für weitere 2 Std. Stufenweise Entwässerung in Aceton und Einbettung in Vestopal W. Ultradünn schnitte mit einem LKB-Ultrotom. Kontrastierung mit Uranylacetat und Bleicitrat. Aufnahmen mit einem Siemens Elmiskop Ia bei einer Strahlspannung von 80 KV.

Morphometrische Messungen wurden an Schnitten durchgeführt, die senkrecht zum Verlauf der Fibrillen gelegt waren. Aufnahmen erfolgten bei einer primären Vergrößerung von 1:10000. Die Messungen der Fibrillendurchmesser wurden auf photographischen Nachvergrößerungen von 1:3,5 mit einer Meßlupe mit 0,1 mm Einteilung vorgenommen.

Da die Fibrillen parallel zueinander verlaufen, ist das Verhältnis von Kollagenvolumen zum Volumen der Kittsubstanz in Schnitten senkrecht zur Fibrillenlängsachse gleich dem Verhältnis der Fibrillenquerschnitte zum interfibrillären Flächenanteil. Das Verhältnis von Flächenanteilen läßt sich mit Hilfe der Punkt-

1. Für die Überlassung des Materials danken wir dem Augenarzt Herrn Oberarzt Dr. LIEGL, Städt. Krankenhaus Neukölln, Berlin 47.

zählmethode nach WEIBEL (1963) einfach bestimmen. Dazu wurde die primäre elektronenmikroskopische Aufnahme in ein Mikrofilm-Lese- und -Vergrößerungsgerät (Fa. Tausch & Simon KG: Systematic 3K) eingelegt und unter Vergrößerung von 1:8,5 auf eine Mattscheibe projiziert. Über die projizierte Aufnahme wurde ein Punktgitter nach WEIBEL (1963) mit 50 Punkten in einem Kreis von 10 cm Durchmesser gelegt. An verschiedenen Stellen wurde in den Schnitten nun die Anzahl der Punkte bestimmt, die sich auf Fibrillenquerschnitte projizierten. Die Anzahl der gezählten Punkte zur Zahl der restlichen Punkte entspricht dann dem Verhältnis des Flächenanteils der Kollagenfibrillen zur interfibrillären Fläche in Schnitten senkrecht zum Fibrillenverlauf und damit dem Verhältnis Kollagenvolumen zum Volumen der Kittsubstanz. Bei einer derartigen Bestimmung des Kollagenvolumens erhält man Werte, die um einen mittleren Volumenprozentgehalt des Kollagens schwanken. Diese Werte wurden nicht direkt graphisch wiedergegeben, sondern in eine Summenhäufigkeitskurve transformiert, um in nur einem Diagramm das Kollagenvolumen im Verhältnis zum Kittsubstanzvolumen und Gesamtvolumen anschaulich machen zu können. Die Steigung der auf diese Weise entstehenden Treppenkurve gibt die Schwankungen der Volumenanteile in den ausgewerteten Bezirken wieder.

Wenn es darum geht, das Verhältnis verschiedener Fibrillen zueinander zu bestimmen, kann man ein dem Punktgitter entsprechendes Liniengitter auf die projizierte Aufnahme legen und auszählen, wieviel Fibrillen der einen und wieviel der anderen Art auf den Linien liegen. Wird dies in verschiedenen Schnitten durchgeführt, erhält man eine repräsentative Verteilungskurve der verschiedenen Fibrillenarten.

### Befunde

In der Nähe der Narbe nach Laugenverätzung ist normales Corneagewebe mit wohlgeordneten Lamellen und dazwischenliegenden einzelnen Keratocyten vorhanden. Die Fibrillen einer Lamelle verlaufen alle in eine Richtung und haben einen normalen mittleren Durchmesser von 20—23  $\mu$ . Die Lamellen sind flach, langgestreckt und verlaufen oberflächenparallel.

Das Zentrum der Narbe ist sehr zellreich. Am häufigsten sind Fibroblasten vertreten. Sie sind kenntlich an dem ovalen Kern mit unauffälligem Nukleolus und Randchromatin, sowie langen verzweigten Zellausläufern. Die Zellen enthalten einige Mitochondrien, ein mäßig ausgeprägtes rauhes endoplasmatisches Retikulum, einzelne freie Ribosomen und glattrandige Vesikel, die zum Golgi-Komplex gehören. Auch Plasmazellen, die bevorzugt in Gefäßnähe liegen, sind anzutreffen. Sie unterscheiden sich von Fibroblasten durch vollständige Ausfüllung des Cytoplasmaumes mit Ergastoplasma, wobei die Golgiregion ausgespart bleibt. Außerdem liegt der Kern exzentrisch in den Plasmazellen, die auch keine Zellausläufer besitzen. Kapillaren und größere Gefäße durchziehen das Narbengewebe.

Im extrazellulären Raum liegen Kollagenfibrillen in Bündeln (Abb. 1) und nicht mehr in flachen Lamellen, wie in der normalen Cornea. Auch verlaufen die Bündel nicht mehr oberflächenparallel, sondern in allen Richtungen des Raumes. Die Kollagenfibrillen der Narbe haben einen größeren Durchmesser als die in der normalen Cornea. Der mittlere Durchmesser beträgt 40  $\mu$ , wobei die dünnsten Kollagenfibrillen mit Querstreifung einen Durchmesser von 26  $\mu$ , die dicksten

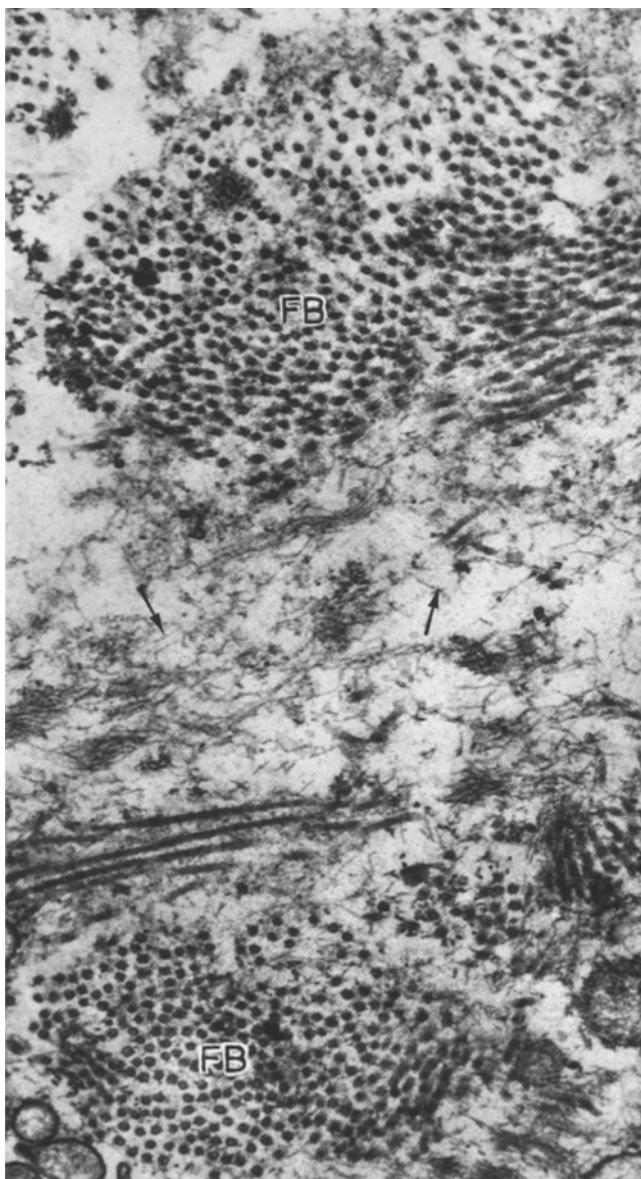


Abb. 1. Hornhautnarbe nach Laugenverätzung. *FB* Bündel mit verdickten Fibrillen.  
↓ Filamente. Vergr. 1:35000

von 45 m $\mu$  haben (Abb. 6). Außerdem werden in der Narbe dünne Filamente (Abb. 1) ohne nachweisbare Querstreifung gefunden, die ihrerseits oft in kleinen Bündeln geordnet liegen. PAYRAU et al. (1967) bezeichnet sie als Mikrofibrillen. Da sie keine Querstreifung haben, sind sie besser als Filamente zu bezeichnen. Diese Filamente verlaufen teilweise innerhalb, teilweise zwischen den Kollagenfibrillenbündeln. Da Filamente und Kollagenfibrillen nur in Ausnahmefällen

parallel zueinander liegen, konnte das Verhältnis Filamente zu Kollagenfibrillen nicht genau erfaßt werden. Daher wurden die Durchmesser der Filamente und der Kollagenfibrillen getrennt, jeweils mit 200 Meßwerten bestimmt und in Abb. 6 eingetragen.

Als weitere Hornhautnarbe untersuchten wir die Grenzzone zwischen Wirtsgewebe und Transplantat. Diese Operationsnarbe war als ein weißlicher Ring im ausgestanzten Hornhautgewebe zu erkennen. Elektronenmikroskopisch ist dieses Gewebe gleichmäßig von Kollagenfibrillen durchsetzt, ohne daß eine eigentliche Bündelung oder Lamellierung der Fibrillen erkennbar ist (Abb. 2). Nur in unmittelbarer Zellnähe liegen gelegentlich einzelne Fibrillen entsprechend der Längsachse der Fibrocyten und folgen damit nicht immer dem allgemeinen Verlauf der Kollagenfibrillen. Auch in dieser Narbe sind die Kollagenfibrillen dicker als in der normalen Cornea. Der Durchmesser liegt zwischen 26 und 46  $\mu$  (Abb. 6). Am häufigsten wurde ein Durchmesser von 37  $\mu$  gefunden. Ebenso kommen Filamente ohne Querstreifung mit einem mittleren Durchmesser von 10  $\mu$  vor. Diese Filamente (Abb. 2) liegen meist in Gruppen zwischen den Kollagenfibrillen und verlaufen mit diesen parallel. So ist es hier möglich, das Verhältnis von Filamenten zu quergestreiften Kollagenfibrillen zu bestimmen. Dazu wird, wie unter Material und Methode angegeben, ein Liniengitter auf die elektronenmikroskopische Aufnahme gelegt und ausgezählt, wieviel Filamentquerschnitte und wieviel Fibrillenquerschnitte sich zufällig auf die Linien projizieren. Es ergibt sich ein mittleres Verhältnis von Filamenten zu Kollagenfibrillen wie 2 : 1. Diesem Verhältnis entsprechend wurden insgesamt 400 Durchmesser von Filamenten und Kollagenfibrillen ausgemessen und in die Abb. 6 eingetragen. Der Volumenprozentgehalt der Kollagenfibrillen und der Filamente zusammen wurde in dieser Narbe bestimmt. Es ergibt sich ein mittlerer Volumenprozentgehalt der Fibrillen von 17,0 Vol.-% (Abb. 7). Anfang und Ende der Stufenkurve geben nach dieser Methode den Bereich an, in dem der Volumenprozentgehalt in den einzelnen untersuchten Bezirken schwankt, etwa zwischen 10—30 Vol.-%. Das Stroma der normalen Cornea hat einen Kollagengehalt von etwa 14 Vol.-%, doch wird darauf später noch genauer eingegangen werden.

In der Operationsnarbe ist die Zahl der Zellen größer als im normalen Stroma der Cornea. Es handelt sich überwiegend um Fibroblasten, die z. T. große Nukleoli besitzen. Sie weisen kleine halbkugelförmige Einstülpungen der Zellmembran auf (Abb. 2), die in Größe und Aussehen den intrazellulären glattrandigen Vesikeln entsprechen. Wahrscheinlich dienen diese Vesikel der Stoffaufnahme oder -abgabe. Der Schnittrand des Transplantates ist nicht glatt, sondern gezähnelt. Am Übergang des Narbengewebes zum Transplantat ist dabei das Narbengewebe in kurzen Ausläufern in das transplantierte Gewebe hineingeschoben (Abb. 3). An der Spitze der Ausläufer biegen die Kollagenfibrillen um, so daß eine Kontinuität zwischen Narbenkollagenfibrillen und Fibrillen des transplantierten Gewebes nicht gefunden werden kann. Das Narbengewebe ist fest mit der Descemet-membran verwachsen, die von Filamenten durchsetzt ist. Ob es sich um eine neu gebildete Descemet-membran oder der des Wirtes oder des alten Transplantates handelt, können wir nicht entscheiden. Im Bereich des Wirtgewebes hatte sich die Descemet-membran während der Präparation vom Stroma gelöst. Eine sog. retrocorneale Membran ist nicht vorhanden.



Abb. 2. Operationsnarbe zwischen Wirt und Transplantat. Fibroblast. Verdickte Fibrillen und Filamente. Vergr. I :30000

Bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung des Transplantates finden wir Gebiete mit normaler Lamellenstruktur (Abb. 4 oben und unten).

Die Kollagenfibrillen in diesen Lamellen haben einen Durchmesser von 11—31  $\mu$ , mit dem häufigsten Durchmesser von 20—23  $\mu$  (Abb. 6). Das entspricht den normalen Cornea-

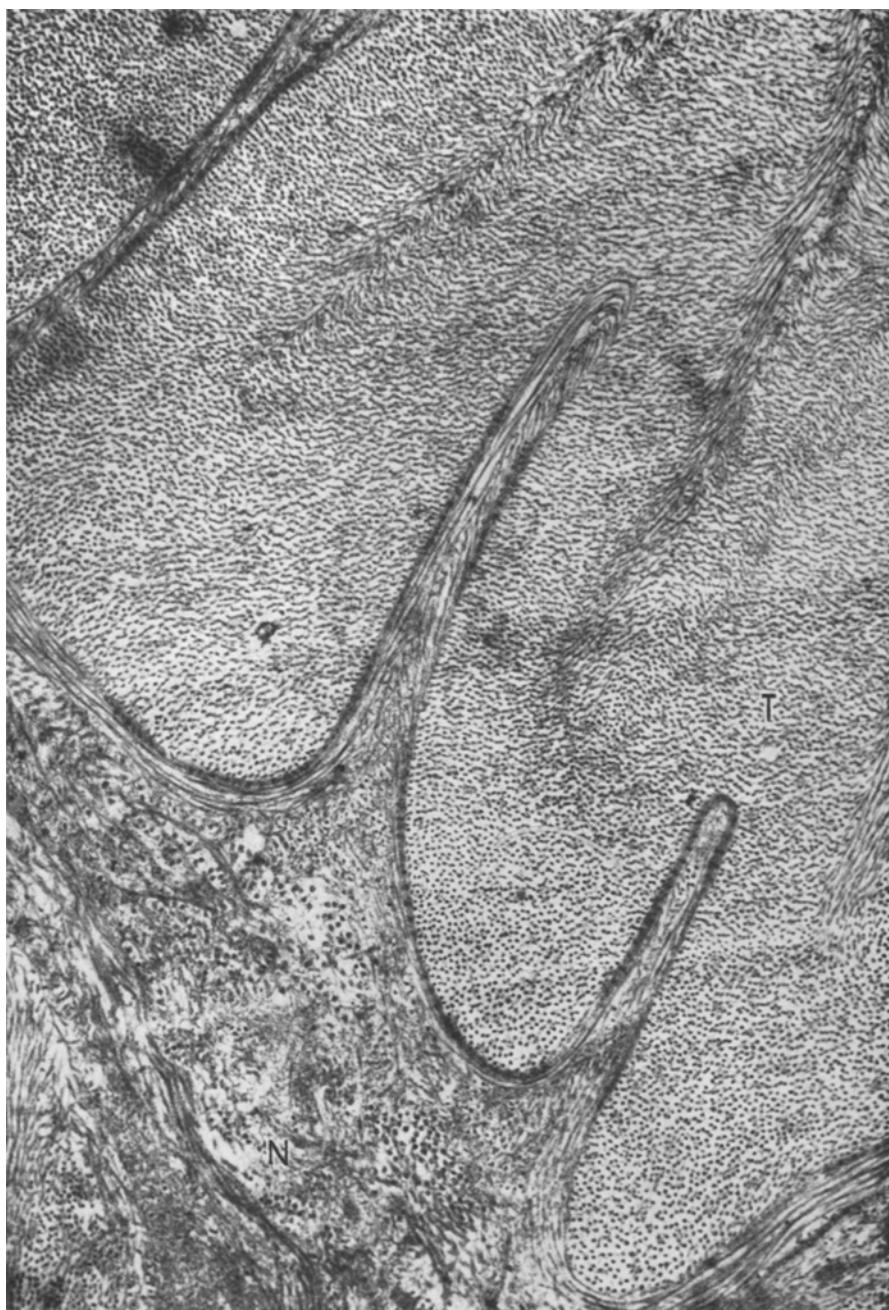


Abb. 3. Grenze zwischen Narbengewebe und Transplantat. *N* Narbengewebe. *T* Transplantat.  
Vergr. 1:16800

fibrillen (SCHWARZ u. KEYSERLINGK, 1967). Auch der Volumenanteil der Kollagenfibrillen in diesen Gebieten ist mit 14,5 Vol.-% so groß, wie er 1967 im Stroma normaler Cornea gefunden wurde (Abb. 7). Filamente oder amorphes Material ist in den Lamellen nicht vorhanden.

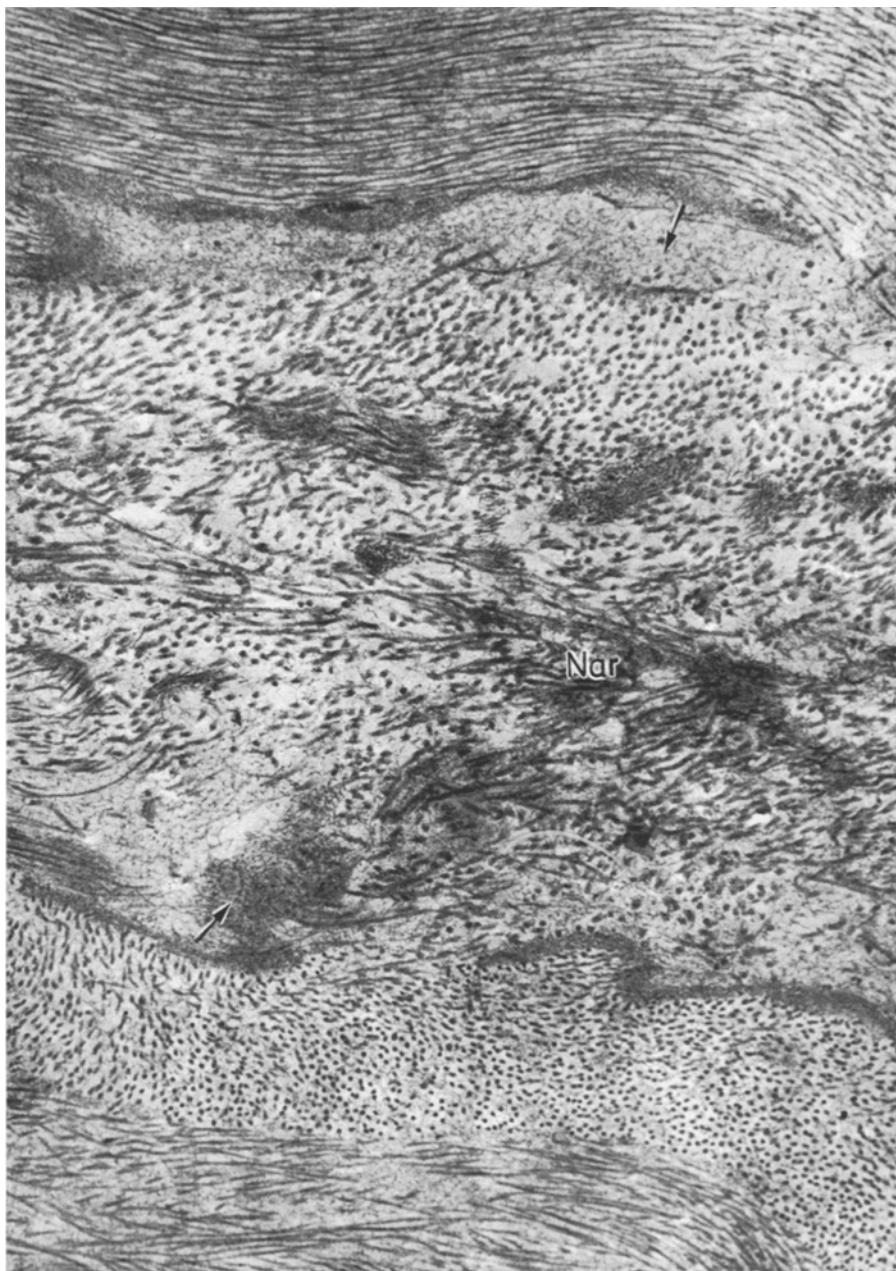


Abb. 4. Transplantat. *Nar* Narbiger Bezirk im Transplantat. ↓ amorphes Material.  
Vergr. 1 : 30000

Zwischen diesen Lamellen begegnet man gelegentlich Straßen von neutrophilen segmentkernigen Leukocyten und Fibroblasten, die das Transplantat oberflächenparallel durchziehen. Auch Reste zugrundegegangener Zellen sind im Stroma des Transplantates zu finden, während daneben gut erhaltene Fibro-

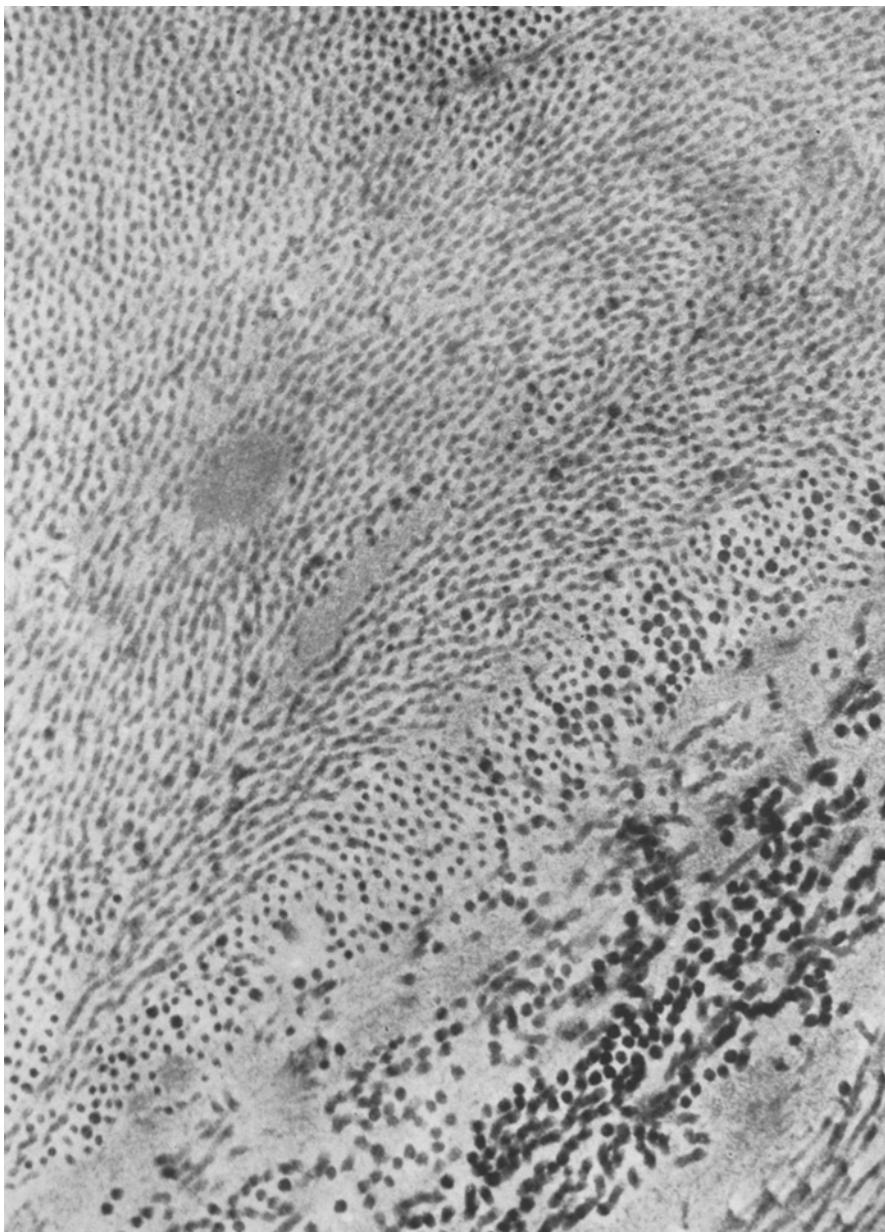


Abb. 5. Transplantat getrübt. Verdickte Fibrillen in einer Lamelle. Vergr. 1 : 40000

blasten liegen. In verschiedenen Bereichen des Transplantates sieht man lamellenähnliche Bezirke zwischen die normalen Lamellen eingeschoben, in denen die Anordnung der Kollagenfibrillen wenig regelmäßig ist (Abb. 4). Diese Kollagenfibrillen haben einen Durchmesser von 20—46 m $\mu$  und am häufigsten von 34 m $\mu$ . Sie entsprechen damit den Kollagenfibrillen einer Narbe (Abb. 6). Außerdem sind in diesen Bezirken Bündel von Filamenten vorhanden. Amorphes Material liegt

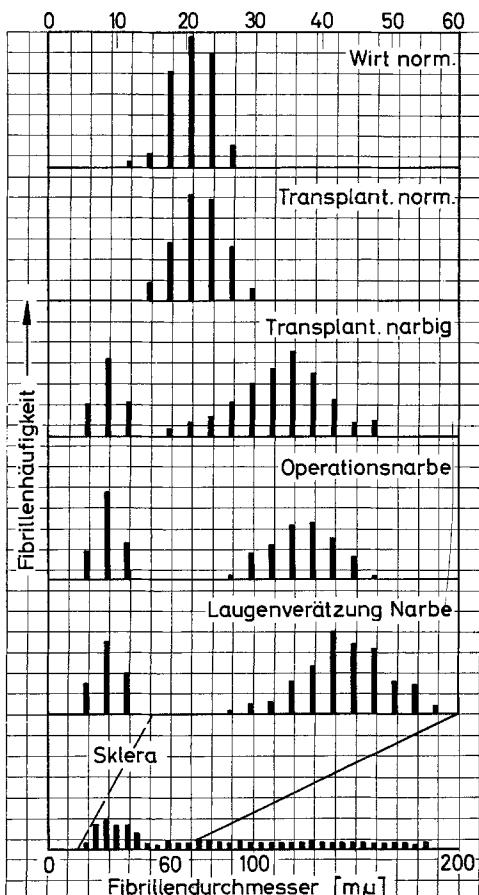


Abb. 6

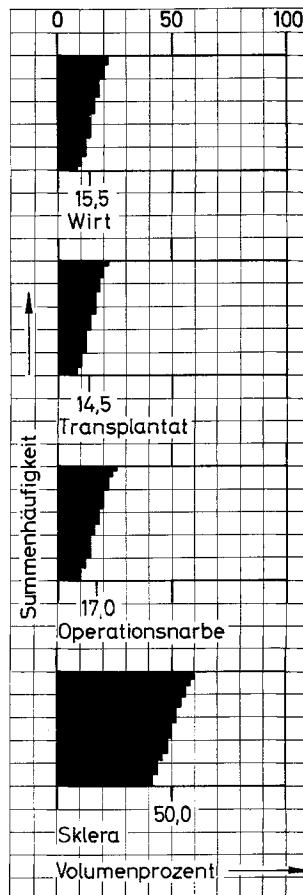


Abb. 7

Abb. 6. Verteilungskurven der Fibrillendurchmesser in unveränderten (normal) und veränderten Corneabezirken und in der Sklera

Abb. 7. Darstellung des Volumenprozentgehaltes von Kollagen (schwarz) in den untersuchten Geweben

häufig an der Grenze zu den gut erhaltenen Lamellen (Abb. 4), doch können dicke Narbenkollagenfibrillen auch unmittelbar neben normalen Corneafibrillen liegen (Abb. 5). Kleine Gefäße, zum Teil ohne Pericyten und Basalmembran, sind gelegentlich im Schnitt anzutreffen.

Das elektronenmikroskopische Bild des Wirtsgewebes entspricht weitgehend dem des Transplantates. Es kommen einerseits gut erhaltene Bereiche mit normalen Corneafibrillen (Abb. 6), andererseits Leukocytendurchwanderungen, sowie Narbengewebe mit dickeren Fibrillen und Filamenten und Gefäßen vor. Wie im Transplantat kann im Wirtsgewebe der Volumenprozentgehalt des Kollagens nur in den gut erhaltenen Bezirken bestimmt werden, da in den dazwischenliegenden Narbengeweben der Fibrillenverlauf zu unregelmäßig ist. Das gleiche gilt für die Bestimmung des Verhältnisses Filamente zu Kollagenfibrillen. In den gut erhaltenen Bezirken ist der Volumenanteil des Kollagens mit 15,5 Vol.-% etwa so groß wie im normalen Corneastroma (Abb. 7).

Zur Gegenüberstellung haben wir den Diagrammen (Abb. 6 u. 7) die Durchmesser und das Volumen der Kollagenfibrillen in der Sklera angefügt. Die Durchmesser der Sklerafibrillen reichen von 17—200 m $\mu$  mit einem angedeuteten Häufigkeitsmaximum zwischen 30 und 45 m $\mu$ . Der Volumenprozentgehalt des Kollagens ist mit 50 Vol.-% in der Sklera wesentlich höher als in der normalen Cornea und in der Narbe.

### Diskussion

Über die Entstehung einer Hornhautnarbe, die besonders gut nach experimenteller Wundsetzung beobachtet werden kann, ist ausführlich berichtet worden (Lit. bei WEIMAR, 1960; ROHEN, 1964). Es kommt zunächst zu einer Invasion von neutrophilen Granulocyten in dem Fibrinpflropf der Wunde und dann zu einer Bedeckung der Wundflächen von den benachbarten Epithelien aus. Während der ersten 24 postoperativen Stunden beginnt die Umwandlung der Keratocyten an den Wundrändern zu Fibroblasten. Lichtmikroskopisch wird die Umwandlung an der zunehmenden Zahl und der Vergrößerung der Nukleoli, elektronenmikroskopisch auch an der Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums in den Zellen deutlich (PAYRAU et al., 1967). Unter dem schützenden Epithel beginnt die Fibrillogenese und die Neusynthese von Mukopolysacchariden (DUNNINGTON and SMELSER, 1957, 1958). Elektronenmikroskopisch liegen um die Fibroblasten neben feingranulärem Material auch Filamente ohne Querstreifung und typische Kollagenfibrillen (PAYRAU et al., 1967). Während die Kollagenfibrillen bis 8 Tage nach der experimentellen Wundsetzung noch weit auseinander und regellos angeordnet sind, werden sie am 16.—19. Tag parallel zueinander ausgerichtet (PAYRAU et al., 1967). Der Aufbau dieser etwa 2 $1/2$  Wochen alten Narbe entspricht bereits unserer Operationsnarbe 1 Jahr nach der Operation. Der Unterschied der Operationsnarbe zu der Narbe nach Laugenverätzung beruht auf einer größeren Mannigfaltigkeit des Zellbildes und einer Bündelung der Kollagenfibrillen wie im lockeren Bindegewebe. Diese Differenz ist wahrscheinlich auf den größeren Substanzverlust und einer entsprechenden Vermehrung des Granulationsgewebes nach der Laugenverätzung zurückzuführen. In beiden Narben sind die Kollagenfibrillen dicker als normal. Dies steht in Übereinstimmung mit früheren Beobachtungen und kann daher als diagnostisches Mittel zur Erkennung von Narbengewebe in der Cornea dienen (SCHWARZ, 1953b; JAKUS, 1964; SCHWARZ u. KEYSERLINGK, 1967). Auch die beschriebenen Filamente werden nur im Narbengewebe gefunden. Bei parallelem Verlauf der Narbenkollagenfibrillen richten sich auch die Filamente parallel dazu aus. Sind die Kollagenfibrillen aber regellos verteilt, so sind auch die Filamente ungeordnet. Die chemische Natur der Filamente ist unbekannt. PAYRAU et al. (1967) diskutieren das granuläre Material als Ansammlung von sezerniertem Tropokollagen und die Filamente als Elementarfibrillen, aus denen die endgültigen Kollagenfibrillen hervorgehen. Da aber auch elastische Fasern und Amyloid aus Filamenten ähnlicher Größenordnung aufgebaut sind, bleibt diese Annahme unsicher.

Im getrübten Transplantat ist teilweise auch normales Corneastroma vorhanden. Die Lamellenanordnung ist hier regelmäßig und die Fibrillen haben wie normale Corneafibrillen einen Durchmesser von 14—30 m $\mu$  (SCHWARZ u. KEYSERLINGK, 1967). SMELSER et al. (1965) haben das Kollagen eines Spenders durch Einbau von C<sup>14</sup>-Glycin markiert und fanden noch 17 Monate nach der Trans-

plantation eine kaum geringere Radioaktivität des Transplantates als kurz nach der Transplantation. Diese lange „turn-over-Rate“ deutet auf eine sehr lange Überlebenszeit des Spenderkollagens hin. Da beim Ersatz von Corneastroma nach unseren Befunden dickere Fibrillen gebildet werden, muß es sich bei den regelrecht aufgebauten Bereichen im Transplantat um Spendergewebe handeln. Damit ist die Auffassung widerlegt, daß Transplantate immer durch Wirtsgewebe ersetzt werden (SALZER, 1898; Lit. bei OFFRET, 1955; PATON, 1955). Kommt es dagegen zum Ersatz von Spenderstroma, dann wird nach unseren Befunden Narbengewebe gebildet und das Transplantat trübt sich.

In unserem Transplantat liegen ebenso wie im Wirtsgewebe zwischen den Lamellen Reihen von neutrophilen Granulocyten. Das bedeutet, daß die Entzündungerscheinungen auch ein Jahr nach der Operation nicht abgeklungen sind. Die Destruktion des Transplantates schreitet vielmehr fort. Nach ASHTON (1960) und CASTROVIEJO (1968) ist besonders ein mangelhafter Stoffwechselaustrausch zwischen Transplantat und Wirt verantwortlich für die Zellinfiltration, die fibroblastische Proliferation und die Vaskularisation des Transplantates. Ein schlechter Zustand der Empfängerhornhaut ist oft die Ursache dafür, doch kann auch eine Spender-Empfänger-Sensibilisierung von Bedeutung sein (PAUFIQUE et al., 1948; MAUMENE, 1960).

In das Transplantat sind lamellenähnliche Bezirke eingeschoben, die nach dem oben gesagten als typisches Narbengewebe anzusprechen sind. PAYRAU et al. (1967), die ebenfalls getrübte penetrierende Hornhauttransplantate elektronenmikroskopisch untersucht haben, geben summarisch an, daß sie normale Corneafibrillen neben dickeren Fibrillen und Filamenten gefunden haben. Wir möchten daher betonen, daß das Narbengewebe mit dickeren Fibrillen und Filamenten, das keine normalen Corneafibrillen enthält, zwischen Lamellen mit normalen Fibrillen eingeschoben ist. Dies scheint uns zum Verständnis der Genese der Transplantatetrübung von Bedeutung zu sein. Zwischen den normalen alten Lamellen bildet sich wahrscheinlich nach teilweisem Abbau des Spendergewebes ein Narbengewebe aus. Dieses Narbengewebe im Transplantat zusammen mit der Zellinfiltration und Vaskularisation scheint uns die eigentliche Ursache der Transplantatetrübung zu sein. Eine retrocorneale Membran war in unserem Falle nicht vorhanden.

Warum ist das Narbengewebe trübe? Im Narbengewebe haben die meisten Kollagenfibrillen einen Durchmesser von 34—46 m $\mu$ , im normalen Corneastroma dagegen zwischen 20 und 23 m $\mu$  (SCHWARZ u. KEYSERLINGK, 1967). Die Häufigkeitskurven der Fibrillendurchmesser sind im normalen Stroma steiler, d.h. die Durchmesser sind einheitlicher als in der Narbe. Bezieht man die Filamente mit ein, so sind in der Narbe zwei Häufigkeitsmaxima, nämlich bei 10 und etwa bei 40 m $\mu$  vorhanden und die Variationsbreite der Durchmesser fibrillärer Strukturen reicht damit von 9—54 m $\mu$ . Auch die Sklera hat eine große Variationsbreite der Durchmesser fibrillärer Strukturen, allerdings bei größeren Durchmessern von 20—200 m $\mu$  und mehr. Das Narbengewebe steht also wegen seiner dickeren Kollagenfibrillen und besonders wegen der großen Schwankungsbreite seiner Fibrillendurchmesser in gewisser Analogie zur Sklera. Betrachtet man aber den Volumenprozentgehalt der fibrillären Strukturen in der normalen Cornea, der Narbe und der Sklera, so entspricht der Kollagenanteil in der Narbe mehr dem der normalen Cornea und nicht der Sklera. Diese Tatsache entspricht der oben

schon angeführten gekoppelten Neusynthese von Kollagen und Kittsubstanz bei der Bildung der Narbe.

Kolloidchemisch liegt demnach in der normalen Cornea ein annähernd monodisperses, in der Narbe eine polydisperses Gel in etwa gleicher Konzentration vor. In der Sklera ist dagegen ein polydisperses System höherer Konzentration vorhanden. Da polydisperse Systeme Licht stärker streuen als monodisperse Systeme gleicher Konzentration (WIEGNER u. PALLMANN, 1948), nehmen wir an, daß die Narbentrübung zu einem Teil auf diese Polydispersität der fibrillären Strukturen zurückzuführen ist. Der andere Grund der Lichtstreuung beruht auf dem größeren Durchmesser der Fibrillen über ein bestimmtes Maß hinaus. Bei den Kolloiden wirkt sich eine Vergrößerung der Partikel in einer vermehrten Lichtstreuung aus (WIEGNER u. PALLMANN, 1948). Deshalb führen wir die Trübung in der Hornhautnarbe und in unserem Transplantat morphologisch auf zwei Veränderungen des normalen Substrates zurück: nämlich auf das Dickerwerden der Corneafibrillen über das normale Maß und auf das Auftreten einer Polydispersität der fibrillären Strukturen. Beide Faktoren führen zu einer erhöhten Inhomogenität im Aufbau des Gewebes.

MAURICE (1957) hat dagegen eine sog. Gittertheorie der Transparenz der Cornea entwickelt. Es wird dabei angenommen, daß die Fibrillen bei einheitlichem Durchmesser wie in einem Kristallgitter im Stroma der Cornea liegen. Ein Auftreten des Streulichtes soll durch Interferenz verhindert werden. Durch Störungen in der Regelmäßigkeit des Gitters soll es zur Lichtstreuung und damit zur Trübung kommen. Wir sind schon mehrfach kritisch auf diese Hypothese eingegangen (SCHWARZ u. KEYSERLINGK, 1966, 1967). Von besonderem Interesse erscheinen in diesem Zusammenhang die Untersuchungen von GOLDMAN u. BENEDEK (1967). In der Cornea des untersuchten Haifisches nimmt die BOWMAN'sche Schicht 15% der Hornhautdicke ein. Diese Schicht ist aus 27  $\mu$  dicken ungeordneten Kollagenfibrillen aufgebaut. Im benachbarten Stroma sind die Kollagenfibrillen dicker, etwa 31  $\mu$ . Hier liegen sie wie beim Menschen parallel zueinander in Lamellen geordnet. Mit Hilfe der Spaltlampe fanden GOLDMAN u. BENEDEK (1967), daß die BOWMAN'sche Schicht mit untergeordneten aber dünneren Kollagenfibrillen weniger Licht streut, als das Stroma mit dickeren aber wohlgeordneten Kollagenfibrillen. Diese Befunde widersprechen der MAURICE'schen Hypothese und unterstützen unsere 1966 entwickelte Vorstellung, die auch von GOLDMAN u. BENEDEK (1967) geteilt wird. Diese Vorstellung besagt, daß das Stroma bei gleichmäßigerem Aufbau aus sehr dünnen Kollagenfibrillen mit geringem, kaum variierendem Abstand der Fibrillen trotz Verschiedenheit des Brechungsindex von Kollagen und Kittsubstanz transparent ist, weil nur Schwankungen des Brechungsindex in der Größenordnung vergleichbar mit der Lichtwellenlänge zur Lichtstreuung führen. Optische Homogenität ist also nicht bis in den atomaren Bereich erforderlich (SADRON, 1953). In der Sklera und in der Narbe besteht eine größere Inhomogenität im Aufbau von Kollagen und Kittsubstanz. Mit anderen Worten, die Abstände mit schwankendem Brechungsindex sind in der Sklera und in der Narbe größer als in der normalen Cornea. GOLDMAN u. BENEDEK (1967) schließen aus theoretischen Überlegungen, daß der kritische Größenordnungsbereich für die Transparenz bei  $1/2$  der Lichtwellenlänge anzunehmen ist. Wo diese kritische Größenordnung im biologischen Bereich wirklich liegt, kann aber nur durch weitere, insbesondere auch morphologische Untersuchungen erarbeitet werden.

### Literatur

- ASHTON, N.: Corneal Vascularization. In: The transparency of the cornea (ed. by S. DUKE-ELDER and E. S. PERKINS), p. 131—140. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1960.
- CASTROVIEJO, R.: Keratoplastik, bearb. v. F. HOLLWICH, S. 335. Stuttgart: G. Thieme 1968.
- DUNNINGTON, J. H., and G. K. SMELSER: Incorporation of  $S^{35}$  in healing wounds in normal and devitalized corneas. Trans. Amer. ophthal. Soc. **55**, 67—86 (1957).
- — Incorporation of  $S^{35}$  in healing wounds in normal and devitalized corneas. Trans. Amer. Ophthal. **60**, 116—129 (1958).

- FRANCOIS, J., M. RABAHEY et G. VANDERMEERSCHE: L'ultrastructure des tissus oculaires au microscope électronique. II. Etude de la cornée et de la sclérotique. *Ophthalmologica (Basel)* **127**, 74—85 (1954).
- GOLDMAN, J.N., and G.B. BENEDEK: The relationships between morphology and transparency in the nonswelling corneal stroma of the shark. *Invest. Ophthalmol.* **6**, 574—600 (1967).
- HOOF, VAN DEN A.,: Electron microscopy structure of some ophthalmic fibrous structures. *Proc. kon. ned. Akad. Wet.* **55**, 628—633 (1952).
- Electron microscopy structure of some ophthalmic fibrous structures. *Ophthalmologica (Basel)* **129**, 60—61 (1955).
- JAKUS, M.A.: Ocular fine structure. Selected electron micrographs. Boston: Little, Brown & Co. 1964.
- MAUMENE, A.E.: The immune reaction to corneal homografts. In: Transparency of the cornea. (ed. by S.S. DUKE-ELDER and E.S. PERKINS), p. 193—207. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1960.
- MAURICE, D.M.: The structure and transparency of the cornea. *J. Physiol. (Lond.)* **136**, 263—286 (1957).
- OFFRET, G.: The histopathology of the corneal graft. In: Corneal grafts, ed. by B.W. RYCROFT. London: Butterworth & Co. 1955.
- PANFIQUE, L., G.P. SOUDILLE et G. OFFRET: Les greffes de la cornée (Kératoplastie). Paris: Masson & Cie. 1948.
- PATON, R.T.: Keratoplasty. New York: McGraw Hill Book Co. 1955.
- PAYRAU, P., Y. POULIQUEN, J.P. FAURE et G. OFFRET: La transparence de la cornée les mécanismes de ses altérations. Saint-Germain/Paris: Masson & Cie. 1967.
- ROHEN, J.W.: Das Auge und seine Hilfsorgane. In: Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen, Bd. III/IV. Teil, S. 365. Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York: Springer 1964.
- ROUILLER, G., D. DANON et A. RYTER: Application de la microscopie électrique à l'étude de la cornée. *Acta anat. (Basel)* **20**, 39—52 (1954).
- SADRON, G.: Methods of determining the form and dimension of particles in solution. *Progr. Biophys.* **3**, 237—304 (1953).
- SALZER, F.: Über den künstlichen Hornhautersatz. Wiesbaden: Behrmann 1898.
- SCHWARZ, W.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Aufbau der Cornea und Sklera des Menschen. *Anat. Anz.* **99**, 263—265 (1952).
- Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Aufbau der Sklera und der Cornea des Menschen. *Z. Zellforsch.* **38**, 26—49 (1953 a).
- Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Differenzierung der Cornea- und Sklerafibrillen des Menschen. *Z. Zellforsch.* **38**, 78—86 (1953 b).
- SCHWARZ, W., u. D. Graf KEYSERLINGK: Über die Feinstruktur der menschlichen Cornea, mit besonderer Berücksichtigung des Problems der Transparenz. *Z. Zellforsch.* **73**, 540—548 (1966).
- — Studies by electron microscopy of normal and scarred human cornea in relation to transparency and opacity. Vortrag auf d. Internat. Symp. of the Cornea held in Kyoto/Japan 17.—18. 9. 1967 (i. Druck).
- SMELSER, G.K., F.M. POLACK, and OZANICS: Persistence of donor collagen in corneal transplants. *Exp. Eye Res.* **4**, 349—354 (1965).
- WEIBEL, E.R.: Morphometry of the human lung. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1963.
- WEIMAR, V.: Healing processes in the cornea. In: The transparency of the cornea, ed. by S. DUKE-ELDER and E.S. PERKINS. Oxford: Blackwell Sci. Publ. 1960.
- WIEGNER, G., u. H. PALLMANN: Kolloidchemisches Taschenbuch (hrsg. v. A. KUHN), S. 101. Leipzig: Akadem. Verlagsges. Geest & Portig KG 1948.

Dr. W. SCHWARZ  
II. Anatomisches Institut der  
Freien Universität Berlin  
1000 Berlin 33  
Königin Luise-Str. 15