

## Zur Feinstruktur der embryonalen menschlichen Linsenblase\*

KLAUS-G. WULLE und WALTER LERCHE

Universitäts-Augenklinik Hamburg (Direktor: Prof. Dr. H. SAUTTER)  
und Anatomisches Institut der Universität Hamburg  
(Direktor: Prof. Dr. Dr. E. HORSTMANN)

Eingegangen am 10. April 1967

Bei der Betrachtung der Linsenentwicklung beansprucht die Umwandlung der Epithelzellen in die Linsenfasern und die Bildung der Linsenkapsel besonderes Interesse. Zum feineren Studium der Veränderungen in der Zellstruktur und der Kapselentstehung ist das Auflösungsvermögen des Elektronenmikroskopes notwendig. Mit seiner Hilfe ist die Ultrastruktur embryonaler Linsen bereits mehrfach untersucht worden: von COHEN (1958, 1961) am Auge der Maus, von BRINI, PORTE und STOECKEL (1962) und von ASANO (1966) am Hühnchenaugen, von RABAEY und LAGASSE (1965) am Auge des Goldhamsters und von MIKAWA (1965) am menschlichen Auge. Die Untersuchungen MIKAWAs erstrecken sich auf Embryonen zwischen 11 und 150 mm Scheitelsteißlänge (SSL) und betreffen vornehmlich die Tunica vasculosa lentis und die Beziehung der Gefäßbasalmembranen und der Linsenkapsel zueinander.

Wir untersuchten Epithel und Basalmembran der Linsenblase eines menschlichen Embryo von 8 mm SSL, ein Stadium, das deshalb besonders interessant ist, weil in ihm die Epithelzellen der hinteren Blasenhälfte zu den primären Linsenfasern auszuwachsen beginnen. Hierbei konnten erstmals während der menschlichen Linsenentwicklung Cilien als spezielles Strukturelement des Linsenblasenepithels beschrieben und neue Befunde zur Entstehung der Linsenkapsel erhoben werden.

### Material und Methode

Beide Augen eines menschlichen Embryo von 8 mm SSL (Anfang der 6. Woche)<sup>1</sup> wurden unmittelbar nach einer Interruptio in Osmiumtetroxyd (nach DALTON) fixiert. Die nach der Fixierung halbierten Bulbi gelangten orientiert in Vestopal W. Die Ausschnitte für die elektronenmikroskopische Untersuchung sind im Phasenkontrastschnitt (Abb. 1) ersichtlich und stammen aus der vorderen Blasenhälfte

\* Die Untersuchungen wurden in dankenswerter Weise durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft unterstützt.

<sup>1</sup> Embryo Nr. XVIII der Sammlung WULLE.

(*Region A*), dem Äquatorbereich (*Region B*) und dem hinteren Blasenanteil (*Region C*). Die Dünnschnitte wurden mit dem Ultramikrotom der Firma Reichert angefertigt. Ihre Kontrastierung erfolgte mit Bleicitrat (nach REYNOLDS). Elektronenmikroskope: Elmiskope I und II (Siemens) und EM 9 (Zeiss).

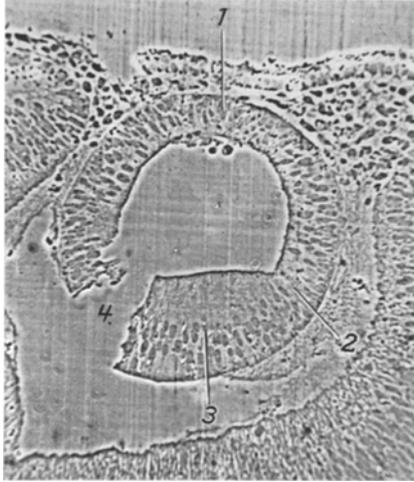


Abb. 1. Linsenblase, menschl. Embryo, Anfang der 6. Woche (8 mm SSL). 1 vorderer Blasenanteil (*Region A*); 2 Äquatorbereich (*Region B*); 3 hinterer Blasenanteil (*Region C*); 4 artifizielle Lücke. Phasenkontrast, Vergr. 180fach

### Befunde

Eine Besonderheit der Zellstruktur des Linsenblasenepithels ist auffallend: das Vorhandensein von *Cilien*, die in die Linsenblasenhöhle hineinragen. Sie sind nicht nur in ihrer ausgereiften Form, sondern auch in allen ihren Vorstufen in den Epithelzellen anzutreffen (Abb. 2). Ihre Entwicklung beginnt mit dem Erscheinen eines Primärbläschens über einer im apikalen Zellanteil gelegenen Zentriole. Anschließend bildet sich die Cilienknospe aus, die sich zum Cilienschaft verlängert. Dieser wird von der Cilienscheide umgeben, die durch konfluierende Sekundärbläschen vergrößert wird. Nach Durchstoßen der apikalen Zellmembran ragt das Cilium schließlich aus der Zelle in die Linsenblasenhöhle hinein. Die Cilien und ihre Entwicklungsstadien gleichen denen, die von SOROKIN (1962) an Fibroblasten und glatten Muskelzellen und von LERCHE und WULLE (1967) in der embryonalen menschlichen Retina beschrieben wurden.

Das *Cytoplasma* der Epithelzellen (Abb. 3 und 4) in der vorderen Hälfte der Linsenblase (*Region A*) hat eine feinfibrilläre, netzartige Grundstruktur, die gleichmäßig verteilt in der ganzen Zelle anzutreffen ist. In diese Grundstruktur sind reichlich freie Ribosomen eingelagert,

die zuweilen rosettenförmig angeordnet und in allen Zellanteilen gleich häufig zu finden sind. Die Zellen enthalten wenig endoplasmatisches Reticulum. Es ist häufiger im apikalen als im basalen Zellbereich anzutreffen und vorwiegend in seiner rauhen (mit Ribosomen besetzten)

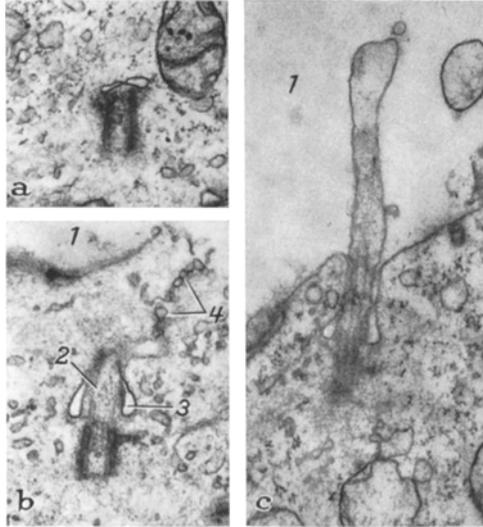


Abb. 2a—c. Cilium mit Vorstadien im Linseblasenepithel, menschl. Embryo, 8 mm SSL. 1 Linseblashöhle; a Zentriole; beginnende Bildung des Primärbläschens aus zwei Einzelbläschen; b Cilienknospe (2), Cilienscheide (3), die durch konfluierende Sekundärbläschen (4) vergrößert wird; c Cilium, das in die Linseblashöhle hineinragt. Elektronenopt., Vergr. 25000fach

Form. Ebenfalls im Zellapex, fast immer in Kernnähe, liegt der Golgi-Apparat. Hier sieht man auch größere Lipoidtropfen. Man findet eine beträchtliche Anzahl von cristaarmen Mitochondrien, die sich zwischen Kern und basaler Zellgrenze häufen. Im basalen Zellanteil befinden sich auch elektronendichte, von einer einfachen Membran umgebene Körper.

In unmittelbarer Nähe des basalen Plasmalemmas zeigt das Cytoplasma an vielen Stellen Verdichtungen (Abb. 4). Dieses Material gleicht in seiner Struktur der *Basalmembran* der Zellen, die dem vorderen Epithel als zarte, einschichtige Lamelle angelagert ist. An einigen Stellen fällt auf, daß sich feine Fibrillen der Basalmembran außen anlegen.

Die *Kerne* des vorderen Epithels (Abb. 3) haben ein gleichmäßig fein granuliertes Caryoplasma und enthalten mehrere Nucleoli, die zwar deutlich sichtbar, aber gegen die übrige Kernsubstanz nicht scharf abgegrenzt sind.

Die Epithelzellen im Äquatorbereich (*Region B*) beginnen, zu den primären Linsenfasern auszuwachsen und haben schlanke apikale Zell-

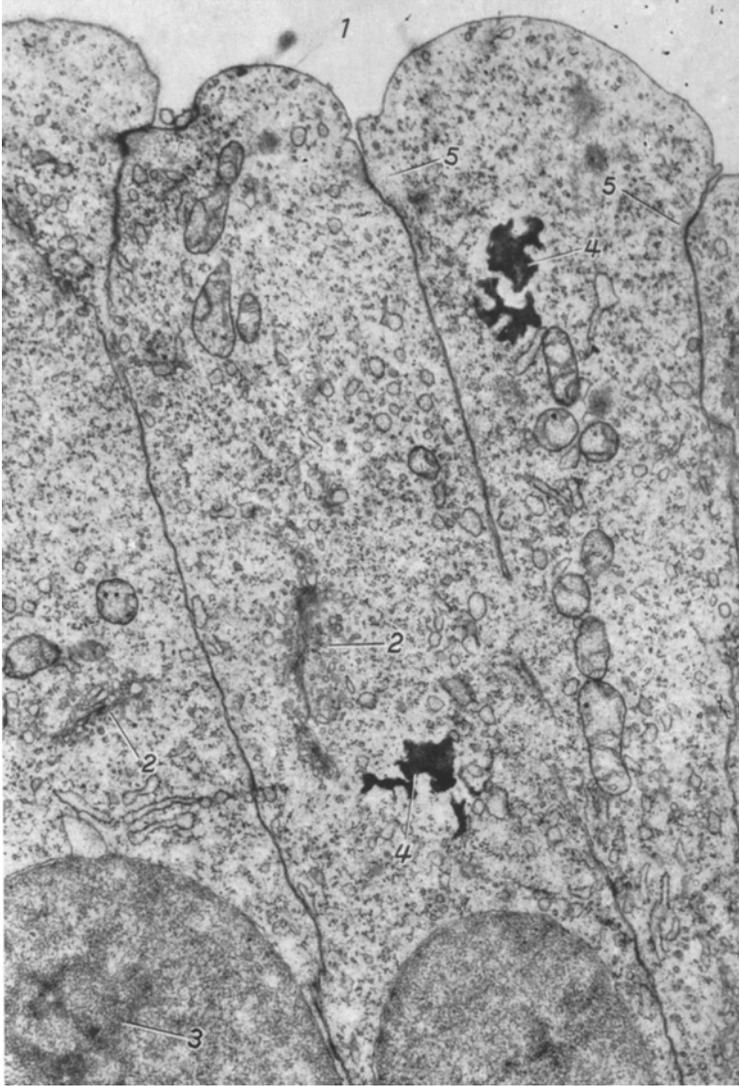


Abb. 3. Apikale Anteile von Epithelzellen der Linse, *Region A* (vgl. Abb. 1). 1 Linseblasehöhle; 2 Golgi-Apparat; 3 Nucleolus; 4 Lipidtropfen; 5 Zonula adherens. Elektronenopt., Vergr. 15000fach

anteile (Abb. 5). Sie weisen einige bezeichnende Änderungen gegenüber den Zellen des vorderen Epithels auf: Die netzartige Grundstruktur des *Cytoplasmas* ist an einzelnen Stellen nicht mehr sichtbar; dort befindet sich ein teils feingranuliertes, teils faserförmiges, mäßig elektronen-

dichtes Material. Man sieht es gehäuft an den Spitzen der Zellen. Doch auch an der Zellbasis ist das Cytoplasma durch Einlagerung dieses Materials dichter geworden. Die freien Ribosomen haben an Zahl abgenommen; man findet besonders im apikalen Zellanteil eine Zunahme des endoplasmatischen Reticulums, sowohl der rauhen als auch der glatten Form, und ausgedehntere Golgi-Komplexe. In den Mitochondrien sind die Cristae zahlreicher und regelmäßiger angeordnet.



Abb. 4. Basale Anteile von Epithelzellen der Linseblase, *Region A* (vgl. Abb. 1).  
 1 Basalmembran; 2 von einer Membran umgebene, elektronendichte Körper;  
 3 Verdichtungen des Cytoplasmas; 4 Zonula adhaerens. Elektronenopt.,  
 Vergr. 30000fach

Die *Basalmembran* des Epithels hat an Dichte zugenommen (Abb. 6). Über längere Strecken ist ihr außen eine zweite Lamelle aufgelagert. Einzelne Fibrillen beginnen, eine dritte Schicht zu bilden. Das intracelluläre, basalmembranartige Material ist dort, wo zwei oder drei Membrananlagen erkennbar sind, besonders reichlich vorhanden. Die *Zellkerne* zeigen bis auf eine leichte Verdichtung ihrer Nucleoli keine Veränderung.

Die hinteren Epithelzellen der Linseblase (*Region C*) haben als erste begonnen, sich in Fasern umzuwandeln. Im apikalen *Cytoplasma* dieser Zellen (Abb. 7) liegt reichlich fibrilläres, mäßig elektronendichtes Material. Freie Ribosomen findet man sowohl hier als auch im basalen Zellbereich kaum. Im Zellzentrum, insbesondere in Kernnähe (Abb. 8), sind sie jedoch noch anzutreffen. Auch das endoplasmatische Reticulum und die Mitochondrien haben an der Zellspitze abgenommen; der Golgi-Apparat ist kleiner geworden.

Die Nucleoli des *Zellkerns* haben sich in ihrer Struktur weiter verdichtet und sind dadurch deutlich gegen das übrige Karyoplasma

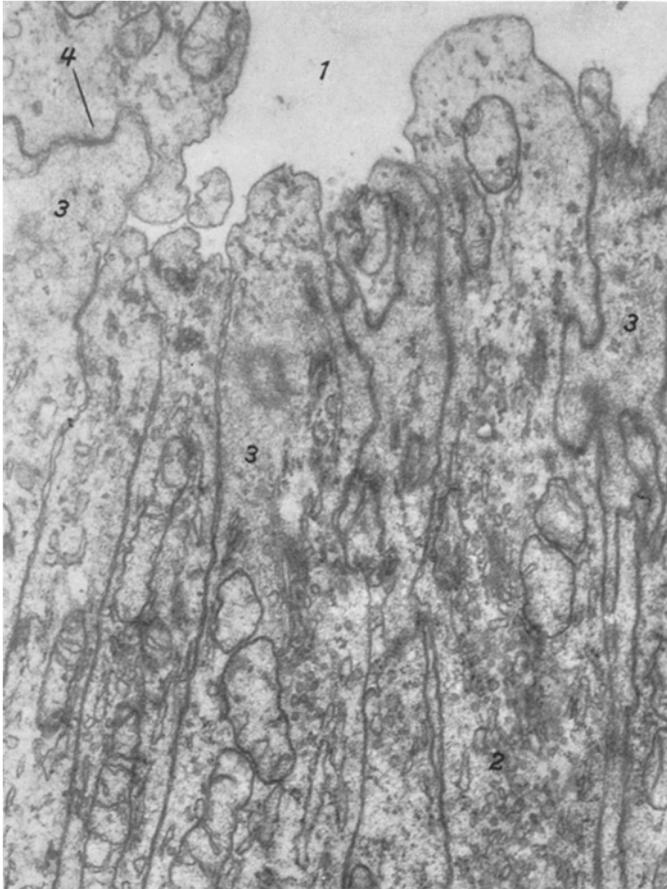


Abb. 5. Apikale Anteile von Epithelzellen der Linse, *Region B* (vgl. Abb. 1).  
 1 Linseblasehöhle; 2 ausgedehnter Golgi-Komplex; 3 mäßig elektronendichtes  
 Material; 4 Zonula adhaerens. Elektronenopt., Vergr. 30000fach

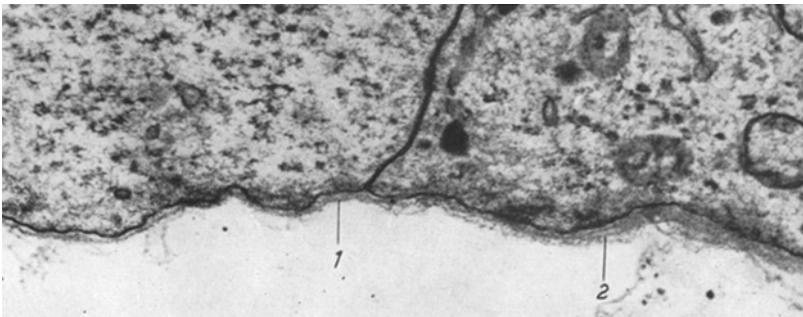


Abb. 6. Basale Anteile von Epithelzellen der Linse, *Region B* (vgl. Abb. 1).  
 1 Basalmembran; 2 der Basalmembran aufgelagerte, unvollständige zweite  
 Lamelle. Elektronenopt., Vergr. 25000fach

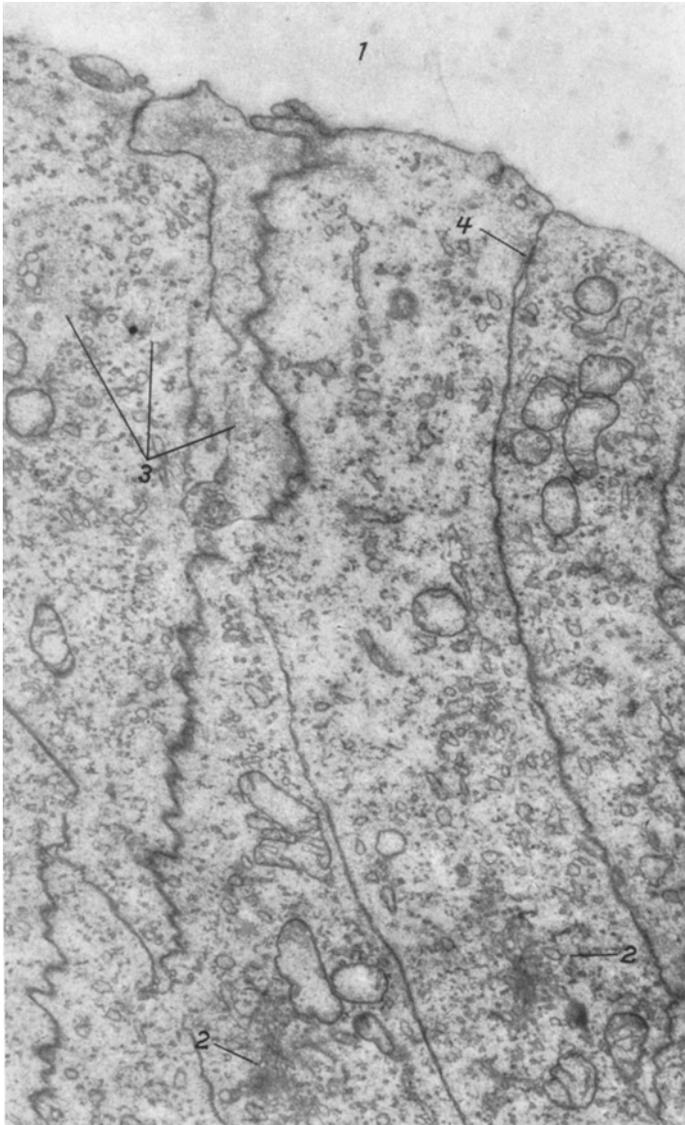


Abb. 7. Apikale Anteile entstehender primärer Linsefasern *Region C* (vgl. Abb. 1).  
1 Linseblasenhöhle; 2 Golgi-Apparat; 3 mäßig elektronendichtes Material;  
4 Zonula adherens. Elektronenopt., Vergr. 17000fach

abgegrenzt (Abb. 8). Die der *Basalmembran* angelagerte zweite Lamelle ist fast lückenlos ausgebildet, über größere Strecken wird bereits eine dritte Membranlage sichtbar (Abb. 9). Damit hat der lamelläre Aufbau der

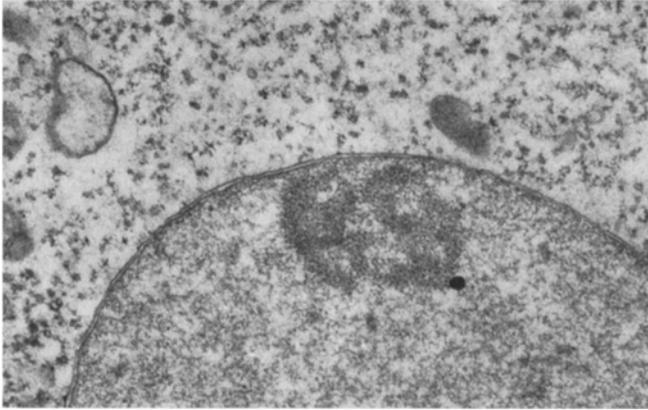


Abb. 8. Kernanschnitt mit ausgeprägtem Nucleolus in einer entstehenden primären Linsenfaser, *Region C* (vgl. Abb. 1). Elektronenopt., Vergr. 30000fach

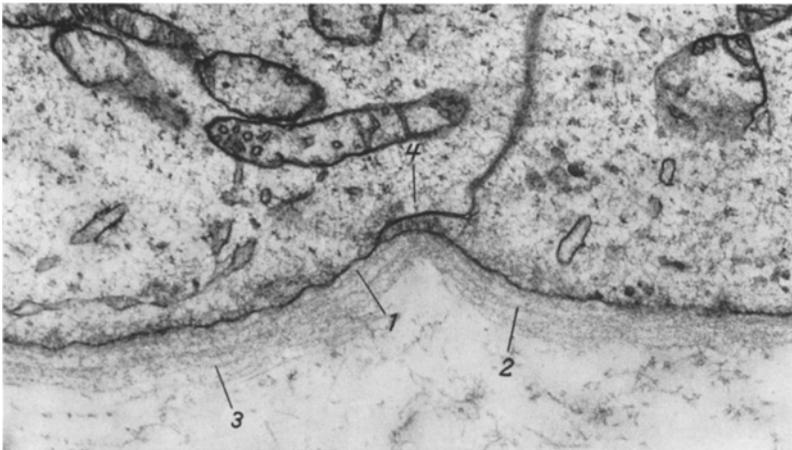


Abb. 9. Basale Anteile entstehender primärer Linsenfaser, *Region C* (vgl. Abb. 1). 1 Basalmembran; 2 vollständige zweite Lamelle; 3 nicht vollständige dritte Lamelle; 4 Zonula adherens. Elektronenopt., Vergr. 34500fach

Linsenkapsel begonnen. Auch hier sieht man entlang des basalen Plasmalemms intracelluläres, basalmembranartiges Material.

In allen drei Regionen weist das Epithel sowohl apikal als auch basal Zellverbindungen in Form von Zonulae adherentes auf.

### Diskussion

Weder beim Tier noch beim Menschen ist bisher in der embryonalen Linsenblase oder in späteren Entwicklungsstadien der Linse das Vorkommen von *Cilien* beschrieben worden. Lediglich HUNT (1961) er-

währte, daß aus den Zellen der Linseplakode des Hühnerembryos Cilien in die Amnionhöhle hineinragen. OVERTON (1965) beschreibt in ihren Untersuchungen der Linsegeneration aus Corneazellen des Frosches ein Stadium, in dem die Zellen Cilien aufweisen; sie deutet sie als Zeichen des geringen Differenzierungsgrades der Zellen.

Für uns war die Parallele zwischen den Cilien im Epithel der ektodermalen Linseblase und den Cilien im neuroektodermalen Augenbecher des Menschen (LERCHE und WULLE, 1967) auffallend.

Sie gleichen sich in ihrer Gestalt und entstehen nach demselben Prinzip. Da Cilien der von uns beschriebenen Art hauptsächlich in Photorezeptoren gefunden werden, schreibt man ihnen im Gegensatz zu den Kinocilien eine sensorische oder Leitungsfunktion zu (BARNES, 1961; FAWCETT, 1961; SOROKIN, 1962).

Die *Umwandlung der Epithelzellen der Linseblase in die primären Linsenfasern* ist durch drei Merkmale besonders gekennzeichnet:

a) die mit der Verringerung der Ribosomen einhergehende leichte Zunahme des endoplasmatischen Reticulums und die Vergrößerung des Golgi-Apparates im Beginn der Faserbildung,

b) die Einlagerung von fibrillärem, mäßig elektronendichtem Material in das Grundplasma der Zellen,

c) die Verdichtung des Nucleolus im Kern der primären Linsenfasern und die Reduktion ihrer Zellorganellen.

RESNIK, WANKO und GAVIN (1960) stellten fest, daß es sich bei dem mäßig elektronendichten Material in den Linsenfasern um die spezifischen Linseneiweiße handelt. Offenbar ist die Bildung dieser Eiweiße nicht von Ribosomen, endoplasmatischem Reticulum und Golgi-Apparat abhängig, da trotz zunehmender Einlagerung der Linseneiweiße die Zellorganellen abnehmen.

Analoges Verhalten ihrer Organellen zeigen die Zellen der embryonalen Hühnerlinse (PORTE, BRINI und STOECKEL, 1962; ASANO, 1966). Beim Hamsterembryo hingegen schreiben RABAËY und LAGASSE (1965) den freien Ribosomen einen Anteil bei der Eiweißsynthese zu, da sie im Gegensatz zu dem verschwindenden endoplasmatischen Reticulum in den wachsenden Fasern noch in Vielzahl anzutreffen seien. Die Verdichtung des Nucleolus in den Kernen der wachsenden Linsenfasern ist in gleicher Weise beim Hühnerchen, beim Goldhamster und beim menschlichen Embryo zu beobachten und wird von ASANO (1966) als Zeichen erhöhter Zellaktivität angesehen.

Beim Studium der Entwicklung der *Linsekapsel* wurde von allen Untersuchern ihr lamellärer Aufbau hervorgehoben (COHEN, 1958, 1961; BRINI, PORTE und STOECKEL, 1962; MIKAWA, 1965). Ihre Dickenzunahme wird von SMELSER (1965) auf das intermittierende Anfügen von Membranlagen zurückgeführt, die in ihrem Material der ursprünglich ein-

schichtigen Basalmembran der Linsenepithelzellen ähnlich oder sogar identisch sind. Ungeklärt ist bisher die Frage, ob das appositionelle Wachstum der Kapsel innen, auf der Epithelseite, oder außen, auf der Mesenchymseite, stattfindet. Lediglich BRINI und Mitarb. (1962) vermuteten auf Grund einiger ihrer Bilder ein Anfügen der Lamellen von außen.

In einer kürzlich erschienenen autoradiographischen Studie über die Entwicklung der Linsenkapsel bei der Ratte ziehen YOUNG und OCM-PAUGH (1966) aus der Tatsache, daß die radioaktiven Isotope in der Kapsel zunächst in Epithelnähe und später weiter außen beobachtet werden, den Schluß, daß die Ablagerung neuen Kapselmaterials an der Epithelseite erfolgen müsse. Ihre Befunde lassen jedoch auch die Deutung zu, daß die markierten Substanzen nach außen wandern.

Bei unseren Untersuchungen konnten wir an einem menschlichen Embryo vom Anfang der 6. Woche in den verschiedenen Regionen der Linsenblase eine unterschiedliche Kapseldicke nachweisen: Die Blase ist an ihrer gesamten Oberfläche von einer Basalmembran umkleidet, die vorn die einzige Kapsellamelle darstellt. Im Äquatorbereich ist der Basalmembran außen eine zweite Lamelle angefügt, die an einzelnen Stellen Lücken aufweist. Am hinteren Pol der Linsenblase besteht bereits eine zweischichtige Kapsel, und eine dritte, noch unvollständige Membranschicht, ist außen angelagert.

Die auf der Mesenchymseite sichtbaren lückenhaften Lamellen können grundsätzlich sowohl zum Aufbau einer Membran dienen, als auch bei ihrem Abbau entstanden sein. Nimmt man an, daß die Kapsel auf der Mesenchymseite abgebaut wird und auf der Epithelseite neue Lamellen hinzugefügt werden, so wäre zu erwarten, daß Anteile dieser Lamellen zwischen Epithel und Basalmembran erscheinen. Dies wurde von uns jedoch nicht beobachtet. Vielmehr liegen Membranteile stets an der Mesenchymseite der bereits vorhandenen Kapsel. Daraus schließen wir, daß das appositionelle Wachstum der Kapsel außen stattfindet. Möglicherweise werden bestimmte Substanzen vom Linsenepithel zum Aufbau der Kapsel geliefert, welche die vorhandenen Membranen durchwandern und sich an der Mesenchymseite zu Kapsellamellen kondensieren.

### Zusammenfassung

Die Linsenblase eines menschlichen Embryo von 8 mm Scheitelsteißlänge (Anfang der 6. Woche) wurde elektronenmikroskopisch untersucht. Die Epithelzellen der Linsenblase bilden Cilien aus, die in ihrer Gestalt und in ihren Entwicklungsstadien den Cilien der embryonalen menschlichen Retina gleichen. Wie diese in die Augenblasenhöhle, so ragen jene in die Linsenblasenhöhle hinein.

Während die Epithelzellen der Linse sich in die primären Linsenfasern umzuwandeln beginnen, ist zunächst eine leichte Zunahme des endoplasmatischen Reticulums und der Golgi-Komplexe, später eine deutliche Verdichtung des Nucleolus und eine Reduktion aller Zellorganellen zu verzeichnen. Mit diesen Veränderungen geht eine intensive Einlagerung von fibrillärem, mäßig elektronendichten Material in die wachsenden primären Fasern einher, bei dem es sich wahrscheinlich um die spezifischen Linseneiweiße handelt.

Die Linsenkapsel besteht bei dem untersuchten Embryo vorne aus der einfachen Basalmembran der Epithelzellen, im Äquatorbereich aus zwei Lamellen, von denen die äußere noch lückenhaft ist, und am hinteren Pol aus zwei vollständigen Membranlagen und einer äußeren Lamelle, die ebenfalls Lücken aufweist. Aus diesen Befunden wird geschlossen, daß das appositionelle Wachstum der Kapsel nicht an der Epithel-, sondern an der Mesenchymseite stattfindet.

### Summary

The lens vesicle of a human embryo with a crown-rump length of 8 mm (beginning of the 6th week) was studied with the electron microscope. The epithelial cells contain cilia which resemble in structure and development those of the embryonic human retina. The cilia in the retina enter the optic vesicle in the same way as the cilia of the lens enter the lens vesicle.

During the early transition of the epithelial cells of the lens vesicle into the primary lens fibers an increase of the endoplasmic reticulum and of the golgi complex is observed. Later the nucleolus becomes more electron dense and the number of cytoplasmic organelles is decreased. At the same time much low density material appears in the growing primary lens fibers, probably corresponding to the specific lens proteins.

In the 8 mm crown-rump length embryo, in the anterior part, the lens capsule consists of a single basement membrane; in the equator, the lens capsule is formed by two lamellae, the outer one showing broad interruptions. In the posterior pole two well developed lamellae are found in addition to a third outer interrupted lamella. These findings suggest that the capsule increases in thickness by deposition of lamellae on the external surface so that the oldest lamellae are closest to the epithelium of the lens and the youngest lamellae are located on the free surface of the capsule.

### Literatur

- ASANO, H.: Electron microscopic study on the developmental changes in the early stage of the chick embryo lens. *Jap. J. Ophthalm.* **10**, 103—114 (1966).  
BARNES, B. G.: Ciliated secretory cells in the pars distalis of the mouse hypophysis. *J. Ultrastruct. Res.* **5**, 453—467 (1961).

- BRINI, A., A. PORTE, et M.-E. STOECKEL: Etude au microscope électronique de quelques problèmes d'embryologie oculaire chez l'embryon de poulet à des stades précoces. *Bull. Soc. franç. Ophthal.* **75**, 192—209 (1962).
- COHEN, A. J.: Electron microscopic observations on the lens of the neonatal albino mouse. *Amer. J. Anat.* **103**, 219—245 (1958).
- Electron microscopic observations of the developing mouse eye. I. Basement membranes during early development and lens formation. *Develop. Biol.* **3**, 297—316 (1961).
- FAWCETT, D. W.: Cilia and flagella. In: *The cell*, vol. II, ed. by J. BRACHET and A. E. MIRSKY. New York and London: Academic Press 1961.
- HUNT, H. H.: A study of the fine structure of the optic vesicle and lens placode of the chick embryo during induction. *Develop. Biol.* **3**, 175—209 (1961).
- LERCHE, W., u. K.-G. WULLE: Über die Genese der Cilien und späteren Rezeptorenaußenglieder im embryonalen menschlichen Augenbecher. *Albrecht v. Graefes Arch. Ophthal.* **172**, 286—292 (1967).
- MIKAWA, T.: Electron microscopic observations on the lens and the tunica vasculosa lentis of human embryo. *Acta Soc. ophthal. jap.* **69**, 1463—1481 (1965).
- OVERTON, J.: Changes in the cell fine structure during lens regeneration in *Xenopus laevis*. *J. Cell Biol.* **24**, 211—222 (1965).
- RABAËY, M., and A. LAGASSE: Electron microscopic observations on the developing lens of the Golden Hamster. Their relation to protein synthesis. In: *Die Struktur des Auges, II. Symp.*, herausgeg. von J. W. ROHEN. Stuttgart: Schattauer 1965.
- RESNIK, R. A., T. WANKO, and M. A. GAVIN: Observations on a cytoplasmic component in lens fibers. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 403—406 (1960).
- SMELSER, G. K.: Embryology and morphology of the lens. *Invest. Ophthal.* **4**, 398—410 (1965).
- SOROKIN, S.: Centrioles and the formation of rudimentary cilia by fibroblasts and smooth muscle cells. *J. Cell Biol.* **15**, 363—377 (1962).
- YOUNG, R. W., and D. E. OCUMPAUGH: Autoradiographic studies on the growth and development of the lens capsule in the rat. *Invest. Ophthal.* **5**, 583—593 (1966).

Dr. K.-G. WULLE und Dr. W. LERCHE  
Universitäts-Augenklinik  
2000 Hamburg 20, Martinistr. 52