

(Aus der Clinica Alemana, Córdoba, Argentinien.)

Hornhautreaktionen bei Implantation ganzer Augen.

Von

Prof. Dr. Paul Busse Grawitz.

Mit 2 Textabbildungen.

Fragestellung.

Wenn man eine Hornhaut in situ ätzt, entzündet sie sich; das Gewebe um die Ätzstelle wird durch typische und atypische Entzündungszellen ersetzt.

Wären diese nun, wie seit *Cohnheim* behauptet wird, chemotaktisch angelockte, eingewanderte Blutzellen, so müßte die Entzündung sich ebenfalls in der Umgebung der Ätzstelle entwickeln, wenn man zentral geätzte Hornhäute subcutan oder intraperitoneal implantiert oder wenn man sie in defibriniertem leukocytenhaltigem Blut kultiviert.

Beides ist aber nicht der Fall. In vitro wandert nicht ein einziger Leukocyt in das Gewebe ein¹, bei der Implantation zeigt eine normale nicht geätzte Hornhaut eine rasche Umwandlung der Hornhautkörper in pseudoeosinophile Leukocyten und das Auftreten embryonaler Kerne und Zellen in der Grundsubstanz^{2, 3, 4}; die letztgenannten entwickeln sich dann ebenfalls zu polynukleären Rundzellen; nach einstündiger Implantation sind nur unreife Elemente, von der zweiten, spätestens dritten Stunde ab, auch reife Rundzellen vorhanden.

Wenn man Hornhäute in toto schädigt, sie etwa in Formalin⁵, Sublimat, Terpentin legt, wässert und dann implantiert, so bewirkt die Implantation zwar auch ein Zu-Zellenwerden der Hornhautkörper, die Grundsubstanz jedoch differenziert sich wohl zu Chromatin und Protoplasma, dagegen ordnen sich diese Elemente nicht immer zu Rundzellen, sondern zu Figuren, die für jedes Gift spezifisch sind. Ich habe 30 verschiedene Reaktionsformen des Hornhautbindegewebes beschrieben⁶.

Werden nun Hornhäute nicht total, sondern nur im Zentrum geschädigt und dann implantiert, so erlebt man im Prinzip dasselbe; denn die chemische Schädigung teilt sich durch Diffusion dem ganzen Hornhautgewebe mit, die Reaktionsform entspricht derjenigen des entsprechenden Ätzgiftes. Im Gegensatz zu der Ätzung in situ ist aber nicht die Umgebung der Ätzstelle besonders zellig infiltriert, sondern das Gewebe in der Nähe des Schnitttrandes. Im Grunde geschieht also das gleiche, was an jeder normalen oder in toto geschädigten Hornhaut zu beobachten ist, wenn man sie implantiert.

Schon diese Versuche beweisen zweierlei: Erstens, daß die „zellige Infiltration“ eine Funktion der örtlichen Gewebeüberernährung ist, und

daß jedenfalls von einem chemotaktischen Anlocken der Rundzellen in Richtung auf die Ätzstelle keine Rede sein kann.

Zweitens, daß tatsächlich das Zu-Zellenwerden, der Abbau des Bindegewebes, proportional der Größe des Ernährungsreizes ist, der am Schnitttrand am stärksten ist; dasselbe konnte ich durch die Implantation großer, kleiner und feinsten Hornhautstreifen in Kollodiumkapseln zeigen⁷: Den Leukocyten war in allen Fällen der Zutritt verwehrt; während nun die großen Stücke keinen, die kleineren sehr schwachen Abbau zeigten, war das Gewebe der feinsten Streifen stellenweise restlos in Zellen, Kerne und Protoplasma verwandelt. Nur die stärkere Ernährung der letzteren, gegeben durch die relativ große Gewebsoberfläche im Verhältnis zu der kleinen Gewebsmasse, können dieses Verhalten erklären.

Die starke Überernährung des Schnitttrandes implantierter Hornhäute bedingt somit zwangsläufig die hier besonders intensiven Gewebereaktionen. Diesen Schnitttrand kann man aber in dem Experiment ausschalten, die Überernährung also vermindern, indem man ganze Augen implantiert.

Was geschieht, wenn man Augen implantiert, deren Hornhäute normal, aseptisch verwundet, chemisch geätzt, mit Röntgenstrahlen geschädigt oder bestrahlt und zugleich geätzt werden? Werden hier zur Ätzstelle Leukocyten angelockt oder, um die widerlegte *Cohnheimsche* Theorie beiseite zu lassen, *bewirkt ein örtlicher Gewebereiz als solcher, unter den Bedingungen einer allgemeinen Überernährung des Gewebes, eine besonders intensive Reaktion desselben an der Ätzstelle oder in deren Umgebung?*

Die Anwendung von Röntgenstrahlen geschah deshalb, weil diese einzig und allein⁹, außer hohen Hitzegraden⁸, das Gewebe wirksam schädigen. Als ich Kaninchen- und Schweinehornhäute mit 900 und 10000 R bestrahlte und die Gewebe dann 48 Stunden implantierte, fand ich folgendes Ergebnis: Chromatinschwund oder extreme Chromatinarmut im vorderen Epithel, wenig typische und viele atypische Rundzellen und kleinere Elemente im Gewebe, kleine tote (gelbe) derartige Elemente, geringe Reaktion der Grundsubstanz, deren Fasern oft eine matte Chromatinfärbung annahmen. Die Röntgenstrahlen hatten sich also für die Lähmung der Gewebereaktionen wirksam wie kein anderes Agens erwiesen.

Versuchsordnung.

4 Kaninchen wurden getötet, ihre Augen am Stiel abgebunden und exstirpiert; sie erhielten paarweise die Nummern: 1, 2; 3, 4; 5, 6 und 7, 8.

Auge 1 wurde ungeschädigt implantiert; bei Auge 2 wurde im Zentrum der Hornhaut eine Quaddel mit Terpentin angelegt; Auge 3 wurde 30 Stunden in 10%igem Formalin fixiert; Auge 4 wurde im Hornhautzentrum mit einer sterilen Rasierklinge ein tangentialer Einschnitt gemacht; die Augen 5 und 6 wurden zentral mit Höllenstein geätzt, Auge 6 außerdem mit 2000 R (1 mm Cu-Filter) bestrahlt. Die Augen 7 und 8

endlich wurden auch mit 2000 R besendet, Auge 7 wurde dann ohne weitere Schädigung implantiert, während Auge 8 noch eine Terpentinquaddel wie Auge 2 erhielt.

Die Augen Nr. 1, 2, 7, 8 wurden je einem Kaninchen intraperitoneal implantiert, die Tiere nach 48 Stunden getötet und die mit der Darmschlinge fast verwachsenen Augen entnommen. Augen 3, 4, 5, 6 wurden 48 Stunden subcutan in andere Kaninchen implantiert.

Den implantierten Augen wurden dann die Hornhäute entnommen, fixiert, sagittal geschnitten und gefärbt. Der Schnitt in Hornhaut 4 wurde so gelegt, daß er die tangentialen Hornhautinzisionen senkrecht traf.

Befunde.

Auge 1, ungeschädigt, intraperitoneal implantiert. Das vordere Epithel hat sich beim Herausnehmen des Auges teilweise abgelöst (s. a. Abb. 1); wo es erhalten

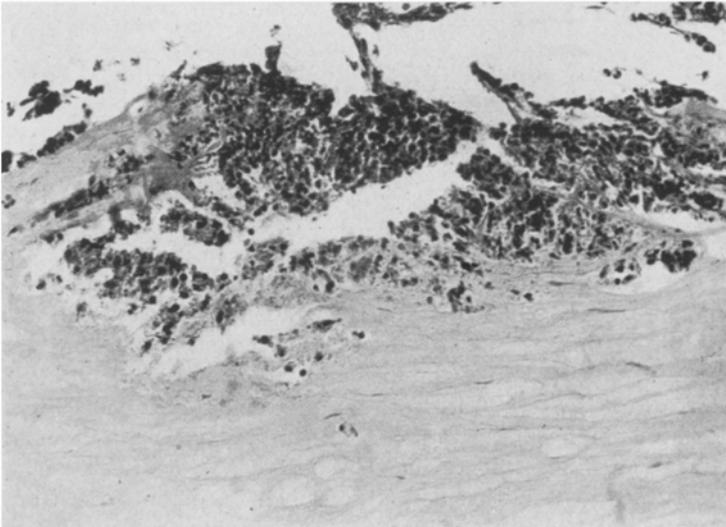


Abb. 1. Ungeschädigt implantiertes Auge, aseptische Hornhautwunde. Die ernährende Lymphe des Wirtstieres hatte durch die Incision Zutritt zum Hornhautgewebe, das in dieser überernährten Zone total in Protoplasma und Kerne verwandelt wurde; unten sieht man das nicht genügend ernährte Gewebe, in dem deshalb auch keine nennenswerte Reaktion erfolgt ist.

blieb, erkennt man, daß die großen Epithelkerne zerbröckelt sind und daß diese kleinen Kerne in einem intensiv roten Protoplasma liegen. Beide Elemente lassen oft deutlich den ehemaligen Epithelkern erkennen, besonders, wenn die Zerklüftung noch nicht ganz erfolgt ist; dann sieht man den ehemaligen Epithelkern als Blase, die immer Protoplasma enthält und deren breiter Chromatinrand Verdickungen zeigt, die späteren Kerne. Außer diesen, ihrer Herkunft nach noch erkennbaren Elementen, findet man in gemeinsamem Protoplasma kleine und kleinste Kernbröckel.

Im Bindegewebe ist eine verhältnismäßig schwache Reaktion zu bemerken; sie ist am stärksten in der Nähe der Sklera und unterhalb des vorderen Epithels. Dort sehen wir mit der Ölimmersion Abbauzonen, wo das Gewebe protoplasmatisch geworden ist und in diesem gemeinsamen Protoplasma liegen regellos kleine, mittelgroße und über-rundzellengroße Chromatingebilde, die aber nicht ausschließlich aus basophiler Substanz bestehen, sondern — deutlich erkennbar, aber undeutlich abgesetzt — auch dunkelrotes Protoplasma enthalten. Man findet auch mattgefärbte Kerne oder vereinzelt liegende protoplasmatische Gebilde mit staubförmigem Chromatin; oder kleine Chromatinbröckel ohne Protoplasma; oder unter-rundzellengroße Elemente aus Protoplasma mit basophilem Rand. *Es fehlen in dieser Hornhaut leukocitoide Zellen vollkommen.* Im hinteren Abschnitt sieht man — vor allem in der Hornhautmitte — nur gewelltes Bindegewebe und die beschriebenen einzelnen Elemente, handartig und kaum gefärbt.

Auge 2, vor der intraperitonealen Implantation wurde in der Mitte der Hornhaut eine Terpentinquaddel angelegt. Das Epithel zeigt, wo erhalten, Kernzerfall, ähnlich dem beschriebenen. *Im Bindegewebe ist an der Ätzstelle und in deren Umgebung überhaupt keine zellige Reaktion vorhanden.* Dann (näher der Sklera zu und im vorderen Hornhautabschnitt) stößt man in dem Faserwerk auf einzelne protoplasmatische Flecke mit Chromatinstaub, oder auf isolierte, nackte, intensiv gefärbte Kerne oder blasige, ovale, basophile Gebilde dieser Art, immer nur sehr spärlich im Gewebe. Erst in der Nähe der Sklera trifft man auf mehrere birnförmige oder ovale Chromatinblasen mit Protoplasma im Innern, vor allem im vorderen Abschnitt der Hornhaut, während in der hinteren Hälfte gleiche Figuren nur schattenhaft und schlecht gefärbt anzutreffen sind. Hier trifft man auch auf einen Bezirk, wo die Fäserchen zahlreiche Kokken- und bacillengroße Einschlüsse enthalten, wie ich das ausnahmsweise (aber viel dichter) in einer hitzegeschädigten implantierten Hornhaut gesehen und beschrieben habe².

Auge 3, 30 Stunden in 10%igem Formalin fixiert, subcutan implantiert. Die Kerne des vorderen Epithels zeigen sich als dunkelrotes Protoplasma, teils mit staubförmigem, teils mit zerklüftetem (kleine Kerne) oder randständigem Chromatin mit Verdickungen. Das Bindegewebe zeigt entweder keine Reaktion der Hornhautkörper, oder dieselben haben sich stark verbreitert und zeigen einen breiten Protoplasmaleib; dies ist besonders der Fall in der Nähe der Sklera; dann liegt die basophile Substanz staubförmig in bizarren Figuren im Innern oder umrandet sie streifenförmig oder deutet Kerne an. Am häufigsten ist das Chromatin aber strichförmig an einem Rand gelegen. Die Grundsubstanz zeigt keine Reaktion. Insbesondere fehlen die runden Chromatinkügelchen in den Fasern, die bei formolfixierten implantierten Hornhäuten so charakteristisch sind^{5, 6}.

Auge 4, nach Anlegung einer aseptischen Schnittwunde subcutan implantiert. Im vorderen Epithel sind Kernveränderungen von beschriebenem Charakter mit zahlreichen amitotischen Abschnürungen zu bemerken. Starker Abbau des Bindegewebes nahe der Sklera, vor allem in dem vorderen Hornhautabschnitt. Während diese Bindegewebsreaktion nach der Hornhautmitte hin abnimmt und schließlich fast ganz aufhört, ist die Umgebung der Schnittwunde wieder total abgebaut (Abb. 1). *Das Bindegewebe zeigt hier eine protoplasmatische Masse ohne Grenzen,* in der, dicht gelagert, verhältnismäßig große Kerne zu sehen sind. Nirgends besteht hufeisenförmige oder Rundzellenanordnung. Die Kerne sind intensiv gefärbt, vorwiegend rund, aber auch oval, und zeigen leichten Blasencharakter. Es kommen auch vereinzelte Zonen ohne Kerne vor, keine matt gefärbten Kerne und verhältnismäßig wenige Elemente bis herab zu Rundzellengröße. Etwas entfernt von der Wunde sind Gewebeflecke oder -streifen abgebaut zu schmutzigem Protoplasma, dessen Grundfarbe sich wenig von der Grundsubstanz unterscheidet, aber durch fein verteilten Chromatinstaub und schlecht kondensierte Kerne grünlich erscheint.

Weiter nach der Hinterseite der Hornhaut zu sieht man nur einzelne, schwach basophile Fasern und hin und wieder einen intensiv gefärbten Kern ohne Protoplasma oder ein größeres schmutziges Gebilde, Protoplasma und Chromatinstaub, oder einen undeutlichen Kern oder matt gefärbte verbreiterte Spindeln, die noch als ehemalige Hornhautkörper auszumachen sind und in denen sich das Protoplasma kaum gefärbt hat und das Chromatin einen hauchartigen Schleier bildet. Andernorts sind Elemente wie atypische Rundzellen zu sehen, z. B. kaum gefärbtes Protoplasma und ein großes Hufeisen aus Chromatinstaub oder ein einziger Kern aus Chromatin. Weiter nach der Sklera zu folgt an der Vorderseite eine verhältnismäßig schwache Abbauzone, wo in schlecht gefärbtem Protoplasma intensiv gefärbte

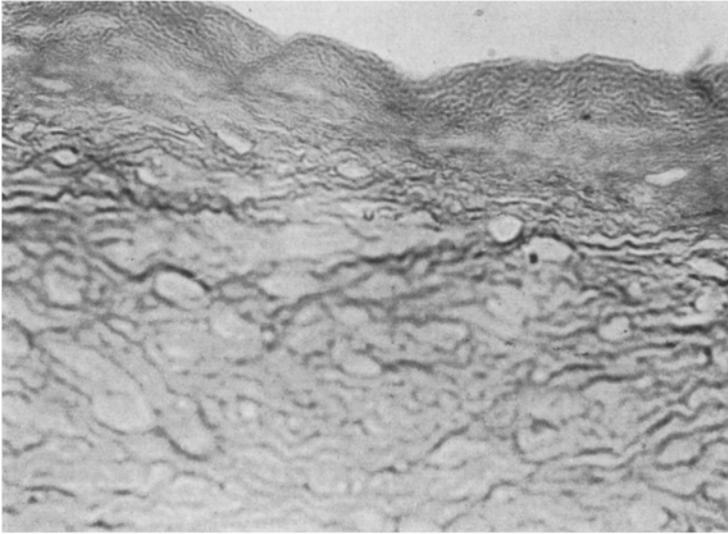


Abb. 2. Röntgengeschädigtes, implantiertes Auge, Hornhautmitte vor der Implantation mit Höllenstein geätzt. Das aktinisch gelähmte, chemisch geschädigte (und im Hornhautzentrum ungenügend ernährte) Gewebe ist unfähig zu jeder Reaktion. Die Ätzung hat auch keine Leukoeyten des Wirtstieres angelockt. Genau das gleiche Bild zeigt ein anderes, röntgengeschädigt implantiertes Auge mit Terpentinquaddel, während ein lediglich röntgengeschädigt implantiertes Auge noch abortive Zellformen hervorbringt.

Kerne und Kernbröckel sowie matt gefärbte Kerne liegen. Auch hier wird Rundzellenanordnung der Kerne durchweg vermißt. Dagegen finden sich Streifen von matt gefärbtem Chromatin zwischen den Kernen.

In der Nähe der Sklera finden wir Zonen starken Abbaues, wo in schlecht differenziertem Protoplasma, oft Protoplasmaschläuchen, runde und birnförmige Kerne hintereinanderliegen. Im allgemeinen überwiegen die großen Formen, nirgends besteht Rundzellenanordnung. Wo an den Grenzen dieser starken Reaktionszonen, mehr nach innen zu, der Abbau spärlicher wird, trifft man auf zellgroße Punkte oder nackte Kerne oder Chromatinkondensationen, die sich staubförmig auf dem Grunde eines dunkelroten Protoplasmas lagern; oder man erkennt staubförmiges Chromatin in schwach gefärbtem Protoplasma.

Auge 5, mit Höllenstein zentral geätzte Hornhaut, subcutane Implantation. Kernveränderungen im Epithel vom beschriebenen Typ. Das Bindegewebe zeigt einen verhältnismäßig starken Abbau, vor allem in der Nähe der Sklera und bemerkenswerterweise in den mittleren und hinteren Abschnitten, nach dem Zentrum zu,

abnehmend. Mit der Immersion erkennt man kurze ovale Abbaustrecken in stark blasenförmigen Kernen. Einige Male trifft man atypische polynukleäre Rundzellen mit randständigen, blasigen oder vielen kleinen Kernen. Im Inneren des Gewebes sind stellenweise ganze Bezirke zu solchen Rundzellen und kleineren Gebilden angeordnet. Man sieht nackte runde Kerne aller Größen, die großen mit Protoplasma im Innern. Das Protoplasma ist im allgemeinen schlecht differenziert, besonders bei den kleineren Elementen.

Auge 6, röntgenbestrahlte, mit Höllenstein zentral geätzte Hornhaut, subcutane Implantation. Das vordere Epithel läßt in der Mitte überhaupt kein Chromatin erkennen, an der Peripherie sieht man einige schlecht gefärbte Bröckel oder basophile Fasern oder längliche, schmale oder runde Chromatinfiguren ohne Protoplasma. Dies erscheint erst in unmittelbarer Skleranähe. Im Bindegewebe sieht man nirgends Zellen oder Kerne (Abb. 2), nur wellige Fasern, von denen einzelne matt den basophilen Farbstoff angenommen haben, sehr selten einen matten, verbreiterten Hornhautkörper. In der Nähe der Sklera besteht stärkere Reaktion, vor allem am vorderen Rand. Dort trifft man auf zahlreiche runde, nackte, mittelgroße Chromatin-elemente, größere Kerne als Blasenring oder Kerngruppen ohne deutliches Protoplasma. Erst ganz in der Nähe der Sklera überwiegen die größeren Formen und es erscheinen deutlicheres Protoplasma und einzelne atypische Rundzellen, teilweise mit staubförmigem Chromatin, bevorzugt am Rande liegend, teils mit randständigem Chromatin und randständigen Kernen.

Auge 7, röntgenbestrahlt, intraperitoneal implantiert. Das vordere Epithel zeigt einzelne spärliche Kerne als kleine Chromatinblasen, in deren Innerem Protoplasma schimmert, 99% des Chromatins ist aber verschwunden. Im Bindegewebe trifft man ähnliche atypische Figuren, deren Größe stets unterhalb jener der Rundzellen bleibt; sie zeigen einen basophilen Rand und Protoplasma im Innern; nahe der Sklera trifft man sie etwas häufiger.

Auge 8, röntgenbestrahlt, vor der intraperitonealen Implantation wurde in der Mitte der Hornhaut eine Terpentinquaddel angelegt. Das vordere Epithel zeigt überhaupt kein Chromatin. Im Bindegewebe erkennt man nur sehr spärliche matte Figuren, die wie verbreiterte Hornhautkörper aussehen. Diese Figuren werden nach der Hornhautmitte zu spärlicher. Gut gefärbte Elemente wie im vorigen Präparat sind nicht vorhanden.

Ergebnisse und Zusammenfassung.

1. Wenn ganze Augen implantiert werden, so ist die Ernährung der Hornhaut durch die Lymphe des Wirtstieres eine ungleich schlechtere, als wenn man losgetrennte Hornhäute implantiert. Die Hornhautmitte und der hintere Abschnitt der Cornea sind besonders schlecht ernährt. Die Nährflüssigkeit diffundiert durch das vordere Hautepithel so gut wie überhaupt nicht, sondern infiltriert sich von der Sklera her, vor allem entlang der Vorderseite. In diesen Gebieten findet deshalb auch jeweils der stärkste Gewebeabbau statt.

2. Wird die Hornhaut am ganzen Auge vor der Implantation im Zentrum geätzt, so ruft diese Ätzung durchaus keine stärkere Reaktion in der Umgebung des Ätzbezirkes hervor, wie man das erlebt, wenn Hornhäute lebender Kaninchen in situ zentral geätzt werden. Die Reaktion der geätzten implantierten Hornhaut ist sogar geringer als die der nicht geätzten, und die gebildeten Zellen und Kerne tragen einen abortiven Charakter.

3. Wird das Hornhautgewebe durch Röntgenstrahlen gelähmt, so findet bei der Implantation ganzer Augen nur eine sehr spärliche Gewebereaktion statt, die keine Rundzellen liefert.

4. Wird eine röntgenbestrahlte Hornhaut außerdem noch im Zentrum geätzt, so tritt überhaupt keine Reaktion mehr auf. Das chemisch geschädigte Gewebe übt auch keinen chemotaktischen Reiz auf Leukocyten oder sonstige Wanderzellen aus. *Damit dürfte die Cohnheimsche Theorie wohl auch in dieser Hinsicht eindeutig experimentell widerlegt sein.*

5. Die vorderen Epithelzellen der Hornhaut zeigen Kernfragmentation und wandeln sich in leukocytoide Zellen um; dieser Vorgang wurde von Grawitz¹⁰ als Epitheleiterung beschrieben, von Kast¹¹ an den Epithelzellen der Urethra bei Gonorrhöe beobachtet und auch von mir bei der experimentellen Dermatitis beschrieben¹². *An röntgengeschädigtem Gewebe treten diese Bilder nicht auf. Die Hypothese von der Einwanderung von Leukocyten in Epithelzellen wird daher ebenfalls eindeutig widerlegt.*

6. Die Formalinschädigung, welche an der allein implantierten Hornhaut⁵ die Umwandlung der Hornhautkörper in Rundzellen um das doppelte verzögert und den Abbau der Grundsubstanz nahezu völlig verhindert, bewirkt — in Anbetracht der hier vorliegenden schlechten Ernährung —, daß überhaupt keine Rundzellen in der Hornhaut des implantierten Auges gebildet werden.

7. Der mangelhafte Saftaustausch bei der vorliegenden Versuchsanordnung hat zur Folge, daß nur selten einigermaßen typische und niemals normale leukocytäre Rundzellen im Bindegewebe der Hornhaut gebildet werden.

8. Die Gewebereaktionen waren bei subcutaner Implantation besser als bei intraperitonealer.

Schrifttum.

- ¹ Busse Grawitz, Paul: Arch. exper. Zellforsch. **24**, H. 2. — ² Busse Grawitz, Paul: Graefes Arch. **141**, H. 1 (1939). — ³ Busse Grawitz, Paul: Z. exper. Med. **108**, H. 2 (1940). — ⁴ Busse Grawitz, Paul: Zbl. Path. **74**. — ⁵ Busse Grawitz, Paul: Graefes Arch. **142**, H. 2. — ⁶ Busse-Grawitz, Paul: Beitr. path. Anat. **104**, H. 3 (1940). — ⁷ Busse Grawitz, Paul: Beitr. path. Anat. **105**, H. 1. — ⁸ Busse Grawitz, Paul: Eingereicht in Z. exper. Med. — ⁹ Busse Grawitz, Paul: Virchows Arch. **306**, H. 3. — ¹⁰ Grawitz, Paul: Arch. klin. Chir. **136**, H. 4. — ¹¹ Kast, Hans: Dtsch. Z. Chir. **252**, H. 7/8 (1939). — ¹² Busse Grawitz, Paul: Eingereicht in Virchows Arch.