

(Aus der Universitäts-Augenklinik Leipzig [Direktor: Geheimrat Prof. Dr. Hertel].)

Zum Problem der Hornhautregeneration.

Von

Prof. Dr. Wolfrum und Dr. Boehmig,

Assistenten der Klinik.

Mit 7 Textabbildungen.

Obwohl man seit den grundlegenden Arbeiten, zu denen vornehmlich die von Flemming, Spuler, Ziegler und Marchand zu zählen sind, allgemein zu der Ansicht gekommen war, daß bei der Gewebsbildung Epithel aus Epithel und Bindegewebe sich aus Bindegewebe bilde und damit die Untersuchungen darüber sowohl was Bildung von Gewebe wie Regeneration anlangt zu einem gewissen Abschluß gelangt waren, so sind doch in neuerer Zeit wieder Meinungen aufgetaucht, die diesen Ansichten allgemeine Bedeutung abzusprechen geneigt sind. So haben Retterer und Salzer in der letzten Zeit auf dem Gebiete der Regeneration Untersuchungen angestellt und als Objekt dafür die Hornhaut gewählt, die sich ja als gefäßloses Organ und von einfachem gleichmäßigen Bau als besonders geeignet dafür erwiesen hat. Sie kommen zu dem Schluß, daß wenigstens ein Teil der Narbenbildung bei der Regeneration der Hornhaut dem Epithel zuzuschreiben sei. Ihre Angaben werden weiter unten noch eingehender besprochen werden, da wir es uns zur Aufgabe gemacht haben, die Regeneration der Hornhaut an einem anderen Versuchstier, dem Meerschweinchen, soweit es bei dem heutzutage beschränkten Material möglich war, einer Prüfung zu unterziehen. Allerdings hat es nicht an Stimmen gefehlt, die sich nach Retterer und Salzer zur Sache geäußert haben. Wir erinnern nur an die letzterschienene Publikation von Hanke, der einen gegenteiligen Standpunkt, wie diese beiden Autoren, vertritt. Um so wichtiger und brennender erscheint uns die Frage, denn es handelt sich dabei nicht nur um das Regenerationsproblem, sondern es wird damit unseres Erachtens auch die Keimblatttheorie zur Diskussion gestellt, nämlich die Frage, ob ontogenetisch differenziertes Gewebe, sei es Ektoderm oder Mesoderm, bei höherstehenden Tierklassen noch so allgemeine Funktionen aufweist, daß die eine für die andere Gewebsart einzutreten vermag. Wir nehmen eben damit Bezug auf das, was Retterer und Salzer sagen, daß nämlich Epithelzellen sich in Bindegewebszellen

umzuwandeln und Bindegewebssubstanzen zu produzieren vermögen. Es ist ja wohl sicher, daß heutzutage die Keimblatttheorie in ihrem starren, dogmatischen Charakter nicht als solche aufgefaßt werden darf, wie es ja auch die Entwicklung des Auges selbst zeigt, wo sich aus dem Epithel die Irismuskulatur entwickelt. Auch beim Glaskörper scheinen die Verhältnisse ähnlich wenn auch komplizierter zu liegen. Die Frage allerdings, wie sich der fertige Organismus bei der Regeneration verhält, ist ein Kapitel für sich und deswegen erscheint es wünschenswert, daß durch möglichst viele Nachuntersuchungen insbesondere die Angaben von Retterer und Salzer nachgeprüft werden.

Ehe wir nun zur Beschreibung der Art der Versuchsanordnung, der mikroskopischen Technik und der einzelnen Befunde übergehen, sei kurz auf die bisher erschienene Literatur hingewiesen. Was besonders die ältere Literatur anbelangt, so konnte Donders (1848) schon feststellen, daß die Regeneration ohne eine Spur von Entzündung vor sich geht, und daß die dem Epithel zunächst liegende Hornhautschicht die zuletzt entstandene sei. Reich (1873) sah bereits unter der Epithellage Zellen auftreten, die allmählich in eine längsgestreckte Form übergangen. Abgesehen von der wenig haltbaren Ansicht Güterbooks (1870), daß das Epithel durch das Messer in den Schnitt hineingedrängt werde, findet er in seinen Schnitten unter dem Epithel oft zahlreiche „spindelige oder oblonge“ Elemente auftreten, deren „Ursprung zwar noch dunkel“ ist, die aber von den fixen Hornhautkörperchen ihren Ursprung zu nehmen scheinen. Ähnlicher Ansicht ist auch Gussenbauer (1871), der kurze Zeit nach der Verletzung rundliche Zellen in der Zwischensubstanz gefunden hat, die später in Spindelform übergehen, während Rusticky (1870) die Entstehung dieser Zellen zwar wie Gussenbauer von Wanderzellen aber auch von Leukocyten herleitet. Ganz entgegengesetzter Meinung ist von Wyss (1877), der dem Hornhautgewebe jede Ein- und Mitwirkung auf den Regenerationsprozeß abstreitet und lediglich dem Epithel die Hauptrolle zuschreibt. Soviel von der älteren Literatur. Eine ganz andere Auffassung und Beurteilung erhielt die Frage der Regeneration des Hornhautgewebes durch die Arbeiten Flemmings (1878—1880). Auf Grund dieser Arbeiten teilten sich die Ansichten der Forscher, insbesondere was das Epithel anbelangt, in mehrere Lager. Während die einen Vossius (1881), Neese (1887) Atsuihgo Masuki (1901) der Karyokinese beim Hineinwuchern des Epithels in den Schnittbereich den Hauptanteil beimessen, sind andere, Nussbaum (1885), Peters (1885), Barfurth (1891) u. a. der Meinung, daß die Karyokinese bei diesem Vorgang in den Hintergrund trete, und daß die Epithelzellen sich selbst dabei bewegen oder bewegt würden. Marchand (1901) lehnt ebenfalls die Karyokinese bei dem Prozeß ab, da er keine Mitosen finden konnte, glaubt aber, daß die Neubildung

des Epithels durch direkte Kernteilung vor sich ginge. Eine ganz eigenartige Ansicht über den Heilungsvorgang verfiel Ranvier (1898), der ebenfalls keine karyokinetischen Bilder in seinen Schichten beobachtete und jedwede Zellvermehrung in Abrede stellte. Er unterscheidet bei überflächlichen Wunden eine „wahre unmittelbare Vereinigung“ durch Protoplasmaausläufer der Hornhautzellen ohne Beteiligung des Epithels und bei perforierenden Defekten eine Vereinigung der Wundränder durch sogenannte dem Fibrin entstammende „Fibres synaptiques“, denen sich später die Protoplasmaausläufer der Hornhautzellen zugesellen. Woher aber stammen nun die spindelförmigen Zellen unter dem Deckepithel, die bereits die älteren Autoren fast ausnahmsweise gefunden haben? Stammen sie vom Epithel, von den Hornhautkörperchen, von anderen Zellen her, welche Rolle spielen sie beim Aufbau der neuen Grundsubstanz? Einen anderen, wesentlichen Fortschritt, besonders in der letzten Frage, bedeuten die späteren Arbeiten von Flemming (1891) und Spuler (1901), die übereinstimmend den Beweis führen, daß sich die Bindegewebsfibrillen aus dem Ektoplasma der Zellen bei der Ontogenese entwickeln. Dieser Befund ist nicht nur für normale entwicklungsgeschichtliche Verhältnisse, sondern auch von pathologischer Seite, vor allem durch die Arbeiten von Ziegler bei der Regeneration der Bindegewebssubstanzen akzeptiert worden, so daß man heutzutage keinerlei Zweifel darüber hegt, daß sich die Fibrillen, sei es kollagener, sei es elastischer Natur an den Längsseiten der Zellen, im äußersten Teile des Protoplasmas, abspalten. So ist auch die ganze Entwicklung der Hornhaut aufzufassen. Man kann nirgends bei der Entwicklung der Hornhaut nachweisen, daß etwa das Epithel an der Bildung der Hornhautgrundsubstanzen beteiligt ist, wie u. a. es von dem einen (Wolfrum 1902) von uns bereits in einer früheren Arbeit beschrieben ist. Wenn auch die normale Entwicklung keineswegs maßgebend ist für das Geschehen pathologischer Prozesse, so würde es zum mindesten ungemein auffällig sein, wenn derartige weitgehende Unterschiede sich bei der Entwicklung der Hornhaut und bei der Regeneration derselben nachweisen ließen.

Seit von Wyss ist die Frage der Herkunft der subepithelial gelegenen Zellen immer erneut aufgeworfen worden. Marchand hat bereits bei 4 Tage alten Hornhautwunden Proliferationsvorgänge von seiten der Hornhautkörperchen beobachtet, hat sich aber noch nicht näher darüber ausgesprochen, ob die später auftretenden Spindelzellen von den Hornhautkörperchen herzuleiten sind. Weinstein bringt (1903) die Ansicht, daß „die Regeneration der Cornea propria ausschließlich durch aktive Vermehrung ihrer eigenen Elemente“ erfolgt, da er deutliche Mitosen im Hornhautgewebe, wenn auch in geringer Zahl, feststellen konnte. Ebenso ergeben Germanis (1906) Versuche, daß die Rege-

neration des Bindegewebes durch indirekte Kernteilung der der Wunde benachbarten Bindegewebszellen und durch Umwandlung des Protoplasmas der neuen Zellen vor sich gehe. Einen ganz entgegengesetzten Standpunkt vertritt, wie wir schon erwähnten, Retterer (1903), der das neugebildete, subepitheliale Gewebe in der Hauptsache aus dem in den Wundkanal hineingewucherten Epithelzapfen entstehen läßt. In neuerer Zeit hat insbesondere Salzer, wie schon eingangs erwähnt, nach eingehenden Untersuchungen eine ähnliche Ansicht geäußert, nämlich, daß die fixen Hornhautkörperchen beim Regenerationsprozeß nicht in Frage kämen, da „aktive Erscheinungen an den fixen Hornhautzellen nicht nachzuweisen waren“. Im Gegenteil gewinnt er den Eindruck, „daß sie äußerst hilflose Gebilde sind“, da sie sonst nicht „in solch ausgedehntem Maße zugrunde“ gehen würden und erklärt, daß eine Abstammung der subepithelialen Zellansammlung aus dem Epithel zu mindestens nicht angezweifelt werden könne. Bonnefon - Lacoste (1912—1913) sind mit Salzer zwar der Meinung, daß die fixen Hornhautkörperchen als Regeneratoren nicht in Frage kommen, halten aber eine Abstammung derselben vom Epithel für unwahrscheinlich, sondern glauben vielmehr, den 1—2 Tage nach der Verletzung, kurz vor dem Auftreten der Salzerschen „Keratoblasten“ vorübergehend erscheinenden embryonalen Capillaren eine große Bedeutung beimessen zu müssen. Diesen Anschauungen, insbesondere denen Salzers trat Hanke (1905) entgegen und behauptet, daß die Keratoblasten nicht „epithelialer Abstammung“, „sondern bindegewebiger Natur“ sind, daß „in ihnen zu derselben Zeit wie in den fixen Hornhautkörperchen sowohl echte Mitosen als auch Schlingen- und Knäuelbildungen im Kerne zu sehen sind“, „wenngleich auch viele Bilder für die Möglichkeit einer direkten, amitotischen Teilung sprechen“. „Dieser Umstand“, sagt er, „würde allein genügen, um zu beweisen, daß sie nicht Abkömmlinge des Epithels sein können.“

Soviel über die Frage der Regeneration des Epithels und Hornhautgrundsubstanz! Was dann weiter die Literatur über die Regeneration der Descemetischen Membran und des Endothels anbelangt, so wollen wir uns hier kurz fassen. Becker (1876) lehnte noch jede Regeneration der Descemet ab, ebenso auch Neese (1887), der nach einiger Zeit die Enden der Descemet nur durch dünne Faserbündel miteinander verbunden beobachten konnte. Als erste fanden Wagenmann (1889 bis 1891) und Gepner (1890) beim Menschen die Neuanlage der Descemetischen Membran und leiten deren Entstehung vom Endothel her, während Ranvier (1893) an Versuchstieren die Entstehung derselben ebenfalls aus dem Endothel beobachten konnte. Eine ähnliche Entstehung glaubt auch Marchand (1901) annehmen zu müssen. Dagegen führt Ballo-witz (1900) an, daß sich bei ihm keine Anhaltspunkte für einen Zu-

sammenhang des Endothels mit der Regeneration der Descemet ergeben, ebenso auch Weinstein (1903), der die neugebildete Descemetsche Membran als „ein Produkt der physiologischen Hyalinisation der Grenzlamellen des eigentlichen Hornhautgewebes“ auffaßt. Neuerdings glaubt Salzer (1911—1912) annehmen zu müssen, daß die Membran sich nur „undeutlich“ regeneriere. Sie ist dünner als die normale und „stellenweise streifig“ zusammengesetzt. Er lehnt sich in der Frage der Entstehung an die Ansichten Wagenmanns an. Einen ähnlichen Standpunkt, was die Frage der Entstehung anbelangt, nimmt auch Germani (1906) ein. Soviel über die Frage der Regeneration der Descemetschen Membran. Bereits 1875 fand Ewetzki bei seinen Regenerationsversuchen an Fröschen Fadenknäuel und andere mitotische Figuren in den Endothelzellen, die er sich natürlich vor den Arbeiten Flemmings als indirekte Zellteilungen nicht erklären konnte. Ähnliche Bilder in späteren Stadien sahen auch Schottländer (1888) und Peters (1889), nahmen aber vor dem Auftreten dieser Bilder eine aktive Bewegung der Endothelzellen zur Deckung des Defektes an. Dagegen konnte Marchand (1901) schon frühzeitig deutliche Mitosen und „erhebliche Wucherungs- und Vermehrungserscheinungen“ an den Endothelzellen feststellen. Entgegengesetzter Ansicht ist Salzer (1911—1912), der niemals Mitosen an den Endothelzellen und auch sonst keine Wucherungserscheinungen an denselben feststellen konnte. Als letzter wäre noch Hanke (1915) zu erwähnen, der an Hand seiner Präparate nachweist, welche „große und bedeutsame Rolle“ das Endothel beim Prozeß der Regeneration spielt. „Man kann direkt behaupten“, sagt er, „daß zum mindesten die tiefsten Schichten der Hornhaut von demselben abstammen“, wie ja auch nach Bach und Seefelder (1912) umgekehrt das Endothel beim Embryo seine Entstehung den mesodermalen Zellen verdankt.

Unsere Versuche wurden, wie schon erwähnt, an einer größeren Anzahl von Meerschweinchenaugen angestellt, und zwar meist nach vorherigem Atropinisieren der Augen, um unerwünschte Iriseinlagerungen zu vermeiden. Die perforierenden und die nichtperforierenden Defekte wurden in Narkose mit einem scharfen Messer möglichst zentral angelegt. Wir enucleierten die Augen in den verschiedensten Stadien (6 Stunden bis 3 Monate nach Anlegung der Wunde), fixierten sie in lebenswarmer Zenkerscher Lösung (Spulers Modifikation), härteten die Bulbi in langsam aufsteigendem Alkohol, entfernten durch Lugolsche Lösung das Sublimat und betteten meist in Paraffin ein. Die Objekte wurden in Serienschnitte von 5—6 mm zerlegt, gefärbt wurde nach Mallory (Modifikation Mall), Heidenhain, Held (beide nach Färbung mit Rubin S. oder Orange G.) und Giemsa. Die Färbungen nach Held und Heidenhain lieferten uns recht gute Bilder, doch hat auch die Färbung mit

Giemsa außerordentlich prägnante Resultate ergeben. Sie erlaubte uns vor allem, was die verschiedenen Arten der Zellen anlangt, wertvolle Schlüsse, war also gerade für die frühen Stadien der Verletzung recht brauchbar, während für die späteren Stadien, wo ein mehr einheitlicher Zellcharakter vorhanden ist, und wo bereits Bindegewebsbildung eingesetzt hat, Held und Heidenhain dieser Methode vorzuziehen waren. Den Vorzug überhaupt möchten wir dabei der Heldschen Methode einräumen, die vor allem über die Beziehungen zwischen Epithel und Bindegewebe so sichere Details ergab, daß kaum Täuschungen unterlaufen konnten. Alle Methoden zusammen aber, die wir natürlich bei jedem Stadium angewendet haben, haben uns in jeder Beziehung eindeutige Resultate geliefert.

Prinzipielle Unterschiede konnten wir natürlich gegenüber anderen Tieren nicht feststellen. Doch scheint uns der ganze Regenerationsvorgang gerade bei diesem Tier prompter und vielleicht etwas schneller abzulaufen, weshalb wir es als Versuchsobjekt auch in dieser Beziehung für recht geeignet halten, ganz abgesehen von seiner relativen Billigkeit, die ja heutzutage eine gewisse Rolle mit spielt. Salzer hat dieses Tier bei seiner letzten Arbeit im Jahre 1915 mit angewendet, bleibt aber bei seinen früheren Anschauungen, daß das Epithel bei der Regeneration von Bindegewebe in der Narbe eine wesentliche Rolle mitspielt.

1. Nicht perforierende Defekte.

6 Stunden: Schnittiefe reicht ungefähr bis zur Mitte der Hornhaut. Das Epithel beginnt, sich zu beiden Seiten des noch klaffenden Schnittes über die Ränder desselben hinweg in Form eines Zapfens allmählich in die Tiefe vorzuschieben und dringt hin und wieder noch zwischen die etwas gequollenen und leicht aufgefasernten Lamellenbündel hinein. Auf dem noch vom Epithel unbedeckten Wundgrunde finden sich vereinzelt, polynucleäre Leukocyten, ebensolche sieht man auch in den Interstitien der mehr nach dem Oberflächenepithel gelegenen Hornhautteile. An eben diesen Stellen macht sich besonders auch eine reichliche Anhäufung von langgestreckten, flachen Hornhautkörperchen bemerkbar, wenn auch hier und da vereinzelt Bilder vorhanden sind, die für eine beginnende Degeneration derselben sprechen. Zwischen den an den Grund der Wunde angrenzenden Lamellenbündeln fehlt vorläufig noch die eben erwähnte Anhäufung von Hornhautkörperchen. Von besonderem Interesse ist in diesem Stadium das Verhalten des Epithels. In unmittelbarer Umgebung der Schnitttränder an den Umbiegungsstellen sieht man stellenweise die Epithellage auf 1—2 Zellagen reduziert. Der architektonische Bau des normalen Hornhautepithels ist hier und besonders auch im Zapfen nicht mehr vorhanden. Die einzelnen Zellreihen, und zwar meist die der oberen und mittleren Lagen sind vielfach durcheinandergewürfelt und aneinander gedrückt. Auch die Basalzellen haben nicht mehr ihre langgestreckte, zylindrische Form bewahrt, sondern zeigen eine mehr plumpe, kubische Gestalt. Mitosen waren hier noch nicht zu finden (siehe Abb. I).

10 Stunden: Schnittiefe ca. $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ des Hornhautdurchmessers ausmachend. Die Befunde an diesem Stadium unterscheiden sich nur wenig von denen im vorigen gefundenen. Der Epithelzapfen reicht jetzt bis auf den Grund der Wunde und füllt den Defekt vollständig aus.

13 Stunden: Der ganze Schnitt ist bis in die Tiefe — ca. $\frac{1}{3}$ des Hornhautdurchmessers ausmachend — von einem Epithelzapfen ausgefüllt, der vor allem in den Lagen unmittelbar unter dem Epithel reichlich seitliche Sprossen in die Hornhautlamellenlücken hineingetrieben hat. Dabei sind bei der Heldschen Färbung die Abgrenzungen der Epithelzellen gegen das umliegende Bindegewebe genau so scharf wie an der Basalleiste vor der Bowmanschen Membran unter dem normalen Epithel. Auch die weit vorgeschickten, anscheinend einzelliegenden Epithelzellen sind infolge ihrer gut färbaren und scharf abgegrenzten, dabei etwas dunkler tingierten Außenzone des Protoplasmas immer als solche zu erkennen und zeigen trotz sorgfältigster und intensivster Färbung nirgends Verbindungen weder mit den Hornhautparenchymzellen noch mit Zellen, die diesen ähnlich sehen oder Übergänge

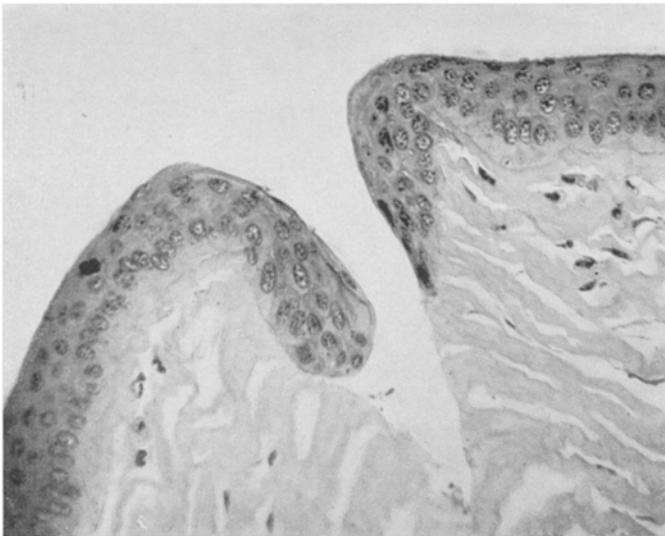


Abb. 1.

zu solchen darstellen könnten. Im Epithel finden sich unweit der Schnittstelle und in der Schnitteinsenkung selbst zahlreiche Mitosen, und zwar wohl ausgebildete Monaster- und Diasterstadien. Direkt unter dem Epithel, im Parenchym, liegen vereinzelte Zellen, und zwar sind diese Zellen in diesen interstitiellen Räumen häufiger, als in denen der tiefen Lagen des Parenchyms. Sie unterscheiden sich von den Epithelzellen deutlich durch ihre gedrungene Form und durch ihr dunkel tingiertes Aussehen. Nur ganz vereinzelt finden sich hier und da polynucleäre Leukocyten.

16 Stunden: Etwas mehr als $\frac{1}{3}$ der Hornhautdicke geht der Schnitt in die Tiefe, vom Epithel vollkommen ausgefüllt. Die Epithellage ist wiederum gegen die Unterlage scharf abgegrenzt und weist keinerlei protoplasmatische Verbindungen mit den Stromazellen auf. Dabei sieht man in dem an das Epithel angrenzende Gewebe Zellen auftauchen, die anscheinend isoliert liegen und nicht wie sonst mit den im Parenchym weiter entfernt liegenden Zellen protoplasmatische Verbindungen haben. Die Kerne dieser Zellen sind etwas dunkler tingiert, sie selbst anscheinend von etwas massigerer Form als die Hornhautzellen selbst. Gegen die

Oberfläche zu, unter dem Epithel, sind diese Zellen reichlicher vorhanden, während sie in der Tiefe, im Parenchym der Hornhaut, gegen die Descemet zu, nicht zu sehen sind. Dort finden sich anscheinend nur die gewöhnlichen Hornhautzellen selbst.

An anderen Schnitten findet man ebenso die scharfe Abgrenzung des Epithels gegen das umgebende Gewebe vor allem bei der Mallory- und Held-Färbung, daß darüber, was dem Epithel und was dem Mesoderm an Zellen angehört ist, nicht der geringste Zweifel herrschen kann. Es schieben sich auch an dieser Schnittstelle Epithelzellen in die Lücken des Parenchyms hinein, aber diese sind ohne weiteres als solche zu erkennen und lassen sich durch ihre scharfen Außenkonturen gegen das übrige Gewebe immer gut abgrenzen.

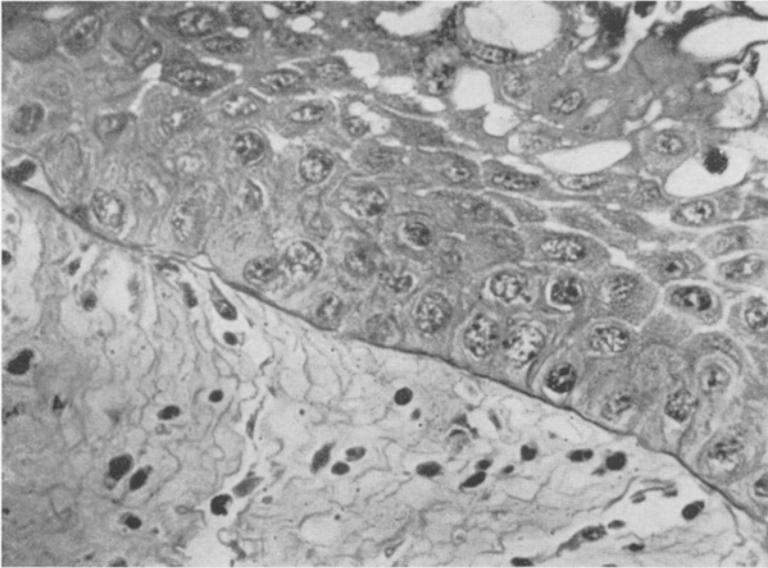


Abb. 2.

24 Stunden: Schnitttiefe bis zur Mitte der Hornhaut reichend. — Der Defekt ist vollständig mit Epithel ausgefüllt, das wiederum nicht nur nach der Tiefe zu, sondern nach den Seiten in die unmittelbar unter dem Epithel liegenden, nach der Schnittführung zu klaffenden, interstitiellen Räume eingedrungen ist. In diesen Räumen setzt sich hier das Epithel fast ebenso weit wie nach der Tiefe fort. Diese fast unmittelbar unter dem Epithel liegenden, nur durch schmale Fibrillenzüge von ihm getrennten Zellzüge sind teilweise in direktem Zusammenhang mit dem Epithelzapfen, teilweise scheinen sie von letzterem abgetrennt als Epithelinseln im Hornhautgewebe zu liegen. Die einzelnen Zellen sind infolge der hellen Färbung der ganzen Zelle sowie des großen, bläschenförmigen Kernes und des reichlich granulierten, rings um die Zellkerne angeordneten Protoplasmas ohne weiteres als solche zu erkennen. Fast unmittelbar unter dem Epithel, in dem subepithelialen Raume, finden sich teilweise reichlich schon Zellen, die dunkler vor allem, was die Kerne betrifft, tingiert sind. Sie zeigen langgestreckte Form und stehen in keinerlei Beziehung zum Epithel.

48 Stunden: Die Schnitttiefe beträgt ca. $\frac{3}{4}$ der Hornhautdicke. Die Epithelzellen füllen die Wunde völlig aus und weisen hier und da Mitosen auf. Beim Übergang vom normalen Hornhautepithel zum Epithelzapfen ist, wie so oft, das Epithel stark verschmälert und auf 2—3 Zellagen reduziert. An diesen Stellen liegen in den Hornhautspalten wie in den vorigen Stadien, offenbar vom Zapfen losgelöst Gruppen von Epithelzellen, die ihren Charakter als Epithel in vollem Umfang gewahrt haben, obwohl sie keine Verbindung mit dem Muttergewebe mehr erkennen lassen. Der Epithelzapfen liegt unmittelbar den Schnittträgern mit seiner Außenfläche an. Dabei ist eine wohl entwickelte Basalmembran ebenso wie an der Basalschicht

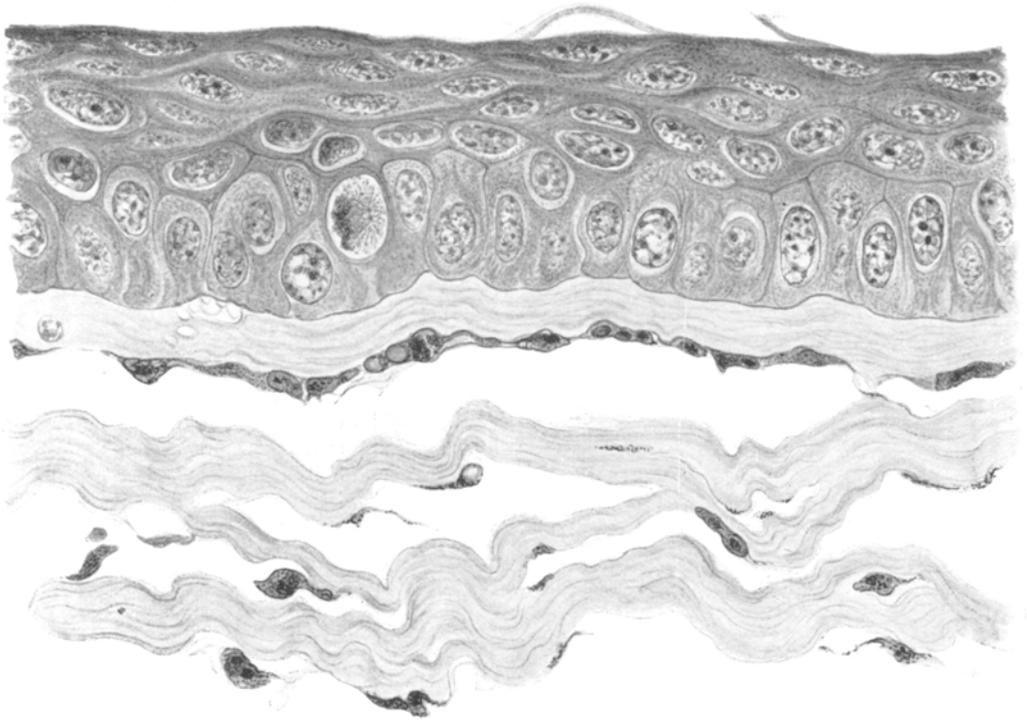


Abb. 3.

des normalen Epithels allenthalben vorhanden. (Vgl. Abb. 2.) Es gehen zwar von der Basalmembran an vielen Stellen feinste Protoplasmafüßchen aus, die sich entweder im Bindegewebe verankern oder feinste Verbindungen mit benachbarten Zellen erkennen lassen. Diese Protoplasmafüßchen sind ungemein feiner Art und lassen sich nur mit bestimmten Färbemethoden zur Darstellung bringen. Mit Giemsa-Färbungen sind sie nicht deutlich sichtbar, auch nicht mit der Mallory-Färbung, während sie mit dem Heldschen Verfahren gut zur Darstellung kommen. Hier und da macht es auch den Eindruck, als ob direkte feinste Verbindungen zwischen Epithelprotoplasma und Protoplasma der Bindegewebszellen vorhanden wäre. Es ist diese Erscheinung durchaus nichts Neues, sondern bereits an normalem Gewebe von Schuberg (1902) beschrieben. Jedenfalls sind sie auch hier ungemein fein und spielen für das vorliegende Problem keinerlei Rolle,

müssen aber der Vollständigkeit halber mit erwähnt werden. Aber ein Übergang von den Epithelzellen zu den in den Gewebslücken reichlich vorhandenen Stromazellen ist nirgends festzustellen. In den Parenchymspalten findet man eine reichliche Anhäufung von Zellen, die entweder in protoplasmatischem Zusammenhang zu den Gewebspalten aneinanderliegen oder getrennt als Einzelindividuen, perlenschnurartig dicht hintereinander aufgereiht, zu sehen sind (siehe Abb. 3). Letztere Erscheinung ist vor allem gegen die Schnittländer zu beobachten. Es bleibt keine andere Möglichkeit übrig, als diese Erscheinung als direkte

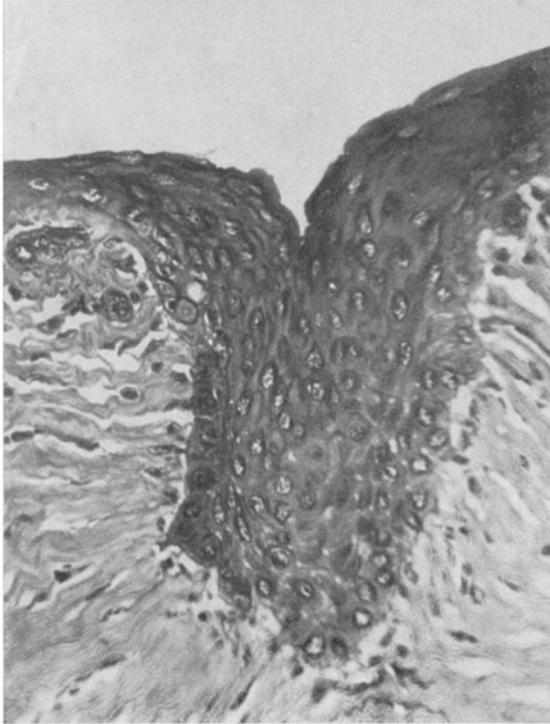


Abb. 4.

ganze Defekt stellt annähernd ein gleichseitiges Dreieck dar und ist vollkommen mit einer soliden Epithelmasse ausgefüllt, die keinerlei Lücken gegen das umgebende Hornhautparenchym freiläßt. In der ganzen Umgebung des Schnittes sind die interstitiellen Räume des Hornhautparenchyms etwas erweitert und teilweise mit Zellen versehen, die vereinzelt oder zu mehreren dicht hintereinanderliegend zu beobachten sind. In der spärlichen, vom Schnitt nicht getroffenen Zone der Hornhaut, nach der Descemet zu, läßt sich der Charakter dieser Zellen näher studieren und über ihre Herkunft etwas aussagen. Man kann hier mit ziemlicher Sicherheit sehen, wie diese Zellen dunkel gefärbte Kerne aufweisen und in kontinuierlichem, protoplasmatischem Zusammenhang mit Zellen stehen, die, etwas vom Schnitt entfernt, deutlich den Charakter als Hornhautzellen tragen, während ein Zusammenhang der Zellen auch da, wo sie unmittelbar unter dem Epithel liegen, mit diesem niemals nachweisbar ist.

Zellteilung aufzufassen, die auch sonst in den folgenden Stadien in gleicher Weise wiederkehrt. Doch finden sich auch allerdings vereinzelt Bilder von mitotischer Zellteilung, die ohne Zweifel den Hornhautkörperchen oder resp. deren Abkömmlingen angehören. Ebenso finden wir, daß das Epithel, während sich die Hornhautzellen in den Hornhautlamellen in reger Proliferation befinden, keine Zeichen einer solchen mehr zeigt, sobald es einmal in den Schnitt hineingewuchert ist und so seine Aufgabe als vorläufige Deckung der entstandenen Wunde erfüllt hat (siehe Abb. 4).

3 Tage: Hier geht der Schnitt bis zur Descemet, an der Oberfläche der Hornhaut klaffend im Ausmaß etwa so weit, wie die ganze Dicke der Hornhaut beträgt. Der

5 Tage: Der ganze Defekt, dessen tiefste Stelle die Hälfte der Hornhautdicke erreicht, wird von einem Epithelzapfen bis zum Grunde beinahe ausgefüllt. Die gegen das Hornhautparenchym zu liegende unterste Epithellage hat bereits wieder den Charakter der basalen Epithelleiste angenommen und trennt sich mit einer scharfen Basalmembran von ihrer Unterlage ab. In der Peripherie, 10—20 Zellenbreiten vom Schnitt entfernt, und ebenso auch im Zapfen selbst findet man nur ganz vereinzelt Mitosen. Unter der basalen Epithellage im Schnitt, an beiden Seiten der Schnittländer, weniger in der Tiefe, hat sich ein Gewebe angehäuft, das zumeist aus quergeschnittenen, zuweilen auch aus längs getroffenen Zellen besteht, die deutlich den Charakter der im Parenchym vorhandenen Hornhautzellen tragen. Die subepithelial gelegenen, ziemlich reichlich vorhandenen, einen besonderen Raum zwischen Hornhautparenchym und Epithel einnehmenden Zellen — die Keratoblasten — stehen, wie sich an den mit Hellscher Protoplasma-methode gefärbten Schnitten zeigen läßt, in allerfeinsten, protoplasmatischen Verbindungen mit den basalen Epithelzellen. Dort, wo diese subepitheliale Zellage fehlt, stehen die basalen Epithelzellen in direkter feiner Verbindung mit der Hornhautfibrillenlage; sie haben sich offenbar an den Stellen verankert, eine Erscheinung, die wir nicht nur da beobachten können, wo das Epithel raumausfüllende Defekte überzieht, sondern auch an der normalen Basallage des Hornhautepithels. Trotzdem diese feinen protoplasmatischen Verbindungen zu beobachten sind, ist es nirgends gelungen, einen Übergang von den Epithelzellen zu diesen subepithelial gelegenen, offenbar als Fibroblasten anzusprechenden Zellen festzustellen. Es lassen sich immer deutlich die Epithelzellen als Epithelzellen, die anderen als Fibroblasten erkennen, während dagegen in den Spalten des Hornhautparenchyms fließende Übergänge vorhanden sind, und man deshalb keinen Zweifel hegen kann, daß diese Zellen aus dem Hornhautparenchym herauskommen und mit dem Beginn der Bindegewebsentwicklung das Epithel, das zunächst nur das Schnittlumen ausgefüllt hat, allmählich verdrängen. Insofern scheinen uns diese etwas älteren Stadien von großer Wichtigkeit zu sein.

10 Tage. Bei diesem Stadium können wir uns kürzer fassen. Der in die Tiefe gewucherte Epithelzapfen hat sich schon bedeutend abgeflacht. Obwohl der Schnitt anscheinend bis beinahe an die Descemet herangegangen war, hat sich das neugebildete Gewebe bereits derart entwickelt, daß es das Epithel fast bis zur Mitte der Hornhaut emporgehoben hat. Das Epithel ist in seinen basalen Schichten scharf abgegrenzt und zeigt die feinen, fußartigen Protoplasmafortsätze, die zuweilen mit den Zellen verankert sind, zuweilen in das fibrilläre Parenchym der Hornhaut übergehen. An den in reichlicher Zahl vorhandenen Fibroblasten und zwar in der Außenzone ihres Protoplasmas, kann man allenthalben zum ersten Male die Entwicklung von feinen, längsgestreckten, leicht gewellten Fibrillen beobachten. Am besten kommen sie mit der Hellschen Methode zur Darstellung. Sie entwickeln sich deutlich meist aus den Längsseiten des Zellektoplasmas.

3 Wochen: Schnitttiefe ging wahrscheinlich bis zur Mitte des Hornhautdurchmessers, da man sie jetzt nur aus der Bindegewebsneubildung feststellen kann. Allenthalben findet man hier Zellen, die in mächtiger Fibrillenproduktion an ihrem Protoplasmarande begriffen sind. Sie liegen meist parallel zur Oberfläche der Hornhaut wie die übrigen Hornhautzellen, sind aber bedeutend stärker und länger als letztere, tingieren sich auch dunkler. Sie stehen, wie sich zeigen läßt, in direkter protoplasmatischer Verbindung mit den übrigen Hornhautzellen. Das Epithel ist überall scharf gegen die Unterlage abgegrenzt, und die Abgrenzung durch eine dunkel gefärbte Basallinie gekennzeichnet. Hier findet man auch bereits wieder eine Basalschicht, die sich durch ihre etwas höhere Zellage auszeich-

net. Diese Basalschicht zeigt keinerlei Verbindungen mit dem darunterliegenden Gewebe, auch dort nicht, wo die in Fibrillenproduktion begriffenen Zellen direkt an das Epithel angrenzen.

2 Monate: Die Narbe läßt sich nur noch andeutungsweise bei der mikroskopischen Durchmusterung der Schnittserie an der unregelmäßigen und reichlichen Lage der Bindegewebszellen sowie der Verdickung des Epithels feststellen. Allerdings unterscheiden sich die Bindegewebszellen durch ihr vermehrtes Volumen sowie durch ihre weitverzweigten Protoplasmafortsätze von den übrigen Zellen im Parenchym der Hornhaut, einzelnes aber läßt sich an diesen späten Stadien über das Verhalten des Epithels gegenüber dem Bindegewebe und über die Bindegewebsneubildung nicht mehr feststellen.

Perforierende Verletzungen.

Es kamen nur Hornhäute zur Untersuchung, bei denen weder die geringsten Irisan- oder -einlagerungen noch sehr starke Fibrinanhäufungen im Schnittbereich sowie in der Vorderkammer, die vielleicht auf eine beginnende Infektion hinweisen konnten, nachweisbar waren, um von vornherein jede Komplikation des ganzen Heilungsvorganges auszuschalten. Überhaupt erscheinen uns, wie auch anderen Forschern, gerade perforierende Schnitte wichtiger für die Beurteilung der ganzen Fragestellung, obwohl natürlich prinzipielle Unterschiede in den Befunden gegenüber Nichtperforierenden nicht vorhanden war.

12 Stunden: Je nach der Region, in der man sich in der Schnittserie befindet, zeigt der Schnitt ein erheblich verschiedenes Aussehen, sowohl, was das Epithel anbelangt, wie auch das Vorhandensein von Leukocyten. Während an manchen Stellen Leukocyten vollständig fehlen, findet man solche an anderen Stellen in geringer Anzahl. An den Enden des Schnittes zieht das Epithel brückenartig über den Defekt und läßt nur hier und da eine kleine Lücke frei. In der Mitte des Schnittes dagegen dringt es entlang den Wundrändern in die Tiefe vor. Die Schnittlücke selbst ist teilweise von Fibrin ausgefüllt, das ohne Zweifel aus der Vorderkammer mit dem Kammerwasser allmählich in das Wundloch hineingeraten ist. Im Wundkanal selbst finden sich so gut wie keine Leukocyten, stellenweise dagegen sieht man sie vereinzelt in den Winkeln liegen, die zwischen dem Epithel und den obersten Parenchymlagen gebildet werden. Unmittelbar an den Schnittträndern sind die Parenchymzellen teilweise verändert. Sie sind schwächer gefärbt, leicht granuliert und zeigen hin und wieder beginnenden Zerfall. Etwas weiter entfernt von den Schnittträndern beobachtet man in den Parenchymspalten die Hornhautzellen z. T. ohne protoplasmatischen Zusammenhang, während noch weiter nach der Peripherie zu ein solcher immer deutlich zu beobachten ist. Die Zellen ohne protoplasmatischen Zusammenhang sind etwas stärker tingiert, anscheinend etwas chromatinreicher, und nur verhältnismäßig selten sieht man feine Protoplasmafäden, welche die Zellen untereinander verbinden. Nun findet man aber unmittelbar am Schnitttrand gar nicht selten Zellen, die mit ihrem Körper und dem Kern noch im Parenchym stecken, aber bereits einen Protoplasmafortsatz in das Wundlumen hineingeschickt haben, der sich dort gewöhnlich an der Seite umlegt (siehe Abb. 5).

Vornehmlich in der Zone unter dem Epithel sind solche Zellen nicht allzu selten nachzuweisen. Die Descemetische Membran erscheint scharf durchschnitten und die Schnitttränder nach außen umgebogen. Die Endothelzellen dieser Membran bedecken sie bis zum Schnittende, sind daselbst etwas reichlicher vorhanden

und dichter zusammengedrängt. Zellteilungen lassen sich hier noch nicht feststellen. Am Rande des Schnittes sieht man vereinzelte Endothelzellen losgelöst fast frei im Kammerlumen schwimmen.

24 Stunden: Hiervon standen uns zwei Hornhäute zur Verfügung. Bei dem einen läßt sich eine fast totale Überbrückung der Schnittlücke mit Epithel feststellen. Auch hier sieht man eine starke Fibrinhäufung im Schnittbereich und außerdem eine stärkere Ansammlung von polynucleären Leukocyten in den Maschen des Fibrinnetzes und im Randbereich der Interstitien. Vor allem in den tieferen Schichten des Hornhautparenchyms gegen den Schnitt zu beginnt eine reichliche Vermehrung von Zellen und eine deutliche Wanderung derselben nach dem Schnittlumen zu mit Lösung der gegenseitigen Protoplasmaverbindungen.



Abb. 5.

An der Descemetischen Membran und dem Endothel läßt sich nichts Besonderes feststellen.

Das zweite untersuchte Auge zeigt etwas andere Verhältnisse. Während im vorigen Falle das Epithel brückenartig den Defekt überzieht, ist hier das Epithel an den Schnittflächen entlang bis beinahe in die Vorderkammer vorgewuchert. Im Bereich des vom Epithel bedeckten Hornhautparenchyms läßt sich eine reiche Anhäufung von Leukocyten und auch vereinzelte Zellen beobachten, die mit Sicherheit dem Hornhautparenchym angehörten und dasselbe Verhalten wie im vorigen Falle zeigten. Die Descemetische Membran, deren Endothellage keine Besonderheiten aufweist, sieht man mit ihren beiden Schnittenden nach vorn umgeschlagen und ein Stück in den Schnitt hineinreichen.

48 Stunden: Auch von diesem Stadium standen uns zwei Hornhäute zur Verfügung. Bei dem einen Auge kann man an dem bis beinahe in die Vorderkammer eingesenkten Epithel deutliche Mitosen nachweisen. Der Epithelzapfen liegt fast in der ganzen Ausdehnung den beiderseitigen Schnittflächen an und läßt nur an wenigen Stellen einen capillaren Raum zwischen sich und letzteren erkennen. In der Tiefe zwischen Epithel und Descemet liegen vereinzelte Epithel-

zellen, die sich teilweise aus dem Verband losgelöst haben. In den feinen Maschen des Fibrinnetzes, das die Wunde zwischen den Epithelzapfen nach außen hin abschließt, hängen zahlreiche polynucleäre Leukocyten. Ebensolche findet man auch in den Interstitien neben zahlreichen Hornhautzellen. Letztere zerteilen sich, wie man schon in diesem Stadium feststellen kann, durch Fragmentierung in einzelne hintereinanderliegende Stücke. Außerdem beobachtet man auch Spieße, die zum Teil mit ihren Protoplasmafortsätzen bis unmittelbar in den subepithelial gelegenen schmalen Spaltraum gelangt sind. Die Descemetische Membran weist an den noch glatten Schnittträgern vor allem eine reichliche Vermehrung des Endothelbelages auf, von dem offenbar die spätere Neubildung der Membran ausgeht. Als Zeichen der Zellvermehrung finden sich hier typische Mitosen.

Am anderen Bulbus zeigt das Epithel das gleiche Verhalten wie im vorigen Falle. Auch hier läßt sich in der Randzone des Parenchyms eine starke Anhäufung von Zellen feststellen. Das Epithel ist überall scharf gegen die Unterlage abgegrenzt und letztere selbst von spärlichen Zellen durchwandert. In einer anderen Schnittserie findet man ebenfalls eine außerordentlich reichliche Ansammlung von Zellen in den Interstitien nahe dem Schnittlumen, dabei nur wenig Leukocyten, meist Zellen, die ihrer Abstammung nach aus dem Hornhautparenchym kommen. In der Tiefe des Schnittes, der subepithelialen, schmalen Zone zwischen Epithel und Descemet, sind nur wenig Zellen, die keinen gelappten Kern aufweisen, sie sind offenbar in reger Wanderung begriffen. Die Descemetische Membran zeigt ähnliches Verhalten wie im vorigen Falle.

5 Tage: Die Epithelzellen in dem eingesenkten Epithelzapfen sind mit deutlichen Protoplasmastrahlen versehen (Stachelzellen). Die Epithellage selbst ist scharf nach unten zu abgegrenzt. Unter ihr liegend findet man eine reichliche Menge Zellen von langgestreckter, nicht polygonaler Form, die an ihren Längsseiten, unmittelbar an die Außenzone des Protoplasmas anstoßend, stark färbbare, leicht gewellte Fibrillen aufweisen. Mit der Malloryfärbung tingieren sich diese neugebildeten Fibrillen blau, mit der Heidenhainschen bzw. Heldschen Färbung dunkelblau. Ohne Zweifel handelt es sich hier um die erste Anlage von collagenen Fibrillen, die, wie sich deutlich feststellen läßt, von dem Ektoplasma der Zellen gebildet werden. Diese fibrillenbildenden Zellen sind gegen den oberen Rand des Schnittes zu weniger reichlich vorhanden. Besonders finden sie sich in dem schmalen Raum zwischen Epithel und Schnitttrand. Hier kann man beobachten, wie sich unter der basalen Epithellage bereits eine Fibrillenschicht von collagenem Charakter gebildet hat, und feststellen, daß diese fibrillenbildenden Zellen in keiner Beziehung zum Epithel stehen. Man kann vielmehr verfolgen, wie diese Zellen an vielen Stellen direkt in das Hornhautparenchym hineinreichen, sei es direkt unter der Epithellage, sei es in den tieferen Lagen des Schnittes, wo keine Epithelzellen in der Nähe zu sehen sind. Das Epithel ist überall da, wo es unmittelbar den Schnittflächen in der äußeren Hälfte der Wunde anlag, durch diese sich zwischen Epithel und Hornhautparenchym entwickelnde Zellage von seiner Unterlage abgedrängt. Bei der Betrachtung dieser Serien kann kein Zweifel aufkommen, daß diese Zellage und die Epithellage etwas ganz Verschiedenes sind, und daß, soviel man auch Schnitte durchmustert, keinerlei Übergänge zueinander erkennen lassen (siehe Abb. 6). Die Descemetische Membran ist an ihren Schnittenden leicht unscharf geworden. Von diesen Stellen aus erstreckt sich ein Zug von dunkel färbbarem fibrillärem Gewebe über den größten Teil der Schnittlücke. Nach innen von dieser Schicht findet man Fibrin und weiter gegen die Kammer zu eine größere Zahl von Zellen, die in ihrer Fortsetzung auf die Hinterfläche der Descemet führen. Diese Zellen sind sicher als Abkömmlinge des Endothels anzusehen.

10 Tage: Den Defekt sieht man von der Innen- bis zur Außenseite vollständig mit neuem Gewebe angefüllt. Das Epithel ist, soweit es über der ehemaligen Wunde liegt, fast doppelt so dick wie auf der normalen Hornhaut. Direkt unter dem Epithel findet sich eine Zone von fast zellfreiem, nur von feinen Fibrillen durchsetzten Gewebe und darunter ein solches, das ungemein zellreich ist. Die Zellen in diesem Gewebe liegen in den verschiedensten Richtungen mit ihren Längsseiten, doch macht sich gegen die Tiefe, gegen die Descemet zu, mehr eine Längsrichtung geltend. Diese Zellmasse ist, wie sich unmittelbar beobachten läßt, mit dem Hornhautgewebe verankert. Die Zellen, welche an der Fibrillenbildung beteiligt sind, gehen in die Parenchymrücken hinein und stehen dort mit den anderen Hornhautzellen in protoplasmatischer Verbindung, während sie von der basalen Epithel-lage scharf abgegrenzt erscheinen. Mit den schon oben erwähnten Färbungs-

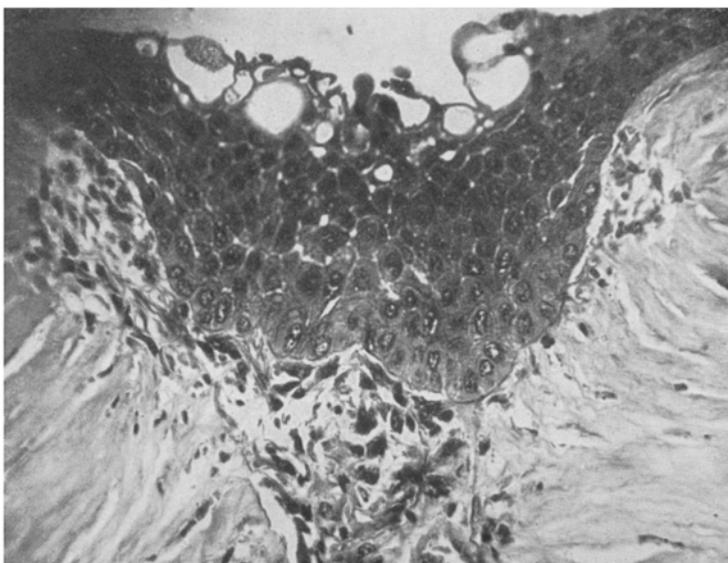


Abb. 6.

methoden sieht man, daß sich reichlich collagenes Zwischengewebe entwickelt hat (siehe Abb. 7). Die Descemetsche Membran hört weit vor dem eigentlichen Defekt an beiden Seiten auf. Dafür sieht man in dem neugebildeten Gewebe aufgerollte und vielfach ineinandergefaltete Stücke der Membran liegen, die offenbar beim Durchschneiden von der Hinterfläche abgerissen sind und beim Abströmen des Kammerwassers in den Schnitt gedrängt worden sind. Die Stücke sind noch allenthalben scharf begrenzt und weisen keine auf eine Resorption hindeutenden Veränderungen auf, ein neuer Beweis dafür, wie widerstandsfähig offenbar die Descemet im Vergleich zum übrigen Hornhautgewebe ist. An der Hinterfläche des Schnittes hat sich auf der neugebildeten Zellage noch keinerlei Gewebe entwickelt, das etwa der Descemetschen Membran entspräche. Zwar findet man dort einen ziemlich gleichmäßigen Zellbelag, jedoch ist nach außen von ihm keine besondere Gewebszone zu konstatieren.

4 Wochen: In der Gegend des ehemaligen Defektes ist das Epithel noch verdickt und ragt noch ein Stück knopfartig in die Tiefe vor. Unter diesem Epithel-

knopf liegen die außerordentlich stark geschlängelten Fibrillenlagen schon wieder ziemlich regelmäßig und sind von annähernd parallelliegenden Zellzügen durchsetzt. In diesem Stadium läßt sich eine Neubildung der Descemet'schen Membran nachweisen, indem sich unmittelbar von dem Ende der alten, etwas nach außen umgebogenen Membran, von der Hinterfläche derselben aus, eine neue Membran entwickelt hat, die von gleicher Tinktion wie die übrige unverletzt gebliebene Descemet ist. Diese Neubildung läßt sich im Beginn peripherwärts ungefähr zwei Zellenbreiten auf der alten Membran verfolgen, und man kann vor allem an diesen Stellen eine nach innen liegende Lage, der unmittelbar das Endothel anliegt, und eine nach außen liegende, dunkler gefärbte Lage unterscheiden. Bei dem äußeren Teil der neuen Membran handelt es sich offenbar um eine Fibrillenanlage, die den Fibrillen des nach innen liegenden Hornhautparenchyms entspricht, was

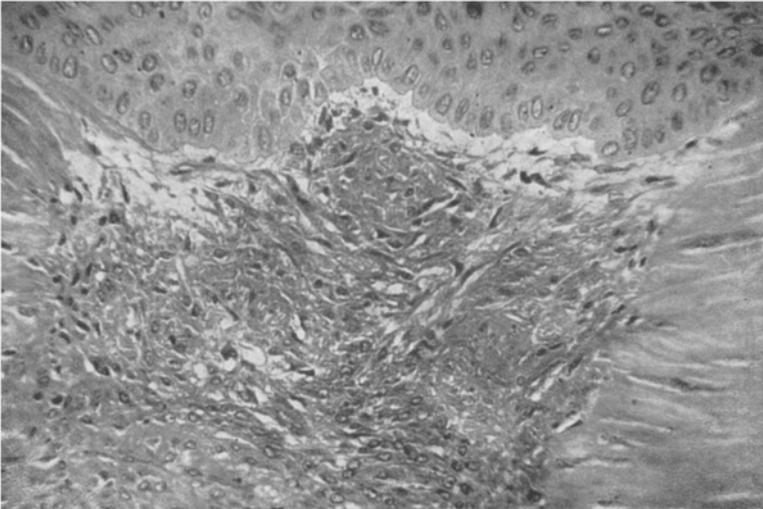


Abb. 7.

sich auch im weiteren Verlauf dadurch zeigen läßt, daß sich diese beiden Lagen voneinander im Bereich der neugebildeten Narbe trennen, wobei sich die innere Lage in Fibrillen aufsplittert. Aber auch die unmittelbar dem Endothel anliegende Lage, die wir als die eigentliche, neugebildete Descemet anerkennen müssen, trägt nicht überall einen homogenen Charakter, sondern zeigt teilweise ein streifiges Aussehen. Wir wählen mit Absicht den Ausdruck streifig, da es sich nicht mit Bestimmtheit feststellen läßt, ob es sich um eine hintereinanderliegende Schicht von feinsten Lamellen oder um wirkliche Fibrillen handelt. Dazu findet man noch folgende Eigentümlichkeit: Die hellere Lage, also die erste Anlage der neuen Descemet, zieht nicht von einem Ende der alten, durchtrennten Descemet zum anderen, sondern in der Mitte des früheren Defektes, manchmal auch nach dem einen Rande zu, sieht man die beiden neuen Membranen plötzlich aufhören und ein Stück weit mit ihren Enden übereinander hinziehen. Zu bemerken ist noch, daß stellenweise da, wo sich die hellere und die dunklere Lage, die beide von der alten Descemet ausgehen, trennen, auf der Außenseite der neuen Descemetbildung sich Zellagen finden, die zuweilen endotheliale oder besser gesagt epi-

thelialen Charakter tragen. Außerdem findet man nicht selten, daß die Descemet nur streckenweise neu angelegt ist, und daß diese neugebildeten Stücke nirgends eine Verbindung untereinander erkennen lassen.

3 Monate: Diese Stadium kennzeichnet sich vor allem durch eine solide Narbenbildung an Stelle des gesetzten Defektes. Die einzelnen neugebildeten Fibrillenlagen sind zwar noch mehr oder weniger geschlängelt und lockerer angelegt, zeigen aber doch schon eine ziemlich parallele Anordnung zueinander. Das Epithel ist immer noch mehrschichtig vorhanden und infolgedessen auch noch dicker als das normale, dagegen ist die Descemet schon fast vollkommen regulär ausgebildet, wenn auch nicht so regelmäßig und von gleicher Dicke wie die normale, angrenzende Membran. Sonst läßt sich im allgemeinen über dieses Stadium nichts Bemerkenswertes mehr berichten.

Zusammenfassung.

Wenn wir die Beobachtungen sämtlicher nicht perforierender und perforierender Stadien zusammenfassen, so ergibt sich aus den einzelnen Bildern folgende Konstruktion des Gesamtvorganges: Bei perforierenden Verletzungen stürzt unmittelbar, nachdem der Schnitt gemacht ist, das Kammerwasser aus der Wunde, wird fibrinreicher und erfüllt zunächst, wenn die Iris selbst das Loch nicht abstopft, mit Fibringerinnsel den Defekt. Aber schon in den nächsten Stunden macht sich von seiten des Epithels, sei es bei perforierenden oder nicht perforierenden Defekten, ein reaktiver Vorgang geltend, den Defekt gegen die Außenwelt abzuschließen. Das Epithel wuchert nicht nur flächenhaft über den Substanzverlust hinüber, sondern auch an den Schnittträgern entlang in die Tiefe vor, und, um offenbar einen Halt zu gewinnen, sogar in die Parenchymrücken hinein. Dieses Verhalten des Epithels ist aber rein als passager zu betrachten. Denn, wie wir beobachten konnten, findet man 12 Stunden nach dem Eingriff die ersten Auswanderungen von Zellen aus den Gewebslücken in das Schnittlumen hinein. Doch konnte man auch zu dieser Zeit in den Gewebslücken unmittelbar neben dem Schnitt vereinzelt, offenbar dem Untergang verfallene Elemente finden, die durch ihre unscharfe Färbung und feinkörnige Anordnung ihres Protoplasmas die charakteristischen Eigenschaften des Zerfalls erkennen ließen. Unseres Erachtens sind alle diejenigen Zellen, die sich unmittelbar nach der Schnittführung in dem Defekt vorfinden, durch Zufall hineingekommen, ebenso wie es von Zufälligkeiten abhängig ist, ob Bakterien hineingeraten und das ganze Bild der Regeneration komplizieren. Diese Zellen, ob Epithelzellen oder vereinzelt Leukocyten oder andere Zellen zunächst noch undefinierbaren Charakters, haben mit dem späteren Regenerationsvorgang zunächst nichts zu tun. Es mag sein, daß dabei Zellen vorhanden sind, die sich später an der Neubildung von Bindegewebe beteiligen, niemals aber konnten wir beobachten, daß derartige Erscheinungen von epithelähnlichen Zellen ausgingen oder von Zellen, die im Sinne Salzers ihren Epithelcharakter

verloren haben und zu Bindegewebsbildnern geworden sind. Man müßte unbedingt doch zu einer gewissen Zeit des Einsetzens der Regeneration, also wahrscheinlich in den frühesten Stadien fließende Übergänge, die sich von Stufe zu Stufe feststellen ließen, zwischen Epithelzellen und Bindegewebszellen nachweisen können. Davon haben wir aber nichts gesehen, auch Zwischenstufen und stärkere protoplasmatische Verbindungen zwischen beiden ließen sich an keiner Stelle nachweisen, obwohl wir die besten Protoplasmafärbungen, die in der histologischen Technik zur Zeit zur Verfügung stehen, in Verwendung brachten. Die Epithelzellen zeigten immer, auch wenn sie vereinzelt und losgedrängt von ihrem Verband zu finden waren, eine wohl charakterisierte Eigenschaft, die sie immer als solche erkennen ließen, nämlich eine verdickte Außenzone des Protoplasmas, die man entweder mit der Heidenhainschen, Giemsa'schen oder Hellschen Färbung in deutlicher Weise zur Darstellung bringen konnte, während sie den Hornhautkörperchen und den Bindegewebsbildnern vollkommen fehlt. Wir wollen nicht in Abrede stellen, daß sich in diesen frühen Stadien bei der Durchmusterung zahlreicher Schnitte wohl manchmal eine Zelle fand, deren Charakter sich nicht ohne weiteres feststellen ließ, aber uns erscheint es nicht angängig, auf Grund solcher doch sehr vereinzelt bleibender Erscheinungen, die dazu mehr zufälliger Natur sind und sich keineswegs bei jedem einzelnen Objekt nachweisen lassen, so weitgehende Schlüsse zu ziehen und daraus eine Verallgemeinerung für das ganze Regenerationsproblem der Hornhaut zu konstruieren. Der Vorgang im Epithel, die Wucherung desselben, die durch direkte Zellteilung vor sich geht, stellt die erste Phase des Regenerationsvorganges dar. Die zweite Phase besteht darin, daß sich zwischen dem eingesenkten Epithel und der Schnittfläche in der Tiefe eine neue Gewebslage bildet, die die Epithellage von ihrer Anlagerung an die Schnittfläche verdrängt und mit der Mehrung des neuen Gewebes diese Lage aus der Schnitttiefe heraushebt. Nun ist ja aus der Entwicklung der Hornhaut bekannt, daß zu einer bestimmten Phase der Entwicklung Protoplasmafortsätze der basalen Epithelschicht bis tief in das Stroma hineingehen können. Es stellen also diese Protoplasmafortsätze nichts Außergewöhnliches dar. Auch deswegen nicht, weil ja, wie bekannt, die Epithelzellen untereinander durch Protoplasmaausläufer in Verbindung stehen. Durch die Untersuchungen von Schuberg (1902) ist zudem dargetan, daß z. B. bei der Haut des Proteus protoplasmatische Verbindungen zwischen basaler Epithelschicht und Bindegewebszellen vorhanden sind. Diese allerfeinsten Verbindungen liegen jenseits der Basalmembran, wie auch bei der Hornhaut, und haben zunächst einmal mechanische Bedeutung, indem sie eine feste Verankerung der basalen Schicht des Epithels mit dem unterliegenden Stroma des Bindegewebes gewährleisten. Ob sie

aber auch eine nutritive Funktion besitzen und ein gewisses Regulativ für den architektonischen Aufbau des Epithels darstellen, indem sie auch teilweise Nerven als Bahnen dienen, entzieht sich unserer Beurteilung. Jedenfalls aber sind diese Fußenden sehr fein, so daß man sie überhaupt nur mit besten Methoden zur Darstellung bringen kann. Gewöhnliche Färbemethoden versagen da vollkommen. Sie kommen für das vorliegende Problem unseres Erachtens gar nicht in Frage, obwohl sie sich gerade bei der Regeneration, wo die Zellen doch weiter auseinandergezogen sind und selbst ein succulenteres Verhalten zeigen, am deutlichsten nachweisen lassen.

Daß dabei, nachdem sich ursprünglich das Epithel reichlich vermehrt hat, wiederum eine Reduktion desselben mit Notwendigkeit eintreten muß, ist wohl außer allem Zweifel. Dieses bietet aber dem Verständnis keine besonderen Schwierigkeiten, da wir doch wissen, daß fortgesetzt an der Haut wie an der Hornhaut verhornte Epithelien abgestoßen werden. Es kann die Vermehrung des neugebildeten Gewebes derart sein, daß nicht nur ein Ausgleich geschaffen wird, sondern sogar ein Überschuß vorhanden ist, und das Epithel hügelartig emporgehoben wird. Es ist hierbei verfänglich und naheliegend, daran zu denken, daß, weil das Epithel sozusagen wieder durch diesen Proliferationsprozeß in die Höhe gehoben wird und dadurch an Menge verliert, Epithelzellen als Bindegewebsbildner von der Epithellage abgegeben werden und dort mit veränderter Funktion subepithelial liegend an der Regeneration des Bindegewebes sich beteiligen. Es dreht sich also die ganze Frage darum, welcher Provenienz das Gewebe ist, welches sich in der Tiefe bildet. Wir vermögen uns den Meinungen insbesondere von Retterer und Salzer nicht anzuschließen, sondern wir müssen vielmehr nicht nur auf Grund unserer Befunde, sondern auch auf eine Reihe wohl beachtenswerter Gründe, die wir im folgenden anführen werden, strikte daran festhalten, daß bei der Epithelregeneration nur Epithel, bei der Bindegewebsregeneration nur Bindegewebszellen, die unseres Erachtens nach lediglich Abkömmlinge des Hornhautparenchyms sind, in Frage kommen. Wenn Salzer meint, daß man noch niemals an den fixen Hornhautkörperchen Vermehrungserscheinungen gefunden hat, so müssen wir dem direkt widersprechen. Hanke hat ja bereits in seiner Abhandlung gezeigt, daß an den fixen Hornhautkörperchen Mitosen nachzuweisen sind, wenn auch Bilder für die Möglichkeit einer direkten Zellteilung sprechen. Die Abbildungen, die er gibt, zeigen solche in großer Reichhaltigkeit. Da wir ein anderes Objekt benutzt haben, so mag es vielleicht sein, daß gerade die indirekte Kernteilung in unseren Bildern verhältnismäßig selten aufgetreten ist, aber nachweisen ließ sie sich ohne allen Zweifel. Bekanntlich färben sich nach Held und Heidenhain nicht nur die chromatische Substanz, sondern

auch die achromatische Spindel mit den Polkörperchen, deren Nachweis den sichersten Anhaltspunkt für das Vorhandensein einer indirekten Kernteilung abgibt. Weit mehr in den Vordergrund treten Bilder, die wir nicht anders als direkte Kernteilung, ja als Kernfragmentierung aufzufassen vermögen. Sie treten vornehmlich in den oberflächlichen Schichten der Hornhaut auf. Durch beides ist wohl außer aller Frage gestellt, daß eine rege Vermehrung der fixen Hornhautkörperchen stattfindet. Diese Bilder betreffen unseres Erachtens weit zum größten Teil die ehemals fixen Hornhautkörperchen. Man kann deutlich beobachten, wie diese Hornhautkörperchen in protoplasmatischem Zusammenhang stehen, diesen allmählich verlieren, auch in der Längsrichtung ein Bedeutendes einbüßen und gegen den Schnitt zu in lebhafter Vermehrung und Wanderung erscheinen. Wenigstens vermögen wir bei der Durchmusterung vieler Schnitte keine andere Deutung für diese Erscheinungen zu geben, die sich dem Beobachter darbieten, wenn man vom Hornhautrande her die einzelnen Hornhautschnitte, auf das Verhalten der Parenchymzellen besonders Obacht gebend, bis zur Schnittstelle durchmustert. Daß dann die Zellen, nachdem sie ihre protoplasmatische Verbindung aufgegeben haben, vielfach in den Schnitt hineinandern, konnten wir sehr oft beobachten. Allerdings stellen wir durchaus nicht in Abrede, daß die im Schnittlumen befindlichen Zellen noch in reger Vermehrung begriffen sind, aber schon frühzeitig kann man an ihnen die erste Fibrillenbildung feststellen. Wie diese vor sich geht, ist durch die Arbeiten von Spuler und Flemming über die normale Entwicklung des Bindegewebes endgültig dargetan worden, die speziell der Hornhaut von Wolfrum. Daß dabei die Zellen aus einem Ruhezustand, in dem sie offenbar nur der Erhaltung und Ernährung des Parenchymgewebes dienen, in einen mehr aktiven Zustand der Teilung und der Gewebsproduktion übergehen, ist eine Erscheinung, die sie mit sämtlichen Bindegewebszellen unter gleichen Verhältnissen gemeinsam haben. Wir wollen an dieser Stelle auch darauf hinweisen, daß es sich ziemlich gleich verhält, ob man scharfe Defekte mit dem Messer setzt, oder ob man die Regenerationsvorgänge an komplizierteren Wunden studiert, sei es, daß es sich um infizierte Wunden oder um Geschwüre an der Hornhautoberfläche handelt. Wie die Untersuchungen von Hertel (1902) an Hornhautgeschwüren ergeben haben, treten auch hier schon während des entzündlichen Stadiums und auch bei der Regeneration des Gewebes die amitotischen Teilungen in den Zellen auf, genau so, wie bei der Heilung unkomplizierter Wunden. Wir halten es an dieser Stelle für wichtig, auf die neuen Arbeiten von Fischl (1920) aufmerksam zu machen, der durch seine Experimente klar dargetan hat, daß unter dem Einfluß der sich entwickelnden sekundären Augenblase die Hornhaut ihre besondere Eigenschaft der Durchsichtigkeit

erhält, die sie als optisches Organ wertvoll macht. Während bei Beseitigung der sekundären Augenblase nicht diese besonderen Eigenschaften entwickelt, sondern sich in ähnlicher Weise, wie die Haut mit Schleim und Pigmentzellen verhält. Die Hornhaut ist also ein den besonderen Verhältnissen angepaßtes, modifiziertes Bindegewebe. Es ist nicht einzusehen, warum sie die Eigenschaften, die sonst dem Bindegewebe zukommen, verloren haben soll. Dies gilt speziell für die Hornhautparenchymzellen. Es ist gar kein Grund vorhanden, diesen besondere Eigenschaften zuzuschreiben, die sie etwa in weitgehender Weise von Bindegewebszellen unterscheiden.

Um überhaupt bei der Frage der Regeneration der Hornhautgrundsubstanz das Epithel von seiner regenerierenden Funktion auszuschließen, haben wir noch eine andere Versuchsreihe, und zwar am Kaninchenauge angelegt. Wir ließen dabei die vordere Fläche der Hornhaut ganz intakt, gingen mit einem scharfen Discissionsmesser am Rande der Hornhaut ein und schnitten bis zu verschiedener Tiefe die Hornhaut-hinterfläche durch, niemals aber so, daß es zu einer perforierenden Verletzung kam. Wir behalten uns vor, die Resultate dieser Untersuchungsreihe, da sie ein besonderes Interesse beanspruchen, in einer besonderen Arbeit, wie schon oben erwähnt, niederzulegen, zumal da sie auch in anderer Hinsicht uns bemerkenswert erscheinen.

Über die Regeneration der Descemet und des Endothels wollen wir deshalb nur einige kurze Bemerkungen machen. Die Neubildung der Descemet geht, wie sich schrittweise verfolgen läßt, von den alten Endothelzellen aus, die zunächst einmal am Schnitttrand unter Vermehrung sich anhäufen, ganz allmählich die Hinterfläche des Schnittes mit dem in ihm gebildeten Gewebe überwuchern, um dann zu einem viel späteren Zeitpunkt als dem der eigentlichen Narbenbildung langsam eine homogene Membran zu bilden. Es hat sich bei genauen Untersuchungen gezeigt, daß diese von Anfang an nicht rein homogen angelegt wird, sondern ein mehr streifiges Aussehen zeigt. Wir wollen hier nicht entscheiden, ob es sich um lamelläre Lagerungen handelt oder um Fibrillenbildung. Es läßt sich darüber auch mit den allerbesten histologischen Methoden zunächst keine sichere Entscheidung bringen.

Zum Schlusse betrachten wir es als eine angenehme Pflicht, Herrn Geheimrat Sattler, unter dessen Leitung die Arbeit begonnen wurde, und Herrn Geheimrat Hertel, nach dessen Übernahme der Klinik sie zu Ende geführt wurde, für das dargebrachte Interesse unsern besten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

1) Atsuhiko-Masugi, Experimentelle Untersuchungen über den Heilungsprozeß bei perf. und nichtperf. Hornhautwunden. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk.

1, 731. 1901. — ²) Bach-Seefeldler, Atlas der Entwicklungsgeschichte des menschlichen Auges. 1912. — ³) Ballowitz, E., Über das Epithel der Membrana elastica posterior usw. Arch. f. mikr. Anat. **56**, 330. 1900. — ⁴) Barfurth, D., Zur Regeneration der Gewebe. Arch. f. mikr. Anat. **37**, 406. 1891. — ⁵) Becker, O., Atlas der topographischen Anatomie des Auges. Wien 1874. — ⁶) Bonnefont-Lacoste, Recherches histologiques sur la grette cornéenne autoplatique. Arch. d'ophtalmologie 1913, S. 213. — ⁷) Donders, Holländische Beiträge zu der anatomischen und physiologischen Wissenschaft **1**, 1848. Zit. nach Reich. — ⁸) Ewetzki, Th. v., Über das Endothel der Membrana Descemetii. Separatdruck in Eberth, Untersuchungen aus dem pathologischen Institut in Zürich, 1875, S. 89. Zit. nach Marchand. — ⁹) Fischl, A., Beiträge zur Biologie der Pigmentzelle. Anatomische Hefte Abt. 1, Heft 174, S. 5. 1920. — ¹⁰) Flemming, W., Beiträge zur Kenntnis der Zelle usw. Arch. f. mikr. Anat. **16**, 302 und **18**, 152. 1878—1880; Über das Verhalten des Kernes bei der Zellteilung usw. Virchows Archiv **77**, 1. 1879; zur Entwicklungsgeschichte der Bindegewebsfibrillen. Internationaler Beitrag zur wissenschaftlichen Medizin. Festschrift für R. Virchow. I. Abt., 1891, S. 291. — ¹¹) Gepner, B., Beiträge zur Frage der glashäutigen Neubildungen auf der Linsenkapsel und der Descemetischen Membran. Graefe, Arch. f. Ophthalmol. **36**, 4, S. 255. 1890. — ¹²) Germani, Sul processi di riparazioni delle ferite antiche delle cornea. Rivista ital. di ottalm. 1907, S. 4. Ref. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. **45**, 413. 1907. — ¹³) Güterbock, P., Studien über die feineren Vorgänge bei der Wundheilung per primam intentionem an der Cornea. Virchows Archiv **30**, 404. 1879. — ¹⁴) Gussenbauer, C., Über die Heilung per primam intentionem. Hornhautwunden. Arch. f. klin. Chir. **13**, 792. 1781. — ¹⁵) Hanke, V., Studien über die Regeneration des Hornhautgewebes und die wahre Natur der Keratoblasten. Arch. f. Ophthalmol. **89**, 250. 1915. — ¹⁶) Hertel, E., Zur pathologischen Anatomie der Cornea. Heidelberger Gesellschaft **29**, 59. 1902. — ^{16b}) Hertel, E., Über eitriges Keratitis beim Menschen. Arch. f. Ophthalm. **53**, 316. 1902. — ¹⁷) Marchand, F., Der Prozeß der Wundheilung mit Einschluß der Transplantation. 1901, S. 241. — ¹⁸) Neese, E., Über das Verhalten des Epithels bei der Heilung von Linear- und Lanzennesserswunden in der Hornhaut. Arch. f. Ophthalmol. **33**, Abt. 1, S. 1. 1887. — ¹⁹) Nußbaum, E., Fortgesetzte Untersuchungen über spontane und künstliche Teilung der lebendigen Substanz. Sitzungsbericht der niederrhein. Gesellschaft für Natur- und Heilkunde zu Bonn 1885. Zit. nach Weinstein. — ²⁰) Peters, A., Über die Regeneration des Endothels der Cornea. Arch. f. mikr. Anat. **33**, 153. 1889, darin von Peters zit., Regeneration des Epithels der Cornea. Inaug.-Diss. Bonn 1885. — ²¹) Ranvier, L., Recherches expérimentales sur la mécanique de la cicatrisation des plaies de la cornée. Arch. d'Anatomie microsc. T. II, S. 44 und 177. 1888. — ²²) Reich, M., Über die Regeneration der Hornhaut. Klin. Monatsbl. f. Augenheilk. **11**, 197. 1873. — ²³) Retterer, Sur la cicatrisation des plaies de la cornée. Journ. de Anat. et Physiol. norm. et Pathol. 1903, S. 453. — ²⁴) Rustick, Zur Lehre über die Wundheilung der Hornhaut. Kiew 1870. Zit. nach Weinstein. — ²⁵) Salzer, Über die Regeneration der Kaninchenhornhaut. Arch. f. Augenheilk. **69**, **70**, **71**. 1911 und 1912. — Vergleichende anatomische Studien über die Regeneration und Wundheilung der Hornhaut. Arch. f. Augenheilk. **99** S. 61. 1915. — ²⁶) Schottländer, J., Über Kern- und Zellteilungsvorgänge in dem Endothel der entzündeten Hornhaut usw. Arch. f. mikr. Anat. **31**, 426. 1888. — ²⁷) Schuberg, A., Über Zellverbindungen, vorläufiger Bericht. Verhandlungen des naturhistorisch-medizinischen Vereins zu Heidelberg **7**, Heft 1, S. 395. 1902. — ²⁸) Spuler, A., Beiträge zur Histogenese und Histologie der Binde- und Stützsubstanz. Anatomische Hefte **7**, 115. 1896. — ²⁹) Vossius, A., Über das Wachstum und die

physiologische Regeneration des Epithels der Cornea. Arch. f. Ophthalmol. **27**, 225. 1881. — ³⁰⁾ Wagenmann, A., Zur Anatomie des dünnhäutigen Nachtstars nebst Bemerkungen über die Heilung der Wunden der Descemetischen Membran. Arch. f. Ophthalmol. **37**, 21. 1891; Neubildung von glashäutiger Substanz an der Linsenkapsel und an der Descemetischen Membran. Arch. f. Ophthalmol. **35**, 172. 1889. — ³¹⁾ Weinstein, A., Experimentelle Untersuchungen über den Heilungsprozeß bei perforierenden Schnittwunden der Hornhaut. Arch. f. Augenheilk. **48**, 1. 1903. — ³²⁾ Wolfrum, M., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Cornea der Säuger. Inaug.-Diss. Erlangen 1902. — ³³⁾ Wyss, H. von, Über Wundheilung der Hornhaut. Virchows Archiv **69**, 24. 1877. — ³⁴⁾ Ziegler, E., Untersuchungen über pathologische Bindegewebs- und Gefäßneubildung. Würzburg 1876. Zit. nach Marchand, Über die Regeneration verletzter Gewebe. Referat. XIII. internat. med. Kongreß in Paris 1900. Dtsch. med. Wochenschr. Nr. 45, S. 783; Über die Ursachen der pathologischen Gewebsneubildung. Internationale Beiträge zur wissenschaftlichen Medizin. Festschrift für R. Virchow Bd. 2, S. 21. 1891.
