

Zu den Epithelveränderungen der fleckförmigen Hornhautdystrophie (Groenouw II)

I. Süveges

Augenklinik der Universität Debrecen (Direktor: Prof. Dr. B. Alberth), Debrecen, Ungarn

Contribution to the Changes in the Epithelium in Macular Corneal Dystrophy (Groenouw's Type II)

Summary. In macular corneal dystrophy the epithelial cells display increased activity: they produce proteins and glucosaminoglycans. This may lead to the synthesis of collagen and of pathologic proteoglycans.

Zusammenfassung. Bei den fleckförmigen Hornhautdystrophie zeigen die Epithelzellen eine erhöhte Aktivität: sie produzieren Proteine und Glycosaminoglycanen. Dies soll zu Kollagen- und pathologischer Proteoglycan-Synthese führen.

Bei dieser dystrophischen Form der Substantia propria corneae wurde festgestellt, daß dabei auch eine Störung des Mukopolysaccharidstoffwechsels in der Hornhaut vorhanden ist (Klinthworth und Vogel, Morgan, Offret und Mitarb., Herrmann und Meythaler, Hanselmeyer und Roll, Hanselmeyer und Mitarb.). In den Hornhautschichten treten extra- und intrazellulär Speicherstoffe auf, deren größter Teil wahrscheinlich aus Keratan-sulfat besteht (Garner, Süveges, Francois). Die Epithelveränderungen wurden von den Autoren meist als sekundäre Erscheinungen infolge der Schädigung des Hornhautstromas aufgefaßt. Francois und Mitarb. und Graf und Mitarb. teilten mit, daß einzelne Epithelzellen Vacuolen mit fibrillärem, granulärem Inhalt enthalten.

Material und Methode

Es wurden 5 mittels perforierender Keratoplastik gewonnene Hornhautläppchen (7 mm) verarbeitet. Die Läppchen wurden halbiert, eine Hälfte in 4 %-iger neutraler Formollösung, die andere, mit einem Rasiermesser abgetrennte Hälfte in 4 %iger gepufferter Glutaraldehydlösung 4 Std lang fixiert. Nach der Nachfixation in 1 %-iger Osmiumsäurelösung erfolgte die Entwässerung und Einbettung in Epon 812. Die Dünnschnitte wurden mit einem LKB-Ultramikrotom angefertigt und mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert. Die Aufnahmen erfolgten mit einem Jeol 100 B Elektronenmikroskop.

Nach der Formalinfixierung haben wir histochemische und polarisationsoptische Untersuchungen durchgeführt. Für den Nachweis der sulfatierten Glycosaminoglycanen (GAG) haben wir 0,1 %-ige Toluidinblau-Lösung bei pH-Wert von 3,2 mit verschiedener $MgCl_2$ Konzentrationen (0,2 – 1,0 Mol) verwendet (Süveges). Die kollagen-spezifische Phenolreaktion wurde mit einem Polarisationsmikroskop von Zeiss-Jena (Amplival pol. u) untersucht.

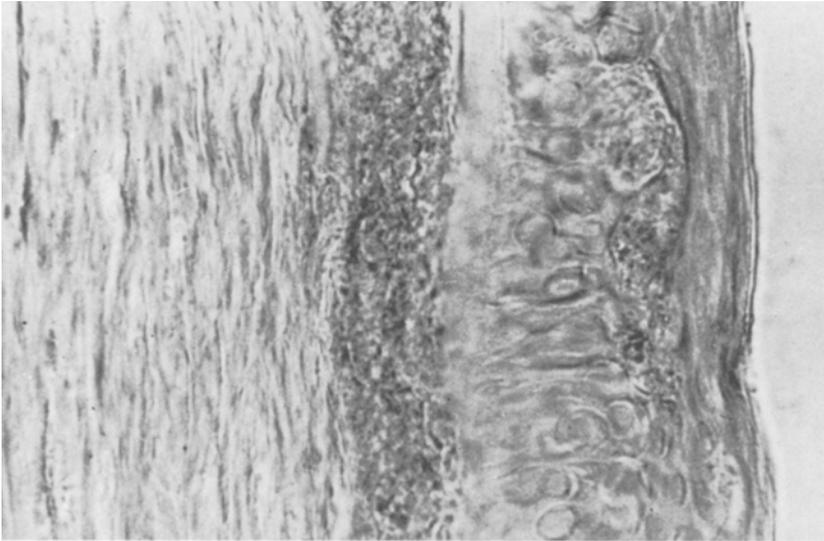


Abb. 1. In den Epithelzellen und interzellulär befindet sich ein den Stromaablagerungen ähnliches Material. Toluidinblau-Färbung mit 1,0 Mol $MgCl_2$ Konzentration, 320fach

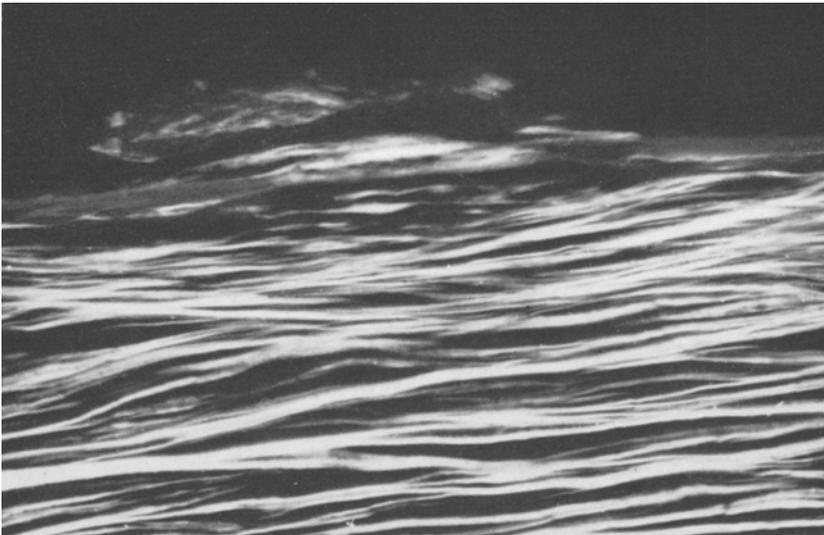


Abb. 2. Im Epithelbereich kann man Kollagenfasern sehen. Phenolreaktion, polarisationsoptische Aufnahme, 320fach

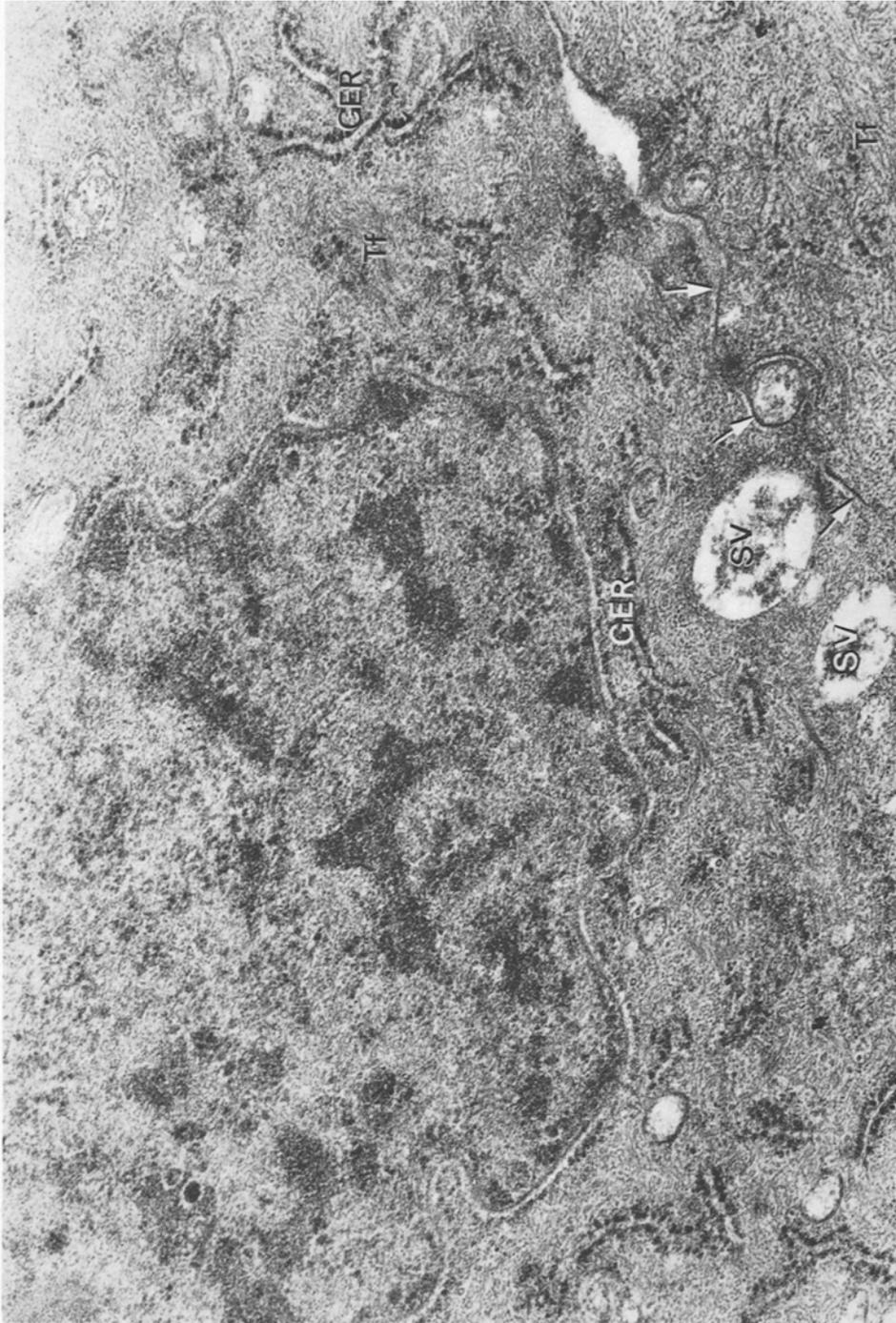


Abb. 3. Das gut ausgeprägte granuläre endoplasmatische Reticulum (GER) ist in den Epithelzellen sichtbar. In Zellmembrannähe (Pfeile = Zellmembran) befindet sich einzelne Sekretionsvacuole (SV). Tf = Tonofilamente. Orig.-Vergr. 36720

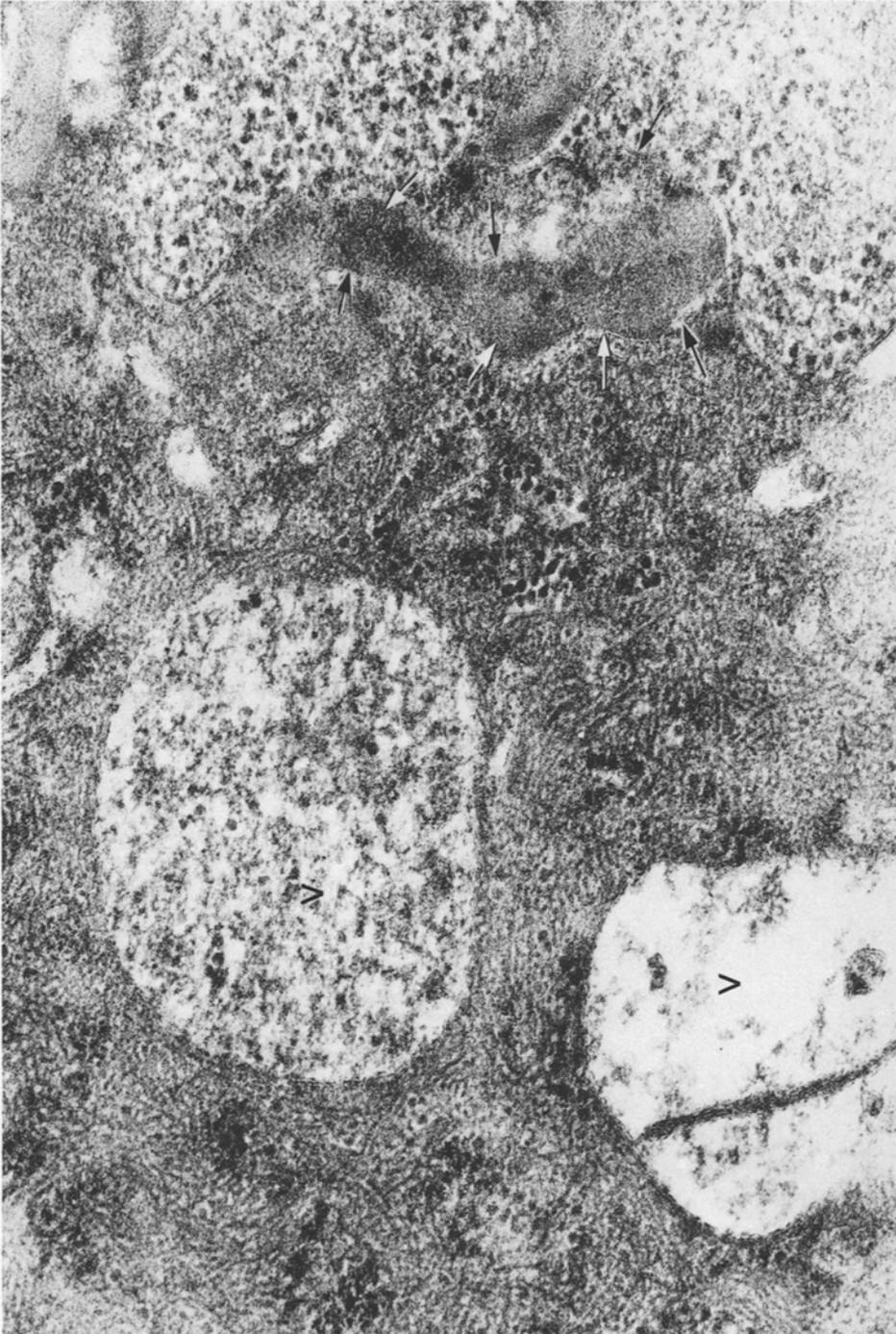


Abb. 4. Die Vacuolen (V) enthalten feinfilamentiertes, granuliertes Material. Interzellular ist ebenfalls feingranulierter Stoff sichtbar (Pfeile).
Orig.-Vergr. 71 280

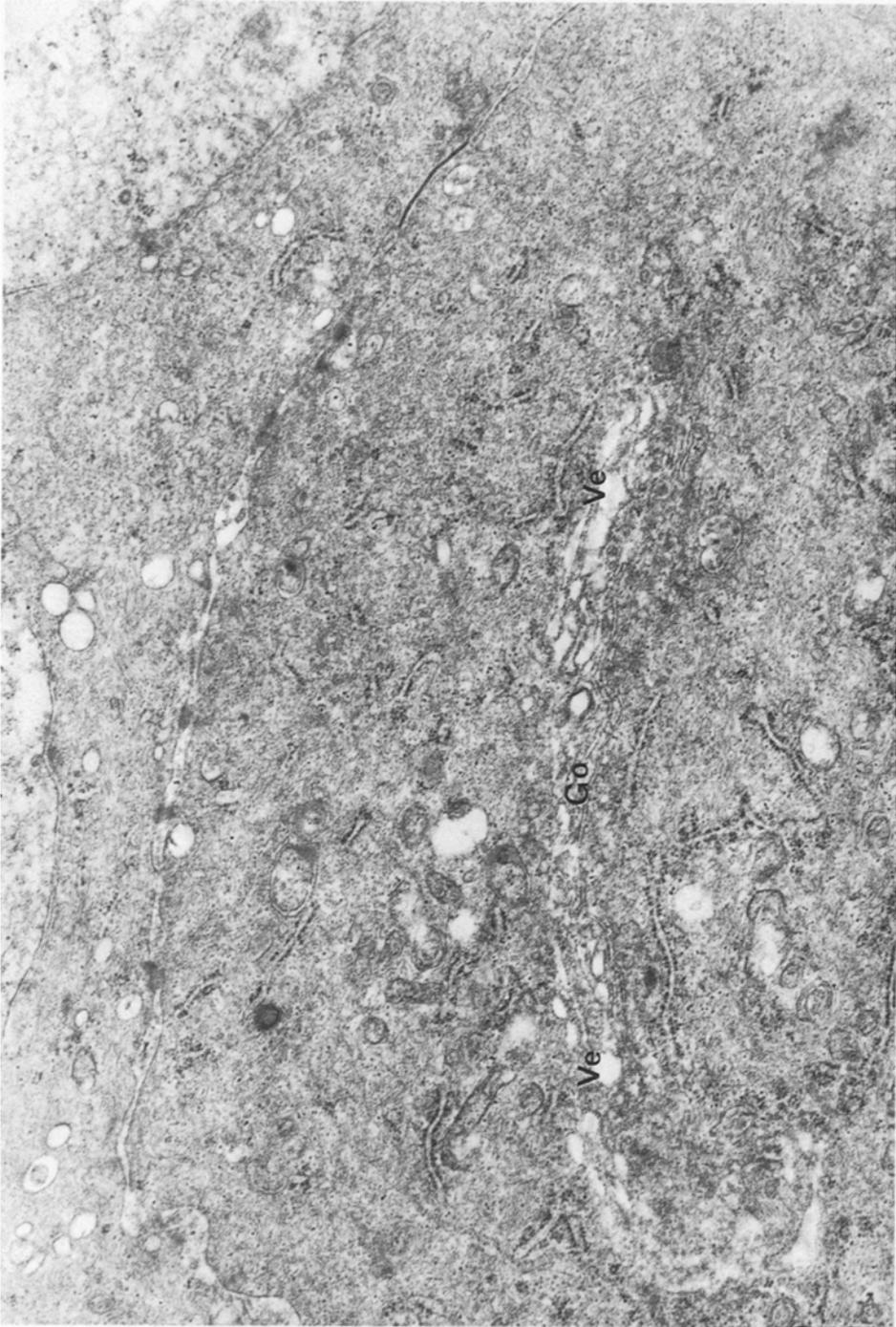


Abb. 5. Neben den schmalen Lamellen des Golgi-Systems (Go) befinden sich ebenfalls erweiterte Vesiceln (Ve), Orig.-Vergr. 8000

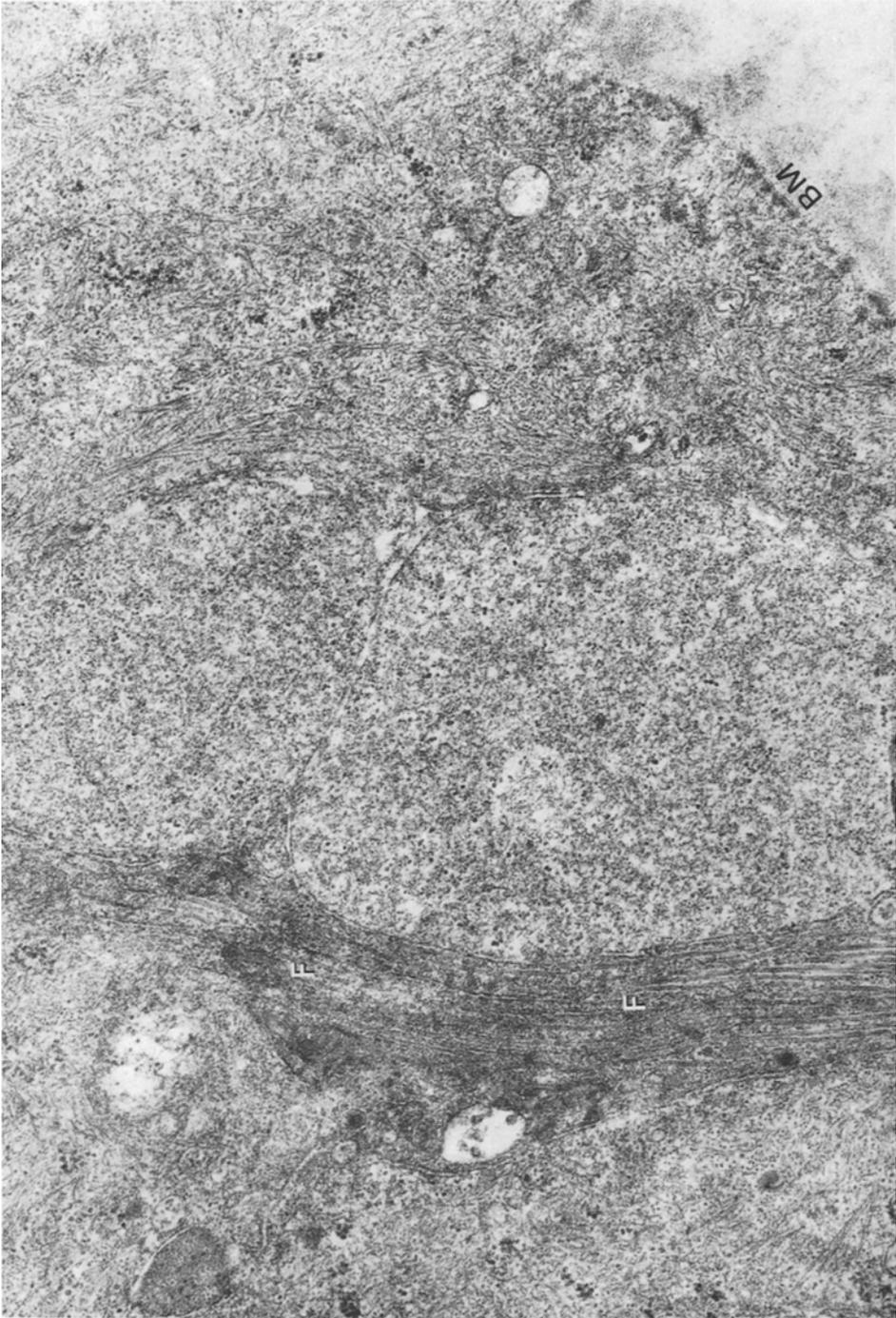


Abb. 6. Unter den Basalzellen sind Fibrillen (F) sichtbar, die an der Grenze der Beobachtung von Querstreifung liegen. *Bm* = Basalmembran. Orig.-Vergr. 21 600

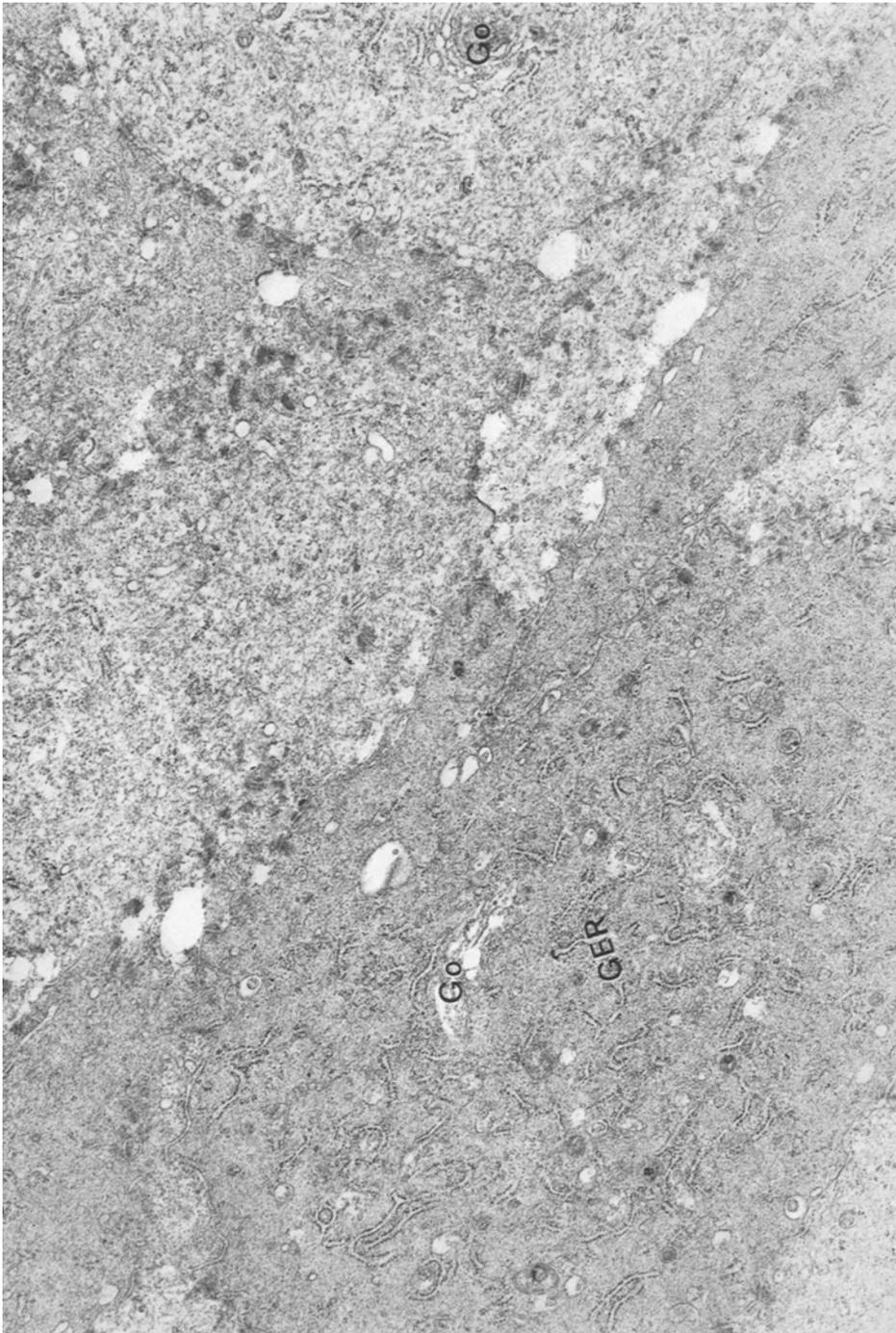


Abb. 7. Die Polygonalzellen zeigen ebenfalls erhöhte Aktivität. Sie enthalten zahlreich GER und Golgi-System (Go). Orig.-Vergr. 10 800

Befunde

Die histochemischen Untersuchungen ergaben, daß nicht nur im Stromabereich und in den Endothelzellen, sondern auch in den Epithelzellen saure GAG existieren (Abb. 1). Die positive Phenolreaktion war ein Beweis dafür, daß Kollagenfasern auch im Epithelbereich vorhanden sind (Abb. 2).

Die elektronenoptischen Bilder waren — entsprechend der Epithelzell-Schichten — verschieden.

Die Basalzellen zeigen eine erhöhte Aktivität; sie besitzen ein zahlreiches granuläres endoplasmatisches Reticulum (GER) (Abb. 3). An den Stellen, wo große Mengen von GAG unter dem Epithel liegen, haben die Zellen Vacuolen mit verschiedenartigem Inhalt. Ein Teil dieser Vacuolen kommt vom GER, liegt in Kernnähe und enthält meist feingranuliertes Material. Die Vacuolen, die vorwiegend in Zellmembrannähe Platz nehmen, besitzen gröbere Granula und feine Filamente (Abb. 4). Einige Vesiceln gehören zu dem Golgi-Apparat (Abb. 5). Diese haben einen fast homogenen Inhalt mit spärlicher Elektronendichtung. Die Vacuolen sind mit einer Doppelmembran begrenzt, sie fließen aber zelloberflächlich zusammen und verlieren ihre Membranen. Interzellulär befindet sich feingranuliertes Material, das den Stromaablagerungen ähnlich ist. Das granulär-filamentöse Material kann das Zellplasma ganz ausfüllen. Unter den Basalzellen beobachtet man feine Fasern, die teilweise eine dem nativen Kollagen spezifische Querstreifung zeigen (Abb. 6).

Polygonale Zellen zeigen ebenfalls eine Zellaktivität: das gut ausgeprägte GER und Golgi-System spricht dafür (Abb. 7). Die Vacuolen sind kleiner, aber sie haben ein den Basalzellen ähnliches Bild. Die Interzellularräume sind manchmal stark verbreitet und enthalten das erwähnte granulär-filamentöse Material.

Die oberflächlichen Zellen sind mitunter völlig zerstört. Interzellulär und an der Hornhautoberfläche befindet sich das typische Material abgelagert.

Besprechung

Die fleckförmige Hornhautdystrophie (Groenouw II) ist eine Erkrankung des Hornhautstromas (Bietti). Die Trübungen in den Hornhautschichten werden durch ein von hypersekretorischen Keratozyten produziertes pathologisches Proteoglycan verursacht. Die Rolle des Epithels ist bei diesem Prozeß nicht ganz klar. Neben unspezifischen degenerativen Epithelveränderungen, die durch die größeren subepithelialen Plaques hervorgerufen sind, ist auch eine aktive sekretorische Tätigkeit erkennbar. Die aktiven Epithelzellen liegen meist dort, wo auch eine dystrophische Membran existiert (d.h. eine aus Kollagenfasern bestehende Membran zwischen Epithel und Bowmanscher Membran). Auf die synthetische Aktivität der Zellen weisen das gut ausgeprägte GER und das Golgi-System hin. Sie bedeuten entweder eine erhöhte Proteinsynthese, oder eine Polysaccharidsynthese, eventuell gleichzeitig beide. Diese zwei Stoffe können zu

1. einer Kollagenfasersynthese,
2. einer charakteristischen pathologischen Proteoglycan-Sekretion dienen.

ad 1. Die Fähigkeit des Hornhautepithels, Kollagenfasern zu synthetisieren, ist laut Ontogenese seit langem bekannt (Kessler). Das azelluläre primäre Hornhautstroma der Hühnerembryonen ist ein Folgeprodukt des Epithels (Hay und Revel, Trelstad, 1970; 1971; Trelstad und Coulombre). Durch verschiedene Tierversuche wurde bewiesen, daß das reife Epithel auch Kollagen synthetisieren kann (Leuenberger und Mitarb., Gnädiger und Leuenberger). Im Falle eines Regenerationsprozesses ist für die Formation die Basalmembran verantwortlich (Blümcke und Mitarb., Kenyon).

In unseren Fällen sind die positive Phenolreaktion und die mit dem Elektronenmikroskop sichtbar gemachten Kollagenfasern ein Beweis dafür, daß Epithelzellen zur Entstehung der dystrophischen Membran beitragen. Die Fibrillen unter den Epithelzellen haben einen Durchmesser von 200–250 Å. Die Ursache der nur teilweise erkennbaren Querstreifung kann die Reifestufe der Fasern sein: sie sind mit ihrem Durchmesser an der Grenze der Beobachtbarkeit der Querstreifung. Es gibt aber wahrscheinlich auch eine weitere Ursache: der normale Präzipitationsprozeß der Kollagenfasern wird durch die für die Krankheit charakteristische Keratansulfat-Überproduktion gehemmt. Eine andere Wirkung von Keratansulfat könnte die Hemmung der weiteren GAG-Produktion sein, die für die Kollagenpräzipitation ebenfalls nötig ist (z. B. Chondroitinsulfat). Dies wurde laut Ontogenese der Hühnerembryonen schon von Meier und Hay bewiesen.

ad 2. Die in den Epithelzellen histochemisch nachweisbaren GAG-en bestehen hauptsächlich aus Keratansulfat. Es gibt zwei Möglichkeiten, wobei dieses Material in den Zellen und interzellulär vorkommen kann: entweder durch eine Phagozytose aus der benachbarten Stroma, oder durch eine Synthese durch Epithelzellen. Gegen Phagozytose spricht das elektronenoptische Bild: Man kann in den Zellen kaum Lysosomen beobachten. Das gut entwickelte Golgi-System, teilweise mit erweiterten Vesiceln und einem feingranulierten Material, kann eine Sekretion von GAG bedeuten. In manchen Vacuolen und auch interzellulär ist ein ähnliches Material sichtbar, wie in den Keratozyten, die GAG produzieren.

Der Weg der durch die Zellen sezernierten Materialien ist wahrscheinlich ähnlich wie bei anderen Sekretionszellen: GER, Golgi-System, Sekretionsvacuolen, extrazelluläre Räume.

Literatur

- Bietti, G.B.: The dystrophic-degenerative changes of the cornea. In: The Cornea World Congress, pp. 107–120 (J.H. King, McTigue, eds.). Washington: Butterworths 1965
- Blümcke, S., Rode, J., Niedorf, H.R.: Formation of the Basement membrane during regeneration of the corneal epithelium. *Z. Zellforsch.* **93**, 84–92 (1969)
- François, J.: Heredofamiliäre Hornhautdystrophien. *Ber. d. Ophthalm. Ges.* **LXXI**, S. 171–222 München: Bergmann 1972
- François, J., Hanssens, H., Teuchy, H., Sebruyens, M.: Ultrastructural findings in corneal macular dystrophy / Groenouw II Type / . *Ophthal. Res.* **7**, 90–98 (1975)
- Garner, A.: Histochemistry of corneal macular dystrophy. *Invest. Ophthal.* **8**, 475–483 (1969)
- Gnädiger, M.C., Leuenberger, P.M.: Zur Frage der Kollagensynthese durch corneales Epithel. II. *Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp. Ophthal.* **187**, 183–200 (1973)

- Graf, B., Pouliquen, Y., Frouin, M.A., Faure, J.P., Offret, G.: Cytochemical study of macular dystrophy of the cornea (Groenouw II): an ultrastructural study. *Exp. Eye Res.* **18**, 163–169 (1974)
- Hanselmeyer, H., Roll, P.: Zit. in Hanselmeyer, H., Roll, P., Hofmann, H.: Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp. Ophthalm. **198**, 161–169 (1976)
- Hanselmeyer, H., Roll, P., Hofmann, H.: Zur Ultrastruktur der fleckförmigen Hornhautdystrophie (Groenouw II): Untersuchung der parazentralen tiefen Hornhautschichten. *Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp. Ophthalm.* **198**, 161–169 (1976)
- Hay, E.D., Revel, J.P.: Fine structure of the developing avian cornea. In: *Monographs in Developmental Biology* (A. Wolsky, P.S. Chen, eds.). Basel: Karger 1969
- Herrmann, J., Meythaler, H.: Licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen bei Dystrophia corneae maculosa. *Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp. Ophthalm.* **181**, 165–178 (1971)
- Kenyon, K.R.: The synthesis of basement membrane by the corneal epithelium in bullous keratopathy. *Invest. Ophthalm.* **8**, 156–168 (1969)
- Kessler, L.: *Zur Entwicklung des Auges der Wirbeltiere*. Leipzig: Vogel 1877
- Klinthworth, G.K., Vogel, F.S.: Macular corneal dystrophy. An inherited acid mucopolysaccharide storage disease of the corneal fibroblast. *Amer. J. Path.* **45**, 565–586 (1966)
- Leuenberger, P.M., Gnädiger, M.C., Cabernard, E.: Zur Frage der Kollagensynthese durch corneales Epithel. I. *Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp. Ophthalm.* **187**, 171–182 (1973)
- Meier, S., Hay, E.D.: Stimulation of extracellular matrix synthesis in the developing cornea by glycosaminoglycans. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* **71**, 2310–2313 (1974)
- Morgan, G.: Macular dystrophy of the cornea. *Brit. J. Ophthalm.* **50**, 57–67 (1966)
- Offret, G., Payrau, P., Pouliquen, Y., Faure, J.P., Bisson, J.: La structure fine de certains dystrophies cornéennes. *Arch. Ophthalm. (Paris)* **26**, 171–181 (1966)
- Süveges, I.: A macularis corneadegeneratio / Groenouw II / hisztokémiai és polarizációs mikroszkópos vizsgálata. *Szemészet* **109**, 57–62 (1972)
- Trelstad, R.L.: The Golgi apparatus in chick corneal epithelium: Changes in intracellular position during development. *J. Cell. Biol.* **45**, 34–42 (1970)
- Trelstad, R.L.: Vacuoles in the embryonic chick corneal epithelium, an epithelium which produces collagen. *J. Cell. Biol.* **48**, 689–694 (1971)
- Trelstad, R.L., Coulombre, A.J.: Morphogenesis of the collagenous stroma in the chick cornea. *J. Cell. Biol.* **50**, 840–858 (1971)

Eingegangen am 12. Februar 1977