

Nicht einzeln im Buchhandel käuflich

Sonderdruck aus „Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde“

Redigiert von Fritz Hollwich

164. Band, 1. Heft, 1974

Ferdinand Enke/Verlag/Stuttgart

Die Bruchsche Membran und ihr Strukturwandel nach Krypexie

I. Kreissig, H. Lincoff

Univ.-Augenklinik Bonn (Direktor: Prof. Dr. W. Best) New York Hospital-Cornell Med. Center, New York

Herrn Professor Dr. H. K. Müller zum 75. Geburtstag gewidmet

Klin. Mbl. Augenheilk. 164 (1974) 71-89
© F. Enke Verlag, Stuttgart

Zusammenfassung: Nach Histologie der normalen 5schichtigen Bruchschen Membran wird ihr Strukturwandel nach verschiedenen starken Krypexieeinwirkungen anhand von 212 Krypexieläsionen über einen Zeitraum von 3 Jahren hin verfolgt. Nach kryogener Schädigung kann einmal die innere Lamina basalis der Bruchschen Membran erhalten bleiben. Das angrenzende Pigmentepithel wird durch ein Neuroepithel mit hemidesmosomenartigen Verdichtungen an seiner basalen Plasmamembran ersetzt. Es bleibt die horizontale Trennung von neuroektodermalem und mesenchymalem Gewebe gewahrt. Bei stärkerer kryogener Schädigung kommt es zu Defekten in der Lamina basalis interna und zur Infiltration von Neuroepithel zwischen die Kollagenfaserschichten der Bruchschen Membran und die der Chorioidea. Es erfolgt ein „cross-over“ von neuroektodermalem und mesenchymalem Gewebe. Bei der Vernarbung werden zahlreiche Fibroblasten in der Bruchschen Membran und Chorioidea gefunden; es werden neue Kollagenfasern gebildet. Die fibroblastische Aktivität ist zwischen der 4. und 7. Woche beendet. Wenn Neuroepithel – wahrscheinlich von Müllerschen Zellen abstammend – die Bruchsche Membran infiltriert und in die inneren Anteile der

Bruch's membrane and its structural changes after cryopexis

Summary: Departing from the normal histology of the fivefold laminated Bruch's membrane, its structural change after subjecting it to cryopexis lesions of varying intensity is traced through three years in 212 experimental cases. In one instance, after cryogenic injury, the inner lamina basalis of Bruch's membrane persisted. The adjoining pigmentary epithelium is substituted by neuroepithelium with hemidesmosome-like compactations at its basal plasma membrane. The horizontal separation of neuro-ectodermal from mesenchymal tissue is retained. More severe cryogenic lesions result in damage to the lamina basalis interna and in an infiltration of neuroepithelium between the collagenous fiber layers of Bruch's membrane and those of the choroid. A "cross-over" takes place of neuro-ectodermal and mesenchymal tissue. Upon cicatrization numerous fibroblasts are found in Bruch's membrane and in the choroid; new collagenous fibers develop. Fibroblastic activity ends between the 4th and 7th week. In the event that neuroepithelium – probably stemming from Mueller's cytoplasm – should infiltrate Bruch's membrane and reach the

Chorioidea vordringt, kann selbst 2 bis 3 Jahre nach Krypexie noch eine gewisse Zellaktivität angenommen werden. Als Folge der Krypexieeinwirkung wird die 5schichtige chorioretinale Grenzschicht, die Bruchsche Membran, durch ein weniger differenziertes fibröses Narbengewebe ersetzt oder – nach stärkerer kryogener Schädigung und Entstehen von Defekten in der Lamina basalis interna – sogar Teil eines kontinuierlichen chorioretinalen Narbengewebes. Es ist kaum anzunehmen, daß durch die alterierte Bruchsche Membran ein nennenswerter Metabolitenaustausch stattfindet oder die frühere Transparenz besteht.

I. Einführung

Die Bruchsche Membran stellt keine Membran im anatomischen Sinne dar, sondern setzt sich aus 5 verschiedenen Schichten zusammen. Sie ist also eine hochdifferenzierte Grenzschicht zwischen Chorioidea und Retina (Abb. 1a u. b). Entwicklungsgeschichtlich hat sie zwei verschiedene Ursprünge. Sie wird einerseits vom Mesoderm (Chorioidea) und andererseits vom Neuroektoderm (Pigmentepithel) gebildet. In ihrer Topographie weist sie eine gewisse Symmetrie auf. In ihrem Zentrum hebt sich als histologisch markante Struktur die Lamina elastica hervor. Zu beiden Seiten dieser

inner parts of the choroid, cell activity of a certain degree can be assumed to be present even as long as two to three years after cryopexis. As a result of applying cryopexis the fivefold laminated chorioretinal separating layer, *Bruch's* membrane, is substituted by a less differentiated fibrous scar tissue or – after more intensive cryogenic injury and development of defects in the lamina basalis interna – *Bruch's* membrane even becomes part of a continuous chorioretinal scar tissue. It can hardly be assumed that any considerable metabolite exchange through the altered *Bruch's* membrane should take place, nor that its primary transparency should still exist.

Zentralstruktur sind zwei Schichten angeordnet.

Die normale Bruchsche Membran setzt sich somit aus folgenden 5 Schichten zusammen (Abb. 1c):

1. Lamina basalis interna,
2. innere Kollagenfaserschicht,
3. Lamina elastica,
4. äußere Kollagenfaserschicht,
5. Lamina basalis externa.

Sowohl zur Retina bzw. zum Pigmentepithel hin als auch zur Choriocapillaris hin befindet sich eine Lamina basalis.

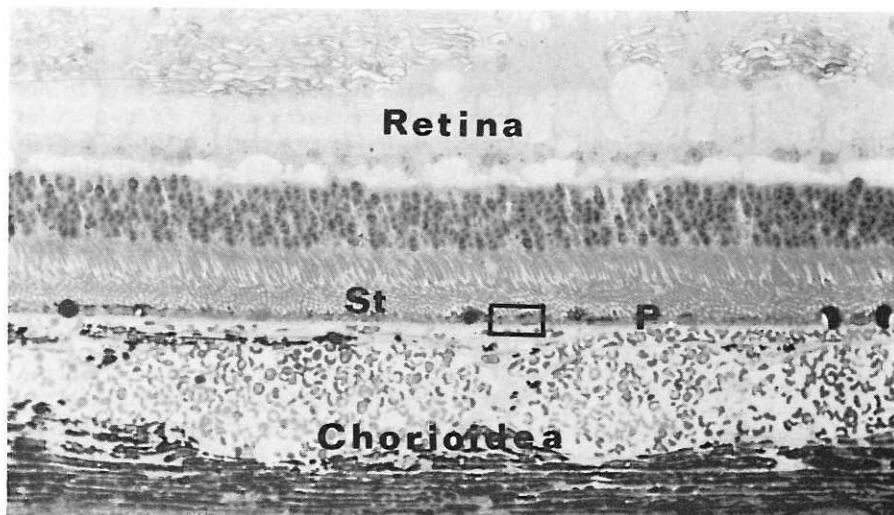


Abb. 1a Im Viereck dieser Abbildung befindet sich die Bruchsche Membran. Sie liegt zwischen der Retina und der Chorioidea. Dieser Bezirk ist in Abb. 1b vergrößert dargestellt. P = Pigmentepithel, St = Stäbchen (Vergr. 80 × 5, Toluidin-Blau).

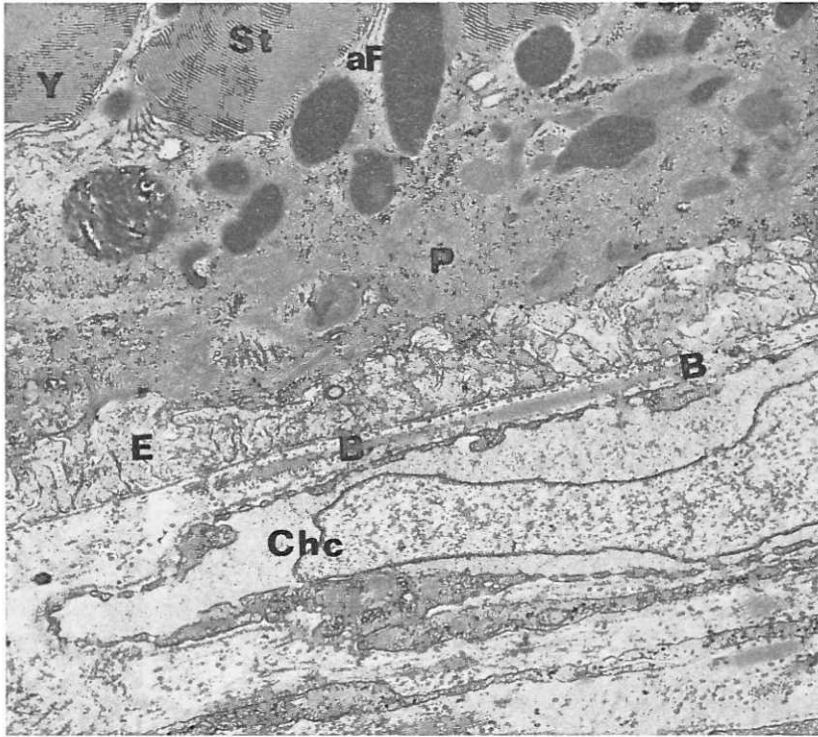


Abb. 1b Normale Retina: Die apikalen Fortsätze (aF) des Pigmentepithels (P) umfassen die Stäbchen der sensorischen Retina. Es ist eine deutliche horizontale Schichtung der Meyeloidscheibchen (Y) in den Stäbchen zu erkennen. Die Bruchsche Membran (B), die in Abb. 1c vergrößert dargestellt ist, ist von den basalen Einfaltungen (E) des Pigmentepithels und dem Endothel der Choriocapillaris (Chc) begrenzt (Vergr. 3360fach, elektronenmikroskopisch).

Das an die Lamina basalis interna anschließende Pigmentepithel weist an seiner Oberfläche zahlreiche Einfaltungen auf. Im allgemeinen betrachtet man das als Anzeichen für aktiven Flüssigkeitstransport in Epithelzellen (Pease 1956). An die Lamina basalis externa grenzt das Endothel der Choriocapillaris an. Es besteht aus einer äußerst dünnen Schicht mit nur wenig Zytoplasma. Das Endothelzytoplasma erscheint in fast regelmäßigen Abständen wie unterbrochen. Man nennt diese Zytoplasmalücken Fenestrationen. In diesen Zytoplasmalücken befindet sich eine Gewebsbrücke, die Diaphragma genannt wird (Abb. 1c). Diese Strukturen lassen auf einen regen Metabolitenaustausch schließen, der vermutlich von der Choriocapillaris in Richtung zur Bruchschen Membran stattfindet.

Erwähnenswert ist hierbei, daß die Kerne der Endothelzellen hauptsächlich auf der Seite des Kapillarlumens angeordnet sind, die der Chorioidea zugewandt ist. Das wird weiter dazu beitragen, den Stoffwechselaustausch durch die Kapillarwand in Richtung Retina zu erleichtern.

II. Ultrastruktur der Bruchschen Membran nach Kryopexie

1. Material und Methode

Zur Klärung der Strukturveränderungen in der Bruchschen Membran nach Kälteeinwirkung wurden 212 verschieden starke Kryopexieherde von 106 Kaninchenaugen licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Bei den Versuchstieren handelte es sich um rote Neuseelandkaninchen mit einem Gewicht von 2 bis 3 kg. Um die Ergebnisse miteinander vergleichen zu können, wurden die

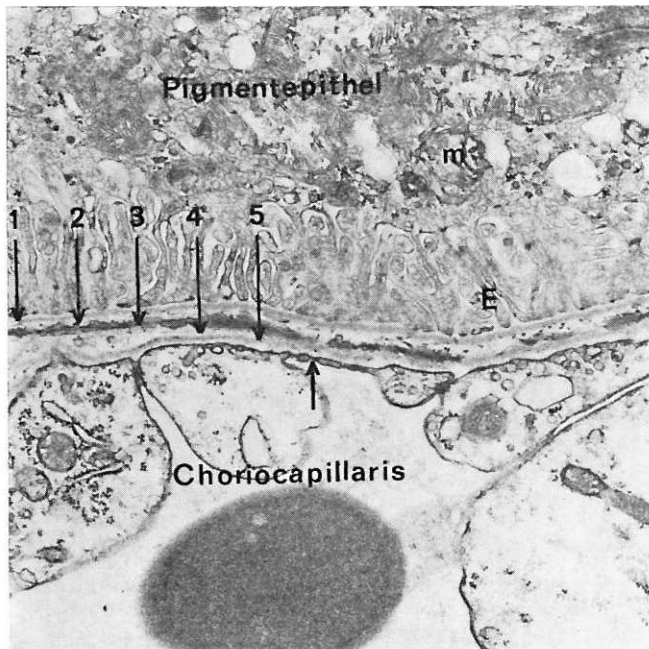


Abb. 1 c Normale Bruchsche Membran: Sie wird vom retinalen Pigmentepithel (Ektoderm) und Chorioidea (Mesoderm) gebildet. Sie besteht aus 5 Schichten: 1 = Lamina basalis interna, 2 = innere Kollagenfaserschicht, 3 = Lamina elastica, 4 = äußere Kollagenfaserschicht, 5 = Lamina basalis externa. Das Pigmentepithel besitzt zur Bruchschen Membran hin zahlreiche Mitochondrien (m) und basale Einfaltungen (E); die Choriocapillaris zeigt im angrenzenden Endothel zahlreiche Fenestrationsen (s. freier Pfeil), die durch ein Diaphragma verschlossen sind (Vergr. 23 900fach, elektronenmikroskopisch).

Läsionen an gleichen Netzhautstellen angeordnet, nämlich je eine Läsion am Ende der markhaltigen Nervenfasern. Von jedem Tierauge konnten somit 2 Krypexieherde histologisch untersucht werden. Alle Läsionen wurden unter ophthalmoskopischer Kontrolle durch die Konjunktiva hindurch appliziert. Es wurden zwei Dosierstärken angewandt: eine mittelstarke und eine starke (Lincoff u. Mitarb. 1968, 1969, 1970, Kreissig u. Mitarb. 1971).

Die mittelstarke Krypexiedosierung wurde so definiert, daß die Kryode so lange belassen wurde, bis sich die Retina eben weiß färbte. Nach Entfernen des Stillettes verschwand das Weiß im Bereich der Netzhaut, und es war statt dessen ein zartes Grau zu erkennen.

Bei der starken Applikation wurde die Kryode so lange belassen, bis sich die Retina 3 sec lang weiß färbte. Nach Entfernen des Stillettes blieb ein weißopaquer Herd zurück.

Für die Krypexieapplikationen wurde das Linde-Instrument mit dem von Lincoff (1964) entworfenen Stilet benutzt. Dieses Gerät bot im Gegensatz zu den anderen zur Verfügung stehenden Instrumenten (Frigitronics, Keeler) die Möglichkeit, eine bestimmte Temperatur im voraus zu wählen und außerdem bei jeder Krypexieapplikation die angewandte Temperatur und Zeit durch einen angeschlossenen Vielfach-

schreiber zu registrieren. Bei allen Versuchen hatten wir die Temperatur auf -30°C eingestellt, die Einwirkungszeit lag zwischen 2 bis 10 sec.

Der Zeitpunkt der Enukleation nach der Kälteeinwirkung variierte zwischen 5 min und 3 Jahren. Im einzelnen wurde die Gewebsreaktion aufgrund der Kälteeinwirkung nach 5 und 15 Minuten, nach 1, 2, 4, 6, 9 und 12 Tagen untersucht; danach im Abstand von je einer Woche von 2 bis 20 Wochen und anschließend in einem 4monatigen Intervall von $1\frac{1}{2}$ Jahr bis zu 3 Jahren.

2. Histologische Ergebnisse

Die Auswirkungen einer mittelstarken und einer starken Krypexieeinwirkung auf die Bruchsche Membran und die angrenzende Choriocapillaris unterscheiden sich nur in wenigen Punkten, so daß die wesentlichen Veränderungen zusammengefaßt werden können.

Direkt nach der Einwirkung einer Krypexieapplikation zeigt die Choriocapillaris Stasis und Kongestion; in einigen Bezirken befindet sich sogar eine Nekrose der Kapillarwand. Man sieht einen Austritt von Serum und eine Migration von Blutzellen in das umgebende

Abb. 2 Bruchsche Membran direkt nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Kon-
gestion und Stasis der Chorio-
capillaris (Chc) und Chorio-
ideagefäße; stellenweise
Austritt (s. Pfeile) von Serum
und einigen Blutzellen in
das umgebende Gewebe.
P = Pigmentepithel,
B = Bruchsche Membran
(Vergr. 160×7 , Toluidin-
Blau).

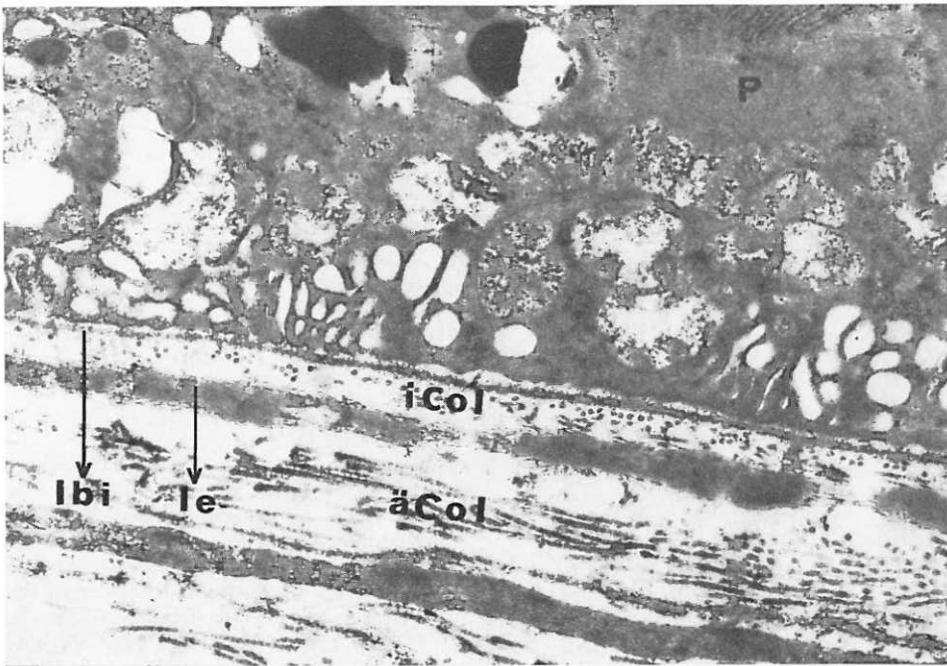
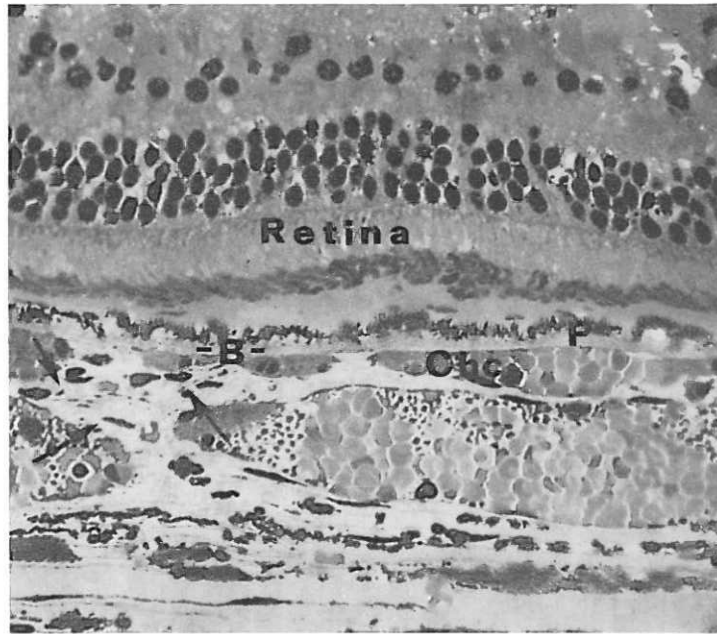


Abb. 3 Bruchsche Membran einen Tag nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Das auffälligste
Zeichen ist ein Ödem, das mehr in der äußeren Kollagenfaserschicht (äCol) und weniger in der inneren
Kollagenfaserschicht (iCol) lokalisiert ist. Lamina basalis interna (lbi) und Lamina elastica (le) sind
intakt. P = Pigmentepithel (Vergr. 21 100fach, elektronenmikroskopisch).

Gewebe. Die Kapillaren können durch die Kälteeinwirkung thrombosieren (Abb. 2).

Das auffallendste Zeichen am ersten Tag ist ein Ödem, das vorzugsweise in der äußeren Bindegewebsschicht der Bruchschs Membran lokalisiert ist. Die Lamina basalis interna und die Lamina elastica sind intakt geblieben (Abb. 3).

Auch noch am 4. Tag ist das Ödem in den Bindegewebsschichten der Bruchschs Membran deutlich vorhanden. Die angrenzenden Kapillaren erscheinen – wie in Abb. 4 zu sehen ist – kollabiert; stellenweise findet man an ihrer Stelle Bindegewebsstrukturen. Die Lamina basalis externa ist nur in Resten oder gar nicht mehr vorhanden.

Andere Zellen, die in der ungeschädigten Bruchschs Membran von *Leeson und Leeson* (1967) als Fibrozyten bzw. Fibroblasten beschrieben wurden, sind jetzt in größerer Zahl

vorhanden. Diese Zellen stammen wahrscheinlich von perivaskulären Bindegewebszellen ab (*Ross u. Odland 1968, Grillo 1963*).

Sie besitzen einen auffallenden Golgi-Apparat und ein ausgeprägtes rauhes endoplasmatisches Retikulum (Abb. 5a). Die Kanälchen sind stark erweitert und an ihrer äußeren Oberfläche dicht mit Ribosomen besetzt (Abb. 5b). Der Reichtum an rauhem endoplasmatischem Retikulum spricht für eine große Zellaktivität. Dies ist auch der Grund dafür, daß die Zellen bei Hämatoxylin-Eosin-Färbung für lichtmikroskopische Untersuchung basophil reagieren. Dicht an der Plasmamembran erkennt man zahlreiche Vesiculac, die eine Exozytose oder Endozytose vermuten lassen (Abb. 6). Zahlreiche Mitochondrien sind im Zytoplasma vorhanden. Die Kerne dieser Zellen sind lang, mit auffallenden Nucleoli und einem feinkörnigen Zytoplasma.

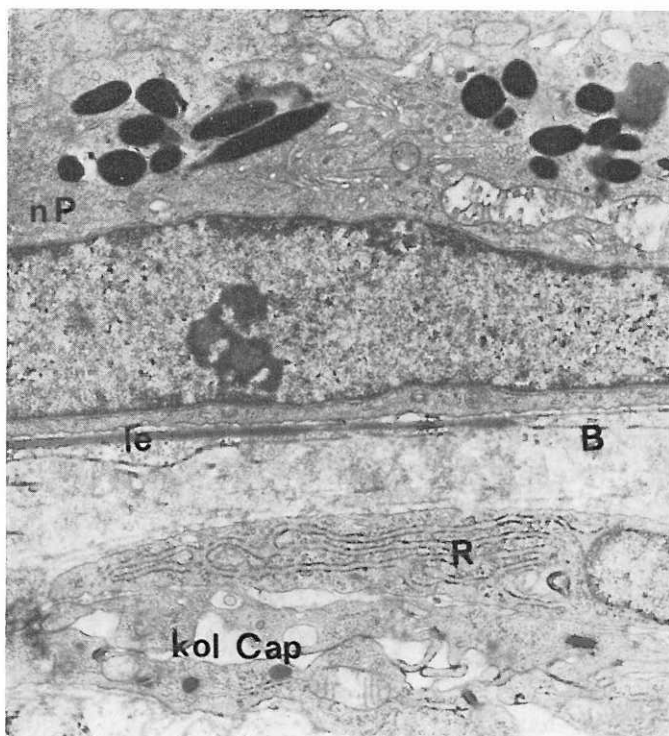
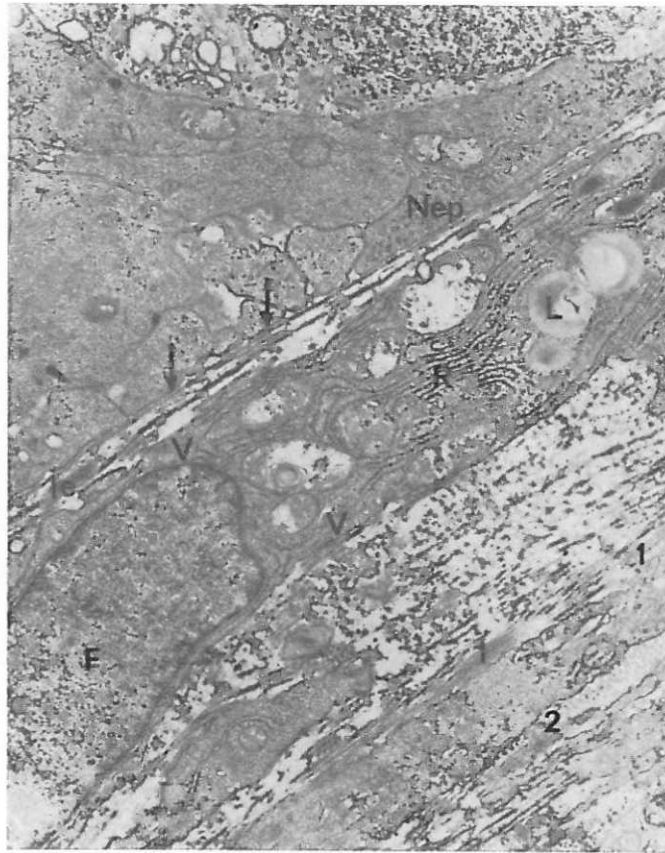


Abb. 4 Bruchsche Membran 4 Tage nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neues Pigmentepithel (nP) ohne basale Einfaltungen bedeckt die Bruchsche Membran (B), in der am deutlichsten die Lamina elastica (le) zu erkennen ist. Das Lumen der Choriocapillaris ist kollabiert (kol. Cap). R = ausgeprägtes rauhes endoplasmatisches Retikulum (Vergr. 13 600fach, elektronenmikroskopisch).

Abb. 5a Bruchsche Membran 4 Tage nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Unterhalb der Lamina elastica (le) ein Fibroblast (F) mit ausgeprägten rauen endoplasmatischen Retikulum (R), Vesiculæ (V) und gelegentlichen Lipoidtropfen (L). Neben den zytoplasmatischen Ausläufern der Fibroblasten Anhäufungen von Mikrofibrillen (1 = im Längsschnitt, 2 = im Querschnitt); freie Pfeile = hemidesmosomenartige Verdichtungen in der basalen Plasmamembran des neuen Neuroepithels (Nep), in dem deutlich Glykogenstrukturen zu erkennen sind (Vergr. 17 400fach, elektronenmikroskopisch).



In der äußeren Bindegewebsschicht der ehemaligen Bruchschen Membran und dem benachbarten Chorioideagebiet sind Anhäufungen von Mikrofibrillen, den Vorläufern der gestreiften Kollagenfasern, zu erkennen. Die Mikrofibrillen sind entlang der zytoplasmatischen Fortsätze der Fibroblasten angeordnet (Abb. 6).

Die Struktur des benachbarten Pigmentepithels hat sich ebenfalls verändert; es besitzt jetzt keine basalen Einfaltungen mehr. Statt dessen grenzen fleckförmig aneinandergereihte zytoplasmatische Fortsätze von undifferenziertem Neuroepithel an die Lamina basalis interna (Abb. 6). Man erkennt umschriebene Verdichtungen in der basalen Plasmamembran des neugebildeten Neuroepithels, das der Lamina basalis und dem

darunterliegenden Bindegewebe zugewandt ist. Bei stärkerer Vergrößerung erscheinen sie wie die Hälfte eines Desmosoms, das – wie wir uns erinnern – die Neuroepithelzellen miteinander verbindet (Abb. 7).

Verdichtungen zwischen Epithel und Bindegewebe wurden erstmals von Weiss und Ferris im Jahre 1954 beschrieben und mit „bobbins“ bezeichnet. Kelly (1966) hat diese Verdichtungen an der Verbindungsstelle von Epidermis und Dermis am Molch studiert und sie Hemidesmosomen genannt; sie sind charakterisiert durch konvergierende Tonofibrillen. Die von uns beobachteten umschriebenen Verdichtungen an der Grenze vom neugebildeten Neuroepithel zu den Kollagenfaser-schichten der Bruchschen Membran hin zeigen aber nicht die von der Epidermis her bekann-

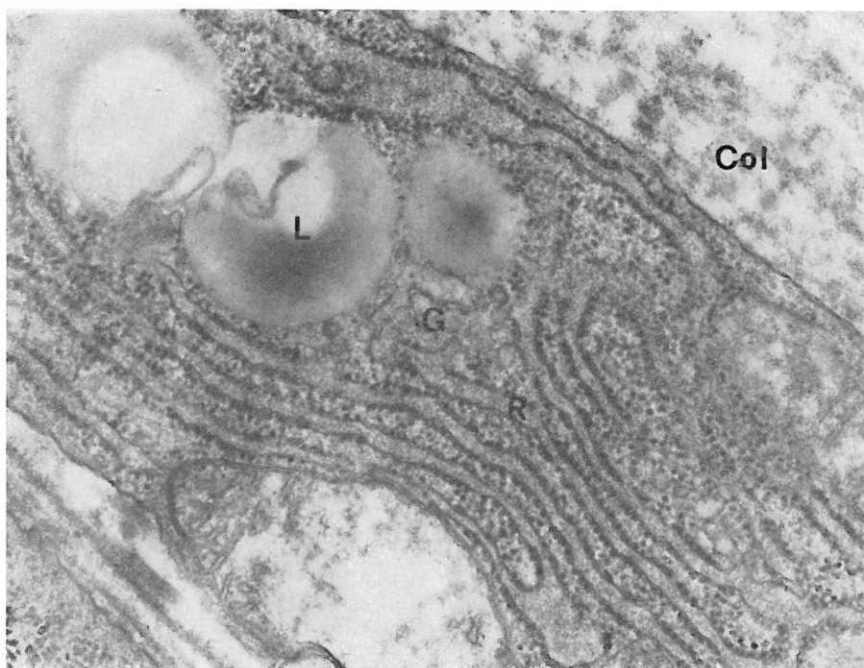


Abb. 5 b Ausschnittvergrößerung (Bezirk R bis L) aus Fibroblastenzytosoma von Abb. 5 a: In diesem äußerst aktiven Fibroblasten sind die Kanälchen des rauhen endoplasmatischen Retikulums (R) so dicht angeordnet, daß sie eine parallele Orientierung erhalten. Deutlich erkennbarer Golgi-Apparat (G). L = Lipidtropfen, Col = umgebende Kollagenfasern (Vergr. 56 600fach, elektronenmikroskopisch).

ten Tonofibrillen. Es muß jedoch erwähnt werden, daß wir auch bei den zwischen den Neuroepithelzellen bereits anerkannten Desmosomen keine Tonofibrillen finden konnten (Abb. 7), wohingegen die Desmosomen in der Epidermis deutliche Tonofibrillen aufweisen (Farquhar u. Palade 1963, 1965).

Nur in ganz wenigen histologischen Schnitten konnten wir elektronenmikroskopisch in der unmittelbaren Umgebung dieser erwähnten Verdichtungen im Bereich der basalen Plasmamembran des neuen Neuroepithels einige Fibrillen im Querschnitt finden. Aus diesem Grunde bezeichnen wir diese von uns beobachteten Verdichtungen als *hemidesmosomenartige Strukturen*. Sie befinden sich in der basalen Plasmamembran des regenerierten Neuroepithels, das an das Bindegewebe angrenzt. Die hemidesmosomenartigen Strukturen erscheinen in unseren histologischen Schnitten

bei den älteren Krypexieläsionen deutlicher erkennbar (Abb. 8).

Am 6. Tag nach der Krypexieeinwirkung hat das Bindegewebsödem abgenommen. Die schon erwähnten Merkmale einer Zellaktivität unterhalb der Lamina elastica bleiben fortbestehen und erreichen am 8. Tag ihren Höhepunkt.

Am 8. Tag ist in den Bindegewebsschichten kaum noch Ödem vorhanden. Auffallend sind jetzt unregelmäßige Verdickungen in der inneren Kollagenfaserschicht, die eine wellige Oberfläche der Lamina basalis interna zur Folge haben. Die neuen Kollagenfasern sind wohl im allgemeinen durch Fibroblasten unterhalb der Lamina elastica gebildet worden (Abb. 9), da nur ausnahmsweise einmal ein Fibroblast in der inneren Kollagenfaserschicht gefunden wird.

Abb. 6 Bruchsche Membran 4 Tage nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neuroepithel (Nep) bedeckt die Bruchsche Membran, von der nur die Lamina elastica (le) deutlich zu erkennen ist. Fibroblast (F) mit ausgeprägtem Golgi-Apparat (G); an manchen Stellen sieht man an der Zellplasmamembran (s. Pfeile) zahlreiche Vesiculæ, die eine Exozytose oder Endozytose vermuten lassen. 1 = Mikrofibrillen im Längsschnitt, 2 = Mikrofibrillen im Querschnitt (Vergr. 26 100fach, elektronenmikroskopisch).

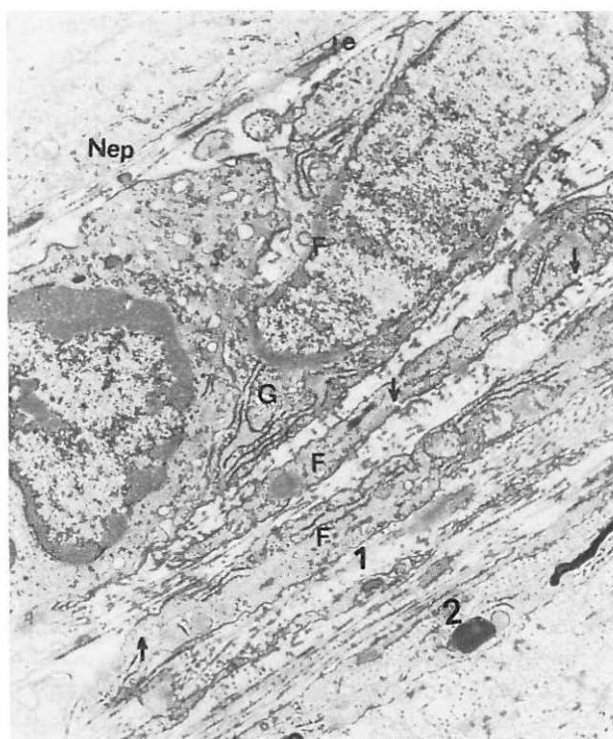
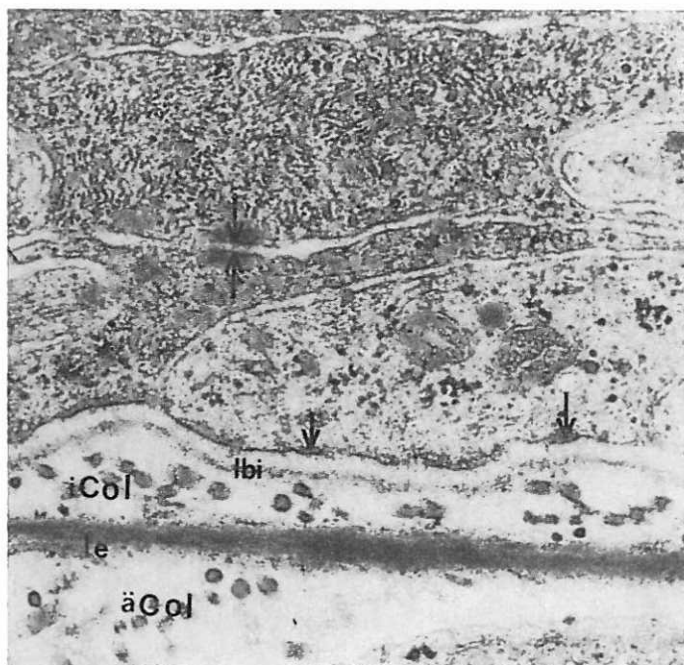


Abb. 7 Bruchsche Membran 4 Wochen nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neuroepithelschichten (Nep) sind miteinander durch Desmosomen (s. senkrecht aufeinanderstehende Pfeile) verbunden. In der basalen Plasmamembran des Neuroepithels, das die Bruchsche Membran bedeckt, sind Verdichtungen (s. 2 horizontal nebeneinanderstehende Pfeile) zu erkennen, die als hemidesmosomenartige Strukturen angesehen werden. Darunter die einzelnen Schichten der Bruchschen Membran: lbi = Lamina basalis interna, iCol = innere Kollagenfaserschicht, le = Lamina elastica und äCol = äußere Kollagenfaserschicht (Vergr. 63 600fach, elektronenmikroskopisch).



In der 2. und 3. Woche nimmt die fibroblastische Aktivität ab.

Bis zur 4. Woche ist die bindegewebige Vernarbung zwischen Bruchscher Membran und angrenzender Chorioidea – wie man in Abb. 10 sieht – im wesentlichen beendet. Die Fibroblasten ober- und unterhalb der Lamina elastica besitzen jetzt weniger Zytoplasma. Das rauhe endoplasmatische Retikulum ist geringer ausgebildet, mit weniger Ribosomen bedeckt und der Golgi-Apparat nicht mehr so ausgeprägt.

Von der ehemaligen fünfschichtigen Bruchschen Membran ist nur noch die Lamina elastica deutlich zu erkennen. Anstelle der Bruchschen Membran und der inneren Schichten der Chorioidea findet man jetzt dichtes Bindegewebe, das viele dünne Zellfortsätze der Fibrozyten enthält. Die Fibrozyten erscheinen zwischen den Kollagenfasern „wie im Gänsemarsch“ hintereinander angeordnet. Entlang der Fibrozytenfortsätze – und zwar

vorzugsweise in der Nähe der Lamina elastica – findet man noch Anhäufungen von Mikrofibrillen. Die Bruchsche Membran ist jetzt Bestandteil eines ausgedehnten fibrösen Gewebes geworden, das sich zwischen dem neugebildeten Neuroepithel der ehemaligen Retina und den erhalten gebliebenen Chorioideagefäßen erstreckt. In diesem Bindegewebe fallen zahlreiche elastische Gewebestrukturen auf. Vermutlich entsprechen sie den elastischen Fasern der Chorioidea, die vor der Krypexieapplikation vorhanden, aber durch die zu diesem Zeitpunkt noch zahlreichen Melanozytenansammlungen verdeckt waren.

Nach 7 Wochen besitzen die Fibroblasten noch weniger Zytoplasma, und ihre Zellfortsätze zwischen den Kollagenfaserschichten erscheinen nur noch als ganz dünne Linien. Es ist keine fibroblastische Aktivität mehr zu erkennen. Es ist anzunehmen, daß die Vernarbung durch die Fibroblasten zwischen der 4. und 7. Woche abgeschlossen ist.

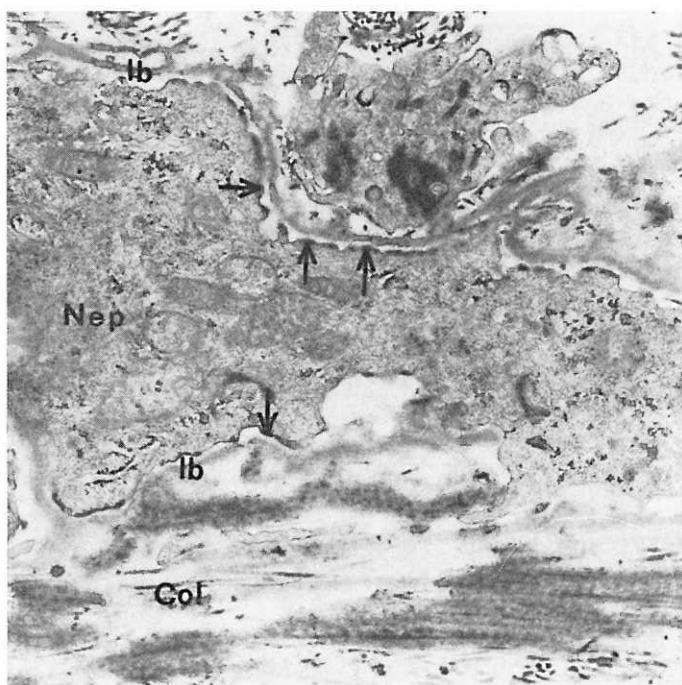


Abb. 8 Bruchsche Membran 3 Jahre nach mittelstarker Krypexieapplikation: Das in die Bruchsche Membran infiltrierte Neuroepithel (Nep) zeigt an seiner Plasmamembran zum Bindegewebe hin (lb = Lamina basalis, Col = Kollagenfasern der Bruchschen Membran) Verdichtungen (vgl. Pfeile). Wir bezeichnen sie als hemidesmosomenartige Strukturen, die in dieser 3 Jahre alten Läsion deutlicher als in einer 4 Wochen alten Läsion (vgl. Abb. 7) hervortreten (Vergr. 23 900fach, elektronenmikroskopisch).

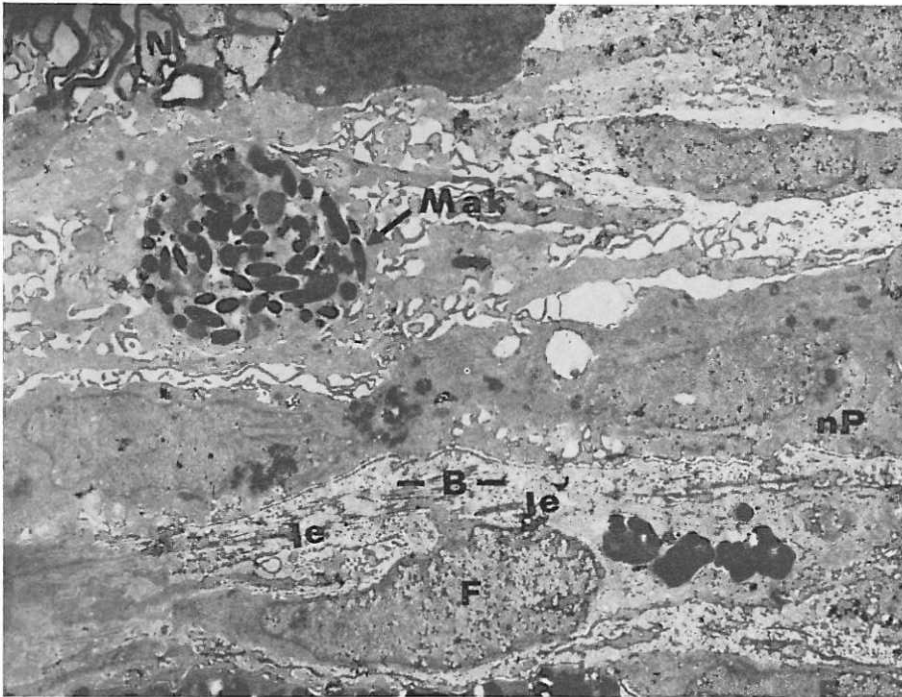


Abb. 9 Bruchsche Membran und Retina 8 Tage nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neues Pigmentepithel (nP) bedeckt die höckrige Bruchsche Membran (B). Die neuen Kollagenfasern sind wahrscheinlich durch Fibroblasten (F) unterhalb der Lamina elastica (le) gebildet worden. In darüberliegender Retina: Pigmentmakrophagen (Mak) und Nervenfaserschicht (N) (Vergr. 6800fach, elektronenmikroskopisch).

In der 4. Woche sehen wir in einigen histologischen Schnitten zum erstenmal, wie Neuroepithel in die Bruchsche Membran eindringt (Abb. 11). In der 7. Woche finden wir ein deutlich abgrenzbares homogenes Zytoplasma unterhalb der Lamina elastica. Es ähnelt dem Neuroepithel, das an die innere Oberfläche der Bruchschen Membran angrenzt. Diese neuen zytoplasmatischen Fortsätze unterhalb der Lamina elastica sind miteinander durch Desmosomen verbunden. Eine Lamina basalis, durch die dieses Zytoplasma noch eher als Neuroepithel in einer mesenchymalen Umgebung identifiziert werden könnte, war zunächst nicht aufzufinden.

In der 9. Woche war dieses Zytoplasma von einer Lamina basalis umgeben (Abb. 12). Die Ausbildung dieser Struktur in Zusammen-

hang mit den Desmosomen läßt vermuten, daß es sich bei diesem neuen Zytoplasma, das die Bruchsche Membran infiltriert hat, um Neuroepithel handelt. Es beschränkt sich zunächst auf die nahe Umgebung der Lamina elastica, d. h. den Bereich der ehemaligen Bruchschen Membran. In der mittleren und äußeren Chorioidea ist dagegen kein Neuroepithel festzustellen; man findet dort lediglich schlanke Fibrozyten zwischen den Kollagenfasern.

In der 11. Woche lassen sich bereits mehrere Neuroepithelschichten zwischen dem Bindegewebe oberhalb und unterhalb der Lamina elastica erkennen. Manchmal sieht man sogar, wie das Neuroepithel durch die Unterbrechungen in der Lamina elastica penetriert (Abb. 13). In den 2jährigen Läsionen kann

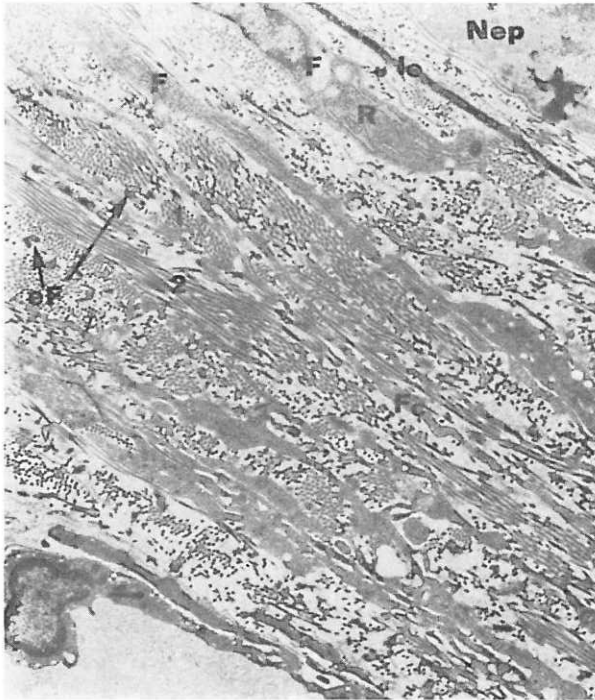


Abb. 10 Bruchsche Membran und innere Chorioidea 4 Wochen nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Die Fibroblasten (F) direkt unterhalb der Lamina elastica (le) haben zu diesem Zeitpunkt weniger raues endoplasmatisches Retikulum (R) als z. B. in Abb. 5 a. Im Bereich der inneren Chorioidea sind keine Melanozyten, sondern nur schmale Fibrozyten (Fc) zwischen gestreiften Kollagenfasern (1 = im Querschnitt, 2 = im Längsschnitt). Dazwischen sind elastische Fasern (eF) verstreut. Nep = Neuroepithel oberhalb der Bruchschen Membran (Vergr. 10 800fach, elektronenmikroskopisch).

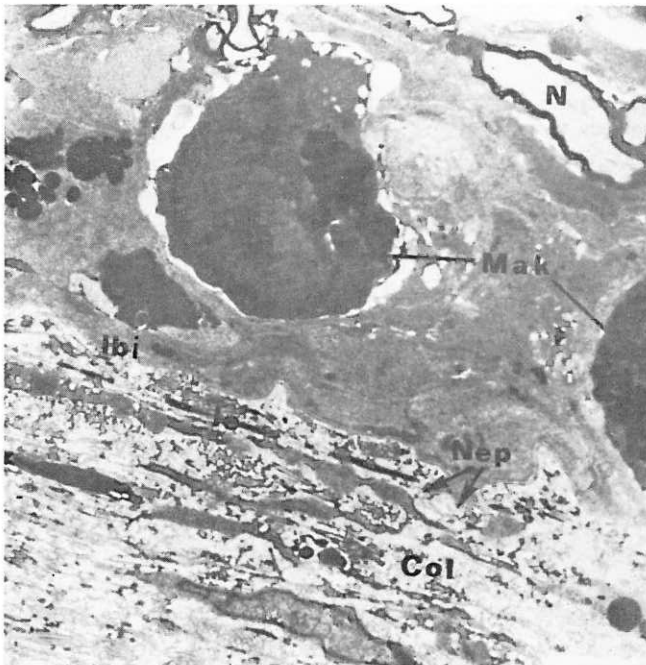


Abb. 11 Bruchsche Membran und Retina 4 Wochen nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neuroepithel (Nep), das Nervenfaserschicht (N) mit Bruchscher Membran verbindet, umschließt einige riesige Pigmentmakrophagen (Mak). Im Bereich der Pfeile penetriert Neuroepithel die Bruchsche Membran über das Niveau der Lamina elastica (le) hinaus in die Kollagenfaserschichten (Col) hinein. lbi = Lamina basalis interna der alterierten Bruchschen Membran (Vergr. 34 800fach, elektronenmikroskopisch).

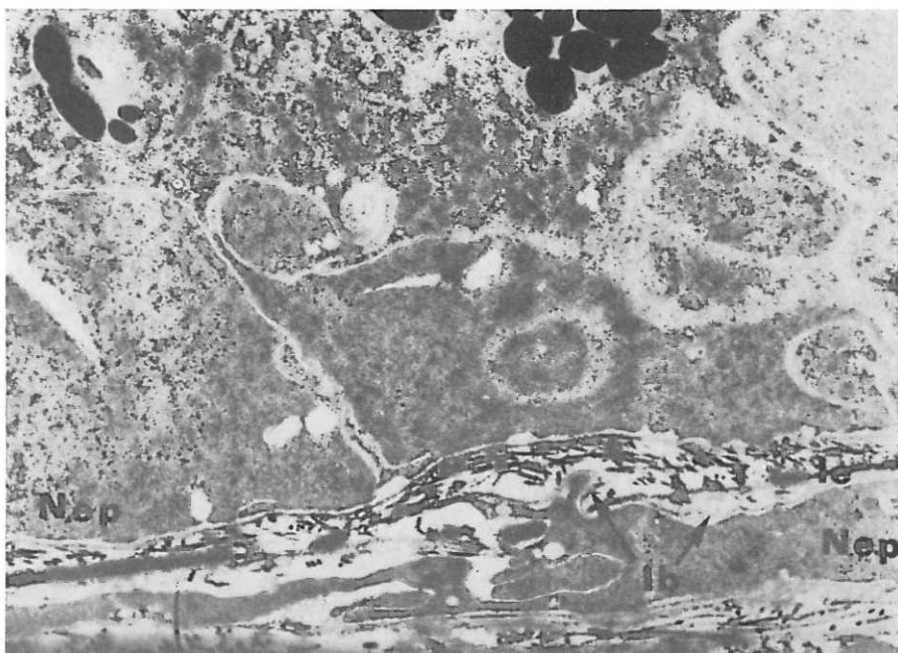


Abb. 12 Bruchsche Membran 9 Wochen nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Wenig differenziertes Zytoplasma, wahrscheinlich Neuroepithel, unterhalb der Lamina elastica (le) hat freie Ribosomen und besitzt stellenweise eine Lamina basalis (lb) zu umgebenden Kollagenfasern hin (Vergr. 17 400fach, elektronenmikroskopisch).

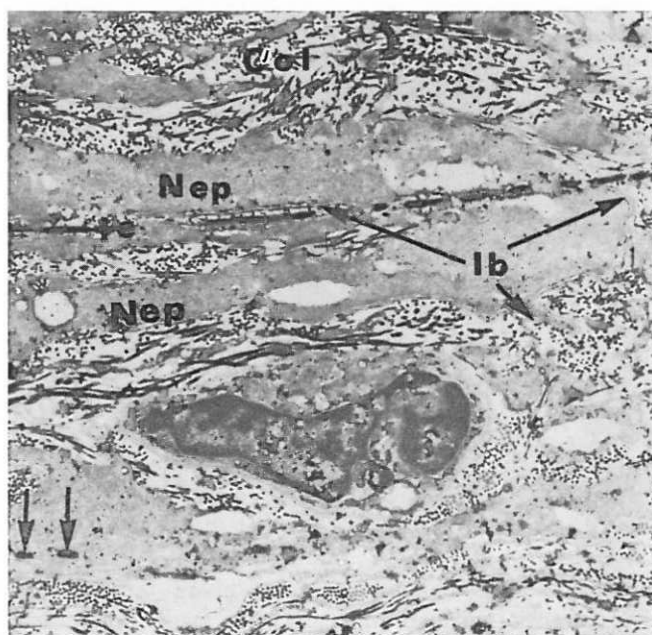


Abb. 13 Bruchsche Membran 11 Wochen nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neuroepithel (Nep) oberhalb und unterhalb der Lamina elastica (le) ist zu den Kollagenfasern (Col) hin durch eine Lamina basalis (lb) abgegrenzt. Die Neuroepithelzellen sind miteinander durch Desmosomen (2 senkrechte Pfeile) verbunden (Vergr. 10 880fach, elektronenmikroskopisch).

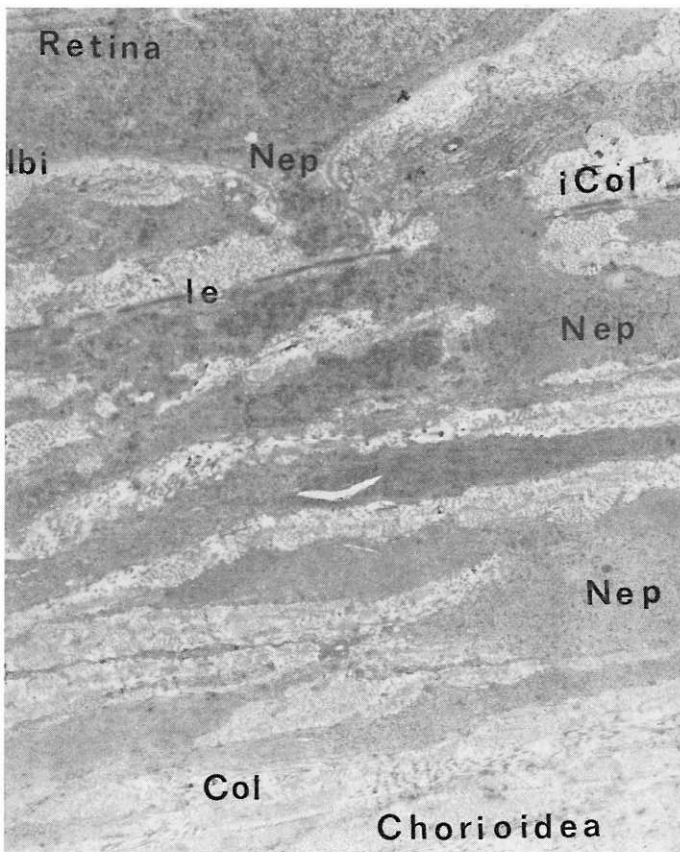


Abb. 14 Bruchsche Membran 2 Jahre nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Retinales Neuroepithel (Nep) ist durch Defekte in der Lamina basalis interna (lbi) über das Niveau der Lamina elastica (le) hinaus zwischen die Kollagenfaserschichten der Chorioidea infiltriert. Als Bestandteile der ehemaligen Bruchschen Membran vor Kryopexieeinwirkung sind nur noch die Lamina basalis interna, die innere Kollagenfaserschicht und die Lamina elastica sicher abzugrenzen (Vergr. 6520fach, elektronenmikroskopisch).

man sehr zahlreiche Neuroepithelschichten in den inneren Chorioideabindgewebsschichten erkennen (Abb. 14). In der Regel ist dann das Neuroepithel von einer Lamina basalis umgeben. Die Lamina setzt sich auch, wie man in Abb. 15 sehen kann, nach Penetration der Lamina basalis interna innerhalb der Bruchschen Membran fort.

Die innere Oberfläche der Lamina basalis interna ist durch den ungleichmäßigen Zuwachs von Kollagenfasern in der inneren Kollagenfaserschicht höckerig geworden (Abb. 16).

In dem infiltrierten Neuroepithel findet man gelegentlich sogar einen Nukleus oberhalb (Abb. 17) oder unterhalb (Abb. 18) der Lamina elastica. Die Nuklei haben eine ovale Form und besitzen dicht angeordnete Chromatingranula perinuklear. In dem an die Nu-

kleusmembran angrenzenden Zytoplasma besitzt das rauhe endoplasmatische Retikulum dünne Kanälchen in paralleler Anordnung zur Kernmembran. Im Zytoplasma nahe des Nukleus finden sich unregelmäßig verteilte Mitochondrien. Im penetrierten Neuroepithel sind feine Filamente vorhanden. Die Morphologie des penetrierten Zytoplasma und seiner Nuklei ähnelt dem Neuroepithel oberhalb der Bruchschen Membran, das von den Müllerschen Zellen abstammt.

Einen zusätzlichen Hinweis dafür, daß dieses penetrierte Zytoplasma seinen Ursprung in den Müllerschen Zellen hat, liefern Schnitte, bei denen Müllersches Zytoplasma mit fibrillären Strukturen die Lamina basalis penetriert und sich zwischen den Kollagenfaserschichten der Bruchschen Membran und der angrenzenden Chorioidea ausbreitet (Abb. 15).

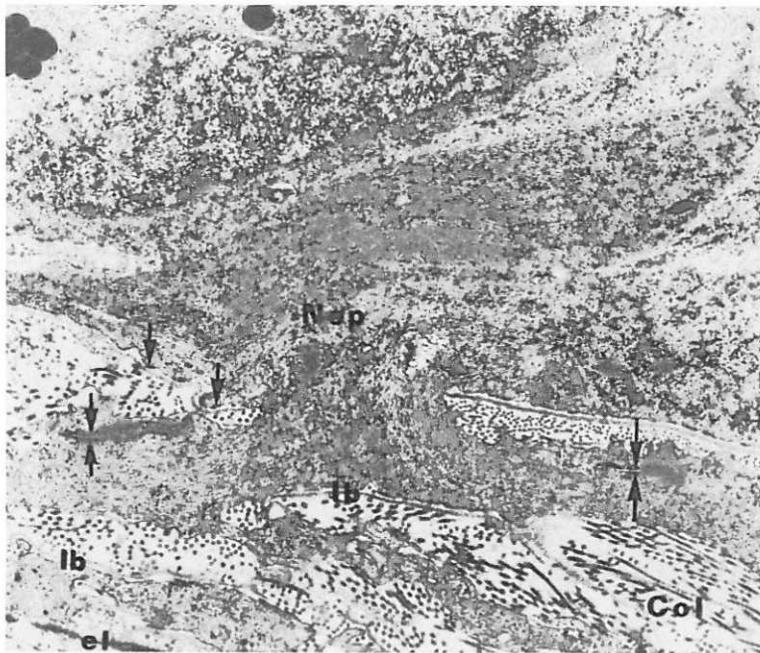


Abb. 15 Bruchsche Membran 2 Jahre nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neuroepithel (Nep) ist von Lamina basalis (lb) umgeben, die sich auch nach Penetration der Lamina basalis interna in die Bruchsche Membran fortsetzt. Das Neuroepithel zeigt im Bereich der Zytoplasmamembran zur Lamina basalis hin (s. 2 horizontal nebeneinanderstehende Pfeile) hemidesmosomenartige Verdichtungen. Zwischen den Neuroepithelschichten, die stellenweise fibrilläre Strukturen besitzen, sind Desmosomen (s. senkrecht übereinanderstehende Pfeile). Col = Kollagenfasern, el = Lamina elastica (Vergr. 17 400-fach, elektronenmikroskopisch).

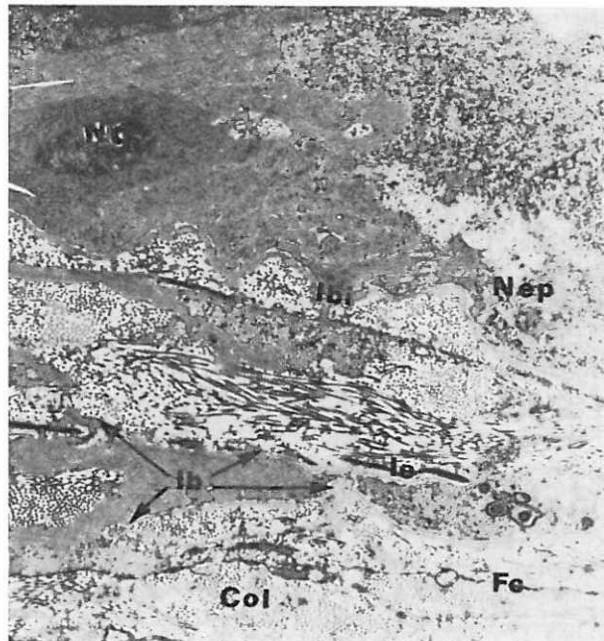


Abb. 16 Bruchsche Membran 2 Jahre nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neuroepithel (Nep) mit Nuklei (Nc) oberhalb der Lamina basalis interna (lbi) penetriert die Bruchsche Membran bis unterhalb der Lamina elastica (le) und ist zur Lamina elastica und den Kollagenfasern (Col) hin von einer Lamina basalis (lb) umgeben. Zwischen den Kollagenfasern sind Fibrozyten (Fc) als dünne Linien zu erkennen (Vergr. 10 880fach, elektronenmikroskopisch).

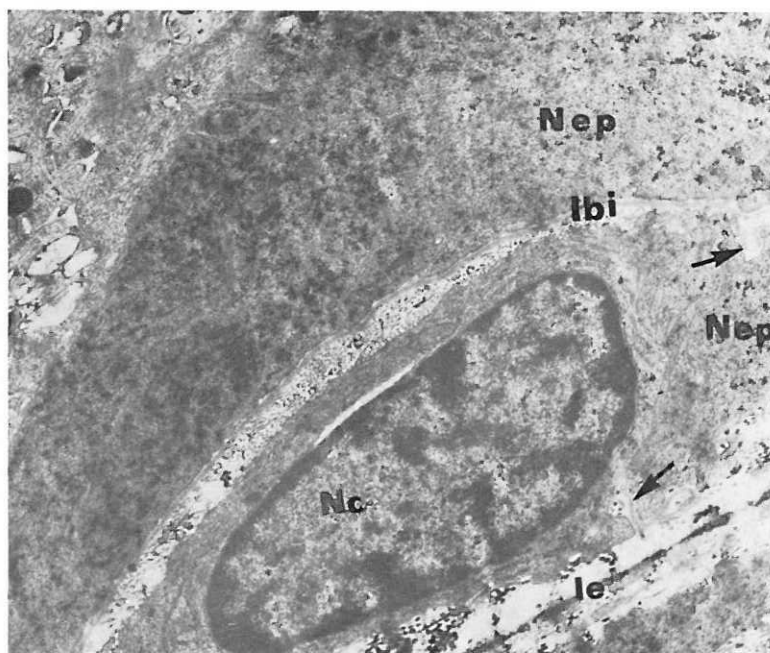


Abb. 17 Bruchsche Membran 2 Jahre nach mittelstarker Kryopexieapplikation: Neuroepithel (Nep) mit Nukleus (Nc) zwischen Lamina basalis interna (lbi) und Lamina elastica (le) der Bruchschen Membran ist zu umgebenden Kollagenfasern hin mit einer Lamina basalis (s. freie Pfeile) umgeben (Vergr. 17 400fach, elektronenmikroskopisch).

Einen weiteren Hinweis erhielten wir von Schnitten, die zu lichtmikroskopischen Untersuchungen mit basischem Fuchsin und alkalisiertem Methylenblau gefärbt wurden. Die Kollagenfaserschichten erscheinen dabei blau, das neutrale Zytoplasma rosa. Das Neuroepithel oberhalb der Bruchschen Membran, das diese penetriert und dann zwischen ihre Kollagenfaserschichten infiltrierte, hebt sich dabei als ununterbrochenes Rosa hervor.

Alle diese Hinweise lassen vermuten, daß das neue Zytoplasma nach Kryopexieeinwirkung zwischen den Kollagenfaserschichten der Bruchschen Membran und der inneren Chorioidea neuroepithelialer Art ist und wahrscheinlich von Müllerschen Zellen abstammt.

In den 3jährigen Läsionen tritt die fibrilläre Struktur – die typisch für das Müllersche Zytoplasma ist – noch deutlicher hervor (Abb. 19). An der Stelle, wo das Neuroepithel die Lamina elastica penetriert, ist infolge der dichten vertikalen Anordnung die fibrilläre Struktur ganz deutlich zu erkennen.

Immer dann, wenn das penetrierende Neuroepithel eine Lamina basalis entwickelt, finden wir auch diese hemidesmosomenartigen Verdichtungen, und zwar an der dem Bindegewebe zugewandten Zytoplasmamembran. Bei den 3 Jahre alten Läsionen tritt bei unserem Untersuchungsmaterial der Charakter der hemidesmosomenartigen Strukturen besonders deutlich hervor (Abb. 8).

In den 3 Jahre alten Kryopexieläsionen waren keine Fibroblasten mehr anzutreffen, weder mit Lichtmikroskopie – wo sie durch ihre zytoplasmatische Basophilie zu identifizieren wären – noch mit Elektronenmikroskopie – wo das Vorhandensein eines ausgeprägten rauen endoplasmatischen Retikulums eine Aktivität anzeigen würde. Es sind in diesen Präparaten nur wenige Fibrozyten vorhanden. Sie befinden sich außerhalb der Lamina elastica und nehmen geringfügig zur Chorioidea hin an Zahl zu. Ihre äußerst schlanken Zellfortsätze sind zwischen den Kollagenfaserschichten verstreut.

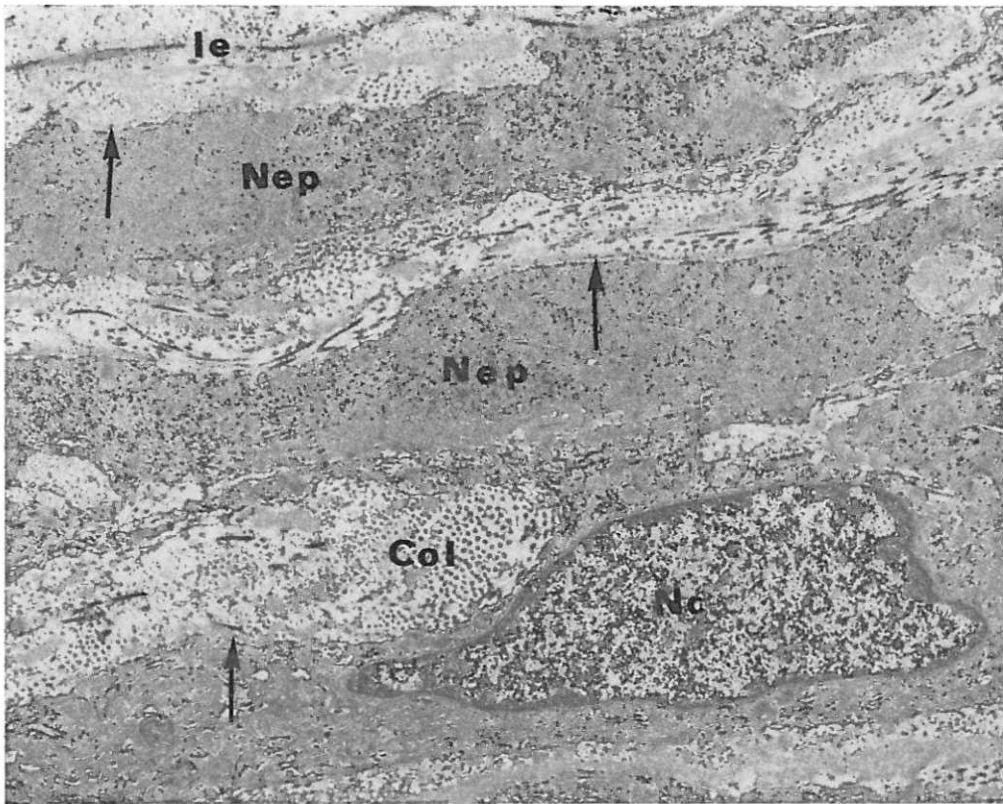


Abb. 18 Bruchsche Membran 2 Jahre nach mittelstarker Kryopexieapplikation: In dieser Abbildung sieht man einen Nukleus (Nc) im Neuroepithel (Nep), das in die Bruchsche Membran bis in die Gebiete unterhalb der Lamina elastica (le) infiltriert ist. Das Neuroepithel besitzt zu den umgebenden Kollagenfasern (Col) hin eine Lamina basalis (s. Pfeile) (Vergr. 13 040fach, elektronenmikroskopisch).

3. Diskussion

Bei den mittelstarken Kryopexieapplikationen kann die Lamina basalis interna der Bruchschen Membran intakt bleiben. In der Reparatursphase bleibt dann die horizontale Trennung des neuroektodermalen und mesenchymalen Gewebes erhalten. An der Verbindungsstelle im Bereich der basalen Plasmamembran des neu gebildeten Neuroepithels zur Lamina basalis interna der Bruchschen Membran hin konnten wir neue Verdichtungsstrukturen beobachten. Wir haben sie als hemidesmosomenartige Strukturen bezeichnet. Sie scheinen zur Adhäsionsstärke zwischen dem Neuroepithel und der Bruchschen Membran beizutragen.

In einigen mittelstarken und in den starken Kryopexieläsionen findet ein „cross-over“ der zwei verschiedenen embryonalen Gewebe statt. Das retinale Neuroepithel infiltriert durch Defekte in der Lamina basalis interna zwischen die Kollagenfaserschichten der Bruchschen Membran und der Chorioidea. Es kommt zu einer chorioretinalen Vernarbung. Die 5schichtige Bruchsche Membran wird dabei einerseits Teil eines ausgedehnten fibrösen Gewebes, das sich zur Chorioidea hin fortsetzt. Die fibroblastische Aktivität ist hierbei zwischen der 4. und 7. Woche beendet.

Andererseits kann retinales Neuroepithel, das wahrscheinlich von Müllerschen Zellen abstammt, die durch Kryopexie defekt gewor-

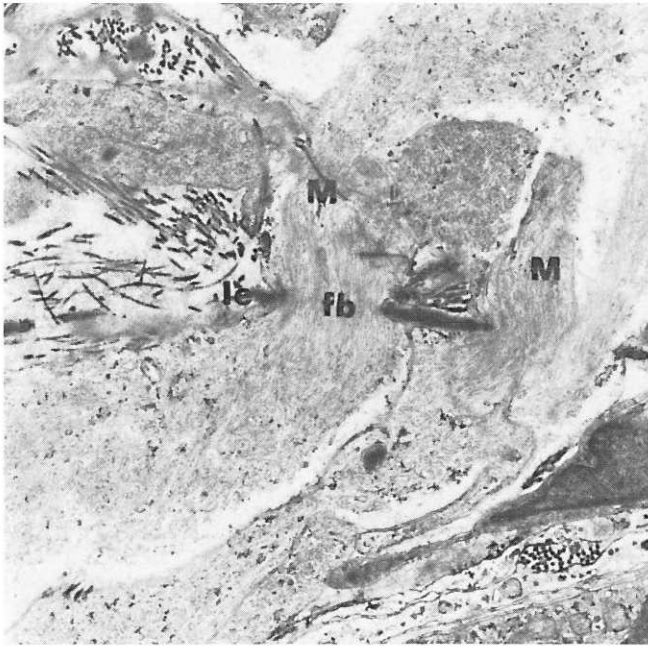


Abb. 19 Bruchsche Membran mit infiltriertem Müllerschen Zytoplasma 3 Jahre nach mittelstarker Krypexieapplikation: Bei dieser 3 Jahre alten Läsion tritt die fibrilläre (fb) Struktur – so typisch für das Müllersche Zytoplasma – besonders deutlich im infiltrierten Neuroepithel hervor. Im Gebiet, wo es die Lamina elastica (le) der Bruchschen Membran penetriert, ist sogar eine deutliche vertikale Anordnung dieser fibrillären Strukturen zu erkennen. Das alles spricht dafür, daß es sich bei diesem infiltrierten Neuroepithel um Müllersches Zytoplasma (M) handelt (Vergr. 23 900fach, elektronenmikroskopisch).

dene Bruchsche Membran penetrieren, infiltrieren und weiter bis zur inneren Chorioidea vordringen. In einem solchen Falle ist dann drei Jahre nach Krypexieapplikation noch eine gewisse Zellaktivität in diesem Bereich anzunehmen.

Als Folge der kryogenen Vernarbung hat sich die Topographie der ursprünglich 5schichtigen Bruchschen Membran verändert. Das einzige eindeutige Kennzeichen der Bruchschen Membran ist jetzt die Lamina elastica. Wenn man zu diesem Zeitpunkt die Ausdehnung der Bruchschen Membran überhaupt noch definieren wollte, so würde man sie nur im Bereich zwischen der Lamina basalis interna und der Lamina elastica mit einiger Sicherheit festlegen können. Jedoch auch dieses Areal der Bruchschen Membran hat sich verändert; denn es hat durch zusätzliche Kollagenfasern und durch das infiltrierte Neuroepithel an Ausdehnung zugenommen.

Es ist kaum anzunehmen, daß durch diese nach Kryochirurgie alterierte Bruchsche Membran noch ein nennenswerter Metabolitenaustausch

stattfinden kann, noch erscheint es möglich, daß diese „Membran“ im gleichen Maße transparent ist wie vor der Schädigung und Vernarbung. Der Zuwachs an nicht orientierten Kollagenfasern zusammen mit den zusätzlichen zahlreichen Neuroepithelschichten lassen eher eine Opazität vermuten.

Dies würde bedeuten, daß beim Ophthalmoskopieren der Durchblick auf die tieferliegenden Schichten der Chorioidea erschwert bzw. unmöglich geworden ist.

Aus der klinischen Praxis wissen wir, daß die Krypexieherde im Verlauf von vielen Monaten und Jahren immer blasser werden. Ein ehemals pigmentierter Krypexieherd kann mit der Zeit nur noch als weiße Narbe erscheinen.

Die soeben erwähnten histologischen Veränderungen – zusammen mit der Tatsache, daß die Pigmentmakrophagen der Retina allmählich abwandern und die Melanozyten der inneren Chorioidea nach Krypexieanwendung abnehmen – könnten ein histologisches Substrat für das allmähliche Abblassen der jahre-

alten Kryopexieherde darstellen. Diese aus ophthalmoskopischer Sicht fast als „Narbenatrophie“ zu bezeichnende Veränderung der Kryopexieherde läßt aber aufgrund der vorliegenden Ultrastrukturbefunde auf keine Abnahme der Narbenfestigkeit schließen. Diesem Fundusbefund liegt – zumindest im Tierversuch – histologisch eine Infiltration von retinalem Gewebe in die Bruchsche Membran und in die angrenzende Chorioidea zugrunde. Aus früheren tierexperimentellen Untersuchungen (Lincoff u. Mitarb. 1970, Lincoff u. Kreissig 1971, Bloch u. Mitarb. 1971) wissen wir, daß die mechanische Zugfestigkeit dieser Narben fortbestehen bleibt. Dieser soeben diskutierten Narbenfestigkeit der „abgeblaßten“ Kryopexieherde liegt also letztlich eine besonders dichte Verflechtung der benachbarten Retina und Chorioidea zugrunde. Dies geht aber mit einem gleichzeitigen Verlust bzw. einer Umwandlung der ursprünglich dazwischengeschalteten hochdifferenzierten 5schichtigen Bruchschen Membran einher.

Literatur

- Bruch, C.: Untersuchungen zur Kenntnis des körnigen Pigments der Wirbeltiere. Meyer und Zeller, Zürich 1844
- Bloch, D., P. Connor, H. Lincoff: The mechanism of the cryosurgical adhesion. III. Statistical analysis. Amer. J. Ophthalm. 71 (1971) 666
- Farquhar, M., G. Palade: Junctions complexes in various epithelia. J. Cell Biol. 17 (1963) 375
- Farquhar, M., G. Palade: Cell junctions in amphibian skin. J. Cell Biol. 26 (1965) 263
- Grillo, H.: Origin of fibroblasts in wound healing: an autographic study of inhibition of cellular proliferation by local X-irradiation. Amer. J. Surg. 157 (1963) 453
- Grillo, H., J. Gross: Collagenolytic activity during mammalian wound repair. Develop. Biol. 15 (1967) 300
- Kelly, E.: Fine structure of desmosomes, hemidesmosomes and an adepidermal globular layer in developing newt epidermis. J. Cell Biol. 28 (1966) 51
- Kreissig, I., H. Lincoff: Ultrastruktur der Kryopexie-Adhäsion. DOG-Symp.: Die Prophylaxe der idiopathischen Netzhautablösung. (1971) 191-205
- Kreissig, I., A. Sbaiti: Kryopexie in der Ablatio-Prophylaxe. Klin. Mbl. Augenheilk. 159 (1971) 588
- Leeson, T., C. Leeson: Choriocapillaris and lamina elastica (vitrea) of the rat eye. Brit. J. Ophthalm. 51 (1967) 599
- Lerdie, W.: Elektronenmikroskopische Beobachtungen an der Bruch'schen Membran des menschlichen Auges. Ber. dtsch. ophthalm. Ges. 65 (1964) 384
- Lincoff, H., J. McLean, H. Nano: Cryosurgical treatment of retinal detachment. Trans. Amer. Acad. Ophthalm. Otolaryng. 68 (1964) 412
- Lincoff, H.: The mechanism of the cryosurgical adhesion. Trans. ophthalm. Soc. 88 (1968) 99
- Lincoff, H., R. Long, J. Marquardt, J. McLean: The cryosurgical adhesion. Mod. Probl. Ophthalm. 8 (1969) 414
- Lincoff, H., P. O'Connor, I. Kreissig: Die Retina-Adhäsion nach Kryopexie. Klin. Mbl. Augenheilk. 156 (1970) 771
- Lincoff, H., I. Kreissig: The anatomy of the cryosurgical lesion. Acta ICS 222 (1971) 406
- Pease, D.: Infolded basal plasma membranes found in epithelia noted for their water transport. J. biophys. biochem. Cytol. 4 (1956) 203
- Ross, R., G. Odland: Human Wound repair. J. Cell Biol. 39 (1968) 152
- Weiss, P., W. Ferris: Electron micrograms of larval amphibian epidermis. Exp. Cell Res. 6 (1954) 546

Priv.-Doz. Dr. Ingrid Kreissig, Univ.-Augenlinik, 53 Bonn-Venusberg

