

Die strukturlosen Augenmembranen im Ultramikroskop.

Von

Prof. Dr. Max Peschel,
Augenarzt in Frankfurt a. M.

Mit der spezifischen, allseitig schrägen Beleuchtung des Ultramikroskopes kann man nicht nur die Existenz feinsten Teilchen und feinsten Ungleichmässigkeiten, sei es in Flüssigkeiten, sei es in festen Körpern nachweisen, sondern man kann auch gewisse Schlüsse auf die Form dieser Teilchen machen, d. h. man kann auch Strukturverhältnisse bis zu einem gewissen Grade beurteilen. Längere gerade oder gebogene Ränder (z. B. der Gewebsfasern oder eines Präparatenschnittes) stellen sich als vielfache, scharfe, parallele, schwarze Konturen dar, welche von Interferenzfarben umgeben sind. Man kann also die Richtung sowie die Länge des betreffenden Randes erschliessen. Gewebe des Körpers erscheinen im allgemeinen im Ultramikroskop als ein Gewirr von Lichtmaschen, welche in allen Interferenzfarben erglänzen und durch mehr weniger scharfe schwarze Konturlinien begrenzt sind. Diese Maschen haben nun aber beim Vorwiegen einer gewissen Richtung der Ränder der morphologischen Bestandteile des betreffenden Gewebes auch vorwiegend diese Längsrichtung und lassen daher umgekehrt auf die Art der Struktur schliessen. So sieht man an Längsschnitten der Fasern von Substantia propria der Cornea, auch an Linsenfasern vorwiegende Längsrichtung der Lichtmaschen. Die Linsenfasern erscheinen in dieser Art an $2\frac{1}{2} \mu$ dicken Längsschnitten, während hingegen frische Linsenmasse unter dem Deckglas zerdrückt, ein ganz unregelmässiges Lichtmaschennetz mit nur stellenweise vorwiegender Anordnung in bestimmten Richtungen darbietet. Im letztern Falle sieht man öfters einige (z. B. 4 bis 10) längliche Lichtfeldchen ziemlich parallel nebeneinander, daneben eine andere ähnliche Gruppe in anderer Richtung usw., so dass man immerhin von völlig regelloser Anordnung nicht sprechen kann. Das Epithel

(z. B. der Cornea) zeigt im Ultramikroskop die Zellengruppierung, indem jede einzelne Zelle ihren Randsaum als mehrfach schwarz konturierte, unregelmässig bogig gewundene Peripherie erkennen lässt, während der eigentliche Zellkörper sich als hell erleuchtetes buntes, feines Maschenwerk präsentiert, dessen Grenzen scharfe, geschlängelte, unregelmässig, regenwurmartig gebogene schwarze Konturen bilden. Dieses zarte Maschenwerk kommt im Ultramikroskop in fast allen organischen Geweben zu stande und zwar infolge der Vielfältigkeit der in denselben vorhandenen Strukturbestandteile, deren Grenzen sämtlich gleichzeitig Interferenzstreifen und Interferenzfarben erzeugen. Hingegen erscheint eine isolierte Randpartie jedes Präparates in regelmässig parallelen Interferenzstreifen, da das Bild des Randes nicht durch andere Konturen gestört wird. Aus jenen Maschennetzen, welche keine vorwiegende Richtung zeigen, kann man natürlich keinen Rückschluss auf die Art der morphologischen Struktur machen, sondern man kann nur folgern, dass solche vorhanden ist. Wohl aber stellen einzelne, nicht komplizierte kleinste Teilchen, z. B. die Pigmentkörnchen der Uvea, sich in ihrer natürlichen Grösse und Form im Ultramikroskop dar. Jedes dieser homogenen Körnchen erscheint mit einem scharfen schwarzen feinen Kontur, welcher je nach der Form des Körnchens rund, oval, semmelförmig oder unregelmässig aussieht und zu dessen scharfer Einstellung eine minimale Tieferstellung des Mikroskopes nötig ist, wenn das betreffende Pigmentkorn zuvor ohne Ultrabeleuchtung deutlich eingestellt war. Der Grund dieser Einstellungsverschiedenheit ist der, dass bei gewöhnlicher Beleuchtung die Oberfläche des Pigmentkorns eingestellt wird, während der bei Ultrabeleuchtung sich ergebende scharfe Randkontur dem etwas tiefer liegenden Seitenrande des Pigmentkorns angehört.

Da die Interferenzstreifen die Konturen vervielfachen und somit in die benachbarten Bilder übergreifen, ist ein Urteil über Vorhandensein von Struktur oder gar über die Art derselben gewöhnlich nur bei Objekten möglich, welche eine nicht zu geringe Flächenausdehnung bieten. Für das Minimalmass der letztern lässt sich ein absoluter Wert nicht aufstellen, dasselbe hängt vielmehr von der Nachbarschaft ab. Je undurchsichtiger und reicher an differenzierten Konturen die Nachbarschaft eines zu beobachtenden Gewebes ist, so dass dieselbe der schrägen Beleuchtung gute Angriffspunkte gewährt, desto weiterhin superponieren sich die Interferenzstreifen über das betreffende Gewebe und verhindern das Erscheinen der Eigenstruktur des letz-

tern. So ist z. B. an Achsencylindern der Nerven jede Beobachtung der Struktur unmöglich, ebenso ist die hintere Linsenkapsel auf Querdurchschnitten zu schmal, um ein Urteil über eigene Struktur derselben zu erlauben. Bei einzelnen Cornealschnitten genügt nicht die Dicke der Membrana Descemeti, auch mitunter nicht die der meist etwas stärkern Membrana Bowman, um Eigenstruktur dieser Häute zu beobachten. Ich habe in diesen Fällen teils Flächenschnitte der betreffenden Membranen ausgeführt, teils Stücke der ganzen Membran von der Fläche aus beobachtet. Diese letztere Methode gewährt nur dann ein Resultat, wenn über und unter der Membran helle Reflexe des schrägen Lichtes fehlen, also daselbst Gewebe vorhanden sind, welche sehr zarte, optisch wenig differenzierte Struktur haben. Die schwachen Reflexe einer Schicht verlieren nämlich sofort ihre deutlichen Begrenzungen, so bald das Mikroskop nur eine Spur höher oder tiefer eingestellt wird, und es resultiert alsbald ein dunkles Gesichtsfeld, wenn nicht in der nunmehr eingestellten Schicht neue, eigene Struktur vorhanden ist. Dieses Verschwinden der Reflexe einer Schicht bei wechselnder Einstellung des Mikroskopes geschieht nicht plötzlich, sondern die Konturen der Lichtfeldchen werden allmählich diffuser, verwischter, ziehen weitere Kreise durch das Gesichtsfeld und die Lichtmaschen erscheinen schliesslich nur noch als diffuse Licht- und Farbennebel. Stammen diese betreffenden Reflexe von einem deutlich differenzierten Objekte, d. h. sind sie sehr lichtstark, so reicht die Leuchtkraft ihrer Interferenzstreifen durch eine bedeutendere Tiefe der mikroskopischen Einstellung, als es bei schwachen Reflexen mehr homogener Objekte der Fall ist. Je nach der Intensität und Ausbreitung verdeckt dieses zerstreute Licht mehr weniger die scharf eingestellten Objekte, ist aber bei schwacher Intensität für die Beobachtung nicht mehr hinderlich. Man kann in dieser Weise mit vollkommener Sicherheit über das Fehlen oder Vorhandensein von Struktur in verschiedenen Schichten urteilen. Auch die Ungleichmässigkeiten der beiden Oberflächen und der Substanz des Deckglases werden bei recht hoher, und eventuell die der Oberfläche des Objektträgers bei recht tiefer Einstellung als Brennpunkte oder Interferenzstreifen oder -kreise zur Anschauung gebracht. In manchen Fällen sind diese Fehler der Gläser bei den Untersuchungen mit dem Ultramikroskop sehr willkommen, denn sie erlauben sofort die Orientierung, in welcher Tiefe des zu beobachtenden Objektes man sich mit der Einstellung befindet.

Mehr wie bei jeder andern mikroskopischen Präparation muss hier auf grösste Sauberkeit in der Herstellung der Beobachtungsobjekte geachtet werden, da jede fremde Beimischung, sei es von Stäubchen oder Verunreinigungen und Niederschlägen nicht filtrierter Flüssigkeiten oder Farbstoffpräzipitaten durch weithin strahlende Lichtreflexe sich merklich macht, selbst wenn die stärksten Vergrösserungen unter bester gewöhnlicher Kondensorbeleuchtung nicht die Spur einer Ungleichmässigkeit im Präparate erkennen lassen. Ebenso verhält es sich mit jenen vom Mikrotom stammenden allerfeinsten Riefen jedes Schnittes, welche bei keiner Vergrösserung mehr sichtbar sind, aber bei Ultrabeleuchtung sofort hervortreten und zur fälschlichen Annahme von Struktur verleiten können. Diese Unebenheiten der Schnitte sind nach meiner Erfahrung sogar der hauptsächlichste Faktor, welcher zu Irrtum führen kann. Dieselben lassen sich häufig daran erkennen, dass sie in langen Zügen eine bestimmte Richtung, die der Schnittführung, verfolgen.

Ich habe nun folgende Membranen des Auges untersucht: die Bowman, Descemet, die vordere und hintere Linsenkapsel und Zonula Zinnii. Abgesehen von der letztern, welche nur in Flächenpräparaten beobachtet wurde, fertigte ich $2\frac{1}{2} \mu$ dicke Querschnitte der übrigen vier Membranen in verschiedenen Richtungen an, so in der Ebene des horizontalen und des vertikalen Augenmeridians, ferner Querschnitte längs der Peripherie der Membranen, und endlich Flächenschnitte. Ich ging dabei von der Idee aus, eine Differenz der Struktur an den in verschiedener Richtung geführten Schnitten aufzusuchen. Von Färbungen wurde teils Hämatoxylin, teils Safranin angewendet, endlich auch ohne Färbung gearbeitet, wobei die Struktur im Ultramikroskop ebenso deutlich hervortritt. Ich arbeitete mit den stärksten Vergrösserungen, speziell mit dem Apochromat-Objektiv Zeiss von 2 mm Brennweite und Kompensationsokular 18.

Die Membrana Bowman untersuchte ich an einem enucleierten, ganz frisch in Formol fixierten Augapfel eines Dreissigjährigen. Sowohl die verschiedenen Querschnitte der Membran wie die Flächenschnitte zeichnen sich im Ultramikroskop durch ihre Dunkelheit aus, so dass ihr Bereich dadurch von angrenzender Substantia propria sowie vom Epithel der Cornea leicht differenziert werden kann. Nach Abrechnung aller von Zufälligkeiten herrührenden Lichteffekte konstatiert man an den allerreinsten Stellen der Präparate, welche ja für die Beurteilung allein massgebend sind, ein eigenes lichtschwaches

enges Netz von Maschen mit dunkeln Konturen. Letztere sind ziemlich gleichmässig, meist länglich, teils geradlinig, teils mehr weniger gebogen und zwar rundlich oder winkelig gebogen. Viele Maschen sind auch rundlich oder unregelmässig. Die Breite derselben überschreitet selten $\frac{1}{5} \mu$, die Länge selten 1μ , meist sind sie schmaler und kürzer. In diesem Gewirre, diesem Filz von Konturen ist auf den Querschnitten der Bowman nur selten eine systematische Anordnung erfindlich, wie etwa Disposition in Zügen, welche für eine gewisse Länge dieselbe Richtung einschlagen, oder konzentrische Stellung gekrümmter Lichtfeldchen, oder sternförmige Gruppierung. Hingegen folgen auf Flächenschnitten der Bowman allerdings die Lichtmaschen häufig auf kurze Strecken einer bestimmten Längsrichtung, welche freilich alsbald durch Konglomerate regellos stehender Maschen begrenzt werden. Es ergibt sich hieraus der Schluss, dass die Membrana Bowman sicherlich eine Struktur besitzt, ferner aber noch mehr, dass diese Struktur nicht einfache Längskonturen aufweist, ja dass dieselben nicht einmal vorwiegend sind. Wäre letzteres der Fall, so würden sich im Ultramikroskop mehr Längszüge nachweisen lassen, wie es z. B. bei der der Bowman benachbarten Substantia propria corneae der Fall ist, deren Längsfasern dadurch im optischen Effekte zur Geltung kommen. Die konzentrische und sternförmige Anordnung von Lichtfeldchen deutet auf ähnlich verlaufende Konturen, welche aber nicht notwendig auf Querschnitte von Fasern zu beziehen sind, sondern auch durch Fasernetze entstehen können.

Von derselben Cornea wurde die durch die Härtung leicht gefaltete Descemet in Schnitten der sämtlichen oben für die Bowman angegebenen Richtungen untersucht. Ich fand, dass sich die Descemet mit der Ultrabeleuchtung etwas heller, als die Bowman darstellt, dass sie also mehr Struktur besitzt, welche eben die stärkern Reflexe der schiefen Beleuchtung auslöst. Doch ist die Descemet immerhin von der Hornhautsubstanz als dunklere Partie zu unterscheiden. Sie erscheint als ein Netzwerk derselben kleinen schwarz konturierten Licht- und Farbenfeldchen, welche oben in der Bowman beschrieben wurden. Auf Flächenschnitten kann man häufiger, als bei der Bowman konstatieren, dass die Längsrichtung benachbarter Lichtmaschen auf kurze Strecken die gleiche ist, dass also kurze Züge bestehen, welche in verschiedener Richtung verlaufen. Diese Tatsache deutet auf faserige Struktur, welche demnach in der Descemet etwas stärker, als in der Bowman ausgesprochen ist.

Die Linsenkapsel untersuchte ich am normalen Auge einer 50jährigen Frau, welches zehn Stunden nach dem Tode in Formol fixiert worden war. Die Vorderkapsel zeigt an ganz reinen Stellen, welche von aller Art fremder Reflexe frei sind, ein ganz und gar dunkles Gesichtsfeld, stellt sich also tatsächlich als strukturlos heraus und zwar erhält man dies interessante Resultat sowohl an allen verschieden gerichteten Quer- wie an Flächenschnitten der Kapsel. Freilich beobachtet man an den Präparaten Interferenzstreifen in Menge, welche von Ungleichmässigkeiten usw. herkommen, aber man konstatiert einzelne beschränkte reinste Stellen und nur diese sind für die Beurteilung Ausschlag gebend, welche bei der Ultrabeleuchtung ganz schwarz bleiben. Dasselbe Resultat erhielt ich an Schnitten des Linsenäquators, wo die Kapsel beträchtliche Dicke besitzt und darum für diese Art von Untersuchung sich gut eignet. Die reinsten Stellen der Querschnitte daselbst zeigen absolut keine eigene Struktur, bleiben im Gesichtsfeld vollkommen dunkel. Ferner untersuchte ich die Vorderkapsel des ganz frisch in Formol eingelegten Auges eines ausgewachsenen Pferdes in toto. Stücke derselben wurden von der Linse abgezogen, auf beiden Flächen sanft abgepinselt und nach entsprechender Behandlung ohne jede Färbung in Kanadabalsam mit der Vorderfläche nach oben liegend eingeschlossen. Auf der letztern hafteten einzelne Pigmentkörnchen, auf der Hinterfläche Reste des Kapselepitheles. Stellte ich nun letzteres im Ultramikroskop ein, so zeigte sich ein lichtschwaches Gewirre feiner Lichtfeldchen, welche ohne erkennbare systematische Anordnung durcheinanderlagen. Darauf liess ich unter Bewegung der Mikrometerstellschraube die ganze Dicke des Präparates bis zur äussern Kapseloberfläche im Gesichtsfelde passieren. Kaum war der Tubus etwas höher eingestellt, so verschwanden die erwähnten Lichtfeldchen und das Gesichtsfeld blieb bei weiterem Höherschrauben so lange ohne alle Reflexe, bis die Oberfläche der Kapsel eingestellt war. Dies bedeutet, dass die ganze sehr beträchtliche Dicke der Linsenkapsel aller sichtbaren Struktur entbehrt. Erst die vordere Oberfläche zeigte wieder einzelne zufällige Unregelmässigkeiten, sowie Gruppen von hell reflektierenden Pigmentkörnchen.

Ich habe endlich die Linsenkapsel eines Neugeborenen der ultramikroskopischen Untersuchung unterworfen. Das Auge war zwölf Stunden nach dem Tode in Formol gelegt worden. Die Kapselpräparate wurden teils mit Hämatoxylin, teils mit Safranin gefärbt in Kanadabalsam untersucht. Hier zeigte sich nun insofern ein typi-

schers Unterschied vom Erwachsenen, dass in allen Präparaten der Vorderkapsel, sowohl den Querschnitten wie den Flächenschnitten, eine Struktur zu finden war. Von allen grellen Reflexen absehend, welche der Struktur fremd sind, konstatierte ich auch an den reinsten Stellen stets ein lichtschwaches, unregelmässiges, feinstes Maschen-netz, nirgends ein rein schwarzes Gesichtsfeld. Die Helligkeit des Kapselgewebes war übrigens stets viel geringer, als die der Linsen-substanz, was auf eine schwächer ausgesprochene Struktur des erstern deutet. Dem normalen Auge eines andern Neugeborenen, welches in Formol fixiert war, entnahm ich Stücke der Vorderkapsel, pinselte sie sorgfältig ab und untersuchte sie in toto als Flächenpräparate ohne jede Färbung in Kanadabalsam, ganz wie oben von der Linsen-kapsel des Pferdes beschrieben wurde. Auch hier stellte sich die Zeichnung der zahllosen, regellos gestellten, lichtschwachen kleinen Feldehen überall dar und zwar sah ich bei verschieden hoher Ein-stellung des Mikroskoptubus (welcher in Wirklichkeit bei diesen Unter-suchungen horizontal liegt) die scharfe Zeichnung der Konturen in immer wechselnder Gruppierung durch die ganze Dicke des Präpa-rates hindurch, so dass dieselbe auf das ganze Gewebe der Substanz der Linsen-kapsel, nicht etwa nur auf eine durch anhängende Epithel-reste unebene Oberfläche zu beziehen ist. Ich erkläre mir diesen Unterschied zwischen der Linsen-kapsel des Neugeborenen und des Erwachsenen in der Weise, dass die des erstern als Gewebe noch die Spuren ihrer Entstehung als solches trägt und erst im extra-uterinen Leben allmählich ihre volle Homogenität erreicht. Es würde dies auch ausserordentlich zweckmässig sein, da das Auge nicht so-fort nach der Geburt in volle Funktion tritt. In keinem der zahl-reichen Präparate der Linsen-kapsel weder des Erwachsenen noch des Neugeborenen habe ich mit dem Ultramikroskope die geringste An-deutung eines lamellären Baues oder überhaupt einer Schichtung ent-decken können. Da nun die in Rede stehende Untersuchungsmethode die feinsten optischen Differenzen mit ausserordentlicher Sicherheit aufdeckt, so kann ich nicht umhin, meine Zweifel an der lamellären Struktur der Linsen-kapsel auszusprechen, welche mir vielmehr als eine wirklich homogene Masse erscheint. Die fortwährende vitale Erneuerung der Substanz der Linsen-kapsel von der innern Ober-fläche her durch Apposition neuer Schichten von seiten des Kapsel-epithels steht durchaus nicht im Widerspruche mit wirklicher Homo-genität der Kapsel.

Ich komme nunmehr zu der hintern Linsen-kapsel, welche in der

gleichen Weise wie die vordere geprüft wurde. Ihre Querschnitte von der Linse der 50jährigen Frau und um so mehr die der Linse des Neugeborenen zeigten sich zu dünn, um Schlüsse im Ultramikroskop zu erlauben, indem die Interferenzstreifen der Randkonturen die Membran überlagerten. An gelungenen feinsten, mit Safranin gefärbten Flächenschnitten aber konnte ich bei der Erwachsenen für die Hinterkapselsubstanz die Strukturlosigkeit unzweifelhaft ganz ebenso wie für die Vorderkapsel feststellen. Die Flächenschnitte sind bei der starken Wölbung der hintern Linsenfläche schwer herzustellen und können jedenfalls immer nur kleine Partien umfassen, die aber bei der starken Vergrößerung vollkommen genügen. Die hintere Linsenkapsel des oben bereits erwähnten Pferdeauges wurde in Fetzen entnommen, welche abgepinselt und ungefärbt in Kanadabalsam untersucht wurden. Die innere Oberfläche derselben zeigt die uns bereits bekannten zahllosen, regellos stehenden, lichtschwachen Feldchen, welche hier von anhängenden Linsenfaserresten herrühren. Bei Einstellung des Mikroskopes in verschiedener Höhe überzeugt man sich, dass die ganze Dicke der Kapselsubstanz selbst aller Struktur bar ist, indem das Gesichtsfeld dunkel bleibt, hingegen lässt die äussere Kapseloberfläche an vielen Stellen Lichtfeldchen bemerken, welche von der anhängenden verdichteten vordern Grenzschicht des Glaskörpers herrühren, an andern ganz reinen Punkten erscheint sie ganz dunkel.

Die Hinterkapsel des Neugeborenen untersuchte ich in derselben Weise, wie oben für die Linse der 50jährigen Frau angegeben ist, und fand auf Flächenschnitten stets lichtschwache Reflexe von vorhandener Struktur. Eben dieselben bestätigte ich in abgezogenen Stücken der hintern Kapsel eines andern Neugeborenen, welche ohne Färbung in toto in Kanadabalsam eingebettet wurden. An ihnen liessen sich die zahllosen lichtschwachen Interferenzmaschen durch die ganze Dicke der Kapsel bei verschiedener Einstellung erkennen, gehören also der Struktur der Kapsel selbst, nicht den anhängenden Linsenfaseran. Die Hinterkapsel verhält sich also beim Neugeborenen im Vergleiche mit dem Erwachsenen gerade so wie die Vorderkapsel.

Ich komme schliesslich auf meine Beobachtungen an der Zonula zu sprechen. Dieselbe habe ich nur an Flächenpräparaten in der Weise untersucht, dass ich Stücke vorsichtig aus den betreffenden Augen ablöste und ungefärbt in Kanadabalsam einschloss. Beim Neugeborenen gelang es mir, die Zonula ringsum in einem Stücke abziehen. Ich

konnte zwischen der Zonula des Erwachsenen, des Neugeborenen und des Pferdes keinen Unterschied der Struktur im Ultramikroskop eruieren. Bei allen dreien präsentiert sich das sehr gleichmässige Bild eines kontinuierlichen, lichtschwachen feinsten Netzes mit teils rundlichen, meist aber länglichen Maschen, welche etwa $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{5} \mu$ breit und doppelt bis vierfach so lang sind. Sie gehen öfters in Längszügen durch ein ganzes Gesichtsfeld des Mikroskopes und entsprechen der bekannten Faserstruktur der Zonula sowie der Querstreifung der Fasern. Andere Strecken lassen das Vorwiegen einer Richtung der Maschen nicht erkennen, sondern haben mehr regellose Anordnung.
