

## PROBLEME DER EMBRYONALEN FASERENTWICKLUNG

L. KARMAZSIN

(Eingegangen am 28. Juni 1960)

Genese und Morphologie der Bindegewebsfasern bilden seit langer Zeit ein grundlegendes Problem der Histologie. Ein Teil der Untersuchungen sollte die Rolle der Zellen klären, während sich die andere Forschungsrichtung mit der Struktur der Fasern und ihrer Beziehung zur intrazellulären Substanz befaßte. Hinsichtlich der Rolle der Zellen traten zwei Auffassungen zutage: Nach Ansicht der Forscher, die die intrazelluläre Theorie vertraten, sei es eine beweisbare Tatsache, daß die Fasern direkt oder indirekt Zellprodukte darstellen (FLEMMING, 22, u. a.). Laut anderen hervorragenden Forschern, die zu entgegengesetzten Schlußfolgerungen gelangten (HENLE, 30; KOELLIKER, 36; RENAUNT, 55; SCHEFFER, 59), stammen die jüngsten Fibrillen aus der die Zellen unmittelbar umgebenden Substanz. Von den Arbeiten, welche die Klärung dieser Frage zu fördern versuchten, sollen diejenigen hervorgehoben werden, welche die Genese der am frühesten entstehenden Fasern, der Mesenchymfibrillen, untersuchten. Nach SZILYS [65] Feststellungen ist vor dem Erscheinen der Mesenchymzellen — an ihrem Platze — eine zellfreie Gewebssubstanz anzutreffen, in welche die über Faserbildungseigenschaften verfügenden Zellen sekundär hineinwachsen.

STUDNICKA [64], ALFAJEW [1] und TELLO [66] fanden, daß die Mesenchymfibrillen in der Zelle entstehen. Laut HARTMANN [29] bilden sich die Fasern erst im intrazellulären Retikulum, dann gestalten sie sich zu ektoplasmatischen Gebilden um, lösen sich von der Zelloberfläche ab und entwickeln sich im Interstitium weiter. Die im Frühstadium zur Entwicklung kommenden Fasern des Mesenchyms hat man angesichts ihrer Imprägnierbarkeit mit Silbersalzen argyrophile Fasern genannt. REWUTZKAJA [56] schreibt den Fibroblasten eine primäre Rolle in der Faserbildung zu. KROMPECHER [37] fand, daß die elastischen Fasern von den sog. Elastoblasten erzeugt werden. LELKES und KARMAZSIN [40] gelangten auf Grund der Beobachtung von Gewebekulturen zu dem Schluß, daß zur Formation der elastischen Fasern die formative oder fermentative Tätigkeit der Zellen erforderlich sei. BANG [6] hat in lebenden Zellen breite intrazytoplasmatische Fibrillen beobachtet. HALL und Mitarbeiter [27] stellten fest, daß im Verlauf der Biosynthese durch



die Fibroblasten eine heterogene Substanz entsteht, aus der durch verschiedene Kombination der Fragmente teils Elastin, teils Kollagen synthetisiert werden kann. WASSERMANN [68] hat bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung der auf die Tenotomie folgenden Regenerate nachgewiesen, daß in den Fibroblasten 100–200 Å breite primäre Fibrillen zu sehen sind. Diese Fibrillen liegen in der Marginalzone der Zelle und bilden sich nach ihrer Ablösung durch allmähliche Aggregation zu definitiven Fasern um. RAGAN [53] schreibt in seinem Übersichtsreferat, daß im Verlauf der Biosynthese durch die Fibroblasten eine lebende Substanz von Eiweißcharakter produziert wird und aus dieser Substanz von der Chondroitinschwefelsäure als multivalentem Anion fibröse Moleküle aggregiert werden, die nach Veränderung der physiko-chemischen Bedingungen zur extrazellulären Fibrillenassoziation neigen. ENGHUSEN [21] beobachtete in gezüchteten Mesenchymzellen Vakuolen, deren Inhalt unter Wirkung der Hortega-Lösung Reduktion erleidet, bei pH 7 ausgefällt wird und in ihren chemischen Eigenschaften mit Reticulin übereinstimmt.

Da wir uns im Rahmen unserer Untersuchungen vor allem mit den Entstehungsbedingungen der kollagenen Faser beschäftigen, sollen im folgenden die im Bereich der Kollagenforschung erzielten Resultate erwähnt werden. Nach NAGEOTTE [49] und BAITSELL [5] entstehen die kollagenen Fasern aus der Grundsubstanz, während LAGUESSE [39] den Zellen Bedeutung beimißt. PORTER und VANAMEE [52] untersuchten elektronenmikroskopisch die *in vitro* entstandenen Fasern. Der Diameter des dominanten Fasertyps war gewöhnlich kleiner als 400 Å. Die Fasern zeigten eine Periodizität von 240 Å. Außerdem kamen noch sog. Protofibrillen vor, deren Durchmesser 50–100 Å mit einer Streifung von 270 Å betrug. Nach den Autoren repräsentieren diese Protofibrillen die primäre Assoziation der kollagenen Makromoleküle. ENGHUSEN [20] stellte fest, daß die kollagenen Fibrillen zellulär und auch azellulär zustande kommen können.

Bereits anlässlich der lichtmikroskopischen Untersuchung tauchte die Frage auf, ob zwischen den Fasern nicht auch Binde substanz anzutreffen sei. Laut RANVIER [54] befindet sich zwischen den Fasern nur Lymphe, während RENAUNT [55] feststellte, daß die Fasern von einem mukoiden, viskösen, amorphen Gel umschlossen sind. Nach den Versuchsergebnissen von KLING und CAMERON [35] sowie GROSSFELD, MEYER und GODMAN [23] spielen die aus den mesenchymalen Zellen differenzierten Fibroblasten nicht nur in der Produktion der verschiedenen Bindegewebsstrukturen eine Rolle, sondern auch in der Erzeugung der Substanz, welche sie umgibt. Bei der Untersuchung der chemischen Natur dieses Bindemittels stellte sich heraus, daß es Mukopolysaccharide und Proteine enthält, die frei oder miteinander vermischt vorkommen.

Bei unseren Untersuchungen stellten wir uns die Aufgabe, die Bedingungen der Faserentwicklung an der Differenzierung eines Gewebes zu verfolgen.



Als Versuchsmaterial wählten wir die Hornhaut des Hühnerembryos, weil dieses Gewebe die Untersuchung der kollagenen Fasern ermöglicht und zugleich reichlich Bindesubstanz enthält.

\*

Mit der Entwicklung des Bulbus von Hühnerembryonen hat sich — die täglichen Veränderungen registrierend — zuerst BAER [3] befaßt. Seit 1900 beschäftigten sich mit der Entwicklungsgeschichte des Auges im Verlauf experimenteller Arbeiten zahlreiche Autoren. LENHOSSÉK [41] besprach die Fasern der Zonula, NORDMANN [50] untersuchte die Entwicklung der Linse, LADIJENSKI [38], LAGUESSE [39], HAGEDORN [26], SEEFELDER [62], WATZKA [69], JASSWOIN [34], HAMBURGER und HAMILTON [28], COULOMBRE [14, 17] sowie MEYER [48] befaßten sich mit der Differenzierung der Cornea.

Nach den Untersuchungen von SEEFELDER [62] entstehen Hornhaut, Pupillarmembran und Regenbogenhaut aus einer ursprünglich einheitlichen Gewebsmasse. Weiterhin stellte er fest, daß in der Entwicklung der Cornea des Menschen und der Vögel — besonders der Hühner — weitgehende Übereinstimmung besteht. Laut LENHOSSÉK (1903) entsteht im Raum zwischen dem oberflächlichen Ektoderm und der Linse unmittelbar nach Abschnürung der Linse ein Fasernetz, der sog. vordere Glaskörper, der von STUDNICKA [64] als Mesostroma bezeichnet wurde. Diese feine Membran färbt sich kräftig mit Anilinblau und liegt im 3—4tägigen Entwicklungsstadium parallel zum Oberflächenektoderm. Nach LAGUESSE [39] erscheinen die Zellen, welche die Grundsubstanz der Cornea bilden, zuerst am 5. Entwicklungstage. Diese Einwanderung geht von der corneoskleralen Grenze aus und bekommt am 7. Tage einen neuerlichen kräftigen Impuls. Er erwähnt ferner, daß sich vorher eine fibrilläre Substanz zwischen den beiden Epithelschichten bildet, in welche die mesenchymalen Zellen hineinwachsen. Nach Erscheinen der Zellen kommt eine mächtige Fibrillenproliferation in Gang, deren Orientation auf Grund der primären Gitter vor auszusehen ist. MEYER und RAHILLY [48] wenden zur Bezeichnung der Entwicklungsprozesse eine besondere Einteilung an und bringen den Differenzierungsprozeß der Gewebe mit der Entwicklung des ganzen Embryos in Zusammenhang. Auch diese Autoren fanden, daß die Zellen vom Rand des Augenbeckens unter das Epithel einwandern und die Mesothelialschicht der Cornea bilden. Ihrer Ansicht nach ist der vordere Augenkörper eine azelluläre, fibrilläre Schicht, die HAGEDORN [26] postepitheliale Schicht nennt. Im 4tätigen Entwicklungsstadium besteht die Cornea aus drei Bestandteilen: Epithel, azellulär-postepitheliale Schicht und Mesothel. Anschließend erscheinen die Fasern der Substantia propria. Nach COULOMBRE [15] setzt die Bildung der kollagenen Fasern des Stromas am 8. Tage ein, und am 14. Tage sei bereits ein völlig differenziertes Bild zu sehen. WATZKA [69] meint, die am 7. Tage anwesenden Fasern wären als Präkollagen zu betrachten.



LADIJENSKI [38] beobachtete indessen kollagene Fasern schon in diesem Stadium. WATZKA [69] fand, die Entwicklung der hinteren Membran beginne am 7. Tage, und am 11.—12. Tage sei sie bereits in ihrer endgültigen Form anzutreffen. LAGUESSE [39] und JASSWOIN [34] vertreten die Meinung, daß die vordere und hintere Grenzmembran gleichzeitig entstehen.

Laut JAKUS [33] besteht die vordere Grenzschicht aus feinen Fibrillenbündeln, die den kollagenen Fibrillen gleichen und etwa bei derselben Streifung auch Querstreifen aufweisen. In bezug auf die hintere Membran stellt er fest, daß die in der Nachbarschaft des Stromas befindlichen Fibrillen große Ähnlichkeit mit dem bekannten Bild der Fibrillen der Tunica propria zeigen. WISLOCKI [71] und andere haben sich eingehend mit der Histochemie der Grenzschichten beschäftigt.

Auf Grund eigener Untersuchungen hat TÖRÖ [67] festgestellt, daß sich die Cornea, entwicklungsmechanisch betrachtet, aus zwei Bestandteilen verschiedener Herkunft zusammensetzt: aus einer ekto- und einer mesodermalen Schicht. Zur ersten rechnet das Epithel, zur zweiten die Bowmansche Membran, die Tunica propria und die Descemetsche Membran. Seine Versuche hat er an den Eiern bzw. Larven von *Rana fusca* und *Ambylostoma* vorgenommen. Verschieden große Sektoren der Cornea wurden operativ entfernt und im Verlauf der nachfolgenden Regeneration die Entwicklung der Gewebe beobachtet. TÖRÖ fand, daß bei der Regeneration der Tunica propria von der Corneoskleralgrenze eingewanderte Zellen eine hervorragende Rolle spielen. Sowohl bei der Regeneration als auch bei der Entwicklung der Cornea mißt er dem Intraokulardruck große Wichtigkeit bei.

Beachtenswerte Untersuchungen sind auch auf dem Gebiet der Cornealtransplantation durchgeführt worden. WINKELMANN [70, 71] transplantierte Sklera in die Cornea und stellte fest, daß die Sklera allmählich durchsichtig wurde. Zur Erklärung der Erscheinung führt er folgendes an: 1. Die Fasern der Sklera bilden sich unter Wirkung der Stromasubstanz der aufnehmenden Cornea zu typischen Cornealfibrillen um oder 2. die Sklerafasern werden abgebaut und durch Cornealfasern ersetzt. Aus den Untersuchungen von JASSWOIN [34] geht hervor, daß sich die Fasern der Tunica propria der Cornea im frühen Entwicklungsstadium argyrophil und später auf eine für Kollagen bezeichnende Weise braun imprägnieren.

Mit der Frage der Silberimprägnation haben sich viele Autoren befaßt. Im allgemeinen betrachtet man die Silberimprägnation als charakteristisch für die Retikulinfasern, und zwar auf Grund der Vorstellung, daß die retikulären Fasern eine Substanz enthalten, die gegenüber Silber über große Affinität verfügt.

Der Mechanismus der Imprägnation ist eine seit langem umstrittene und auch heute noch nicht gelöste Frage. STADTMÜLLER [63] und ROBINOW [57] meinen, das Wesentliche des Versilberungsprozesses bestehe darin, daß an der



Ausfällungsstelle eine lichtempfindliche Silber-Eiweißbindung zustande kommt. LIESEGANG [42] führt diese Erscheinung darauf zurück, daß in den Gewebsspalten die schutzkolloidartige Wirkung der Gelatine fehlt. LÖVENSTÄDT [44] betont die Rolle der mechanischen Adsorption. HERINGA und HOOFT [31] erörtern das Problem der elektrostatischen Kräfte und nehmen an, daß das positive Silberion an negativ geladenen Stellen ausgefällt wird. ZEIGER [73] weist auf die Rolle des Schwefels hin, der als »Reifungskörper« an photographischen Prozessen teilnimmt. Andere geben der Meinung Ausdruck, daß unter Lichtwirkung ebenso wie in der Photographie aus den Bromionen Elektrone freigesetzt werden, die das Ionengitter des Silberbromids verändern, und auf diese Struktur lagere sich das Silber ab. Die alkalische Silberlösung sei nicht lichtempfindlich, so daß man an andere energiefreisetzende Prozesse denken müsse. Derartige sog. reduzierende Substanzen finden sich beispielsweise in den Eiweiß- und Kohlenhydratkomponenten der kollagenen Fibrillen. DETTMER und SCHWARZ [18] konnten auch in den Zwischensubstanzen des Bindegewebes eine ähnliche reduzierende Gruppe nachweisen.

Die verschiedenen Substanzen führen nach unterschiedlichen Mechanismen zur Entstehung der Silberimprägation, die unter Mitwirkung innerer und äußerer Gewebstoffe zustande kommt. Zu den inneren Faktoren zählen die in den kollagenen Fibrillen vorkommenden Komponenten, zu den äußeren Faktoren rechnen die Bestandteile der Kittsubstanz. Wahrscheinlich wird das Silber von den Mukopolysacchariden der Grund- und Kittsubstanz reduziert, und so entsteht das Versilberungsbild der fibrösen Strukturen.

Bekanntlich hemmt Hyaluronidase die Imprägnierbarkeit der Fasern, was aber nicht bedeutet, daß die Grundsubstanz auch im ursprünglichen Zustand eine derartige reduzierende Eigenschaft besitzt. Zwischen den isolierten retikulären Fasern und den gereinigten kollagenen Fibrillen ergibt sich ein geringer Unterschied. Es ist daher anzunehmen, daß auch den Proteinen und Glykoproteinen eine wesentliche Rolle in der Gestaltung des Versilberungsbildes zufällt.

MASSARI [45] legte Sehnenfibrillen in Eiweißlösung und imprägnierte sie anschließend. Es kam starke Versilberung zustande, die Silberkörnchen waren unter dem die Fibrillen umgebenden Protein, an der Oberfläche der Fibrillen. Unter diesen Umständen kommen sie auch im Organismus vor. Von den verschiedenen Gewebeeigenschaften wird der Schwellungsindex der Fibrillen verändert und dadurch das Versilberungsbild ebenfalls beeinflusst. Nach PETERS [51] enthalten einige Aminosäuren der kollagenen Polypeptidkette — Histidin, Arginin — aktive Gruppen, die imstande sind, Silberionen zu binden. In den Gebieten, wo Silberionen fixiert werden, kommen Kristallisierungszentren zustande, die zur Entstehung eines schwarzen Versilberungsbildes führen und auf die innere Verworrenheit der Proteinstrukturen deuten. Nach anderen Autoren enthält das Kollagen keine aktiven Gruppen,



dagegen gehe unter Wirkung der Behandlung mit den verschiedenen Reagenzien Proteindenaturation vor sich, die anlässlich der Imprägnation aktiviert wird.

BANGA [7] beobachtete, daß die nativen kollagenen Fasern viel mehr Silber zu binden vermögen, als bisher angenommen wurde. Dies läßt sich ihrer Ansicht nach darauf zurückführen, daß an der Bindung nicht nur Histidin teilnimmt, sondern auch die Mukopolysaccharide. Die Versilberung ist in erster Linie an die Eigenschaft des Prokollagens gebunden, weil dieses dreimal soviel Histidin enthält wie Metakollagen. Von Histidin wird aus der Silbernitratlösung das Metallsilber abgespalten (braunes Imprägnationsbild), während die Mukopolysaccharide das Silbernitratmolekül binden und sich daher schwarz färben. BAUER [12] hat die Frage der Argyrophilie an menschlichem Material untersucht und festgestellt, daß an der Hornhaut nach Zerstörung der Kittsubstanz Argyrophilie auftritt. Dies beruht seiner Meinung nach darauf, daß die unter pathologischen Bedingungen eindringenden Gefäße mukolytischen Effekt auf die Kittsubstanz ausüben, die infolgedessen zugrunde geht, und dadurch werden die frei gewordenen Fasern imprägnierbar. Die Vaskularisation der Hornhaut findet erst statt, wenn sich die anaerobe Glykolyse in aerober Richtung verschiebt, d. h. Argyrophilie sei nur bei aerober Glykolyse zu beobachten. Weiterhin stellte BAUER fest, daß es sich bei der Argyrophilie und der Metachromasie um einander widersprechende histochemische Erscheinungen handelt [11]. SCHWARZ und MERKER [61] beschäftigten sich mit dem Versilberungsbild der nativen und fixierten kollagenen Fibrillen. Als Untersuchungsmaterial verwendeten sie Sehngewebe. Nach ihren Feststellungen kommt nach Vorbehandlung mit Hyaluronidase, Zitratpuffer und Perjodsäure die innere Versilberung der D-Zone in den nativen Fasern nicht zustande. Auch nach Bisulfitbehandlung und Azetylierung zeigen native Fibrillen keine Versilberung. In formolfixierten Präparaten entsteht nach Vorbehandlung mit Kochsalz, Zitratpuffer, Hyaluronidase, Trypsin und Perjodsäure das innere Versilberungsbild der D-Zone, während dieses Bild nach Behandlung mit Bisulfit und Azetylierung nicht erscheint. Weiterhin stellen diese Autoren fest, daß die im Zitratpuffer löslichen Kollagenfraktionen die reduzierende Gruppen enthalten, die bei der Versilberung eine Rolle spielen.

Mit den chemischen Eigenschaften der interfibrillären Substanz der Cornea beschäftigte sich eingehend MEYER [46, 47], der folgende Fraktionen isolierte:

1. Chondroitinsulfat, das aus Hexosamin-Uronsäure-Sulfat besteht und mit testikulärer Hyaluronidase hydrolysiert werden kann.
2. Eine Hyaluronsäurefraktion, die sich nur mit testikulärer Hyaluronidase beeinflussen läßt und
3. Keratinsulfat, das die Hälfte der gesamten Mukopolysaccharidmenge ausmacht.



Nach HERINGA, LEYENS und WEIDINGER [32] spielen die Mukoide der Cornea eine große Rolle in der Wasserbindung, wodurch die Durchsichtigkeit gewährleistet wird. MEYER und CHAFFEE [46] gelangten zu der Feststellung, daß die Durchsichtigkeit von der Quantität und Qualität der Polysaccharide abhängt. Laut CLEMENS [13] sind Durchsichtigkeit, Konsistenz, Wassergehalt und Stoffwechsel der Cornea von den Eigenschaften der Kittsubstanz abhängig.

Zum Nachweis der Zwischensubstanz kann man u. a. die sog. metachromatischen Färbungsverfahren benutzen. Nach dem ursprünglichen Standpunkt LISONS [43] ergibt sich die Metachromasie aus Kohlenhydraten, die ein Sulfat-Radikal enthalten. Die Metachromasie sei von den Eigenschaften der negativen Radikale abhängig. Obwohl sich die Metachromasie theoretisch auf keine chemische Struktur zurückführen läßt und eher auf der Dichtigkeit der Oberflächenfüllung beruht, färben sich dennoch unter den in tierischen Geweben vorkommenden Substanzen praktisch nur die saueren Kohlenhydrate metachromatisch. Dies hat aber die lokale Konzentration der sich metachromatisch färbenden Substanzen zur Voraussetzung.

Mit der Metachromasie der Hornhaut hat sich GÜNTHER [24] eingehend beschäftigt. WINKELMANN [70] verfolgte das Schicksal von Skleratransplantaten nach diesem Verfahren und fand, daß das Durchsichtigwerden der Transplantate durch die Vermehrung der metachromatischen Substanzen eingeleitet wird. COULOMBRE [15] beobachtete im Verlauf der normalen Entwicklung zuerst am 14. Tage Metachromasie, die ihre volle Intensität am 18.—19. Tage erreichte. AUREL und HOLMGREN [2] äußern die Meinung, das Erscheinen der Metachromasie und das Durchsichtigwerden der Cornea entfielen bei Menschen, Ratte, Kaninchen, Meer-Schweinchen und Maus auf dieselbe Zeitperiode. BAUER [10] fand, das Erscheinen der Metachromasie sei nicht von den pH-Verhältnissen abhängig.

Im Rahmen unserer Untersuchungen haben wir uns mit der Entwicklung der Hornhaut des Hühnerembryos sowie mit dem Problem der Fasern und der Kittsubstanz an embryonalem Material befaßt.

### Methode

Der Bulbus des Hühnerembryos wurde im Initialstadium der Entwicklung in toto, später der vordere Bulbusabschnitt in Methylbenzoat-Paraffin eingebettet. Dann stellten wir Serienschnitte her und färbten die Präparate mit Hämatoxylin Eosin, nach MALLORY, VAN GIESON, ferner wandten wir die Silberimprägnation nach PERDRAU und Toluidinblau an.

### Ergebnisse

*Im 3tägigen Stadium.* Die Substanz des aus einer Doppellamelle bestehenden Bulbus ist von embryonalem Mesenchym umgeben. Der Eingang des Augenbechers wird von einer Lamelle überbrückt, die aus unregelmäßigen



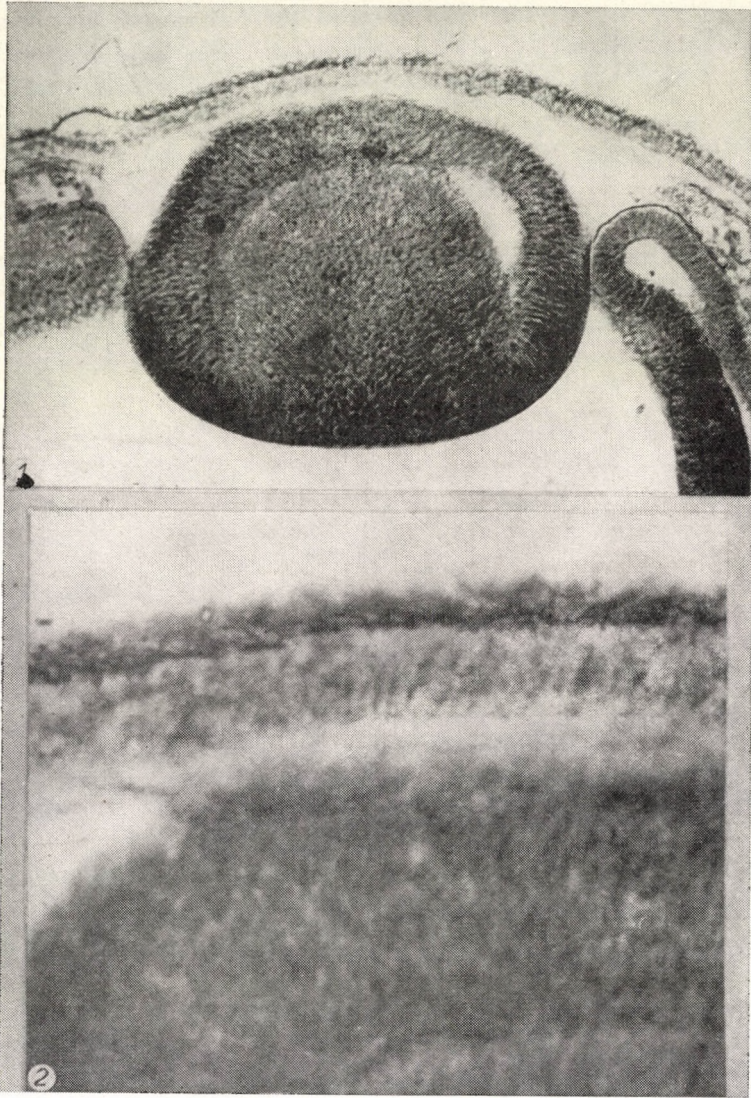


Abb. 1. Im 4tägigen Entwicklungsstadium. Silberimprägnation, 120 ×

Abb. 2. Im 4tägigen Entwicklungsstadium. Vorderer Glaskörper zwischen Epithel und Linse. Silberimprägnation, 240 ×

Epithelzellen des oberflächlichen Ektoderms besteht und sich ohne Unterbrechung im Oberflächenektoderm fortsetzt. Die abgeschnürte Linse befindet sich teils in der Eingangsöffnung des Augenbeckers, teils bereits im letzteren. Zwischen der den Augenbecher überbrückenden Epithellamelle und dem vorderen Linsenpol ist eine strukturlose Gewebsmasse anwesend.



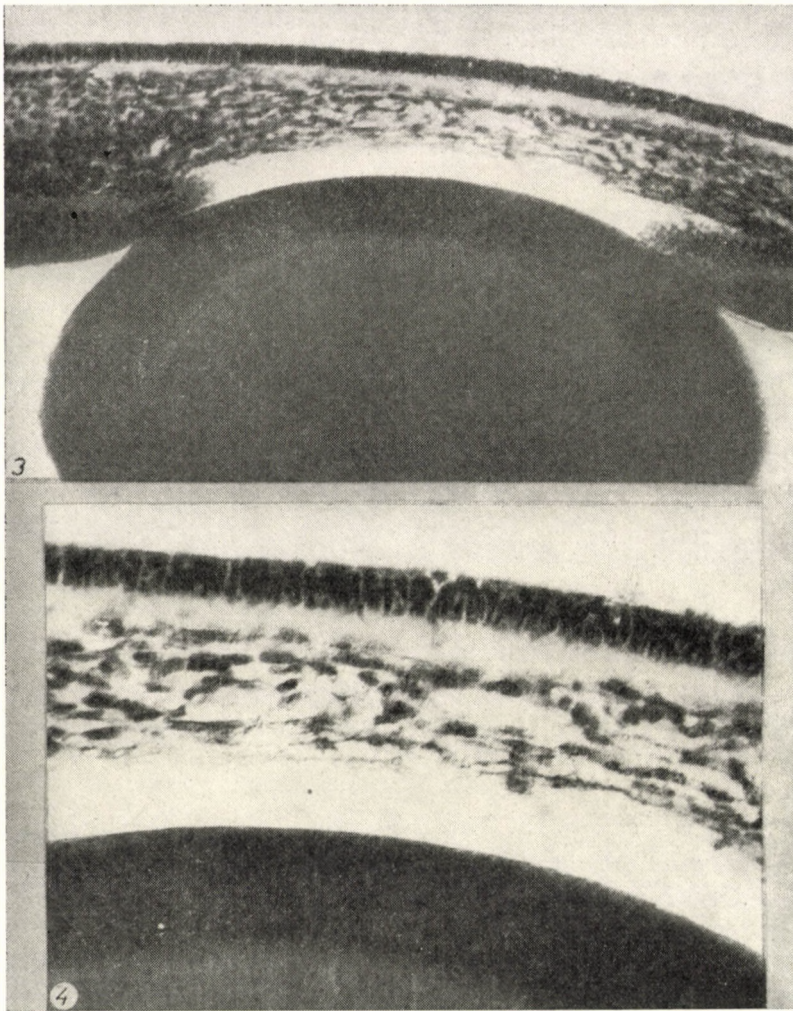


Abb. 3. Im 5tägigen Entwicklungsstadium. Silberimprägnation, 120×

Abb. 4. Im 5tägigen Entwicklungsstadium. Granulöse perizelluläre Gebilde in der Tunica propria-Substanz. Silberimprägnation, 120×

*Im 4tägigen Stadium.* Unter der mehrschichtigen Epithellamelle befindet sich eine stark imprägnierte Basalmembran. Im Gebiet zwischen Epithel und Linse ist eine blaßgefärbte Membran anzutreffen, die fibrilläre Struktur aufzuweisen scheint. Diese Gewebsmasse steht in enger Beziehung zu der in Entwicklung befindlichen Substanz der Sklera. Die Anwesenheit einer einschichtigen Mesothelplatte läßt sich vermuten (Abb. 1–2). Toluidinblau ergibt keine Metachromasie.



*Im 5tagigen Entwicklungsstadium* Zwischen dem Epithel und dem schwach entwickelten, eher nur vermutbaren Mesothel ist die aus 5—6 Zellschichten bestehende Tunica propria zu sehen, deren Zellen parallel zum Epithel liegen (Abb. 3). Zwischen dem basalen Epithelbereich und der höchsten Zellreihe der Zellschicht sind die Reste des im vorigen Stadium beschriebenen vorderen Glaskörpers noch vorzufinden. Mit Anilinblaufärbung sind an der Oberfläche der Zellen und zwischen den parallel liegenden Zellen fibrillenartige Gebilde zu erkennen, die sich im subepithelialen Gebiet intensiver färben. Nach Silberimprägnation sieht man an der Oberfläche der Zellen feine, granulöse, stellenweise sich über die ganze Zelloberfläche erstreckende fibrillenartige Gebilde. Die Zellen sind durch ihre Fortsätze miteinander verbunden. Diese Gebilde mit granulöser Struktur erscheinen besonders ausgeprägt in der Zone zwischen der obersten Zellreihe und dem Epithel (Abb. 4).

*Im 7tägigen Stadium.* Das Mesothel hat sich bereits entwickelt. Subepithelial erscheint eine stark gefärbte Basalmembran. Die Tunica propria ist zellreicher, massiver, infolgedessen treten die an der Oberfläche der Zellen liegenden elementaren Fibrillen weniger deutlich in Erscheinung. An der Corneoskleralgrenze ist bereits kräftige Fasernstruktur anzutreffen. Im Imprägnationsbild tritt die stark schwarz gefärbte Basalmembran hervor, die mit den beiden Epithelschichten eng zusammenhängt. In der interzellulären Substanz sind fein schwarz imprägnierte Faserngebilde zu beobachten (Abb. 5—6). An der Corneoskleralgrenze ist in der Zone der massiveren Zellschicht blasse metachromatische Färbung wahrnehmbar. Ebenso sieht man intensive Metachromasie in der Substanz der stark massiven, faserigen Sklera (Abb. 7).

*Im 8tägigen Stadium.* Die Tunica propria ist sehr zellreich, die Zellen liegen parallel zur unteren Epitheloberfläche und zeigen mit Anilinblau feine Blaufärbung am Rande ihres Plasmas. Die Basalmembranen sind gut abgegrenzt und erscheinen homogen. In der Sklera hat ein bedeutender Differenzierungsprozeß stattgefunden, deutliche Knorpelinseln sind erschienen. Nach Silberimprägnation sieht man ein feines Fasernsystem mit granulöser Struktur. Die Corneoskleralgrenze besteht aus sehr dünnen, parallel gelegenen, schwarz imprägnierten Fasern, die sich in Richtung der Sklera in der perichondralen Substanz des in Entwicklung begriffenen Knorpelgewebes fortsetzen. Mit Toluidinblau ergibt sich im Bereich der Corneoskleralgrenze, vor allem im Umkreis der Knorpelzellen, starke Metachromasie. Rings um die Zellen der Tunica propria und um die Fasernsubstanz ist die Färbung stark metachromatisch, fein inselartig lokalisiert.

*Im 9tägigen Stadium.* Mit Anilinblaufärbung ist eine kräftige Fasernstruktur in der Tunica propria zu erkennen. Ein interessantes Bild bietet die Corneoskleralgrenze. Als Fortsetzung des Perichondriums sieht man ein sich lang hinstreckendes Fasernbündel, das am Randabschnitt der Cornea seine Massivität verliert, sich auflockert und ohne jeden Übergang mit der Tunica



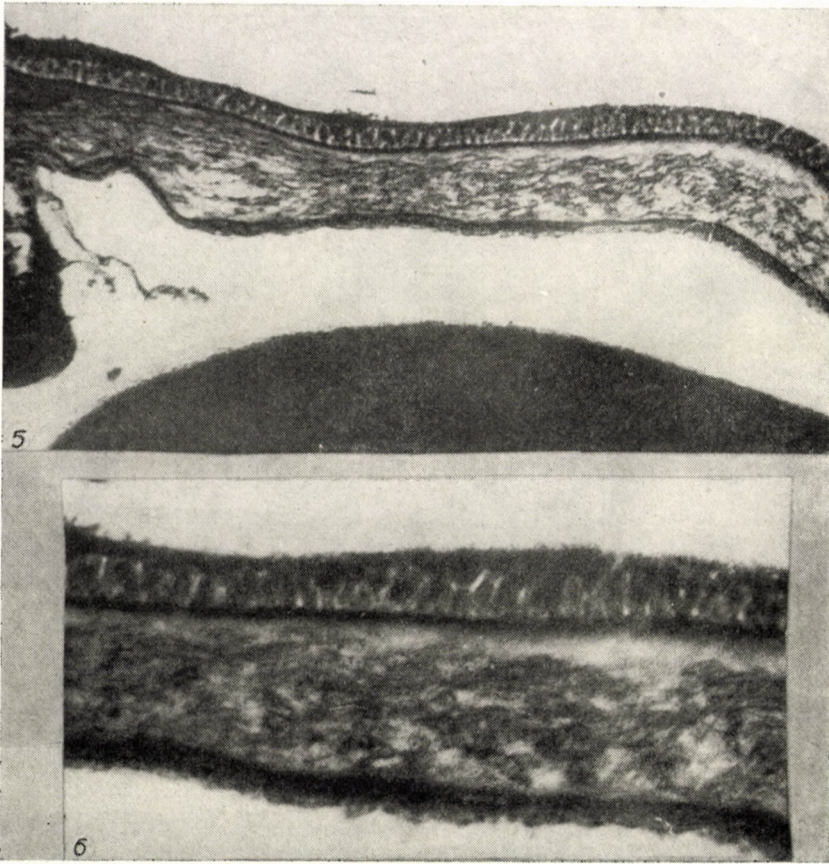


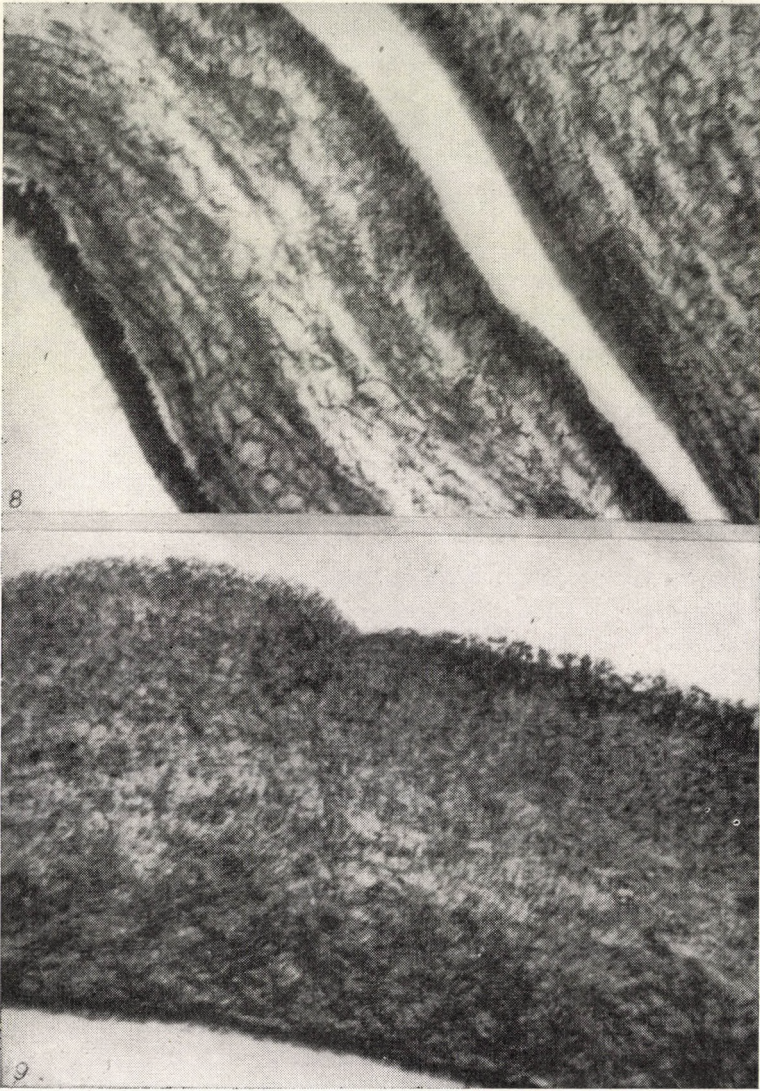
Abb. 5. Im 7tägigen Entwicklungsstadium. Silberimprägnation, 120 ×

Abb. 6. Im 7tägigen Entwicklungsstadium. Beginn der Entwicklung der fein imprägnierten Faserbildungen. Silberimprägnation, 240 ×

propria verschmilzt. Die Sklera besteht schon aus Knorpelgewebe. Im Imprägnationsbild sind verschiedenartig angeordnete, stark schwarzgefärbte feine Fibrillen zu sehen. An der Corneoskleralgrenze erscheint als Fortsetzung der die entstehende Knorpelanlage umgebenden faserigen Substanz ein Fasernsystem, das sich auflockert und in die Tunica propria erstreckt (Abb. 8). In den mit Toluidinblau gefärbten Schnitten zeigt die Tunica propria beginnende Metachromasie. Eine ähnliche, aber viel intensivere Färbung ist an der Corneoskleralgrenze wahrnehmbar.

*Im 11tägigen Stadium.* Die Strukturen haben sich weiter differenziert. Nach Silberimprägnation erscheint im Bereich der Tunica propria zum erstenmal inselartig das für die Kollagenimprägnation charakteristische braune



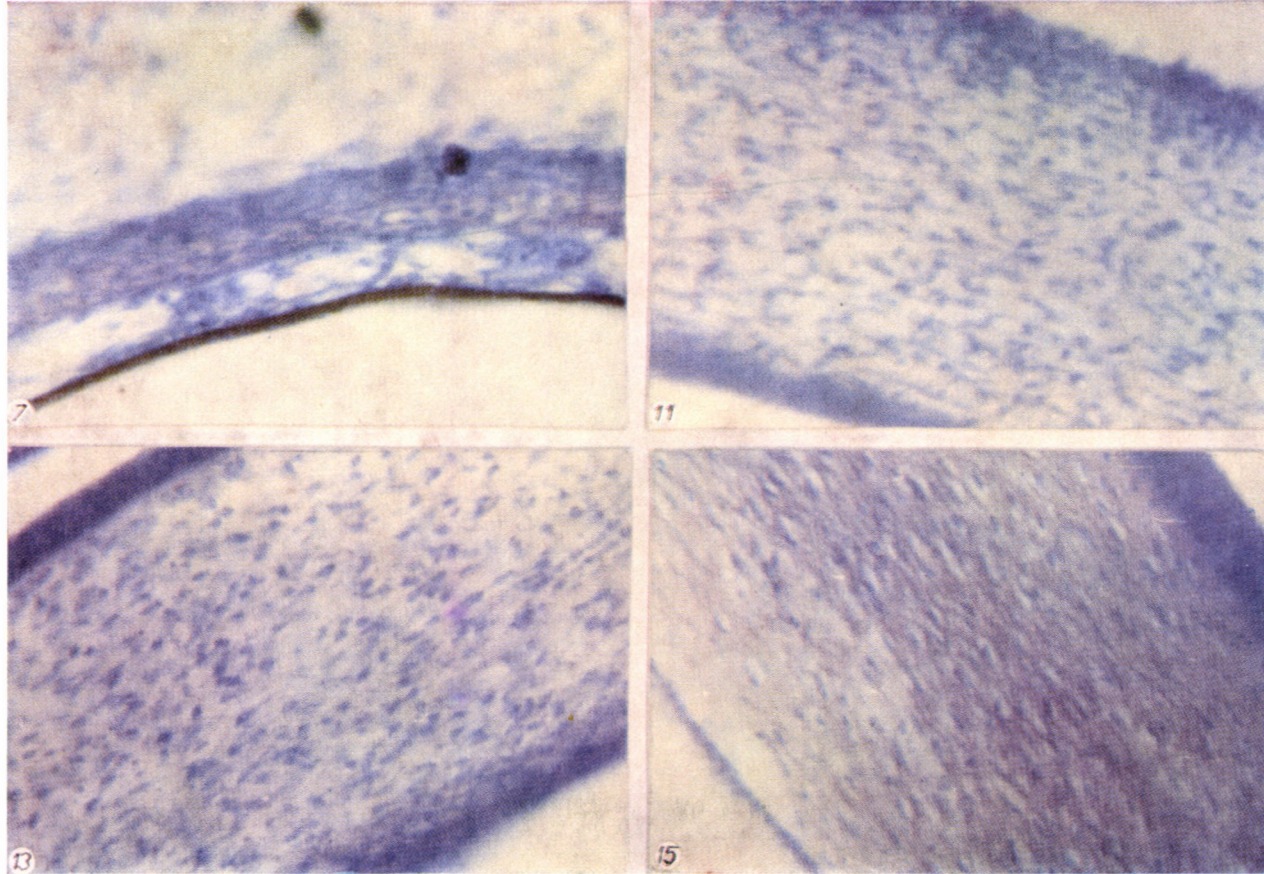


*Abb. 8.* Im 9tägigen Entwicklungsstadium. Kräftige Fasernbildung an der Corneoskleralgrenze. Silberimprägnation, 240 ×

*Abb. 9.* Im 11tägigen Entwicklungsstadium. Braune Imprägnation gebende Inseln im mittleren Stromabereich. Silberimprägnation, 240 ×

Versilberungsbild. Vorderes und hinteres Drittel der Cornea sind unverändert argyrophil (Abb. 9). In den mit Toluidinblau behandelten Präparaten sieht man die zunehmende Metachromasie der Cornea und die unveränderte Intensität zeigende Metachromasie der Corneoskleralgrenze.





*Abb. 7.* Sklera im 7tägigen Entwicklungsstadium. Toluidinblau, 120 ×  
*Abb. 11.* Beginnende Metachromasie der Cornea im 12tägigen Entwicklungsstadium. Toluidinblau, 240 ×  
*Abb. 13.* Zunehmende Metachromasie der Cornea im 13tägigen Entwicklungsstadium. Toluidinblau, 240 ×  
*Abb. 15.* Intensive Metachromasie der Cornea im 15tägigen Entwicklungsstadium, Toluidinblau, 240 ×







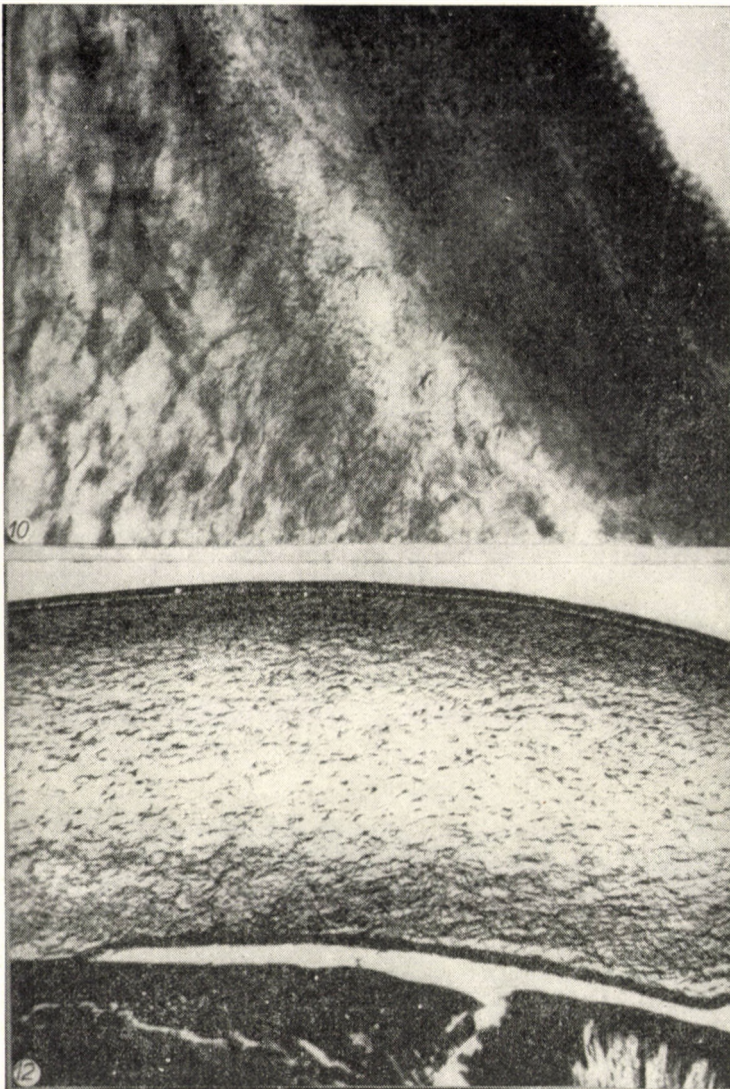


Abb. 10. Im 12tägigen Entwicklungsstadium. Corneoskleralgrenze. Silberimprägnation, 240 ×

Abb. 12. Im 13tägigen Entwicklungsstadium. Zunehmende Dominanz des für Kollagenen bezeichnenden Imprägnationsbildes. Silberimprägnation, 120 ×

*Im 12tägigen Stadium.* Mit Anilinblaufärbung ist die intensive Färbung des Cornealstromas zu sehen. Im silberimprägnierten Präparat erscheinen in der Substanz des im ganzen noch Argyrophilie aufweisenden Stromas mehr und mehr braune Flecke. An der Corneoskleralgrenze dominiert die reiche, intensive Argyrophilie zeigende Faserstruktur, die als Fortsetzung des



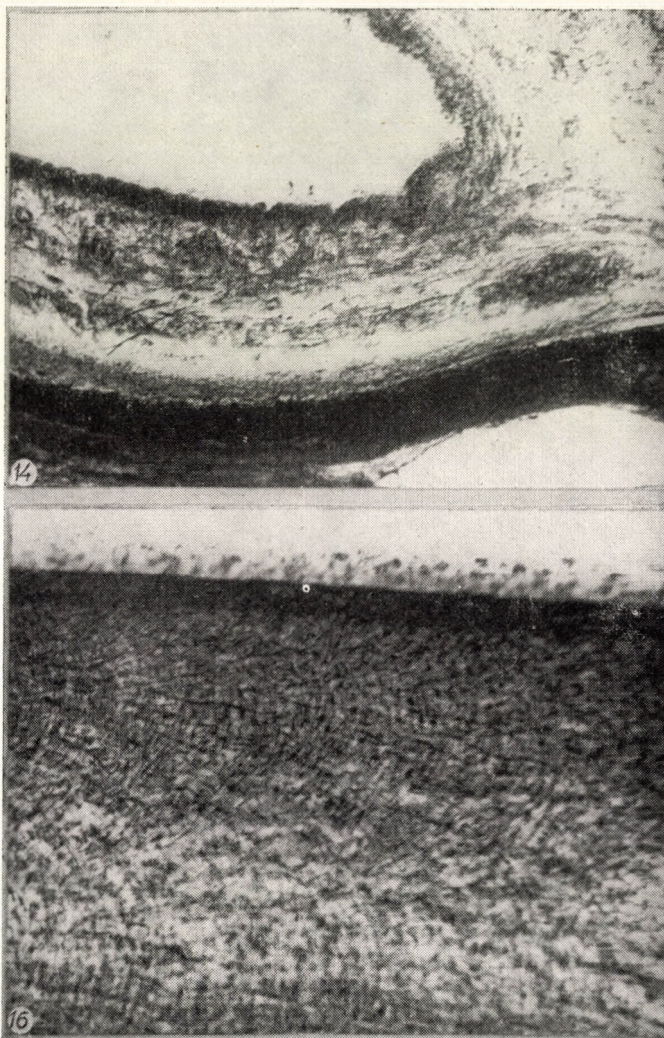


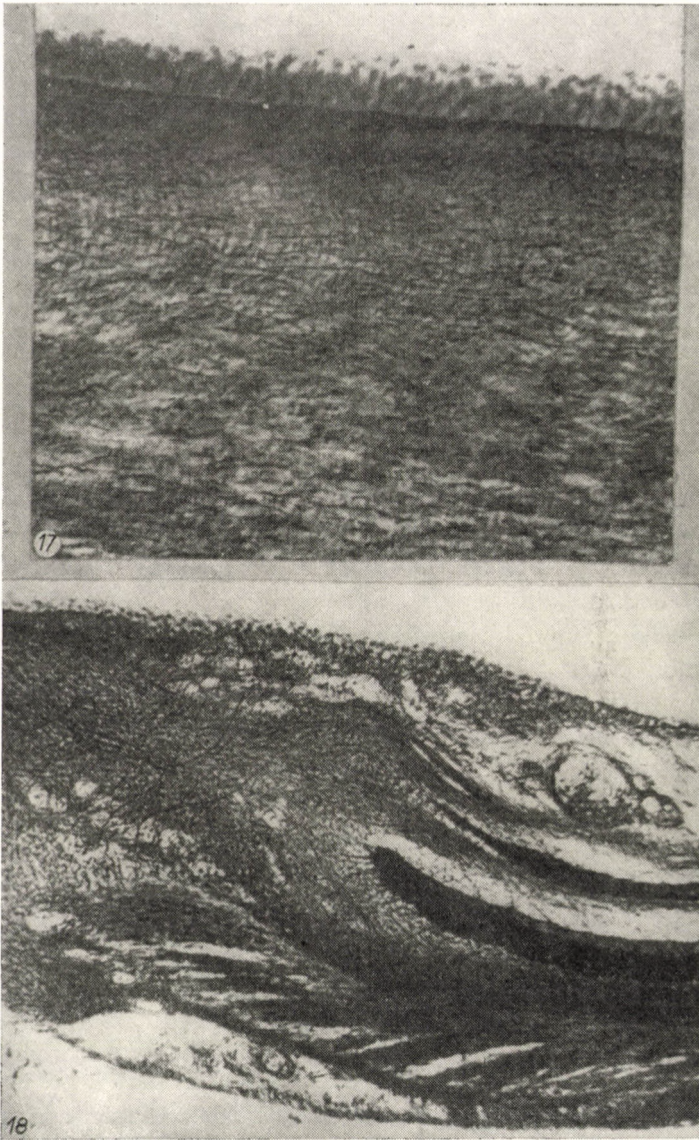
Abb. 14. Im 15tägigen Entwicklungsstadium. Corneoskleralgrenze. Silberimprägnation, 240 ×

Abb. 16. Im 16tägigen Entwicklungsstadium. Starke Fasernbündel im Stroma. Silberimprägnation, 240 ×

Knorpelgewebes aufgefaßt werden kann (Abb. 10). Zunehmende Metachromasie sieht man in der Tunica propria der Cornea (Abb. 11). Ein ähnliches Bild ergibt sich auch an der Corneoskleralgrenze. Die Basalmembranen sind nicht metachromatisch.

*Im 13tägigen Stadium.* Die Cornea ist endgültig differenziert. Mit Azanfärbung erscheint die Corneoskleralgrenze intensiv blau, ihre Struktur ist aufgelockert. Im silberimprägnierten Schnitt ist das für Kollagen bezeichnende





*Abb. 17.* Im 17tägigen Entwicklungsstadium. Für kollagene Fasern bezeichnendes Imprägnationsbild. Silberimprägnation, 240×

*Abb. 18.* Im 17tägigen Entwicklungsstadium. Corneoskleralgrenze. Silberimprägnation, 120×

braune Bild noch kräftiger. Subepithelial ist eine dünne, intensiv gefärbte Membran anzutreffen. Ein ähnliches Gebilde erscheint auch über dem Mesothel. Die Tunica propria besteht aus dicken Bündeln. Nach Versilberung sind beide Basalmembranen schwarz imprägniert. Im vorderen und hinteren Drittel der



Tunica propria herrscht noch Argyrophilie vor, aber an den anderen Stromaabschnitten sieht man bereits braune Silberimprägnation (Abb. 12). Die Corneoskleralgrenze ist unverändert argyrophil. In den mit Toluidinblau gefärbten Schnitten tritt im ganzen Bereich der Tunica propria zunehmend intensive Metachromasie in Erscheinung (Abb. 13).

*Im 14tägigen Stadium.* Man sieht die fertig differenzierte Gewebsstruktur der Cornea. Im silberimprägnierten Präparat dominiert immer stärker die für Kollagen bezeichnende braune Färbung. Die Metachromasie im Stroma ist unverändert.

*Im 15tägigen Stadium.* Das zuletzt beschriebene Bild ist unverändert, auch die Corneoskleralgrenze ist unverändert argyrophil (Abb. 14). Die Metachromasie der Tunica propria hat ihre endgültige Intensität beinahe erreicht (Abb. 15).

*Im 16tägigen Stadium.* Im silberimprägnierten Bild ist die Tunica propria intensiv braun (Abb. 16).

*Im 17tägigen Stadium.* Die endgültige Struktur der Cornea ist zustande gekommen. Nach Anilinblaufärbung sieht man subepithelial eine hellgefärbte, argyrophile Membran, die keine Metachromasie aufweist. Die Tunica propria besteht aus dicken Bündeln, zeigt lamelläre Struktur und färbt sich kräftig mit Anilinblau. Nach Silberimprägnation ist die Tunica propria homogen braun (Abb. 17). Toluidinblau ergibt intensive Metachromasie.

Die hintere Membran ist argyrophil und zeigt keine Metachromasie. An der Corneoskleralgrenze verläuft als Fortsetzung der Sklera ein stark argyrophiles Fasernbündel zur Cornealsubstanz. An der Übergangsstelle lockert es sich auf, verliert die Argyrophilie und verschwindet in der Struktur des braunen Cornealstromas (Abb. 18). In den späteren Stadien kommen Veränderungen der Struktur und Färbungsreaktion nicht mehr zustande.

### Besprechung

Wie die histogenetische Untersuchung ergeben hat, ist im Gebiet der Tunica propria der Cornea anfangs eine feine fibrilläre Substanz anzutreffen, deren Existenz von LENHOSSÉK bereits 1903 beschrieben wurde. Im Verlauf der Untersuchungen erschien dieser vordere Glaskörper zuerst im 3tägigen Entwicklungsstadium, dann verschwand er nach 1—2 Tagen, nachdem im 5—6tägigen Stadium eine kräftige Zellwanderung von der Corneoskleralgrenze in Gang gekommen war. Zugleich mit dem Erscheinen der Zellen setzt der Faserbildungsprozeß ein. Zuerst erscheinen feine, perizelluläre elementare Gebilde mit granulöser Struktur, die sich allmählich zu argyrophilen Fasernebildern umwandeln (8—9tägiges Stadium). WATZKA [69] hält diese Fasern für Präkollagen, COULOMBRE [15] bereits für Kollagen. Nach JASSWOIN [34] sind



die Fasern der Tunica propria der Cornea im frühen Entwicklungsstadium argyrophil und geben später das für Kollagen charakteristische braune Imprägnationsbild. Bei unseren Untersuchungen setzte diese Umgestaltung im 9tägigen Entwicklungsstadium ein und war am 14.—16.-Tage beendet. Die Corneoskleralgrenze zeigte bis zuletzt Argyrophilie. Vor dem Erscheinen der im Bereich der Cornea und Sklera entstehenden Fasern konnte die Aggregation von Zellen wahrgenommen werden.

Weiterhin ist zu beobachten, daß die Hornhaut im Verlauf der embryonalen Entwicklung vom 7. Tage an fleckige, inselartige Metachromasie zeigt, die immer mehr zunimmt und am 13.—16. Tage in stärkster Intensität in Erscheinung tritt. Dieser Zeitpunkt fällt laut HERINGA, LEYENS und WEIDINGER [32] mit einer verstärkten Wasseraufnahme der Cornea zusammen. In Übereinstimmung mit den Angaben von MEYER und CHAFFEE [46] erreicht die Vermehrung der Kittsubstanz zwischen dem 13.—16. Tage fast ihre volle Intensität. Nach anderen Literaturangaben wird die Cornea zu diesem Zeitpunkt durchsichtig.

Im Verlauf der Versuche war ferner zu beobachten, daß die Metachromasie der Corneoskleralgrenze viel früher eintritt als die der Hornhaut, nämlich in dem Entwicklungsstadium, wo die Sklera bedeutende Zellaggregation zeigt (6.—7. Tag). In der Hornhaut ist auch vor dem Erscheinen der Metachromasie beträchtliche Zellaggregation zu sehen. Die Veränderung der Silberfärbung fällt mit der Entwicklung der Metachromasie zusammen.

Nach Literaturangaben unterliegt es keinem Zweifel, daß die Fibrillen und die Kittsubstanz im Zustandekommen der Silberimprägnation gleicherweise eine Rolle spielen (BANGA 7; BAIRATI 4; PETERS 51). Laut BANGA [7] ist das sich im Verlauf der Kollagendifferenzierung vermehrende Histidin imstande, eine große Menge reines Silber zu binden, was die braune Imprägnation der Fasern zur Folge hat. Bei der Silberfärbung der Mucopolysacchariden werden in der Zwischengewebesubstanz Silbernitratmoleküle fixiert, was zur Entstehung des schwarzen Farbtons führt, PETERS [51] fand bei der Untersuchung nativer Faserpräparate, daß die Anwesenheit von Histidin und Arginin die schwarze Imprägnation der kollagenen Fibrillen zu Folge hat.

Die Untersuchungen ermöglichten noch die Beobachtung folgender Zusammenhänge:

In der Substanz der Tunica propria setzt die Fasernbildung nach Zellenwanderung ein, so daß die Zellen zweifellos eine formative oder fermentative Rolle spielen dürften. Diese elementaren Faserbildungen zeigen anfangs Argyrophilie und nehmen zugleich mit dem Reifungsprozeß den für Kollagen bezeichnenden braunen Imprägnationscharakter an. Die Kittsubstanz erscheint am 7. Entwicklungstage, verstärkt sich zunehmend und ist am 14.—16. Tage in voller Intensität zu sehen. Argyrophilie und Metachromasie stellen — am embryonalen Material — auch nebeneinander vorkommende histochemische Erscheinungen dar. Das für Kollagen bezeichnende Imprägnationsbild und



die metachromatische Kittsubstanz erscheinen bzw. entwickeln sich ungefähr in derselben Entwicklungsperiode.

Weiterhin war festzustellen, daß die Corneoskleralgrenze bis zuletzt argyrophil und zugleich auch metachromatisch bleibt.

\*

Auf Grund vorstehender Tatsachen darf der Schluß gezogen werden, daß zwischen der nach vorheriger Zellinvasion sich nach und nach in Kollagenrichtung entwickelnden Faserdifferenzierung und dem Erscheinen der Kittsubstanz ein Zusammenhang besteht.

Worauf mag dieser Zusammenhang beruhen?

Es ist anzunehmen, daß sich im Verlauf der Differenzierung in Kollagenrichtung die Möglichkeit zur Bindung einer größeren Metallsilbermenge ergibt und das Versilberungsbild dementsprechend braun wird. Doch läßt sich auch nachweisen, daß die sich unterdessen vermehrende Kittsubstanz die Gestaltung des Bildes ebenfalls immer mehr beeinflußt, was zur Folge hat, daß das schwarze Imprägnationsbild — nachdem die Polysaccharide Silbernitratmoleküle binden — immer intensiver wird. Daß die Kittsubstanz in zunehmender Menge anwesend ist, wird durch die auch nach Verschwinden der Argyrophilie erhalten gebliebene intensive Metachromasie bewiesen.

Zur Erklärung der Beobachtungen ergeben sich theoretisch folgende Möglichkeiten:

1. Die aktiven Gruppen des Kollagens repräsentieren eine stärkere Reduktionswirkung als die über die gleiche Eigenschaft verfügenden Bestandteile der Kittsubstanz.

2. Die im Verlauf der Fibrillogenese in die Fibrillen eingebauten Mukoide stammen aus der Kittsubstanz; infolgedessen nimmt eine verhältnismäßig geringe Menge Zwischensubstanz an der Silberbindung teil, deren Farbreaktion gegenüber der Intensität der von den Fasern gebotenen Farbreaktion in den Hintergrund gedrängt wird.

3. Die Eigenschaften der Kittsubstanz verändern sich, was eventuell mit der im Zeitpunkt des Verschwindens der Argyrophilie eintretenden vermehrten Wasseraufnahme in Beziehung gebracht werden kann.

4. Es besteht auch die Möglichkeit, daß die Kittsubstanz infolge dieser Tatsachen nicht mehr fähig ist, Metallsilber zu binden.

5. Aus dem Umstand, daß das Verschwinden der Argyrophilie und die volle Entwicklung der Metachromasie zeitlich zusammenfallen, darf auf einen kausalen Zusammenhang zwischen den beiden Erscheinungen geschlossen werden.

Zur weiteren Klärung obiger Erscheinungen sind unsere anderweitige histochemische, sowie enzymatische Untersuchungen im Gang.



### Zusammenfassung

Die histogenetische Untersuchung der Hornhaut des Hühnerembryos hat ergeben, daß zur Bildung der Stromafasern die formative oder fermentative Tätigkeit der von der Corneoskleralgrenze eingewanderten Zellen erforderlich ist. Die ersten Faserbildungen zeigen Argyrophilie, verlieren diese im Verlauf des Faserreifungsprozesses und werden braun. Das Verschwinden der Argyrophilie fällt mit dem Erscheinen der Metachromasie zusammen. Vor dem Erscheinen der Metachromasie tritt beträchtliche Zellaggregation zutage. Die metachromatische Reaktion der Sklera kommt viel rascher zustande als die Hornhaut. Die Corneoskleralgrenze bleibt zuletzt argyrophil und zugleich auch metachromatisch. In weiteren Versuchen sollen die Veränderung des Imprägnationsbildes und ihr Zusammenhang mit der gleichzeitig eintretenden Metachromasie sowie die Eigenschaften der Fasern und der Kittsubstanz in dieser Periode untersucht werden.

### LITERATUR

1. ALFAJEW, S. (1926): Über die embryonale Histogenese der kollagenen und reticulären Fasern des Bindegewebes bei Säugetieren. *Z. Zellforsch.* 3, 149–168. — 2. AUREL, G.—HOLMGREN, H. (1953): On the Corneal Tissue and some Observations on its Transparency. *Act. ophthal. Kbh.* 31, 1–28. — 3. BAER, K. E. (1828): Über die Entwicklungsgeschichte der Thiere. Beobachtung und Reflexion. Borntträger. Königsberg. — 4. BAIKATI, A. (1958): Submikroskopische Struktur des Kollagens. III. Silberfärbung der Bindegewebe. *Sc. Med. Ital.* 7, 273–320. — 5. BAITSELL, G. (1921): A Study of the Development of Connective Tissues in the Amphibia. *Amer. J. Anat.* 28, 447–467. — 6. BANG, cit. POLICARD, A. (1952): Sur les stades inframicroscopiques du développement des fibres conjonctives. *Bull. Microsc. appl. Sér. 2.* 2, 137–147. — 7. BANGA, I. (1955): Dissertation. Budapest. — 8. BANGA, I. (1959): The Role of Polysaccharides in Connective Tissue. *Acta morph. hung. Suppl. VIII.* 8–13. — 9. BAUER, F. (1959): Über die pathologische Histologie der gitterigen Hornhautdegeneration. v. Graefes Arch. Ophthal. 160, 560–562. — 10. BAUER, F. (1959): Chemische Untersuchungen zur Klärung der Entstehung und des Verschwindens der Metachromasie in der Hornhaut. v. Graefes Arch. Ophthal. 161, 81–92. — 11. BAUER, F. (1959): Die Argyrophilie und Metachromasie als antagonistische histochemische Erscheinungen der Sklera und Hornhaut und deren Zusammenhang mit dem Charakter des Stoffwechsels. v. Graefes Arch. Ophthal. 161, 103–108. — 12. BAUER, F. (1959): Histochemische Untersuchung der getrübbten Hornhaut mit alkalischer Silberimprägnation. v. Graefes Arch. Ophthal. 160, 658–662. — 13. CLEMENS, H. J. (1951): Dissertation. Berlin. — 14. COULOMBRE, A. J.—COULOMBRE, J. L. (1958): Corneal Development. I. Corneal Transparency. *J. cell. comp. Physiol.* 51, 1–11. — 15. COULOMBRE, A. J.—COULOMBRE, J. L. (1958): Development of Stromal Collagen Patterns. *Amer. J. Ophthal.* 45, 291. — 16. COULOMBRE, A. J.—COULOMBRE, J. L. (1958): The Role of Intraocular Pressure in the Chick Eye. IV. Corneal Curvature. *Arch. Ophthal. (Chicago)* 59, 503–506. — 17. COULOMBRE, A. J.—COULOMBRE, J. L. (1958): Corneal Development. II. Transparency Changes during Rapid Hydratation. *Amer. J. Ophthal.* 46, 276–281. — 18. DETTMER, N.—SCHWARZ, W. (1954): Die qualitative elektronenmikroskopische Darstellung von Stoffen mit der Gruppe CHO—CHOH. Ein Beitrag zur Elektronenfärbung. *Z. wiss. Mikr.* 61, 423–429. — 19. ENGHUSEN, E. (1954): Über die Bildung der kollagenen Fibrillen in vitro. *Acta anat. (Basel)* 20, 94–100. — 20. ENGHUSEN, E. (1955): Über die Bildung der kollagenen Fibrillen. *Acta anat. (Basel)* 23, 69–80. — 21. ENGHUSEN, E. (1959): Über die Entwicklung des Reticulins in vitro. *Acta anat. (Basel)* 36, 264–274. — 22. FLEMING, W. (1897): Über die Entwicklung der kollagenen Bindegewebsfibrillen bei Amphibien und Säugetieren. *Arch. Anat. Physiol. Anat. Abt.* 171–190. — 23. GROSSFELD, H.—MEYER, K.—GODMAN, C. (1955): Differentiation of Fibroblasts in the Tissue Culture as Determined by Mucopolysaccharide Production. *Anat. Rec.* 121, 471. — 24. GÜNTHER, G. (1953): Die Metachromasie bei verschiedenen Erkrankungen der Wirtshornhaut und ihre Bedeutung für den Erfolg der Keratoplastik. v. Graefes Arch. Ophthal. 154, 184–196. — 25. GÜNTHER, G. (1953): Die Metachromasie der konservierten menschlichen Leichenhornhaut. v. Graefes Arch. Ophthal. 154, 177–183. — 26. HAGEDORN, A. (1930): Beitrag zur Entwicklungsgeschichte des Auges. *Arch. Augheilk.* 102, 33–110. — 27. HALL, A. A.—KEECH, M. R.—REED, A.—SAXL, H.—TURNBRIDGE, R. E.—WOOD, M. X. (1955): Collagen and Elastin in Connective Tissue. *J. Geront.* 10, A. 388–400. — 28. HAMBURGER, V.—HAMILTON, H. L. (1951): A Series of Normal Stages in the Development of the Chick Embryo. *J. Morph.* 88, 49–92. — 29. HARTMANN, A. (1910): Zur Entwicklung des Bindegewebekechens. *Arch. mikr. Anat.* 76, 263–287. — 30. HENLE, cit. MÖLLENDORFF: Lebendige Masse, I/1. VI. 509. —



31. HERINGA, G. C.—HOOF, C. (1954): Über Zusammenhang der Argyrophilie der Bindegewebsfasern mit dem Stoffwechsel der Zellen. *Z. mikr. anat. Forsch.* 36, 1—9. — 32. HERINGA, G. C.—LEYENS, W. F.—WEIDINGER, A. (1940): On the Water Adsorption of the Cornea. *Acta neer. Morph. Extr.* 3, N. 2. — 33. JAKUS, M. A. (1954): Studies on the Cornea. I. The Fine Structure of the Rat Cornea. *Amer. J. Ophthal.* 38, N. 1. Part. II. 40—53. — 34. JASSWOIN, G. W. (1939): Sur le Développement de la cornée chez le poulet. *Arch. Anat. (Strasbourg)* 21, 112—115. — 35. KLING, D. H.—CAMERON, G. (1955): Morphological and Physiological Study of Tissue Cultures of Human and Mammalian Synovial Membranes. *Anat. Rec.* 121, 472. — 36. KOELIKER, O. (1861): Entwicklungsgeschichte des Menschen und höheren Tiere. Leipzig. — 37. KROMPECHER, ST. (1928): Die Entwicklung der elastischen Elemente der Arterienwand. *Z. Anat. Entwgesch.* 85, 704—723. — 38. LADIJENSKI, V. D. (1911): Sur l'évolution de la structure fibrillaire de la cornée chez l'embryon de poule. *C. R. Soc. Biol. (Paris)* 78, 307—308. — 39. LAGUESSE, F.: cit. Möllendorff, Lebendige Masse, I/1. VI. — 40. LELKES, G.—KARMAZSIN, L. (1955): Development of Elastic Elements in Tissue Cultures. *Acta morph. hung.* 5, 149—157. — 41. LENHOSSÉK, M. (1911): Die Entwicklung und Bedeutung der Zonulafasern nach Untersuchungen am Hühnchen. *Arch. mikr. Anat.* 77, 200—310. — 42. LIESEGANG, R. E. (1928): Histologische Versilberungen. *Z. wiss. Mikr.* 45, 273—281. — 43. LISON: cit. A kiséletli orvostudomány vizsgáló módszerei. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1959. 265. — 44. LÖWENSTÄDT, H. (1924): Untersuchungen über die Vorgänge bei der Bindegewebsversilberung nach Bielschowsky-Maresch und über die Konstitution der »Gitterfasern«. *Z. exp. Med.* 39, 355—377. — 45. MASSARI, cit. BAIRATI (1958): Submikroskopische Struktur des Kollagens. III. Silberfärbung der Bindegewebe. *Sc. Med. Ital.* 7, 273—320. — 46. MEYER, K.—CHAFFEE, E. (1940): The Mucopolysaccharide of the Cornea and its Enzymatic Hydrolysis. *Amer. J. Ophthal.* 23, 1320. — 47. MEYER, K.—LINKER, A.—DAVIDSON, A. E.—WEISMANN, B. (1953): The Mucopolysaccharides of Bovine Cornea. *J. Biol. Chem.* 205, 611. — 48. MEYER, K.—RAHILLY, D. R. (1959): The Development of the Cornea in the Chick. *J. Embryol. exp. Morph.* 7, 303—315. — 49. NAGEOTTE, J. (1922): L'organisation de la matière dans les rapports avec la vie. *Alcan. Paris.* — 50. NORDMAN, J. (1938): A propos de l'histogénèse de la cristalloïde. *Arch. Anat. (Strasbourg)* 25, 173—182. — 51. PETERS zit. BAIRATI (1958): *Sc. Med. Ital.* 7, 273—320. — 52. PORTER, K. R.—VANAMEE, P. (1949): Observation of Connective Tissue Fibers. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* 71, 513—516. — 53. RAGAN, CH. (1953): The Physiology of the Connective Tissue. *Ann. Rev. Physiol.* 14, 51—72. — 54. RANVIER, L. zit. POLICARD (1954): *Press Méd.* 16, 343. — 55. RENAULT, J. (1897): *Traité d'Histologie pratique.* C. R. Ass. anat. 5, réun. Liège. 1903. — 56. PEBYTCKAJA, P. (1952) Доклад Акад. Мед. Наук. С. С. С. Р. 2, 313. — 57. ROBINOW, C. (1937): On the Structure of Epithelial Membranes in Tissue Cultures. *Protoplasma.* 27, 86—97. — 58. ROHAILLY, R. O.—MEYER, D. B. (1959): The Early Development of the Eye in the Chick. *Acta anat. (Basel)* 36, 20—58. — 59. SCHAEFER, A. (1901): Grundsubstanz—Interzellulärsbstanz und Kittsubstanz. *Anat. Anz.* 19, 95—104. — 60. SCHWARZ, W. (1953): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über den Aufbau der Sklera und der Cornea des Menschen. *Z. Zellforsch.* 38, 26—48. — 61. SCHWARZ, W.—MERKER, H. J. (1959): Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Innerversilberung der Sehnenfibrillen. *Histochemie.* 1, 225—240. — 62. SEEFELDER, R. (1930): Über normale und abnorme Entwicklung der Hornhaut. *Z. Anat. Entwgesch.* 92, 779—795. — 63. STADTMÜLLER, F. (1921): Histochemische Darstellung zur Deutung des Wesens der Silbermethode an nichtfixierten Objekten. *Anat. Hefte.* 59, 79—210. — 64. STUDNICKA, F. K. (1907): Über die Grundsubstanzgewebe. *Anat. Anz.* 30, 209—228. — 65. SZILY, A. (1908): Über Entstehen eines fibrillären Stützgewebes im Embryo und dessen Verhältnis zur Glaskörperfrage. *Anat. Hefte.* 35, 649—757. — 66. TELLO, F. (1922): Das argentophile Netz der Bindegewebszellen. *Z. Anat.* 65, 204—225. — 67. TÖRÖ, E. (1932): Zur Frage der Entwicklung und Regeneration der Hornhaut. *Z. Anat. Entwgesch.* 98. — 68. WASSERMANN, F. (1954): Fibrillogenesis on the Regenerating Rat Tendon with Special Reference to Growth and Composition of the Collagenous Fibre. *Amer. J. Anat.* 3, 399—439. — 69. WATZKA, M. (1935): Über die Entwicklung der Cornea und der Linsenkapself des Hühnchens. *Z. Anat. Entwgesch.* 104, 424—439. — 70. WINKELMANN, J. E. (1950): Experimental Transplantation of Sclera. *Ophthalmology.* 119, 336—343. — 71. WINKELMANN, J. E. (1951): Transplantation of Sclera into Cornea. *Ophthalmology.* 54, 3—10. — 72. WISLOCKI, G. B. (1952): The Anterior Segment of the Eye of the Rhesus Monkey Investigated by Histochemical Means. *Amer. J. Anat.* 91, 323—362. — 73. ZEIGER, K. (1938): Physico-chemische Grundlagen der histologischen Methodik. Steinkopff, Dresden.



## ПРОБЛЕМЫ РАЗВИТИЯ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ ВОЛОКОН I.

Л. КАРМАЖИН

В ходе гистогенетического исследования роговицы зародыша цыплят было установлено, что для образования волокон стромы необходимо образовательная или ферментативная деятельность клеток, иммигрированных с границы роговицы и склеры. Зачаточные образования волокон показывают аргирофилию, а затем в ходе процесса созревания волокон они утрачивают свою аргирофилию и пропитываются бурым цветом. Между исчезновением аргирофилии и метахроматическим окрашиванием наблюдается хронологическое совпадение. До метахроматического окрашивания наблюдалось значительное накопление клеток. Метахроматическая реакция склеры наступает значительно раньше чем реакция роговицы. Граница роговицы и склеры до конца сохраняет аргирофилию и она одновременно является также метахроматической.

## PROBLEMS OF EMBRYONIC FIBRE DEVELOPMENT. I

L. KARMAZSIN

Histogenetic studies of the chick-embryo cornea have revealed that the formation of stromal fibres requires the formative or fermentative activity of cells originating from the corneo-scleral boundary. Primitive fibres are argyrophile but lose this capacity in the course of maturation and take a brown colour on impregnation with silver. The disappearance of argyrophilia and the appearance of metachromasia are synchronous processes, preceded by a considerable accumulation of cells. The metachromatic reaction of the sclera significantly precedes that of the cornea. The corneo-scleral boundary remains throughout both argyrophile and metachromatic.

Dr. László KARMAZSIN, Debrecen, 12. Anatómiai Intézet, Ungarn