

Elektronenmikroskopische und immunhistochemische Untersuchungen zur augendrucksenkenden Wirkung von Prostaglandin F_{2α}

E. Tamm, M. Rittig und Elke Lütjen-Drecoll

Anatomisches Institut (Direktorin: Prof. Dr. E. Lütjen-Drecoll) der Universität Erlangen-Nürnberg, Krankenhausstraße 9, W-8520 Erlangen, Bundesrepublik Deutschland

Changes in morphology of cynomolgus monkey eyes after treatment with prostaglandin F_{2α} isopropylester

Zusammenfassung. Lokale Applikation von Prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) führt zu einer Senkung des intraokulären Druckes am Primatenaugen, deren genaue Ursache noch unklar ist. Deshalb wurden die morphologischen Veränderungen nach Prostaglandinbehandlung quantitativ lichtmikroskopisch, elektronenmikroskopisch sowie mit immunhistochemischen Methoden an den Augen von sieben 5–8 Tage mit 4 µg PGF_{2α}-isopropylester behandelten Cynomolgusaffen untersucht und mit den Augen von 5 unbehandelten Kontrolltieren verglichen. Nach der Behandlung kam es zu keiner entzündlichen Reaktion. Lediglich im vordersten Bereich der Ziliarfortsätze trat ein leichtes Ödem auf, allerdings nicht in der gesamten Zirkumferenz. Die deutlichste Veränderung war eine Erweiterung der Bindegewebssepten innerhalb des Ziliarmuskels. Dabei zeigte die extrazelluläre Matrix innerhalb der Ziliarmuskelfibrillen, die sich z.T. aus Typ IV und VI Kollagen, Laminin und Fibronectin zusammensetzt, keine Veränderungen. Im Bindegewebe zwischen den einzelnen Muskelbündeln hingegen kam es nach Behandlung mit PGF_{2α} zu einem deutlichen Verlust von Fibrillen des Typ I und III Kollagens. Zusätzlich fanden sich Makrophagen mit Lysosomen, die phagozytierte Kollagenreste enthalten. Insgesamt deuten unsere Befunde darauf hin, daß die drucksenkende Wirkung von Prostaglandinderivaten durch einen vermehrten Abfluß von Kammerwasser über die, durch Lysis von Bindegewebe erweiterten uveoskleralen Abflußwege hervorgerufen wird.

Schlüsselwörter: Morphologie – Prostaglandin F_{2α} – Ziliarmuskel – Uveoskleraler Abfluß – *Macaca fascicularis*

Summary. Topically applied prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}) has been shown to lower intraocular pressure in cynomolgus monkeys. In this study the morphological changes following topical treatment of seven cynomolgus monkeys with 4 µg PGF_{2α} isopropylester for 5–8 days were investigated and compared with

the eyes of five normal animals. Quantitative light microscopical, ultrastructural and immunohistochemical methods were used. No cellular signs of inflammation were seen in any of the eyes. Slight edema in the most anterior part of the ciliary processes occurred in most eyes, but only in parts of the circumference. The most pronounced change was dilation of the intramuscular spaces within the ciliary muscle. No changes were observed in the extracellular matrix within the muscle bundles, which consist partly of type IV und VI collagen, laminin and fibronectin. In the connective tissue between the muscle bundles, loss of collagen type I und III fibrils was observed. Additionally, macrophages were found with phagolysosomes containing phagocytized collagen fibrils. We suggest that loss of extracellular material leads to a widening of the uveoscleral outflow pathways of ciliary muscle and thereby to a reduction in intraocular pressure.

Key words: Morphology – Prostaglandin F_{2α} – Ciliary muscle – Uveoscleral outflow – *Macaca fascicularis*

Es ist allgemein bekannt, daß Prostaglandine potente Mediatoren der okulären Entzündungsreaktion darstellen [2, 12]. So rufen hohe lokale Dosen verschiedener Prostaglandine am Kaninchenauge einen Zusammenbruch der Blut-Kammerwasser-Schranke hervor, der von einem ausgeprägten Anstieg des intraokulären Drucks begleitet wird [27, 28, 31, 32, 38, 39]. Seit einigen Jahren ist jedoch bekannt, daß vergleichsweise niedrige lokale Dosen des Prostaglandins F_{2α} bei Kaninchen [8, 20], Katzen [6, 20, 34] und Affen [6, 7, 10, 20, 34] zu einer deutlichen Senkung des intraokulären Druckes führen. Auch bei gesunden menschlichen Probanden [16] sowie Glaukomapatienten [1] kommt es zu einer Drucksenkung, die bei wiederholter Gabe über einen längeren Zeitraum aufrechterhalten werden kann. Um Klarheit über die morphologischen Grundlagen dieser Augendrucksenkung zu gewinnen haben wir die Augen von sieben Cynomolgusaffen untersucht, die über den Zeitraum von 5–8 Tagen mit dem Prostaglandin-F_{2α}-isopropylester behandelt worden waren. Es wurde eine Dosierung verwendet (4 µg), die bei diesen Tieren zu einer deutlichen Drucksenkung führt [10]. Die morphologischen Veränderungen

Tabelle 1. Semiquantitative Auswertung der morphologischen Veränderungen nach Prostaglandinbehandlung. 80 Schnitte aus der gesamten Zirkumferenz eines jeden Auges wurden ausgewertet. Die Zahlen repräsentieren den Prozentsatz an positiven Befunden

Nr.	Behandlungsdauer (d)	IOD vor Enucleation	leichtes Ödem der Ziliarfortsätze [%]	Greeff-Bläschen [%]	Veränderungen im Ziliarmuskel [%]
1	5	OD 6 mmHg ^a OS 13 mmHg	33	33	100
2	5	OD 7,5 ^b OS 5,5	20	-	100
3	5	OD 4 mmHg ^a OS 15 mmHg	25	25	100
4	6	OD 7,5 ^b OS 5	63	-	100
5	7	OD 12,5 ^b OS 5	25	-	100
6	7	OD 8 ^b OS 5,5	20	-	100
7	8	OD 7,5 ^b OS 5	50	-	100

^a Messung des Augendrucks (IOD) mit Goldmann-Tonometer, ^b Messung mit Schiötz-Tonometer (Ablesungswert bei 7,5 g)

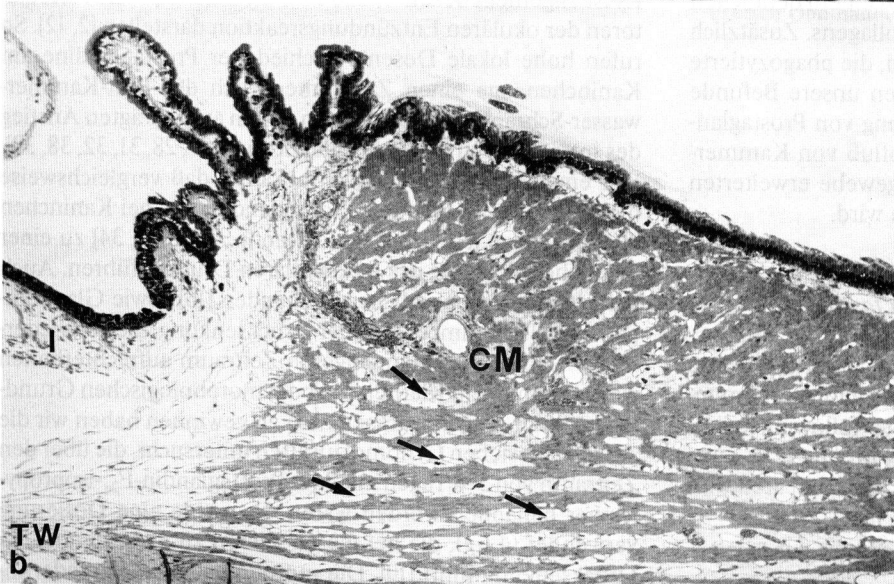
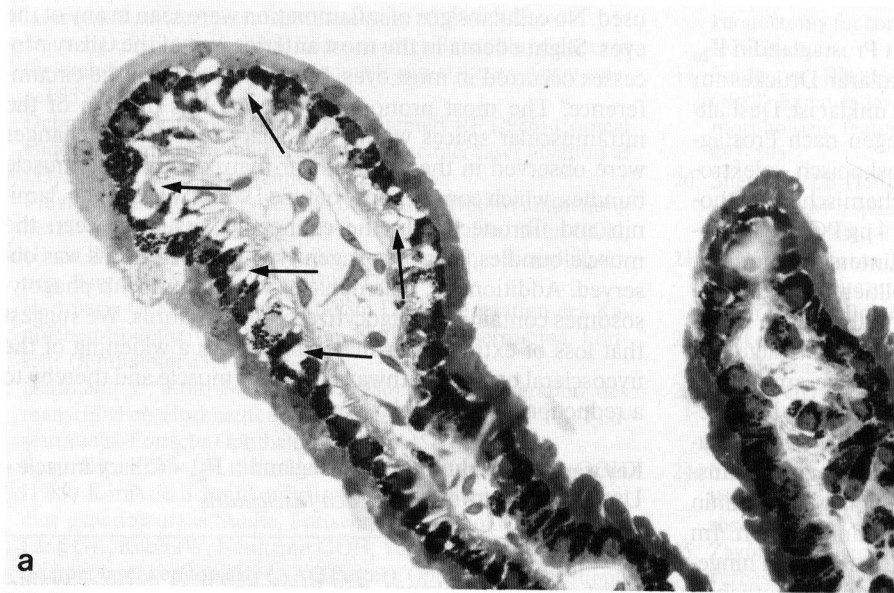


Abb 1. a Lichtmikroskopischer Sagittalschnitt durch den vordersten Teil der Pars plicata des Ziliarkörpers eines 5 Tage mit Prostaglandin-F_{2α} behandelten Cynomolgusaffen (Ausschnitt aus **b**). Das Pigmentepithel der Ziliarfortsätze ist durch ein leichtes Ödem teilweise vom Stroma abgehoben (*Pfeile*). (Färbung nach Richardson, Semidünnschnitt, 1 µm, Vergrößerung, x 290), **b** Lichtmikroskopischer Sagittalschnitt durch den Ziliarkörper eines 5 Tage mit Prostaglandin-F_{2α} behandelten Cynomolgusaffen. Die Bindegewebssepten zwischen den longitudinalen und retikulären Muskelbündeln des Ziliarmuskels (CM) sind massiv erweitert (*Pfeile*). TW Trabekelwerk, I Iris. (Färbung nach Richardson, Semidünnschnitt, 1 µm, Vergrößerung, x 51)

gen wurden quantitativ lichtmikroskopisch, immunhistochemisch sowie elektronenmikroskopisch ausgewertet und mit Untersuchungen an 5 unbehandelten Tieren gleichen Alters verglichen.

Material und Methoden

Sieben Cynomolgusaffen (*Macaca fascicularis*) im Alter von 3–7 Jahren wurden über den Zeitraum von 5–8 Tagen 2mal täglich mit einer lokalen Dosis des Prostaglandin- $F_{2\alpha}$ -isopropylesters (Pharmacia AB, Uppsala, Schweden) behandelt. Dabei wurde ein Tropfen von 35 μ l, entsprechend einer Dosierung von 4 μ g Prostaglandin $F_{2\alpha}$ -isopropylester, auf das rechte Auge der mit Ketamin (10 mg kg^{-1} i.m.) anästhesierten Versuchstiere gegeben, während das kontralaterale Auge mit dem Vehikel behandelt wurde. Vor der Enukektion wurde der intraokuläre Druck der Versuchstiere mit einem Goldmann-Tonometer bzw. einem Schiötz-Tonometer (7,5 g) gemessen. Bei allen Versuchstieren war der Druck des behandelten Auges deutlich niedriger als der des kontralateralen Kontrollauges (Tabelle 1). Vor der Druckmessung erfolgte eine Spaltlampenuntersuchung, wobei weder ein Tyndall-Phänomen, noch Zellen im Kammerwasser beobachtet werden konnten.

Nach der letzten Messung wurden die Versuchstiere über das Herz mit einer heparinisierten NaCl-Lösung perfundiert und anschließend perfusionsfixiert. Die Fixierung erfolgte bei vier der Tiere mit der Fixationslösung nach Ito u. Karnovsky [17], bei 3 der Tiere mit einer Paraformaldehyd-Lysin-Periodat-Lösung (PLP) [24]. Mit der gleichen Methodik wurden außerdem 5 unbehandelte, normale Cynomolgusaffen gleichen Alters fixiert, je 2 mit PLP und 3 mit Ito's Fixierlösung. Die Anästhesie für die Perfusionsfixation erfolgte mit Ketamin HCl 15 mg kg^{-1} gefolgt von Pentobarbital Na 30 mg kg^{-1} i.m.

Nach der Perfusion erfolgte die Enukektion der Augen sowie die Weiterverarbeitung für die licht- und elektronenmikroskopische Auswertung. Dabei wurden für die lichtmikroskopischen Untersuchungen aus allen Quadranten der Versuchstieraugen insgesamt 4 Sektoren präpariert und in Paraffin eingebettet. Zwanzig Schnitte von 6 μ m Dicke aus jedem Quadrant der behandelten und kontralateralen Augen (80 Schnitte pro Auge) wurden mit der Färbung nach Crossmon [11] gefärbt und quantitativ histologisch ausgewertet (Tabelle 1).

Die immunhistochemische Untersuchung erfolgte an den Augen der mit PLP fixierten Versuchstiere. 6 μ m dicke Schnitte wurden gefärbt mit Antikörpern gegen Laminin, Fibronectin, Kollagen Typ IV

und VI unter Benutzung einer mit Silber verstärkten Immungoldfärbung (nähere Einzelheiten bei [23]). Die Antikörper gegen Fibronectin, Laminin und Typ IV Kollagen wurden freundlicherweise von Dr. Mollenhauer aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Erlangen zur Verfügung gestellt, die Antikörper gegen Typ VI Kollagen von Dr. Rauterberg aus dem Institut für Arterioskleroseforschung der Universität Münster. Es handelte sich um, aus dem Kaninchen gewonnene, polyklonale Antikörper [18, 23, 25].

Für die elektronenmikroskopischen Untersuchungen wurden aus jedem Quadranten der Versuchstieraugen Stücke von 1 mm Breite präpariert, die den gesamten Ziliarkörper bis zur Ora serrata, die Iris sowie die anliegende Kornea und Sklera enthielten. Nach Nachfixation in 1% Osmiumtetroxid wurden die Präparate in üblicher Weise in Epon eingebettet. Von jedem Auge wurden mindestens 2 Präparate pro Quadrant untersucht. Mit einem Ultramikrotom wurden Dünnschnitte angefertigt und mit Bleizitrat und Uranylacetat kontrastiert. Die elektronenmikroskopische Auswertung erfolgte an einem JEOL (JEM 100 B) sowie einem Zeiss (EM 902) Elektronenmikroskop.

Ergebnisse

In keinem Auge der mit Prostaglandin- $F_{2\alpha}$ behandelten Versuchstiere wurden Zeichen einer zellulären entzündlichen Reaktion in Form einer Ansammlung von Leukozyten oder Histiocyten beobachtet. Im vordersten Bereich der Ziliarfortsätze zeigten hingegen alle behandelten Augen ein leichtes Ödem (Tabelle 1). In diesen Bereichen hatte sich das Ziliarepithel vom Stroma der Ziliarfortsätze abgehoben (Abb. 1a). Allerdings war dieses Ödem nicht in der gesamten Zirkumferenz zu beobachten, sondern lediglich in 20–63% der Schnitte (Tabelle 1). Greeff-Bläschen [15] fanden sich bei 2 der Versuchstiere in 25–33% der Schnitte (Tabelle 1). Bei keinem der Versuchstiere war ein Ödem im Bereich der Retina zu beobachten.

Ausgeprägte Veränderungen fanden sich im Bereich des Ziliarmuskels aller mit Prostaglandin behandelten Versuchstiere. So kam es in der gesamten Zirkumferenz zu einer deutlichen Erweiterung der Bindegewebsspalten zwischen den Muskelzellbündeln der longitudinalen und teilweise auch der retikulären Portion (Tabelle 1, Abb. 1b). Die Muskelzellen

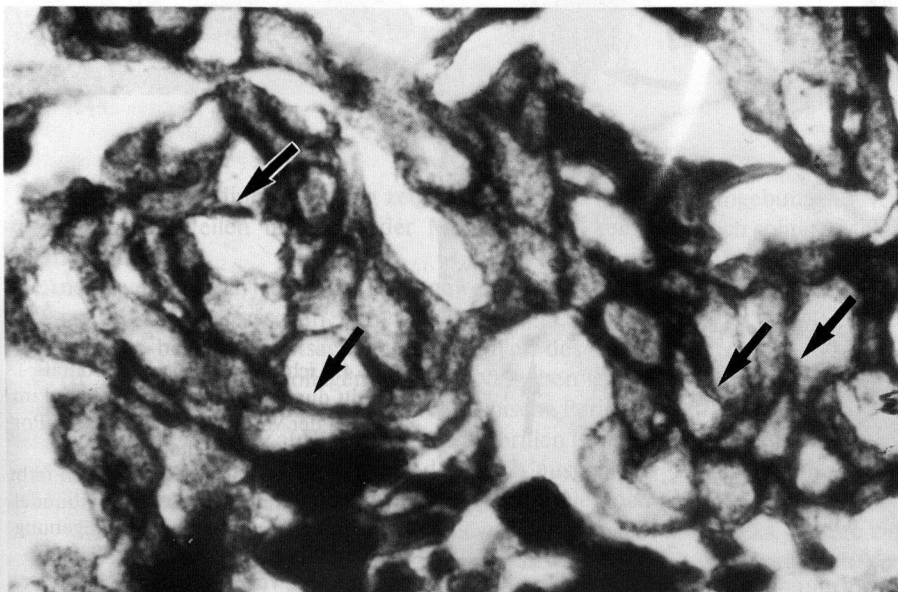


Abb. 2. Lichtmikroskopischer Frontalschnitt durch Ziliarmuskelbündel im Bereich der vorderen longitudinalen Portion eines unbehandelten, normalen Cynomolgusaffen. Die Basallamina der Muskelzellen hat sich nach einer Immunogoldfärbung mit Antikörpern gegen Typ IV Kollagen positiv angefärbt (Pfeile). (Paraffinschnitt, 6 μ , Vergrößerung, x 460)

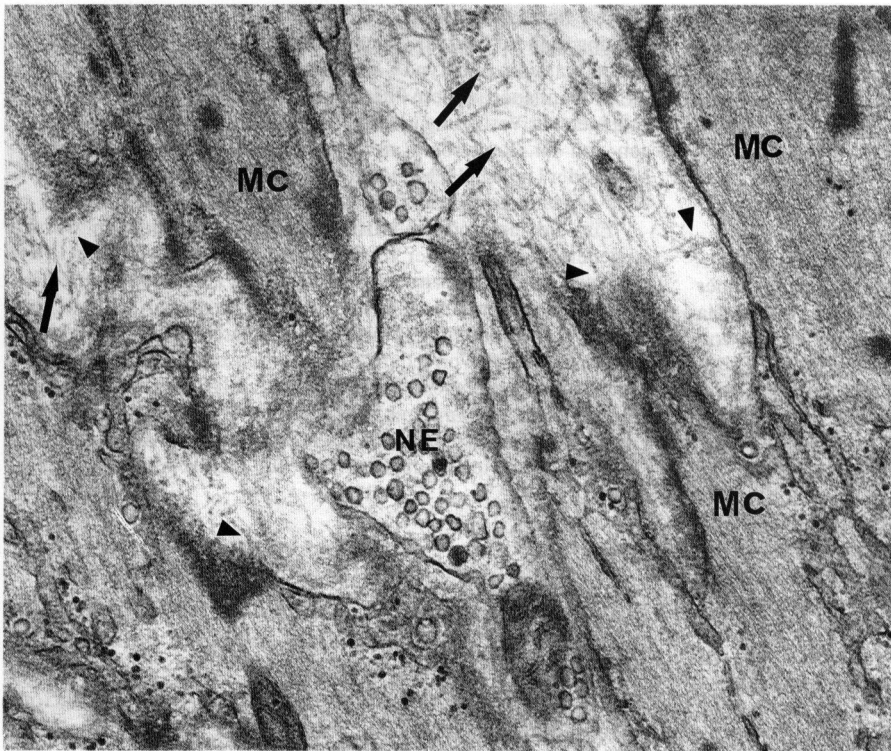


Abb. 3. Elektronenmikroskopischer Flachschnitt durch ein Ziliarmuskelbündel im vorderen Bereich der longitudinalen Portion eines unbehandelten, normalen Cynomolgusaffen. Zwischen den Muskelzellen (MC) finden sich extrazelluläre Mikro fibrillen mit einem Durchmesser von 14–16 nm und einer Periodik von 18–20 nm (Pfeile). Stellenweise strahlen diese Mikro fibrillen in die Basallamina der Muskelzellen ein (Pfeilköpfe). NE Nervenendigung. (Vergrößerung, x 40 000)

wirkten dünn und langgestreckt, während der gesamte Muskel eine relaxierte Form zeigte.

Normalerweise sind die Muskelzellen innerhalb des Ziliarmuskels von Cynomolgusaffen zu einzelnen Bündeln zusammengefaßt, die voneinander durch eine nahezu vollständige Umhüllung aus flachen Fibroblasten und Bindegewebe getrennt sind. Innerhalb diese Muskelzellbündel ist, mit Ausnahme der Basallamina der Muskelzellen, nur spärlich extrazelluläres Material vorhanden. Diese Basallamina erscheint elektronenoptisch als eine homogene elektronendichte Linie von 25–30 nm Breite, die von der Muskelzellmembran durch eine elektronenoptisch leeren Spalt von 20–25 nm getrennt ist. Immunhistochemisch läßt sich die Basallamina mit Antikörpern gegen Typ IV Kollagen (Abb. 2) und Laminin zur Darstel-

lung bringen und erscheint dann als eine scharf abgegrenzte Linie, die die einzelnen Muskelzellen umgibt. Die Muskelzellen verzweigen sich und zeigen zahlreiche Fortsätze und Invaginationen. Zwischen den Enden benachbarter Muskelzellen finden sich extrazelluläre Mikro fibrillen mit einem Durchmesser von 14–16 nm und einer Periodik von 18–20 nm (Abb. 3). Diese Mikro fibrillen gehen in die Basallamina der Muskelzellen über. In diesen Bereichen ist die angrenzende Muskelzellmembran durch elektronendichte „dense bands“ spezialisiert. Feinere Mikro fibrillen mit einem Durchmesser von 8–10 nm finden sich zwischen der Basallamina und der Muskelzellmembran. Immunhistochemisch läßt sich in diesen Arealen besonders Fibronectin und Typ VI Kollagen nachweisen (Abb. 4).

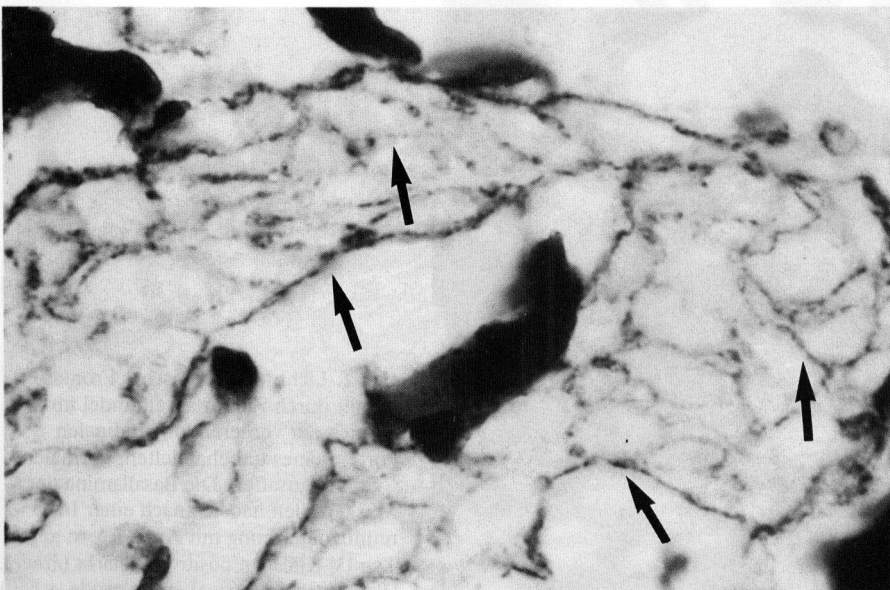


Abb. 4. Lichtmikroskopischer Frontalschnitt durch ein Ziliarmuskelbündel im Bereich der vorderen longitudinalen Portion eines unbehandelten, normalen Cynomolgusaffen. Typ VI-Kollagen färbt sich positiv innerhalb der Muskelbündel sowie in ihrer unmittelbaren Umgebung (Pfeile). (Immunogoldfärbung, Paraffinschnitt, 6 μ , Vergrößerung, x 460)

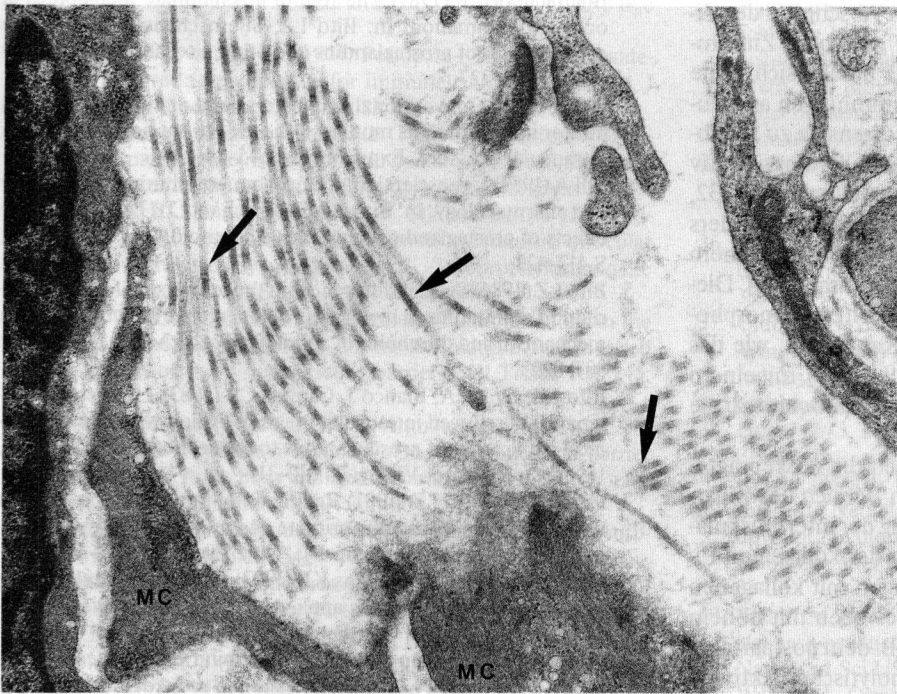


Abb. 5. Elektromikroskopischer Sagittalschnitt durch eine Bindegewebssepte zwischen Ziliarmuskelbündeln der vorderen longitudinalen Portion eines unbehandelten, normalen Cynomolgusaffen. Das extrazelluläre Material besteht hauptsächlich aus kollagenen Fibrillen von 30–45 nm Durchmesser und der typische Periodik von 67 nm (Pfeile). MC Muskelzellen. (Vergrößerung, x 20 000)

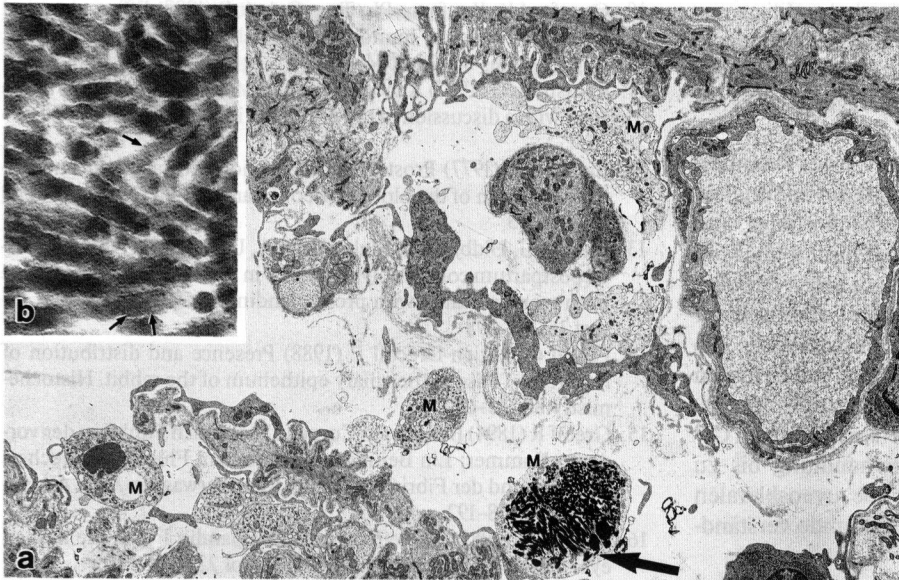


Abb. 6. a Elektronenmikroskopischer Sagittalschnitt durch die longitudinale Portion des Ziliarmuskels eines 5 Tage mit Prostaglandin- $F_{2\alpha}$ -behandelten Cynomolgusaffen. Innerhalb des Bindegewebes zwischen den Ziliarmuskelbündeln ist der Gehalt an kollagenen Fibrillen deutlich reduziert. Die bindegewebigen Räume sind erweitert und enthalten einzelne Makrophagen (M). Einige dieser Makrophagen zeigen Phagolysosome mit phagozytierten Kollagenresten (Pfeil). (Vergrößerung, x 1900). **b** Schwach kontrastierte Ausschnittsvergrößerung aus **a**. Teilweise zeigen die phagozytierten Einschlüsse eine Kollagenperiodik auf (Pfeile). (Vergrößerung, x 75 800)

Nach Prostaglandinbehandlung zeigten sich bei den Bindegewebsbestandteilen innerhalb der Muskelbündel keine Veränderungen.

Anders verhielt sich jedoch das Bindegewebe *innerhalb* der Bindegewebssepten zwischen den Muskelbündeln. Dieses Bindegewebe besteht hauptsächlich aus Fibrillen des Typ I und III Kollagens. Die kollagenen Fibrillen haben einen Durchmesser von 30–45 nm und zeigen die zypische Periodik von 67 nm (Abb. 5). Die Zahl der kollagenen Fibrillen ist nach 5-tägiger Prostaglandinbehandlung in den auch ausgeprägt erweiterten Bindegewebssepten deutlich reduziert. Die noch vorhandenen Fibrillen erscheinen „ausgefranst“ und zeigen auf Querschnitten Kaliberschwankungen. Die Erweiterung der Bindegewebssepten ist besonders ausgeprägt in der

Umgebung der Nerven und Gefäße (Abb. 6a). Hier finden sich auch solitäre Makrophagen mit zahlreichen Phagolysosomen (Abb. 7a). Viele dieser Makrophagen zeigen Lysosomen die phagozytierte Kollagenreste enthalten (Abb. 6a, b).

Diskussion

Wie bereits von anderen Autoren beschrieben [10, 20], führt die lokale Behandlung von Cynomolgusaffen mit Prostaglandin- $F_{2\alpha}$ zu einer deutlichen Senkung des intraokulären Drucks. Unsere Untersuchung zeigt, daß es dabei lediglich zu geringgradigen Veränderungen im Bereich des Ziliarepithels und der Blut-Kammerwasser-Schranke kommt. Das von uns

beobachtete Ödem war auf die vordersten Abschnitte der Ziliarfortsätze beschränkt und nicht in der gesamten Zirkumferenz zu beobachten. Im gesamten Auge fanden sich keine zellulären Entzündungszeichen wie Ansammlungen an Leukozyten oder Histiozyten. Dies steht im Gegensatz zu Ergebnissen früherer Autoren, die bei Kaninchen allerdings relativ hohen Dosen des Prostaglandins E verwendet haben [31, 32, 38, 39]. Bekannterweise ist das Kaninchenauge besonders empfindlich für Prostaglandine und reagiert rasch mit einem Zusammenbruch der Blut-Kammerwasser-Schranke [5]. Diese Empfindlichkeit könnte durch Besonderheiten im morphologischen Aufbau des Ziliarkörpers der Kaninchen, wie das Vorhandensein von iridialen Fortsätzen [19, 33, 42], mit einem hohen Gehalt an $\text{Na}^+\text{K}^+\text{-ATPase}$ [14] und Karboanhydrase [21] im Ziliarepithel, erklärt werden.

In der vorliegenden Studie zeigten sich die ausgeprägtesten morphologischen Veränderungen im Bereich des Ziliarmuskels in Form einer starken Erweiterung der intermuskulären Zwischenräume und einer Auflösung der kollagenen Fibrillen. Zusätzlich fanden sich Makrophagen mit kollagenen Einschlüssen, wie sie auch in anderen Geweben mit hohem Kollagenabbau beobachtet werden, wie z.B. dem postpartalen Uterus [29, 30]. Ein Anstieg von kollagenolytischer Aktivität nach Prostaglandinbehandlung wurde auch in anderen Bereichen des Körpers beobachtet, so z.B. in der Cervix uteri [13, 37]. Die Herkunft lytischer Enzyme im Bereich des Ziliarmuskels ist nicht bekannt. Man weiß jedoch, daß Makrophagen Kollagenasen sezernieren können [40] und daß Prostaglandine die Kollagenaseproduktion von Makrophagen regulieren [41].

Im Affenauge fließt normalerweise 20–30% des Kammerwassers über die sog. uveoskleralen oder unkonventionellen Abflußwege durch den Ziliarmuskel, die Suprachoroidea, und die Gefäß-Nerven-Scheiden der Sklera nach hinten ab [3, 4]. Kommt es nach Prostaglandinbehandlung zu einer Erweiterung der Bindegewebsspalten im Ziliarmuskel und zu einer Lysis von extrazellulären Material, kann Kammerwasser vermehrt über diese uveoskleralen Abflußwege nach hinten abfließen, was eine intraokuläre Drucksenkung zur Folge hätte. Tatsächlich zeigten physiologische Untersuchungen an Cynomolgusaffen, daß nach Prostaglandinbehandlung bis zu 80% des Kammerwasser das Auge über die uveoskleralen Abflußwege verläßt [9, 26, 36], was unsere Befunde verständlich macht.

Inwieweit die intramuskulären Veränderungen reversibel sind und sich auf das menschliche Auge übertragen lassen, das gerade im Alter sehr viel mehr Bindegewebe in den Ziliarmuskel einlagert [35] als bei den Augen von Affen beobachtet wird [22] muß noch weiter untersucht werden.

Wir danken Frau Barbara Buchner, Frau Karin Göhler, Herrn Marco Gößwein und Frau Elke Kretzschmar für ihre ausgezeichnete technische Assistenz. Die Arbeit wurde unterstützt mit Mitteln der Deutschen Forschungsgemeinschaft (Dr 124/2–4) und der Akademie der Wissenschaften und der Literatur, Mainz.

Literatur

- Alm A, Villumsen J (1989) Effects of topically applied PFG_{2α} and its isopropylester on normal and glaucomatous eyes. In: Bito LZ, Stjernschantz J (Hrsg) The ocular effects of prostaglandins and other eicosanoids. Liss, New York, S 447–458
- Bhattacharjee P (1989) The role of arachidonate metabolites in ocular inflammation. In: Bito LZ, Stjernschantz J (Hrsg) The ocular effects of prostaglandins and other eicosanoids. Liss, New York, S 211–227
- Bill A (1966) Conventional and uveo-scleral drainage of aqueous humor in cynomolgus monkey (*Macaca irus*) at normal and high intraocular pressure. *Exp Eye Res* 5:45–54
- Bill A (1989) Uveoscleral drainage of aqueous humor: Physiology and pharmacology. In: Bito LZ, Stjernschantz J (Hrsg) The ocular effects of prostaglandins and other eicosanoids. Liss, New York, S 417–427
- Bito LZ (1984) Species differences in the responses of the eye to irritation and trauma: a hypothesis of divergence in ocular defense mechanism and the choice of animal in research. *Exp Eye Res* 39: 807–829
- Bito LZ, Draga A, Blanco J, Camras CB (1983) Longterm maintenance of reduced intraocular pressure by daily or twice daily topical application of prostaglandins to cat or rhesus monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24:312–319
- Camras CB, Bito LZ (1981) Reduction of intraocular pressure in normal and glaucomatous primate (*Aotus trivirgatus*) eyes by topically applied prostaglandin F_{2α}. *Curr Eye Res* 1:205–209
- Camras CB, Bito LZ, Eakins KE (1977) Reduction of intraocular pressure by prostaglandins applied topically to the eyes of conscious rabbits. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 16:1125–1134
- Crawford K, Kaufman PL (1987) Pilocarpine antagonizes prostaglandin F_{2α}-induced ocular hypotension in monkeys: evidence for enhancement of uveoscleral outflow by prostaglandin F_{2α}. *Arch Ophthalmol* 105:1112–1116
- Crawford K, Kaufman PL, True Gabelt B (1987) Effect to topical PGF_{2α} on aqueous humor dynamics in cynomolgus monkeys. *Curr Eye Res* 6:1035–1044
- Crossmon G (1937) A modification of Mallory's connective tissue stain with a discussion of the principles involved. *Anat Rec* 69:33–38
- Eakins KE (1977) Prostaglandin and non-prostaglandin mediated breakdown of the blood-aqueous barrier. *Exp Eye Res [Suppl]* 25:483–493
- Ekman G, Ulbjerg N, Malmström A, Ulmsten U (1983) Increased postpartum collagenolytic activity in cervical connective tissue from women treated with prostaglandin E₂. *Gynaecol Obstet Invest* 16:292–298
- Flügel C, Lütjen-Drecoll E (1988) Presence and distribution of $\text{Na}^+\text{K}^+\text{ATPase}$ in the ciliary epithelium of the rabbit. *Histochemistry* 88:613–622
- Greeff R (1894) Befund am Corpus Ciliare nach Punktion der vorderen Kammer: Ein Beitrag zur Lehre vom Flüssigkeitswechsel im Auge und der Fibrinbildung im Kammerwasser. *Arch Augenheilkd* 28:178–192
- Guiffre G (1985) The effects of prostaglandin F_{2α} in the human eye. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 222:139–141
- Ito S, Karnovsky MJ (1968) Formaldehyde-glutaraldehyde fixatives containing trinitro compounds. *J Cell Biol* 39:168A–169A
- Jander R, Rauterberg J, Glanville RW (1983) Further characterization of three polypeptide chains of bovine and human short chain collagen. *Eur J Biochem* 13:39–46
- Kozart DM (1968) Light- and electronmicroscopic study of regional morphological differences in the processes of the ciliary body in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25:1087–1092
- Lee P, Podos SM, Severin C (1984) Effect of prostaglandin F_{2α} on aqueous humor dynamics of rabbit, cat and monkey. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25:1087–1093
- Lütjen-Drecoll E, Lönnerholm G (1981) Carbonic anhydrase distribution in the rabbit eye by light and electronmicroscopy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 21:782–797
- Lütjen-Drecoll E, Tamm E, Kaufman P (1988) Age changes in rhesus monkey ciliary muscle: light- and electronmicroscopy. *Exp Eye Res* 47:885–899
- Lütjen-Drecoll E, Rittig M, Rauterberg J, Jander R, Mollenhauer J (1989) Immunomicroscopical study of type VI collagen in the

- trabecular meshwork of normal and glaucomatous eyes. *Exp Eye Res* 48:139-147
24. McLean IW, Nakane PK (1974) Periodate-lysine-paraformaldehyde fixative: a new fixative for immunoelectron microscopy. *J Histochem Cytochem* 22:1077-1083
 25. Mollenhauer J, Roether I, Kern HF (1987) Distribution of extracellular matrix proteins in pancreatic ductal adenocarcinoma and its influence on tumor cell proliferation in vitro. *Pancreas* 2:14-24
 26. Nilsson SFE, Samuelsson M, Bill A, Stjernschantz J (1989) Increased uveoscleral outflow as a possible mechanism of ocular hypotension caused by prostaglandin $F_{2\alpha}$ -1-isopropylester in the cynomolgus monkey. *Exp Eye Res* 48:707-716
 27. Noske W, Hirsch M (1986) Morphology of tight junctions in the ciliary epithelium of rabbits during arachidonic acid-induced breakdown of the blood-aqueous barrier. *Cell Tissue Res* 245:405-412
 28. Noske W, Montcourrier P, Keller N, Arguillere P, Hirsch M (1986) Selective and reversible breakdown of the tight junctional barrier in the rabbit ciliary body induced by arachidonic acid. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 224:346-354
 29. Parakkal P (1969) Involvement of macrophages in collagen resorption. *J Cell Biol* 41:345-354
 30. Parakkal P (1972) Macrophages: the time course and sequence of their distribution in the postpartum uterus. *J Ultrastruct Res* 40:284-291
 31. Pedersen O (1975) Electron microscopic studies on the blood-aqueous barrier of prostaglandin-treated rabbit eyes. I. Iridial and ciliary processes. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 53:685-698
 32. Pedersen O (1975) Electron microscopic studies on the blood-aqueous barrier of prostaglandin-treated rabbit eyes. II. Iris. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 53:699-709
 33. Rohen JW (1953) Morphologische Beiträge zum Problem der Kammerwasserbildung. I. Die Gestalt der Blutkammerwasserschranke beim Kaninchen in Ruhe und nach funktioneller Belastung. *Ophthalmol Ges* 58:65-70
 34. Stern FA, Bito LZ (1982) Comparison of the hypotensive and other ocular effects of prostaglandin E_2 and $F_{2\alpha}$ on cat and rhesus monkey eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 22:588-598
 35. Stieve R (1949) Über den Bau des menschlichen Ciliarmuskels, seine Veränderungen während des Lebens und seine Bedeutung für die Akkommodation. *Anat Anzeiger* 97:69-79
 36. True Gabelt BA, Kaufman P (1989) Prostaglandin $F_{2\alpha}$ increases uveoscleral outflow in the cynomolgus monkey. *Exp Eye Res* 49:389-402
 37. Ulbjerg N, Ekman G, Malmström A, Sporrang B, Ulmsten U, Wingerup L (1981) Biochemical and morphological changes of human cervix after local application of prostaglandin E_2 in pregnancy. *Lancet* I:267-268
 38. Unger WG, Cole DF, Hammond B (1975) Disruption of the blood-aqueous barrier following paracentesis in the rabbit. *Exp Eye Res* 20:255-270
 39. Vegge T, Neufeld AH, Sears ML (1975) Morphology of breakdown of the blood-aqueous barrier in the ciliary processes of the rabbit eye after prostaglandin E_2 . *Invest Ophthalmol Vis Sci* 14:33-36
 40. Wahl LM, Wahl SM, Mergenhagen SE, Martin GR (1974) Collagenase production by endotoxin-activated macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 71:3598-3601
 41. Wahl LM, Olsen CE, Sandberg AL, Mergenhagen SE (1977) Prostaglandin regulation of macrophage collagenase production. *Proc Natl Acad Sci USA* 74:4955-4958
 42. Weingeist TA (1970) The structure of the developing and adult ciliary complex of the rabbit eye: a gross, light and electron-microscopic study. *Doc Ophthalmol* 28:205-257