

Aus der Augenklinik und Poliklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. A. Kampik

**ULTRASTRUKTUR
DER GLASKÖRPER-NETZHAUT-GRENZE BEI VITREOMAKULÄREM
TRAKTIONSSYNDROM**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Matthias Rohleder
aus München

München, 2004

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. A. Kampik
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. L. J. Wurzinger Prof. Dr. J. Müller-Höcker Prof. Dr. U. Welsch
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	PD Dr. A. Gandorfer
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter
Tag der mündlichen Prüfung:	27.05.2004

τοῖς φίλοις καὶ φιλοῦμενοις γονεῦσιν ἐμοῦ

καλοῖς καὶ ἀγαθοῖς οὖσιν

„Ultrastruktur der Glaskörper-Netzhaut-Grenze bei vitreomakulärem
Traktionssyndrom“

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	3
2. Material und Methodik der Untersuchung	6
2.1. Gewinnung des Untersuchungsmaterials	6
2.1.1. Allgemeine Daten	6
2.1.2. Operative Entnahme der Präparate	7
2.1.3. Konservierung und Einbettung	8
2.2. Aufbereitung für elektronenmikroskopische Untersuchungen	9
2.2.1. Semidünnschnitt	9
2.2.2. Ultradünnschnitt	9
2.3. Elektronenmikroskopische Darstellung	10
2.3.1. Apparative Hilfsmittel	10
2.3.2. Filmmaterial und Filmentwicklung	10
3. Ergebnisse	11
3.1. Zelltypen und Klassifikation	11
3.2. Zellanordnung, Zellverteilung, Zellhäufigkeit, Kollagenverteilung und Kollagenstruktur	16
3.2.1. Zellanordnung, Zellverteilung, Zellhäufigkeit, Kollagenverteilung und Kollagenstruktur beim vitreomakulären Traktionssyndrom	17
3.2.1.1. mit klinischem Bild einer epiretinalen Gliose	17
3.2.1.2. ohne klinisches Bild einer epiretinalen Gliose	18

3.2.2. Zellanordnung, Zellverteilung, Zellhäufigkeit, Kollagenverteilung und Kollagenstruktur beim vitreomakulären Traktionssyndrom bei persistierender Arteria hyaloidea	19
3.2.3. Zellanordnung, Zellverteilung, Zellhäufigkeit, Kollagenverteilung und Kollagenstruktur bei kongenitalem vitreomakulären Traktionssyndrom	20
3.3. Die innere Grenzmembran (ILM)	20
3.4. Klinisches Bild epiretinaler Membranen bei vitreomakulärem Traktionssyndrom	21
4. Diskussion	22
5. Zusammenfassung	32
6. Anhang	34
6.1. Tabellen	34
6.2. Abbildungen	36
7. Literaturverzeichnis	61

1. EINLEITUNG

Von JÄGER schilderte bald nach Einführung des Augenspiegels durch HELMHOLTZ im Jahre 1851 eine „Bindegewebsneubildung im Glaskörper“ (1869), womit erstmals das klinisch-pathologische Erscheinungsbild von Membranen im Glaskörperbereich beschrieben wurde. In der Folgezeit setzten sich einige Wissenschaftler zum Ziel, Ursachen zu differenzieren und die Membranen zu charakterisieren. So bezeichnete MANZ 1876 (siehe EALES 1880) die Gewebeproliferation als „Retinitis proliferans“ und LEBER (1916) als „praeretinale Bindegewebsneubildungen“, wobei als Ursache damals intraokulare Blutungen und Entzündungen diskutiert wurden. Die in zahlreichen weiteren Arbeiten gesammelten Beobachtungen zeigten, dass die Membranen im Krankheitsverlauf schrumpften. Deshalb entstand die umstrittene Meinung, diese Traktion des Glaskörpers sei Auslöser jeder Netzhautablösung. Da zum damaligen Zeitpunkt keine wirkungsvolle Therapie zur Verfügung stand, verblasste das Interesse an den vitrealen Membranen und keimte erst wieder nach Einführung glaskörperchirurgischer Maßnahmen auf.

Die heute auf hohem Niveau standardisierte Chirurgie des Glaskörpers und der Netzhaut erlaubt eine schonende Gewinnung und eine genaue Untersuchung der Präparate und damit Aufschluss über deren anatomische und pathologische Eigenschaften. Allerdings gründen die gewonnenen Vorstellungen gerade in pathogenetischer Hinsicht auf folgenden drei Quellen: den tierexperimentellen Untersuchungen, wie sie MACHEMER und LAQUA wiederholt zur Erforschung der Netzhautablösung anstellten (1975; 1975), den lichtmikroskopischen Untersuchungen von CLARKSON et al. (1977) und HAEFLIGER et DAICKER (1979) sowie elektronenmikroskopischen Einzelbeobachtungen an menschlichen epiretinalen Membranen (CONSTABLE et al., 1974; RENTSCH, 1977; BELLHORN et al., 1975; van HORN et al., 1977). Die gesammelten Beobachtungen ließen sich jedoch nur unzureichend in ein schlüssiges Gesamtbild fügen.

Deshalb untersuchte KAMPIK (1981) in einer großen Serie von 56 Proben das elektronenoptisch fassbare Erscheinungsbild solcher Membranen in einer Gegenüberstellung von Klinik und Pathologie. Ursächlich für die Entstehung von epiretinalen, d.h. an der vitreo-retinalen Grenzschrift gelegenen und vitrealen, d.h. im Glaskörper gelegenen Membranen sind eine Reihe von Auslösern wie Glaskörperabhebungen, Netzhautforamina bzw. Netzhautablösung, eine Koagulationsbehandlung der Netzhaut, vaskuläre Netzhauterkrankungen, Glaskörpereinblutungen, stumpfe oder perforierende Verletzungen, intraokulare Entzündungen oder auch Retinitis pigmentosa. In seltenen Fällen treten sie auch spontan auf. Prinzipiell gemein ist ihnen ein gleichförmiger Aufbau. Insbesondere den im normalen Glaskörper vorhandenen Zellen ist demnach ein entscheidender Stellenwert bei der Ausbildung komplizierter Membranen zuzuschreiben, eine Tatsache, die in bisherigen Untersuchungen unberücksichtigt blieb. Ebenso unbeachtet waren bis dahin Anheftungen der Membranen, über die Zugkräfte auf die membranangrenzenden Strukturen ausgeübt werden. Diese in ihren Ursachen ungeklärten Traktionen werden wegen der Beteiligung von Glaskörper und Makula als vitreomakuläres Traktionssyndrom definiert.

In den folgenden Jahren entbrannte die Diskussion, ob das vitreomakuläre Traktionssyndrom einem eigenständigen Krankheitsbild entspricht. Manche Autoren behaupteten, dass es nur eine Form epiretinaler Membranen ist, bei der sich eine ausgeprägte retinale Distorsion und eine gefältelte Membran auf der Netzhautoberfläche finden. Sowohl Gastaud et al. (2000) als auch Shinoda et al. (2000) und Smiddy et al. (1988) hatten sich mit Fragestellungen zu diesem Thema beschäftigt, ohne jedoch zu Ätiologie und Pathologie der Erkrankung erklärenden Ergebnissen zu kommen. Dies gilt für die Frage des prädominanten Zelltyps, der Struktur bzw. des zellulären Aufbaus der Membran, der Kollagentypen, möglicher Untergruppen sowie der Korrelation der histopathologischen Ergebnisse mit den präoperativen und postoperativen Befunden.

Aufgrund dieser kontrovers diskutierten Fragen soll es Aufgabe dieser Arbeit sein, in einer Gegenüberstellung von Klinik und Ultrastruktur das Erscheinungsbild solcher Membranen bezüglich folgender Fragestellung zu analysieren:

1. Welche Zelltypen treten auf und wie ist ihre Anordnung, Verteilung und Häufigkeit? Welchen Aufschluss zur Pathogenese lassen sie zu?
2. Welche Kollagenstrukturen finden sich, wie sind sie verteilt und ermöglichen sie Aufschluss über die Pathogenese der Erkrankung?
3. Gibt es klinische, präoperative Untersuchungsmerkmale, die eine Differenzierung verschiedener Untergruppen des vitreomakulären Traktionssyndroms erlauben?

2. MATERIAL UND METHODIK DER UNTERSUCHUNG

2.1. GEWINNUNG DES UNTERSUCHUNGSMATERIALS

2.1.1. ALLGEMEINE DATEN

Insgesamt wurden 16 epiretinale Membranen begutachtet. Sie stammten von zehn männlichen und sechs weiblichen Patienten, die sich in den Jahren 1999 bis 2001 an der Universitätsaugenklinik München einer pars plana Vitrektomie (ppV) mit Membranentfernung unterzogen. Das Operationsalter lag zwischen sechs und 79 Jahren und betrug im Mittel 66 Jahre. Bei allen Patienten war präoperativ ein vitreomakuläres Traktionssyndrom diagnostiziert worden.

Klinisch wurde die Diagnose durch die Untersuchung an der Spaltlampe mit der 90-Dioptrien-Linse gestellt. Dabei zeigten alle Augen eine partielle hintere Glaskörperabhebung mit einer persistierenden Anheftung des Glaskörpers an der Makula. Netzhautleinrisse waren in keinem Auge vorhanden. Die vor der Operation aufgenommenen Patientendaten umfassten Geschlecht, Alter, komplette allgemeinmedizinische Anamnese, frühere Traumata oder Operationen am Auge, gegenwärtige Symptome und deren Dauer. Des Weiteren wurden die aktuelle Sehschärfe, das Vorhandensein und die Ausprägung der hinteren Glaskörperabhebung sowie der Zustand und die Charakteristika der vitreomakulären Grenzfläche untersucht. Weitere Prüfungsaspekte waren eine oberflächliche Fältelung der Retina, die Gegenwart eines prämakulären fibrösen Gewebes, das eine epiretinale Membran kennzeichnet, makuläre Verziehungen oder ein zystoides Makulaödem. Intraoperativ wurde darauf geachtet, ob und wie weit der hintere Glaskörper abgehoben ist, und ob eine sichtbare Membran oder eine Schicht der Glaskörperrinde über dem hinteren Pol erkennbar und entfernbar war.

Sieben der 16 Patienten wiesen keine nennenswerte ophthalmologische Nebendiagnose auf, bei weiteren sieben Patienten imponierte bei der Spiegelung des Augenhintergrundes eine epiretinale Membran. Von den beiden weiteren Membranen war eine kongenital bedingt, bei der anderen handelte es sich um ein vitreomakuläres Traktionssyndrom bei persistierender Arteria hyaloidea. Bei allen Membranen war als Indikation für die operative Entfernung ausschlaggebend, dass mit einem Andauern oder Fortschreiten von Traktionen an der Netzhaut und somit mit einer weiteren Herabsetzung des Sehvermögens zu rechnen war. Der Zeitraum der subjektiv wahrgenommenen Visusveränderungen lag im Bereich von wenigen Monaten bis zu 3 Jahren. Der Augeninnendruck lag bei allen Patienten im Normbereich.

Bis auf eine Patientin mit Zustand nach Kataraktextraktion aufgrund fortgeschrittener Linsentrübung waren alle Patienten phak, wobei acht Patienten im Rahmen der pars plana Vitrektomie zusätzlich einer Kataraktextraktion und Linsenimplantation unterzogen wurden.

2.1.2. OPERATIVE ENTNAHME DER PRÄPARATE

Die angewandte Operationsmethode war eine Standardvitrektomie mit drei pars plana Zugängen. Die Ablösung des Glaskörpers von der Netzhaut wurde durch Ansaugen des Glaskörpers über dem Sehnervenkopf begonnen und dann nach peripher fortgesetzt. Anschließend wurde das präretinale Gewebe und die innere Grenzmembran (ILM: englisch für „inner limiting membrane“) mit einer gebogenen Kanüle (28 gauge) und einer Intraokularpinzette von der Makula abgelöst (= ILM-Peeling). Bei sieben Augen wurde Indocyaningrün (ICG) zum selektiven Anfärben der ILM verwendet. Anschließend wurde der Augapfel mit Gas (15% C₂F₆-/Luftgemisch) aufgefüllt und eine peribulbäre Injektion von Decadronphosphat verabreicht.

2.1.3. KONSERVIERUNG UND EINBETTUNG

Die Membranen wurden 24 bis 48 Stunden in einer phosphatgepufferten Lösung von 4% Glutaraldehyd (0,1 molar, phosphatgepuffert, pH 7,3, 4° C) fixiert. Anschließend wurden sie in einer bis zu 24 Stunden dauernden Spülung auf einem Rotationsschüttler in Sörensenpuffer (0,1 molar, phosphatgepuffert, pH 7,3, 4° C; 40,5 ml Stammlösung A [Di-Natriumhydrogenphosphat x 2H₂O]; 9,5 ml Stammlösung B [Natriumhydrogenphosphat x 1H₂O], 50 ml Aqua destillata) in Daltons-Fixierung (Osmium 2%) nachfixiert, daraufhin nach standardisiertem Schema in EtOH (10%, 30%, 50%, 70%, 80%, 95%, abs.; jeweils 2 x 10 Minuten) dehydriert. Danach wurden sie für 2 x 15 Minuten in Propylenoxid gegeben, anschließend in einem Gemisch von Propylenoxid und Epon (1:1) für 1 Stunde bei 60° C infiltriert, wobei das Propylenoxid abdampft. Zum Schluß wurden sie auf einem Rotationsschüttler für 24 Stunden bei 40° C und für weitere 48 Stunden bei 60° C in Epon I gelegt.

2.2. AUFBEREITUNG FÜR ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

2.2.1. SEMIDÜNNNSCHNITT

Um die Schnittführung durch das Präparat festlegen zu können, wurden mit einem Mikrotom Typ Om U2 der Firma Reichert[®], Austria, (jetzt Leica, Bensheim) Semidünnschnitte angefertigt.

Diese 1,5 µm dicken Schnitte wurden auf einen mit Aceton (10%) benetzten Objektträger aufgebracht. Nach dem Verdampfen des Acetons auf einer Heizplatte waren die Schnitte ausreichend geglättet. Die abgekühlten Schnitte wurden in einer Küvette mit Perjodsäure (1%) ca. 3 Minuten lang oxidiert, mit Aqua destillata gespült und nach erneutem Trocknen auf der Heizplatte mit Toluidinblau (2% wässrige Toluidinblaulösung und 2% Natriumtetraboratlösung) 10 Sekunden lang gefärbt, sodann mit Aqua destillata gespült, getrocknet und eingedeckelt.

Nach dieser Aufbereitung wurden die Semidünnschnitte lichtmikroskopisch begutachtet und anhand der erkennbaren Strukturen die Schnittführung für die Ultradünnschnitte wie folgt bestimmt.

2.2.2. ULTRADÜNNNSCHNITT

Die operativ gewonnenen Membranen waren zum Teil derart klein, dass sie über ihre gesamte Ausdehnung hinweg dünn geschnitten werden konnten. Bei den übrigen wurde die Schnittführung so gelegt, dass sie einen repräsentativen Bereich mit ILM-, Membran- und Glaskörperanteilen enthielt. Um hinsichtlich der Zellverteilung Aussagen zu erhalten, die ebenfalls als reprä-

sentativ angesehen werden dürfen, wurde zusätzlich in 5-8 Stufen geschnitten und untersucht.

Wie bei den Semidünnschnitten erfolgte der Schnittvorgang mit dem Mikrotom Typ Om U2 der Firma Reichert[®], Austria. Die Schnittdicke betrug 600 bis 800 Ångström. Zur Kontrastierung wurden die Schnitte doppelt mit Uranylacetat und Bleizitrat gefärbt.

2.3. ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG

2.3.1. APPARATIVE HILFSMITTEL

Zur elektronenoptischen Untersuchung und Darstellung der Ultradünnschnitte diente das Elektronenmikroskop EM 9 S-2 der Firma Carl Zeiss[®], Oberkochen. Dabei handelt es sich um ein Transmissionselektronenmikroskop, welches auch kontinuierliche Vergrößerung bis ca. 60000-fach ermöglicht.

2.3.2. FILMMATERIAL UND FILMENTWICKLUNG

Als Filmmaterial diente Scientia EM-Film von AGFA[®] in der Größe 7 cm x 7 cm, der mit Hilfe des Schnellentwicklers Metinol und des Schnellfixiersalzes für SW-Filme und -Papiere Acidofix, ebenfalls von der Firma AGFA[®], entwickelt und fixiert wurde.

3. ERGEBNISSE

3.1. ZELLTYPEN UND KLASSIFIKATION

Insgesamt gibt es vier Gruppen, denen die für die Ausbildung epiretinaler und vitrealer Membranen bedeutsamen Zelltypen zugeordnet werden können: retinale Glia, neuroepitheliale Zellen (retinales Pigmentepithel, Ziliarkörperepithel), mesodermale Zellen (Fibroblasten, Makrophagen, Monozyten, Gefäßadventitia) und vitreale Zellen (Hyalozyten, Glaskörperrindenzellen) (KAMPIK, Habilitation, 1981).

Bei der retinalen Glia handelt es sich um fibröse Astrozyten, Müller'sche Stützzellen und perivaskuläre Glia (WOLTER, 1959). Sie werden als die wesentlichen Bestandteile epiretinaler und vitrealer Membranen angesehen. Bei einfachen epiretinalen Membranen finden sich lediglich fibröse Astrozyten (ROTH, FOOS, 1971; FOOS, 1974; FOOS, 1977), bei komplexeren Membranen jedoch eine Kombination verschiedener Zelltypen. Dabei sollte die besondere Bedeutung der gliösen Elemente berücksichtigt werden, die gerade für spontan aufgetretene Membranen in zahlreichen lichtmikroskopischen (CLARKSON et al., 1977; HAEFLIGER, DAICKER, 1979) als auch transmissionselektronenmikroskopischen (BELLHORN et al., 1975; KENYON et al., 1975; KENYON, MICHELS, 1977; RENTSCH, 1977; van HORN et al., 1977; PEDERSON et al., 1978; GREEN et al., 1979; FUNAHASHI, OKISAKA, 1979; KAMPIK et al., 1980, 1981; HARADA et al., 1981) und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen (DAICKER, GUGGENHEIM, 1978, 1979) belegt wurde. Auch wenn eine Differenzierung zwischen Müller'schen Stützzellen und Astrozyten wegen ihrer noch nicht hinreichend klassifizierten morphologischen Unterschiede meist unterschiedlich beurteilt wird, wird ein Überwiegen von Astrozyten angenommen (BELLHORN et al., 1975; KENYON, MICHELS, 1977; RENTSCH, 1977; van HORN et al.

1977; GREEN et al. 1979; HARADA et al. 1981). Als pathogenetisch bedeutsam für das Einwachsen von Glia in den Glaskörper werden Defekte in der inneren Grenzmembran (ILM) der Netzhaut angenommen (FOOS, 1974; DAICKER et al., 1977; CLARKSON et al., 1977; ROTH, FOOS, 1971; BELLHORN et al., 1975; HISCOTT et al., 1984).

Bei der Gruppe der neuroepithelialen Zellen bestätigten nach kontrovers geführter Diskussion entsprechende Befunde bei experimenteller Netzhautablösung (AABERG, MACHEMER, 1970; JOHNSON, FOULDS, 1977) und Befunde an einigen klinisch gewonnenen Membranen (SMITH et al., 1976; MACHEMER et al., 1978), dass dem retinalen Pigmentepithel eine entscheidende Rolle bei der Ausbildung retinaler und vitrealer Membranen nach Netzhautablösung zukommt (MACHEMER, 1977). Allerdings fanden DAICKER und GUGGENHEIM (1979) bei ihren rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen des Pigmentepithels die fibroglösen Herde nur der Netzhaut aufgelagert und nicht mit ihr verwachsen und folgerten daher, dass eine direkte oder indirekte Beteiligung des Pigmentepithels an den Traktionsvorgängen an der Netzhaut auszuschließen sei. Diese unterschiedlichen Ansichten hinsichtlich der Bedeutung des retinalen Pigmentepithels lassen sich mit der schwierigen morphologischen Einordnung möglicherweise metaplastisch veränderter Zellen im Glaskörper erklären, die häufig auch nur als pigmentepithelähnlich bezeichnet werden (KAMPIK, Habilitation, 1981).

Zu den mesodermalen Zellen werden aufgrund ihrer histologischen Eigenschaften die zellulären Elemente in Membranen nach Netzhautablösung gerechnet. Während Monozyten insbesondere nach Blutungen in den Glaskörperraum beobachtet wurden (FORRESTER, GRIERSON, 1979, 1980), konnten diese zellulären Elemente elektronenmikroskopisch durch SMITH et al. (1976) und HARADA et al. (1981) unter anderem als Fibroblasten oder Makrophagen interpretiert werden. Die Rolle der Fibroblasten bei der Membranbildung wird durch Experimente verdeutlicht, bei denen in den Glaskörper injizierte Fibroblasten zur Membranbildung mit folgender traktionsbedingter

Netzhautablösung führten (ALGVERE, KOCK, 1976; FORRESTER, GRIERSON, 1980; SUGITA et al., 1980). Ähnliche Ergebnisse erhielten TRESE et al. (1980) durch Injektion eines Gemisches von Zellen des retinalen Pigmentepithels und von Fibroblasten.

Die Existenz von sogenannten vitrealen Zellen im Glaskörper wurde bereits sehr früh beschrieben (HOGAN et al., 1971). Dennoch existieren sehr unterschiedliche Beurteilungen zu den ortständigen Zellen des Glaskörpers, eine Zuordnung zu Zellen retinaler oder vitrealer Genese fällt sehr schwer. Ein erster Nachweis gelang erst GLOOR (1969), der in einem Experiment, bei dem sowohl epiretinale wie auch vitreale Membranen auftraten, eine Proliferation von Glaskörperrindenzellen nach Photokoagulation darstellen konnte. Sowohl Rentsch (1977) als auch Kampik et al. (1980, 1981) vermuten aufgrund der morphologischen und biologischen Eigenschaften, dass die Genese von Zellen wie Fibroblasten und Makrophagen in der Proliferation der Glaskörperrindenzellen liegt.

Im Folgenden werden die hinsichtlich der Ultrastruktur unterscheidbaren morphologischen Kriterien derjenigen Zellen dargestellt, die in den elektronenoptischen Analysen unterschieden werden konnten, nämlich die Kriterien der fibrösen Astrozyten, der Myofibroblasten, der Fibroblasten und der Makrophagen. Des Weiteren werden die morphologischen Charakteristika von Zellen des retinalen Pigmentepithels umrissen, um für die Betrachtung der im Anhang befindlichen Aufnahmen darstellen zu können, dass sich diese Zellen nicht im Schnittbereich der untersuchten Membranen befanden.

Fibröse Astrozyten

Sie erscheinen zumeist als lange, spindelförmige Zellen, die eine Tendenz zur Polarisierung aufweisen (FOOS, 1974). Dabei zeigen sich die Basalmembran und die apikalen Mikrovilli in stark unterschiedlicher Ausprägung. Teilweise ist diese Zellform auch tubulär angeordnet. Im Allgemeinen verzahnen sich

die Zellfortsätze der fibrösen Astrozyten ineinander, wobei sich an den Zellgrenzen häufig junctionale Komplexe finden. Als eindeutiges Kriterium zur Zuordnung zur Gruppe der fibrösen Astrozyten besitzen derartige Zellen Massen intrazytoplasmatischer Filamente vom intermediären Typ, die einen Durchmesser von 8-10 nm aufweisen. (KAMPIK, Habilitation, 1981; KAMPIK et al., 1980; KENYON, MICHELS, 1977; RENTSCH, 1977). (Abbildungen 1-5).

Myofibroblasten

Als vorherrschender Zelltyp in den untersuchten Membranen konnte die Gruppe der Myofibroblasten eruiert werden. Mit diesem Namen wurden von GABBIANI et al. (1971, 1972) diejenigen Zellen tituliert, die keiner der damals bekannten Zellformen zugeordnet werden konnten und die neben einigen gemeinsamen Merkmalen auch uneinheitliche Charakteristika aufwiesen. So besitzen diese Zellen einen indentierten, also deutlich unregelmäßig konturierten Zellkern. Des weiteren ist besonders eine Ansammlung von fest gepackten und meist nahe der Zellgrenze gelegenen Verdichtungen intrazytoplasmatischer Mikrofilamente von 5-7 nm Durchmesser auffällig. Diese fusiformen Verdichtungen, wie sie häufig in den Mikrofilamentarealen sichtbar sind, haben Ähnlichkeit mit denen der Zellen glatter Muskulatur. Zu den weniger einheitlichen Eigenschaften gehört, dass die Mikrofilamente und fusiformen Verdichtungen auch in den Zellfortsätzen beobachtet werden, in denen ansonsten keine weiteren differenzierenden Kennzeichen gefunden werden können. Außerdem weist ein Großteil der Myofibroblasten zusätzlich Charakteristika der weiter unten erklärten Fibroblasten auf. So sind sie meist ohne Polarität, besitzen mitunter sekundäre Lysosome und vermehrt Glykogengranula. Teilweise sind auch kurze Strecken einer basalmembranartigen Struktur vorhanden, über die die Zellen Verbindung zum umliegenden Stroma herstellen. (GABBIANI et al., 1972, KAMPIK, Habilitation 1981).

(Abbildungen 6-15)

Fibroblasten

Fibroblasten sind in der Regel spindelförmig, weisen keine Polarität auf und besitzen keine oder wenige sekundäre Lysosome. Typischerweise finden sich zahlreiche erweiterte Zisternen von rauem endoplasmatischem Retikulum, meist auch gut ausgeprägte Golgi-Komplexe. Während praktisch keine intrazytoplasmatischen Filamente gesichtet werden können, sieht man mitunter intrazytoplasmatische membrangebundene Einschlüsse. Teilweise erscheinen die Zellen metabolisch aktiv, teilweise vermitteln sie einen eher ruhenden Eindruck (KAMPIK, Habilitation, 1981; RENTSCH, 1977; RENTSCH, 1979; RENTSCH, LIESENHOFF, 1980; RENTSCH, 1981). (Abbildungen 16-18)

Makrophagen

Makrophagen zeigen multiple pinozytotische Vesikel und andere zytoplasmatische Einschlüsse. Derartige multiple pleomorphe intrazelluläre Einschlüsse können auch in sekundären Lysosomen vorhanden sein, allerdings zeigen sich solche Einschlüsse in unterschiedlichen Abbaustadien. Neben einer unregelmäßigen, der von Myofibroblasten ähnlichen Kontur der Zellkerne haben Makrophagen keine Polarisierung mit Basalmembran und apikalen Mikrovilli. Mitunter weisen sie eine geringe Dichte an sekundären Lysosomen auf, dafür besitzen sie aber membrangebundene pinozytotische Vesikel oder Granula. (KAMPIK, Habilitation, 1981; KAMPIK et al., 1980). (Abbildungen 19 und 20)

Retinales Pigmentepithel

Wichtiges Charakteristikum ist eine epithelähnliche Polarität, d.h. eine gut entwickelte Basalmembran sowie apikale Mikrovilli. Dabei zeigen die Mikrovilli bei den zumeist tubulär angeordneten Zellen in das Lumen der Tubuli hinein. Zwischen den Zellverbänden finden sich zahlreiche junctionale Komplexe und in den Zellen durch Membranen abgegrenzte Melanosome.

Locker angeordnete Mikrofilamente von 5-7 nm Durchmesser sind derjenige Filamenttyp, der sich intrazytoplasmatisch am häufigsten finden lässt. In der Regel sollten auch die für das Pigmentepithel typischen Melaningranula vorhanden sein. Da diese aber im proliferierenden Stadium verloren gehen können, werden auch diejenigen Zellen dem retinalen Pigmentepithel zugerechnet, die nahezu unpigmentiert sind, ansonsten aber den obigen Kriterien entsprechen. (KAMPIK, Habilitation, 1981; KAMPIK et al., 1980; MARMOR, 1999).

3.2. ZELLANORDNUNG, ZELLVERTEILUNG, ZELLHÄUFIGKEIT, KOLLAGENVERTEILUNG UND KOLLAGENSTRUKTUR

Die Ergebnisse hinsichtlich Zellanordnung, Zellverteilung und Zellhäufigkeit sowie Kollagenverteilung und Kollagenstruktur werden im Folgenden getrennt nach der ophthalmologischen Diagnose dargestellt. Es wurden 14 vitreomakuläre Traktionssyndrome und daneben die äußerst seltenen Fälle eines kongenitalen vitreomakulären Traktionssyndroms und eines vitreomakulären Traktionssyndroms bei persistierender Arteria hyaloidea untersucht. Bei der präoperativen Untersuchung des Fundus dieser 14 Membranen wurde augenfällig, dass sieben Augen eine glatte retinale Oberfläche ohne präoperativ sichtbares epiretinale Gewebe am hinteren Pol zeigten, während die anderen Augen eine nicht vaskularisierte epiretinale Membran aufwiesen. Deshalb werden diese Gruppen im Folgenden getrennt besprochen.

3.2.1. ZELLANORDNUNG, ZELLVERTEILUNG, ZELLHÄUFIGKEIT, KOLLAGENVERTEILUNG UND KOLLAGENSTRUKTUR BEIM VITREOMAKULÄREN TRAKTIONSSYNDROM

3.2.1.1. MIT KLINISCHEM BILD EINER EPIRETINALEN GLIOSE

Die Patientendaten hierzu sind in Tabelle 1, die Übersicht zu Zellverteilung und Membranstruktur in Tabelle 2 enthalten, jeweils lfd. Nr. 1-7. Alle Augen, die prä- und intraoperativ eine epiretinale Membran erkennen ließen, zeigten elektronenmikroskopisch einen mehrschichtigen fibrozellulären Aufbau, der in sechs Fällen teilweise in einen einschichtigen Aufbau überging. In vier dieser Proben fanden sich Abschnitte, in denen Zellen einzeln ohne Kontakt zu anderen Zellen in der kollagenen Matrix lagen. Jedoch waren diese Zellschichten stets von der ILM durch eine Schicht nativen Glaskörperkollagens getrennt, dessen Fibrillen charakteristischerweise einen Durchmesser von 8-15 nm aufwiesen. Allerdings fand sich auch neu entstandenes Kollagen mit einem Fibrillendurchmesser von mehr als 16 nm, das ebenfalls in sämtlichen Membranen vorhanden war. Dieses neu geformte Kollagen, das nur unmittelbar an der fibrozellulären Schicht anlag, war von der ILM entweder durch eine fortlaufende Schicht nativen Glaskörperkollagens getrennt oder befand sich auf der ILM-abgewandten, vitrealen Seite der Zellschicht.

Myofibroblasten traten nicht nur in allen sieben Membranen auf, sondern waren in sechs Fällen stark präsent und stellten dort den prädominanten Zelltyp. In einer Membran fanden sich zwar einige Zellen dieses Typs, allerdings waren die fibrösen Astrozyten hier häufiger. Insgesamt waren fibröse Astrozyten in den Zellschichten aller sieben Proben zu finden, drei davon enthielten viele Zellen dieses Typs, zwei weitere einige und wiederum zwei weitere nur sehr wenige fibröse Astrozyten. Während retinales Pigmentepithel und

Makrophagen vollständig fehlten, waren in zwei Membranen vereinzelt Fibroblasten enthalten. (Abbildungen 21-30)

3.2.1.2. OHNE KLINISCHES BILD EINER EPIRETINALEN GLIOSE

Die Patientendaten hierzu sind in Tabelle 1, die Übersicht zu Zellverteilung und Membranstruktur in Tabelle 2 enthalten, jeweils lfd. Nr. 8-14. Die Proben derjenigen Augen, die klinisch nicht als epiretinale Membranen imponierten, unterschieden sich im elektronenoptischen Erscheinungsbild von der zuvor beschriebenen Gruppe. So fanden sich bei vier Membranen eine Einzelzellschicht bzw. einzeln angeordnete Zellen, eine weitere Membran besaß neben einer Monolayerstruktur auch eine Multilayerstruktur. Die zwei übrigen Membranen enthielten nur einzeln angeordnete Zellen. Zudem lagen bei allen sieben Proben die Zellen unmittelbar und ohne dazwischen liegende Kollagenschicht an der vitrealen ILM-Seite an. Entsprechende Vergrößerungen belegen eine direkte Verknüpfung von zellulären Filamenten mit ILM-Strukturen. Lediglich die Probe, die durch ihre mehrreihige Zellschichtung auffiel, wies zwischen der der ILM anliegenden Zellschicht und den darüber liegenden Zellschichten neu entstandenes Kollagen auf. Bei einer Membran konnte in der kollagenen Matrix auch fibrous-long-spacing-collagen nachgewiesen werden.

Auch in diesen Membranen fanden sich keine Makrophagen oder Zellen des retinalen Pigmentepithels. Drei Membranen enthielten Fibroblasten, zwei davon durchschnittlich viele (ca. 3-5/Schnitt) und eine nur sehr wenige. Fibröse Astrozyten fanden sich in allen Membranen. Bis auf eine Membran, in der sie sehr zahlreich waren und den prädominanten Zelltyp stellten, waren sie insgesamt selten enthalten. Ansonsten sah man wie in der vorhergehenden Gruppe in sechs von sieben Fällen Myofibroblasten als häufigsten Zelltyp. Deren Dichte war allerdings nicht so hoch wie bei den als epiretinale Memb-

ran imponierenden Präparaten, sie beschränkte sich auf eine durchschnittliche Anzahl von Zellen. (Abbildungen 31-42)

3.2.2. ZELLANORDNUNG, ZELLVERTEILUNG, ZELLHÄUFIGKEIT, KOLLAGENVERTEILUNG UND KOLLAGENSTRUKTUR BEIM VITREOMAKULÄREN TRAKTIONSSYNDROM BEI PERSISTIERENDER ARTERIA HYALOIDEA

Die Patientendaten hierzu sind in Tabelle 1, die Übersicht zu Zellverteilung und Membranstruktur in Tabelle 2 enthalten, jeweils lfd. Nr. 15. Diese Probe wurde einem Auge entnommen, bei dem das vitreomakuläre Traktionssyndrom bei gleichzeitig persistierender Arteria hyaloidea auftrat. Sie zeigte einen mehrschichtigen Aufbau, deren Beziehung zur ILM nicht ultrastrukturell dargestellt werden konnte, da die ILM intraoperativ nicht mitentfernt werden konnte. Bei vollständiger Absenz von Zellen des retinalen Pigmentepithels wurden vereinzelt Makrophagen sowie Fibroblasten gesehen, des weiteren fanden sich durchschnittlich viele fibröse Astrozyten und eine große Anzahl an Myofibroblasten, die damit den prädominanten Zelltyp stellten. Wenn sich auch kein klar geschichteter Aufbau von Kollagen- und Zellschichten erkennen ließ, so kann zumindest die Aussage getroffen werden, dass es sich vornehmlich um neu entstandenes Kollagen handelte, eingebettet in nativen Glaskörper. Der Fibrillendurchmesser liegt meist bei 10-15 nm und entspricht damit dem des normalem Glaskörperkollagens. Eingestreut finden sich auch dickere Fibrillen von 25-30 nm Durchmesser. Eine Besonderheit dieser Membran ist die gut erhaltene basalmembranartige Struktur. Sie konnte bei keinem der anderen Präparate dargestellt werden und lag hier auf einer Zellschicht, die diese von einer Kollagenschicht sowie weiteren Zellen abgrenzte (Abbildung 47).

3.2.3. ZELLANORDNUNG, ZELLVERTEILUNG, ZELLHÄUFIGKEIT, KOLLAGENVERTEILUNG UND KOLLAGENSTRUKTUR BEI KONGENITALEM VITREOMAKULÄREN TRAKTIONSSYNDROM

Die Patientendaten hierzu sind in Tabelle 1, die Übersicht zu Zellverteilung und Membranstruktur in Tabelle 2 enthalten, jeweils lfd. Nr. 16. Bei diesen ultrastrukturellen Untersuchungen wurde auch der äußerst seltene Fall eines kongenitalen vitreomakulären Traktionssyndromes anhand einer Membran begutachtet. Sie offenbarte eine von Fibroblasten prädominierte epiretinale Membran, wobei sämtliche Zellen im gesamten Untersuchungsbereich nur einzeln verstreut in der kollagenen Matrix und nicht als Zellschicht auftraten. In dieser kollagenen Schicht konnten neben Fibroblasten auch einige fibröse Astrozyten und vereinzelt Myofibroblasten beobachtet werden. Zellen des retinalen Pigmentepithels sowie Makrophagen fehlten. Wie bei der Probe im Fall des vitreomakulären Traktionssyndromes bei persistierender Arteria hyaloidea können keine Aussagen zur Beziehung zur ILM getroffen werden, da diese operativ nicht mitentfernt werden konnte. Der Großteil der Kollagenfibrillen wies einen Durchmesser von 8-15 nm auf und charakterisierte natives Glaskörperkollagen. Im Umfeld der Fibroblasten fanden sich aber auch Kollagenfibrillen mit einem Durchmesser von etwa 25-30 nm. (Abbildungen 48-51)

3.3. DIE INNERE GRENZMEMBRAN (ILM)

Die innere Grenzmembran (ILM) liegt zwischen Netzhaut und Glaskörper. Sie besitzt eine undulierende retinale sowie eine glatte vitreale Seite. Ihre

Binnenstruktur ist homogen. Eingeschlossen finden sich Vakuolen, die zum Teil elektronendichtes Material enthalten.

3.4. KLINISCHES BILD EPIRETINALER MEMBRANEN BEI VITREOMAKULÄREM TRAKTIONSSYNDROM

Die untersuchten epiretinalen Membranen führten bei den 16 Patienten unabhängig vom ultrastrukturellen Erscheinungsbild zu ähnlichen subjektiven Symptomen. Neben einer schleierartigen Verschattung im zentralen Gesichtsfeld beschreiben die Patienten eine Herabsetzung der Sehschärfe. Nur in wenigen Fällen (19%) klagen sie über Metamorphopsien. Metamorphopsien traten nur als langfristige Veränderungen mit einer Anamnese von mehreren Monaten bis Jahren auf. Die präoperative Sehschärfe reichte von 1/20 bis 0,63, die finale postoperative Sehschärfe von 1/20 bis 1,0. Im Vergleich von prä- und postoperativer Sehschärfe erreichten 10 Augen eine Verbesserung von zwei oder mehr Snellen-Linien (63%), bei fünf weiteren Augen blieb die Sehschärfe stabil (31%) und bei einem Auge verschlechterte sie sich um zwei Snellen-Linien (6%). Bei fünf der sechs Augen ohne postoperative Verbesserung der Sehschärfe wurde ICG verwendet, um die ILM anzufärben und zu peelen.

4. DISKUSSION

Diese Untersuchung an 16 Membranen zeigt, dass es beim vitreomakulären Traktionssyndrom abgesehen von den Sonderfällen der kongenitalen Form und der Form bei einer persistierenden Arteria hyaloidea hinsichtlich der Entstehung zwei Gruppen gibt. Die eine Gruppe von Augen zeigte vor allem Einzelzellen oder eine Einzelzellschicht, die der vitrealen Seite der inneren Grenzmembran anlagen, wobei präoperativ weder eine biomikroskopisch nachweisbare epiretinale Proliferation noch eine Verdichtung der vitreoretinalen Grenzfläche nachgewiesen werden konnte. Die zweite Gruppe bestand aus prämakulärem fibrozellulärem Gewebe, das von der ILM durch eine Schicht nativen Kollagens getrennt war und das die klinischen Merkmale von idiopathischen epiretinalen Membranen bei Augen mit kompletter hinterer Glaskörperabhebung widerspiegelte. Klinisch unterscheiden sich beide Gruppen darin, dass die zweite Gruppe das Bild einer Gliose zeigt, die erste nicht.

Bei der vorliegenden Serie lag, wie in früheren Veröffentlichungen von McDONALD et al. (1994) und MELBERG et al. (1995) berichtet, der Glaskörper fest am hinteren Pol an. Wie von APPIAH et al. (1988) und HIROKAWA et al. (1990) beschrieben, sind idiopathische epiretinale Membranen mit einer vollständigen hinteren Glaskörperabhebung in 80% - 95% der Augen vergesellschaftet. In den verbleibenden 5% - 20% findet sich jedoch keine oder nur eine partielle hintere Glaskörperabhebungen. So kann zumindest aus klinischer Sicht nicht ausgeschlossen werden, dass bei der vorliegenden Untersuchungsreihe idiopathische epiretinale Membranen mit einer inkompletten vitreoretinalen Trennung vorlagen. Die Ultrastruktur der vorliegenden Membranen unterschied sich jedoch deutlich von der Morphologie idiopathischer epiretinaler Membranen. Die dargestellten Aufnahmen zeigen eine

mehrschichtige fibrozelluläre Matrix, die von der retinalen ILM durch eine Schicht nativen Glaskörperkollagens getrennt ist. Bei jeweils sechs der sieben Membranen aus den beiden Gruppen waren Myofibroblasten der prädominante Zelltyp. Myofibroblastische Differenzierung wurde beobachtet bei epiretinalen Geweben von Patienten mit idiopathischen oder sekundären epiretinalen Membranen, bei epiretinalen Membranen, die mit idiopathischen Makulaforamen assoziiert sind, und auch beim vitreomakulärem Traktionssyndrom (SMIDDY et al., 1989; KAMPIK et al., 1980; KAMPIK et al., 1981; GASTAUD et al., 2000; MESSMER et al., 1998; POURNARAS et al., 1998; SHINODA et al., 2000). Man vermutet, dass eine Kontraktion dieser Zellen zu tangentialen Zugkräften an der vitreoretinalen Grenzfläche führt, die eine oberflächliche Fältelung der ILM und der inneren Netzhaut, makuläre Verziehungen sowie die Entstehung und Vergrößerung von Makulaforamen verursacht (YOOH et al., 1996). RENTSCH (1977), der ein „Folding (puckering)“ wie bei diesen Ergebnissen nur bei Vorhandensein einer Kollagenschicht zwischen ILM und epiretinalen Zellen beobachtete, geht davon aus, dass die Traktion durch eine Schrumpfung des Kollagens und nicht durch zelluläre Komponenten vermittelt wird. Dagegen spricht, dass die Kollagenschicht ihre Formation nicht ändert, sondern dass sie im Gegensatz zu den Myofibroblasten der ILM im gesamten Verlauf anliegt. Wenn das Kollagen die Kontraktion verursachen sollte, müsste es zugleich die mit der ILM gemeinsame Fläche verkleinern und dürfte dieser dann auch nicht mehr im gesamten Verlauf glatt, sondern bisweilen gefältelt anliegen. Anstelle des Kollagens weist dieses Bild jedoch die Zellschicht mit den Myofibroblasten auf, die durch die Kontraktion die ihr anliegende Schicht aus Kollagen und ILM wie ein Raffrollo aufwirft.

Der Grund, weshalb Myofibroblasten sich kontrahieren können, liegt in den Ansammlungen von Mikrofilamenten, wie sie auch in glatten Muskelzellen beobachtet werden (GABBIANI et al., 1972; RUDOLPH et al., 1977; Kam-

pik et al., 1980; Kampik, Habilitation, 1981). Auch KAMPIK (Habilitation, 1981) kann für eine Schrumpfung von Kollagen als Ursache der Traktionsphänomene keine morphologisch fassbaren Anhaltspunkte in seiner Untersuchungsreihe erkennen.

So erscheint es wahrscheinlicher, dass die Traktion von Myofibroblasten verursacht wird. Diese benutzen die zwischenliegende kollagene Matrix gleichsam als Verschiebeschicht und übertragen über sie als Mediator ihre Traktionen auf die Netzhaut (Abbildungen 27 und 52).

Myofibroblasten exprimieren Transforming Growth Factor (TGF)- β 1, seinen spezifischen Rezeptor TGF- β RII, α -Smooth Muscle (SM) Actin und Fibronektin. Diese sind, wie kürzlich bei epiretinalen Membranen von Patienten mit proliferativer Vitreoretinopathie und proliferativer diabetischer Retinopathie gezeigt wurde, wichtige Induktoren der myofibroblastischen Differenzierung. Myofibroblasten waren der hauptsächliche zelluläre Bestandteil der Membranen mit vitreomakulärem Traktionssyndrom und bei allen dieser Zellen fand man α -SM Actin, was das hohe Potential für Kontraktionen unterstreicht (BOCHATON-PIALLAT et al., 2000).

Die Merkmale myofibroblastischer Differenzierung wurden bei Zellen bei allen Formen epiretinaler Membranen nachgewiesen, und sie erklären und verdeutlichen die sowohl histopathologisch wie auch klinisch bestätigten kontraktile Eigenschaften epiretinaler Gewebe. Bei Patienten mit idiopathischer Gliose fanden sich im Gegensatz zum vitreomakulären Traktionssyndrom weitaus weniger Myofibroblasten als Zellen anderer Zelltypen (KAMPIK et al., 1980; KAMPIK, Habilitation, 1981; SMIDDY et al., 1989). Dieses Erkenntnis steht nicht im Einklang mit der großen Anzahl von myofibroblastisch differenzierten Zellen, wie sie in der vorliegenden Untersuchungsreihe zum vitreomakulären Traktionssyndrom gefunden wurde. Die

hohe Prävalenz der Myofibroblasten spiegelt möglicherweise die gestiegene Tendenz dieses Zelltyps zu proliferieren wieder. Unter Umständen treten die myofibroblastischen Merkmale aber nur für eine relativ kurze Zeit während der Membranbildung auf. Unterschiede hinsichtlich des prädominanten Zelltyps könnten somit vom Ablauf der Differenzierung, dem Zeitintervall nach einer partiellen hinteren Glaskörperabtrennung und dem Zeitpunkt der Operation abhängen (RUDOLPH et al., 1977). Heutzutage erlauben die Fortschritte der Operationstechnik, dass epiretinale Gewebe in einem früheren Stadium der Membranbildung entfernt werden. Ebenso ermöglicht das Entfernen der ILM eine vollständiges Lösen der vitreoretinalen Grenzfläche. Das könnte die Prädominanz fibröser Astrozyten in früheren Untersuchungen erklären (SMIDDY et al., 1989; GASTAUD et al., 2000; GANDORFER et al., 2002). Die deutliche Prädominanz der Myofibroblasten bei den hier begutachteten Augen mit vitreomakulärem Traktionssyndrom könnte die hohe Prävalenz des zystoiden Makulaödems und progressiver vitreomakulärer Traktionen, die laut Literatur in einzelnen Fällen zur Ablösung der Makula führten, erklären (McDONALD et al., 1994; MELBERG et al., 1995). Die hohe Prävalenz für zystoide makuläre Veränderungen und der progressive Verlauf bei einigen Augen mit vitreomakulärem Traktionssyndrom finden sich nur selten bei Augen mit idiopathischen epiretinalen Membranen (MICHELS, 1982; APPIAH et al., 1988; MICHELS, 1984).

Bemerkenswerterweise fanden sich bei der Untersuchung keine Zellen des retinalen Pigmentepithels, die bei Fällen von proliferativer Vitreoretinopathie und insbesondere von sekundärer epiretinaler Gliose der prädominante Zelltyp sind. (SMIDDY et al., 1990 ; KAMPIK et al., 1980 ; KAMPIK et al., 1981). Außerdem fehlten in den Proben Makrophagen. Dies lässt unterschiedliche Entstehungsmechanismen von epiretinalem Gewebe vermuten, wobei für die epimakuläre Proliferation bei Augen mit vitreomakulärem Traktionssyndrom möglicherweise eine gliale Quelle ursächlich sein könnte.

Schon KAMPIK (Habilitation, 1981) beschrieb, dass auf eine Vielzahl unterschiedlicher Stimuli eine recht einheitliche Reaktionsweise bei der Ausbildung komplizierter epiretinaler und vitrealer Membranen zu erwarten sei und dass dem Zusammenwirken von retinaler Glia und Glaskörperrindenzellen eine besondere Bedeutung zukommen müsse, da diese Kombination in den meisten Membranen und unabhängig von ätiologischen Faktoren gefunden wurde. Epiretinale Membranen entwickeln sich in der Regel nach Entstehung der hinteren Glaskörperabhebung. Bei der hinteren Glaskörperabhebung entstehen Dehiszenzen in der ILM, die eine Migration und Proliferation von Zellen auf der inneren retinalen Oberfläche ermöglichen (HISCOTT et al., 1984). Kürzlich entdeckten SHINODA et al. (2000) Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) und Vimentin bei zwei von fünf Augen mit vitreomakulärem Traktionssyndrom. GFAP kommt nur bei Astrozyten der Retina und im zentralen Nervensystem vor. Vimentin ist spezifisch für unreife Gliazellen, normale und reaktive Astrozyten und mesenchymale Zellen. Dies könnte die Theorie der Migration von Gliazellen von der Netzhaut zur vitreoretinalen Grenzfläche unterstützen (HISCOTT et al., 1984). Allerdings ist der Ursprung der Zellen, die auf der vitreoretinalen Grenzfläche proliferieren, weiterhin umstritten. Es ist nach wie vor unklar, ob nicht Hyalozyten aus dem Glaskörper oder hämatogenen Ursprungs die fibrozelluläre Proliferation an der vitreoretinalen Grenzfläche verursachen könnten (KAMPIK et al., 1980).

Bei dieser Untersuchung bildeten Myofibroblasten und fibröse Astrozyten einen mehrschichtigen Aufbau, der von der ILM durch eine Schicht nativen Glaskörperkollagens getrennt war. Neu gebildetes Kollagen war dabei nur zwischen dem zellulären mehrschichtigen Aufbau und der Schicht nativen Glaskörperkollagens, die der ILM anlag, vorhanden. Diese durchgehende, zwischen ILM und fibrozellulärem Gewebe eingebettete Kollagenschicht, die sich bei all den im klinischen Bild einer epiretinalen Gliose ähnlichen Proben fand, wirft die Frage auf, ob Gliazellen tatsächlich in der Lage sind, von De-

hiszenzen in der ILM durch natives Glaskörperkollagen zu wandern, oder ob die Zellen, die auf der Glaskörperrinde proliferieren, nicht doch eher ortständige Glaskörperzellen sind (KAMPIK et al., 1980). Diese Frage kann nicht durch eine ultrastrukturelle Analyse geklärt werden. SHINODA et al. (2000) fanden gehäuft neu gebildetes Kollagen mit Typ I Kollagen in allen Fällen und fibrous-long-spacing-collagen in zwei von fünf Fällen mit vitreomakulärem Traktionssyndrom. Da sie aber zur Bestimmung des Kollagens immunhistochemische Techniken bei einer Membran und eine Untersuchung der Ultrastruktur bei vier weiteren Membranen verwandten, kann die Lokalisation der Ablagerungen des neu entstandenen Kollagens nicht exakt bestimmt werden, da sie nicht bei jeweils einer Membran sowohl Ultrastruktur als auch Immunhistochemie darstellten.

Frühere Theorien zur Entstehung der epiretinalen Membranen bei vitreomakulärem Traktionssyndrom basierten auf der Präsenz einer inkompletten vitreoretinalen Abhebung mit einer persistierenden Anheftung des Glaskörpers am hintern Pol. Des Weiteren findet die vitreoretinale Trennung, auch wenn keine Anheftungen verbleiben, nicht unbedingt genau zwischen Glaskörperrinde und ILM statt, sondern es verbleibt eine Schicht der Glaskörperrinde an der vitreomakulären Grenzfläche. Bei einer Autopsieserie menschlicher Augen mit spontaner hinterer Glaskörperabhebung wiesen 44% (26 von 59) Glaskörperrindenreste im fovealen Bereich auf (KISHI et al., 1986). Bei Patienten mit proliferativer diabetischer Retinopathie ist die Persistenz der Glaskörperrinde ein häufiger Befund, der „Vitreoschisis“ genannt wird (SCHWARTZ et al., 1996; KISHI et al., 1993). Basierend auf den hier gefundenen klinisch-pathologischen Resultaten entsteht die Annahme, dass es bei der epiretinalen fibrozellulären Proliferation beim vitreomakulärem Traktionssyndrom folgende Pathomechanismen gibt: Die Glaskörperabhebung fördert wie weiter oben beschrieben die Zellmigration zur vitreoretinalen Grenzfläche. Diese Zellen proliferieren unmittelbar auf der ILM, wenn die

ILM frei von Resten der Glaskörperinnenseite ist. Dabei sollte beachtet werden, dass eine an einem Bereich freie ILM möglicherweise mit einer persistierenden Glaskörperanheftung in einem anderen Bereich einhergehen kann. Wenn eine persistierende Schicht der Glaskörperinnenseite über der Makula vorhanden ist, findet die Zellmigration und -proliferation auf dieser Schicht des nativen Kollagens statt. Eine vollständige Entfernung des Glaskörpers wird insbesondere bei Augen mit diabetischer Vitreoretinopathie empfohlen, um die Zug- und Scherkräfte an der Makula zu reduzieren und einer nachfolgenden fibrozellulären Proliferation die Grundlage zu entziehen (GANDORFER et al., 2000; HARBOUR et al., 1996; LEWIS et al., 1992). Des Weiteren bleibt unklar, ob einzelne Zellen oder eine Einzelzellschicht klinisch signifikante makuläre Veränderungen verursachen können und ob eine Entfernung zusammen mit der ILM, wie es bei der Operation des Makulaforamens durchgeführt wird, den Patienten, die an dieser Variante des vitreomakulären Traktionssyndromes leiden, einen funktionellen Vorteil bringt (GANDORFER et al., 2001; 2001; MESSMER et al., 1998; HARITOGLOU et al., 2001; PARK et al., 1999). Dass die Variante des vitreomakulären Traktionssyndromes mit einzelnen Zellen oder einer Einzelzellschicht unmittelbar auf der ILM nur eine Vorstufe der anderen, klinisch einer epiretinalen Gliose ähnlichen Variante ist, kann neben der vollständig unterschiedlichen Zelldichte durch die Tatsache ausgeschlossen werden, dass wie zuvor beschrieben entsprechende Vergrößerungen eine direkte Verknüpfung von zellulären Elementen mit ILM-Strukturen belegen. So könnten bei der erstgenannten Variante die Vimentin enthaltenden Zellen (SHINODA et al., 2000) Zellen mesenchymalen Ursprungs, also auch Fibroblasten sein, die zur vitreoretinalen Grenzfläche migrieren und dort proliferieren (HISCOTT et al., 1984). Dies würde auch das Bild einer fibrozellulären Multilayerstruktur, das eine Probe aus dieser Variante in der vorliegenden Untersuchung zeigte, erklären, bei dem die Zellen unmittelbar auf der ILM proliferierten und ein zystoides Makulaödem verursachten (Abbildungen 37-42). Eine vollständige Entfernung dieser

Membran war nur zusammen mit der ILM möglich. Dabei sollte betont werden, dass diese Membran klinisch nicht sichtbar war und dass eine Entfernung allein des Glaskörpers vermutlich keine vollständige Entfernung des epiretinalen Gewebes von der ILM im makulären Bereich möglich gemacht hätte.

Die Bildung epiretinaler Membranen ist ein kontinuierlicher Ablauf von zellulärer Migration, Proliferation und Modulation der extrazellulären Matrix. Einzelne Zellen, die in der ILM verankert sind, können keinen fibrozellulären mehrschichtigen Aufbau ausbilden, der von der ILM durch eine Schicht nativen Kollagens getrennt ist. Daher ist wahrscheinlich, dass die zwei hier beschriebenen klinisch-pathologisch Typen des vitreomakulären Traktionssyndromes davon abhängen, ob nach erfolgter Glaskörperabhebung eine Schicht von Glaskörperkollagen auf der ILM verbleibt oder nicht.

Kürzlich konnte mit Hilfe der OCT (Optical Coherence Tomography), einem hochauflösenden Verfahren zur optischen Schnittbilddiagnostik *in vivo*, gezeigt werden, dass es bei Augen mit vitreomakulärem Traktionssyndrom zwei unterschiedliche Typen von vitreoretinalen Anheftungen gibt, nämlich fokale und multifokale. Dabei zeigen GALLEMORE et al. (2000) Beispiele von fokalen vitreofovealen Anheftungen und multifokalen Anheftungen des Glaskörpers an epiretinale Membranen. Dies stimmt mit den hier beschriebenen klinisch-pathologischen Befunden überein.

Eine Beurteilung der beiden weiteren Membranen, des kongenitalen vitreomakulären Traktionssyndromes und des vitreomakulären Traktionssyndromes bei persistierender Arteria hyaloidea, fällt indes schwer, da deren Seltenheit nicht einmal kleine Untersuchungsreihen zulässt, da keine Publikationen existieren und somit zu Vergleichen herangezogen werden können und da

beide Formen ein untereinander und im Vergleich zu den anderen 14 Membranen anderes ultrastrukturelles Erscheinungsbild aufweisen.

Bemerkenswert ist, dass die Probe der persistierenden Arteria hyaloidea ein höchst unstrukturiertes, zellreiches Bild zeigt, das zwar am ehesten einem mehrlagigen Aufbau zuordenbar erscheint, in Wirklichkeit aber keine reguläre Schichtung besitzt. In Bestätigung der vorherigen Ergebnisse finden sich auf den Bildern, die stark von Traktionen geprägt sind, sehr viele Myofibroblasten, sie stellen auch hier den prädominanten Zelltyp. Vermutlich ist die in diesem Fall aufgetretene Glaskörperblutung die Ursache dafür, dass bei diesem Entstehungstyp zumindest vereinzelt Makrophagen gefunden wurden. Dass dieser Zelltyp bei der Pathogenese eine wichtige Rolle spielt, erscheint allerdings wegen seiner geringen Dichte wie auch wegen der Bedeutung der Makrophagen bei der Pathogenese anderer epiretinaler Membranen weniger wahrscheinlich. Auffallend ist, dass ultrastrukturell selbst nach 18 Monaten Symptomdauer zellulär aktive Umbildungsprozesse zu erkennen sind. Es finden sich massenhaft raues endoplasmatisches Retikulum, Mitochondrien und Kollagenablagerungen. Das häufige Auftreten von Myofibroblasten und die an intrazytoplasmatischen Vesikeln reichen Makrophagen unterstreichen diesen Aspekt. Elektronenoptische Merkmale für derartige Aktivität von Zellen finden sich auch bei den Proben des vitreomakulären Traktionssyndroms, wenn auch in deutlich schwächerer Ausprägung. Ähnlichkeit weist das Bild des vitreomakulären Traktionssyndroms bei persistierender Arteria hyaloidea mit dem herkömmlicher vitreomakulärer Traktionssyndrome auch hinsichtlich der statistischen Verteilung von Myofibroblasten, Fibroblasten und fibrösen Astrozyten auf.

Der Patient erkrankte bis zum 65. Lebensjahr nicht an diesem Auge, also nicht früher als Patienten mit herkömmlichem vitreomakulären Traktionssyndrom. Dennoch unterstreicht die gegenüber dem normalen vitreomakulä-

ren Traktionssyndrom unterschiedliche Morphologie, dass es Auswirkungen der zum Membranentstehungszeitpunkt immer noch präsenten Arteria hyaloidea auf die Membranbildung geben muß.

Sehr unterschiedlich zu den bisher beschriebenen Proben zeigt sich die kongenital bedingte Membran. Den hier prädominanten Zelltyp stellen die Fibroblasten. Die äußerst kollagenreiche Membran, die nur bisweilen von einzeln liegenden Zellen durchwoben ist, sowie die sehr aktiv erscheinenden Fibroblasten vermitteln den Eindruck hoher Proliferation. Es sollte Beachtung finden, dass zwischen den ersten Symptomen und der operativen Entfernung ein Jahr vergangen ist. Wenn dies bei älteren Patienten nicht zu starken Änderungen im Erscheinungsbild der Membranen führt, so könnte zumindest bei den Membranen eines jungen, erst fünf Jahre alten Patienten beispielsweise der Anteil der Myofibroblasten, die ihre Differenzierung nur vorübergehend besitzen, aufgrund der hohen proliferativen Aktivität stark variieren.

Dennoch bedarf es bei den letzten beiden Membranen weiterer Untersuchungen, um Regelmäßigkeiten in der Ultrastruktur nachzuweisen und die entsprechende Pathogenese darstellen zu können.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Diese Arbeit untersucht die Ultrastruktur der Glaskörper-Netzhaut-Grenze bei vitreomakulärem Traktionssyndrom. Von den 16 untersuchten Membranen waren 14 klinisch als primäres vitreomakuläres Traktionssyndrom diagnostiziert worden, wobei sieben Augen prä- und intraoperativ eine epiretinale Membran zeigten und weitere sieben Augen eine glatte retinale Oberfläche ohne erkennbares epiretinales Gewebe am hinteren Pol aufwiesen. Die beiden sekundären Membranen, ein kongenital bedingtes vitreomakuläres Traktionssyndrom und ein vitreomakuläres Traktionssyndrom bei persistierender Arteria hyaloidea, wurden in die Untersuchung mitaufgenommen, um die Unterschiede dieser extrem seltenen Varianten im Vergleich zum herkömmlichen vitreomakulärem Traktionssyndrom darstellen zu können.

Die präoperativ als epiretinale Gliose erscheinenden Membranen (Tabelle 1 und 2, jeweils lfd. Nr. 1-7) zeigten einen vornehmlich von Myofibroblasten prädominierten mehrschichtigen Aufbau, der von der ILM durch eine Kollagenschicht getrennt war. Diese Kollagenschicht bestand an der ILM-zugewandten Seite aus nativen Kollagenfibrillen des Glaskörpers, während neu gebildetes Kollagen nur zwischen der nativen Kollagenschicht und der Zellschicht eingebettet zu finden war. Auch die zweite Gruppe (Tabelle 1 und 2, jeweils lfd. Nr. 8-14) war mehrheitlich von Myofibroblasten dominiert, allerdings waren hier bei einer wesentlich geringeren Zelldichte vor allem Einzelschichten oder nur einzelne Zellen zu finden, die der ILM unmittelbar anlagen. Die Aufnahmen lassen die Vermutung zu, dass die Traktionen nicht wie früher vermutet durch eine Schrumpfung des Kollagens, sondern vor allem durch die zelluläre Kontraktion des Myofibroblasten entstehen. Während bei der einen Gruppe die Kollagenschicht wesentlich stärkere Kontraktionen zulässt und die Zugkräfte über die Kollagenschicht als Mediator auf die

Netzhaut übertragen werden können, sind die Zellen der anderen Gruppe unmittelbar in der ILM verankert und übertragen so, wenn auch weitgleich schwächer, ihre Traktionen auf die Netzhaut.

Die hohe Prävalenz der Myofibroblasten ist eine Erklärung für die typischen klinischen Merkmale des vitreomakulären Traktionssyndroms wie beispielsweise zystoides Makulaödem oder die progressiven vitreomakulären Traktionen, die zur Abhebung der Netzhaut im Bereich der Makula führen können. Man kann vermuten, dass es unterschiedliche Mechanismen bei der Bildung epiretinaler Membranen gibt. Ziel weiterführender Studien sollte sein, Interaktionen zwischen epiretinalen Zellen und dem Glaskörper und insbesondere zwischen epiretinalen Zellen und der Netzhaut bei gesunden und kranken Augen zu untersuchen, da diese Erkenntnisse von entscheidender Bedeutung für die operative Behandlung dieser Erkrankungen sind.

6. ANHANG

6.1. TABELLEN

Tabelle 1

Lfd. Nr.	Alter zur OP in Jahren	Geschlecht	Traktionssyndrom	Symptombauer in Monaten	Vorhandensein einer epiretinalen Membran	Zystoides Makulaödem	Visus präoperativ	Visus postoperativ	Follow-up (Monate)
1	75	m	vitreomakuläres	39	ja	nein	0,6	1	9
2	48	m	vitreomakuläres	4	ja	ja	0,1	0,05	9
3	79	m	vitreomakuläres	1	ja	nein	0,3	0,5	7
4	72	m	vitreomakuläres	3	ja	nein	0,4	0,5	9
5	61	m	vitreomakuläres	36	ja	nein	0,4	0,2	9
6	65	w	vitreomakuläres	3	ja	nein	0,3	0,3	8
7	67	w	vitreomakuläres	24	ja	nein	0,5	0,3	8
8	76	w	vitreomakuläres	5	nein	ja	0,05	0,05	12
9	63	m	vitreomakuläres	unbekannt	nein	nein	0,6	0,8	20
10	77	w	vitreomakuläres	unbekannt	nein	ja	0,2	0,8	20
11	79	w	vitreomakuläres	unbekannt	nein	nein	0,2	0,5	23
12	70	w	vitreomakuläres	5	nein	nein	0,1	0,1	9
13	76	m	vitreomakuläres	unbekannt	nein	ja	0,4	0,6	14
14	74	m	vitreomakuläres	unbekannt	nein	ja	0,3	0,6	14
15	66	m	vitreomakuläres bei persistierender A. hyaloidea	18	ja	nein	0,05	0,5	2
16	6	m	kongenitales vitreomakuläres	12	ja	nein	0,7	0,2	1

Tabelle 2

Lfd. Nr.	Fibröse Astrozyten	Myofibroblasten	Fibroblasten	Retinales Pigmentepithel	Makrophagen	Prädominanter Zelltyp	Zellschichtung	Natives Kollagen auf der ILM	Neu entstandenes Kollagen
1	+++	++	-	-	-	Fibröse Astrozyten	mehreihig	ja	ja
2	+++	+++	-	-	-	Myofibroblasten	mehreihig	ja	ja
3	+	+++	-	-	-	Myofibroblasten	mehreihig	ja	ja
4	++	+++	-	-	-	Myofibroblasten	mehreihig	ja	ja
5	+++	+++	-	-	-	Myofibroblasten	mehreihig	ja	ja
6	++	+++	+	-	-	Myofibroblasten	mehreihig	ja	ja
7	+	+++	+	-	-	Myofibroblasten	mehreihig	ja	ja
8	+	++	++	-	-	Myofibroblasten	einzelne Zellen	nein	nein
9	+	+	-	-	-	Myofibroblasten	einzelne Zellen	nein	nein
10	+	++	+	-	-	Myofibroblasten	einreihig	nein	nein
11	+++	++	+	-	-	Fibröse Astrozyten	einreihig	nein	nein
12	+	++	-	-	-	Myofibroblasten	einreihig	nein	nein
13	+	+	-	-	-	Myofibroblasten	mehreihig	nein	ja
14	++	++	++	-	-	Myofibroblasten	einreihig	nein	nein
15	++	+++	+	-	+	Myofibroblasten	mehreihig	ja	ja
16	++	+	++	-	-	Fibroblasten	einzelne Zellen	ja	ja

(+++ = sehr viele, ++ = durchschnittlich viele, + = wenige, - = keine)

6.2. ABBILDUNGEN

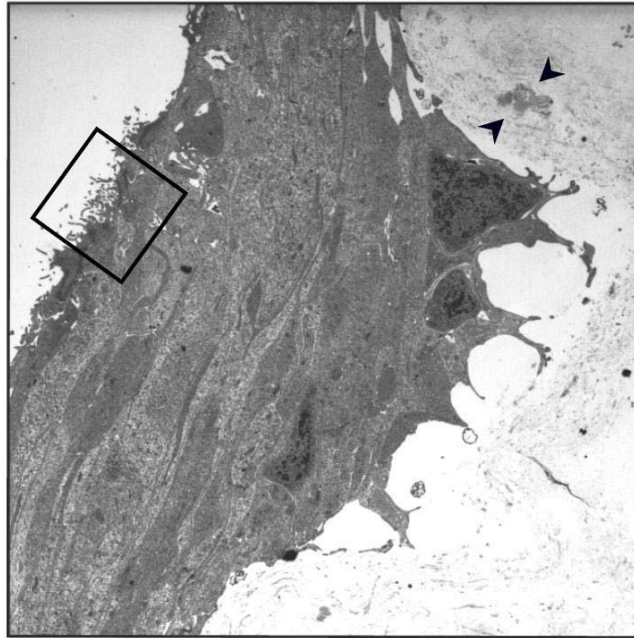


Abbildung 1:

Als glaskörperseitiger Abschluss sitzt der fibrozellulären Membran eine mehrreihige Schicht spindelförmiger Zellen auf, die Polarisierung zeigen: fibröse Astrozyten. Rechts oben finden sich fibrous-long-spacing-collagen (Pfeilspitzen). (TEM: 2040x)

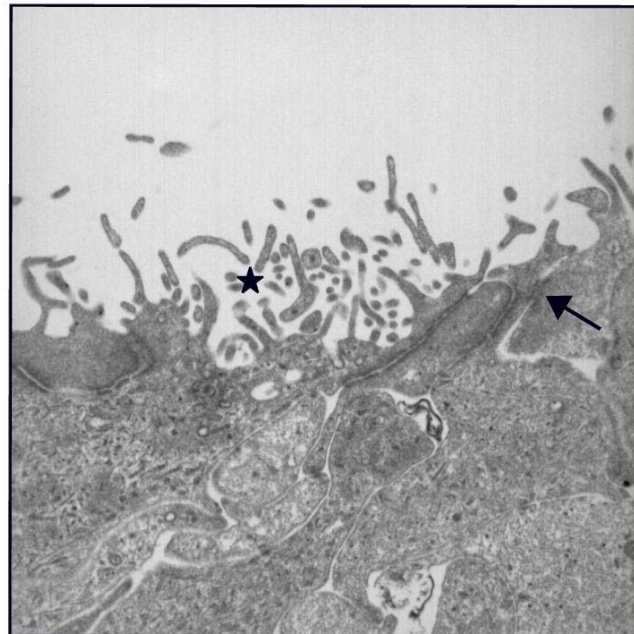


Abbildung 2:

Vergößerung von Abbildung 2: deutlicher Mikrovilli-Besatz (Stern) als Zeichen der Polarisierung, der Pfeil weist auf einen junctionalen Komplex. (TEM: 13175x)

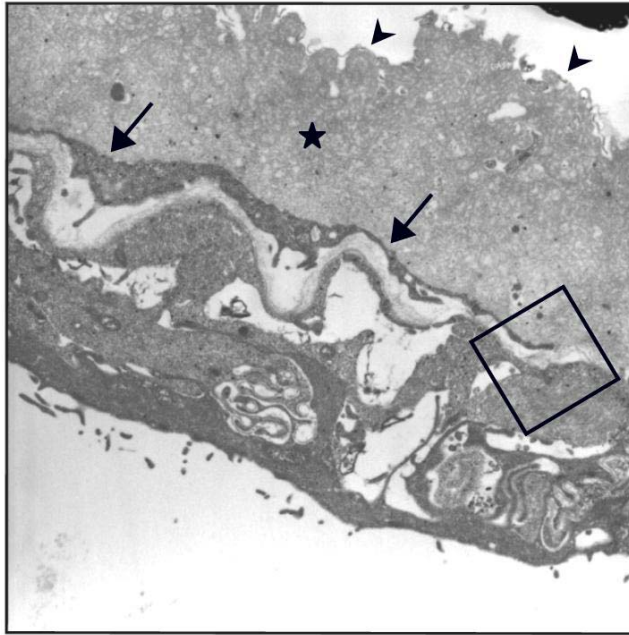


Abbildung 3:
 Innere Grenzmembran der Netzhaut (inner limiting membrane = ILM) (Stern). Die Pfeilspitzen weisen auf die ondulierende retinale Seite. Der Ausläufer einer Zelle liegt der ILM unmittelbar an (Pfeile). (TEM: 6715x)

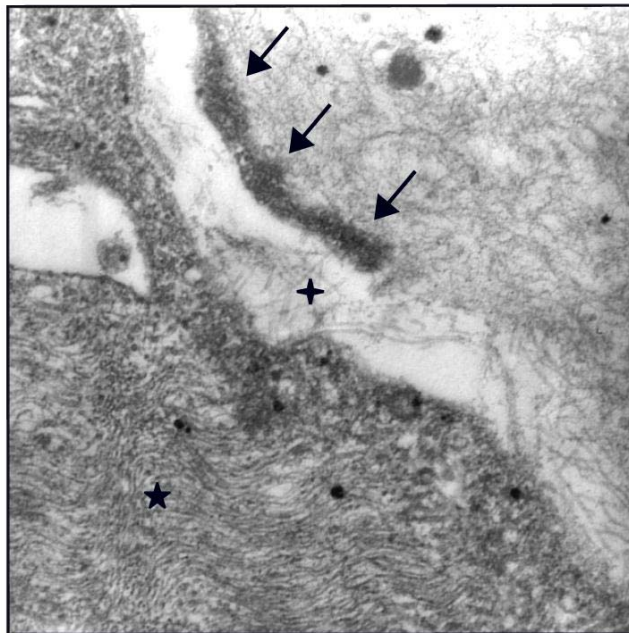


Abbildung 4:
 Ausschnitt aus Abbildung 3: Filamente vom intermediären Typ (8-10 nm Durchmesser; Stern). Zwischen den Zellen bzw. zwischen Zelle und ILM befindet sich Kollagen (Kreuz), teilweise ist die ILM mit einem Zellarm verwachsen (Pfeile). (TEM: 39100x)

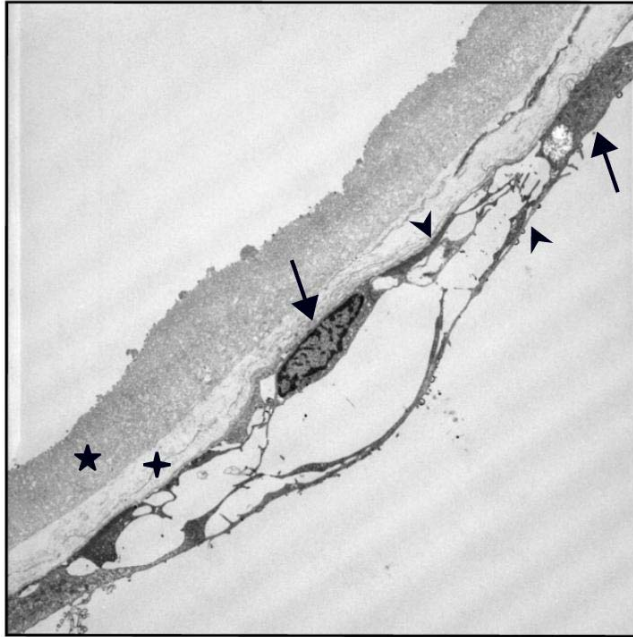


Abbildung 5:
ILM (Stern), die Zellkerne zweier fibröser Astrozyten (Pfeile) und deren Zellfortsätze (Pfeilspitzen). Kollagenschicht zwischen ILM und der Zellschicht (Kreuz). Tubuläre Anordnung der Zellen und einreihige Zellschichtung. (TEM: 2550x)

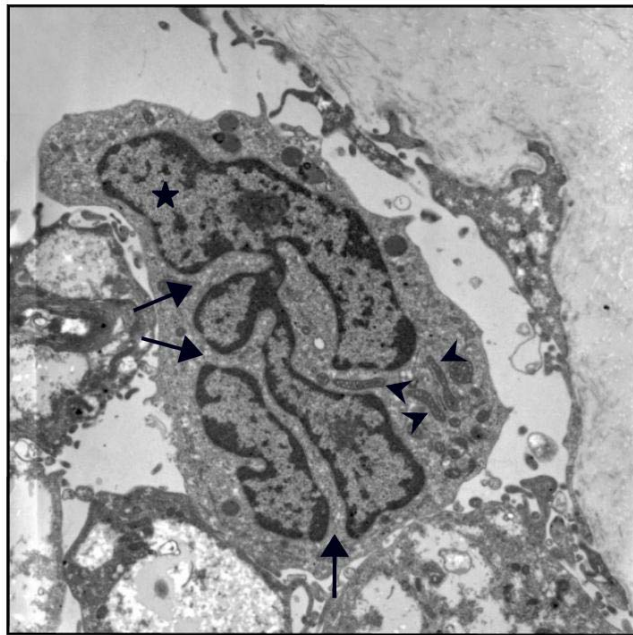


Abbildung 6:
Indentierter (Pfeile) Zellkern eines Myofibroblasten. Zahlreiche Mitochondrien (Pfeilspitzen) als Zeichen für die hohe Aktivität dieses Zelltyps (Übersicht siehe Abbildung 47 rechter Bildrand). (TEM: 6715x)

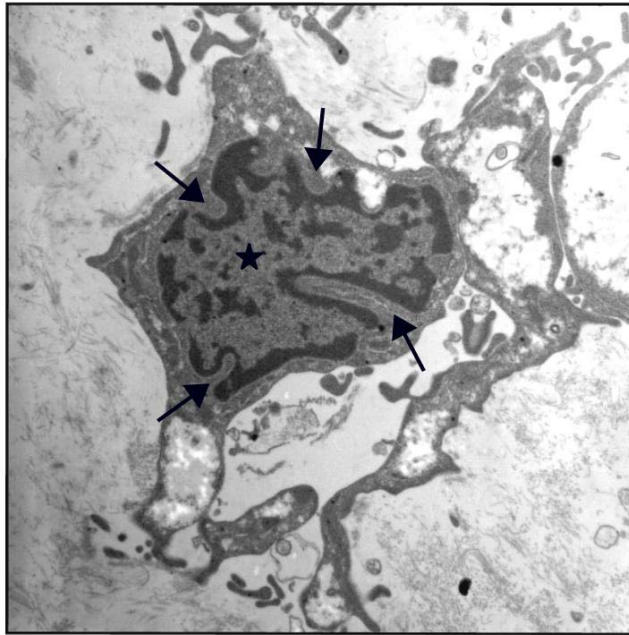


Abbildung 7:
Wie oben Zellkern (Stern) eines typischen Myofibroblasten mit Einschnürungen (Pfeile) (Übersicht siehe Abbildung 47 linker Bildrand). (TEM: 10455x)

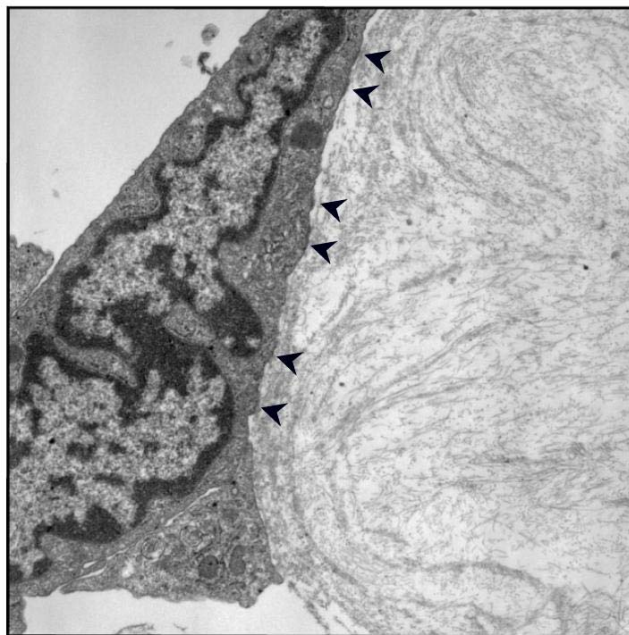
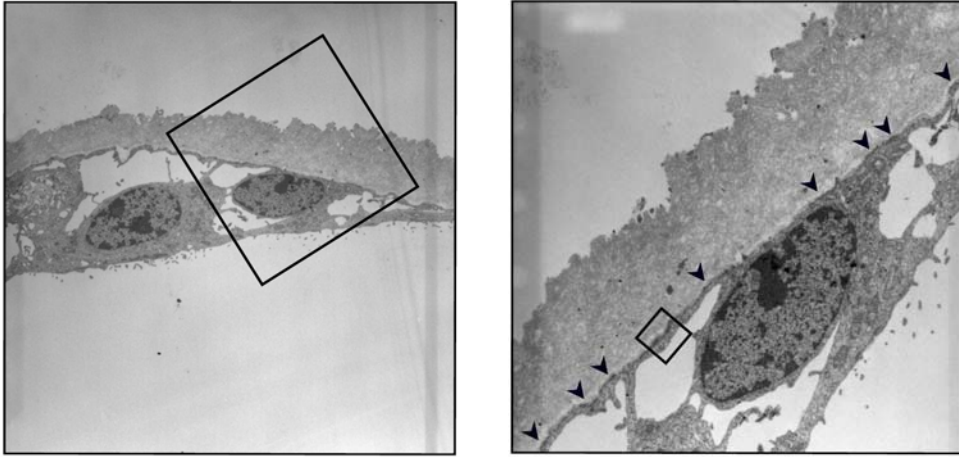


Abbildung 8:
Dicht gepackt und teilweise nahe der Zellgrenze Ansammlungen intrazytoplasmatischer Mikrofilamente (Pfeilspitzen). (TEM: 13175x)



Abbildungen 9 und 10:
Übersichtsaufnahmen eines Myofibroblasten. Aggregate von intrazytoplasmatischen Mikrofilamenten (Pfeilspitzen in Abbildung 10). (TEM: 1800x und 4800x)

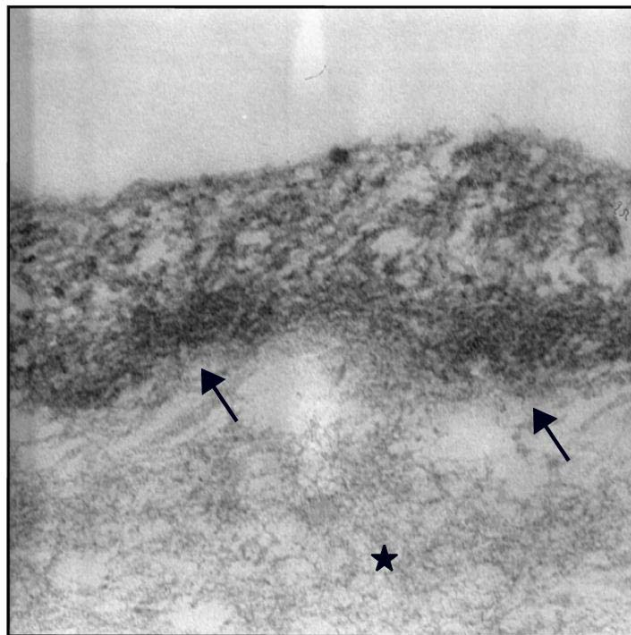


Abbildung 11:
Vergrößerung aus Abbildung 10: Versprossungen der Mikrofilamente (Pfeile) mit der ILM (Stern). (TEM: 83640x)

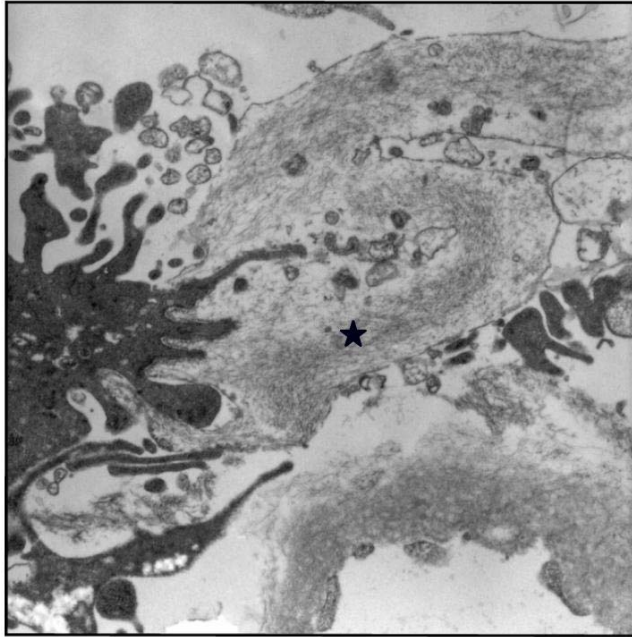


Abbildung 12:
Im linken Bildfeld angeschnitten ein Myofibroblast, der an einen Strang aus Kollagenfibrillen (Stern) angrenzt. (TEM: 13175x)

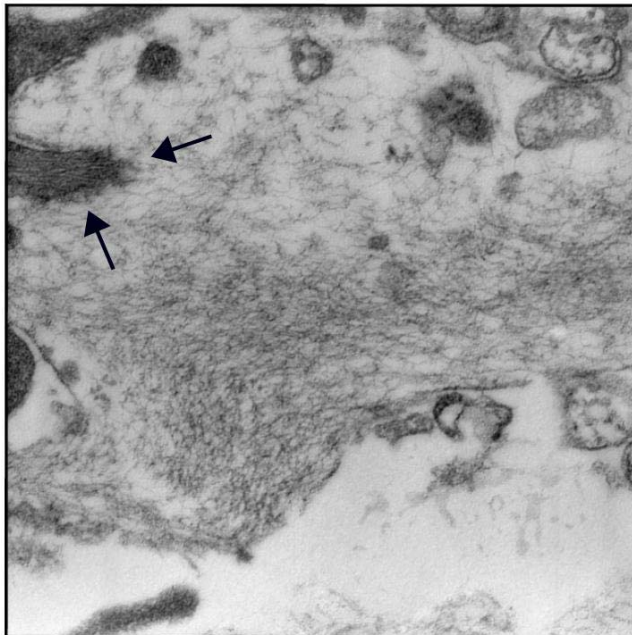


Abbildung 13:
Detail aus Abbildung 12: Zellausläufer eines Myofibroblasten mit verdichteten Myofibrillen und ihren Verbindungen zum Kollagenstrang (Pfeile). (TEM: 39100x)

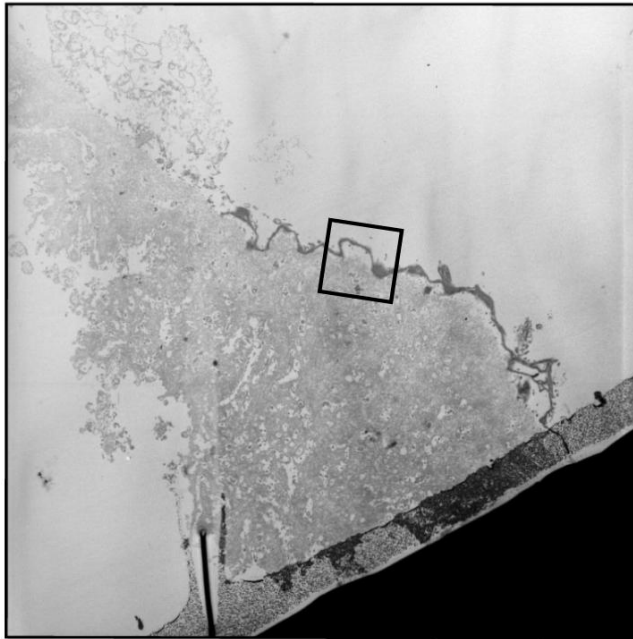


Abbildung 14:
Vitrealer ILM-Seite mit unmittelbar anliegendem Zellausläufer. (TEM: 3740x)

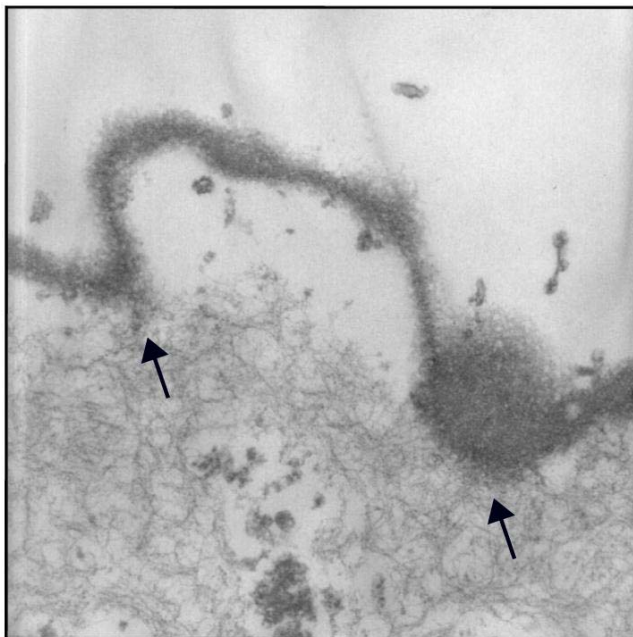


Abbildung 15:
Vergrößerung aus der obigen Aufnahme: Interaktionen zwischen den Mikrofilamenten des Zellausläufers und der ILM (Pfeile). (TEM: 39100x)

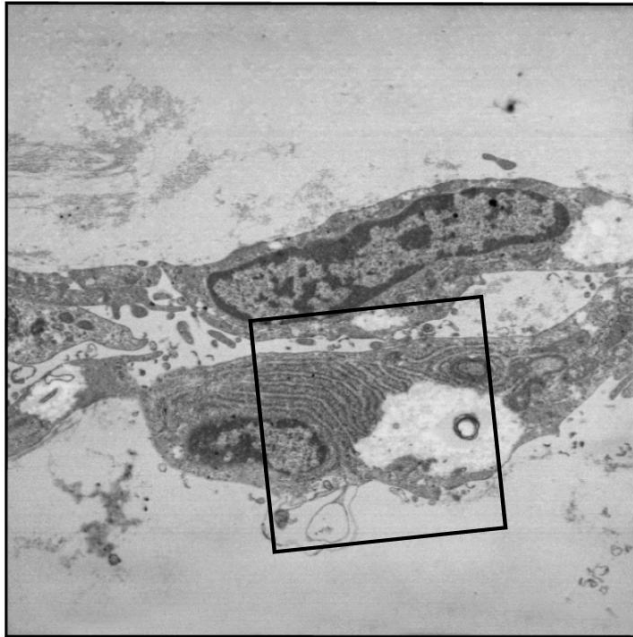


Abbildung 16:
Fibröser Astrozyt (oben) und Fibroblast. (TEM: 6970x)

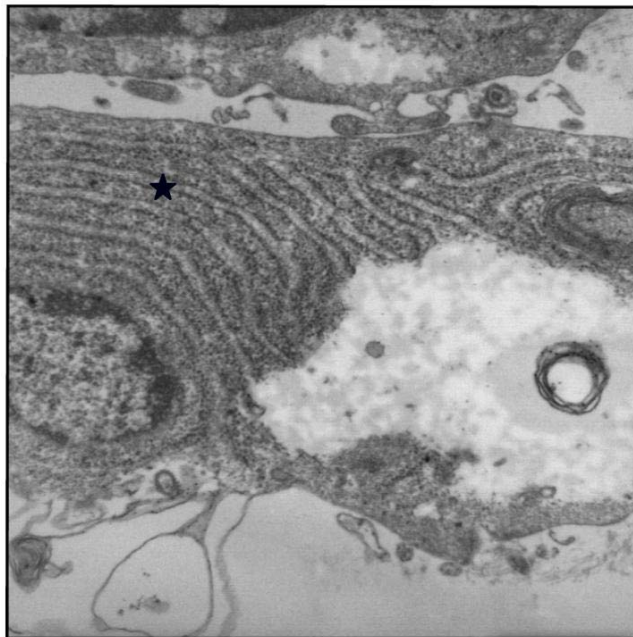


Abbildung 17:
Vergrößerung aus Abbildung 16: Beispielhafte Abbildung der zahlreichen erweiterten Zisternen rauhen endoplasmatischen Retikulums (Stern) eines Fibroblasten. (TEM: 20910x)

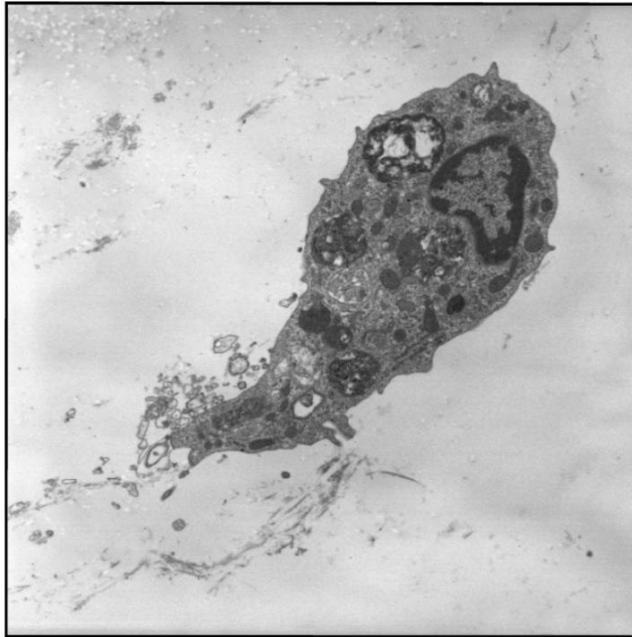


Abbildung 18:
Fibroblast mit zahlreichen intrazytoplasmatischen sowie membrangebundenen Einschlüssen und rauem endoplasmatischen Retikulum. Keine Anzeichen von Polarität erkennbar. (TEM: 6715x)

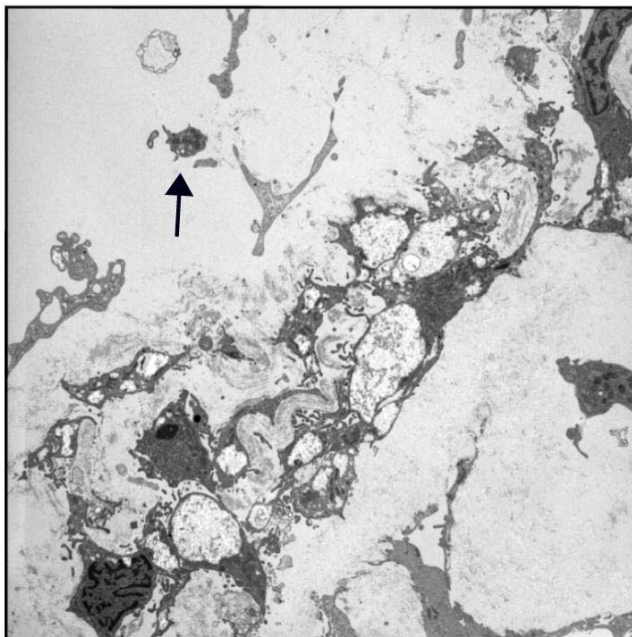


Abbildung 19:
Makrophage (Pfeil), in dieser Untersuchungsreihe eher selten beobachteter Zelltyp. (TEM: 2550x)

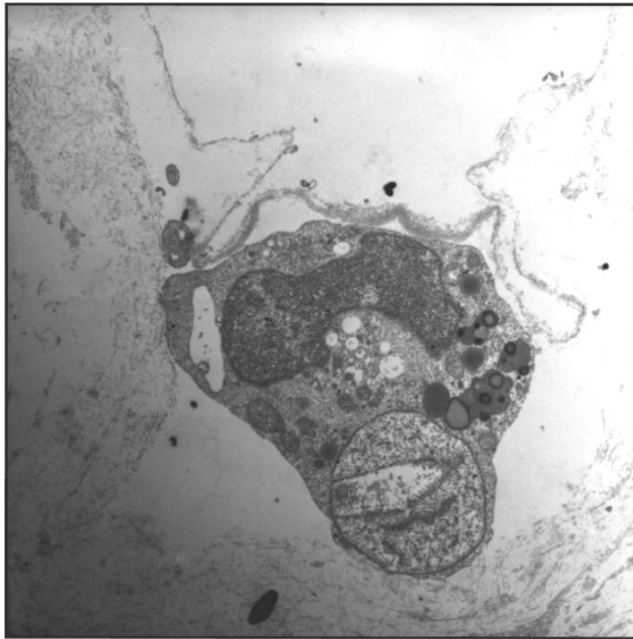


Abbildung 20:
Makrophage: eingebettet in umgebendem Kollagen, zeigt multiple, pleomorphe Einschlüsse in sekundären Lysosomen. (TEM: 4845x)

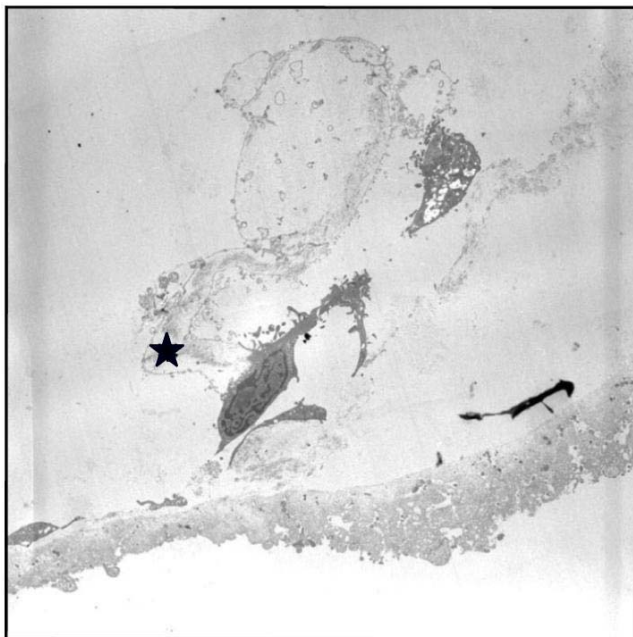


Abbildung 21:
Eine persistierende Anheftung des Glaskörpers an den hinteren Pol definiert das vitreomakuläre Traktionssyndrom: Anheftung eines Glaskörperstrangs (Stern) an einen Myofibroblasten. (TEM: 2550x)

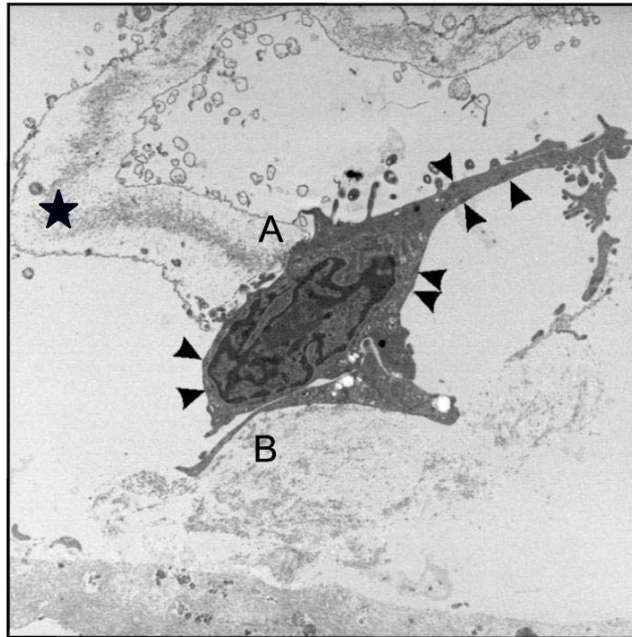


Abbildung 22:
Vergrößerung von Abbildung 21: zentral ein Myofibroblast mit seinen randständigen, zytoplasmatischen Verdichtungen von 5-7 nm Filamenten (Pfeilspitzen) sowie an ihn anheftender Glaskörperstrang (Stern). (TEM: 6715x)

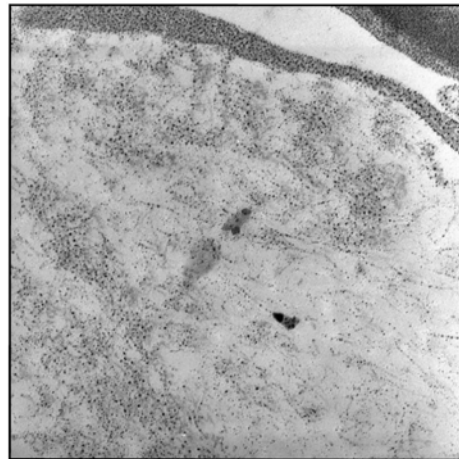
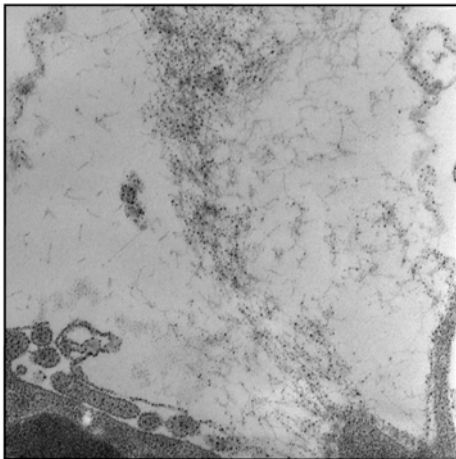


Abbildung 23 und 24:
Details aus dem Bereich „A“ (23) und „B“ (24) von Abbildung 22: Kollagenfibrillen von 10-15 nm Durchmesser, Anzeichen für das Vorhandensein nativen Kollagens sowohl zwischen der Zelle und der ILM als auch auf der zum Glaskörper gewandten Seite der Zelle. (TEM: beide 28000x)

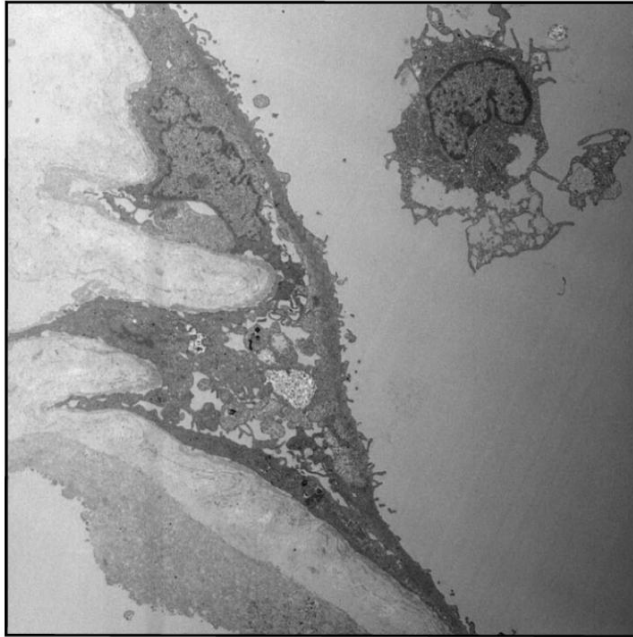


Abbildung 25:
Fibrozelluläre, mehrschichtige Membran auf der vitrealen Seite der Kollagenschicht, die die ILM in ihrem gesamten Verlauf bedeckt. Die Fibrillen bestehen aus nativem Glaskörperkollagen. (TEM: 2550x)

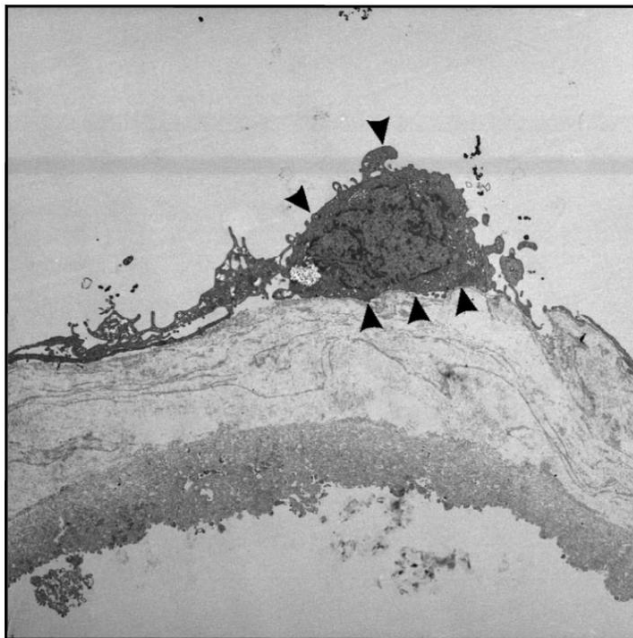


Abbildung 26:
Myofibroblast, der der Kollagenschicht anheftet, mit Aggregaten von 5-7 nm dicken randständigen zytoplasmatischen Filamenten mit fusiformen Verdichtungen (Pfeile). (TEM: 6715x)

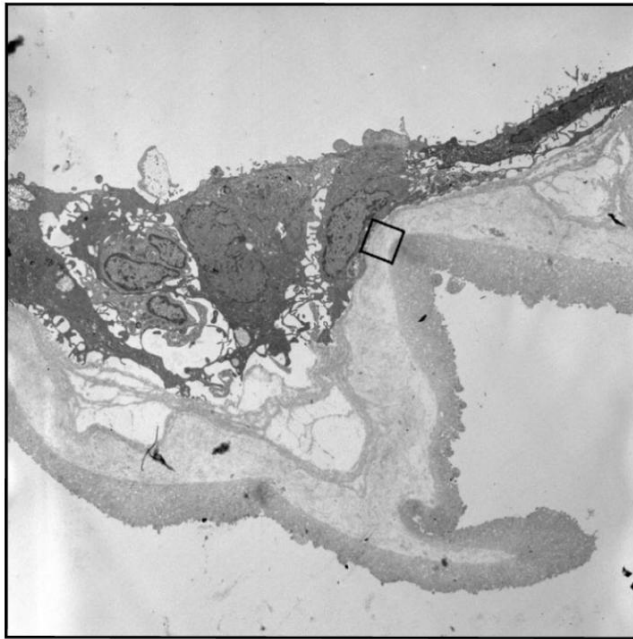


Abbildung 27:
Zelluläre Schicht aus fibrösen Astrozyten und Myofibroblasten sowie ILM mit gefälteltem und kontrahiertem Verlauf. (TEM: 2550x)

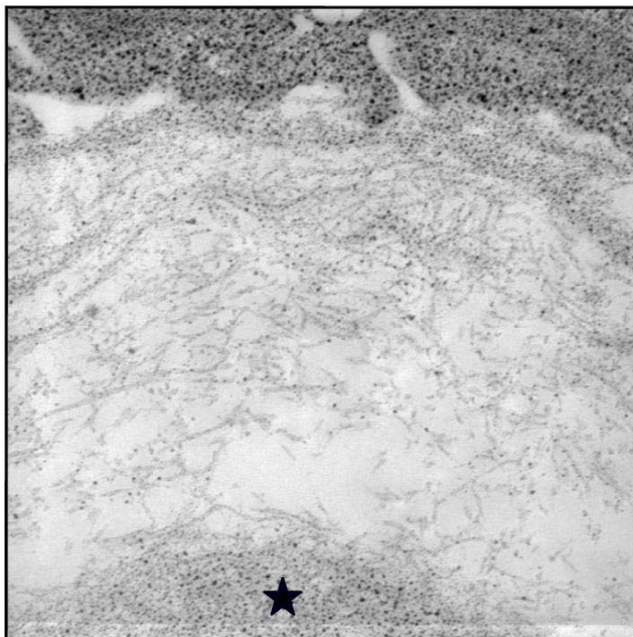


Abbildung 28:
Vergrößerung aus Abbildung 27: ILM (Stern) und am oberen Bildrand der Anschnitt einer Zelle, dazwischen eine Schicht nativen Glaskörperkollagens. (TEM 39100x)

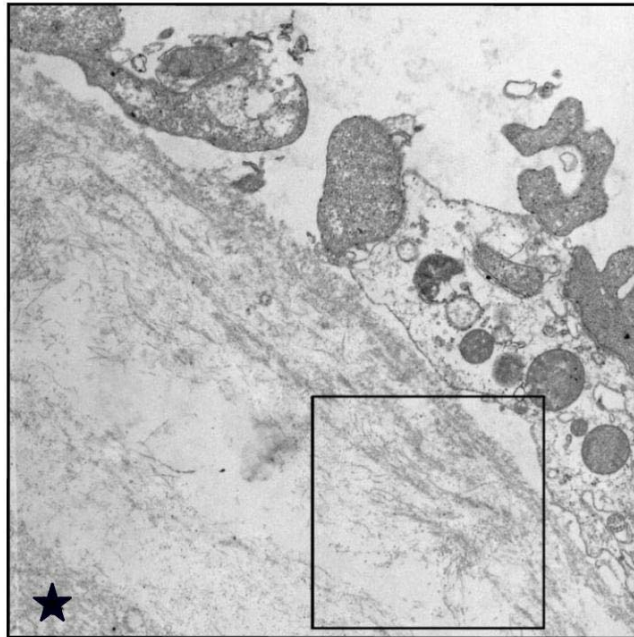


Abbildung 29:
Vergrößerung der Kollagenschicht zwischen der epiretinalen Zellschicht und der ILM (Stern). (TEM: 39100x)

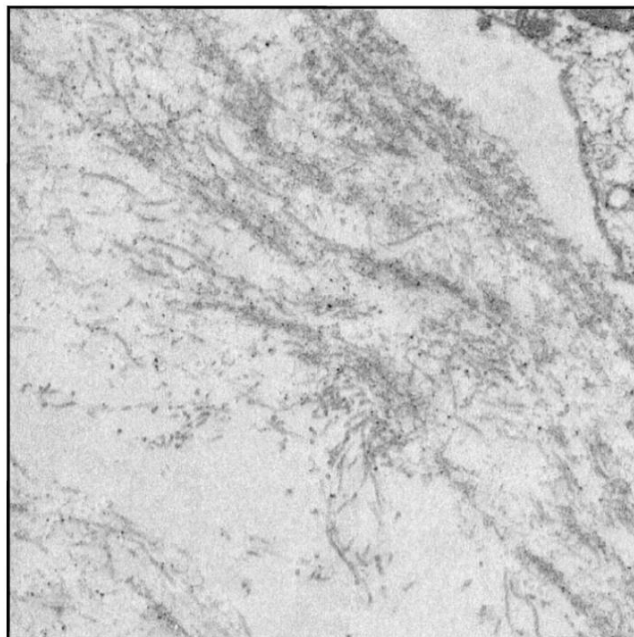


Abbildung 30:
Detailaufnahme der Kollagenschicht aus Abbildung 29: neu entstandenes Kollagen (von links oben nach rechts unten), gelegen zwischen der Schicht aus nativem Kollagen und der epiretinalen Zellschicht. (TEM: 83640x)



Abbildung 31:
Einzelne, der ILM unmittelbar anliegende Zelle. (TEM: 6715x)

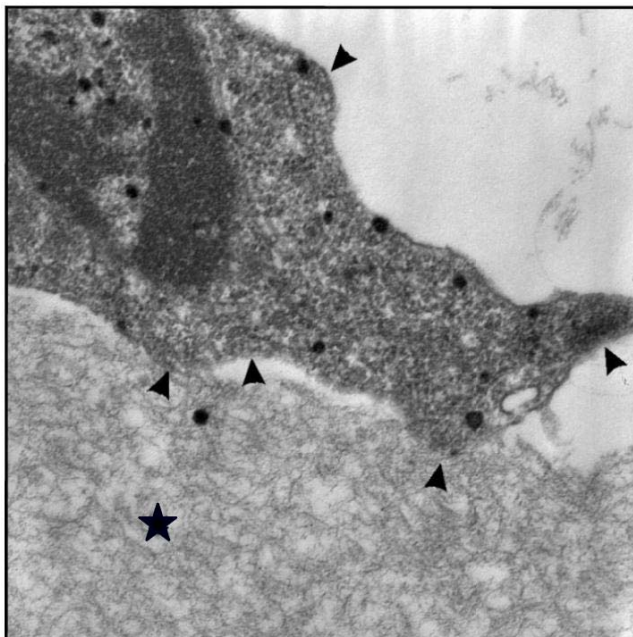


Abbildung 32:
Detail aus Abbildung 31: Zelle mit den für die Myofibroblasten charakteristischen Aggregaten von 5-7 nm dicken, randständigen zytoplasmatischen Filamenten mit fusiformen Verdichtungen (Pfeilspitzen) und ihre enge Lage zur ILM (Stern). (TEM: 39100x)

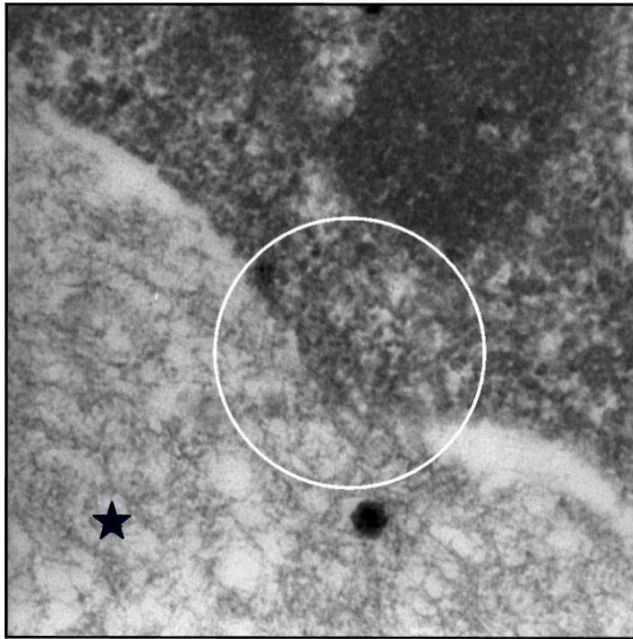


Abbildung 33:
Vergrößerung aus Abbildung 32: zelluläre Anheftung (im Kreis) an die ILM (Stern).
(TEM: 83640x)

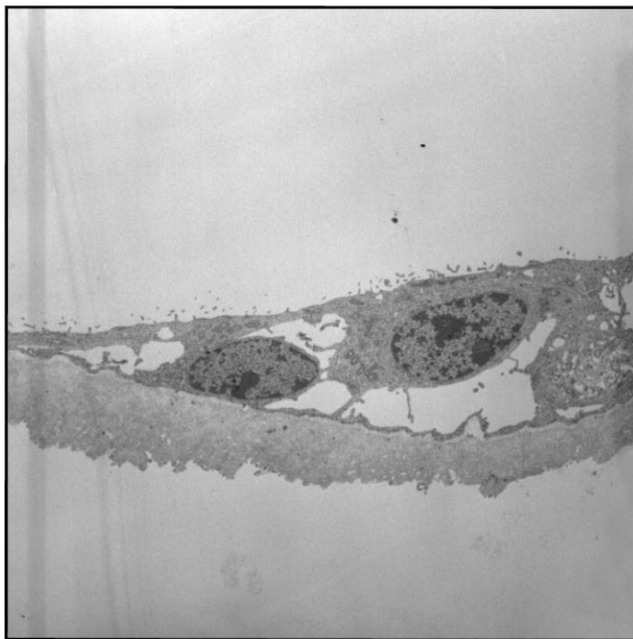


Abbildung 34:
Der ILM im gesamten Verlauf anliegende zelluläre einreihige Zellschicht. (TEM:
2550x)

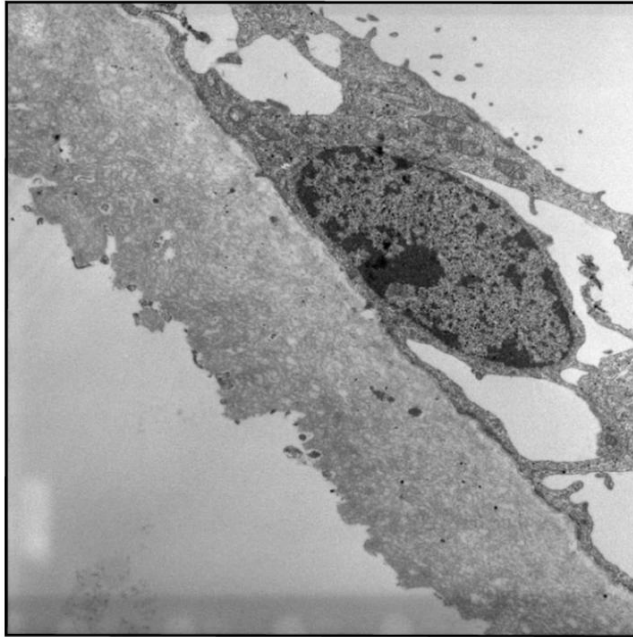


Abbildung 35:
Vergrößerung aus Abbildung 34: kein eingestreutes Kollagen zwischen der Zellschicht und der ILM, entsprechend der einzeln auf der ILM gelegenen Zelle in den Abbildungen 31 bis 33. (TEM: 6715x)

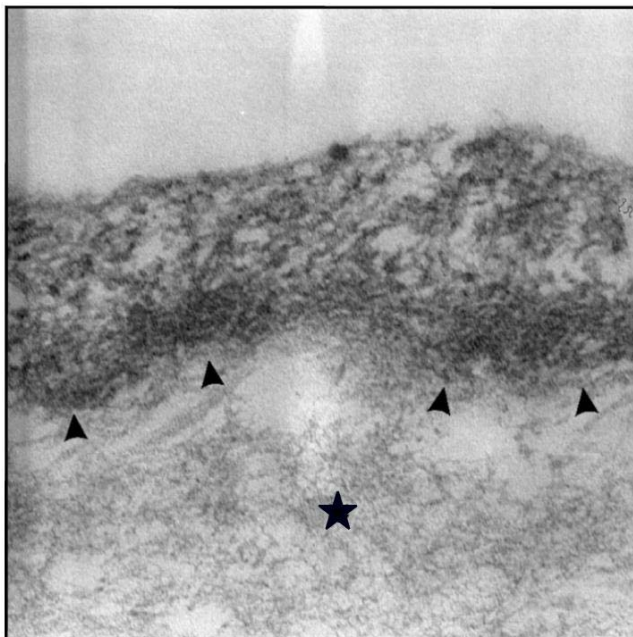


Abbildung 36:
Detail aus Abbildung 35: Zellarm des Myofibroblasten haftet der ILM (Stern) mit seinen Aggregaten von 5-7 nm dicken randständigen zytoplasmatischen Filamenten mit fusiformen Verdichtungen direkt an, ohne dass sich Kollagen dazwischen befindet. (TEM: 83640x)

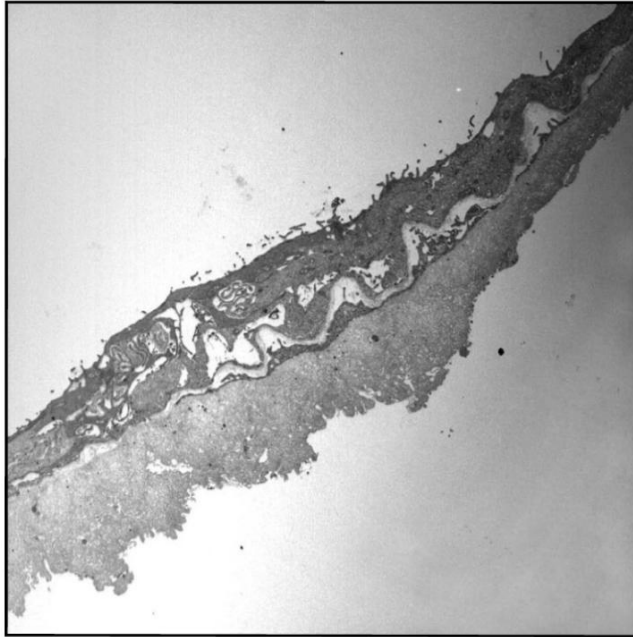


Abbildung 37:
Mehrreihige, der vitrealen ILM-Seite anliegende Zellschicht. ILM mit einem leicht gewellten bzw. gefältelten Eindruck, liegt jedoch nicht in Falten an (vgl. Abbildung 27). (TEM: 2550x)

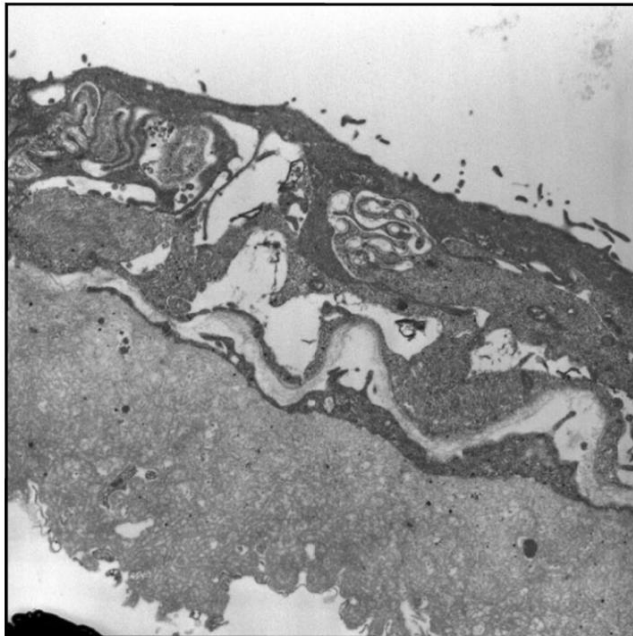


Abbildung 38:
Epiretinales Gewebe in der Vergrößerung aus Abbildung 39 mit einer dreilagigen Strukturierung. (TEM: 6715x)

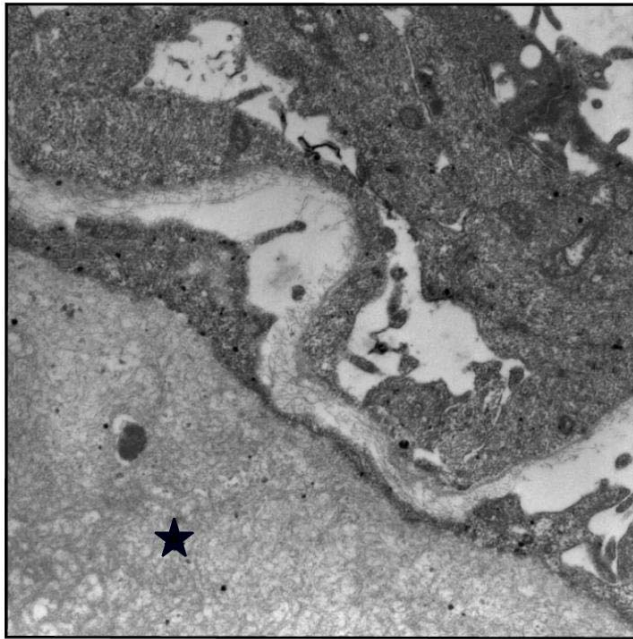


Abbildung 39:
Vergrößerung aus Abbildung 39: eine einreihige Zellschicht unmittelbar auf der ILM (Stern). (TEM: 13175x)

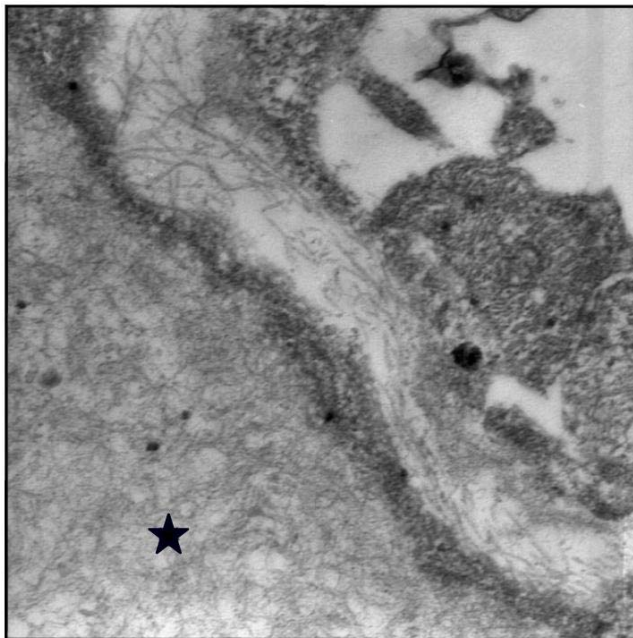


Abbildung 40:
Vergrößerung aus Abbildung 39: neu entstandenes Kollagen zwischen der einreihigen und der mehrreihigen Zellschicht. (TEM: 39100x)

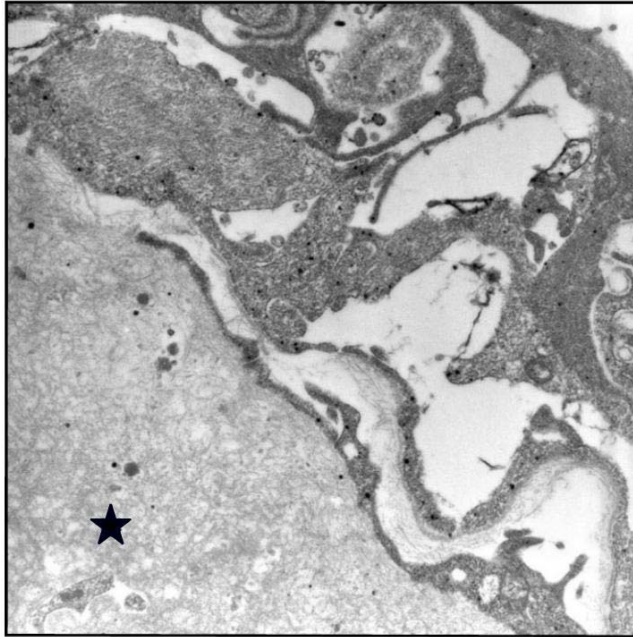


Abbildung 41:
Epiretinales Gewebe aus Myofibroblasten und fibrösen Astrozyten (Stern = ILM).
(TEM: 13175x)

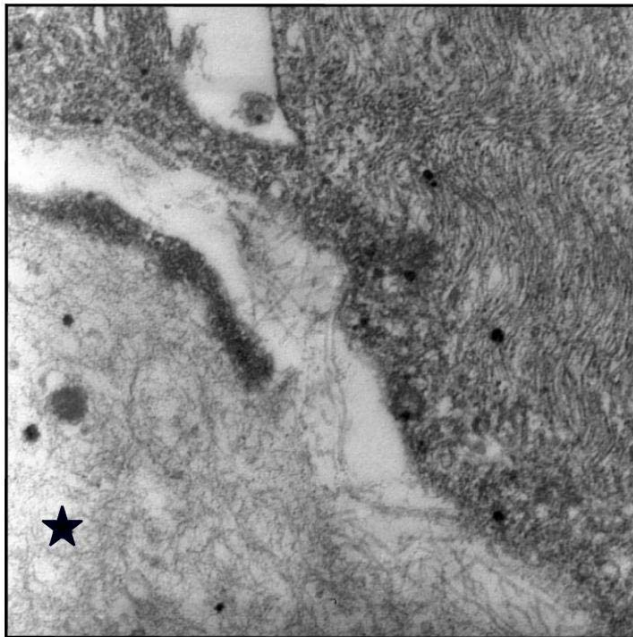


Abbildung 42:
Ein der ILM (Stern) anliegender Zellausläufer mit den für Myofibroblasten typischen randständigen zytoplasmatischen Filamenten mit fusiformen Verdichtungen aufweist. Im Zytoplasma der im rechten Bildteil liegenden Zelle Massen 10 nm dicker Filamente vom intermediären Typ, kennzeichnend für fibröse Astrozyten.
(TEM: 39100x)

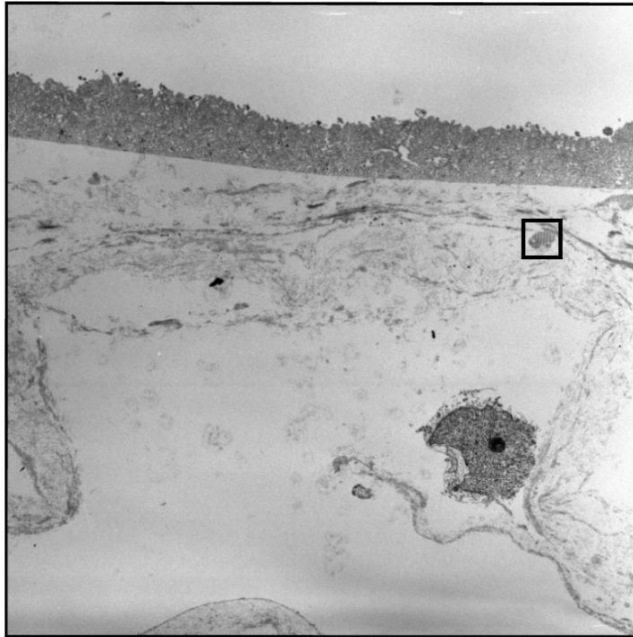


Abbildung 43:
Übersicht mit fibrous-long-spacing-collagen (Kästchen). (TEM: 2550x)

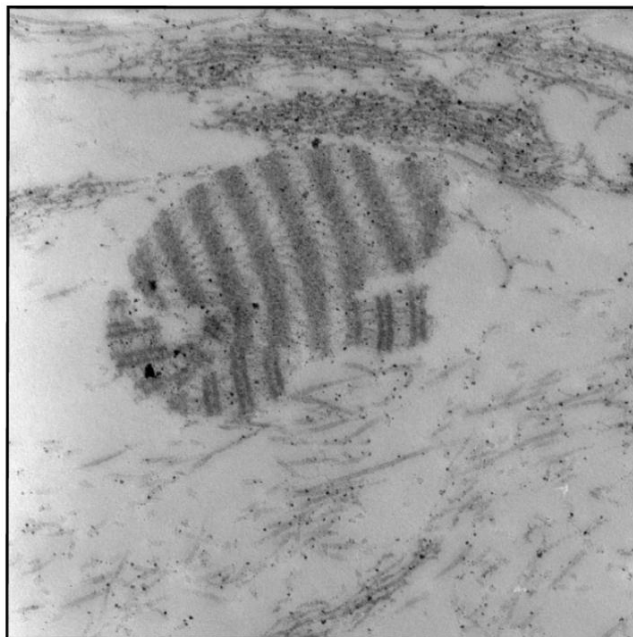


Abbildung 44:
Vergrößerung des fibrous-long-spacing-collagen aus Abbildung 43. (TEM: 39100x)

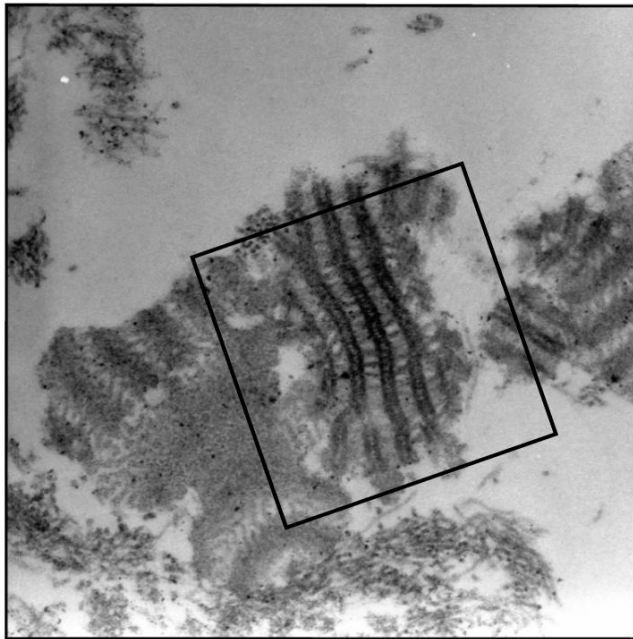


Abbildung 45:
Übersicht mit großen Ansammlungen von fibrous-long-spacing-collagen. (TEM:
39100x)

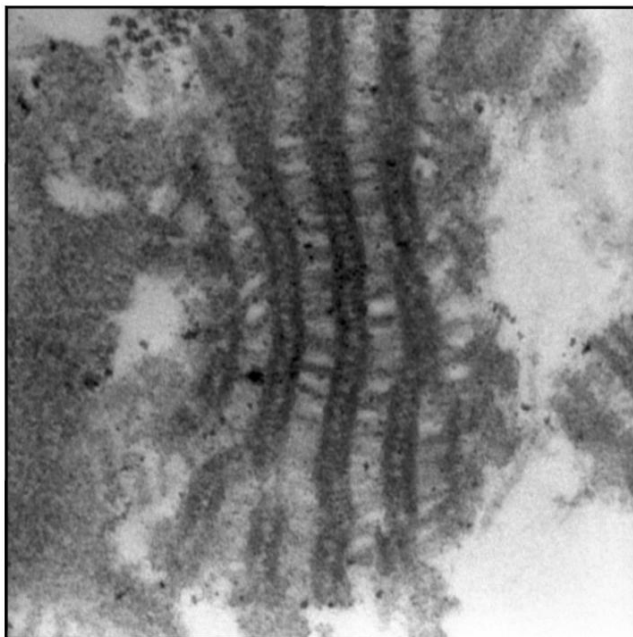


Abbildung 46:
Vergrößerung der obigen Aufnahme: größere Auflösung der Binnenstruktur des
fibrous-long-spacing-collagen. (TEM: 83640x)

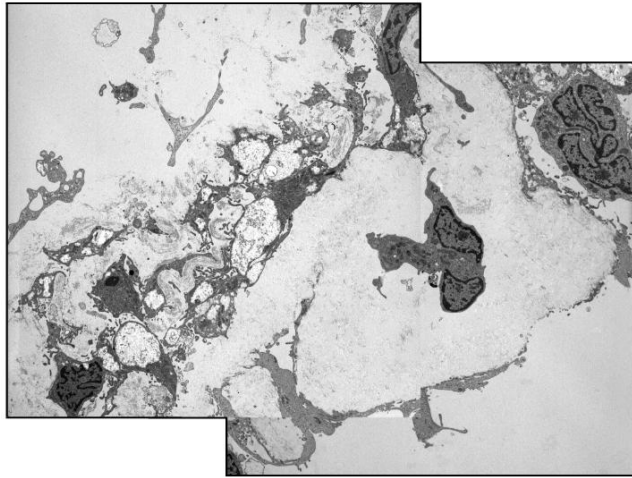


Abbildung 47:
Vitreomakuläres Traktionssyndrom bei persistierender Arteria hyaloidea mit deutlich umfangreicheren Membranaufbau. Das Bild wurde aus zwei gleich großen Bildern computertechnisch zusammengesetzt, anders war das relativ weitläufige Bild nicht abbildbar. Aus diesen Bildern wurden vergrößert die Myofibroblasten in Abbildung 6 und 7. (TEM: 1870x)

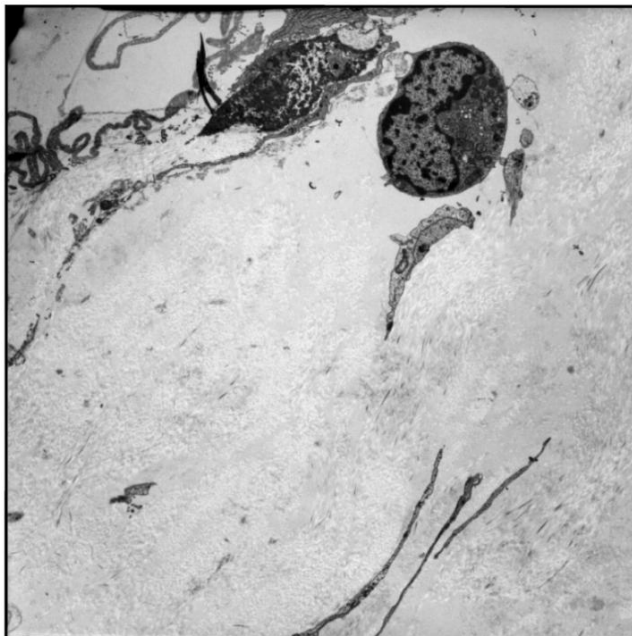


Abbildung 48:
Epiretinales Gewebe bei kongenitalem vitreomakulären Traktionssyndrom: beeindruckend die großen Mengen kollagenen Gewebes. (TEM: 2550x)



Abbildung 49:
Fibroblasten: häufiges Auftreten bei diesem Untertyp des vitreomakulären Traktionssyndromes, hier mit größeren Mengen Kollagen in deren Umgebung. (TEM: 2550x)

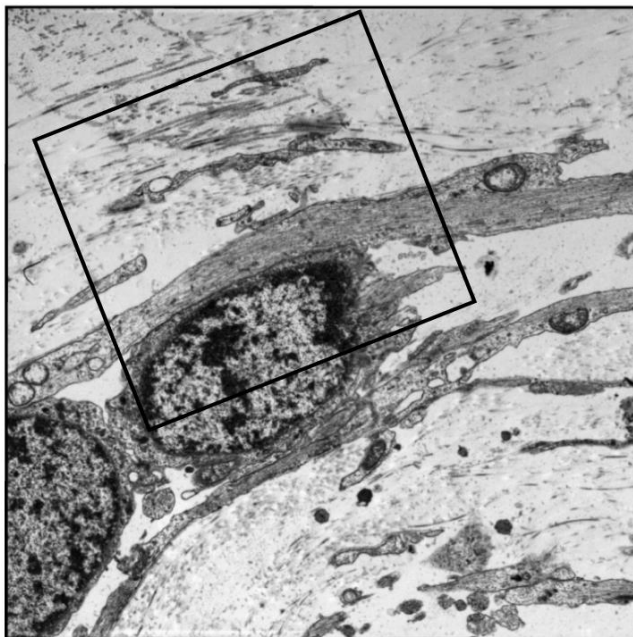


Abbildung 50:
Vergrößerung der Fibroblasten mit dem angrenzenden Kollagenen (aus Abbildung 49). (TEM: 6715x)

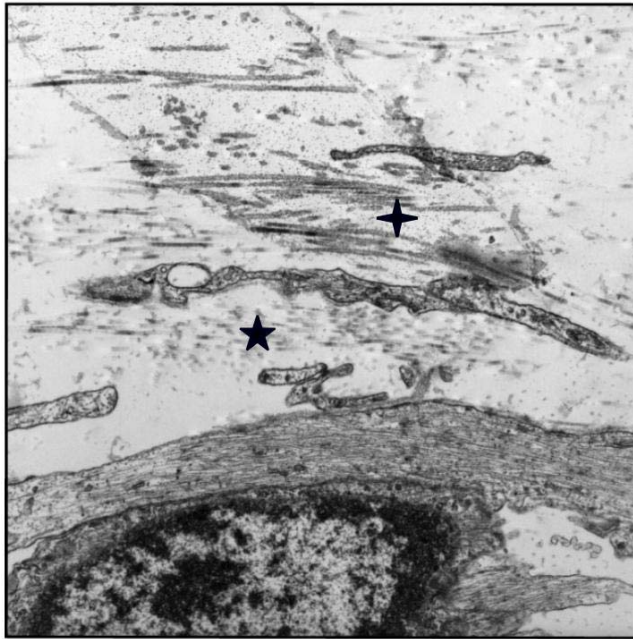


Abbildung 51:
Vergrößerung aus Abbildung 50: längs (Kreuz) sowie quer (Stern) angeschnittene
Kollagenfibrillen mit einem Durchmesser von etwa 25-30 nm. (TEM: 13175x)

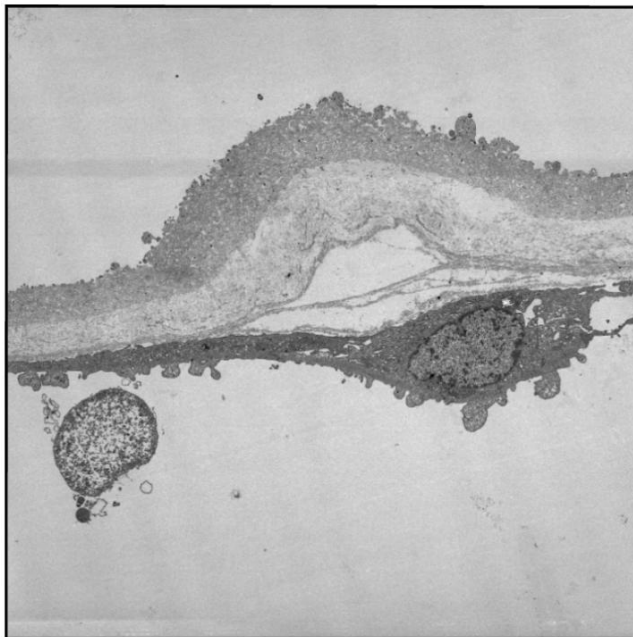


Abbildung 52:
Myofibroblast auf einer Schicht nativen Glaskörperkollagens und ILM (oben).
(TEM: 2550x)

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. AABERG TM, MACHEMER R:
Correlation of naturally occurring detachments with long-term retinal detachment in the owl monkey. *Am. J. Ophthalmol.* 1970 Apr.; 69(4):640-650.
2. ALGVERE P, KOCK E:
Experimental Fibroplasia in the rabbit vitreous. Retinal detachment induced by autologous fibroblasts. *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* 1976 May 26; 199(3):215-222.
3. APPIAH AP, HIROSE T, KADO M:
A review of 324 cases of idiopathic premacular gliosis. *Am. J. Ophthalmol.* 1988; 106:533-535.
4. BELLHORN MB, FRIEDMAN AH, WISE GN, HENKIND P:
Ultrastructure and clinicopathologic correlation of idiopathic preretinal macular fibrosis. *Am. J. Ophthalmol.* 1975; 79:366-373.
5. BOCHATON-PIALLAT ML, KAPETANIOS AD, DONATI G, REDARD M, GABBIANI G, POURNARAS CJ:
TGF-beta 1, TGF-beta receptor II and ED-A fibronectin expression in myofibroblast of vitreoretinopathy. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2000; 41:2336-2342.
6. CLARKSON JG, GREEN WR, MASSOF D:
A histopathologic review of 168 cases of preretinal membrane. *Am. J. Ophthalmol.* 1977; 84:1-17.

7. DAICKER B, GUGGENHEIM R, GYWAT L:
[Findings on retinal surface by scanning electron microscopy. III. Epivascular glial clusters (author's transl)]. *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* 1977 Sep. 30; 204(1):31-37.
8. DAICKER B, GUGGENHEIM R, GYWAT L:
[Findings on retinal surface by scanning electron microscopy. II. Vitreous detachment (author's transl)]. *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* 1977 Sep. 30; 204(1):19-29.
9. DAICKER B, GUGGENHEIM R:
[Studies on fibrous and fibro-glial surface wrinkling retinopathy by scanning electron microscopy (author's transl)]. *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* 1978 Sep. 11; 207(4):229-242.
10. DAICKER B, GUGGENHEIM R:
[Studies on pigmented surface wrinkling retinopathy by scanning electron microscopy (author's transl)]. *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* 1979 Apr. 2; 210(2):109-120.
11. EALES H:
Cases of retinal haemorrhage, associated with epistaxis and constipation. *Birmingham Medical Review*, 1880; 9:262-273.
12. FOOS RY:
Vitreoretinal juncture. Simple epiretinal membranes. *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* 1974; 189:231-250.
13. FOOS RY:
Surface wrinkling retinopathy. In FREEMAN HM, HIROSE T, and SCHEPENS CL (eds.): *Vitreous Surgery and Advances in Fundus*

Diagnosis and Treatment. New York, Appleton-Century-Crofts, 1977, pp. 23-38.

14. FORRESTER JV, GRIERSON I:
The cellular response to blood in the vitreous: an ultrastructural study. *J. Pathol.* 1979 Sep.; 129(1):43-52.
15. FORRESTER JV, GRIERSON I:
Vitreous haemorrhage and vitreal membranes. *Trans. Ophthalmol. Soc. U K* 1980 Apr.; 100(Pt1) :140-150.
16. FUNAHASHI M, OKISAKA S:
[Light- an electron-microscopic study of the preretinal membrane (author's transl)]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1979 Jul. 10; 83(7) :986-997.
17. GABBIANI G, RYAN GB, MAJNE G:
Presence of modified fibroblasts in granulation tissue and their possible role in wound contraction. *Experientia* 1971 May 15; 27(5):549-550.
18. GABBIANI G, HIRSCHL BJ, RYAN GB, STATKOV PR, and MAJNO G:
Granulation tissue as a contractile organ. A study of structure and function. *J. Exp. Med.* 1972; 135:719-734.
19. GALLEMORE RP, JUMPER JM, McCUEN BW, JAFFE GJ, POSTEL EA, TOTH CA:
Diagnosis of vitreoretinal adhesions in macular disease with optical coherence tomography. *Retina* 2000; 20:115-120.

20. GANDORFER A, MESSMER EM, ULBIG MW, KAMPIK A:
Resolution of diabetic macular edema after surgical removal of the posterior hyaloid and the inner limiting membrane. *Retina* 2000; 20:126-133.
21. GANDORFER A, MESSMER EM, ULBIG MW, KAMPIK A:
Indocyanine green selectively stains the internal limiting membrane. *Am. J. Ophthalmol.* 2001; 131:387-388.
22. GANDORFER A, HARITOGLOU C, GASS CA, ULBIG MW, KAMPIK A:
Indocyanine green-assisted peeling of the internal limiting membrane may cause retinal damage. *Am. J. Ophthalmol.* 2001; 132:431-433.
23. GANDORFER A, PUTZ E, WELGE-LUSSEN U, GRUTERICH M, ULBIG MW, KAMPIK A:
Ultrastructure of the vitreoretinal interface following plasmin assisted vitrectomy. *Br. J. Ophthalmol.* 2001; 85:6-10.
24. GANDORFER A, PRIGLINGER S, SCHEBITZ K, RUCKHOFER J, GRABNER G, KAMPIK A:
Vitreoretinal morphology of plasmin-treated eyes [ARVO Abstract No 2273]. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2001 ; 42(4) :422.
25. GANDORFER A, ULBIG MW, KAMPIK A :
Plasmin-assisted vitrectomy eliminates cortical vitreous remnants. *Eye* 2002; 16(1):95-7.
26. GANDORFER A, ROHLEDER M, KAMPIK A:
Epiretinal pathology of vitreomacular traction syndrome. *Br J Ophthalmol.* 2002; 86(8):902-9.

27. GANDORFER A, ROHLEDER M, CHARTERIS DG, LUTHERT PJ, KAMPIK A:
Ultrastructure of vitreomacular traction syndrome associated with persistent hyaloid artery. *Eye* 2004; in press.
28. GASTAUD P, BETIS F, ROUHETTE H, HOFMAN P:
Aspect ultrastructural des membranes épi-maculaires et de la hyaloïde postérieure décollée dans le syndrome de traction vitréo-maculaire. *J. Fr. Ophthalmol.* 2000; 23:587-93.
29. GLOOR BP:
Mitotic activity in the cortical vitreous cells (hyalocytes) after photo-coagulation. *Invest. Ophthalmol.* 1969 Dec.; 8(6):633-646.
30. GREEN WR, KENYON KR, MICHELS RG, GILBERT HD, and de la CRUZ ZC:
Ultrastructure of epiretinal membranes causing macular pucker following retinal reattachment. *Trans. Ophthalmol. Soc. U.K.* 1979; 99:65-77.
31. HAEFLIGER EA, DAICKER BC:
[Retinal surface wrinkling and epiretinal membranes in hemorrhagic secondary glaucoma (author's transl)]. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* 1979 Apr; 174(4):548-56.
32. HARADA T, CHAUVAUD D, POULIQUEN Y:
An electron microscopic study of the epiretinal membrane of human eyes. *Albrecht Von Graefes Arch. Klein. Exp. Ophthalmol.* 1981; 215(4):327-339.
33. HARBOUR JW, SMIDDY WE, FLYNN HWJ, RUBSAMEN PE:
Vitreotomy for diabetic macular edema associated with a thickened

- and taut posterior hyaloid membrane. *Am. J. Ophthalmol.* 1996; 99:753-759.
34. HARITOGLOU C, GASS CA, EHRT O, KRISTIN N, GANDORFER A, KAMPIK A:
Macular changes following macular hole surgery with peeling of the internal limiting membrane. *Am. J. Ophthalmol.* 2001; 132:363-368.
35. Von HELMHOLTZ H:
Über eine neue einfachste Form des Augenspiegels. in: *Archiv für physiologische Augenheilkunde* 1852.
Handbuch der physiologischen Optik – Ergänzt und herausgegeben von A. Gullstrand und J. von Kries. Dritte Auflage. Drei Bände. Hamburg und Leipzig, Verlag von Leopold Voss, 1910.
36. HIROKAWA H, KADO M, YOSHIDA A :
[Role of the vitreous in idiopathic preretinal macular fibrosis indicated by visual acuity in follow-up cases]. *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1990; 94:61-64.
37. HISCOTT PS, GRIERSON I, TROMBETTA CJ, RAHI AH, MARSHALL J, McLEOD D:
Retinal and epiretinal glia - an immunohistochemical study. *Br. J. Ophthalmol.* 1984; 68:698-707.
38. HOGAN MJ, ALVARADO JA, WEDELL JE:
Histology of the human eye. An atlas and textbook. Saunders. Philadelphia, London, Toronto, 1971.
39. Van HORN DL, AABERG TM, MACHEMER R, and FENZL R:
Glial cell proliferation in human retinal detachment with massive pre-retinal proliferation. *Am. J. Ophthalmol.* 1977; 84:383-393.

40. JÄGER E:
Ophthalmologischer Hand-Atlas, Wien 1869.
41. JOHNSON NF, FOULDS WS:
Observations on the retinal pigment epithelium and retinal macrophages in experimental retinal detachment. *Br. J. Ophthalmol.* 1977 Sep.; 61(9):564-572.
42. KAMPIK A, GREEN WR, MICHELS RG, and Nase PK:
Ultrastructural features of progressive idiopathic epiretinal membrane removed by vitreous surgery. *Am. J. Ophthalmol.* 1980; 90:797-809.
43. KAMPIK A:
Epiretinale und vitreale Membranen. Habilitationsschrift, 1981.
44. KAMPIK A, KENYON KR, MICHELS RG, GREEN WR, de la CRUZ ZC:
Epiretinal and vitreous membranes. Comparative study of 56 cases. *Arch. Ophthalmol.* 1981; 99:1445-54.
45. KENYON KR, PEDERSON JE, GREEN WR, and MAUMENEE AE:
Fibroglial proliferation in pars planitis. *Trans. Ophthalmol. Soc. U.K.* 1975; 95:391-397.
46. KENYON KR, MICHELS RG:
Ultrastructure of epiretinal membrane removed by pars plana vitreo-retinal surgery. *Am. J. Ophthalmol.* 1977; 83:815-823.
47. KISHI S, DEMARIA C, SHIMIZU K:
Vitreous cortex remnants at the fovea after spontaneous vitreous detachment. *Int. Ophthalmol.* 1986; 9:253-260.

48. KISHI S, SHIMIZU K:
Clinical manifestations of posterior precortical vitreous pocket in proliferative diabetic retinopathy [see comments]. *Ophthalmology* 1993; 100:225-229.
49. LAQUA H, MACHEMER R:
Clinical-pathological correlation in massive periretinal proliferation. *Am. J. Ophthalmol.* 1975; 80:913-929.
50. LAQUA H, MACHEMER R:
Glial cell proliferation in retinal detachment (massive periretinal proliferation). *Am. J. Ophthalmol.* 1975; 80:602-618.
51. LEBER T:
Die Krankheiten der Netzhaut. in: Graefe-Saemisch: *Handbuch der gesamten Augenheilkunde*, S. 1076, 2. Ausgabe, Leipzig 1916.
52. LEWIS H, ABRAMS GW, BLUMENKRANZ MS, CAMPO RV:
Vitrectomy for diabetic macular traction and edema associated with posterior hyaloidal traction. *Ophthalmology* 1992; 99:753-759.
53. MACHEMER R, LAQUA H:
Pigment epithelium proliferation in retinal detachment (massive periretinal proliferation). *Am. J. Ophthalmol.* 1975; 80:1-23.
54. MACHEMER R:
Massive periretinal proliferation: a logical approach to therapy. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 1977; 75:556-586.
55. MACHEMER R, van HORN D, and AABERG TM:
Pigment epithelial proliferation in human retinal detachment with

- massive periretinal proliferation. *Am. J. Ophthalmol.* 1978; 85:181-191.
56. MARMOR MF:
Retinal and Retinal Pigment Epithelial Physiology. In REGILLO CD, BROWN GC, and FLYNN HW, Jr. (eds.): *Vitreoretinal Disease: The Essentials*. Thieme Medical Publishers, Inc., New York © 1999, Chapter 3, pp. 25-38.
57. McDONALD HR, JOHNSON RN, SCHATZ H:
Surgical results in the vitreomacular traction syndrome. *Ophthalmology* 1994; 101:1397-1402.
58. MELBERG NS, WILLIAMS DF, BALLEWS MW, JAFFE GJ, MEREDITH TA, SNEED SR et al.:
Vitreotomy for vitreomacular traction syndrome with macular detachment. *Retina* 1995; 15:192-197.
59. MESSMER EM, HEIDENKUMMER HP, KAMPIK A:
Ultrastructure of epiretinal membranes associated with macular holes. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1998; 236:248-54.
60. MICHELS RG:
A clinical and histopathologic study of epiretinal membranes affecting the macula and removed by vitreous surgery. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* 1982; 80:580-656.
61. MICHELS RG:
Vitreotomy for macular pucker. *Ophthalmology* 1984; 91:1384-1388.

62. PARK DW, SIPPERLEY JO, SNEED SR, DUGEL PU, JACOBSEN J:
Macular hole surgery with internal-limiting membrane peeling and intravitreal air. *Ophthalmology* 1999; 106:1392-1397.
63. PEDERSON JE, KENYON KR, GREEN WR, MAUMENEE AE: Pathology of pars planitis. *Am. J. Ophthalmol.* 1978 Dec; 86(6):762-774.
64. POURNARAS CJ, DONATI G, KAPETANIOS AD, REDARD M, BOCHATAY-PIALLAT ML, GABBIANI G:
[Myofibroblasts and retinal fibrovascular membranes]. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* 1998; 212:356-358.
65. RENTSCH FJ:
The ultrastructure of preretinal macular fibrosis. *Albrecht Von Graefes Arch. Klein. Exp. Ophthalmol.* 1977; 203:321-337.
66. RENTSCH FJ:
Der menschliche Glaskörper. Feinstruktur und Grenzbeziehungen unter normalen und pathologischen Bedingungen. *Nova acta Leopoldina N. F.* 50, 1979; 235:43-55.
67. RENTSCH FJ, LIESENHOFF H:
Wundheilungsvorgänge an der vitreoretinalen Grenzfläche. In NEUMANN GOH, GLOOR B (eds.): *Wundheilung des Auges und ihre Komplikationen*, © J.F. Bergmann Verlag, München, 1980, S. 399-402.
68. RENTSCH FJ:
Electron Microscopical Aspects of Acid Compartments of the Ground Substance and of Collagen in Different Cases of Intravitreal Tissue

Proliferation. In *Dev. Ophthalmol.*, vol. 2, pp. 385-395, Karger, Basel, 1981.

69. ROTH AM, FOOS RY:
Surface wrinkling retinopathy in eyes enucleated at autopsy. *Trans. Am Acad. Ophthalmol. Otolaryngol.* 1971; 75(5):1047-1058.
70. RUDOLPH R, GUBER S, SUZUKI M, WOODWARD M:
The life cycle of the myofibroblast. *Surg. Gynecol. Obstet.* 1977 Sep.; 145(3):389-394.
71. SCHWARTZ SD, ALEXANDER R, HISCOTT P, GREGOR CJ:
Recognition of vitreoschisis in proliferative diabetic retinopathy. A useful landmark in vitrectomy for diabetic traction retinal detachment [see comments]. *Ophthalmology* 1996; 103:323-328.
72. SHINODA K, HIRAKATA A, HIDA T, YAMAGUCHI Y, FUKUDA M, MAEKAWA S et al.:
Ultrastructural and immunohistochemical findings in five patients with vitreomacular traction syndrome. *Retina* 2000; 20:289-93.
73. SMIDDY WE, GREEN WR, MICHELS RG, de la CRUZ ZC:
Ultrastructural studies of vitreomacular traction syndrome. *A. J. Ophthalmol.* 1989; 107:177-185.
74. SMIDDY WE, MAGUIRE AM, GREEN WR, MICHELS RG, de la CRUZ ZC, ENGER C et al.:
Idiopathic epiretinal membranes. Ultrastructural characteristics and clinicopathologic correlation. *Ophthalmology* 1989; 96:811-820.

75. SMIDDY WE, MICHELS RG, GREEN WR:
Morphology pathology and surgery of idiopathic vitreoretinal macular disorders. A review. *Retina* 1990; 10:288-96.
76. SMITH RS, van HEUVEN WA, STREETEN B:
Vitreous membranes. A light and electron microscopical study. *Arch. Ophthalmol.* 1976 Sep.; 94(9):1556-1560.
77. SUGITA G, TANO Y, MACHEMER R, ABRAMS G, CLAFLIN A, FIORENTINO G:
Intravitreal autotransplantation of fibroblasts. *Am. J. Ophthalmol.* 1980 Jan; 89(1):121-130.
78. TRESE MT, SPITZNAS M, FOOS RY, HALL MO:
Experimental tractional retinal detachment in rabbits. Clinical picture and histopathologic features. *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.* 1980; 214(4):213-222.
79. WOLTER JR:
Glia of the human retina. *Am. J. Ophthalmol.* 1959; 48:370-393.
80. YOOH HS, BROOKS HL, Jr., CAPONE A, Jr., L'HERNAULT NL, GROSSNIKLAUS HE:
Ultrastructural features of tissue removed during idiopathic macular hole surgery. *Am. J. Ophthalmol.* 1996; 122:67-75.

ὼδα οὐδὲν εἰδώς·

(Σωκράτης)

Herrn Professor Dr. med. A. Kampik bin ich für die Überlassung des Themas sowie für die Berichterstattung zu großem Dank verpflichtet.

Besonders herzlich danke ich Herrn Privatdozent Dr. med. A. Gandorfer: in seiner souveränen Art hat er die Untersuchungen fachlich soigiert begleitet und organisatorisch umsichtig unterstützt.

Mit hervorragend aufgearbeiteten Ultradünnschnitten hat Frau M. Volkholz dieser Arbeit eine hochwertige Basis verliehen, ihr sage ich dafür großen Dank.

LEBENS LAUF:

- 1977: Am 19. April geboren in München als zweites Kind des Studiendirektors Georg Rohleder und der Rechtsanwältin Cornelia Eugenie Maria Rohleder, geb. Dittmann, und als Bruder von Georg Rohleder, Vorstandsassistent, und Katharina Rohleder, in Ausbildung zur Erzieherin
- 1983: Einschulung in die Grundschule Haslach, Traunstein
- 1987: Übertritt an das Chiemgau-Gymnasium in Traunstein, humanistischer Zweig
- 1996: Abitur, Beginn des Ableistens des Grundwehrdienstes bei der 2. Flugabwehrraketengruppe des Geschwaders 33 der Luftwaffe in Bad Aibling
- 1999: Ärztliche Vorprüfung
- 2000: Erstes Staatsexamen
- 2002: Zweites Staatsexamen
- 2003: Drittes Staatsexamen
- 2004: Tätigkeit als Arzt im Praktikum an der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität in München