

Aus der

Augenklinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. Anselm Kampik

Konfokale in-vivo Mikroskopie von Sickerkissen nach Trabekulektomie

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin

an der Medizinischen Fakultät der

Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Daniel Zapp

aus

München

2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. Anselm Kampik
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Arthur Mueller Priv. Doz. Dr. Aurelia Peraud
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	PD Dr. Elisabeth Messmer
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR
Tag der mündlichen Prüfung:	02.07.2009

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AOD	akusto-optischer Deflektor
BVA	Berufsverband der Augenärzte Deutschlands e.V.
bzw.	beziehungsweise
CCD	Charge-coupled Device
CPC	Zyklophotokoagulation
CIGTS	Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DOG	Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft
et al.	et aliae/alii
HDS	Halbdurchlässiger Spiegel
HRT II	Heidelberg Retina Tomograph II
LSCM	Laser-scanning confocal microscope
Max.	Maximum
Min.	Minimum
Mon.	Monate
OCT	Optische Kohärenztomographie
OHT	Okuläre Hypertension
OP	Operation
POWG	Primäres Offenwinkel-Glaukom
RCM	Rostock Cornea Module
s.	siehe
Tab.	Tabelle
TGF-beta2	Transforming Growth Factor-beta 2
u.ä.	und ähnlichen
vgl.	vergleiche
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Grundlagen	3
2.1	Theorie und Entwicklung der konfokalen Mikroskopie	3
2.1.1	Optische Grundlagen	3
2.1.2	Der konfokale Ansatz	6
2.1.3	Selektive Punktbeleuchtung	8
2.1.4	Virtuelle Dünnschichtsnitte	9
2.1.5	Auflösung versus Lichtausbeute	10
2.1.6	Rekonstruktion eines Gesamtbildes aus konfokalen Einzelbildern	10
2.1.7	Stage-Scanning vs. Beam-Scanning Systeme	11
2.1.8	Beam-Scanning Lösungen	12
2.1.9	Multi-Beam-Scanning mithilfe von Nipkow-Disks	13
2.1.10	Konfokale Mikroskopie in der Augenheilkunde. Das Spalt-basierte konfokale Mikroskop	15
2.1.11	Das Laser-Scanning konfokale Mikroskop (LSCM)	16
2.1.12	Strahlführung in modernen Laser-Scanning Systemen	17
2.2	Grundlagen der Trabekulektomie	19
2.2.1	Medikamentöse vs. chirurgische Therapie	21
2.2.2	Bedeutung des postoperativen Monitorings	22
2.2.3	Etablierte Bewertungssysteme für Sickerkissen und ihre Limitationen	23
2.2.4	Das System von Picht und Grehn	24
2.2.5	Der Bedarf an objektiven diagnostischen Methoden	25

2.2.6	Das konfokale Mikroskop für Diagnostik auf Zellebene	26
2.2.7	Der verwendete Untersuchungsansatz	27
3	Material und Methoden	28
3.1	Eckdaten des konfokalen Mikroskops	28
3.2	Untersuchungsablauf	31
3.3	Erhobene Patientendaten und Zusammensetzung des Patientenguts	34
3.4	Verwendete Analyse-Software und Methodik	36
3.5	Analyse der konfokalen Mikrozysten	39
3.6	Analyse der konfokalen Gefäße	42
4	Ergebnisse	44
4.1	Generelle Analyse des Patientenguts und der erhobenen Daten	44
4.2	Analyse der drucksenkenden Funktion der untersuchten Sickerkissen	48
4.3	Statistische Korrelationen der Spaltlampen-Befunde	49
4.4	Epitheliale konfokale Befunde und statistische Korrelationen mit der Funktion des Sickerkissens	50
4.5	Stromale konfokale Befunde und statistische Korrelationen mit der Funktion des Sickerkissens	53
4.6	Gefundene konfokale Gefäßstrukturen und statistische Korrelationen mit der Funktion des Sickerkissens	59
4.7	Konfokale Befunde der postoperativen Entzündungsreaktion und zeitliche Auswertung	62
5	Diskussion	65
6	Zusammenfassung	71
7	Bibliografie	73
8	Anhang	80

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Ein Lichtpunkt unter Berücksichtigung der Beugung an der Apertur.	4
Abb. 2: Schema der Ausfilterung von Punkten benachbarter Ebenen bei einem konfokalen Blendensystem.	6
Abb. 3: Selektive Punktbeleuchtung der Fokusebene.	8
Abb. 4: Übersicht über die verschiedenen konfokalen Ansätze.	12
Abb. 5: Weiterentwickeltes System mit zwei kombinierten Nipkow-Disks.	14
Abb. 6: Schematischer Aufbau eines Laser-Scanning konfokalen Mikroskops.	17
Abb. 7: Die beiden gebräuchlichsten Scansysteme heutiger LSCM.	18
Abb. 8: Schematische Darstellung eines Auges nach Trabekulektomie.	19
Abb. 9: Der Heidelberg Retina Tomograph HRT II mit Rostock Cornea Module.	29
Abb. 10: Rostock Cornea Module mit schwenkbarer CCD-Kamera.	30
Abb. 11: Sickerkissenphotographie im Abblick.	33
Abb. 12: Gefundene Glaukomtypen im Patientengut mit ihren Häufigkeiten.	35
Abb. 13: Voroperationen im Patientengut mit ihren Häufigkeiten.	35
Abb. 14: Flash-Programm: Erfassung der Patientendaten.	37
Abb. 15: Flash-Programm: Zusammenfassung der erhobenen Daten und Export.	38
Abb. 16: Markierte epitheliale Mikrozysten.	40
Abb. 17: Markierte Stroma-Areale.	41
Abb. 18: Beispiele für die Einteilung des Gewundenheitsgrades.	43
Abb. 19: Spaltlampenphotographie eines Sickerkissens von schlechter Funktion.	43
Abb. 20: Ophthalmologische Begleiterkrankungen mit ihren Häufigkeiten.	46
Abb. 21: Epitheliale Mikrozysten.	50
Abb. 22: Epitheliale Mikrozysten, gekapselt und mit amorphem Material.	51

Abb. 23: Mutmaßliche Becherzelle.	52
Abb. 24: Die 4 typischen Stroma-Erscheinungsbilder.	54
Abb. 25: Stromale Strukturen nach einer Trabekulektomie mit Mitomycin C.	56
Abb. 26: Gekapselte und ungekapselte Stroma-Areale.	57
Abb. 27: Blutgefäß mit Erythrozyten und patrouillierender Rundzelle.	59
Abb. 28: Lymphatische oder komprimierte venöse Gefäßstrukturen.	60
Abb. 29: Epitheliale Mikrozysten, gefüllt mit Entzündungszellen.	63
Abb. 30: Entzündungszellen im Stroma.	64

Alle Abbildungen wurden - so im Text nicht explizit anders angegeben - mithilfe des Programms Adobe Photoshop, Adobe Systems vom Autor entworfen. Die konfokalen Bilder und Fotografien sind Eigentum der LMU Augenklinik München, die Rechte an den übrigen Bildern behält sich der Autor gegenüber Dritten vor.

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Standardisierte Sickerkissenbeurteilung nach Picht und Grehn	25
Tab. 2: Beurteilungskriterien für den Grad und die Art der Vaskularisation	42
Tab. 3: Alter, Visus und Pachymetrie am Untersuchungstag	44
Tab. 4: Gefundene Glaukomtypen und ihre Häufigkeiten im Patientengut	45
Tab. 5: Zeitintervall zwischen Operation und Untersuchung	46
Tab. 6: Postoperative Interventionen mit Häufigkeiten und jeweiliger Anzahl	47
Tab. 7: Funktionsgruppen mit den Zeitintervallen seit OP	48
Tab. 8: Spaltlampenbefunde mit ihrer Korrelation zur ermittelten Sickerkissen-Funktion	49
Tab. 9: Epitheliale Mikrozysten und Dicke der Basalmembran in Korrelation mit der Funktion	51
Tab. 10: Erscheinungsbild des Stromas in Korrelation mit der Funktion	55
Tab. 11: Stromale Zystentypen und die jeweilige Korrelation mit der Sickerkissen-Funktion	58
Tab. 12: Korrelation der Gefäßanzahl mit der Funktion des Sickerkissens	61
Tab. 13: Korrelation der Gefäßgewundenheit mit der Funktion	62

1 Einleitung

Das Glaukom stellt neben der altersbedingten Makuladegeneration (AMD) und der diabetischen Retinopathie eine der häufigsten Erblindungsursachen in den Industrienationen dar. In Deutschland ist das Glaukom neben der AMD der zweithäufigste Grund für den Bezug von Blindengeld¹⁰.

Der Berufsverband der Augenärzte Deutschlands (BVA) und die Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft (DOG) führen in ihrer gemeinsamen Leitlinie 15a eine gemeinsame Prävalenz von 4,84% für das Primäre Offenwinkelglaukom (POWG) und die okuläre Hypertension (OHT) auf¹⁰. Legt man dem die letzten Bevölkerungswerte des statistischen Bundesamtes aus dem Jahr 2006 zugrunde, so erhält man allein für Deutschland in der Bevölkerungsgruppe der über 45-Jährigen eine Gesamtprävalenz von rund 1,8 Millionen Betroffenen.

Dabei kann durch eine Behandlung den fatalen Folgen durchaus entgegengewirkt werden. So senkt eine korrekte Therapie im Falle einer okulären Hypertension die Konversionsrate zum Glaukom um mehr als die Hälfte⁴³. Bei bereits aufgetretenem Glaukom vergehen ohne Therapie bisweilen nur wenige Jahre bis zur Erblindung, unter Therapie kann das Sehvermögen jedoch noch Jahrzehnte- bis möglicherweise lebenslang erhalten werden⁴².

Leider kann trotz einer optimalen Therapie eine Erblindung nicht immer mit endgültiger Konsequenz vermieden werden. Dem behandelnden Arzt steht heute jedoch ein vielfältiges Therapiespektrum, sowohl auf medikamentöser als auch operativer Seite zur Verfügung. Insbesondere auf medikamentöser Seite konnten die Nebenwirkungen durch den Einsatz neuer Wirkstoffe zurückgedrängt und die Ausweichmöglichkeiten im Falle von Unverträglichkeiten erweitert werden.

Es gibt jedoch Fälle, in denen der medikamentösen Therapie Grenzen gesetzt sind. Diese können einerseits genereller Natur sein, wie beispielsweise die geringere Aussicht auf Erfolg einer medikamentösen Therapie beim Neovaskularisationsglaukom, andererseits können auch individuelle Faktoren, wie die unzureichende Wirksamkeit selbst einer Maximaltherapie oder aber eine fehlende Compliance des Patienten in der medikamentösen Therapie vorliegen.

In beiden Fällen kann ein operatives Vorgehen zufriedenstellende Resultate erreichen. Wichtig ist hierbei, wie generell bei allen operativen Methoden, eine normale postoperative Entwicklung. Insbesondere in der Glaukomchirurgie muss hierzu eine Gratwanderung zwischen dem gewünschten regulären Heilungsverlauf und der unerwünschten, da Erfolg limitierenden, Vernarbung beschritten werden.

Diesem Umstand wird bisher mit engmaschigen postoperativen Kontrollen und standardisierten Beurteilungssystemen Rechnung getragen. Dennoch kann eine überschießende Vernarbung nicht immer rechtzeitig erkannt werden.

Die konfokale in-vivo Mikroskopie schien aufgrund ihrer raschen, reproduzierbaren und nichtinvasiven Untersuchungsmethode bei dem zugleich hohen Informationsgehalt ihrer Bilder gut geeignet, die bewährten Untersuchungstechniken zu ergänzen und zu erweitern. Daher sollte die Eignung der konfokalen in-vivo Mikroskopie für die Beurteilung der Funktion und Morphologie von Sickerkissen nach Trabekulektomie überprüft, und ein qualitativer Vergleich mit den etablierten Methoden gezogen werden.

2 Grundlagen

2.1 Theorie und Entwicklung der konfokalen Mikroskopie

Das Grundkonzept der konfokalen Mikroskopie stammt ursprünglich von Marvin Minsky, welcher seinen Prototypen um 1955 entwickelte und sich seine Idee 1957 patentieren ließ. Minsky versuchte zu dieser Zeit als Student der Harvard University neuronale Netzwerke in ungefärbtem Gehirngewebe abzubilden und suchte nach einer innovativen Methode, um biologische Ereignisse in-vivo verfolgen zu können.

Sämtliche konfokale Mikroskope basieren bis heute auf den grundsätzlichen physikalischen Überlegungen, die Minsky bereits damals in seinen Prototypen einfließen ließ⁶⁹.

2.1.1 Optische Grundlagen

Wird ein Lichtpunkt durch ein Linsensystem abgebildet, entsteht aufgrund des Wellencharakters des Lichts automatisch ein Beugungseffekt.

Das theoretisch beliebig scharf abgegrenzte Abbild eines Punktes wird somit in der Realität zu einem sogenannten Airy-Scheibchen verbreitert und erhält kreisförmige Beugeartefakte, welche sich mit den restlichen Bildinformationen, insbesondere denen benachbarter Punkte überlagern, die Qualität des Bildes mindern und damit die Auflösung begrenzen^{39,44}.

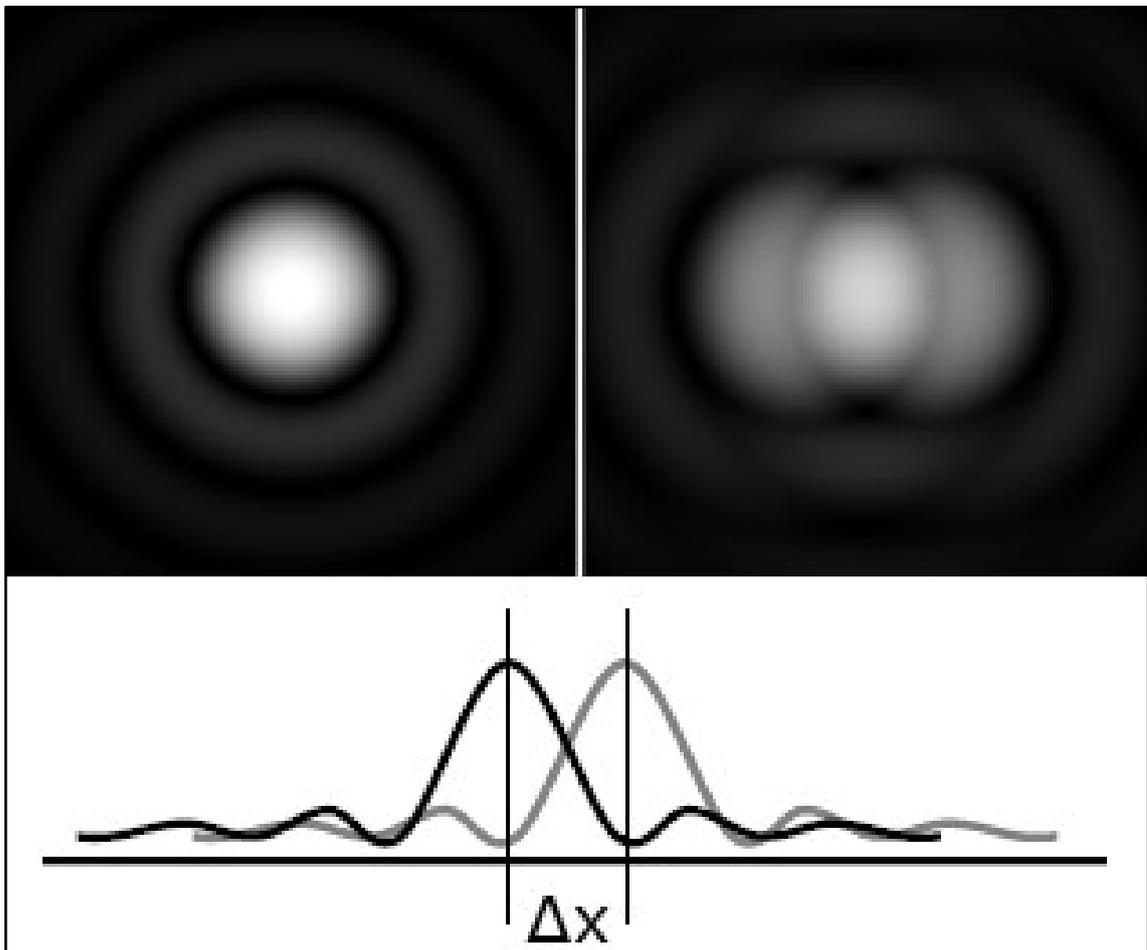


Abb. 1: Ein Lichtpunkt unter Berücksichtigung der Beugung an der Apertur (oben links). Um in der Praxis zwei Punkte sicher voneinander trennen zu können (oben rechts), müssen diese daher mindestens um Δx versetzt sein (unten).

So hat sich in der Praxis der Mikroskopie das sogenannte Rayleigh Kriterium etabliert.

Dieses beschreibt, dass zwei nebeneinander liegende Punkte erst dann als zwei separate Signale erkannt werden können, wenn beide mindestens soweit voneinander entfernt sind, dass das Maximum des einen Signals auf das erste Minimum des Nachbarn fällt (s. Abb. 1).

Bei einer so definierten Auflösung gilt für den zur Unterscheidung minimal nötigen lateralen Versatz der beiden Punkte voneinander die Gleichung:

$$\Delta x_{\text{lateral}} = 0,61 \times \frac{\text{Wellenlänge}}{\text{Numerische Apertur}}$$

Die maximale Auflösung eines Mikroskops bestimmt sich somit aus der numerischen Apertur des verwendeten Objektivs und der Wellenlänge der verwendeten Beleuchtung.

Bei der Wahl eines Objektivs mit maximal verfügbarer (und sinnvoller) Apertur kann eine weitere Steigerung der Auflösung daher nur über die Verwendung von Licht einer noch kürzeren Wellenlänge erreicht werden.

Da physikalisch mit sinkender Wellenlänge jedoch immer höhere Energien verbunden sind, ist der Untersuchung lebenden Gewebes mit immer kurzwelligerem Licht durch den hervorgerufenen phototoxischen Schaden eine natürliche Grenze gesetzt. Zudem wird kurzwelligeres Licht stärker gestreut, was die maximal mögliche Eindringtiefe verkürzt und somit die Beleuchtung in der Tiefe vermindert.

Eine möglichst hohe numerische Apertur bietet zwar eine maximale Auflösung, diese wird allerdings durch ein kleineres Beobachtungsfeld und wiederum eine eingeschränkte Arbeitsdistanz in die Tiefe erkaufte.

2.1.2 Der konfokale Ansatz

Da ihm die Qualität der Objektive und die verfügbaren Lichtquellen seiner Zeit von Außen vorgegeben waren, stand Minsky vor dem Problem, dass er eine Möglichkeit finden musste, eine größere Detailschärfe zu schaffen, ohne dass er die für die Auflösung bestimmenden Faktoren primär hätte ändern können. Zudem sollte sich die Methode für die angestrebten in-vivo Untersuchungen eignen, also ohne Gewebedünnschnitte und histologische Anfärbung durchführbar sein.

Die revolutionäre Idee Minskys war nun, Punktloch-Blenden in den Lichtweg seines Mikroskops einzubringen. Wird die Öffnung der Blenden dabei passend gewählt, kann ein Großteil der unerwünschten Störstrahlung aus angrenzenden Gebieten gefiltert werden (s. Abb. 2).

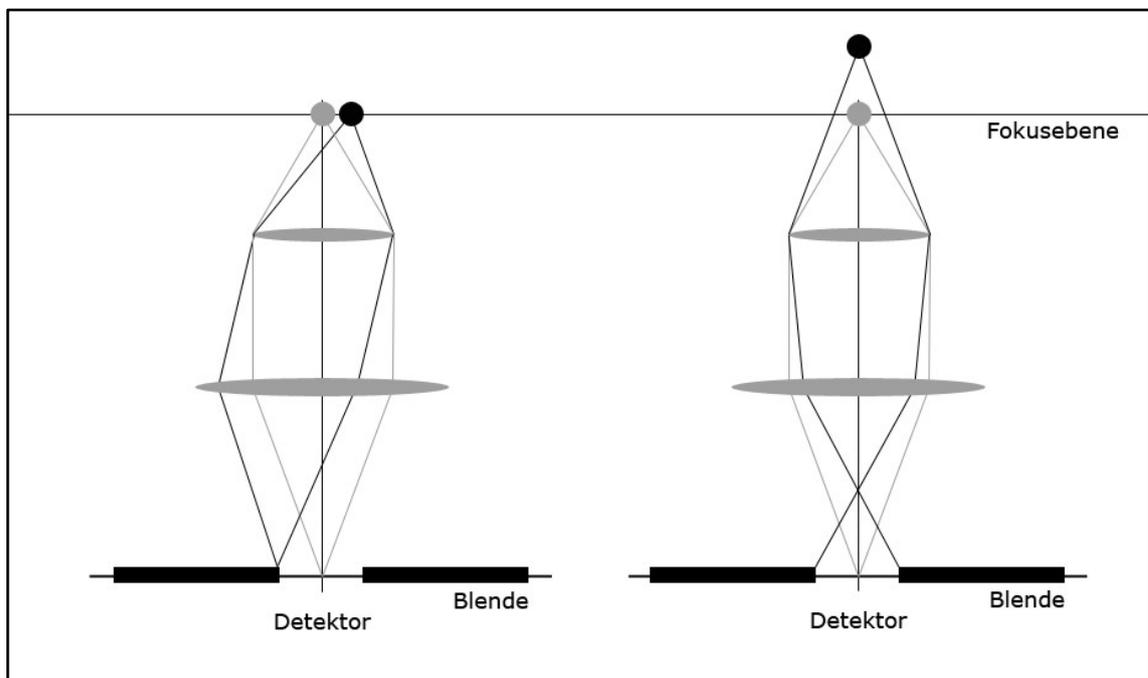


Abb. 2: Schema der Ausfilterung benachbarter Punkte (schwarz) durch das konfokale Blendensystem. Links bei benachbarten Punkten der gleichen Ebene, rechts bei Strahlen aus tieferen Ebenen. Die Ebene des schwarzen Punktes ist hier die erste ausgefilterte Ebene.

Der große Vorteil des konfokalen Mikroskops beruht also weniger auf einer viel höheren Auflösung, sondern vielmehr erreicht das konfokale Mikroskop bei ähnlicher Auflösung eine höhere Detailschärfe des Bildes durch ein Ausfiltern unerwünschter „Schmierinformationen“ benachbarter Punkte und Ebenen.

2.1.3 Selektive Punktbeleuchtung

Eine weitere Steigerung erfährt dieser Gewinn an Detailschärfe, wenn die Beleuchtung nicht im Sinne einer klassischen Weitfeld-Beleuchtung erfolgt, sondern über den Einsatz eines dichromatischen bzw. halbdurchlässigen Spiegels oder eines kompletten zweiten Linsensystems selektiv der fokussierte Bereich beleuchtet wird (s. Abb. 3).

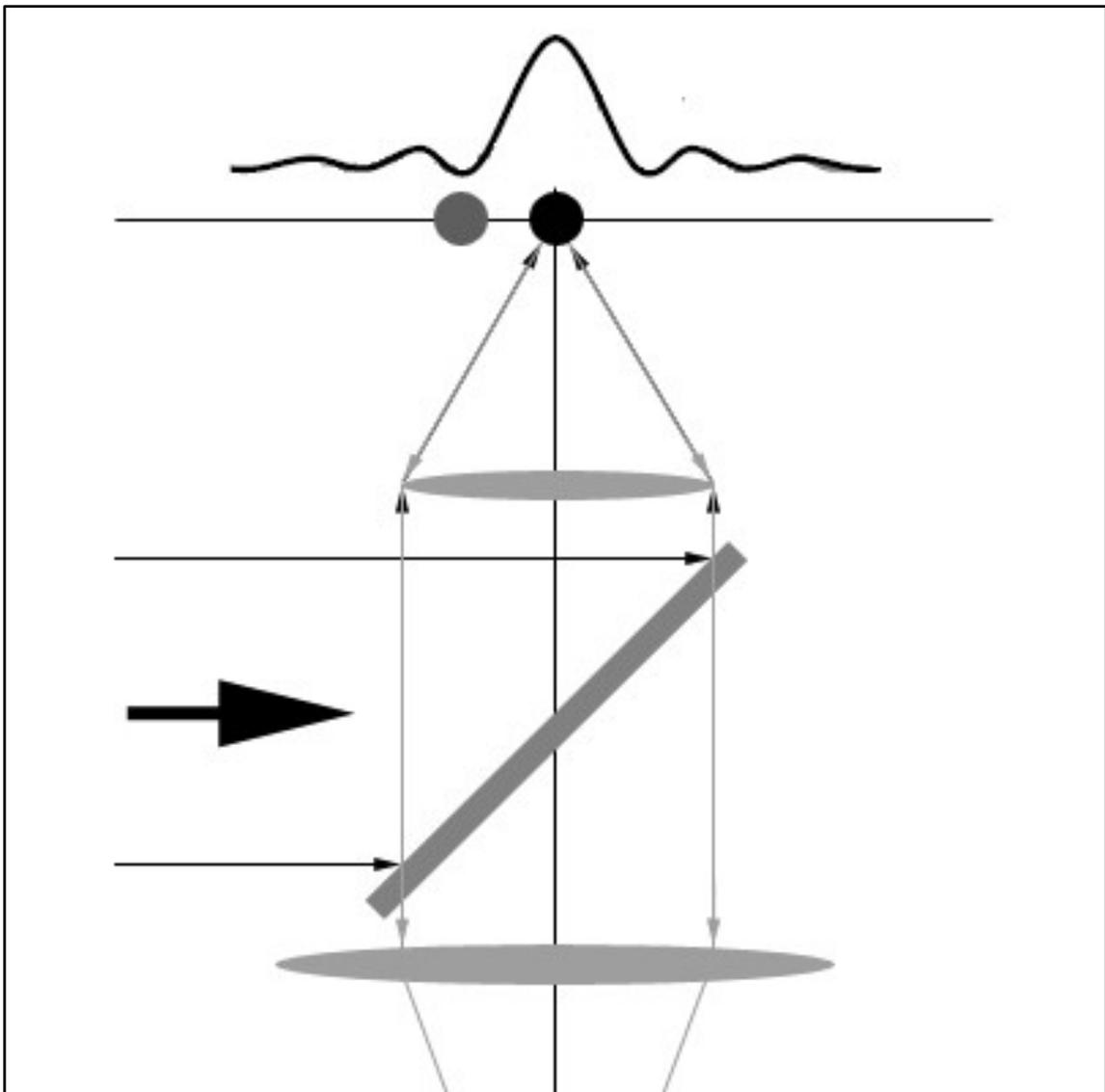


Abb. 3: Selektive Punktbeleuchtung der Fokusebene. Die typische Beugung tritt auch hier auf und limitiert den Effekt. Dennoch sind benachbarte Punkte (hier grau) überwiegend geringer ausgeleuchtet, was dem Kontrast zugute kommt.

Durch diese Punktbeleuchtung potenziert sich der anschließende Filtereffekt der Detektorblende, da benachbarte Punkte schon initial geringer beleuchtet werden, was zusätzlich den optischen Kontrast stark verbessert.

Kombiniert man beide Methoden, so fokussieren Beleuchtungs- wie auch Beobachtungsanordnung auf ein und denselben Punkt. Das Beleuchtungs- und das Detektorsystem sind somit konfokal.

2.1.4 Virtuelle Dünnschichtsnitte

Wird die Größe der Blenden variiert, kann hierüber bestimmt werden, aus welchen angrenzenden Ebenen, insbesondere auch in axialer Richtung, noch Lichtinformationen verwertet werden¹⁰⁴.

So werden in Abb. 2 rechts lediglich Informationen aus Ebenen verwertet, welche zwischen der grauen Fokusebene und der Ebene der schwarzen Markierung liegen. Alle noch tieferen Ebenen, inklusive der schwarz markierten Ebene selbst, werden unabhängig von der tatsächlichen Dicke des untersuchten Objekts durch die Blende ausgefiltert.

Das konfokale Mikroskop bietet damit die Möglichkeit, virtuelle Dünnschichtsnitte des untersuchten Objekts anzufertigen. Bei einem klassischen Lichtmikroskop überlagert sich hingegen immer reflektiertes Licht aus der eigentlichen Untersuchungsebene mit gestreutem Licht aus darüber oder darunterliegenden Ebenen, was die effektive Auflösung feiner Details unvermeidlich drastisch verschlechtert.

2.1.5 Auflösung versus Lichtausbeute

Auch wenn durch den konfokalen Aufbau mit der Kombination aus Punktbeleuchtung und anschließender Punktdetektion die laterale Auflösung rechnerisch im Vergleich zu einem konventionellen Lichtmikroskop lediglich um den wenig eindrucksvollen Faktor $\sqrt{2}$ gesteigert werden kann, entsteht durch die Möglichkeit, virtuelle Schnitte variabler Dicke entlang der optischen Achse anzufertigen effektiv eine enorme Verbesserung der axialen Auflösung und somit der Detailschärfe.

Limitierend wirken dabei lediglich die parallel zur Dünne des Schnittes schrumpfende Anzahl an detektierten Photonen, was zu fallenden Kontrastwerten führt.

Das konfokale Mikroskop nimmt somit eine Zwischenstellung zwischen dem klassischen Lichtmikroskop und höher auflösenden Systemen wie dem Elektronenmikroskop ein. Für eine umfassendere Darstellung der physikalischen Grundlagen des konfokalen Mikroskops sei an dieser Stelle auf die Werke von Wilson und Sheppard¹⁰⁵, sowie Shotton^{89,90} verwiesen.

2.1.6 Rekonstruktion eines Gesamtbildes aus konfokalen Einzelbildern

Das konfokale Mikroskop gibt also das klassische Übersichtsbild zugunsten einzelner, präziserer Punktaufnahmen auf.

Um dennoch ein Übersichtsbild zu erhalten, muss der Untersuchungsstrahl deshalb in horizontaler und vertikaler Richtung über das gesamte Objekt geführt werden, um anschließend künstlich ein Gesamtbild zu konstruieren.

Auch an dieser Notwendigkeit einer nachträglichen Bildkonstruktion aus den Einzelbildern scheiterte der breite Erfolg Minskys Erfindung lange Zeit. Neben der ohnehin fehlenden Verfügbarkeit ausreichend intensiver Lichtquellen für seine Lochblenden-Lösung waren insbesondere keine entsprechend leistungsstarken Computer vorhanden, die die Fülle an Daten hätten bearbeiten können.

Somit hatte Minsky keine Möglichkeit, die einzelnen Teilbilder aus dem Rastervorgang zu speichern und anschließend zu verarbeiten, sondern musste sich mit Momentaufnahmen mithilfe eines militärischen Oszilloskops von schlechter Bildqualität zufrieden geben, was die eigentlich erreichte qualitative Verbesserung der Einzelbilder im dargestellten Gesamtbild aufhob.

2.1.7 Stage-Scanning vs. Beam-Scanning Systeme

Für dieses bei allen konfokalen Mikroskopen nötige, rasternde Überstreichen des Objekts, bestehen dabei generell zwei Möglichkeiten:

Die Bewegung des Untersuchungsobjekts unter einem stationären Lichtsystem hindurch, oder ein Führen des Untersuchungsstrahls über das stationäre Objekt mittels einer optischen Lösung.

Da in der Medizin wie auch in anderen biologischen Disziplinen eine hochpräzise Führung des - im Zweifelsfall lebenden - Untersuchungsobjekts nicht praktikabel realisierbar ist, finden sich objektbewegende Lösungen - sogenannte Stage-Scanning Mikroskope - bis heute nahezu ausschließlich in der Industrie zur Materialprüfung oder zur Analyse von DNA Mikrochips in der Genforschung⁷³.

2.1.8 Beam-Scanning Lösungen

Die in der Medizin eingesetzten Mikroskope gehören dagegen heutzutage überwiegend in die Gruppe der Beam-Scanning Mikroskope mit optischen Rastersystemen und einer meist monochromatischen Laserlichtquelle, den sogenannten Laser-Scanning konfokalen Mikroskopen (LSCM).

Da hier ein einzelner Laserstrahl verwendet wird, heißen diese Systeme auch Single-Beam-Scanning Systeme. Auch Minskys allererster Prototyp war in diesem Sinne ein Single-Beam-System (s. Abb. 4).

Vor der Entwicklung von Lasern und leistungsstarken Computern waren Single-Beam-Scanning Systeme wie Minskys Prototyp jedoch nicht konkurrenzfähig.

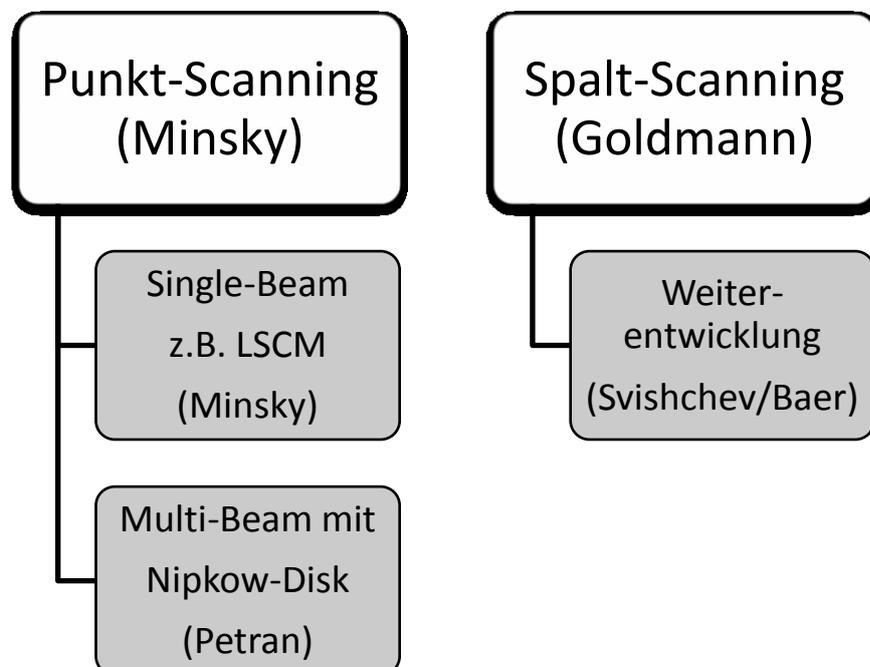


Abb. 4: Übersicht über die verschiedenen konfokalen Ansätze. In Klammern jeweils die Wegbereiter der einzelnen Äste. Vor der Entwicklung der nötigen Computertechnologie spielten Single-Beam-Systeme wie Minskys Prototyp keine Rolle. Heute stellen sie die größte Gruppe dar.

2.1.9 Multi-Beam-Scanning mithilfe von Nipkow-Disks

Die auf Minskys grundsätzlichen Überlegungen beruhende Methode, welche erstmals breite wissenschaftliche Beachtung und Anwendung fand, war eine Multi-Beam-Scanning Lösung. Sie basiert auf einer (oder mehreren) rotierenden Lochscheibe(n), der sogenannten Nipkow-Disk⁷².

Bei diesem 1967 von Petran und Kollegen⁷⁵ entwickelten konfokalen Mikroskop, wird ein breites Bündel paralleler Lichtstrahlen auf eine rotierende Scheibe gerichtet, wobei spiralförmig einzelne Öffnungen auf der Scheibe angebracht sind.

Bei einer vollen Umdrehung der Disk wird dadurch jeder Bereich des Untersuchungsobjekts einmal überstrichen, was effektiv einem System vergleichbar mit etlichen parallel arbeitenden konfokalen Einzelsystemen entspricht (vgl. Abb. 5).

Der Vorteil dieses Systems ist eine prinzipiell enorm schnelle Gesamtbilderfassung und die Möglichkeit der Verwendung von weißem Licht mit der damit verbundenen Farbdarstellung.

Es gelangt jedoch nur etwa 1% des beleuchtenden und wiederum nur etwa 1% des vom Objekt reflektierten Lichts durch die Öffnungen der Disk. Dies zwingt zum Einsatz von Mikrolinsen und/oder verlängerten Beobachtungszeiten, um eine ausreichende Lichtausbeute sicherzustellen. Zudem ist die Abstimmung der Teile aufeinander wartungsintensiv und relativ störanfällig.

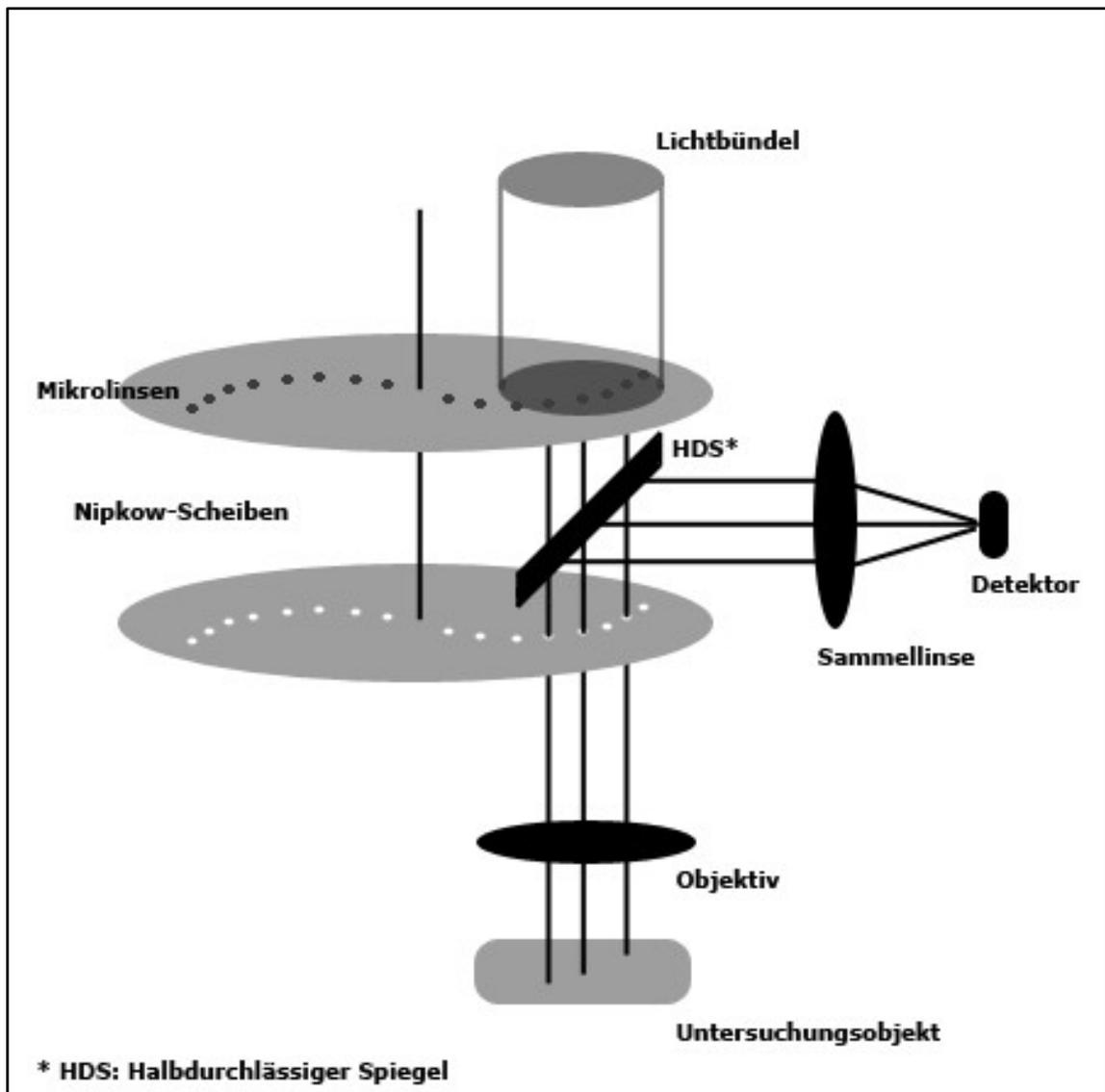


Abb. 5: Weiterentwickeltes System mit zwei kombinierten Nipkow-Disks. Mithilfe der eingesetzten Mikrolinsen soll die Lichtausbeute verbessert werden. Abb. in Anlehnung an [74].

2.1.10 Konfokale Mikroskopie in der Augenheilkunde. Das spaltbasierte konfokale Mikroskop

Bis zur Erforschung der nötigen Computer- und Lasertechnologien blieben Varianten des Multi-Beam-Scannings auf Nipkow-Disk Basis dennoch die einzige praktikable Lösung echter konfokaler Punkt-Scanning Systeme.

In der Augenheilkunde beschrieben Lemp und Kollegen 1986 ihre Untersuchungen an ex-vivo Kornea mit einem Nipkow-Disk basiertem Gerät⁵⁴, ehe Lemp 4 Jahre später gemeinsam mit Jester und Cavanagh erfolgreich auch in-vivo Untersuchungen mit solch einem Gerät durchführte¹⁷.

Nahezu parallel zu diesen Erfolgen des Multi-Beam-Scanning Mikroskops entwickelten um 1969 Svishchev⁹⁵ in Russland und Baer⁵ in Amerika unabhängig voneinander Modelle eines Spalt-Scanning Mikroskops, welches in Grundzügen schon Goldmann 1940 eingesetzt hatte, um ex-vivo Bilder tierischer Kornea zu gewinnen³¹. Bisweilen wird daher auch Goldmann als Erstbeschreiber eines konfokalen Mikroskops angesehen²¹, wengleich Minsky die erste rein konfokale Lösung fand.

Spaltbasierte Modelle sind prinzipiell weniger hochauflösend als Punkt-Systeme, da sie entlang des Spaltes keine Filterfunktion ausüben. Die Spaltlösung bietet jedoch entscheidende Vorteile in der Geschwindigkeit der Gesamtbildgewinnung, da mit einer einzigen Bewegung das Untersuchungsgebiet sowohl horizontal wie vertikal erfasst wird.

Durch eine weitere Feinabstimmung gelang es Maurice 1974 mit solch einem konfokalen Spalt-Mikroskop hochaufgelöste Bilder der kornealen Einzelschichten bis zu einzelnen Keratozyten aufzunehmen⁶². Koester⁴⁷, sowie Thaer und Masters in-vivo Untersu-

chungen^{60,61} stützten sich ebenfalls auf Weiterentwicklungen solch eines spaltbasierten Modells.

Eine hervorragende Übersicht über die historische Entwicklung des konfokalen Spaltmikroskops in der Augenheilkunde bietet beispielsweise die Arbeit von Masters⁵⁹ zu Ehren der Lebensleistung von David Maurice.

2.1.11 Das Laser-Scanning konfokale Mikroskop (LSCM)

Mit der Entwicklung von Lasern als hochgradig homogene und stabile Lichtquelle bestimmbarer Wellenlänge, digitaler Bildverarbeitung und piezo-gesteuerten Rastersystemen mit schneller und dennoch präziser Strahlführung endete die Vormachtstellung der Nipkow-Disk und der Geschwindigkeitsvorteil der Spaltsysteme wurde bei höherer Bildqualität aufgeholt⁶.

Spätestens seit Amos und White 1987 in ihrer Vergleichsstudie¹⁰³ mit einem konfokalen Lasermikroskop gegenüber klassischen Fluoreszenzbildern qualitativ hochüberlegene Bilder gewannen, begann die konfokale Lasermikroskopie in den biologischen Disziplinen eine neue Vorreiterrolle unter den konfokalen Mikroskopen einzunehmen.

Den typischen Aufbau eines LSCM zeigt Abb. 6.

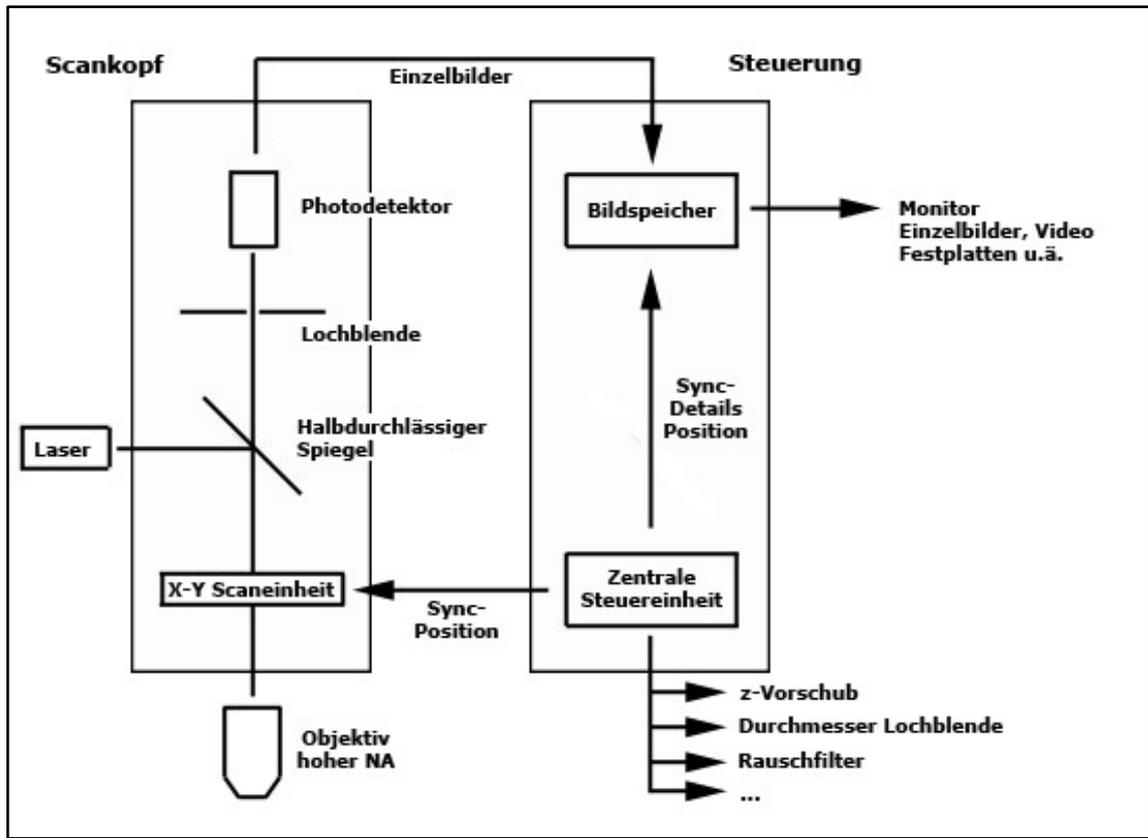


Abb. 6: Schematischer Aufbau eines Laser-Scanning konfokalen Mikroskops. Die Pfeile signalisieren Datenfluss und Steuerkreise. Abb. in Anlehnung an [73].

2.1.12 Strahlführung in modernen Laser-Scanning Systemen

Um die bei in-vivo Untersuchungen auftretenden Bewegungsartefakte zu minimieren, muss die zum Rastern des Gesamtbildes nötige Zeit auf das Mindestmaß reduziert werden.

Die hierzu obligatorisch hohen Scan-Geschwindigkeiten werden heutzutage durch Scanköpfe aus 2 Spiegelgalvanometern (s. Abb. 7, Bild a) oder einem Spiegelgalvanometer für den langsameren Zeilensprung und einem akusto-optischen Deflektor (AOD) für die schnellen horizontalen Bewegungen (s. Abb. 7, Bild b) erreicht.

Bei einem akusto-optischen Deflektor wird ein Piezo-Element an einen Quarz- oder Tellurium-Dioxid-Kristall gekoppelt. Wird nun ein Signal an das Piezo-Element geschickt, leitet dieses eine akustische Schockwelle in den Kristall, wodurch sich dessen Brechungsindex lokal ändert. Somit kann mit extrem hoher Geschwindigkeit die Ablenkung des Laserstrahls moduliert werden⁸⁵.

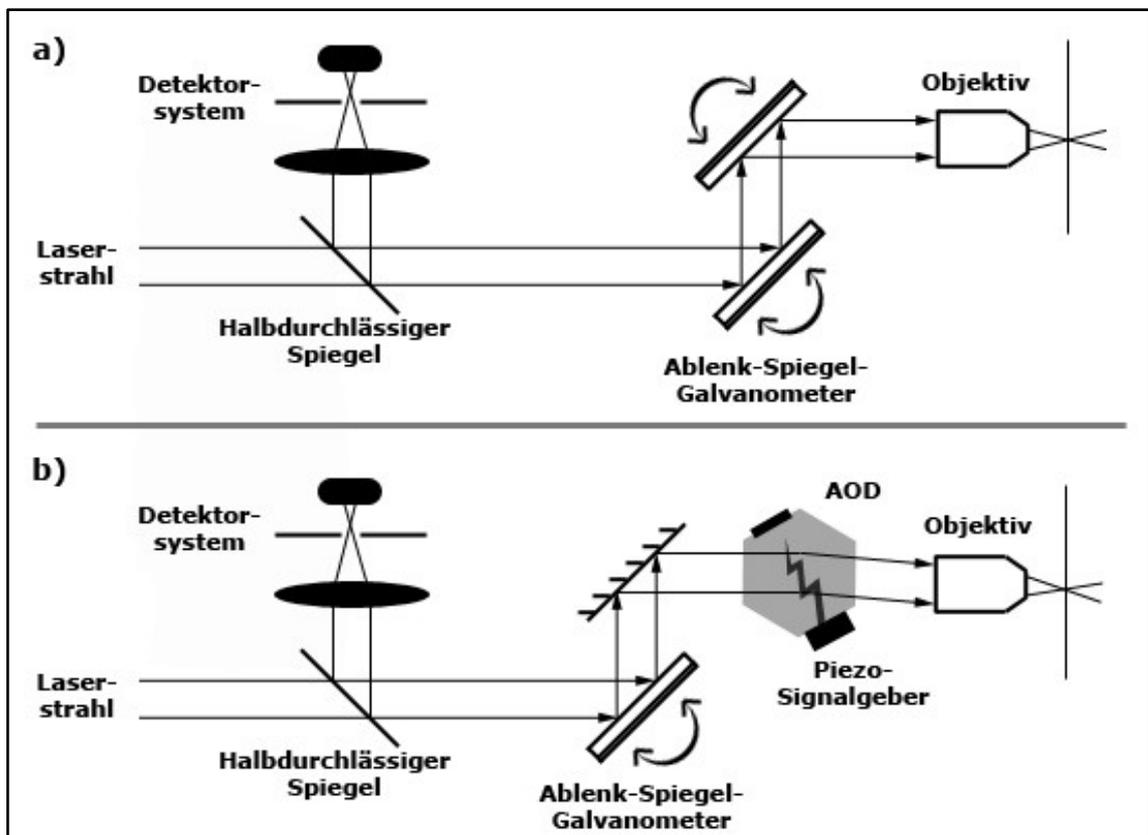


Abb. 7: Die beiden gebräuchlichsten Scansysteme heutiger LSCM. Während in Bild a) jeweils ein Galvanometer die horizontalen und vertikalen Bewegungen steuert, wird in Bild b) für die schnellen horizontalen Läufe ein akusto-optischer Deflektor (AOD) verwendet.

2.2 Grundlagen der Trabekulektomie

Bei der Trabekulektomie erfolgt die Anlage einer limbusnahen Fistel, über die Kammerwasser durch ein geschaffenes Sklerafenster in den subkonjunktivalen Raum gelangt, was zur Ausbildung des sogenannten Sickerkissens führt²⁴ (vgl. Abb. 8).

Ziel ist es, über den geschaffenen zusätzlichen Abflussweg den intraokularen Druck auf einen individuell zu ermittelnden Zieldruck zu senken, um die ansonsten zwangsläufige weitere Progression eines glaukomatösen Sehnerven zu vermeiden^{2,32,55}.

Der entscheidende Vorteil dieser Technik gegenüber penetrierenden Operationsverfahren wie der Sklerostomie ist die Möglichkeit der Steuerung des Abflussvolumens via des geschaffenen Skleradeckelchens. So konnten auf Überfiltration beruhende Komplikationen in ihrer Rate entscheidend gesenkt werden^{15,94}.

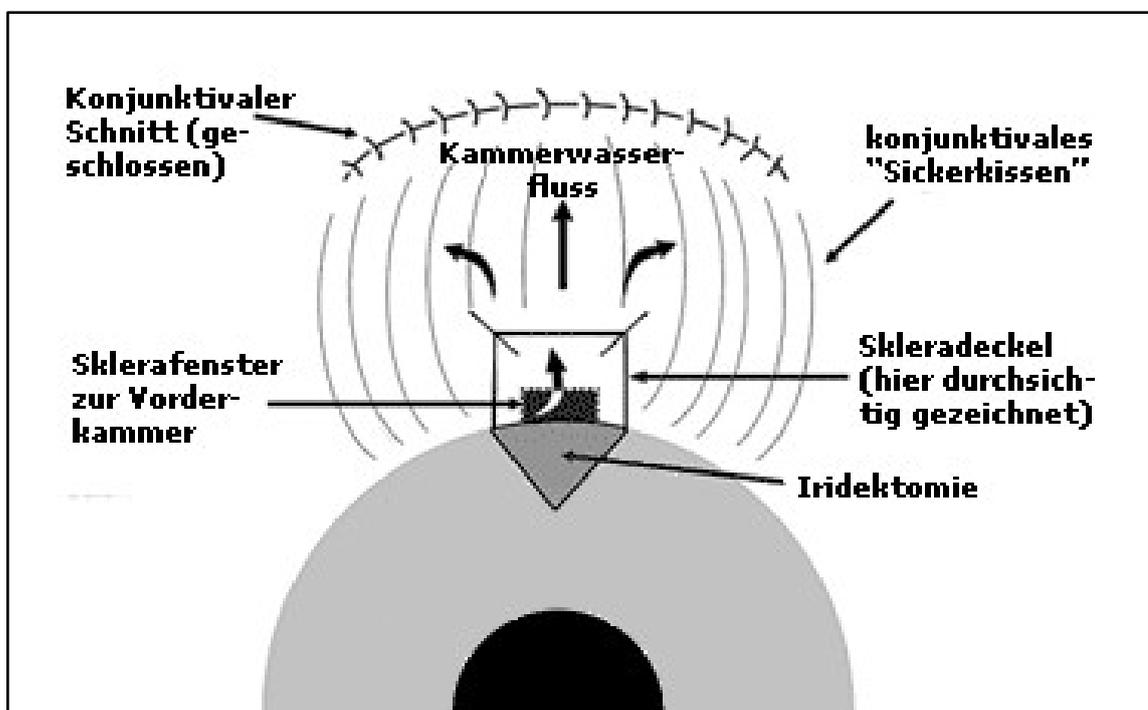


Abb. 8: Schematische Darstellung eines Auges nach Trabekulektomie. Abb. in Anlehnung an [50].

Gerade in Kombination mit frühzeitigen postoperativen Interventionen wie einem Sickerkissen-Needling und der Injektion von 5-Fluoruracil lassen sich oftmals erfreulich stabile Ergebnisse erzielen. Zur Technik und generellen Erfolgsrate eines Needlings und 5-Fluoruracil-Injektion sei an dieser Stelle auf einschlägige Publikationen zu diesem Thema verwiesen^{12,22,30,35}.

Der invasive Charakter, die daraus resultierenden allgemeinen und speziellen Operationsrisiken, sowie der nicht sicher zu garantierende (Langzeit-)Erfolg selbst bei korrekt und optimal vorgenommenem Eingriff, aber auch die Skepsis neu diagnostizierter Patienten vor einem initial chirurgischen Vorgehen begründen jedoch weiterhin die übliche Stellung der Trabekulektomie am Ende der therapeutischen Kette, von Sonderindikationen wie beispielsweise bei fehlender Tropf-Compliance u.ä. abgesehen^{36,37,40}.

Trotzdem stellt sie als populärste Form der Filtrationschirurgie gerade im Bereich des primären Offenwinkelglaukoms nach wie vor den Goldstandard der dauerhaften Druckreduktion bei ansonsten unkontrollierbaren Fällen dar.

2.2.1 Medikamentöse vs. chirurgische Therapie

Zeichnet sich jedoch bei einem anfänglich unproblematischen Offenwinkel-Glaukom ein beginnendes Versagen der antiglaukomatösen Medikamente ab, oder kann der Zieldruck - wenn überhaupt - nur mittels systemischen Carboanhydrasehemmern eingestellt werden, sollte ein frühzeitiges chirurgisches Vorgehen in Erwägung gezogen werden⁶⁷.

Sowohl ältere⁶⁶, wie auch aktuellere Studien wie die Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study (CIGTS)⁷¹ zeigen, dass ein frühes chirurgisches Vorgehen keineswegs den Vergleich mit einer effektiven medikamentösen Therapie scheuen muss.

In der aktuellen 9-Jahres Analyse der CIGTS⁷¹ bestätigte sich sogar, dass sich durch eine frühe chirurgische Intervention konstant und auf Jahre hinweg niedrigere Drücke erreichen lassen, als mit primär medikamentösen Mitteln.

Obwohl seinerzeit in der 5-Jahres Zwischenauswertung⁵⁶ noch kein direkter Vorteil dieser Differenz hinsichtlich der Progression des Gesichtsfelddefekts ableitbar war, erscheint ein positiver Einfluss auf den Verlauf logisch und denkbar, weswegen von den Verantwortlichen zusätzliche Langzeit-Auswertungen geplant sind⁷¹.

Auch die Erkenntnis, dass eine vorangegangene medikamentöse Therapie oftmals als Begleiteffekt eine Proliferation von Lymphozyten und Fibroblasten in der Konjunktiva induziert^{11,13,86}, und somit den postoperativen Verlauf und die Erfolgsrate späterer chirurgischer Interventionen negativ beeinflusst^{14,52}, lässt eine Entscheidung zu früherem operativem Eingreifen gerechtfertigt erscheinen.

Die filtrierende Chirurgie wird ihre Rolle in der Therapie des Glaukoms daher sicher weiter behaupten, insbesondere falls sich Operationstechnik und Material weiter entwickeln. Schon die Einführung von 5-Fluoruracil und des seit den 90er Jahren verfügbaren Mitomycin C erweiterten die Interventionsmöglichkeiten^{1,46}, wodurch sich die Erfolgsraten der Trabekulektomie steigern ließen^{25,27,101}.

Aktuell zeigen beispielsweise Antikörper gegen TGF-beta2 und die ihnen theoretisch zugeschriebene Hemmung einer Vernarbungsreaktion⁷⁹ klinisch zwar noch keine überzeugenden Ergebnisse⁴⁵, ihre gute Wirksamkeit im Tierversuch bei einer geringeren Toxizität als Mitomycin C¹⁸, lassen jedoch ahnen, dass mit weiteren Verbesserungen in Zukunft durchaus zu rechnen sein wird.

2.2.2 Bedeutung des postoperativen Monitorings

Eine optimal durchgeführte Operation allein stellt dabei nur einen Teil der Voraussetzungen für eine letztendlich erfolgreiche Therapie dar. Zu zahlreich sind die Faktoren, die den Erfolg der Intervention selbst bei optimaler Durchführung entscheidend beeinflussen können.

Zu den für den Gesamterfolg der Therapie ausschlaggebenden Faktoren gehören beispielsweise nachweislich der Typ des Glaukoms, etwaige An- und Vorbehandlungen, das Alter der Patienten, der Raucherstatus, eine bestehende Aphakie oder chronische Entzündungen des Auges^{7,41,68,71}.

Da ein unkomplizierter postoperativer Verlauf ohne überschießende Wundheilung die Grundvoraussetzung für einen Erfolg der Therapie darstellt^{58,91}, erscheint der üblicherweise hohe Aufwand und Stellenwert des frühen postoperativen Monitorings gerechtfertigt.

Dabei kann einer beginnenden Entzündung und Vernarbungsgefahr insbesondere durch den gezielten Einsatz von Steroiden frühzeitig begegnet werden^{82,83,92}.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass der Trabekulektomie als Hauptvertreter der Glaukomchirurgie eine wichtige und oftmals für den Patienten entscheidende Rolle zukommt. Der Langzeiterfolg des Eingriffs hängt dabei insbesondere auch von der Entwicklung des Sickerkissens in der frühen postoperativen Phase und einer frühzeitigen, sowie angemessenen Intervention bei Komplikationen ab.

2.2.3 Etablierte Bewertungssysteme für Sickerkissen und ihre Limitationen

Aus diesem Grund haben sich etliche Autoren der Aufgabe gewidmet, verlässliche Kriterien zur Beurteilung und Prognose der weiteren Entwicklung von Sickerkissen zu entwickeln^{16,49,77,88,99,102}. Dies wird jedoch aufgrund der vielen möglichen Varianten in der Morphologie funktionstüchtiger wie versagender Sickerkissen erschwert^{4,9,93,100,102}.

So hängt das individuelle Aussehen des endgültigen Sickerkissens unter anderem von Faktoren wie dem Einsatz von Antimetaboliten, dem Heilungsverlauf oder der Technik des Operateurs ab. Aber auch primär vorgegebene Punkte wie frühere Operationen im Operationsgebiet, der generelle Zustand der Konjunktiva u.ä. können das endgültige Erscheinungsbild eines Sickerkissens unabhängig von dessen Funktion beeinflussen^{4,25,27,33,34,53,100,101}.

Trotzdem haben sich einige Beurteilungssysteme herauskristallisiert, welche versuchen, einen Standard zur Beurteilung und Prognose von Sickerkissen zu schaffen.

Das einfachste System wurde 1949 von Kronfeld entwickelt⁴⁹. Es unterscheidet die Formen zystisch (I), flacher, dicker oder diffus (II), sowie versagend (III). Vesti konnte 1993 die Korrelation von diffusem Erscheinungsbild und guter druckregulierender

Funktion eindeutig belegen⁹⁹. Neuere Systeme wie die Indiana Bleb Appearance Grading Scale¹⁶, sowie die von Wells¹⁰² bzw. Picht und Grehn^{76,77} entwickelten Systeme greifen daher die Bedeutung der morphologischen Beschreibung auf, und werden ihr durch stärker differenzierte Unterelemente wie zystisch, diffus, abgekapselt, flach, hochprominent u.ä. gerecht.

Wells versucht diese Einteilung zusätzlich durch die Erfassung des Anteils diffuser Ausprägung an der Gesamtgröße des Sickerkissens zu verfeinern¹⁰².

Picht und Grehn verknüpfen dagegen verstärkt histologische und pathophysiologische Erkenntnisse mit den klinischen Befunden⁷⁷.

So findet sich beispielsweise auch in deren System das Kriterium der Vaskularisation, aufgrund der Überlegung, dass eine gesteigerte Vaskularisation, insbesondere in Form von Korkenzieher-Gefäßen, sowohl in der direkten postoperativen 2.Phase der Wundheilung⁹¹, als auch im Anschluss daran, eine überschießende Narbenentwicklung anzeigen kann^{76,91}.

2.2.4 Das System von Picht und Grehn

Für eine gute Entwicklung und Prognose des Sickerkissens stehen nach den Erfahrungen von Picht und Grehn eine - wenn überhaupt - geringe Injektion der Bindehaut mit fehlender Darstellung von Korkenzieher-Gefäßen, eine hohe Anzahl an Mikrozysten, sowie ein insgesamt eher mittelflacher, diffuser Aspekt ohne Zeichen einer Abkapselung⁷⁶.

Demgegenüber stehen stark abgeflachte und abgekapselte Sickerkissen mit hohem intraokularem Druck unter dem Verdacht fortschreitender Vernarbung. Sickerkissen mit kuppelförmigem, überhöhtem Aspekt bei ebenso gesteigertem Augendruck legen die Entwicklung einer Tenon-Zyste nahe^{76,88}.

Beruhend auf diesen Erfahrungen entwickelten Picht und Grehn ein standardisiertes Bewertungssystem mit 8 Kernelementen zur Beurteilung von Sickerkissen (vgl. Tab. 1).

Tab. 1: Standardisierte Sickerkissenbeurteilung nach Picht und Grehn⁷⁶

-
1. Ausmaß der Vaskularisation
 2. Auftreten von korkenzieherartig geschlängelten Gefäßen
 3. Abgrenzung des Sickerkissens
 4. Vorwölbung des Sickerkissens
 5. Auftreten von Mikrozysten
 6. Transparenz des Sickerkissens
 7. Verschieblichkeit der Bindehaut, beginnende Tenon-Zyste?
 8. Dichtigkeit des Sickerkissens, Seidel-Test
-

2.2.5 Der Bedarf an objektiven diagnostischen Methoden

Trotz der Vielzahl an Bewertungsschemata stellt es dabei aufgrund der beschriebenen Vielfalt des Erscheinungsbildes nach wie vor eine Herausforderung an die Fähigkeiten des Untersuchers dar, verlässliche Prognosen abzugeben, zumal die Beurteilung routinemäßig nach wie vor an der Spaltlampe durchgeführt wird und in ihren Feinheiten letztlich auch vom subjektiven Eindruck abhängt.

Deshalb gab es bereits mehrere Versuche, weitere diagnostische Untersuchungen in die Beurteilung mit einzubeziehen, so z.B. Ultraschalluntersuchungen oder die Optische Kohärenztomographie (OCT) des Sickerkissens.

Dabei zeigte sich in der Ultraschalluntersuchung an Sickerkissen guter drucksenkender Funktion verbreitet ein Reflexmuster vom L-Typ (low-reflective). Demgegenüber ließen sich Sickerkissen moderater und schlechterer Funktion dem Typ H (high-reflective) bzw. den Typen E (encapsulated) und F (flattened) zuordnen¹⁰⁶.

In Untersuchungen funktionstüchtiger Sickerkissen mithilfe der OCT fanden sich eine insgesamt niedrige Reflektivität, sowie zahlreiche hyporeflektive Hohlräume, die als Pendant zu den auch makroskopisch sichtbaren Mikrozysten interpretiert werden⁷⁰.

Obwohl beide Methoden die schon aus den Spaltlampen-Untersuchungen und der Histologie gezogenen Schlüsse zur Existenz von Mikrozysten und der Verdichtung bzw. Vernarbung des Sickerkissens als Ursache beginnenden Versagens bekräftigen, liefert keine der beiden Untersuchungen Erkenntnisse über den Zustand des Sickerkissens, die im Normalfall nicht auch von einem erfahrenen Augenarzt direkt an der Spaltlampe erhoben werden können.

Beide Untersuchungen bieten insbesondere keine Möglichkeit, das zugrundeliegende Geschehen auf zellulärer Ebene darzustellen oder zu untersuchen.

2.2.6 Das konfokale Mikroskop für in-vivo Diagnostik auf Zellebene

Gerade in dieser Hinsicht bietet die konfokale in-vivo Lasermikroskopie große Vorteile, da die hohe Auflösung neben einer direkten Beobachtung auf Zellebene auch eine gute Vergleichbarkeit mit der klassischen Histologie ermöglicht.

Da die typischen konfokalen Bilder normaler, entzündeter bzw. tumorös veränderter Bindehaut bereits durch existierende Untersuchungen dokumentiert sind^{63,64}, lässt sich beispielsweise eine beginnende Fibrosierung oder auch eine prolongierte postoperative Entzündungsreaktion direkt an der Zahl und Morphologie der gefundenen Zelltypen ablesen.

Somit kann im direkten Vergleich schon bei Verdacht und noch vor den ersten klinischen Anzeichen eine klärende Diagnostik betrieben werden.

Darüberhinaus beschrieben Labbe und Kollegen⁵¹ in der französischen Literatur, dass sich in ihren Untersuchungen an 17 Patienten epitheliale Mikrozysten häufiger bei funktionsfähigen Sickerkissen fanden. Dagegen zeigte sich bei verdichteten, funktionslosen Sickerkissen eher ein Fehlen eben dieser Mikrozysten.

2.2.7 Der verwendete Untersuchungsansatz

Es lag daher nahe, mithilfe der konfokalen Mikroskopie erhobene Befunde mit der Entwicklung bzw. der drucksenkenden Funktion der zugehörigen Sickerkissen zu vergleichen.

Auf der Seite der klassischen Sickerkissenbefundung kam dabei das standardisierte Beurteilungssystem nach Picht und Grehn zum Einsatz. Dieses wurde mit dem jeweiligen intraokularen Druck und Rahmenbedingungen, wie beispielsweise der verwendeten Medikation in Beziehung gesetzt.

Durch eine zum Teil quantitative Analyse der konfokalen Bilder war es anschließend möglich, das konfokale Erscheinungsbild zum einen mit dem jeweiligen klinischen Bild, zum anderen mit der erreichten zugehörigen Wirkung (Reduktion des intraokularen Drucks) zu vergleichen.

3 Material und Methoden

3.1 Eckdaten des konfokalen Mikroskops

Verwendet wurde das konfokale Mikroskop der Firma Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland. Dieses hat einen modularen Aufbau mit einem „Heidelberg Retina Tomograph II“ (HRT II) als Basis, kombiniert mit dem sogenannten „Rostock Cornea Module“ (RCM) (vgl. Abb. 9).

Das Mikroskop selbst arbeitet im Kontaktverfahren und wurde ursprünglich – wie schon dem Namen zu entnehmen ist – zur in-vivo Untersuchung der Kornea entwickelt.

Optische Kernstücke des HRT II/RCM Systems sind ein Klasse 1 Diodenlaser mit maximal 200 μ W Leistung bei einer Wellenlänge von 670nm, sowie ein Objektiv der Firma Zeiss („Wasser Achroplan 63x W“, NA 0,95, Arbeits-Abstand 2,2mm, Carl Zeiss, MicroImaging GmbH, Göttingen, Deutschland).

Mithilfe dieses Objektivs und einer weiteren Feldlinse wird eine 800-fache Gesamtvergrößerung eines 400x400 μ m großen Scanfensters bei einer optischen Auflösung von rund 1 - 2 μ m erreicht. Die maximale Scantiefe des Geräts liegt dabei unter Idealbedingungen bei etwa 1500 μ m an der Kornea, was eine Darstellung aller relevanten Strukturen von Epithel- bis zu Endothelzellen ermöglicht.

Bei der Untersuchung von Sickerkissen bzw. normaler Bindehaut werden jedoch generell weit niedrigere Werte erreicht. So war es bei diffusen Sickerkissen lediglich bis auf 200 μ m, bei zystischen Sickerkissen bis auf 800 μ m Tiefe ab der Epitheloberfläche möglich, verwertbare Bilder zu gewinnen.

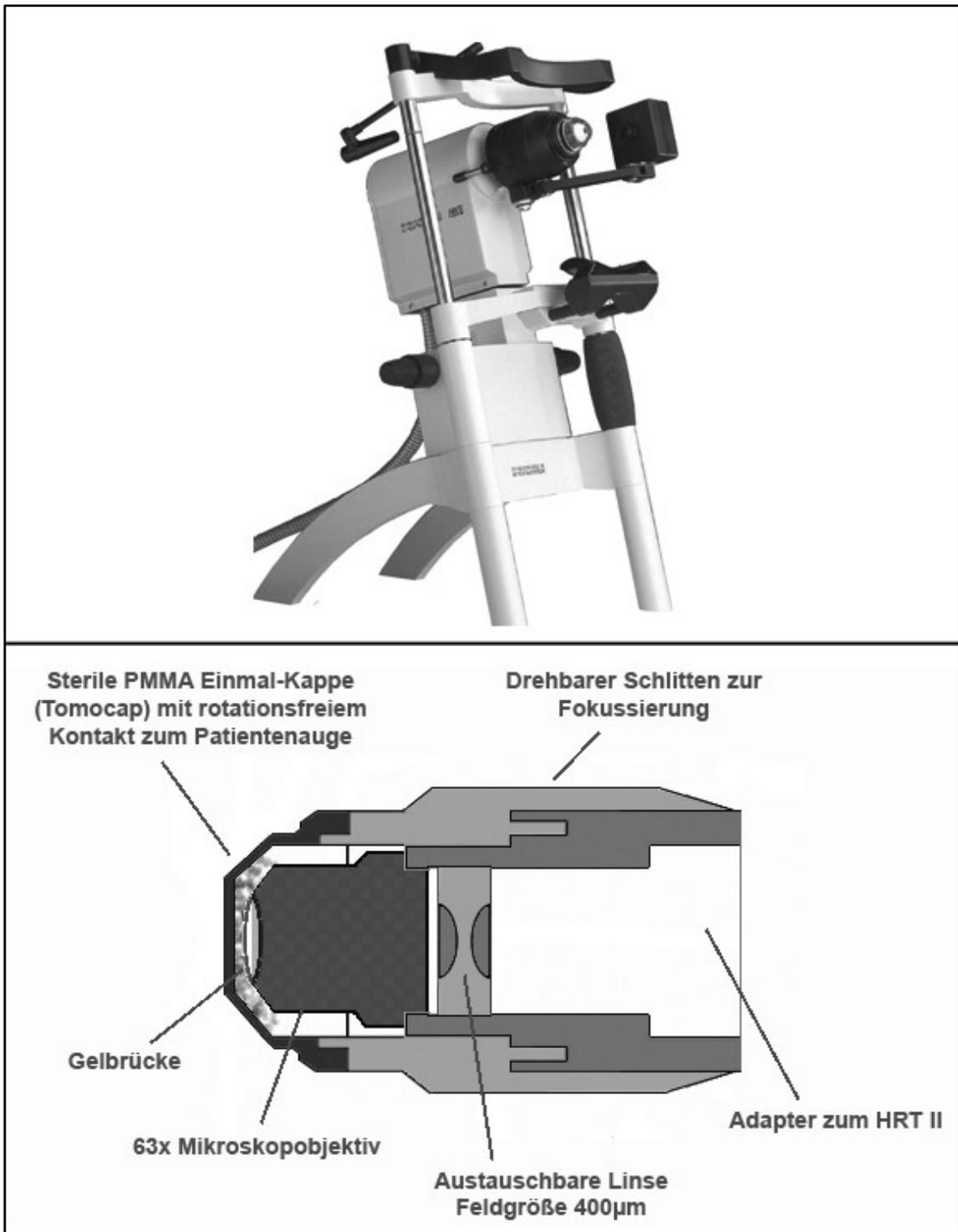


Abb. 9: Der Heidelberg Retina Tomograph HRT II mit aufgestecktem Rostock Cornea Module (RCM). Darunter der schematische Aufbau des RCM (modifiziert nach Heidelberg Engineering).

Die erreichte digitale Bildauflösung entspricht $1\mu\text{m}/\text{Pixel}$ transversal und $2\mu\text{m}/\text{Pixel}$ longitudinal mit einer Bildgröße von 384×384 Pixeln. Die benötigte Zeit für die Registrierung eines Einzelbildes liegt bei rund 24ms . Dies ermöglicht die Aufnahme von Filmsequenzen mit Frameraten von bis zu 30 Bildern pro Sekunde, um auch dynamische Geschehen abbilden zu können.

Eine weitere Anwendungsmöglichkeit des Gerätes bietet die Volume-Funktion. In diesem Modus werden durch einen automatischen transversalen Vorschub in $2\mu\text{m}$ Schritten Querschnittsserien mit 30 bis 40 Bildern über eine Tiefe von entsprechend 60 bis $80\mu\text{m}$ angefertigt.

Als auslösendes Steuerelement der Aufnahme dient dabei immer ein Fußschalter, welcher den Vorteil einer vibrationsarmen Bedienbarkeit bietet.

Unabhängig von der gewählten Erfassungsmethode wird parallel über eine CCD-Kamera ein seitliches Livebild mit 640×480 Pixeln angeboten, welches eine Positionskontrolle auch ohne direkte Einsicht in das Untersuchungsgebiet erlaubt (s. Abb. 10).



Abb. 10: Rostock Cornea Module mit schwenkbarer CCD-Kamera.

An Verbrauchsmaterial verwendet das RCM eine Acryl-Einmalkappe (Polymethylmethacrylat), die sogenannte „TOMOCAP“ der Firma Heidelberg Engineering zur Herstellung eines rotationsfreien Kontakts mit dem Auge des Patienten.

Dabei fungiert eine kleine Menge hochviskösen Gels als Brücke zwischen der Kappe und dem Objektiv einerseits, und der Kappe und dem Patienten andererseits.

3.2 Untersuchungsablauf

Das untersuchte Patientenkollektiv bestand aus Patienten mit Kontrollterminen in der Glaukomambulanz, sowie Patienten aus der direkten postoperativen Nachsorge in der LMU Augenklinik München.

In der Zeit von April 2004 bis April 2005 konnten auf diese Weise insgesamt 46 Patienten mit insgesamt 53 Sickerkissen für die Untersuchung gewonnen werden. Durch Folgeuntersuchungen ergaben sich an diesen 53 Sickerkissen 62 verwertbare konfokale Untersuchungen, während derer im Mittel 135 konfokale Bilder (Min.: 44, Max.: 608) pro Untersuchung gespeichert und in die Auswertung einbezogen wurden.

In der LMU Augenklinik werden vorhandene Sickerkissen bei allen Patienten routinemäßig nach dem Beurteilungssystem von Picht und Grehn an der Spaltlampe beurteilt. Somit wurden zu den jeweiligen konfokalen Bildern zugehörige tagesaktuelle klinische Untersuchungswerte für alle Sickerkissen entweder direkt durch Frau PD Elisabeth Messmer oder durch die Glaukomabteilung der LMU Augenklinik erhoben.

Die Patienten wurden während ihrer Untersuchungen - außer der sicherheitsbegründeten Aussparung direkt postoperativer Patienten - ohne weitere Vorauswahl auf ihre

freiwillige Mitarbeit angesprochen. Vor Beginn der Untersuchung wurden sie anschließend genau über den exakten Untersuchungsablauf aufgeklärt und ihr Einverständnis zur Untersuchung wurde eingeholt.

Lag dieses vor, so erhielten die Patienten ein bis zwei Tropfen Oxibuprocain (Conjucaïn EDO[®], Dr. Mann Pharma, Berlin) zur Anästhesie in den unteren Bindehautsack eingetropt. Zusätzlich wurde ein hochvisköses Carbomer 980 Augengel (Vidisic[®], Dr. Mann Pharma) einerseits als Gleitmittel, andererseits zur Herstellung eines Kontaktfilms appliziert.

Anschließend sollten die Patienten im Abblick möglichst konstant einen Punkt zu fixieren, an welchem das Sickerkissen eine für die Untersuchung optimale Position einnahm (vgl. Abb. 11).

Daraufhin wurde die Bindehaut im Bereich des Sickerkissens an mehreren Stellen bis zum Limbus hin untersucht, wobei die genaue Position laufend über die eingebaute CCD-Kamera kontrolliert wurde.

Wurde ein Patient mehrmals während des Erfassungszeitraums vorstellig, wurden ausschließlich die Daten der neuesten Untersuchung verwertet, um Verfälschungen durch die Auswertung von Zuständen transient guter Funktion an letztendlich versagenden Sickerkissen und umgekehrt, nach Möglichkeit zu vermeiden.

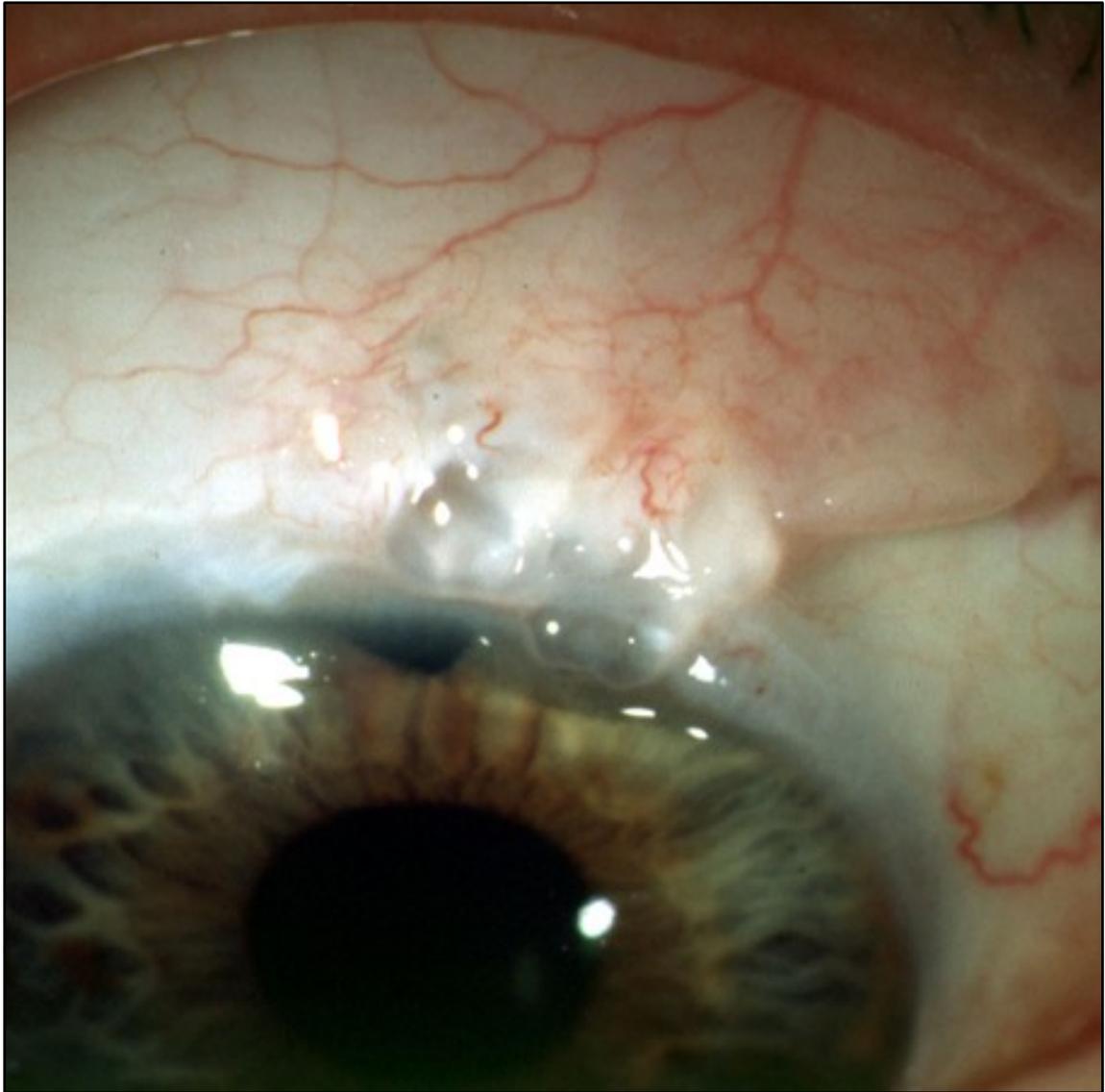


Abb. 11: Sickerkissen im Abblick. Hier mit typisch dünnwandigem Erscheinungsbild nach einer Trabekulektomie mit intraoperativem Einsatz von Mitomycin C.

3.3 Erhobene Patientendaten und Zusammensetzung des Patientenguts

Die Akten der teilnehmenden Patienten wurden, neben der direkten Befragung des Patienten, auf die Kriterien Alter, Geschlecht, Rasse, Glaukomtyp, assoziierte ophthalmologische Grunderkrankung, korneale Dicke, sowie auf Voroperationen vor der Trabekulektomie hin ausgewertet.

Bei 32 Patienten (35 Sickerkissen, 66% aller Sickerkissen) lagen detaillierte Unterlagen bezüglich des intra- und postoperativen Verlaufs vor und erlaubten eine genaue Erfassung von intra- und postoperativen Komplikationen. Die restlichen 18 Operationen erfolgten außer Haus und die OP-Berichte konnten nicht beschafft werden.

Ebenso wurden der intraoperative Einsatz von Mitomycin C, sowie postoperativ erfolgte Injektionen von 5-Fluorouracil oder ein postoperatives Needling als eigenständige Faktoren detailliert vermerkt.

An Glaukomtypen konnten dabei juveniles Glaukom (n=1; 2%), kongenitales Glaukom (n=1; 2%), primäres Offenwinkelglaukom (n=27; 51%), Engwinkel-Glaukom (n=2; 4%), Normaldruckglaukom (n=4; 8%), Sekundärglaukom (n=5; 9%) und Pseudoexfoliationsglaukom (n=13; 24%) unterschieden werden (vgl. Abb. 12).

Die festgestellten Voroperationen umfassten - teils kombiniert - Argon-Laser-Trabekuloplastiken, Laser-Iridotomien, vorherige Trabekulektomien, Viskokanalostomien, Zyklotokoagulation, sowie Katarakteingriffe (vgl. Abb. 13).

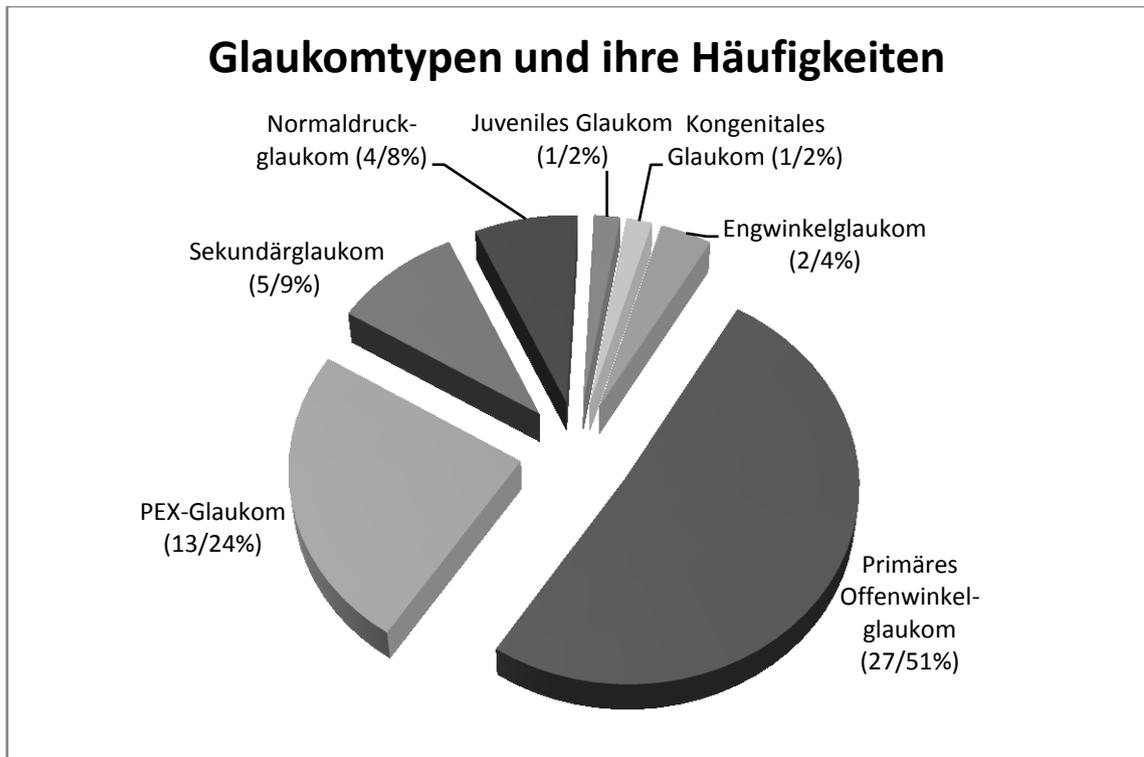


Abb. 12: Gefundene Glaukomtypen im Patientengut mit ihren Häufigkeiten (Anzahl/Prozent der Pat.).

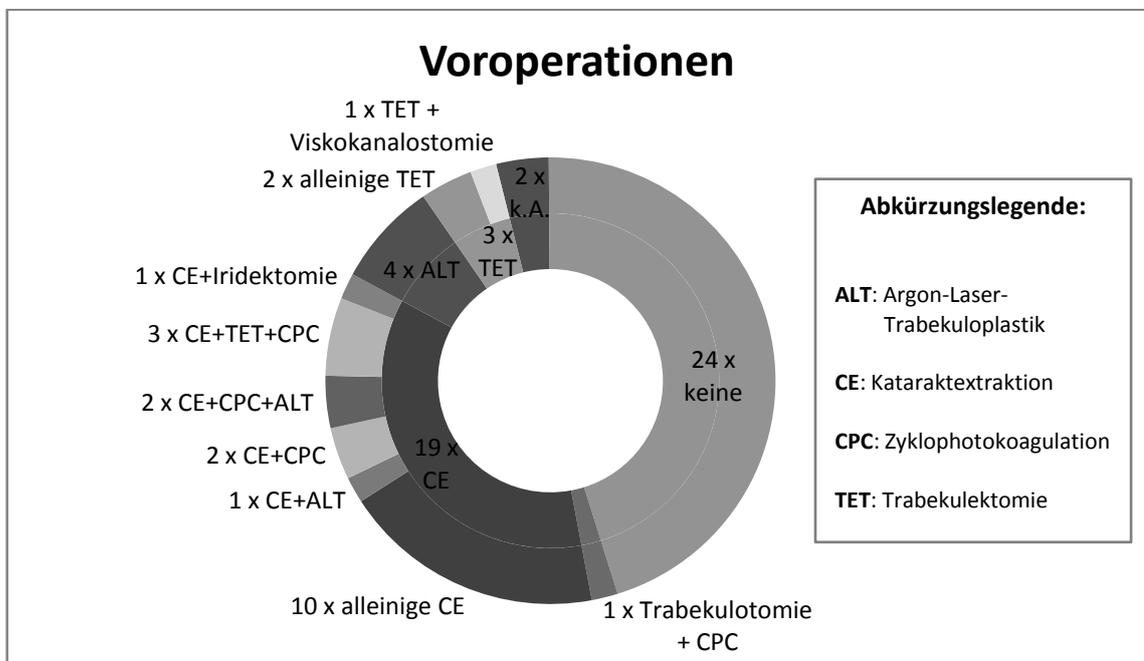


Abb. 13: Voroperationen im Patientengut mit ihren Häufigkeiten. Bei 2 Sickerkissen lagen keine vollständigen Unterlagen zur Auswertung vor (Sektor k.A. in der Grafik).

Zusätzlich wurden direkt am Tag der Untersuchung die Parameter Sehschärfe in log-MAR, aktueller intraokularer Druck und individueller Zieldruck, vergangene Zeit seit der letzten Operation und aktuell angewandte Glaukommedikation festgehalten. Eine aktuelle Pachymetrie war bei allen Patienten bereits durch die Glaukomabteilung der Augenklinik erfolgt und konnte übernommen werden.

Die Sickerkissen wurden außerdem anhand des von Picht und Grehn entwickelten Systems⁷⁷ klinisch bewertet und nach ihrer druckregulierenden Funktion in 3 Untergruppen eingeteilt.

Die Untergruppen bildeten hierbei:

- Gruppe 1 mit erreichtem Zieldruck ohne aktuelle Glaukommedikation
- Gruppe 2 mit erreichtem Zieldruck unter Glaukommedikation
- Gruppe 3 mit verfehlttem Zieldruck oder erreichtem Zieldruck ausschließlich unter oraler Azetazolamid-Therapie

Desweiteren wurden von jedem Sickerkissen am Tag der Untersuchung Digitalfotos des Spaltlampenbefundes erstellt.

3.4 Verwendete Analyse-Software und Methodik

Um eine möglichst geringe Fehlerquote bei der Eingabe der Daten zu erreichen, wurden die erhobenen Daten direkt in einer vom Autor geschriebenen Macromedia Flash[®] Anwendung⁵⁷ erfasst (s. Abb. 14), welche die fertigen Datensätze automatisch zum direkten Import in Microsoft Excel aufbereitete (s. Abb. 15).

Konfokale Mikroskopie der LMU Augenlinik
Analyseprogramm Glaukomstudie

Bitte wählen:

Name: **Vorname:** **Geburtsdatum:** **Geschlecht:** Männlich Weiblich **Alter:**

Auge:
 RA LA

Glaukomform: **Begleiterkrankungen:**

- Keine
- Uveitis
- Cataract
- Sturge-Weber-Syndrom
- ICE-Syndrom
- Z.n. Trauma

Therapie vor OP:

Voroperationen:

Seite 2
Weiter >>

Abb. 14: Flash-Programm zur Erfassung der Patientendaten, oben mit aufgeklapptem Feld zu etwaigen Begleiterkrankungen.

Konfokale Mikroskopie der LMU Augenlinik
Analyseprogramm Glaukomstudie

Mustermann, Max, RA

Operation: TET m. MMC TET o. MMC Viskokanalostomie **Seite 1**
<< Zurück

OP-Datum:

Intraoperativer Verlauf:
 Unkompliziert
 Deckeleinriss i.o. flache VK mit Healon Blutung
 premature entry Glaskörperprolaps

Postoperativer Verlauf:
 Unkompliziert BH-Dehiszenz Vernarbung Aderhautamotio Hypotonie > 5 Tage
 Fibrinreaktion Hyphäma Überfiltration VK-Abflachung
 HH-Komplikat. Irisprolaps Fadeneröffnung nötig
 Fistel Steroidglaukom ZK-Abhebung Malignes Glaukom

Seite 3
Weiter >>

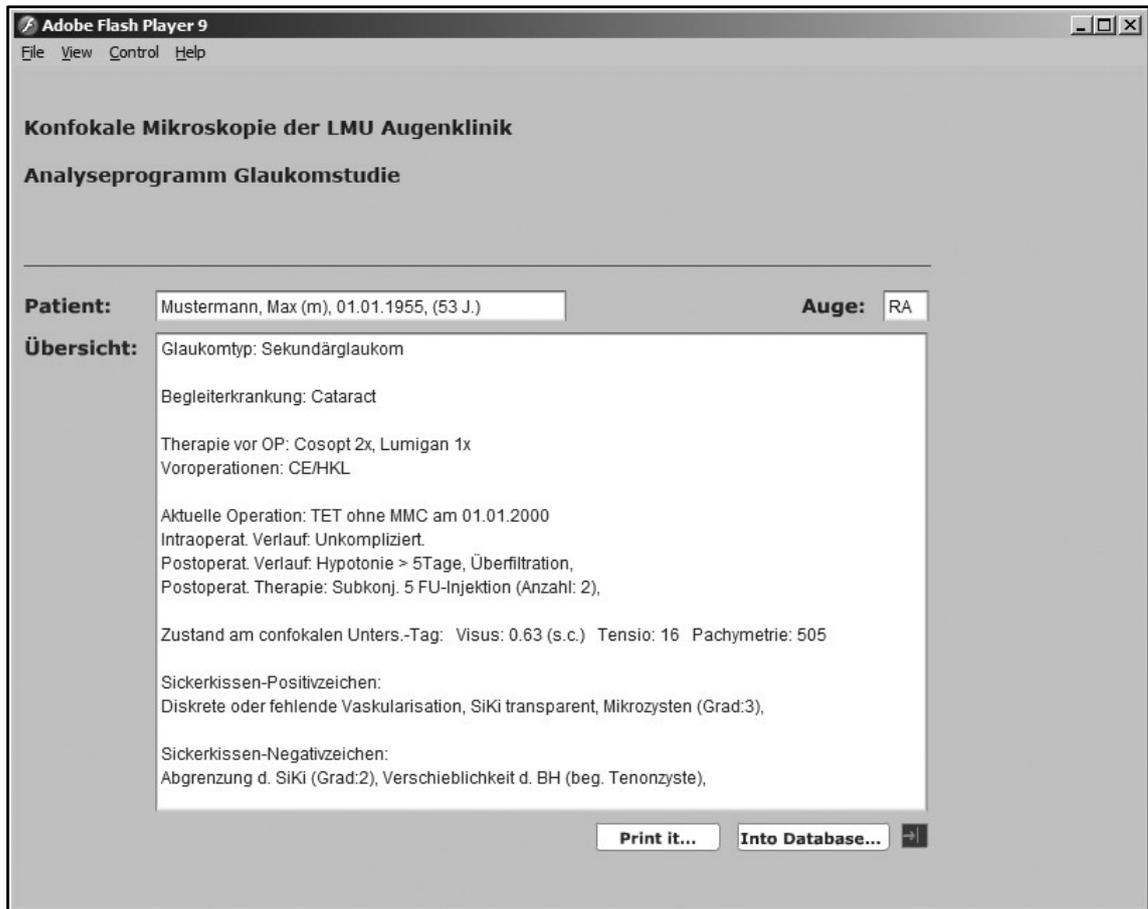


Abb. 15: Zusammenfassung der erhobenen Daten mit der Möglichkeit eines direkten Ausdrucks oder der Übernahme in Microsoft Excel.

Für die statistische Auswertung wurden von einem unabhängigen, hinsichtlich der Funktion des Sickerkissens verblindeten Untersucher (Frau PD Dr. Elisabeth Messmer) aus den Gesamtbildern jeder Untersuchung jeweils 5 repräsentative Bilder epithelialer, sowie tiefer stromaler Schichten für die Begutachtung der Zysten und der Gewebebeschaffenheit ausgewählt. Weitere 5 repräsentative Bilder dienten der Beurteilung lokaler Blutgefäße.

Anschließend wurden die gewählten Bilder vom Autor mithilfe des frei erhältlichen, wissenschaftlichen Bildbearbeitungsprogramms ImageJ⁸⁰ unabhängig ausgewertet.

3.5 Analyse der konfokalen Mikrozysten

Bei den epithelialen Bildern wurde aufgrund der guten Abgrenzbarkeit einzelner Zysten voneinander neben der Zystenfläche, und deren prozentualem Anteil an der Gesamtbild-Fläche, als zusätzliches Kriterium die Zahl der Zysten erfasst (s. Abb. 16).

Dagegen wurde in den tieferen, stromalen Regionen aufgrund des flächigen Erscheinungsbildes der stromalen Zysten ausschließlich die Bildfläche des zystischen Anteils und dessen Verhältnis zur Gesamtbildfläche ausgewertet (s. Abb. 17).

Bei der Bearbeitung wurde dabei ein spezielles Javascript-Plugin⁸¹ (s. Anhang I) für ImageJ verwendet, um die manuelle Zystenselektion insbesondere bei den epithelialen Bildern zu vereinfachen.

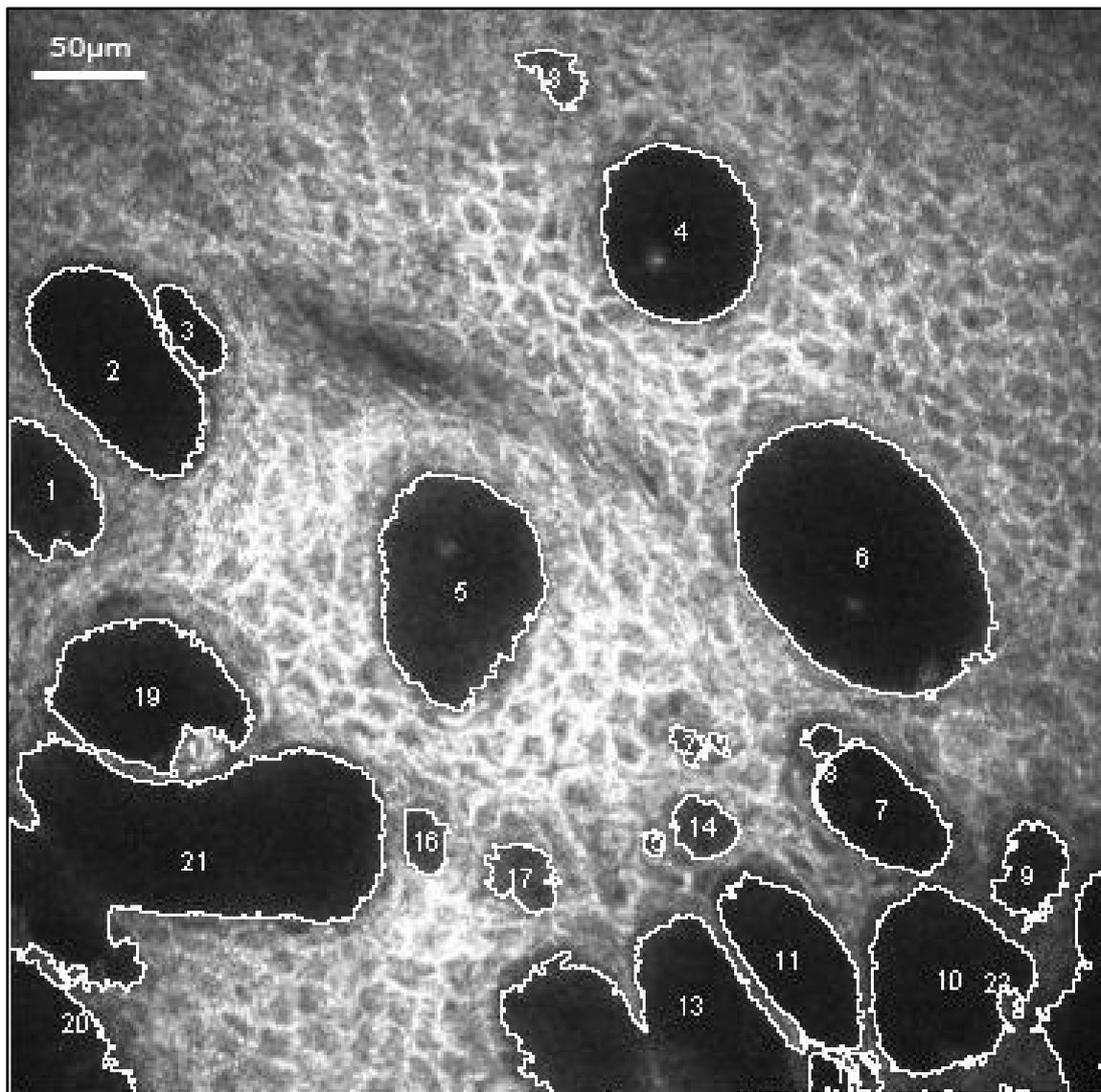


Abb. 16: Markierte epitheliale Mikrozysten.

Aufgrund des großflächigen und zusammenhängenden Verlaufs einzelner Areale war bei der Auswertung der stromalen Bilder bei 24 Sickerkissen (45,3%) der Einsatz einer Threshold-Funktion zur Flächenmarkierung zweckmäßig (vgl. Abb. 17).

Zusätzlich zu dieser flächenorientierten Markierung wurden alle Sickerkissen dabei manuell nach- und gegebenenfalls überarbeitet.

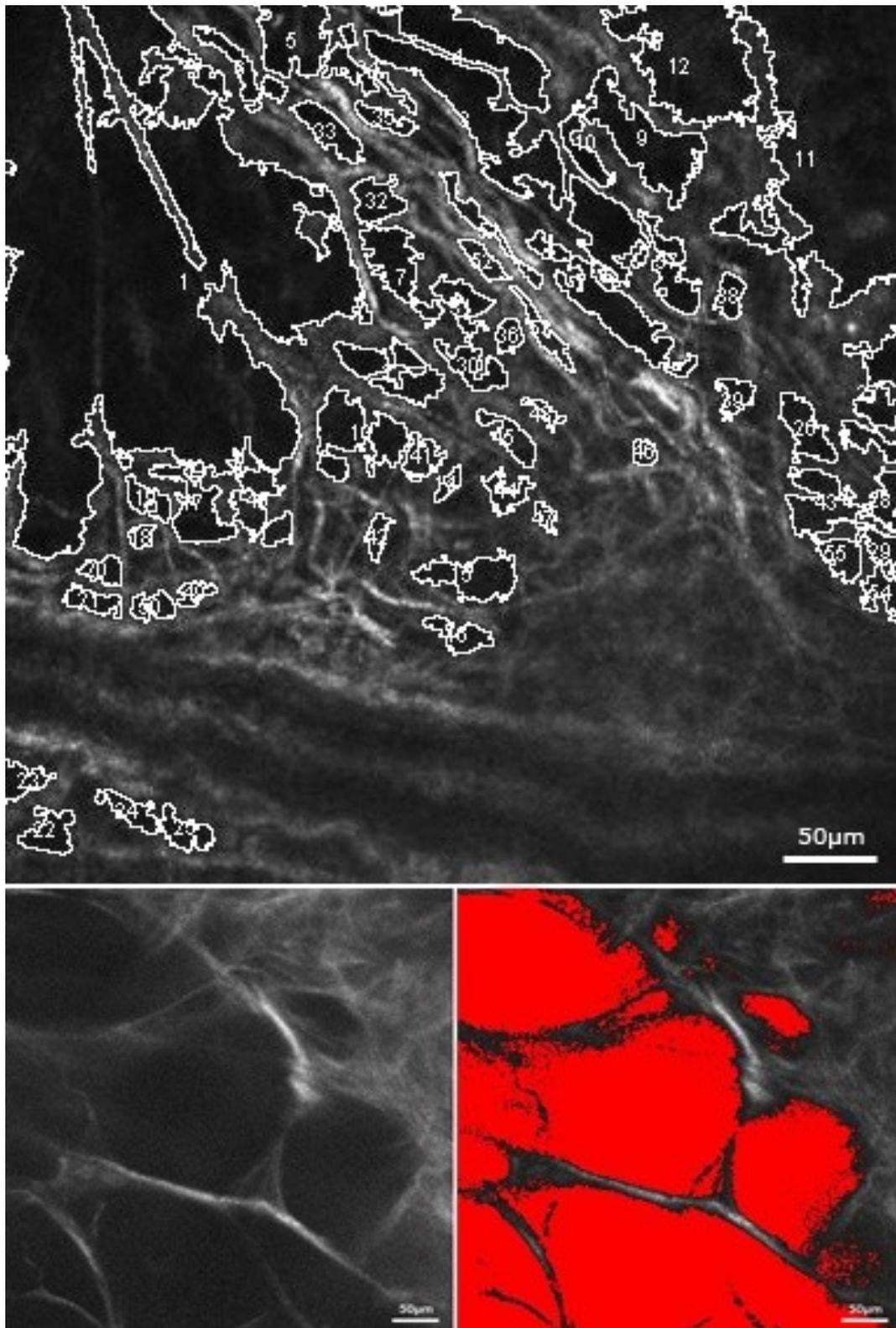


Abb. 17: Markierte Stroma-Areale. Oben in Handauswahl, unten vor und nach der Markierung mittels der Threshold-Funktion.

3.6 Analyse der konfokalen Gefäße

Die ausgewählten Bilder zur Beurteilung der Blutgefäße wurden in den Kategorien Anzahl, Durchmesser und Tortuositas von einem hinsichtlich der verbundenen klinischen Funktion des Sickerkissens verblindeten Untersucher (PD Dr. E. Messmer) in drei bzw. vier voneinander unterscheidbare Grade eingeteilt (vgl. Tab. 2).

In der Kategorie „Anzahl“ entsprach dabei Grad 0 einem avaskulären Sickerkissen, Grad 1 dem Auftreten von einem Blutgefäß pro Bild, Grad 2 einer Anzahl von zwei bis drei Gefäßen, sowie Grad 3 drei oder mehr sichtbaren Gefäßen.

Die Kategorie „Durchmesser“ wurde in die Blöcke kleiner als 20 µm, 21 bis 50 µm, sowie größer 50 µm unterteilt.

Die Kategorie der „Tortuositas“ wurde mit den Graden Grad 0 (gestreckt) und den Graden Grad 1 bis 3 (mild bis schwer) wiederum in vier Untergruppen aufgeteilt (s. Abb. 18).

Tab. 2: Beurteilungskriterien für den Grad und die Art der Vaskularisation.

	Grad 0	Grad 1	Grad 2	Grad 3
Anzahl	0	< 1	2 - 3	> 3
Durchmesser	. / .	< 20µm	21µm - 50µm	> 50µm
Tortuositas	gestreckt	mild	moderat	schwer

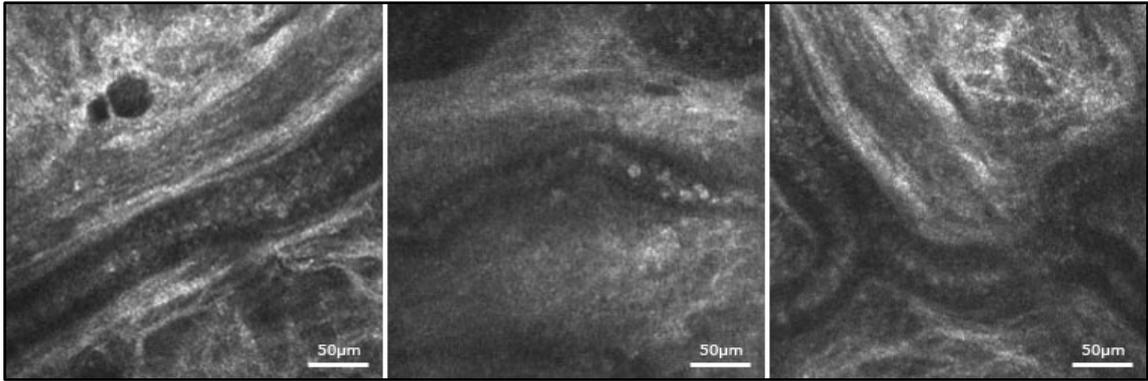


Abb. 18: Beispiele der Gewundenheitsgrade 0 (links), 1 (zentral) und 3 (rechts).



Abb. 19: Spaltlampenphotographie eines Sickerkissens von schlechter Funktion mit hohem Vaskularisationsgrad.

4 Ergebnisse

4.1 Generelle Analyse des Patientenguts und der erhobenen Daten

Die erhobenen Daten wurden anschließend in SPSS v.15, SPSS Inc. importiert und statistisch ausgewertet.

Hierbei kam für nominalskalierte Werte der χ^2 -Test und für ordinal skalierte Werte der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman zum Einsatz.

Wie schon in Kapitel 3.3 erwähnt, wurden insgesamt 62 Untersuchungen an den 53 Sickerkissen der 46 Patienten durchgeführt. Dabei waren alle Patienten weißer Hautfarbe, 27 Patienten (59%) waren weiblich und das mittlere Alter lag bei 67,02 Jahren (Altersspanne 24-90 Jahre).

27 Sickerkissen (50,9%) lagen an rechten, 26 (49,1%) an linken Augen vor. Eine Zusammenfassung der übrigen ermittelten Eckdaten des Patientenkollektivs zeigt Tab. 3.

Tab. 3: Alter, Visus und Hornhautdicke am Untersuchungstag.

	Min.	Max.	Mittel	Std. Abw.
Alter	24 J.	90 J.	67,02 J.	13,126
Visus (logMAR)	0,0	3,0	0,558	0,532
Hornhautdicke	470 μ m	670 μ m	549,92 μ m	44,66 μ m

Neben dem primären Offenwinkelglaukom als häufigstem gefundenen Glaukomtyp (27 Augen, 50,9%) fanden sich in der Reihenfolge ihres Auftretens: Pseudoexfoliationsglaukom (8 Augen, 24,5%), Sekundärglaukom (5 Augen, 9,4%), Normaldruckglaukom (4 Augen, 7,5%) und Engwinkelglaukom (2 Augen, 3,8%), sowie je ein Fall eines kongenitalen und juvenilen Glaukoms (1,9%) (vgl. Tab. 4).

Tab. 4: Gefundene Glaukomtypen und ihre Häufigkeiten im Patientengut.

Glaukomtyp	Häufigkeiten	Prozent
Primäres Offenwinkelglaukom	27 Augen	50,9 %
Pseudoexfoliationsglaukom	8 Augen	24,5 %
Sekundärglaukom	5 Augen	9,4 %
Normaldruckglaukom	4 Augen	7,5 %
Engwinkelglaukom	2 Augen	3,8 %
Kongenitales Glaukom	1 Auge	1,9 %
Juveniles Glaukom	1 Auge	1,9 %

Die Patientengruppe der Sekundärglaukome enthielt dabei zwei Fälle von uveitischen Glaukomen und einen Fall eines iridocorneoendothelialen Syndroms. Abgesehen von diesen 3 Fällen teilten sich die übrigen Patienten in zwei Gruppen von 26 Fällen (49,1%) ohne weitere ophthalmologische Begleiterkrankung und 24 Fälle (45,3) mit begleitender Katarakt auf (vgl. Abb. 20).

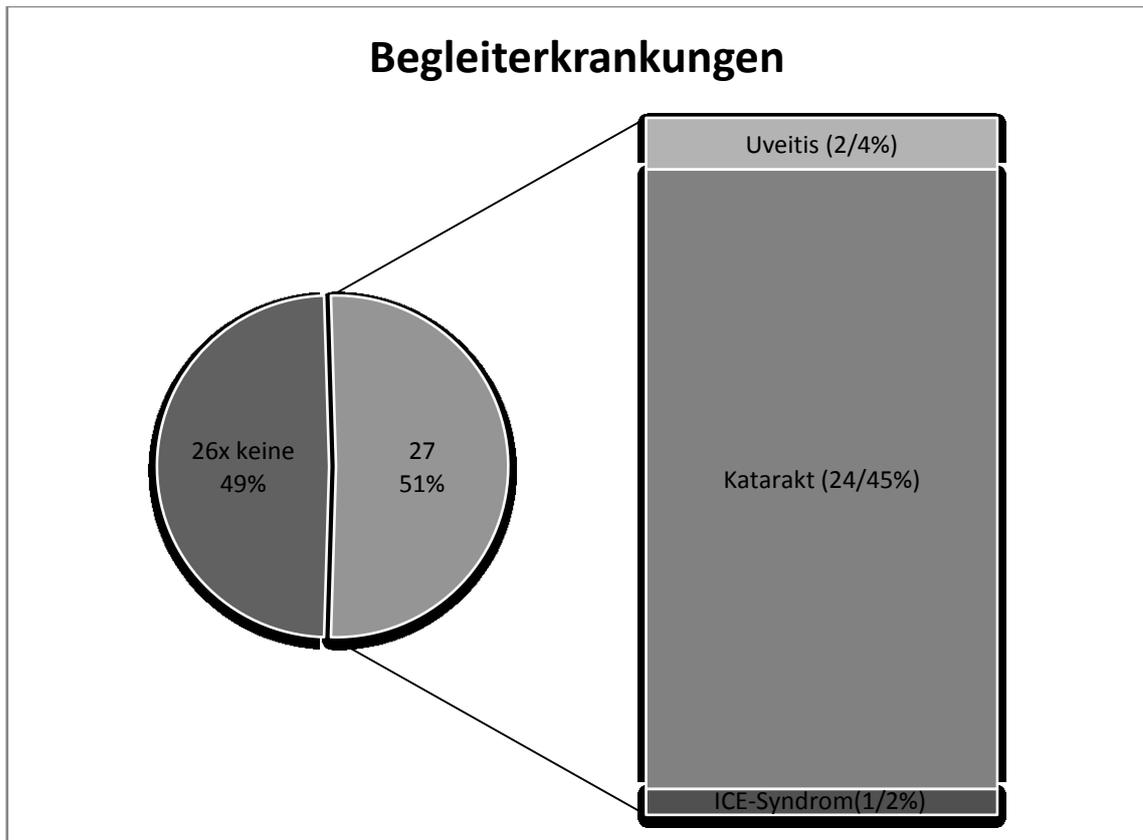


Abb. 20: Ophthalmologische Begleiterkrankungen mit ihren Häufigkeiten im Patientengut.

Die Untersuchung der Patienten erfolgte zwischen 6 Tagen und 30 Jahren nach der jeweiligen Trabekulektomie. Noch kürzere Abstände zwischen der Operation und der konfokalen Untersuchung wurden aufgrund von Nutzen-Risiko Überlegungen für den Patienten vermieden.

Tab. 5: Zeitintervall zwischen Operation und Untersuchung.

Minimum	Maximum	Mittel
6 Tage	30 Jahre	3,978 Jahre

Bei insgesamt 11 Sickerkissen (20,8%) war nach der Entscheidung des Operateurs der intraoperative Einsatz von Mitomycin C erfolgt.

Auch war bei 8 (18,2%) der 44 Sickerkissen mit verwertbaren kontinuierlichen Akten-einträgen ein mehrfacher postoperativer Einsatz von 5-Fluorouracil nachweisbar. Ebenfalls bei 8 (18,2%) Sickerkissen war ein teils mehrfaches Needling erfolgt.

Im Gegensatz zu den beschriebenen Voroperationen waren eine postoperative Zyklotokoagulation (CPC) sowie eine direkte operative Sickerkissenrevision bis zum Untersuchungstag nur bei einem Sickerkissen (2,3%) erfolgt.

Tab. 6: Postoperative Interventionen mit Häufigkeiten und jeweiliger Anzahl.

Intervention	Häufigkeit	Prozent	Min.	Max.	Mittel
5-FU Injektion	8	18,2%	2	7	4,25
Needling	8	18,2%	1	4	1,63
CPC	1	2,3%			
TET-Revision	1	2,3%			

4.2 Analyse der drucksenkenden Funktion der untersuchten Sickerkissen

Am Tag der Untersuchung war bei 30 Augen (57%) der individuellen Zieldruck ohne glaukomwirksame Medikation erreicht (Gruppe 1, gute Funktion).

11 Augen (21%) hielten ihren Zieldruck unter Anwendung von bis zu vier antiglaukomatösen Medikamenten, exklusive systemischer Azetazolamid-Gabe (Gruppe 2, moderate Funktion).

Bei 12 Augen (22%) wurde der Zieldruck entweder vollkommen verfehlt oder er stellte sich nur unter systemischer Azetazolamidtherapie ein. In beiden Fällen wurden den Sickerkissen eine ungenügende regulierende Funktion (Gruppe 3, schlechte Funktion) bescheinigt und entsprechend weitere chirurgische Interventionen erwogen.

Tab. 7: Funktionsgruppen mit den Zeitintervallen seit OP.

Gruppe	Anzahl	Zeit seit OP		
		Spanne	Mittel	Median
Gruppe 1	30 (57%)	6 T. - 30 J.	3,9 Jahre	4,5 Monate
Gruppe 2	11 (21%)	31 T. - 26 J.	5,3 Jahre	3,5 Jahre
Gruppe 3	12 (22%)	43 T. - 15 J.	3,0 Jahre	11,1 Monate

4.3 Statistische Korrelationen der Spaltlampen-Befunde

Wie erwartet zeigte sich dabei eine Korrelation zwischen der klinisch morphologischen Beurteilung der Sickerkissen an der Spaltlampe durch einen erfahrenen Augenarzt und der gemessenen Funktion der Sickerkissen.

Klinisch sichtbare Mikrozysten der Konjunktiva ($P < 0,001$), moderate Erhabenheit des eigentlichen Sickerkissens ($P < 0,001$) und ein eher diffuses Aussehen des Sickerkissens ($P = 0,01$) korrelierten signifikant mit einer guten Funktion der Sickerkissen.

Im Gegenzug zeigte sich eine entsprechende Assoziation zwischen vernarbten ($P < 0,001$) oder hochprominenten ($P = 0,02$) Sickerkissen einerseits, und verfehlten Zieldrücken andererseits (s. Tab. 8).

Tab. 8: Spaltlampenbefunde mit ihrer Korrelation zur ermittelten Sickerkissen-Funktion.

Positiv-Zeichen			
	Mikrozysten der Konjunktiva	Moderate Erhabenheit	Diffuses Sickerkissen
Signifikanz	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$P < 0,01$
Negativ-Zeichen			
	Hochprominentes Sickerkissen	Vernarbungszeichen	
Signifikanz	$P = 0,2$	$P < 0,001$	

4.4 Epitheliale konfokale Befunde und statistische Korrelationen mit der Funktion des Sickerkissens

Die epitheliale Dicke lag bei allen Patienten zwischen 11 und 80 μm und war weder mit einer besseren oder schlechteren Funktion, noch mit einem intraoperativen Einsatz von Mitomycin C oder dem postoperativen Einsatz von 5-Fluorouracil assoziiert.

In den konfokal-mikroskopischen Scans fanden sich im Epithel keine bis 34 Mikrozysten (Mittel: 7 Mikrozysten), wobei diese gemeinsam eine entsprechende Fläche von 0 bis 63 mm^2 (Mittel: 9 mm^2) einnahmen (vgl. Abb. 21). Dies entsprach einem prozentualen Anteil an der Bildfläche von 0 bis 39% (Mittel: 6%).

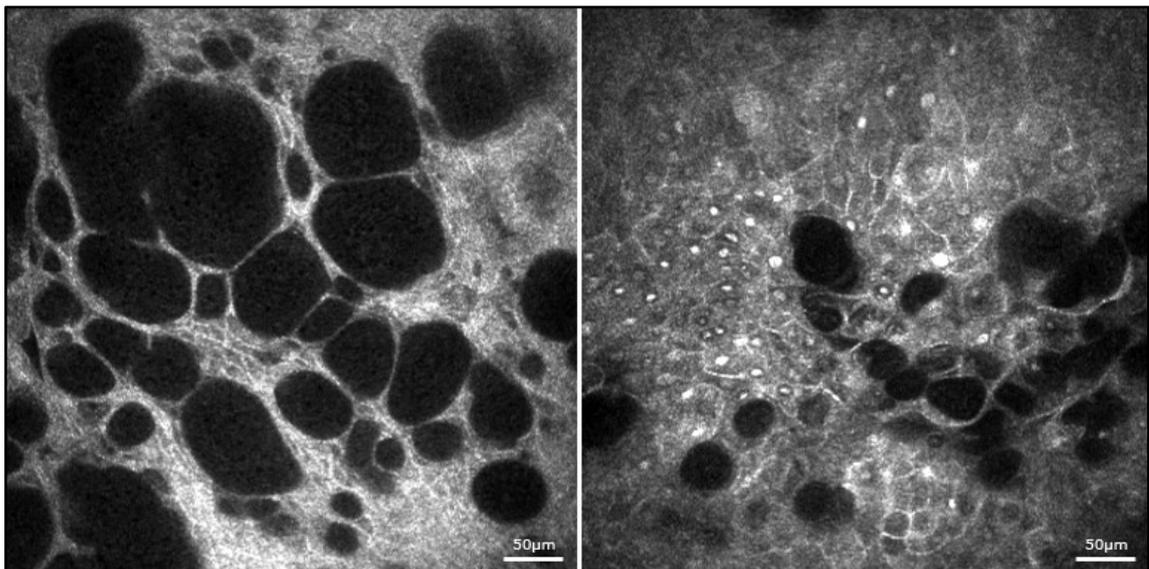


Abb. 21: Epitheliale Mikrozysten. Links in einer Tiefe von 7 μm , rechts direkt an der Epitheloberfläche bei leichtem Schräganschnitt.

Die Zahl in der konfokalen in-vivo Mikroskopie gefundener epithelialer Zysten korrelierte dabei signifikant mit der Funktion des Sickerkissens ($P=0,03$). Dabei zeigte sich außerdem, dass ausschließlich Sickerkissen, welche bei ihrer Beurteilung an der Spalt-

lampe den höchsten Grad für die Anzahl der Mikrozysten erhalten hatten, gut mit der Anwesenheit von Mikrozysten in den konfokalen Bildern korrelierten ($P=0,02$).

Tab. 9: Epitheliale Mikrozysten und Dicke der Basalmembran in Korrelation mit der Funktion.

	Min.	Max.	Mittel	Korrelation mit Funktion
Basalmembran (Dicke)	2 μm	100 μm	38 μm	Nein
Mikrozysten - Zahl	0	34	7	P = 0,03
- Fläche	0 mm^2	63 mm^2	9 mm^2	
- Prozent v. Bild	0 %	39 %	6 %	

Bei rund einem Drittel der Sickerkissen (Gruppe 1, gute Funktion, 37%; Gruppe 2, moderate Funktion, 27%, Gruppe 3, schlechte Funktion, 42%) aller klinischen Funktionsgrade zeigten sich auch Mikrozysten mit gekapseltem Aspekt im Epithel (s. Abb. 22).

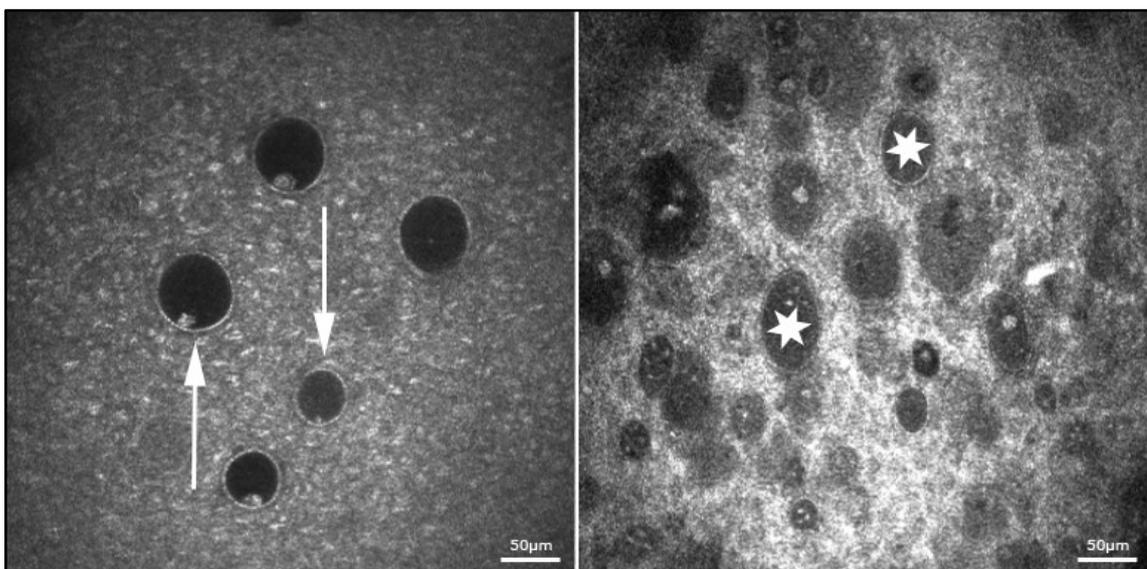


Abb. 22: Epitheliale Mikrozysten. Links mit gekapseltem Aspekt (Pfeile), rechts gefüllt mit amorphem Material (Sterne), hier bei jeweils zugrundeliegendem Pseudoexfoliationsglaukom.

In den Sickerkissen einiger Patienten ließen sich außerdem mit amorphem Material gefüllte Mikrozysten nachweisen (s. Abb. 22 rechts). Typischerweise fanden sich im Epithel der Konjunktiva neben Mikrozysten auch einzelne Becherzellen (s. Abb. 23).

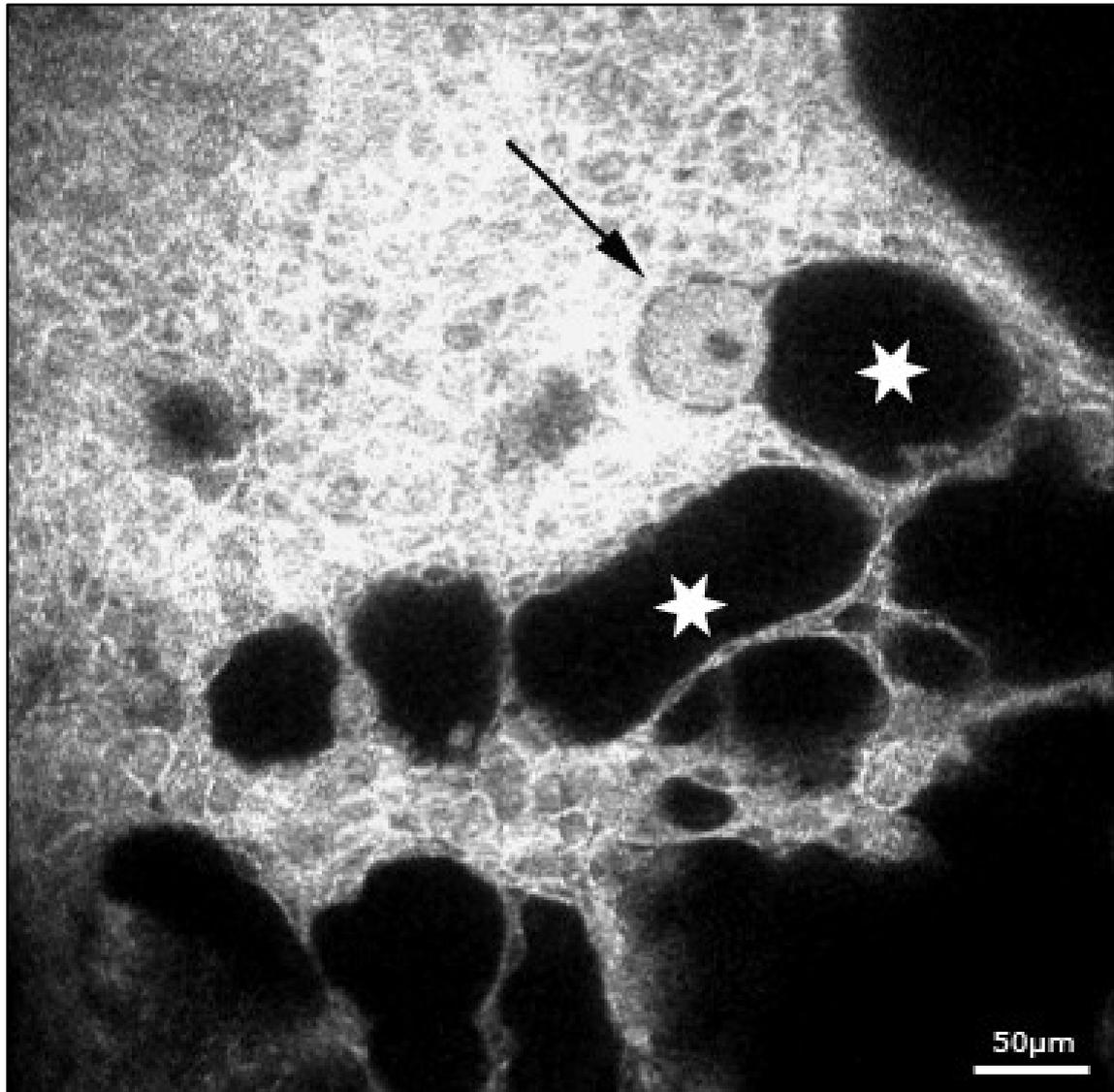


Abb. 23: *Mutmaßliche Becherzelle (Pfeile) direkt neben mehreren epithelialen Mikrozysten (Sterne), alle in einer Tiefe von 2µm.*

Unterhalb des Epithels zeigte sich die hochreflektive Basalmembran mit einer Dicke von 2 bis 100 µm (Mittelwert 38µm), wie sie auch in normaler Bindehaut beschrieben worden ist⁶⁴.

4.5 Stromale konfokale Befunde und statistische Korrelationen mit der Funktion des Sickerkissens

Die stromalen Bilder der Sickerkissen wiesen dagegen 4 typische Formen auf, wobei diese teilweise nebeneinander auftraten (vgl. Abb. 24):

- ein lockeres, kollagen-förmiges Netzgeflecht
- eine stark verdichtete, hyperreflektive Struktur ohne nennenswerte Hohlräume
- ein stark rarifiziertes Kollagenetz mit großen, bisweilen annähernd bildfüllenden Hohlräumen
- ein verwaschenes, detailarmes Stroma

Die lockere, kollagen-förmige Netzstruktur stellte hierbei mit 39 Sickerkissen (74%) den Hauptteil in den untersuchten Augen, wohingegen sich die verdichtete Form bei 11 Sickerkissen (21%) nachweisen ließ.

Diese dichte, hochreflektive Form war dabei signifikant mit einem Versagen des zugehörigen Sickerkissens assoziiert ($P < 0,001$).

Bei einem Teil der Patienten mit hochreflektivem, verdichtetem Aspekt im oberflächlichen Stroma ließ sich allerdings ein gewisser vertikaler Schichtaufbau mit weiteren Arealen auch lockerer Struktur in der Tiefe des Sickerkissens unterhalb der verdichteten Schicht nachweisen.

Die extrem lockere, rarifizierte Form des Sickerkissenstromas (vgl. Abb. 25), welche bei insgesamt 11 Sickerkissen (21%) nachgewiesen werden konnte, zeigte sich dabei signifikant im Zusammenhang mit dem intraoperativen Einsatz von Mitomycin C ($P=0,001$).

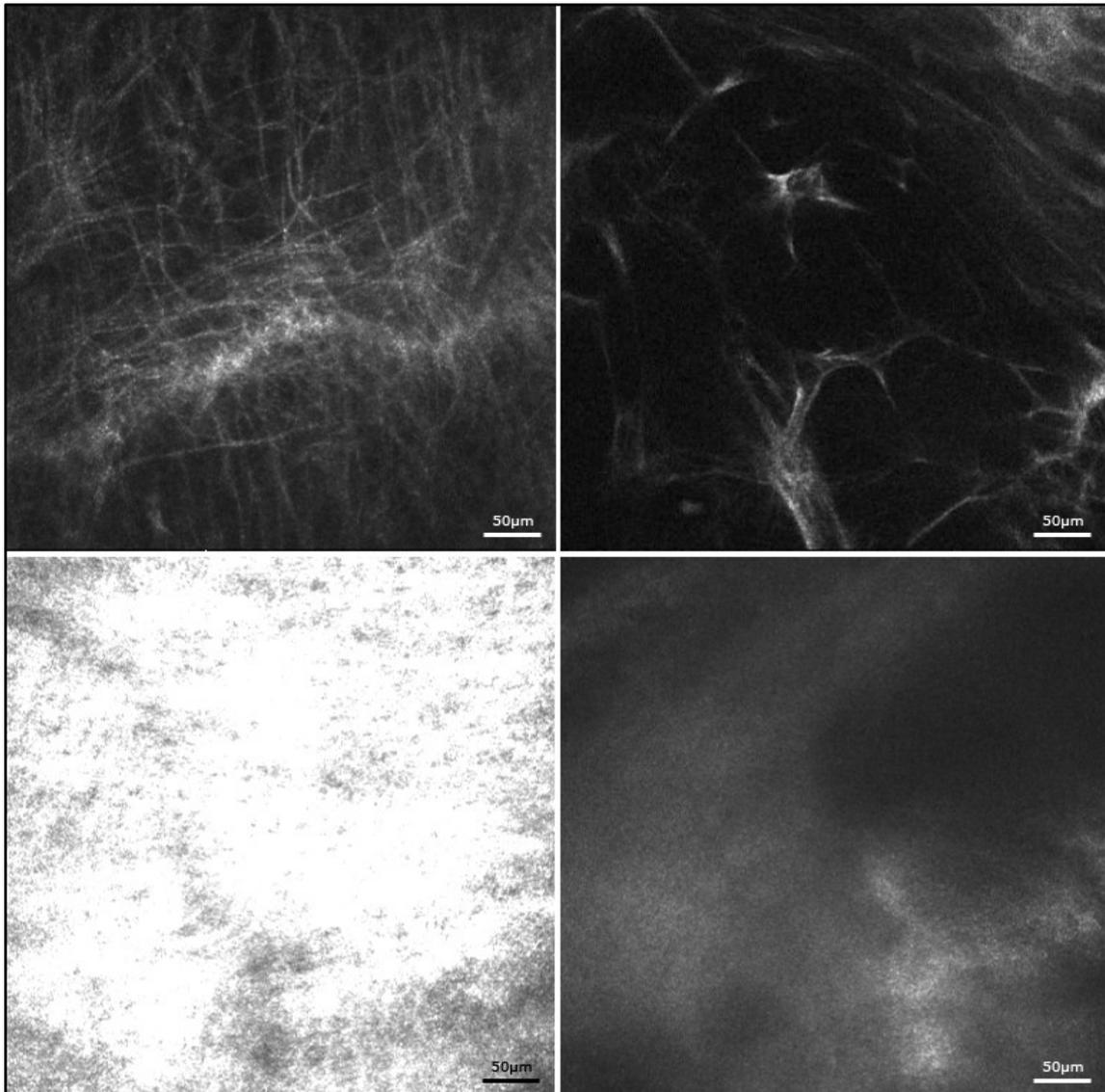


Abb. 24: Die 4 typischen Stroma-Erscheinungsbilder: Lockere Netzstruktur (oben links). Rarifiziertes Stroma nach Mitomycin C Anwendung (oben rechts). Dichtes, hyperreflektives Stroma (unten links). Verwaschenes Stroma (unten rechts).

Das Vorhandensein eines verwaschenen Stromas ließ sich typischerweise für eine kurze Zeit von unter 2 Monaten postoperativ nachweisen und ging hauptsächlich mit einem ansonsten lockeren Bindegewebsgerüst einher.

Tab. 10: Erscheinungsbild des Stromas in Korrelation mit der Funktion (Gruppe 1 mit guter, Gruppe 2 mit moderater und Gruppe 3 mit schlechter Sickerkissenfunktion hinsichtlich der Druckregulation).

Stromaaspekt	Sickerkissenfunktion			Korrelation
	Gruppe 1 n = 30	Gruppe 2 n = 11	Gruppe 3 n = 12	
Lose Netzstruktur	26 (87%)	8 (73 %)	5 (42%)	P = 0,09
Rarifiziert mit Zysten	7 (23%)	3 (27%)	1 (1,89%)	P = 0,42
Dicht, hyperreflektiv	0	0	11 (92%)	Schlechte Funktion P < 0,001
Verwaschen	5 (17%)	3 (27%)	1 (1,89%)	P = 0,79

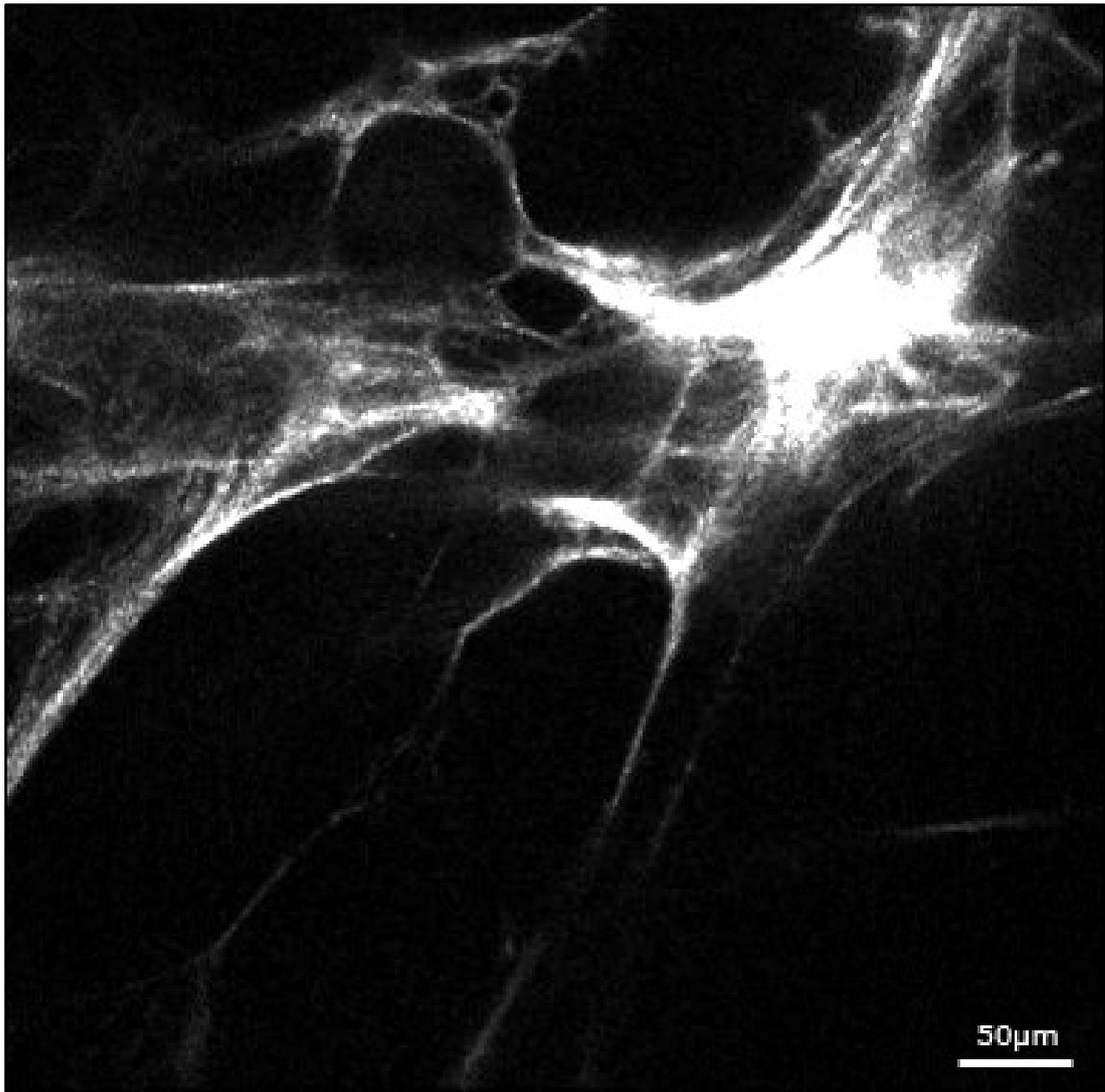


Abb. 25: *Typisches Bild stromaler Strukturen nach einer Trabekulektomie mit Mitomycin C.*

Unabhängig von der Unterscheidung der Gesamtstruktur des Stromas hinsichtlich dessen Dichte konnte eine zusätzliche Unterscheidung zweier unterschiedlicher Wandstrukturen der Hohlräume, respektive Zysten im Stroma getroffen werden, nämlich in gekapselte und ungekapselte Kammern (vgl. Abb. 26).

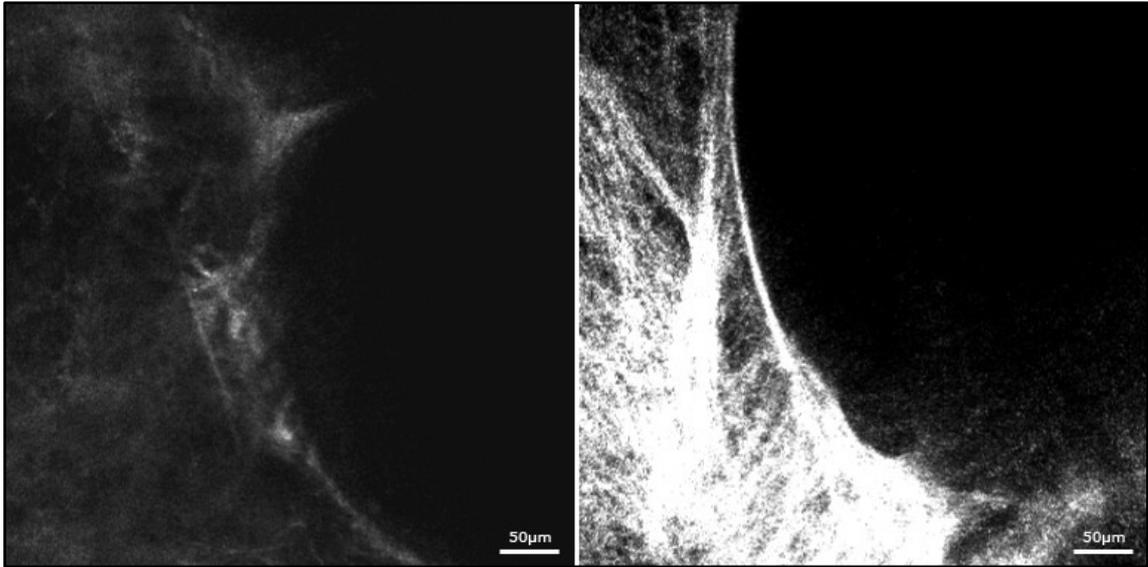


Abb. 26: Ungekapseltes Stroma-Areal (links) in einer Tiefe von 107 μm , rechts ein gekapseltes Stroma-Areal in einer Tiefe von 71 μm .

Dabei zeigten 43 Sickerkissen (81%) ungekapselte stromale Einzelzysten, bei 19 Sickerkissen (36%) ließ sich - z.T. parallel hierzu - eine Abkapselung einzelner bis aller Zysten nachweisen, so dass sich bei 16 Sickerkissen (30%) ein Nebeneinander beider Formen fand. Lediglich 7 Sickerkissen wiesen keinerlei stromale Zysten auf.

Das Fehlen abgekapselter Zysten zeigte sich dabei signifikant korrelierend mit einer guten Funktion ($P=0,002$) des gesamten Sickerkissens.

Wie im epithelialen Areal korrelierte auch in den stromalen Anteilen die Größe der durch Zysten besetzten Fläche signifikant mit einer guten Funktion des Sickerkissens ($P=0,009$).

Hierbei variierte die Fläche im Einzelnen von 0,5 bis 108 mm^2 (Mittel 40 mm^2), was einem prozentualen Bildanteil von 0,3% bis 67% (Mittel 25%) gleichkam.

Tab. 11: Stromale Zystentypen und die jeweilige Korrelation mit der Sickerkissen-Funktion (Gruppe 1 mit guter, Gruppe 2 mit moderater und Gruppe 3 mit schlechter Sickerkissenfunktion, vgl. S. 48).

Stromale Zysten	Sickerkissenfunktion			Korrelation
	Gruppe 1 n = 30	Gruppe 2 n = 11	Gruppe 3 n = 12	
Gesamtfläche (Mittel)	46,1 mm ²	37,0 mm ²	25,6 mm ²	Gute Funktion P = 0,009
Stromale Zysten mit Kapsel	11 (37%)	3 (27%)	5 (42%)	P = 0,95
Stromale Zysten ohne Kapsel	28 (93%)	9 (82%)	6 (50%)	Gute Funktion P = 0,002

4.6 Gefundene konfokale Gefäßstrukturen und statistische Korrelationen mit der Funktion des Sickerkissens

Aufgrund der hohen Auflösung und der kurzen Erfassungszeit der Einzelbilder ließen sich perfundierte Gefäße in Echtzeit beobachten. Es konnten sowohl der Blutfluss, als auch die verschiedenen Zelltypen beurteilt werden (vgl. Abb. 27).

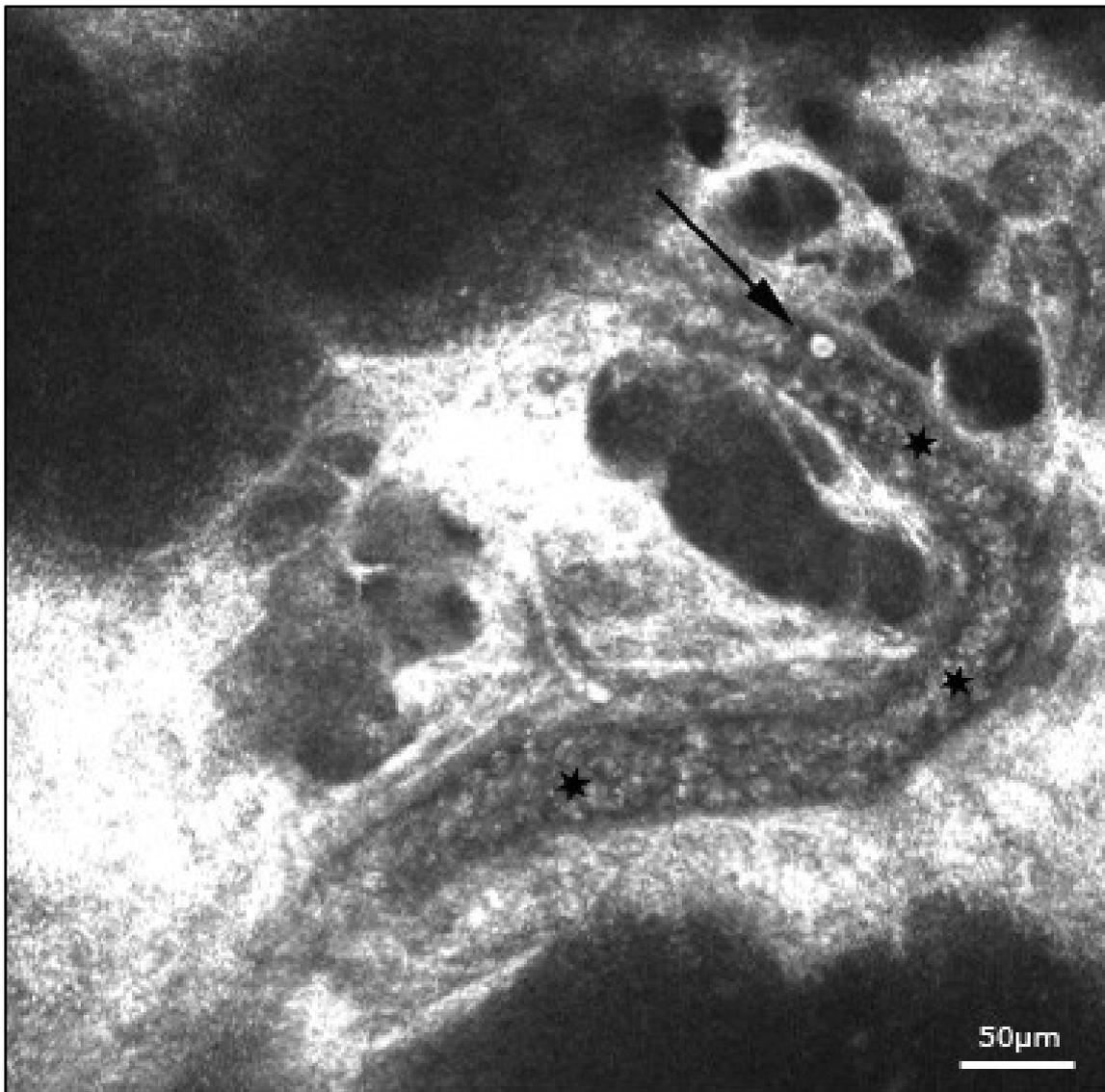


Abb. 27: Durchströmtes Blutgefäß mit Erythrozyten (Sterne) und patrouillierender Rundzelle (Pfeil).

Durchblutete Gefäße wurden flankiert von hyporeflektiven Arealen, die möglicherweise begleitenden lymphatischen Gefäßen, oder aber komprimierten Venen entsprachen (s. Abb. 28).

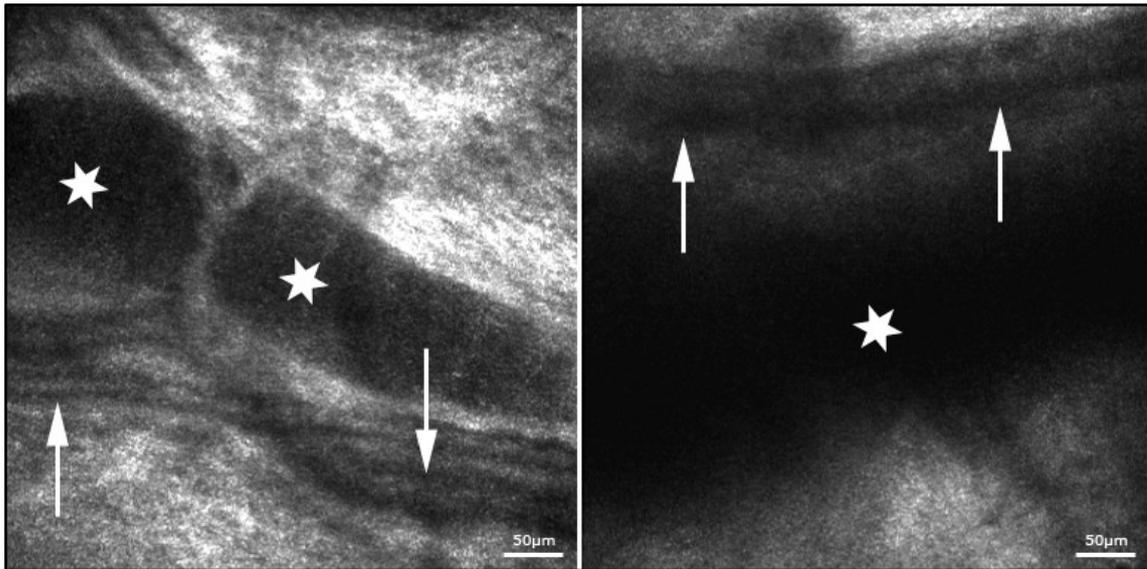


Abb. 28: Lymphatische oder komprimierte venöse Begleitstrukturen (Sterne) direkt neben gefüllten Blutgefäßen (Pfeile).

Bei 8 Augen (15%) fanden sich avaskuläre Sickerkissen (Grad 0), wohingegen sich bei 22 Sickerkissen (42%) eine Vaskularisation von Grad 1 fand.

Weitere 21 Sickerkissen (41%) hatten eine Vaskularisation von Grad 2.

Lediglich 2 Sickerkissen (4%) mussten mit Grad 3, dem höchsten Grad der Vaskularisation, bewertet werden (vgl. Tab. 12).

Tab. 12: Korrelation der Gefäßanzahl mit der Funktion des Sickerkissens (Gruppe 1 mit guter, Gruppe 2 mit moderater und Gruppe 3 mit schlechter klinischer Sickerkissenfunktion).

Anzahl	Sickerkissenfunktion			Korrelation
	Gruppe 1 n = 30	Gruppe 2 n = 11	Gruppe 3 n = 12	
Grad 0 (kein Gefäß)	4	3	1	Gute Funktion P = 0,05
Grad 1 (1 Gefäß)	16	4	2	
Grad 2 (2-3 Gefäße)	10	4	7	
Grad 3 (> 3 Gefäße)	0	0	2	

Dabei waren in 28 Sickerkissen (53%) die nachgewiesenen Gefäße von einem gestreckten Typ ohne Tortuositas (Grad 0).

Die übrigen Sickerkissen wiesen entweder milde (Grad 1, 16 Sickerkissen, 30%), oder moderate Tortuositas (Grad 2, 9 Sickerkissen, 17%) auf (s. Tab. 13).

Sowohl der Vaskularisationsgrad ($P=0,05$), als auch die Tortuositas ($P=0,01$) waren unabhängig voneinander signifikant mit der Funktion des zugehörigen Sickerkissens assoziiert (vgl. Tab. 12 und Tab. 13).

Tab. 13: Korrelation der Tortuositas der Gefäße mit der Funktion (Gruppe 1 mit guter, Gruppe 2 mit moderater und Gruppe 3 mit schlechter Sickerkissenfunktion).

Tortuositas	Sickerkissenfunktion			Korrelation
	Gruppe 1 n = 30	Gruppe 2 n = 11	Gruppe 3 n = 12	
Grad 0 (gestreckt)	19	8	1	Gute Funktion P = 0,01
Grad 1 (mild)	7	3	6	
Grad 2 (moderat)	4	0	5	

4.7 Konfokale Befunde der postoperativen Entzündungsreaktion und zeitliche Auswertung

Über die Unterscheidbarkeit einzelner Zellpopulationen konnte die postoperative Entzündungsreaktion direkt dargestellt werden⁶⁴.

Es fanden sich zahlreiche runde, hyperreflektive Zellen durch das gesamte Epithel hindurch, als auch in den Mikrozysten selbst, welche nach ihrem morphologischen Erscheinungsbild und dem histologisch-pathologischen Wissensstand am ehesten Lymphozyten darstellen dürften.

Das epitheliale Bild mit Entzündungszellen gefüllter Mikrozysten hielt im Median für einen postoperativen Monat an (s. Abb. 29).

Im Stroma hielten sich die Entzündungszellen hingegen im Median 3.5 Monate postoperativ auf (s. Abb. 30).

Dabei zeigten sie in den Bildern zum Teil eine Affinität zu Gefäßwänden (vgl. Abb. 27), was möglicherweise auf den typischen Wanderbewegungen beruht.

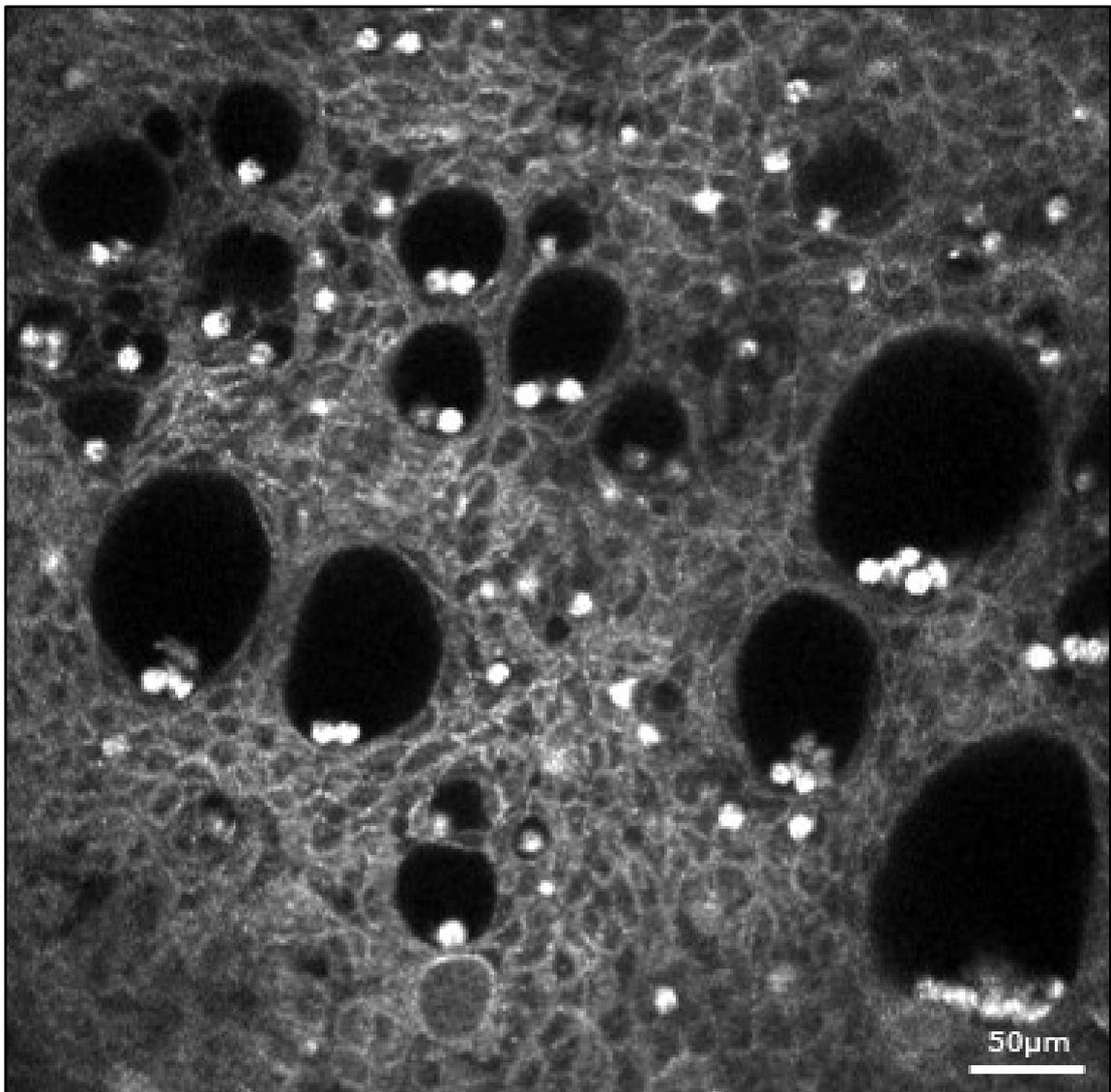


Abb. 29: Epitheliale Mikrozysten in einer Tiefe von $37\mu\text{m}$, gefüllt mit Entzündungszellen, 6 Tage postoperativ.

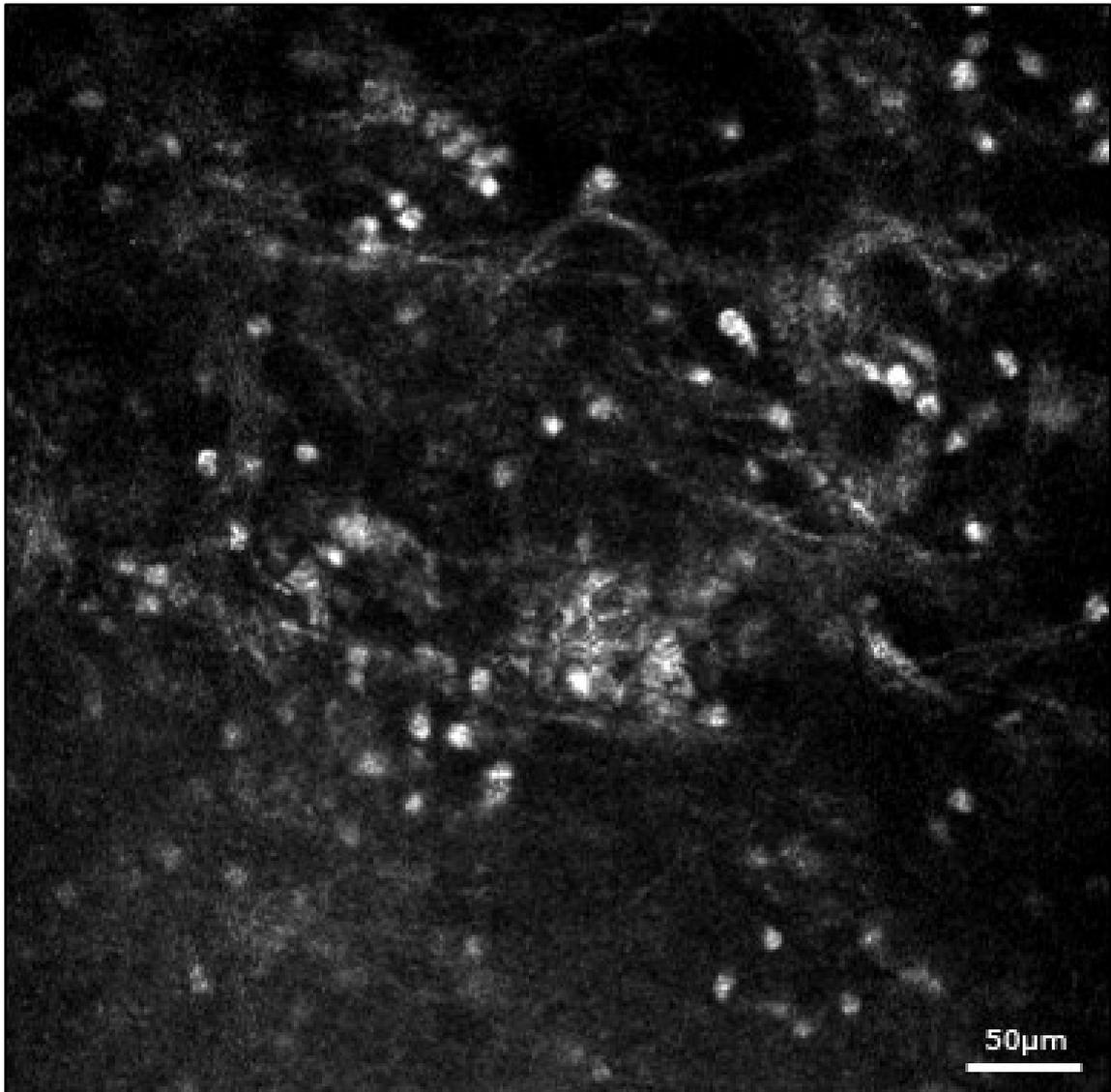


Abb. 30: Entzündungszellen im Stroma in einer Tiefe von 79 μ m, 7 Tage postoperativ.

Jedoch ließen sich bei zwei Patienten auch noch nach 7 bzw. 28 Jahren stromale und epitheliale Entzündungsreaktionen nachweisen - trotz guter Funktion beider Sickerkissen. Ein Patient hatte dabei 5 Tage vor der konfokalen Untersuchung eine subkonjunktivale 5-Fluorouracil Injektion erhalten, der zweite Patient wies zum Untersuchungszeitpunkt eine aktive bakterielle Konjunktivitis auf.

Eine überdurchschnittlich lange, postoperative Entzündung (10,8 bzw. 11,5 Mon.) zeigte sich außerdem bei zwei Patienten mit Sekundärglaukomen bei begleitender Uveitis.

5 Diskussion

Es bestätigte sich, dass der an der Spaltlampe erhobene klinische Eindruck der untersuchten Sickerkissen gut mit der gemessenen Funktion übereinstimmte, was im Einklang mit den Untersuchungen in der Literatur zu diesem Thema steht.

Die klinische Anwesenheit von Mikrozysten, eine moderate Erhabenheit und ein eher diffuses Aussehen des Sickerkissens fielen mit einer guten druckregulierenden Funktion des Sickerkissens zusammen, welche als das Erreichen des individuellen Zieldrucks definiert wurde.

Klinisch abgekapselte, vernarbte und hochprominente Sickerkissen waren typischerweise mit einer insuffizienten Druckregulation assoziiert.

Die erreichte Senkung des intraokularen Drucks durch die chirurgische Intervention im Vergleich mit den präoperativen Werten wäre eventuell ein noch sensibleres Kriterium gewesen, als das Kriterium des erreichten Zieldrucks allein.

Hierfür waren jedoch aufgrund der großen Anzahl an anderen Häusern erfolgter Operationen (17 Operationen; 32%) zu wenige Daten für einen Vergleich verfügbar.

Die gewonnenen Ergebnisse lassen klar erkennen, welche Möglichkeiten die konfokale Mikroskopie bei der Beurteilung von Sickerkissen bietet.

Die Anzahl epithelialer Mikrozysten, die Abwesenheit abgekapselter Zysten im Stroma und die Gesamtfläche stromaler Zystenfläche korrelierten allesamt signifikant mit einer guten druckregulierenden Funktion des Sickerkissens.

Es fand sich außerdem ein signifikanter Zusammenhang zwischen einer geringeren Vaskularisation und Tortuositas der darstellbaren Gefäße mit einer guten Funktion des zugehörigen Sickerkissens.

Umgekehrt war ein dichtes, kompaktes Stroma typisch für ein versagendes Sickerkissen mit schlechter Druckregulation.

Die konfokalen Befunde eines locken bis rarifizierten, netzartigen Stromas mit den entsprechenden zystischen Hohlräumen in Sickerkissen von guter Funktion stimmen größtenteils mit Ultraschalluntersuchungen und histologischen Aufarbeitungen entnommener Sickerkissen guter Funktion überein. So wird in der Literatur beschrieben, dass funktionierende Sickerkissen histologisch mit locker angeordnetem subepitheliale Bindegewebe imponieren, welches wie in den konfokalen Bildern von Hohlräumen durchzogen ist^{3,78,96,98}.

Auch der früh-postoperative klinische Eindruck konjunktivaler und subkonjunktivaler Strukturen mit ödematöser Schwellung und Hyperämie⁴ decken sich gut mit den konfokalen Befunden eines bis zu 2 Monate postoperativ verwaschenen Stromas.

Versagende vernarbte und abgekapselte Sickerkissen zeigen histologisch³ mit einem dichten kollagenösen Bindegewebe in ihrer Wandstruktur ebenfalls ein mit der konfokalen Mikroskopie vergleichbares Bild.

Es finden sich jedoch einige erwähnenswerte Abweichungen, die weiterer Diskussion bedürfen.

So imponierte diese Verdichtung in den konfokalen Bildern teilweise nicht nur als randständige Umscheidung des Sickerkissens, sondern zog sich vielmehr durch das gesamte Stroma hin, sodass der Eindruck eines homogen verdichteten Stromas entstand. In diesen Fällen kam es möglicherweise weniger zu einer narbigen „Verkapselung“ des Sickerkissens, als vielmehr zu einer allgemeinen und generalisierteren Vernarbung, mit entsprechend schlechterer Aussicht möglicher Interventionen.

Die meisten Autoren beschreiben in der Region des Sickerkissens ein histologisch unauffälliges Epithel, wobei die an der Spaltlampe beobachteten Mikrozysten haupt-

sächlich den auch histologisch nachweisbaren stromalen Hohlräumen zugeordnet werden^{3,96}.

Einige Autoren berichten auch von einer Trennung basaler Epithelzellen und intraepithelialen schwammartigen Vesikeln^{78,98}, welche sich in variabler Größe auch in den konfokalmikroskopischen Bildern nachweisen lassen. Außerdem sieht man, dass sich gerade in der frühen postoperativen Phase Entzündungszellen bevorzugt in diesen epithelialen Vesikeln sammeln.

Die gefundenen epithelialen Zysten mit amorphem Material passen dabei gut zu den elektronenmikroskopischen Beschreibungen proteinreichen Debris, welcher von Shields⁸⁷ in solchen Zysten beschrieben wurde.

In der Zusammenschau scheint es aufgrund der gewonnenen Bilder im Unterschied zu obigen Veröffentlichungen^{3,78,96,98} plausibel, dass die klinisch imponierenden Mikrozysten auf die konfokalmikroskopisch nachweisbaren epithelialen, und nicht etwa auf die stromalen Zysten zurückzuführen sind.

Darüberhinaus bestärken diese Bilder durch den Nachweis der Existenz solcher panepithelialer Zysten die These einer transkonjunktivalen Filtration, wie sie schon früher postuliert wurde^{29,48,84,96,98}.

Andere Autoren diskutieren wiederum Mechanismen der Absorption von Kammerwasser über konjunktivale bzw. episklerale Blut- oder Lymphgefäße^{8,28,97}.

Der Nachweis solcher konjunktivaler Gefäße und Strukturen, die möglicherweise diesen Lymphgefäßen entsprechen, war konfokal im Stroma möglich, jedoch reicht ihr reiner Nachweis nicht aus, um ihnen sicher eine derartige Funktion zuzuordnen zu können.

Bei einigen der untersuchten Sickerkissen, aber auch bei Untersuchungen an normaler Konjunktiva⁶⁴, fand sich eine bisweilen ungewöhnlich dicke epitheliale Basalmembran.

Diese Beobachtungen sind jedoch am ehesten auf technische Messfehler, die Insertation multipler hyperreflektiver Fasern in die Basalmembran⁶⁴, oder eine während der Untersuchung unbemerkt leicht schräge Scanebene zurückzuführen.

Wie auch in den Abb. 24, 29 und 30 zu sehen ist, konnte eine postoperative Entzündung mit den entsprechend auftretenden Zelltypen und ödematöser Quellung direkt an der Konjunktiva nachgewiesen werden.

Die gefundenen Rundzellinfiltrate persistierten dabei länger bei Patienten mit zugrundeliegender Uveitis. Zusätzlich traten sie sowohl nach Needling-Prozeduren, als auch nach dem Einsatz von 5-Fluorouracil und bei einer akuten Konjunktivitis auf.

Mitomycin C reduziert nachweislich die postoperative subkonjunktivale Vernarbung^{4,25,27,101}. Dank einiger Fallstudien zu mit Mitomycin C behandelten Sickerkissen, die aufgrund ihrer störender Größe entfernt wurden, sind der Aufbau und die induzierten Veränderungen in der Struktur der Sickerkissen histologisch gut beschrieben^{38,87}:

Das Epithel zeigte sich in diesen Untersuchungen insgesamt aufgelockert mit Mikrozysten und lokaler Keratinisierung. Direkt unterhalb der verdickten Basalmembran fand sich ein zellfreies Kollagenband. Die Substantia propria war größtenteils ebenfalls zellfrei und bestand aus lose verwobenem, zellarmen Bindegewebe von ausgesprochener Gefäßarmut und vereinzelt Lymphozyten⁸⁷.

Des Weiteren fand sich bei Sickerkissen, welche mit Mitomycin C behandelt worden waren, stark aufgelockertes episklerales Kollagengewebe mit ausschließlich vereinzelt Fibroblasten ohne nennenswerte Kontraktilität, sowie ein fehlender Nachweis von saurer Mukopolysaccharid-Grundsubstanz⁶⁵.

Im Einklang hierzu stellte sich auch in der konfokalen Mikroskopie Mitomycin C behandelte Sickerkissen ein hochgradig aufgelockertes bis rarifiziertes, gefäßfreies Stroma mit bisweilen bildfüllenden kapselfreien, zystischen Hohlräumen dar (vgl. Abb. 24, 25).

Im Widerspruch zu den histologischen Funden von Francis et al.²⁶ stellte sich konfokal allerdings kein Unterschied im Sinne einer Ausdünnung in der Dicke des Epithels beim Vergleich von Mitomycin C behandelten und unbehandelten Sickerkissen dar.

Von besonderer Bedeutung ist die Aussicht, mit Hilfe der konfokalen Mikroskopie in vivo anhand der Zystenverteilung und der Vaskularisation eine eventuell beginnende Abkapselung bereits auf zellulärer Ebene und damit frühzeitig erkennen zu können.

Die postoperative antientzündliche Therapie mit ihrer entscheidenden Bedeutung für den letztendlichen Erfolg der Trabekulektomie kann von einer feineren Beurteilungsmöglichkeit des postoperativen Geschehens nur profitieren. Auch für weiterreichende Gegenmaßnahmen in klinisch ungünstigen Funktionsverläufen kann die konfokale Mikroskopie dabei wichtige Informationen liefern.

So konnten Feldman und Kollegen zeigen²³, dass keineswegs jede sich entwickelnde Tenon-Zyste mit auffälligen Druckveränderungen einhergehen muss, wodurch eine frühzeitige Entdeckung erschwert wird. Zusätzlich können prinzipiell funktionsfähige Bereiche von einer Tenon-Zyste kaschiert werden, was eine differenziertere Herangehensweise erfordert, als ein Gesamtversagen.

Die Tatsache, dass sich bei einem Teil der Patienten mit vernarbten oder abgekapselten Sickerkissen auch Areale mit loser oder gar rarifizierter Stromastruktur nachweisen lassen, ermöglicht es, gerade in diesen Fällen ein Needling mit 5-Fluorouracil sinnvoll in Erwägung zu ziehen.

Dagegen stellt ein homogen verdichtetes Stroma ohne funktionale Anteile eher ein Argument für die Bevorzugung einer chirurgischen Revision dar.

Auf technischer Seite wird die konfokale in-vivo Mikroskopie in ihrer Klasse mittlerweile insbesondere durch die Weiterentwicklung der Zweiphotonenmikroskopie herausgefordert. Der theoretische Vorteil der Zweiphotonenmikroskopie ist die durch die Darstellung der Gewebeeigenfluoreszenz gewonnene, funktionelle Analysemöglichkeit

einzelner Zellen und Zellzustände gegenüber den primär morphologischen Informationen der konfokalen Mikroskopie.

Dabei wird bei der Zweiphotonenmikroskopie ausschließlich die gewünschte Untersuchungsebene angeregt, was technisch noch feiner aufgelöste Bilder erlaubt, als die Blenden- und Filterlösung der konfokalen Mikroskopie^{19,20}.

Hierdurch entstehen jedoch auch bedeutende Nachteile, welche insbesondere bei der Beurteilung von Sickerkissen schwer tragen. So ist die Zweiphotonenmikroskopie mit einer Einzelbildgewinnungszeit von 1-60 Sekunden verglichen mit der konfokalen in-vivo Mikroskopie relativ langsam. Für die Beurteilung eines größeren Areals, wie dem eines Sickerkissens, sind jedoch vergleichsweise viele Bilder für eine aussagekräftige Gesamtbeurteilung nötig. Bei einer höheren Anzahl benötigter Einzelbilder sind die erreichten Erfassungszeiten damit für einen klinischen Einsatz nicht geeignet.

Nimmt man beispielsweise das hier verwendete Mittel von 135 Bildern pro Untersuchung, sieht man, in welchen Dimensionen sich die Untersuchungszeiten bei einer vergleichbaren Untersuchung mit der Zweiphotonenmikroskopie abspielen würden. Zusätzlich ist das Beobachtungsfeld typischerweise nur etwa halb so groß, wie bei der konfokalen in-vivo Mikroskopie, was diesen Nachteil noch verstärkt.

Trotz Auflösungstechnischer Vorteile der Zweiphotonen-Methode muss sie daher in der Beurteilung von Sickerkissen der konfokalen in-vivo Mikroskopie im klinischen Einsatz als unpraktikabel und unterlegen gesehen werden.

Somit bleibt abschließend festzuhalten, dass die konfokale in-vivo Mikroskopie eine rasche, unkomplizierte und reproduzierbare Methode bietet, um die klassische Sickerkissenbeurteilung in ihrer Sicherheit und prognostischen Fähigkeit um zusätzliche objektive Kriterien zu erweitern.

6 Zusammenfassung

Es zeigte sich, dass die Untersuchung von Sickerkissen nach Trabekulektomie mithilfe der konfokalen in-vivo Mikroskopie eine sichere Beurteilung der druckregulierenden Funktion zulässt. Nach wie vor bleibt die Beurteilung an der Spaltlampe eine schnelle und im Normalfall zugleich verlässliche Methode, eine drohende Vernarbung und ein Versagen des Sickerkissens zu erkennen. Bewährte Kriterien zur Abschätzung von Funktion und Prognose sind hierbei der Vaskularisierungsgrad mit besonderem Augenmerk auf ein Auftreten von Korkenziehergefäßen, die Erhabenheit und Abgrenzung des Sickerkissens von der Umgebung und das Ausmaß nachweisbarer Mikrozysten.

All diese für eine angepasste anti-inflammatorische Behandlung in der entscheidenden frühen postoperativen Phase ausschlaggebenden Kriterien können mit der konfokalen Mikroskopie neben der Analyse der generellen Struktur des Sickerkissens semiquantitativ auf zellulärer Ebene beurteilt werden, was eine differenziertere und möglicherweise frühzeitigere Herangehensweise an postoperative Interventionen bei Sickerkissen schlechter Funktion erlaubt.

Generell kann trotz des üblicherweise hohen postoperativen Aufwandes noch immer der optimale Zeitpunkt für den eventuellen erforderlichen Einsatz von Antimetaboliten wie 5-Fluorouracil verfehlt werden. Daher ist es ein besonderer Vorteil der konfokalen Untersuchung, dass neben der insgesamt gesteigerten Informationsqualität und Objektivität, sowie der guten Vergleichbarkeit mit der klassischen Histologie, es auch gelingen sollte, strukturelle Veränderungen, insbesondere im Sinne einer überschießenden Entzündungsreaktion, früher als in der Spaltlampenuntersuchung aufzuzeigen.

Somit kann in Zukunft sowohl der einzelne Patient in der feineren Modulation seiner Wundheilung, als auch das generelle Wissen um die Vorgänge der Wundheilung und bei eventueller Vernarbung in dieser kritischen Phase der Entwicklung von Sickerkissen von der konfokalen in-vivo Mikroskopie profitieren.

Conclusion

In-vivo confocal microscopy proved to be a valuable tool in the diagnostic imaging of filtering blebs and the reliable differentiation between filtering blebs with good and failing function.

Still regular slit-lamp biomicroscopy offers a fast and normally dependable assessment and detection of filtering blebs failure. Standardized clinical signs of high predictive value include the grade of vascularity, especially corkscrew vessels, bleb elevation and encapsulation and the existence of epithelial microcysts.

These criteria have proven especially important for the correct modulation of the early postoperative treatment with anti-inflammatory agents. In-vivo confocal microscopy allows a semiquantitative evaluation of these essential factors on a cellular level, as well as an evaluation of the structure of the filtering bleb in general. This allows a more differentiated approach to the care of failing blebs.

Despite the usual high personal effort during the early postoperative monitoring the appropriate timing of an intervention with antimetabolites, like 5-Fluorouracil, is easily missed. Set aside the higher degree of information and objectivity alone, in-vivo confocal microscopy therefore holds the additional benefit of detecting inflammatory changes in the structure of the bleb earlier than classic biomicroscopy and being directly comparable to classic histopathology.

Hence future confocal examinations might not only be beneficial to the individual patient in enabling a more differentiated modulation of wound healing, but also in improving the general understanding of the complex events in the early wound healing and possible scarring of filtering blebs.

7 Bibliografie

1. Fluorouracil Filtering Surgery Study one-year follow-up. The Fluorouracil Filtering Surgery Study Group. *Am J Ophthalmol* 1989;108:625-635.
2. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. The AGIS Investigators. *Am J Ophthalmol* 2000;130:429-440.
3. Addicks EM, Quigley HA, Green WR, Robin AL. Histologic characteristics of filtering blebs in glaucomatous eyes. *Arch Ophthalmol* 1983;101:795-798.
4. Azuara-Blanco A, Katz LJ. Dysfunctional filtering blebs. *Surv Ophthalmol* 1998;43:93-126.
5. Baer, S. C. Optical apparatus providing focal-plane-specific illumination. [US Patent Nr. 3,547,512]. 30-6-1970. USA.
6. Bailly N, Sherif ZA, Pleyer U, Rieck P. Konfokale Scanning-Mikroskopie: Eine vergleichende Darstellung von Hornhautdystrophiebefunden mittels ConfoScanP2 und Rostock Cornea Modul-HRT II. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2006;223:735-742.
7. Bellows AR, Johnstone MA. Surgical management of chronic glaucoma in aphakia. *Ophthalmology* 1983;90:807-813.
8. Benedikt O. Die Darstellung des Kammerwasserabflusses normaler und glaukomkranker menschlicher Augen durch Füllung der Vorderkammer mit Fluorescein. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1976;199:45-67.
9. Benedikt O. The effect of filtering operations. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 1977;170:10-19.
10. Berufsverband der Augenärzte Deutschlands e.V., Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft e.V. Leitlinie Nr.15a. <http://www.augeninfo.de/leit/leit15a.pdf>. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2009. 2006.
11. Broadway D, Grierson I, Hitchings R. Adverse effects of topical antiglaucomatous medications on the conjunctiva. *Br J Ophthalmol* 1993;77:590-596.
12. Broadway DC, Bloom PA, Bunce C, Thiagarajan M, Khaw PT. Needle revision of failing and failed trabeculectomy blebs with adjunctive 5-fluorouracil: survival analysis. *Ophthalmology* 2004;111:665-673.
13. Broadway DC, Grierson I, O'Brien C, Hitchings RA. Adverse effects of topical antiglaucoma medication. I. The conjunctival cell profile. *Arch Ophthalmol* 1994;112:1437-1445.
14. Broadway DC, Grierson I, O'Brien C, Hitchings RA. Adverse effects of topical antiglaucoma medication. II. The outcome of filtration surgery. *Arch Ophthalmol* 1994;112:1446-1454.
15. Cairns JE. Trabeculectomy. Preliminary report of a new method. *Am J Ophthalmol* 1968;66:673-679.

16. Cantor LB, Mantravadi A, WuDunn D, Swamynathan K, Cortes A. Morphologic classification of filtering blebs after glaucoma filtration surgery: the Indiana Bleb Appearance Grading Scale. *J Glaucoma* 2003;12:266-271.
17. Cavanagh HD, Jester JV, Essepian J, Shields W, Lemp MA. Confocal microscopy of the living eye. *CLAO J* 1990;16:65-73.
18. Cordeiro MF, Gay JA, Khaw PT. Human anti-transforming growth factor-beta2 antibody: a new glaucoma anti-scarring agent. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40:2225-2234.
19. Denk W, Strickler JH, Webb WW. Two-photon laser scanning fluorescence microscopy. *Science* 1990;248:73-76.
20. Diaspro A, Sheppard CJR. Two-Photon Microscopy: Basic Principles and Architectures. In Diaspro A, editor. *Confocal and Two-Photon Microscopy. Foundations, Applications, and Advances*. New York: Wiley-Liss, Inc., 2001:39-74.
21. Erie JC. Corneal wound healing after photorefractive keratectomy: a 3-year confocal microscopy study. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2003;101:293-333.
22. Ewing RH, Stamper RL. Needle revision with and without 5-fluorouracil for the treatment of failed filtering blebs. *Am J Ophthalmol* 1990;110:254-259.
23. Feldman RM, Gross RL, Spaeth GL, Steinmann WC, Varma R, Katz LJ, Wilson RP, Moster MR, Spiegel D. Risk factors for the development of Tenon's capsule cysts after trabeculectomy. *Ophthalmology* 1989;96:336-341.
24. Fellman RL. Trabeculectomy. In Yanoff M, Duker JS, editors. *Ophthalmology*. St. Louis, MO: Mosby, Inc., 2004:1586-1595.
25. Fine LC, Chen TC, Grosskreutz CL, Pasquale LR. Management and prevention of thin, cystic blebs. *Int Ophthalmol Clin* 2004;44:29-42.
26. Francis BA, Du LT, Najafi K, Murthy R, Kurumety U, Rao N, Minckler DS. Histopathologic features of conjunctival filtering blebs. *Arch Ophthalmol* 2005;123:166-170.
27. Fraser S. Trabeculectomy and antimetabolites. *Br J Ophthalmol* 2004;88:855-856.
28. Galin MA, Baras I, McLean JM. How does a filtering bleb work? *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 1965;69:1082-1091.
29. Galin MA, Baras I, McLean JM. The mechanism of external filtration. *Am J Ophthalmol* 1966;61:63-68.
30. Goldenfeld M, Krupin T, Ruderman JM, Wong PC, Rosenberg LF, Ritch R, Liebmann JM, Gieser DK. 5-Fluorouracil in initial trabeculectomy. A prospective, randomized, multicenter study. *Ophthalmology* 1994;101:1024-1029.
31. Goldmann H. Spaltlampenphotographie und -photometrie. *Ophthalmologica* 1940;98:257-270.
32. Gordon MO, Beiser JA, Brandt JD, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK, Wilson MR, Kass MA. The Ocular Hypertension Treatment Study: baseline factors that predict the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002;120:714-720.

33. Grehn F, Mauthe S, Pfeiffer N. Limbus-based versus Fornix-based conjunctival flap in filtering surgery. A randomized prospective study. *Int Ophthalmol* 1989;13:139-143.
34. Gressel MG, Parrish RK, Folberg R. 5-fluorouracil and glaucoma filtering surgery: I. An animal model. *Ophthalmology* 1984;91:378-383.
35. Hawkins AS, Flanagan JK, Brown SV. Predictors for success of needle revision of failing filtration blebs. *Ophthalmology* 2002;109:781-785.
36. Higginbotham EJ. Initial treatment for open-angle glaucoma- medical, laser or surgical? Medication is the treatment of choice for chronic open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1998;116:239-240.
37. Hitchings R. Initial treatment for open-angle glaucoma- medical, laser, or surgical? Surgery is the treatment of choice for open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1998;116:241-242.
38. Hutchinson AK, Grossniklaus HE, Brown RH, McManus PE, Bradley CK. Clinicopathologic features of excised mitomycin filtering blebs. *Arch Ophthalmol* 1994;112:74-79.
39. Inoué S, Spring KR. Microscope image formation. *Video Microscopy: The Fundamentals*. Springer, 1997:13-118.
40. Jampel HD. Initial treatment for open-angle glaucoma- medical, laser, or surgical? Laser trabeculoplasty is the treatment of choice for chronic open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 1998;116:240-241.
41. Jampel HD, Jabs DA, Quigley HA. Trabeculectomy with 5-fluorouracil for adult inflammatory glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1990;109:168-173.
42. Jay JL, Murdoch JR. The rate of visual field loss in untreated primary open angle glaucoma. *Br J Ophthalmol* 1993;77:176-178.
43. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK, Wilson MR, Gordon MO. The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch Ophthalmol* 2002;120:701-713.
44. Keller HE. Objective lenses for confocal microscopy. In Pawley JB, editor. *Handbook of Biological Confocal Microscopy*. New York: Springer, 1995:111-126.
45. Khaw P, Grehn F, Hollo G, Overton B, Wilson R, Vogel R, Smith Z. A phase III study of subconjunctival human anti-transforming growth factor beta(2) monoclonal antibody (CAT-152) to prevent scarring after first-time trabeculectomy. *Ophthalmology* 2007;114:1822-1830.
46. Kitazawa Y, Kawase K, Matsushita H, Minobe M. Trabeculectomy with mitomycin. A comparative study with fluorouracil. *Arch Ophthalmol* 1991;109:1693-1698.
47. Koester CJ, Roberts CW, Donn A, Hoefle FB. Wide field specular microscopy. Clinical and research applications. *Ophthalmology* 1980;87:849-860.
48. Kronfeld FC. The chemical demonstration of transconjunctival passage of aqueous after anti-glaucomatous operations. *Am J Ophthalmol* 1952;35:38-45.

49. Kronfeld PC. The mechanism of filtering operations. *Trans Pac Coast Otophthalmol Soc Annu Meet* 1949;30:23-40.
50. Kwon YH, Fingert JH, Greenlee EC. Trabeculectomy: a filtering procedure. In Kwon YH, editor. *A Patient's Guide to Glaucoma*. FEP International, 2008:73-93.
51. Labbe A, Dupas B, Hamard P, Baudouin C. An evaluation of blebs after filtering surgery with the in vivo confocal microscope (in French). *J Fr Ophtalmol* 2004;27:1083-1089.
52. Lavin MJ, Wormald RP, Migdal CS, Hitchings RA. The influence of prior therapy on the success of trabeculectomy. *Arch Ophthalmol* 1990;108:1543-1548.
53. Lederer CM, Jr. Combined cataract extraction with intraocular lens implant and mitomycin-augmented trabeculectomy. *Ophthalmology* 1996;103:1025-1034.
54. Lemp MA, Dilly PN, Boyde A. Tandem-scanning (confocal) microscopy of the full-thickness cornea. *Cornea* 1985;4:205-209.
55. Leske MC, Heijl A, Hussein M, Bengtsson B, Hyman L, Komaroff E. Factors for glaucoma progression and the effect of treatment: the early manifest glaucoma trial. *Arch Ophthalmol* 2003;121:48-56.
56. Lichter PR, Musch DC, Gillespie BW, Guire KE, Janz NK, Wren PA, Mills RP. Interim clinical outcomes in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study comparing initial treatment randomized to medications or surgery. *Ophthalmology* 2001;108:1943-1953.
57. Macromedia AG (-12.2004) and Adobe Systems (12.2004-). Macromedia Flash MX (Heute Adobe Flash). <http://www.adobe.com/products/flash/>. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2009. 2002. Adobe Systems.
58. Marquardt D, Lieb WE, Grehn F. Intensified postoperative care versus conventional follow-up: a retrospective long-term analysis of 177 trabeculectomies. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2004;242:106-113.
59. Masters BR. David Maurice's contributions to optical ophthalmic instrumentation: roots of the scanning slit clinical confocal microscope. *Exp Eye Res* 2004;78:315-326.
60. Masters BR, Thaer AA. In vivo, real-time confocal microscopy of the continuous wing cell layer adjacent to the basal epithelium in the human cornea: a new benchmark for in vivo corneal microscopy. *Bioimages* 1995;3:7-11.
61. Masters BR, Thaer AA. Real-time scanning slit confocal microscopy of the in vivo human cornea. *Appl Opt* 1994;33:695-701.
62. Maurice DM. A scanning slit optical microscope. *Invest Ophthalmol* 1974;13:1033-1037.
63. Messmer EM, Mackert MJ, Zapp DM, Kampik A. In vivo confocal microscopy of pigmented conjunctival tumors. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2006;244:1437-1445.
64. Messmer EM, Mackert MJ, Zapp DM, Kampik A. In vivo confocal microscopy of normal conjunctiva and conjunctivitis. *Cornea* 2006;25:781-788.

65. Mietz H, Arnold G, Kirchhof B, Diestelhorst M, Kriegelstein GK. Histopathology of episcleral fibrosis after trabeculectomy with and without mitomycin C. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1996;234:364-368.
66. Migdal C, Gregory W, Hitchings R. Long-term functional outcome after early surgery compared with laser and medicine in open-angle glaucoma. *Ophthalmology* 1994;101:1651-1656.
67. Migdal C, Hitchings RA. The role of early surgery for open angle glaucoma. *Ophthalmol Clin North Am* 1991;101:853-859.
68. Mills KB. Trabeculectomy: a retrospective long-term follow-up of 444 cases. *Br J Ophthalmol* 1981;65:790-795.
69. Minsky M. Memoir on Inventing the Confocal Scanning Microscope. *Scanning* 1988;10:128-138.
70. Müller M, Hoerauf H, Geerling G, Pape S, Winter C, Huttmann G, Birngruber R, Laqua H. Filtering bleb evaluation with slit-lamp-adapted 1310-nm optical coherence tomography. *Curr Eye Res* 2006;31:909-915.
71. Musch DC, Gillespie BW, Niziol LM, Cashwell LF, Lichter PR. Factors Associated with Intraocular Pressure before and during 9 Years of Treatment in the Collaborative Initial Glaucoma Treatment Study [Artikel im Druck]. doi:10.1016/j.ophtha.2007.08.010. *Ophthalmology* 2007.
72. Nipkow, P. [Patent Nr. 30105]. 15-1-1884. Deutschland.
73. Paddock SW. Principles and practices of laser scanning confocal microscopy. *Mol Biotechnol* 2000;16:127-149.
74. Paddock, S. W., Fellers, T. J., Davidson, M. W., Molecular Expressions, Florida State University, and Nikon, Inc. <http://www.microscopyu.com/articles/confocal/confocalintrobasics.html>, Figure 5. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2009. 2000.
75. Petrán M, Hadravský M, Egger MD, Galambos R. Tandem-Scanning Reflected-Light Microscope. *J Opt Soc Am* 1968;58:661-664.
76. Picht G, Grehn F. Sickerkissenentwicklung nach Trabekulektomie. *Ophthalmologe* 1998;95:380-387.
77. Picht G, Grehn F. Classification of filtering blebs in trabeculectomy: biomicroscopy and functionality. *Curr Opin Ophthalmol* 1998;9:2-8.
78. Powers TP, Stewart WC, Stroman GA. Ultrastructural features of filtration blebs with different clinical appearances. *Ophthalmic Surg Lasers* 1996;27:790-794.
79. Priglinger SG, Alge CS, Kook D, Thiel M, Schumann R, Eibl K, Yu A, Neubauer AS, Kampik A, Welge-Lüssen U. Potential role of tissue transglutaminase in glaucoma filtering surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47:3835-3845.
80. Rasband, W. ImageJ [v.1.34g]. <http://rsb.info.nih.gov/ij/>. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2009. 1-2-2005. National Institutes of Health, USA.
81. Rasband, W. Measure and label plugin for ImageJ (Java). http://rsb.info.nih.gov/ij/plugins/download/Measure_And_Label.class. Zuletzt aufgerufen am 10.01.2009. 6-2-2003.

82. Roth SM, Spaeth GL, Starita RJ, Birbillis EM, Steinmann WC. The effects of postoperative corticosteroids on trabeculectomy and the clinical course of glaucoma: Five-year follow-up study. *Ophthalmic Surg* 1991;22:724-729.
83. Sacu S, Rainer G, Findl O, Georgopoulos M, Vass C. Correlation between the early morphological appearance of filtering blebs and outcome of trabeculectomy with mitomycin C. *J Glaucoma* 2003;12:430-435.
84. Seidel E. Weitere experimentelle Untersuchungen über die Quelle und den Verlauf der intraokularen Saftströmung: Über den Abfluss des Kammerwassers aus der vorderen Augenkammer des iridektomierten sowie des trepanierten Auges. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 1921;104:403-410.
85. Semwogerere D, Weeks ER. Confocal Microscopy. In Wnek GE, Bowlin GL, editors. *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering*. Taylor & Francis, 2005.
86. Sherwood MB, Grierson I, Millar L, Hitchings RA. Long-term morphologic effects of antiglaucoma drugs on the conjunctiva and Tenon's capsule in glaucomatous patients. *Ophthalmology* 1989;96:327-335.
87. Shields MB, Scroggs MW, Sloop CM, Simmons RB. Clinical and histopathologic observations concerning hypotony after trabeculectomy with adjunctive mitomycin C. *Am J Ophthalmol* 1993;116:673-683.
88. Shingleton BJ. Management of the failing glaucoma filter. *Ophthalmic Surg Lasers* 1996;27:445-451.
89. Shotton DM. Confocal scanning optical microscopy and its applications for biological specimens. *J Cell Sci* 1989;94:175-206.
90. Shotton DM. Robert Feulgen Prize Lecture 1995. Electronic light microscopy: present capabilities and future prospects. *Histochem Cell Biol* 1995;104:97-137.
91. Skuta GL, Parrish RK. Wound healing in glaucoma filtering surgery. *Surv Ophthalmol* 1987;32:149-170.
92. Starita RJ, Fellman RL, Spaeth GL, Poryzees EM, Greenidge KC, Traverso CE. Short- and long-term effects of postoperative corticosteroids on trabeculectomy. *Ophthalmology* 1985;92:938-946.
93. Sugar HS. Course of successfully filtering blebs. A followup study. *Ann Ophthalmol* 1971;3:485-487.
94. Sugar HS. Experimental trabeculectomy in glaucoma. *Am J Ophthalmol* 1961;51:623-627.
95. Svishchev GM. Microscope for the study of transparent light-scattering objects in incident light. *Opt Spectrosc* 1969;26:171-172.
96. Teng CC, Chi HH, Katzin HM. Histology and mechanism of filtering operations. *Am J Ophthalmol* 1959;47:16-33.
97. Tenner A, Jaeger W. Darstellung des Kammerwinkelabflusses nach Glaukomoperationen durch Fluoresceininjektion in die Vorderkammer. *Ber Zusammenkunft Dtsch Ophthalmol Ges* 1977;74:853-855.

98. Verhoeff FH. Histologic findings after successful sclerostomy. *Arch Ophthalmol* 1915;44:129-138.
99. Vesti E. Filtering blebs: follow up of trabeculectomy. *Ophthalmic Surg* 1993;24:249-255.
100. Watson PG, Grierson I. The place of trabeculectomy in the treatment of glaucoma. *Ophthalmology* 1981;88:175-196.
101. Wells AP, Cordeiro MF, Bunce C, Khaw PT. Cystic bleb formation and related complications in limbus- versus fornix-based conjunctival flaps in pediatric and young adult trabeculectomy with mitomycin C. *Ophthalmology* 2003;110:2192-2197.
102. Wells AP, Crowston JG, Marks J, Kirwan JF, Smith G, Clarke JC, Shah R, Vieira J, Bunce C, Murdoch I, Khaw PT. A pilot study of a system for grading of drainage blebs after glaucoma surgery. *J Glaucoma* 2004;13:454-460.
103. White JG, Amos WB, Fordham M. An evaluation of confocal versus conventional imaging of biological structures by fluorescence light microscopy. *J Cell Biol* 1987;105:41-48.
104. Wilson T. The role of the pinhole in confocal imaging system. In Pawley JB, editor. *Handbook of Biological Confocal Microscopy*. New York: 1995:167-182.
105. Wilson T, Sheppard CJR. *Theory and Practice of Scanning Optical Microscopy*. Academic Press, 1984.
106. Yamamoto T, Sakuma T, Kitazawa Y. An ultrasound biomicroscopic study of filtering blebs after mitomycin C trabeculectomy. *Ophthalmology* 1995;102:1770-1776.

8 Anhang

Anhang I: Quellcode des Measure and label-Plugin.

```
import ij.*;
import ij.process.*;
import ij.gui.*;
import java.awt.*;
import ij.plugin.*;
import ij.plugin.filter.*;

public class Measure_And_Label implements PlugIn {

public void run(String arg) {
    IJ.run("Measure");
    ImagePlus imp = IJ.getImage();
    Roi roi = imp.getRoi();
    if (roi!=null) {
        IJ.setForegroundColor(255, 255, 255);
        IJ.run("Line Width...", "line=1");
        IJ.run("Draw");
        drawLabel(imp, roi);
    }
}

void drawLabel(ImagePlus imp, Roi roi) {
    if (roi==null) return;
    Rectangle r = roi.getBoundingRect();
    ImageProcessor ip = imp.getProcessor();
    String count = "" + Analyzer.getCounter();
    int x = r.x + r.width/2 - ip.getStringWidth(count)/2;
    int y = r.y + r.height/2 + 6;
    ip.setFont(new Font("SansSerif", Font.PLAIN, 9));
    ip.drawString(count, x, y);
    imp.updateAndDraw();
}
}
```

Danksagung

Zum Abschluss meiner Arbeit möchte ich allen herzlich danken, die am Zustandekommen dieser Arbeit beteiligt waren.

Mein ganz besonderer Dank gebührt an dieser Stelle meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Anselm Kampik, dem Direktor der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München, dass er mir die Möglichkeit eröffnete, meine Dissertation in seinem Hause zu erstellen, und mich in vielen großen und kleinen Dingen allzeit wohlwollend unterstützte.

Ich möchte mich dabei ausdrücklich für die nicht minder herausragende Betreuung meiner Dissertation durch Frau PD Dr. Elisabeth Messmer bedanken, sowohl für die Idee der Thematik, als auch für die stets hilfreiche und motivierende Unterstützung, wenn es im Fortgang irgendwo hakte oder stockte. Die jederzeit gegebene persönliche Ansprechbarkeit, sowie die stets prompte und wegweisende Rückmeldung ist keine Selbstverständlichkeit und hat entscheidend zum Gelingen und zur Qualität der endgültigen Arbeit beigetragen.

Eine besondere Erwähnung verdienen auch meine konfokalen Mitstreiter und Freunde Herr Marc Mackert und Herr Christoph Schmidt-Tannwald. Vor und hinter der konfokalen Kamera waren mir beide hilfreiche Kollegen und sichere Ansprechpartner, wenn „Not am Mann“ war. Ich hoffe, dies auch umgekehrt zurückgegeben zu haben.

Mein weiterer Dank gilt meinem statistischen Ratgeber und Betreuer, Herrn Dr. Markus Schaumberger, der mir insbesondere in der Auswertungsphase mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat. Bedanken möchte ich mich auch ganz herzlich bei allen Damen der Fotoabteilung für die Erstellung der makroskopischen Spaltlampenfotos und die allzeit herzliche Begrüßung in Ihrem Reich.

Außerdem bedanke ich mich an dieser Stelle nochmals ausdrücklich bei allen Studienteilnehmern, ohne die es nicht möglich gewesen wäre, diese Arbeit überhaupt durchzuführen.

Abschließend möchte ich an dieser Stelle ganz besonders meiner Familie, insbesondere meinen Eltern danken, denen diese Doktorarbeit auch gewidmet sein soll. Sie haben mir das Medizinstudium generell ermöglicht und sind mir nicht nur während des Studiums, sondern auch bei der Erstellung der Dissertation jederzeit und in jeder Hinsicht großzügig zur Seite gestanden. Ohne das Engagement beider Seiten stünde ich heute nicht dort, wo ich stehe.

Eidstattliche Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel verwendet habe.

Die Stellen, die anderen Werken wörtlich oder sinngemäß entnommen sind, sind als solche kenntlich gemacht.

Ich versichere weiterhin, dass die Arbeit in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegen hat.

München, 02.03.2009

Daniel Zapp

Tabellarischer Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Daniel Michael Robert Andreas Zapp

Geburtsdatum: 17.05.1980

Geburtsort: München

Familienstand: Ledig

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Schulbildung

09/1986 - 07/1990 Grundschole Oberföhring, München

09/1990 - 07/1999 Wilhelms-Gymnasium München, humanistischer Zweig

07/1999 Allgemeine Hochschulreife (großes Latinum, Graecum)

Bundeswehr

07/1999 – 09/1999 Grundausbildung, 7./gem. Lazarettregiment 12, Feldkirchen

09/1999 – 04/2000 Grundwehrdienst, Sanitätsakademie der Bundeswehr, München

Studium

Ab 04/2000	Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
03/2002	Ärztliche Vorprüfung
03/2003	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2006	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
05/2007	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
05/2007	Approbation als Arzt
Seit 07/2008	Assistenzarzt für Augenheilkunde, Augenklinik und Poli- klinik der Technischen Universität München, München

Studienbegleitende medizinische Tätigkeiten

09/2002	Famulatur in der Pathologischen Anatomie, AKH Wien
09/2003	Famulatur in der Augenklinik Mathildenstrasse Ludwig-Maximilians-Universität, München
03/2004	Famulatur in der gynäkologischen Gemeinschaftspraxis Dr. Brech, Dr. Saugel, München
08/2004	Famulatur in der Augenklinik Mathildenstrasse Ludwig-Maximilians-Universität, München
04/2006	Praktisches Jahr - Tertial Innere Medizin Medizinische Klinik Ziemsenstrasse Ludwig-Maximilians-Universität, München
08/2006	Praktisches Jahr - Tertial Chirurgie Mount Sinai School of Medicine New York, NY
10/2006	Praktisches Jahr - Tertial Chirurgie Klinikum Großhadern Ludwig-Maximilians-Universität, München

12/2006

Praktisches Jahr - Tertial Augenheilkunde
Augenlinik Mathildenstrasse
Ludwig-Maximilians-Universität, München

Publikationen

2005

Messmer EM, Zapp DM, Mackert MJ, Thiel M, Kampik A.
Poster „In vivo confocal microscopy of filtering blebs following trabeculectomy“, Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO)
Fort Lauderdale, Florida, USA
Auch: Posterpreis der DOG, 2005

2006

Messmer EM, Zapp DM, Mackert MJ, Thiel M, Kampik A.
„In vivo confocal microscopy of filtering blebs after trabeculectomy“
in Archives of Ophthalmology [Aug. 2006; 124(8)]

Messmer EM, Mackert MJ, Zapp DM, Kampik A.
„In vivo confocal microscopy of normal conjunctiva and conjunctivitis“
in Cornea [Aug. 2006; 25(7)]

Messmer EM, Mackert MJ, Zapp DM, Kampik A.
„In vivo confocal microscopy of pigmented conjunctival tumors“
in Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology [Nov. 2006; 244(11)]

München, den 02.03.2009