

**IN VIVO TESTUNG VON HYALURONSÄUREGELN  
ALS GLASKÖRPERERSATZ**

von Nele Heider, geb. Schneider

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der Doktorwürde der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

IN VIVO TESTUNG VON HYALURONSÄUREGELN ALS  
GLASKÖRPERERSATZ

von Nele Heider, geb. Schneider  
aus Göppingen

München 2019



**AUS DEM ZENTRUM FÜR KLINISCHE TIERMEDIZIN**

der Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

Lehrstuhl für Innere Medizin und Chirurgie des Pferdes sowie für  
Gerichtliche Tiermedizin

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. Hartmut Gerhards

Angefertigt an der Universitäts-Augenklinik in Tübingen

Mentor: Prof. Dr. med. Martin Spitzer



**Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. Reinhard K. Straubinger, Ph.D.

**Berichterstatter:** Univ.-Prof. Dr. Hartmut Gerhards

**Korreferent/en:** Univ.-Prof. Dr. Andrea Meyer-Lindenberg

**Tag der Promotion: 27.07.2019**



Meinem Mann Christoph

sowie den Kaninchen, die für diese Studie ihr Wertvollstes gaben



## INHALTSVERZEICHNIS

<b>AUS DEM ZENTRUM FÜR KLINISCHE TIERMEDIZIN.....</b>	<b>IV</b>
<b>I. EINLEITUNG.....</b>	<b>1</b>
<b>II. LITERATURÜBERSICHT .....</b>	<b>3</b>
1. Das Auge .....	3
1.1. Aufbau des Auges.....	3
1.2. Aufbau der Netzhaut.....	4
1.2.1. Die Photorezeptoren und deren Aufgabe.....	6
1.2.2. Die retinalen Müllerzellen .....	7
1.3. Der intraokulare Druck (IOP).....	8
1.3.1. Messung des intraokularen Druckes mit Hilfe des Schiötz Tonometers.....	9
1.4. Das Auge des Kaninchens .....	9
1.5. Der physiologische Glaskörper.....	10
1.6. Bisherige Glaskörpertamponadaterialien.....	12
1.7. Der ideale Glaskörperersatz.....	13
1.7.1. Hyaluronsäure.....	13
1.7.2. Hydrogele als Glaskörperersatzstoff auf Basis quervernetzter Hyaluronsäure.....	14
2. Ablatio Retinae .....	16
3. Pars plana Vitrektomie .....	17
4. Elektroretinogramm (ERG) .....	18
5. Optische Kohärenztomografie (OCT) .....	20
<b>III. MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>23</b>
1. Material.....	23
1.1. Chemikalien.....	23
1.2. Puffer .....	24
1.3. Testkit .....	24
1.4. Antikörper.....	25
1.5. Verbrauchsmaterialien .....	25
1.6. Medikamente .....	26
1.7. Glaskörpertamponaden .....	27
1.8. Geräte.....	27

2.	Methoden.....	28
2.1.	Tierversuch.....	28
2.1.1.	Versuchstiere und Versuchstierhaltung.....	28
2.1.2.	Versuchsaufbau .....	29
2.1.3.	Voruntersuchungen .....	29
2.1.3.1.	Spaltlampenuntersuchung .....	30
2.1.3.2.	Elektroretinogramm .....	30
2.1.3.3.	Optische Kohärenztomographie.....	32
2.1.4.	OCT-Beispielbilder Verträglichkeitsstudie.....	33
2.1.5.	Messung des intraokularen Druckes .....	37
2.1.6.	Operation.....	39
2.1.6.1.	Pars plana Vitrektomie Verträglichkeitsstudie.....	39
2.1.6.2.	Pars plana Vitrektomie im Ablatiomodell.....	40
2.1.7.	Nachbeobachtungsuntersuchungen .....	41
2.1.8.	Euthanasie .....	42
2.1.9.	Bulbusentnahme .....	42
2.2.	Makroskopische Beurteilung der Bulbi.....	42
2.3.	Histologie .....	43
2.3.1.	Probenbearbeitung und Schnittgewinnung.....	43
2.3.1.1.	Fixierung .....	43
2.3.1.2.	Einbetten.....	44
2.3.1.3.	Ausgießen.....	44
2.3.1.4.	Schneiden der Proben.....	45
2.3.2.	Histologische Färbungen.....	46
2.3.2.1.	Vorbereitung vor den Färbungen .....	46
2.3.2.1.1.	Ansetzen des Tris-gepufferter-Saline-Puffers.....	46
2.3.2.1.2.	Ansetzen des Citratpuffers .....	46
2.3.2.2.	Entparaffinieren und Rehydrieren der Schnitte.....	46
2.3.3.	Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	47
2.3.4.	Immunhistologische Färbungen .....	47
2.3.4.1.	Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein-Färbung .....	50
2.3.4.1.1.	Auswertungsschema GFAP-Färbung.....	50
2.3.4.2.	Anti-Brn3a-Färbung.....	51
2.4.	Statistische Auswertung .....	52

<b>IV.</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>55</b>
1.	Verträglichkeitsstudie .....	55
1.1.	Intraokularer Druck .....	55
1.1.1.	Verträglichkeit über einen Monat.....	55
1.1.2.	Verträglichkeit über drei Monate.....	58
1.1.3.	Verträglichkeit über sechs Monate .....	59
1.2.	Spaltlampenuntersuchung.....	60
1.2.1.	Vorhandenes Fibrin .....	61
1.2.1.1.	Verträglichkeit über einen Monat.....	61
1.2.1.2.	Verträglichkeit über drei Monate.....	62
1.2.1.3.	Verträglichkeit über sechs Monate .....	62
1.2.2.	Kataraktrate.....	63
1.3.	Makroskopische Beurteilung der entnommenen Augen.....	64
1.3.1.	Rate an postoperativen Netzhautablösungen .....	64
1.3.2.	Makroskopisches Bild .....	65
1.4.	Histologie.....	66
1.4.1.	HE-Färbung .....	66
1.4.2.	GFAP-Färbung .....	67
1.4.3.	Brn3a-Färbung .....	70
1.4.4.	Ausmessung der Netzhautdicke.....	73
2.	Ablatiomodell .....	74
2.1.	Intraokularer Druck .....	74
2.1.1.	Silikonöl.....	74
2.1.2.	„ViBos-strong“ .....	75
2.1.3.	„ViBos-soft“ .....	77
2.2.	Spaltlampenuntersuchung.....	78
2.2.1.	Vorhandenes Fibrin .....	78
2.2.1.1.	Silikonöl.....	78
2.2.1.2.	„ViBos-strong“ .....	79
2.2.1.3.	„ViBos-soft“ .....	80
2.2.2.	Kataraktrate.....	82
2.3.	Makroskopische Beurteilung des Auges nach Entnahme.....	84
2.3.1.	Ablatorate .....	84
2.3.1.1.	Silikonöl.....	84
2.3.1.2.	„ViBos-strong“ .....	84

2.3.1.3.	„ViBos-soft“ .....	85
2.3.2.	Makroskopische Beispielbilder .....	85
2.4.	Histologie .....	87
2.4.1.1.	Silikonöl .....	87
2.4.1.2.	„ViBos-strong“ .....	88
2.4.1.3.	„ViBos-soft“ .....	88
2.4.4.	Ausmessung der Netzhautdicke der drei Ablatiomodell-Gruppen .....	94
3.	ERG-Auswertung .....	96
3.1.	Normalverteilung der Daten .....	96
3.2.	Unterschiede zwischen den Baselines der operierten Augen zu den Baselines der Partneraugen .....	97
3.3.	Unterschied zwischen den operierten Augen und den Kontrollaugen .....	97
3.3.1.	Verträglichkeitsstudie .....	98
3.3.2.	Ablatiomodell .....	99
3.3.2.1.	Silikonölgruppe .....	99
3.3.2.2.	„ViBos-strong“-Gruppe .....	100
3.3.2.3.	„ViBos-soft“-Gruppe .....	101
3.4.	Unterschied zwischen den operierten Augen der drei verschiedenen Ablatiomodell-Gruppen .....	102
3.5.	Übersichten des ERG-Verlaufes der jeweiligen Versuchsgruppen .....	103
3.5.1.	Verträglichkeitsstudie .....	103
3.5.2.	Ablatiomodell .....	106
<b>V.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>111</b>
1.	Diskussion über den Aufbau und Methodik der beiden durchgeführten Studien .....	111
2.	Diskussion zur Bewertung der Verträglichkeit des „ViBos strong“ .....	116
3.	Diskussion zur Bewertung der Wirksamkeit der getesteten Hydrogele im Vergleich zum Silikonöl im Ablatiomodell .....	124
4.	Schlussfolgerung .....	129
<b>VI.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>131</b>
<b>VII.</b>	<b>SUMMARY .....</b>	<b>133</b>
<b>VIII.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>135</b>

<b>IX.</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>141</b>
1.	Abbildungsverzeichnis .....	141
2.	Tabellenverzeichnis .....	153
3.	Publikationen .....	154
3.1.	Paper: .....	154
3.2.	Kongressvorträge:.....	154
3.3.	Poster: .....	154
<b>X.</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>155</b>



**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

A.d.	Aqua destillata (lat. für destilliertes Wasser)
bzw.	Beziehungsweise
ca.	zirka
cd.s/m <sup>2</sup>	Leuchtdichte / Leuchtstärke
cGMP	Cyclisches Guanosinmonophosphat
d.h.	das heißt
ERG	Elektroretinogramm
GFAP	Glial fibrillary acidic protein
HE	Hämatoxylin-Eosin
HHS	Harris Hämatoxylin solution
Hz	Hertz
IOP	intraokularer Druck (Pressure)
kg	Kilogramm
LSAB	Labelled (strept-) Avidin- Biotin-Methode
µg	Mikrogramm
µm	Mikrometer
mg	Milligramm
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
ms	Millisekunde
M	molare Masse
Mo	Monat
N.	Nervus
OCT	optische Kohärenztomografie
OPs	oszillatorische Potentiale
PLL	Poly-L-Lysin
PPV	Pars plana Vitrektomie
PVR	Proliferative Vitreoretinopathie
RGZ	Retinale Ganglienzelle
s.	Siehe
sc.	Subkutan
SL	Spaltlampe
T	Tag
TBS	Tris-buffered saline
UAKT	Universitäts-Augenklinik Tübingen
UV-Licht	Ultraviolettes Licht
VU	Voruntersuchung





## I. EINLEITUNG

In der operativen Augenheilkunde ist die Behandlung komplizierter Netzhaut- und Glaskörpererkrankungen bei Menschen, seltener auch bei Tieren, eine der zentralen Herausforderungen. Hierfür wird im Rahmen der Standardtherapie der Glaskörper entfernt (Vitrektomie) und durch eine temporäre Tamponade ersetzt um die Anlage der Netzhaut zu stabilisieren. Da sich die tamponierenden Eigenschaften bisheriger Materialien wie Silikonöle, Gase oder semifluorierte Alkane aus der Kombination ihrer Oberflächenspannung und ihrem Auftriebsvektor zusammensetzen, können sie den Glaskörperraum nicht vollständig ausfüllen. Somit kann keine gleichmäßige Tamponade aller Netzhautanteile erreicht und Re-Proliferationen, wie etwa bei einer proliferativen Vitreoretinopathie (PVR), nicht verhindert werden. Zusätzlich kommt es aufgrund des abweichenden Brechungsindex von Silikonölen oder Gasen im Vergleich zu dem des natürlichen Glaskörpers zu einer deutlichen Minderung der Sehschärfe.

Silikonöle kommen vor allem in schwerwiegenden Fällen im Glaskörperraum zum Einsatz. Diese müssen allerdings durch einen Zweiteingriff wieder aus dem Glaskörperraum entfernt werden, um eine volle visuelle Rehabilitation zu ermöglichen und schwerwiegende Langzeitschäden zu vermeiden. Hierbei besteht neben dem normalen Operationsrisiko zusätzlich die Gefahr einer erneuten Netzhautablösung. Semifluorierte Alkane und Silikonöle besitzen überdies ein erhebliches Risiko für Nebenwirkungen wie z.B. die Entwicklung einer Katarakt oder eines schwer zu kontrollierenden, sekundären Glaukoms.

Um eine raschere visuelle Erholung der Patienten erzielen zu können, ist ein Tamponadematerial wünschenswert, das eine möglichst vollständige Ausfüllung des Glaskörperraumes ermöglicht und einen Brechungsindex aufweist, der dem des natürlichen Glaskörpers sehr nahe ist. Zudem ist ein nebenwirkungsfrei abbaubares oder sich selbst auflösendes Material hilfreich, um einen Zweiteingriff zu vermeiden.

Das Ziel dieser Arbeit lag darin, einen Glaskörperersatzstoff auf Basis von quervernetzter Hyaluronsäure in vivo auf seine Verträglichkeit und zusätzlich auf seine Wirksamkeit durch eine erfolgreiche Netzhautanlage im sogenannten „Ablatiomodell“ zu testen. Dies wurde über möglichst geringe äußere sowie innere Entzündungsanzeichen, eines möglichst erhaltenen intraokularen Druckes, der Ableitbarkeit eines normalen ERG's sowie einer unauffälligen OCT- sowie

histologischen Untersuchung mit anliegender und physiologischer Netzhaut definiert.

## II. LITERATURÜBERSICHT

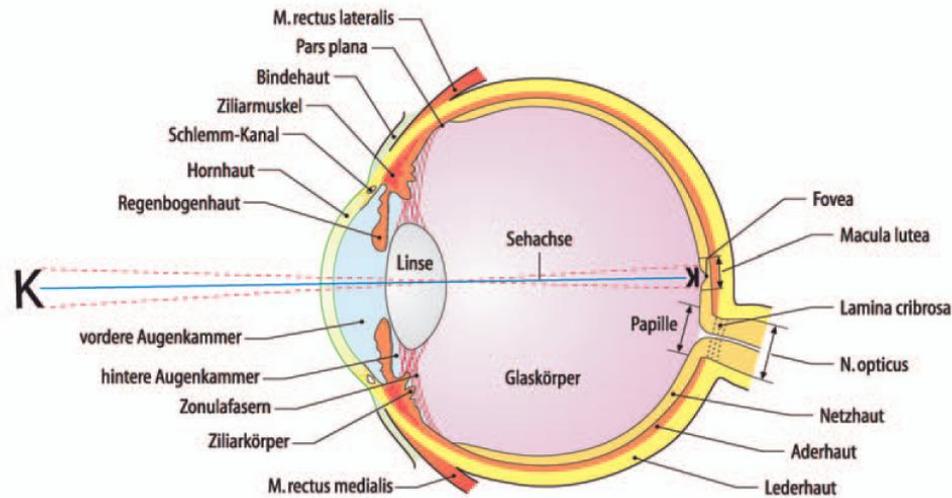
### 1. Das Auge

#### 1.1. Aufbau des Auges

Das Auge ist ein sehr komplex aufgebautes Sinnesorgan, das mithilfe des Linsenapparates und der Netzhaut Lichtreize registriert. Die registrierten Lichtreize werden über viele einzelne Nervenfasern, die sich zum Sehnerv vereinigen und auf diesem Wege das Augennere verlassen, an das Großhirn weitergeleitet.

Funktionell ist das Auge bei Menschen und Haussäugetieren in drei unterschiedlichen Schichten aufgebaut (Abb. 1). Die äußerste Schicht wird in einen vorderen und einen hinteren Anteil unterteilt und dient vor allem als Schutz- und Stüttschicht. Die Kornea (Hornhaut) bildet den vorderen Anteil, welcher in Richtung kaudal durch die Sklera (Lederhaut) fortgeführt wird. Die mittlere Schicht des Auges ist die aus Iris (Regenbogenhaut), dem Ziliarkörper (Strahlenkörper) und der Choroidea (Aderhaut) bestehende Uvea (mittlere Augenhaut). Die Choroidea (Aderhaut) trägt ihren Namen, da in ihr die Hauptgefäße des Auges verlaufen und sie durch Diffusion zur Ernährung der Netzhaut beiträgt. Die Iris stülpt sich im vorderen Augendrittel zum ringförmigen Ziliarmuskel aus und trennt so die vordere Augenkammer von der Hinteren. Durch unwillkürliche Kontraktion des Ziliarmuskels wird die durch die Iris gebildete Pupille je nach Lichteinfall eng- oder weitgestellt. Die Linse ist über Zonulafasern am Ziliarmuskel aufgehängt. Relaxiert sich der Ziliarmuskel, gelangen die Zonulafasern sowie die Linse unter Spannung, wodurch die Form der Linse abgeflacht wird. Kontrahiert sich der Ziliarmuskel nun, entspannen sich die Zonulafasern und die Linse nimmt wieder ihre ursprüngliche Form an.

Hinter der Linse beginnt der im hinteren Teil des Auges liegende Glaskörper, welcher das Innere des Auges zu etwa zwei Dritteln ausfüllt. Die Retina (Netzhaut) ist die lichtsensible und innerste Schicht des Auges.



**Abb. 1:** Schematischer Aufbau des menschlichen Auges, Grehn F.:Augenheilkunde. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Heidelberg 2009

## 1.2. Aufbau der Netzhaut

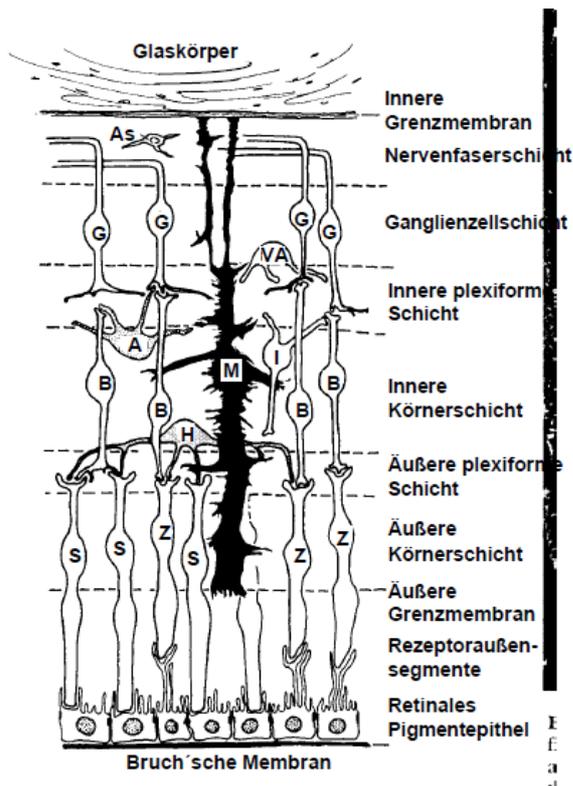
Die Netzhaut setzt sich aus mehreren Schichten zusammen (Abb. 2). Insgesamt können fünf verschiedene Zellarten unterschieden werden, die an der Verarbeitung und Weiterleitung der aufgenommenen Lichtreize beteiligt sind.

In der äußersten Schicht der Netzhaut befindet sich das nicht neuronale Pigmentepithel. Es liegt der Choroidea direkt auf und dient neben der Versorgung der Photorezeptoren mit Nährstoffen sowie der Entsorgung von Abfallstoffen auch dazu, das Augenhinnere durch eingelagertes Melanin zu schwärzen. Dies führt dazu, dass einfallendes Licht am Augenhintergrund nicht reflektiert und nicht zu viel Licht absorbiert wird.

Innen an das Pigmentepithel angrenzend liegen die Photorezeptoren, deren parallel zueinander angeordneten Perikaryen die äußere Körnerschicht der Netzhaut bilden. In den Photorezeptoren wird die elektromagnetische Energie der einfallenden Lichtstrahlen in elektrochemische Signale umgewandelt und diese an die Horizontal-, Bipolar-, und amakrinen Zellen weitergeleitet. Diese drei Zelltypen dienen der Signalweiterleitung zwischen der Photorezeptor- und der Ganglienzellschicht. Die diese zwei Schichten verbindende Schicht stellt die äußere plexiforme Schicht dar, in welcher die Dendriten der Bipolar- und Horizontalzellen mit den Synapsen der Photorezeptoren verschaltet werden. Durch das Vorhandensein der Horizontal- sowie der amakrinen Zellen wird neben der vertikalen auch eine horizontale Verschaltung zwischen den Photorezeptoren und den Bipolarzellen gewährleistet. Dadurch werden Informationen einer Photorezeptorzelle an mehrere Ganglienzellen (Divergenz) und gleichzeitig an eine Ganglienzelle Signale vieler Photorezeptorzellen gemeldet (Konvergenz). Dies ermöglicht eine sehr hohe Flexibilität der Informationsverarbeitung.

In Richtung des Augenninneren folgt die innere Körnerschicht, in welcher die Zellkörper der Müllerzellen, den vorherrschenden Gliazellen der Netzhaut, liegen. Neben einer Schutz-, Stütz- und Pflegefunktion werden den Müllerzellen auch nutritive Eigenschaften der Ganglienzellen zugeschrieben (Newman 1989 und Reichenbach et al. 1993). Die Axone der Amakrin- und Bipolarzellen sowie die Dendriten der Ganglienzellen bilden die letzte vor den Ganglienzellen liegende, vorverarbeitende Schicht, die innere plexiforme Schicht. Die letzte und am weitesten innen im Auge liegende Schicht der Netzhaut ist die Ganglienzellkörper enthaltende Ganglienzellschicht. Die Axone der Ganglienzellen vereinigen sich zum Sehnerven (N. opticus) und ziehen zum Gehirn (Kolb et al. 1992).

Innen, der Nervenfaserschicht anliegend, befindet sich die innere Grenzmembran, Membrana limitans interna genannt, die die Netzhaut komplett bedeckt und eine Grenze zwischen dem Glaskörper und der Netzhaut bildet.



**Abb. 2:** Schematischer Aufbau der Netzhaut und ihrer Schichten mit den wesentlichen Zellen und den angrenzenden Strukturen des Glaskörpers und des retinalen Pigmentepithels. S - Stäbchen, Z - Zapfen, H - Horizontalzellen, B - Bipolarzellen, I - Interplexiforme Zellen, M - Müller Zellen, A - Amakrine Zellen, VA - Verlagerte amakrine Zellen, G - Ganglienzellen, As - Astrozyten. (Schema modifiziert nach J.E. Dowling und B.B. Boycott 1966)

### 1.2.1. Die Photorezeptoren und deren Aufgabe

Die Photorezeptoren sind die lichtempfindlichen Zellen des Auges und wandeln die elektromagnetische Energie des einfallenden Lichtes in elektrochemische bzw. neuronale Signale um. Dieser Vorgang der Signalumwandlung wird Phototransduktion bezeichnet und später genauer erläutert.

Es können zwei verschiedene Arten der Photorezeptoren unterschieden werden, die Stäbchen und die Zapfen. Das Photopigment der Stäbchen ist sehr lichtempfindlich. Auch für geringe Mengen an einfallendem Licht ist es sehr sensitiv und damit für die Wahrnehmung von hell oder dunkel zuständig. Die Zapfen besitzen zwar eine geringere Empfindlichkeit für Licht, haben aber die bemerkenswerte Fähigkeit, sich selbst an sehr helles Licht anzupassen und ermöglichen das Farbsehen (Gouras 1984 und Kefalov 2011).

Der Vorgang der Phototransduktion der Stäbchen und Zapfen findet in beiden Zelltypen prinzipiell sehr ähnlich statt. Der Unterschied besteht vor allem darin, dass die Zapfen eine deutlich niedrigere Sensitivität für Licht als die Stäbchen aufweisen. Zusätzlich

besitzen sie eine zehnfach schnellere Erholungsrate und damit eine sehr schnelle Regeneration des Rhodopsins (Wolf 2004). Die Regeneration von Rhodopsin und damit der Zurückgewinnung der Sensitivität der Stäbchen kann nach Einfall von sehr hellem Licht bis zu einer Stunde andauern. Im Gegensatz dazu benötigt die Regeneration der Zapfen meist nur wenige Minuten (Kefalov 2011).

Eine Besonderheit dieser Sinnesrezeptoren liegt darin, dass sie im Gegensatz zu den meisten anderen Sinneszellen bei einfallendem Reiz nicht depolarisieren, sondern hyperpolarisieren. Das heißt, dass es bei fehlendem Reiz zu einem kontinuierlichen Einstrom von Natriumionen über die Photorezeptormembran kommt und die Zelle im Ruhezustand depolarisiert ist. Dadurch wird an der Synapse eine ständige Ausschüttung von Glutamat verursacht, welche eine anhaltende Aktivierung der Bipolarzellen bewirkt. Da die Bipolarzellen aber eine inhibitorische Wirkung auf die Ganglienzellen besitzen, kommt es in diesem Zustand zu keiner Informationsweiterleitung an das Gehirn. Fällt nun Licht ein, kommt es durch den Schluss der Natriumkanäle zur Hyperpolarisation der Zelle und damit zu einer verringerten Transmitterausschüttung an der Synapse. Dadurch wird die inhibitorische Wirkung der Bipolarzellen auf die Ganglienzellen aufgehoben und eine Informationsübertragung an das Gehirn kann erfolgen.

*(Die genannten anatomischen und physiologischen Gegebenheiten des Auges, der Netzhaut und der Photorezeptoren sind den zwei Büchern: „Physiologie der Haustiere“, von Engelhardt W., Breves, 3. Auflage, Enke Verlag Stuttgart (S. 87 – 97) und „Lehrbuch der Physiologie“ Klinke R., Silbernagl S., 2. Auflage, 1996, Thieme Verlag Stuttgart entnommen.)*

### **1.2.2. Die retinalen Müllerzellen**

Die retinalen Gliazellen setzen sich vor allem aus den beiden Makrogliazellen, den Astrozyten und den Müllerzellen sowie den Mikrogliazellen zusammen.

Die Müllerzellen gehören, wie schon im Kapitel 1.2. erwähnt, zu den Gliazellen der Netzhaut und besitzen neben ihrer Stütz-, Pflege und Schutzfunktion auch nutritive Eigenschaften (Newman 1989 und Reichenbach 1993). Sie inaktivieren chemische Transmitter und entfernen Stoffwechselprodukte wie z.B. Ammoniak oder Kohlendioxid (Conner et al. 1985). Ebenso stellt die Absorption von Flüssigkeit aus dem Netzhautgewebe eine der Hauptaufgaben der Müllerzellen dar (Reichenbach et al. 2007). Sie besitzen einen zylindrischen Zellkörper, der mit vielen kleinen Ausläufern ausgestattet ist. Die Enden beider Seiten sind spezialisiert und weisen spezielle strukturelle Eigenschaften auf. Das apikale Ende besteht aus vielen feinen Mikrovilli, welche bis in die äußere Grenzmembran hineinziehen. Das gegenüberliegende Ende

schwillt zu einer knollenartigen Auftreibung an und reicht bis zur inneren Grenzmembran der Netzhaut (Conner et al. 1985). Sie füllen den Hauptteil des extraneuronalen Raumes der Retina aus und sind untereinander über Gap junctions verbunden. Da die Müllerzellen von einem einwärtsgerichteten  $K^+$ -Ionenstrom dominiert werden, ist ihr Membranpotential negativ. Dies hat ein hohes Ruhemembranpotential und einen niedrigen Eingangswiderstand zur Folge (Francke et al. 2001). Auf einfallendes Licht reagieren sie deshalb mit einer kleinen, langsamen Depolarisation (Conner et al. 1985).

Unter pathologischen Bedingungen kommt es zu gliotischen Veränderungen der Müllerzellen, welche eine Netzhautdegeneration und die Bildung eines Ödems der Netzhaut begünstigen können. Meist kommt es zu Beginn einer Retinopathie zuerst zu einer verminderten Expression des Hauptkaliumkanals der Müllerzellen. Dies hat eine Beeinträchtigung des schnellen Wassertransportes durch die Müllerzellmembran zur Folge und infolgedessen kommt es zur osmotischen Schwellung der Müllerzellen (Reichenbach et al. 2007). Über die Expression des Glial fibrillary acidic protein (GFAP) kann die Aktivität der Müllerzellen immunhistochemisch nachgewiesen werden. Schon eine Woche nach einer Netzhautablösung kann man einen deutlichen Anstieg von GFAP und einen deutlich verringerten Kalium-Einwärtsstrom nachweisen. Dies hat ein deutlich erhöhtes, bis sogar depolarisiertes Membranpotential zur Folge, womit die physiologische Gliafunktion der Müllerzellen stark beeinträchtigt wird (Francke et al. 2001).

### **1.3. Der intraokulare Druck (IOP)**

Die für die Angabe des Augeninnendrucks gebräuchliche SI-Basiseinheit ist mmHg (Millimeter Quecksilbersäule) und beträgt beim Menschen im Mittel  $15,5 \pm 2,72$  mmHg und liegt zwischen 10 mmHg und 21 mmHg (Leydecker 1980). Ist das Verhältnis von Kammerwasserproduktion und Kammerwasserabfluss ausgeglichen, so kann der IOP auf einem konstanten Niveau gehalten werden (Gum et al. 2007). Produziert wird das Kammerwasser von den Ziliarfortsätzen des Ziliarkörpers (Brubaker 1991 und Grüb und Mielke 2004). Im Kammerwinkel fließt es über den Schlemm-Kanal ab und gelangt anschließend über den venösen *Plexus-venosus-sclerae* wieder in das Gefäßsystem. Da das Kammerwasser in den systemischen Kreislauf geleitet wird, unterliegt der Füllungszustand des Auges den physiologischen Schwankungen des venösen Blutdruckes (Draeger et al. 1993).

### 1.3.1. Messung des intraokularen Druckes mit Hilfe des Schiötz Tonometers

Das Schiötz Tonometer wurde von dem norwegischen Augenarzt Prof. H. Schiötz entwickelt. Es bestimmt den intraokularen Druck (IOP) als klassisches Verfahren der Impressionstonometrie über die Einsinktiefen eines Senkstiftchens mit vorgegebener Kraft in die Kornea. Das Senkstiftchen sinkt so tief, bis sein Druck gleich der Summe aus dem IOP und dem durch das Tonometer erzeugten Gegendruck ist. So muss also bei einem höheren IOP weniger Gegendruck erzeugt werden und das Senkstiftchen sinkt umso weniger ein (Yamamoto und Young 2010). Die Einsinktiefen und der IOP verhalten sich also umgekehrt proportional zueinander. Da die Bulbushüllen bei steigendem IOP eine höhere Rigidität aufweisen, kann der Druckanstieg in diesen Fällen umso größer ausfallen. Die Rigidität der Bulbushüllen ist auch von der Bulbusgröße sowie dem Alter der Patienten abhängig und kann so zu leicht veränderten Werten führen (Pallikaris et al. 2005)

### 1.4. Das Auge des Kaninchens

Das Auge des Kaninchens, zoologisch korrekte Bezeichnung *Oryctolagus cuniculus*, ähnelt in seinem Aufbau und seiner Form sehr dem menschlichen Auge. Im Vergleich zum menschlichen Auge besitzt das Kaninchen einen relativ großen *Bulbus oculi*, welcher weit über den Orbitalrand hervorragt. Zudem ermöglichen die seitlich am Schädel angelegten Orbitae ein Gesichtsfeld von fast 360°. Die Linse ist im Verhältnis zur Bulbusgröße sehr groß und kugelförmig (Prince et al. 1960).

Der Augenhintergrund des Kaninchens ist, außer bei albinotischen Tieren, dunkel pigmentiert und besitzt helle, stark myelinisierte Nervenfasern, die vor allem einen horizontalen Verlauf in nasaler und temporaler Richtung aufweisen. Die querovale Papille ist ebenso stark myelinisiert aber nicht wie beim Menschen vor-, sondern nach innen gewölbt (Prince et al. 1960). Das Kaninchen besitzt ähnlich dem Menschen und dem Schwein, aber anders als die meisten anderen Haussäugetiere, kein *Tapetum lucidum*, welches sich durch ein pigmentarmes bzw. pigmentfreies Pigmentblatt auszeichnen würde. Ein *Tapetum lucidum* würde ermöglichen, dass das einfallende Licht reflektiert wird und es zu einer zusätzlichen Reizung der Photorezeptoren kommt (Walde et al. 2008).

Die hasenartigen Lebewesen besitzen eine Netzhaut vom merangiotischen Typ, das eine lediglich partiell vaskularisierte Netzhaut beschreibt (Abb. 3 e. und f.). Dabei handelt es sich um Arteriolen und Venolen, die in der *Excavatio disci* aus- bzw. eintreten und sich in horizontalem Verlauf im Gebiet der myelinisierten Nervenfasern nach temporal und nasal aufzweigen (Wagner et al. 1998). Kaninchen besitzen keine Makula sondern

einen, den visuellen Streifen genannten, sehr empfindlichen und verhältnismäßig dicken Bereich der Netzhaut. In diesem Bereich weist die sonst nur Stäbchen enthaltende Netzhaut auch Zapfen, die das Farb- und Scharfsehen der vor allem dämmerungsaktiven Kaninchen ermöglichen, auf (Prince et al. 1960). Die dem menschlichen Auge ansonsten sehr ähnliche Elektrophysiologie des Kaninchenauges zeigt allerdings eine relativ kleine Amplitude der Antworten im Elektoretinogramm (ERG, siehe unter Punkt 4).

Bei Kaninchen mit stark pigmentierten Iriden kommen im uvealen Pigment Atropinasen vor, die dazu führen, dass die Pupille mit Atropin kaum weitgestellt werden kann. In diesen Fällen kommen Präparate mit Phenylephrinhydrochlorid als Mydriatikum zur Anwendung (Lee 1983).



**Abb. 3:** *e: pigmentierter Fundus eines Kaninchens; f: albinotischer Fundus eines Kaninchens, aus: „Anatomie für die Tiermedizin“ Herausgegeben von F.V. Salomon, H. Geyer, U. Gille; 3. Auflage, Enke-Verlag Stuttgart 2015*

### 1.5. Der physiologische Glaskörper

Der Glaskörper füllt das Innere des Auges zwischen hinterer Linsenkapsel bis zur Netzhaut aus und nimmt damit etwa 70-80% des Gesamtvolumens des menschlichen Auges ein (Spitzer und Januschowski 2015). Seine Dichte beträgt zirka 1,0053 – 1,0089 g/cm<sup>3</sup> und hat einen Refraktionsindex von 1,3345- 1,3348 (Swindle und Ravi 2007). Lediglich an der anterioren Netzhaut, der Makula und der Papille ist er an umschriebenen Bereichen mit seiner Umgebung verbunden. Zudem ist er außer an dem Glaskörperkortex, an dem einige Hyalozyten und makrophagenartige monozytäre Zellen vorkommen, zellarm und weist einen neutralen pH-Wert von ungefähr 7,0-7,4 auf (Swindle und Ravi 2007). Der Glaskörper wird in seinem Zentrum in anterioposteriorer Richtung von Kollagenfasersträngen (überwiegend Kollagen Typ II) durchzogen. Dieses Kollagenfasergerüst interagiert mit hydratisierter Hyaluronsäure wodurch die viskoelastische Konsistenz, die optische Transparenz sowie die

Verhinderung von Lichtstreuung des Glaskörpers gegeben ist (Spitzer und Januschowski 2015). Die sehr gute Fähigkeit der Hyaluronsäure Wasser zu binden erklärt den hohen Wasseranteil von bis zu 98% des physiologischen Glaskörpers (Steel und Loter 2013). Zusätzlich kommt es durch das negative elektrische Potential der polyanionischen Hyaluronsäure zur Stabilisation des Kollagenfasergerüsts (Lang et al. 2014). Der Glaskörper ist so beschaffen, dass er sowohl Traktions- als auch Druckkräften standhalten und so die Netzhaut hiervor schützen kann (Steel und Loter 2013). Ferner werden dem Glaskörper metabolische und durch die hohe Ascorbinsäurekonzentration antioxidative sowie stabilisierende Funktionen des Kollagengerüsts zugesprochen (Spitzer und Januschowski 2015).

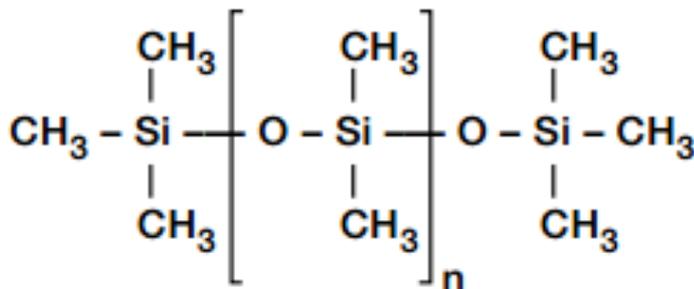
Die Konzentration an Hyaluronsäure im Verhältnis zum Kollagenfaseranteil ist in den verschiedenen Glaskörperregionen unterschiedlich hoch. Im hinteren Bereich des Glaskörpers ist im Kollagenfasergerüst mehr Hyaluronsäure eingelagert als im vorderen Anteil (Soman und Banerjee 2003). Proportional zur Hyaluronsäurekonzentration verhält sich die Viskosität des Glaskörpers. Am höchsten ist sie im hinteren Anteil und nimmt in Richtung Linse kontinuierlich ab (Swindle und Ravi 2007). Im Laufe des Lebens kommt es zu einer fortschreitenden Verflüssigung des Glaskörpers (Liquefaktion). Zugrunde liegen hierfür Konformationsänderungen der Glaskörpermatrix, welche eine zunehmend schlechter werdende Interaktion zwischen den Kollagenfibrillen und der Hyaluronsäure zur Folge haben und eine Aggregation der Kollagenfasern (Syneresis) begünstigen. Hierbei entstehen Zonen mit einer erhöhten Kollagenfaserkonzentration sowie Zonen ohne Fasern. In diesen faserfreien Glaskörperbereichen findet sich verflüssigtes Gel, sogenannte Lakunen. Diese vermehren und vergrößern sich im Laufe der Zeit mit zunehmender Aggregation der Kollagenfasern. Gleichzeitig kommt es zu einer vermehrten Bildung freier Radikale welche die Viskositätsabnahme sowie die Destruktion der Glaskörperstruktur begünstigen (Spitzer und Januschowski 2015).

Vor allem während der Wachstumsphase dient der Glaskörper dem Auge als formgebende Substanz und kann mittels Diffusion frei mit der Extrazellulärflüssigkeit der Retina kommunizieren. Durch die Bereitstellung von Metaboliten oder Aufnahme von Abfallstoffen dient er zusätzlich der Homöostase des retinalen Milieus (Hockwin 1989). Die optische Transparenz des Glaskörpers wird durch Hyalozyten und hydrolytische Enzyme des Glaskörpers erhalten, welche zum Teil mithilfe einwandernder Makrophagen kleine Trübungen beseitigen können. Zudem besitzt er einen anti-angiogenen-Faktor, der die Gefäßeinsprossung verhindert (Zhu et al. 1997).

Zusätzlich besitzt er noch eine wucherungs- und entzündungshemmende Wirkung (Kleinberg et al. 2011).

### 1.6. Bisherige Glaskörpertamponadematerialien

Da die bisherigen Glaskörperersatzstoffe wie Silikonöle, Gase oder semifluorierte Alkane ihre tamponierenden Eigenschaften durch die Kombination ihres Auftriebsvektors und ihrer Oberflächenspannung erreichen und allesamt hydrophobes Verhalten aufweisen, kann eine gleichmäßige Tamponade aller Netzhautanteile nicht erreicht werden. Daraufhin kann es in den nicht ausreichend tamponierten Bereichen zu wiederholten Netzhautablösungen oder über Einwanderung von Wachstumsfaktoren zur Proliferation von Narbengewebe kommen. Der Brechungsindex von Silikonölen oder Gasen weicht zudem stark von dem des natürlichen Glaskörpers ab, wodurch eine deutliche Minderung des Sehvermögens bedingt wird. Nebenwirkungen wie die Entwicklung eines Sekundärglaukoms, einer Katarakt oder entzündliche Reaktionen können ebenso verursacht werden. Ein weiterer großer Nachteil des Silikonöls ist die aufgrund der hohen langfristigen Nebenwirkungen in der Regel bereits nach ca. 6 – 12 Wochen notwendige Entfernung (Spitzer et al. 2012, Schramm et al. 2012). Gase weisen eine kurze Verweildauer im Glaskörperraum auf, da sie innerhalb von wenigen Tagen bis Wochen bereits aus dem Auge herausdiffundieren können und somit die tamponierenden Eigenschaften häufig zu früh verlieren (Mariacher, Szurman 2015). Silikonöle sind klare, geruchs- und geschmackslose Flüssigkeiten, die aus linearen Polysiloxanen (Abb. 4) bestehen. Die Viskosität des Silikonöls ist von der Anzahl der Zwischenglieder im Molekül bestimmt und zeigt aufgrund der geringen intermolekularen Kräfte zwischen den einzelnen Molekülen über einen sehr weiten Bereich eine flüssige Konsistenz auf (Wacker).



**Abb. 4:** Strukturformel Silikonöl: Grundstruktur Dimethylpolysiloxan (Quelle: Wacker Silicones, Begreifen und Verstehen, Schulversuche mit Wacker-Siliconen)

## 1.7. Der ideale Glaskörperersatz

Der natürliche Glaskörper besteht, wie im vorherigen Kapitel genauer beschrieben, aus einem mit Kollagenfasern und eingelagerter polyanionischer Hyaluronsäure stabilisierten Hydrogel. Trotz der scheinbar einfachen Struktur, konnte aufgrund der vielen verschiedenen zu erfüllenden Ansprüche, bis heute noch kein optimal geeigneter Glaskörperersatz gefunden werden.

Idealerweise sollte er die optischen Eigenschaften der Transparenz, der Refraktionsstabilität und -neutralität und gleichzeitig die strukturgebende Aufgabe des physiologischen Glaskörpers erfüllen (Liesegang 1990 und Chirila et al. 1994). Dies würde er, wenn die Viskosität, die Kohäsivität und die Grenzflächenspannung der Tamponade etwas über denen des natürlichen Glaskörpers liegen würden und so ein gleichmäßiges Andrückverhalten in alle Richtungen ermöglichen würde (Spitzer et al. 2012). Zudem sollte er eine lange intravitreale Stabilität aufweisen, um eine wiederholte Netzhautablösung durch zu schnellen Verlust der tamponierenden Eigenschaften zu vermeiden (Schramm et al. 2012). Zusätzlich wäre aufgrund des direkten Kontaktes zur Netzhaut eine exzellente Verträglichkeit wünschenswert.

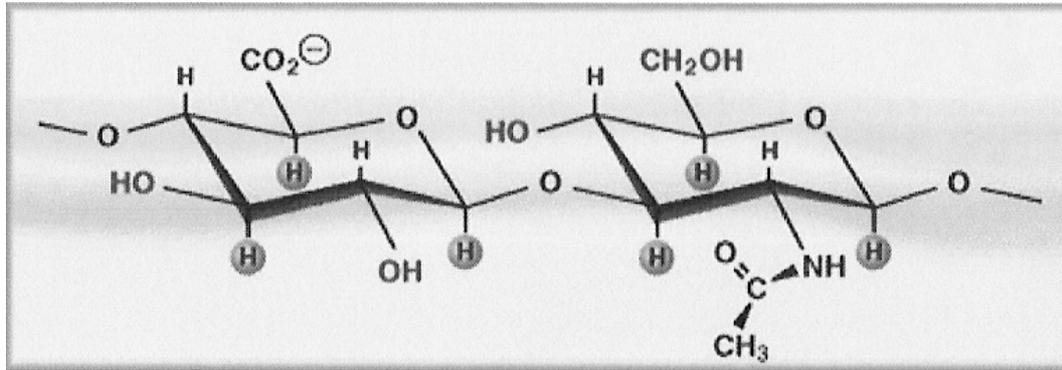
Ebenso sollte der ideale Glaskörperersatz die biologischen Eigenschaften übernehmen und ein eigenes Kompartiment mit antiproliferativen, antiadhäsiven und antimigrativen Eigenschaften darstellen. Um eine zweite Operation zur Entfernung der Glaskörpertamponade zu umgehen und das Risiko von Komplikationen minimieren zu können, sollte er inert und biologisch abbaubar sein. Gleichzeitig sollte er, falls dies aufgrund von Komplikationen erforderlich sein sollte, gut zu entfernen sein und nur eine geringe und rasche Quellung um höchstes 10 – 20 % aufweisen, um einen zu hohen postoperativen intraokularen Druck zu vermeiden (Spitzer et al. 2012).

### 1.7.1. Hyaluronsäure

Hyaluronsäure ist ein hochmolekulares Polysaccharid, welches im Jahre 1923 von Meyer und Palmer im menschlichen Glaskörper entdeckt wurde. Da sie dort in hoher Konzentration vorkommt und viele positive Eigenschaften besitzt, wie z.B. ihre sehr hohe Wasserbindungskapazität, stellt sie ein gutes Ausgangsprodukt für eine neue Tamponade auf Hydrogelbasis dar (Spitzer et al. 2012).

Weil die Carboxylgruppen der Hyaluronsäure (Abb. 5) im Körper bei physiologischem pH-Wert meist alle ionisiert sind, liegt die Hyaluronsäure nicht in freier Säureform, sondern in Polyanionform vor (Kakheni et al. 2003). Dieses Polyanion besitzt eine sehr hohe Wasserbindungseigenschaft, das den sehr hohen Anteil an Wasser im

physiologischen Glaskörper erklärt (Hascall und Laurent 1997). Zudem ist sie nicht-immunogen und besitzt mukoadhäsive Eigenschaften (Suri und Banerjee 2014).



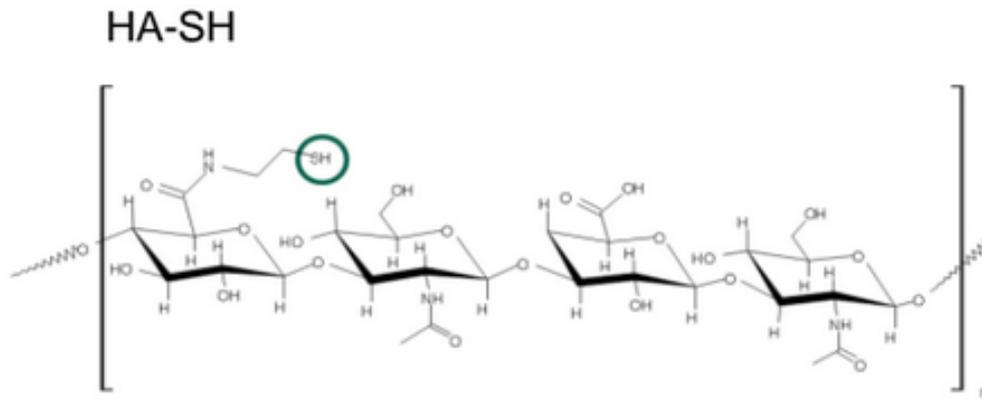
*Abb. 5: Strukturformel Hyaluronsäure (Hascall V. und Laurent T. 1997)*

Die Grundeinheit der Hyaluronsäure besteht aus einem Disaccharid, zusammengesetzt aus D-Glukuronsäure und D-N-Acetylaminosamin, diese sind abwechselnd über eine beta-1,4 und beta-1,3 Glykosidierung verbunden (Suri und Banerjee 2014). Das Disaccharid kann über Hyaluronsäuresynthetasen wiederholt aneinandergelagert und so zu langen, linearen Ketten verbunden werden. Das so entstandene Hyaluronsäuremolekül ist amphiphil, wodurch hydrophile und lipophile Eigenschaften zugleich beschrieben werden. Die amphiphile Eigenschaft des Hyaluronsäuremoleküls entsteht dadurch, dass die axial liegenden Wasserstoffatome nicht polar und relativ hydrophob, die äquatorial liegenden Ketten polar und hydrophil sind. Durch diese Eigenschaft stellt sich die Hyaluronsäure in physiologischen Lösungen in willkürlicher sich ständig wechselnder Spiralstruktur dar (Hascall und Laurent 1997). Diese Struktur erlaubt es, dass kleinere Moleküle, wie beispielsweise Wasser, Elektrolyte oder Nährstoffe frei durch sie hindurchdiffundieren können, größere Moleküle wie Proteine aber aufgrund ihrer Größe ausgeschlossen werden. Da das Hyaluronsäuregerüst aber ständig in Bewegung ist und sich dadurch auch die Porengröße des Gerüsts verändert, ist es möglich, dass auch größere Moleküle diffundieren können (Hascall und Laurent 1997). Die Viskosität der Hyaluronsäure wird dadurch erklärt, dass sie neben der Ausbildung der Hyaluronsäureketten über ihre Seitenketten mit anderen Makromolekülen interagieren kann (Hascall und Laurent 1997).

### **1.7.2. Hydrogele als Glaskörperersatzstoff auf Basis quervernetzter Hyaluronsäure**

Aufgrund des natürlichen Vorkommens im menschlichen Auge und ihrer vielfältigen Eigenschaften eignet sich die Hyaluronsäure als Basis für einen dreidimensionalen Glaskörperersatz mit guten optischen Eigenschaften und gutem Tamponadeeffekt. Zu

Beginn wurde Hyaluronsäure in nicht vernetzter Form als Glaskörpersersatz angewendet (Pruett et al. 1979), blieb jedoch aufgrund von schlechten tamponierenden Eigenschaften, Anstieg des Augeninnendrucks und einer viel zu kurzen Retentionsdauer im Auge ohne Erfolg. Etwas später versuchte man ein dreidimensionales Konstrukt auf Hydrogelbasis zu konstruieren, indem man die Hyaluronsäure quervernetzte, um eine höhere Stabilität und eine längere Halbwertszeit im Auge zu erzielen (Leach et al. 2003). Die Quervernetzung der Hyaluronsäure kann z.B durch UV-Licht oder die Thiomertechnologie erreicht werden. Bei der Thiomertechnologie wird die Quervernetzung der Hyaluronsäure über angehängte Thiolgruppen (Abb. 6) an den Seitenketten der Hyaluronsäure ermöglicht, indem diese untereinander Disulfidbrücken ausbilden.



**Abb. 6:** Strukturformel der Hyaluronsäure-SH, mit angehängter Thiolgruppe an der Seitenkette (grün markiert)(Quelle: Croma Pharma GmbH)

Diese neuen Glaskörperersatzstoffe zeichnen sich neben einem Brechungsindex nahe dem des natürlichen Glaskörpers, auch mit einer hohen Transparenz, einer guten Stabilität und einer langen Gewebelagerungszeit aus (Schramm et al. 2012). Zusätzlich weisen sie eine gute Injizierbarkeit mit einer 20G-Kanüle auf, ohne dass das Hyaluronsäurerüst durch die Scherkräfte der Injektion zu sehr zerstört wird. Im Gegensatz zu den bisherigen Glaskörperersatzstoffen, welche allesamt ein hydrophobes Verhalten aufweisen, besitzen Hydrogele den großen Vorteil hydrophiler Eigenschaften. Sie können die Struktureigenschaften des natürlichen Glaskörpers gut imitieren und der Quelldruck des Hyaluronsäurerüsts bedingt gute tamponierende Eigenschaften. Der dem des Wassers vergleichbare Brechungsindex, kann eine schnellere postoperative visuelle Rehabilitation ermöglichen (Spitzer et al. 2012). Sie weisen ebenso eine sehr gute Verträglichkeit auf, womit ein operativer Zweiteingriff wie bei Silikonölen nicht mehr zwingend nötig ist (Spitzer et al. 2012).

## 2. Ablatio Retinae

Eine Netzhautablösung ist durch die Trennung des Stratum nervosum vom darunterliegenden Stratum pigmentosum der Netzhaut beschrieben. Beide Schichten sind durch einen sehr dünnen Flüssigkeitsfilm und den dadurch entstandenen Unterdruck miteinander verbunden (Hagemann und Johnson 1991). Die Lage der Netzhaut wird zusätzlich durch die tamponierenden Eigenschaften des Glaskörpers stabilisiert (Marmor 1994). Kann nun vermehrt Flüssigkeit in den schmalen Spalt zwischen Stratum pigmentosum und Stratum nervosum gelangen, kommt es durch den Verlust des dazwischenliegenden Unterdruckes zur Trennung der beiden Schichten voneinander. Da das Str. pigmentosum unter anderem der Nährstoffversorgung der darüber liegenden Schichten dient, kommt es rasch zum Absterben der darauf

angewiesenen Zellen. Infolgedessen führt eine Netzhautablösung ohne Therapie rasch zur Erblindung (Michaelson und Stein 1972). Bei einer Netzhautablösung klagen die Patienten häufig über Lichtblitze (Photopsien) sowie über einen progredienten Schatten im Gesichtsfeld, dieser korreliert mit der Größe der Netzhautablösung. Ebenso kann es zu feinen schwarzen Punkten im Blickfeld kommen, welche durch feine Blutungen der eingerissenen Gefäße stammen. Reicht der betroffene Bereich die Zentrale netzhaut kann es zu einer deutlichen Minderung des Visus kommen (Heuven und Zwaan 1992).

Die rhegmatogen bedingte Form stellt durch Rissbildung die häufigste Art einer Netzhautablösung dar. Hierbei kommt es durch eine altersbedingte Verflüssigung des Glaskörpers zu einer sogenannten hinteren Glaskörperabhebung (Foos 1972, Sebag 1987, Messmer 1990), wobei durch Zug auf die Netzhaut Risse dieser entstehen können (Hay und Landers 1994). Auch Traumata können derartige Risse der Netzhaut verursachen. Eine weitere Form ist die als traktiv oder kompliziert genannte Form beschrieben. Eine diabetogene Retinopathie, eine Frühgeborenenretinopathie oder auch Netzhautvenenverschlüsse führen zur Ausbildung von Bindegewebssträngen durch den Glaskörperraum. Im Laufe der Zeit kommt es durch Schrumpfung dieser Stränge zu einem kontinuierlichen Zug auf die Netzhaut und schlussendlich zur traktionsbedingten Ablösung der Netzhaut. Die exsudative oder auch flüssigkeitsbedingte Form beschreibt die dritte und letzte Form der Ablatio retinae. Vor allem rezidivierende Entzündungen des Augeninneren oder Tumoren können einen Flüssigkeitsaustritt aus den Aderhautgefäßen zwischen die beiden Netzhautschichten sowie zur Ausbildung sub- und epiretinalen Membranen führen und somit diese Art der Netzhautablösung verursachen (Grisanti, Wiedemann et al. 1993).

### **3. Pars plana Vitrektomie**

Die Pars plana Vitrektomie (PPV) wurde von Machemer im Jahre 1971 erstmals beschrieben. Die erste Variante stellte eine mikrochirurgische Methode dar, bei der über einen einzigen Zugang im Bereich der Pars Plana ein multifunktionales Gerät (das Mikrotom oder der Cutter genannt) ins Innere des Auges eingeführt wird, welches den Glaskörper gleichzeitig zerkleinern und schrittweise entfernen konnte (Machemer et al. 1971 und 1972). Im Jahre 1975 wurde diese Methode von O'Malley und Heintz noch etwas verbessert, indem sie die Operationsgeräte in drei unterschiedliche Funktionen aufteilten. So mussten nun drei kleinere Sklerotomien für die Infusion, die Lichtquelle und den Cutter, zum Zerkleinern und Absaugen des Glaskörpers angelegt werden. Durch diese funktionelle Aufteilung von einem größeren auf drei kleinere Geräte konnte die Komplikationsrate aufgrund der deutlich kleineren Zugänge verringert und der

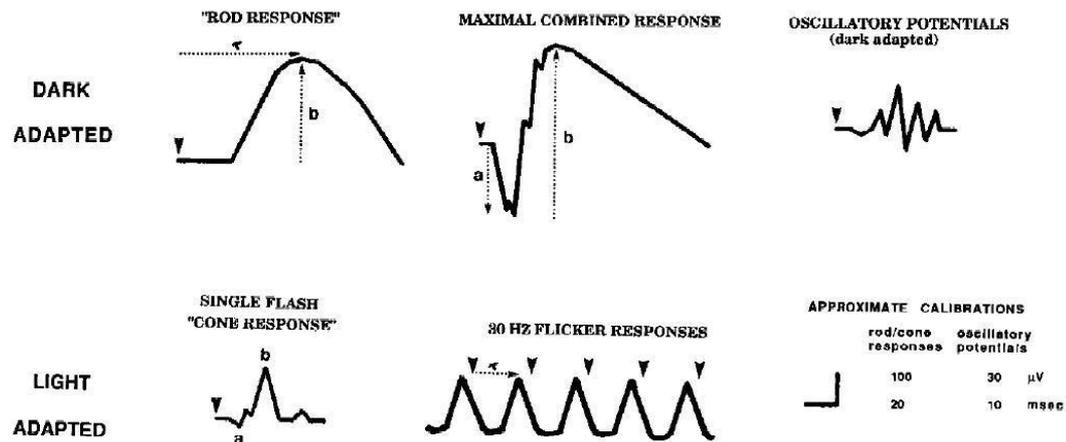
Heilungsverlauf der Operationswunden verbessert werden (O'Malley und Heintz 1975). Eine postoperative Endophthalmitis ist eher selten und kommt nur bei ca. 0,03 – 0,14 % der operierten Patienten vor (Dave et al. 2014).

Die Pars plana Vitrektomie ist bei vielen verschiedenen Krankheitsbildern des Glaskörpers oder der Netzhaut Mittel der Wahl. Gründe hierfür können eine spontane oder traumatische Beeinträchtigung und Verletzung des Glaskörpers mit möglicher folgender Einblutung oder Eintrübung des Glaskörpers sein. Die häufigsten Gründe für einen solchen Eingriff stellen beim Menschen aber Veränderungen an der Netzhaut, wie zum Beispiel die Krankheitsbilder einer proliferativen Vitreoretinopathie (PVR), einer Netzhautablösung oder ein Makulaforamen dar (O'Malley und Heintz 1975, Spitzer et al. 2012).

#### **4. Elektroretinogramm (ERG)**

Das Elektroretinogramm ermöglicht die Ableitung einer Summenantwort der verschiedenen reizleitenden Komponenten der Retina (Abb. 7). Die International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) führte im Jahre 1989 standardisierte Aufnahmeprotokolle ein, um ein Grundverfahren für reproduzierbare und damit vergleichbare Aufnahmen festzulegen (McCulloch et al. 2015) und die Konformität zwischen verschiedenen Laboren zu fördern (Vincent et al. 2013).

Das Ganzfeld-Elektroretinogramm stellt eine globale Summenantwort der Netzhaut dar und entsteht zum Großteil in der Photorezeptor- und der inneren Körnerschicht. Dies bedeutet aber auch, dass regional begrenzte Dysfunktionen der Netzhaut nicht unbedingt zu einer wesentlichen Änderung des ERG's führen müssen. Durch Änderung der Stimulusparameter und des adaptiven Zustandes der Augen kann eine Unterscheidung zwischen der Stäbchen- und der Zapfenantwort sowie der äußeren oder inneren Netzhautschichten ermöglicht werden (Vincent et al. 2013). Hiermit wird eine Unterteilung in das dunkeladaptierte (skotopische) und helladaptierte (photopische) Blitz- oder Flimmer-ERG ermöglicht (Marmor et al. 2004). Um das skotopische ERG messen zu können und eine vorzeitige Sättigung der Stäbchen zu verhindern, muss der Patient vor der Untersuchung mindestens 30 Minuten dunkeladaptiert werden (Marmor et al. 2004).



**Abb. 7:** ERG-Kurven der Standard-Protokolle, (Marmor, Fulton et al. 2009); „a“ und „b“ bezeichnet die Wellen im ERG; der Zeitpunkt der Lichtstimulation wird durch die eingezeichneten Pfeile dargestellt; das „t“ steht für die Zeit, die nach der Lichtstimulation bis zum Höhepunkt der Reaktion (Gipfelzeit) benötigt wird; „dark adapted“ = dunkeladaptiert, „light adapted“ = lichtadaptiert, „rod response“ = Stäbchenantwort, „cone response“ = Zapfenantwort, „oscillatory potentials“ = OP, „30 Hz flicker“ = Flickerantwort, „combined rod-cone response“ = kombinierte Stäbchen- und Zapfenantwort.

Als Reizantwort erhält man eine negative a-Welle, eine positive b- und eine positive c-Welle. Die a-Welle entsteht durch die Hyperpolarisation der Außensegmente der Photorezeptoren und erscheint im ERG als erste Antwort auf einen Lichtreiz (Hood und Birch 1992, Jamison et al. 2001). Die a-Welle wird bei niedrigen Blitzintensitäten meist von der b-Welle überlagert, da das negative Summenpotential der wenigen Photorezeptoren durch die starke laterale Informationsweitergabe überlagert wird. Sie tritt erst bei zunehmender Blitzintensität deutlich früher als die b-Welle auf (Hood und Birch 1997). Bei höheren Blitzintensitäten werden zusätzlich zu den Stäbchen- auch Zapfenantworten registriert. Die nachfolgende positive b-Welle wird durch die Depolarisation der Bipolarzellen und der Müllerzellen generiert (Tian und Slaughter 1995). Der Ursprung der c-Welle ist die Summe der Hyperpolarisation der apikalen Pigmentepithelmembran und des distalen Müllerzellanteils (Brown und Wiesel 1961).

Zusätzlich gibt es die oszillatorischen Potentiale (OP), die sich als kleine, hochfrequente Oszillationen auf dem aufsteigenden Ast der b-Welle darstellen (Gauvin et al. 2014). Die genaue Herkunft der OP bleibt umstritten. Man nimmt aber an, dass sie von den Zellen der inneren Netzhaut, den Bipolar-, Horizontal- und amakrinen Zellen produziert werden (Gauvin et al. 2014, Wachtmeister 1987). Bei zunehmender Reizstärke steigt die Energie der OP linear dazu an (Wachtmeister 1987).

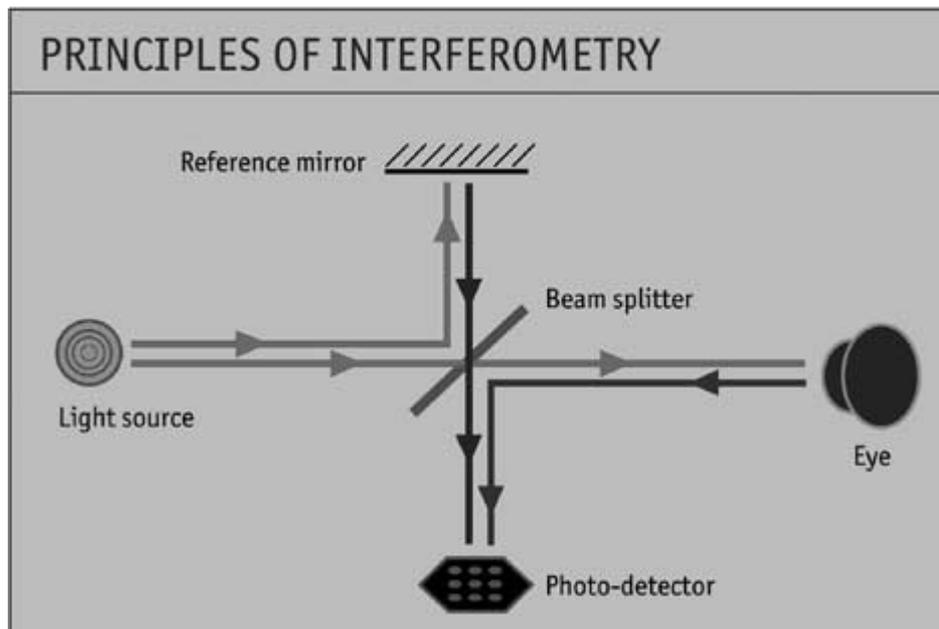
Die Stäbchen werden im Anschluss an das skotopische ERG durch eine mindestens fünfminütige Belichtung gesättigt und die Zapfenantwort im photopischen ERG gemessen. Da die langsameren Stäbchen den schnell aufeinanderfolgenden Blitzreizen nicht mehr

folgen können, wird beim Flimmer-ERG eine reine Zapfenantwort abgeleitet (Gauvin et al. 2014, Wachtmeister 1987).

## **5. Optische Kohärenztomografie (OCT)**

Die optische Kohärenztomografie ist ein nicht invasives Untersuchungsverfahren durch welches zweidimensionale Schnittbilder von Gewebestrukturen im  $\mu\text{m}$ -Bereich an lebenden Individuen erstellt werden können (Ripandelli et al. 1998, Fujimoto et al. 2000 und Svorenova et al. 2010).

Hierfür wird das Prinzip des Michelson-Interferometers angewendet (Boppard 2003), indem kurzkohärentes Licht einer Lichtquelle (Kiernan et al. 2010), meist einer Superlumineszenzdiode, auf einen Strahlteiler ausgesendet wird. Der Strahlteiler besteht aus einem halbdurchlässigen Spiegel, der den Lichtstrahl in zwei Teile teilt, indem er einen Teil des Lichtes hindurchlässt und den anderen Teil um 90 Grad reflektiert. Der am Strahlteiler reflektierte Anteil des Lichtstrahles wird durch die Reflektion auf den sogenannten Referenzarm mit bekannter Weglänge und Zeitverkürzung geleitet und dort von einem vollständig reflektierenden Spiegel wieder zurück auf den Strahlteiler reflektiert. Der andere Anteil des Lichtstrahles, der durch den Strahlteiler hindurchgelassen wird, wird auf die Probe geleitet und dort, abhängig vom Gewebe und dessen reflektierenden, absorbierenden und streuenden Eigenschaften, wieder auf den Strahlteiler zurückgeworfen (Svorenova et al. 2010). Dort überlagern sich die Lichtwellen beider Anteile und es kommt zur Interferenz beider Wellen (Thomas und Duguid 2004, Boppard 2003, Fujimoto et al. 2000 und 2003, Jaffe und Caprioli 2004). Interferenz bedeutet, dass es aufgrund der Überlagerung beider Wellen zur Amplitudenänderung kommt, da sich beide Lichtwellen entweder in Phase befinden und sich die Amplituden beider addieren (konstruktive Interferenz) oder auslöschen, wenn sie gegenphasig (destruktive Interferenz) sind (Abb. 8).



**Abb. 8:** Prinzip der Interferometrie, die beim OCT genutzt wird (Thomas und Duguid 2004)

Der Photodetektor vergleicht die Echozeitverzögerung und die Intensität der rückgestreuten und rückreflektierten Lichtwellen der Probe, mit dem reflektierten Licht des Referenzarmes mit bekannter Referenzlänge und Zeitverzögerung (Drexler et al. 2001). Je nach Reflexion oder Rückstreuung der Gewebeschicht ermittelt der Computer des Detektors nun die Distanz, die das Echo zurückgelegt hat und erstellt daraus mithilfe einer Graustufenskala (heller für Regionen mit minimaler oder keiner, dunkler für Regionen mit hoher relativer optischer Reflexion) ein Bild des untersuchten Gewebes (Fujimoto et al. 2000 und 2003).

Die optische Kohärenztomografie bedient sich somit einem sehr ähnlichen Prinzip der Sonografie. Der Unterschied besteht hier vor allem in der Anwendung von Licht anstelle von Schallwellen. Der Vorteil des OCT liegt darin, dass sich Lichtwellen im Vergleich zu Schallwellen sehr viel schneller ausbreiten und dadurch eine viel höhere Auflösung ermöglichen. Ein Nachteil dieser Untersuchungsmethode gegenüber der Sonografie ist aber, dass die Bildtiefe durch die optische Dämpfung aufgrund der Streuung und Absorption des Gewebes stark limitiert ist und man deshalb tiefergelegene Strukturen nur schwer bzw. meist gar nicht darstellen kann. Da die Kornea, die Linse und der Glaskörper in physiologischem Zustand allerdings sehr gute optische Eigenschaften besitzen und das Licht in nur sehr geringem Ausmaß streuen oder absorbieren, stellt die optische Kohärenztomografie eine sehr gute und nicht schmerzhaft Untersuchung der Netzhaut und des Augenhintergrundes dar (Fujimoto et al. 2000 und 2003).



### III. MATERIAL UND METHODEN

#### 1. Material

Die für diese Forschungsarbeit verwendeten Verbrauchsmaterialien, Geräte, Injektionslösungen, Chemikalien und Reagenzien, Antikörper und Test-Kits, Puffer und Lösungen sowie Hersteller / Lieferanten sind in den folgenden Tabellen aufgelistet.

##### 1.1. Chemikalien

In der folgenden Tabelle befindet sich eine Übersicht aller angewandten Chemikalien (Tab. 1).

*Tab. 1: Übersicht angewandte Chemikalien*

<u>Bezeichnung</u>	<u>Artikelname</u>	<u>Hersteller</u>
Alkohol 99%; 97%; 96%	Ethanol 99%; verdünnt mit a.d.	SAV-Liquid Production GmbH
Chloroform	Emsure Chloroform	Merck KGaA
Formalinlösung 4,5% neutral gepuffert	Rothi-Histofix 4,5% säurefreie (pH 7) neutral gepufferte Formaldehydlösung 4,5%	Carl Roth GmbH
Hämatoxylin Gill III	Harris Hämatoxylin solution	Merck KGaA
Mayers Hämalaun-Lösung	Mayers Hämalaun solution	Merck KGaA
HCL-Alkohol	Hydrochloric acid - Alcohol (0,75% HCL)	AppliChem Panreac
Paraffin	Paraplast Plus, Gewebe-Einbettungsmedium	Leica Microsystems / Mc Cormick Scientific
Poly-L-Lysin	Poly-L-Lysine	Sigma-Aldrich
Xylol	Normapur Xylene	VWR Chemicals

### 1.2. Puffer

In der folgenden Tabelle befinden sich alle Bestandteile der angewandten Pufferlösungen (Tab. 2).

Tab. 2: Übersicht angewandte Pufferlösungen

#### TBS

<u>Stoff</u>	<u>Artikelbezeichnung</u>	<u>Lot</u>	<u>Hersteller</u>
Tris(hydroxymethyl)-aminomethan	TrisUltrapure	3Y00051	Applichem
NaCl	Sodium chloride AnalaR Normapur		VWR Chemicals BDH Prolabo

#### Citratpuffer

<u>Stoff</u>	<u>Artikelbezeichnung</u>	<u>Lot</u>	<u>Hersteller</u>
Zitronensäure Monohydrat	Citric acid	BCBL0135	Sigma-Aldrich
Natriumcitrat-Dihydrat	Emsure, tri-Natriumcitrat-Dihydrat	A0242948	Merck KGaA

### 1.3. Testkit

Das Prinzip des verwendeten Testkits der Firma Dako Biosciences beruht auf einem indirekten Streptavidin-Biotin-Verfahren. Hierbei wird das gesuchte Antigen mit einem geeigneten Primärantikörper und anschließend mit dem sekundären biotinylierten Antikörper markiert. Durch die Biotinylierung des Sekundärantikörpers wird eine Erhöhung der Empfindlichkeit erzielt, da es optimal mit sieben Biotinmolekülen markiert wurde und somit mit mehreren alkalischer Phosphatase konjugierten Streptavidin-Molekülen reagieren kann. Anschließend wird diese Reaktion mit Chromogen sichtbar gemacht (Tab. 3) (Höfler, Müller 2000).

Tab. 3: Übersicht des verwendeten Testkits

<u>Testkit</u>	<u>Lot</u>	<u>Hersteller</u>
Antibody Diluent with Background Reducing Components	10089093	Dako Biosciences
Dako REAL Detection System, Alkaline Phosphatase/RED, Rabbit/Mouse	2008527A	Dako Biosciences

#### 1.4. Antikörper

In der folgenden Tabelle befindet sich eine Auflistung aller verwendeten Antikörper (Tab. 4).

Tab. 4: Übersicht aller angewandten Antikörper

<u>Antikörper</u>	<u>Bezeichnung</u>	<u>Lot</u>	<u>Hersteller</u>
Anti-Brn3a	Mouse anti-Monkey monoclonal Antibody	57443	LifeSpan BioSciences, Inc.
Anti-GFAP	Purified Mouse-anti GFAP Cocktail	3302661	BD Biosciences
Anti Mouse Biotynilated	Polyclonal Goat anti Mouse Biotynilated	95329	Dako GmbH

#### 1.5. Verbrauchsmaterialien

In der folgenden Tabelle befindet sich eine Auflistung aller verwendeten Verbrauchsmaterialien (Tab. 5).

Tab. 5: Übersicht über die verwendeten Verbrauchsmaterialien

<u>Verbrauchsmaterialien</u>	<u>Hersteller</u>
AMO Endsol Balanced Salt Solutionfor Ophthalmic Irrigation 500ml	Abbott Medical Optics
Deckgläschen 24x50 mm	R.Langensbrinck Labor- und Medizintechnik
Einbettkassetten	R.Langensbrinck Labor- und Medizintechnik
Eukitt quick-hardening mounting medium	Sigma-Aldrich
Färbegestell mit Einspannplättchen (Shandon coverplate technology)	Thermo Fischer Scientific
Kontaktlinsenelektroden (Jet Einweg-Kontaktlinsenelektrode)	Natus Europe GmbH
Microtom Blades A22	Feather Safety Razor Co.,Ltd.
Nadelelektroden (Disposable subdermal needle electrode)	SPES MEDICA srl.
Objektträger Superfrost Plus	Carl Roth GmbH
Urinbecher steril	Sarstedt AG & Co
Venenverweilkanüle 26G Vasofix Braunüle	B. Braun Melsungen AG
Fäden Safil 6.0	B. Braun Melsungen AG
Fäden Vicryl 7.0	B. Braun Melsungen AG

### 1.6. Medikamente

In der folgenden Tabelle befindet sich eine Übersicht über die angewandten Medikamente (Tab. 6).

Tab. 6: Übersicht über die angewandten Medikamente

<u>Präparat</u>	<u>Wirkstoff</u>	<u>Konzentration</u>	<u>Hersteller</u>
Artelac Augentropfen	Hypromellose	3,2mg/ml	Bausch & Lomb GmbH
Atipam 5,0 mg/ml Injektionslösung	Atipamezolhydrochlorid	5 mg/ml	Eurovet Animal Health (Albrecht)
Dexamytrex Augensalbe	Gentamicinsulfat	5 mg/g	Bausch & Lomb GmbH
	Dexamethason	0,3 mg/g	
Ketamin 10% Injektionslösung	Ketaminhydrochlorid	100mg/ml	Bela-Pharm GmbH Co.Kg
Methocel 2% Augentropfen	Hydroxypropylmethylcellulose	20 mg/ml	OmniVision GmbH
Mydriatikum Augentropfen	Phenylephrinhydrochlorid	225mg	UKT Tübingen
	Tropicamid	45mg	
	Oxybuprocainhydrochlorid	36mg	
	Povidon	0,27g	
	Aqua ad. Inj.	8,24g	
Narcofen 16 g/100 ml Injektionslösung	Pentobarbital-Natrium	16 g/100 ml	Merial GmbH
Novesine Augentropfen 4%	Oxybuprocainhydrochlorid	4 mg/ml	OmniVision GmbH
Sedator 1 mg/ml Injektionslösung	Medetomidinhydrochlorid	1 mg/ml	Eurovet Animal Health (Albrecht)

### 1.7. Glaskörpertamponaden

In der Verträglichkeitsstudie wurde das Hydrogel „ViBos-strong“ auf Basis von quervernetzter Hyaluronsäure der Firma Croma Pharma GmbH aus Österreich (Leobendorf) verwendet (Tab. 7). Um die Quervernetzung zwischen den Hyaluronsäuremolekülen zu erreichen, wurde die Thiomertechnologie angewendet. Hierbei wurden mit Hilfe von angehängten Thiolgruppen (-SH) Disulfidbrücken zwischen den einzelnen Hyaluronsäuremolekülen ausgebildet und so eine Quervernetzung der Moleküle untereinander ermöglicht. In der Wirksamkeitsstudie wurde zusätzlich das Hydrogel „ViBos-soft“ getestet, welches aufgrund eines niedrigeren Thiolgruppen-Anteils eine geringere Quervernetzung der Hyaluronsäuremoleküle untereinander und damit eine geringere Festigkeit besitzt. Bei der Herstellung des Hyaluronsäuregels „ViBos-strong“ wurden 1,7 % Hyaluronsäure-SH und 0,5 % Hyaluronsäure und bei dem Hyaluronsäuregel „ViBos-soft“ wurden 0,8 % Hyaluronsäure-SH und 0,2 % normale Hyaluronsäure verwendet.

Um den Schwellungsgrad der Gele zu ermitteln, wurde aus dem feuchten und dem trockenen Gel der Quotient berechnet, indem auf ein bestimmtes Volumen Gel Flüssigkeit hinzugegeben und das neue Volumen bestimmt wurde. Dieser betrug für das „ViBos-Strong“ 1,82 und für das „ViBos-soft“ 1,50. Das „ViBos-strong“ konnte eine Partikelgröße von durchschnittlich 3,9 mm<sup>2</sup> im Vergleich zu einer Partikelgröße von durchschnittlich 2,65 mm<sup>2</sup> des „ViBos-softs“ festgestellt werden. Womit sich auch die etwas längere Stabilität des „ViBos-strongs“ gegenüber der Hyaluronidase erklären lässt. Bei einer Wellenlänge von 589 nm besaßen beide Gele einen Brechungsindex von 1,34, der dem des natürlichen Brechungsindex sehr nahekommt.

Tab. 7: Übersicht der verwendeten Glaskörpertamponaden

<u>Glaskörpertamponade</u>	<u>Bezeichnung/Lot</u>	<u>Hersteller</u>
Silikonöl	ala 5000	Alamedics GmbH & Co. Kg
ViBos strong	ViBos-140505	Croma Pharma GmbH
ViBos soft	VBS-140809 0802	Croma Pharma GmbH

### 1.8. Geräte

In der folgenden Tabelle sind alle die für diese Studie genutzten Geräte aufgelistet (Tab. 8).

Tab. 8: Übersicht der genutzten Geräte

<b>Geräte</b>	<b>Typ</b>	<b>Hersteller</b>
Automatische Gewebeeinfiltrationsmaschine (Einbettung)	TP 1020	Leica Biosystems
Ausbettmaschine	EG 1140 H	Leica Biosystems
ERG	Espion Power Bloc	Diagnosys LLG
	Espion Console Model D112	Diagnosys LLG
	Espion Console S/N 175	Diagnosys LLG
	Color Dome	Diagnosys LLG
Kühlplatte	EG 1140 C	Leica Biosystems
Mikrotom	RM 2245	Leica Biosystems
Axioskop 50	Axioskop 50 451485	Carl Zeiss AG
OCT (HRA&OCT Spectralis)	QAB0010659003	Heidelberg Engineering GmbH
OP-Mikroskop	OPMI CS-XY	Carl Zeiss AG
Ophthalmic Laser	IQ532 Mountain View	Iridex USA
Pentasy	Artn: 0RS00 Ser.nr.:0330094	Fritz Ruck ophthalmologische systeme GmbH
Schiötztonometer	Inv. 4222 / Nr. 9646	Winters Tonometer
Spaltlampe	Kowa SL-15, Portable Slit Lamp	Kowa Europe GmbH
Mikroskopkamera	ProgRes C10plus	Carl Zeiss AG
Lichtquelle für Mikroskopkamera	KL 2500 LCD	Carl Zeiss AG

## 2. Methoden

### 2.1. Tierversuch

Die Durchführung des Tierversuches mit der Tierversuchsnummer AK 1/14 wurde vom Regierungspräsidium Tübingen im Rahmen des Tierschutzgesetzes und der Tierschutz-Versuchstierverordnung genehmigt.

#### 2.1.1. Versuchstiere und Versuchstierhaltung

Für diese Studie wurden junge männliche und weibliche Chinchilla-Bastard-Kaninchen aus der Zucht der Firma Charles River Laboratories, Germany GmbH verwendet.

Die Kaninchen wurden während des gesamten Versuches in der Großtierhaltung der Universität Tübingen unter standardisierten Bedingungen, Futter und Wasser ad libitum gehalten. Alle weiblichen Tiere wurden in Gruppen zwischen zwei und acht Tieren in

Bodenhaltung oder großen Boxen zusammengehalten, die männlichen Tiere wurden in Einzelboxen untergebracht.

### **2.1.2. Versuchsaufbau**

Der Versuch zur Testung der Hydrogele auf Hyaluronsäurebasis bestand aus zwei verschiedenen Teilen.

Zuerst wurde die Verträglichkeit des Hydrogels „ViBos strong“ mit einer etwas höheren Festigkeit getestet. Diese Gruppe setzte sich aus drei Gruppen mit je sechs Versuchstieren und einer postoperativen Versuchslaufzeit von einem, drei oder sechs Monaten zusammen.

Im zweiten Teil wurde die Effektivität eben dieses Hydrogels und dem Hydrogel „ViBos soft“, mit einer etwas geringeren Festigkeit im Vergleich zum derzeitigen Goldstandard dem Silikonöl getestet. Um die Effektivität der Gele zu testen, wurde intraoperativ eine kleine, periphere Retinotomie angelegt um durch Unterspritzen mit physiologischer Kochsalzlösung eine Netzhautablösung zu induzieren. Die Netzhaut wurde mit einem Endolaser wieder angelegt und im Anschluss daran einen der drei beschriebenen Glaskörperersatzstoffe eingegeben.

Für diesen Teil der Studie standen 25 Tiere zur Verfügung. Acht Tiere wurden davon für die Silikonölgruppe, ebenso acht Tiere für die Hydrogelgruppe „ViBos strong“ und die letzten sieben Tiere für die Hydrogelgruppe „ViBos soft“ eingesetzt.

### **2.1.3. Voruntersuchungen**

Um Nullwerte, sogenannte „Baselines“, jedes einzelnen Kaninchens zu erhalten, wurde präoperativ bei jedem Kaninchen eine ausführliche Augenuntersuchung durchgeführt. Diese setzte sich aus einer Spaltlampenuntersuchung, der Messung des intraokularen Druckes, einer ERG- und OCT- Untersuchung zusammen.

Alle Voruntersuchungen wurden aufgrund der örtlich gebundenen ERG- und OCT-Geräte in einem Forschungsgebäude der Universitätsaugenklinik Tübingen durchgeführt.

Für die gesamte Augenuntersuchung wurden die Kaninchen durch eine intramuskulär verabreichte Mischung aus 35 mg/kg Ketamin (Ketamin 10%, der Firma Bela-Pharm) und 0,25 mg/kg Medetomidin (Sedator 1mg/ml, der Firma Albrecht / Eurovet) in Narkose gelegt und die Pupillen mit Mydriatikum-Augentropfen (Inhaltsstoffe s. Tab. 6) der Universitätsaugenklinik Tübingen (UAKT) weitgestellt.

Um die Aufwachphase der Kaninchen zu verkürzen, wurde die Narkose am Ende der Untersuchungen (frühestens aber eine Stunde nach Injektion der Narkose) durch eine intramuskuläre Injektion von 1mg/kg Atipamezol (Atipam der Firma Albrecht / Eurovet) antagonisiert.

#### 2.1.3.1. Spaltlampenuntersuchung

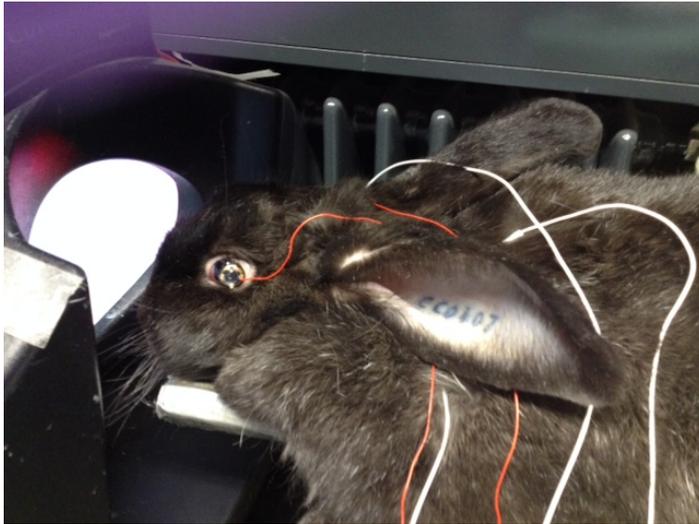
Die Spaltlampenuntersuchung wurde mit einer Handspaltlampe der Firma Kowa (Modell SL-15, Portable slit lamp) in zehnfacher Vergrößerung durchgeführt (Abb. 9). Hierfür wurde das komplette Auge von der Kornea bis zur hinteren Linsenkapsel genau untersucht um pathologische Auffälligkeiten oder Abnormitäten wie z.B. Fibrinreste im Glaskörperraum oder eine Trübung der hinteren Linsenkapsel feststellen zu können.



*Abb. 9: Beispielbild einer Spaltlampenuntersuchung bei einem narkotisierten Kaninchen mit einer Handspaltlampe*

#### 2.1.3.2. Elektoretinogramm

Das Elektoretinogramm (ERG) wurde in einem separaten, völlig abgedunkelten Raum und ohne Störfaktoren für das ERG-Gerät aufgenommen. Zuerst wurden die zuvor in Narkose gelegten Kaninchen für das skotopische ERG für 30 Minuten in einer völlig abgedunkelten Box dunkeladaptiert und anschließend an das ERG angeschlossen. Hierfür wurden drei Nadelelektroden und zwei Linsenelektroden verwendet. Eine der drei Nadelelektroden wurde als Erdung subkutan (sc.) am Nacken und je eine Nadelelektrode sc. in das Augenlid links und rechts gesetzt. Mit Hilfe von Methocel-Augentropfen wurden die Linsenelektroden nach oberflächlicher Betäubung durch Novesine-Augentropfen auf die Kornea aufgesetzt (Abb. 10).



*Abb. 10: Beispielbild ERG-Untersuchung eines Kaninchens mit Anlage der Linsenelektrode auf der Hornhaut, einer Elektrode sc. des Oberlids sowie der Erdungselektrode sc. am Nacken*

Im Anschluss daran wurde das Kaninchen mit dem Kopf in den Espion Color Dome, in welchem die Lichtblitze zur Stimulation der Netzhaut generiert und abgegeben werden, eingeschoben und das Untersuchungsprogramm gestartet. Das skotopische ERG bestand aus drei verschiedenen Schritten. Der erste Schritt beschrieb die dunkeladaptierte Einzelblitzableitung, bei der mit  $0,003 \text{ cd.s/m}^2$  und bei  $-2,5 \text{ Hz}$  eine reine Stäbchenantwort resultierte. Beim zweiten Schritt wurde ebenso eine dunkeladaptierte Einzelblitzableitung beschrieben, allerdings resultierte hier mit einer Lichtstärke von  $3 \text{ cd.s/m}^2$  und bei  $0,5 \text{ Hz}$  eine kombinierte Stäbchen-Zapfenantwort unter dunkeladaptierten Bedingungen. Der dritte Schritt beschrieb mit  $10 \text{ cd.s/m}^2$  und  $1 \text{ Hz}$  die maximal kombinierte Stäbchen-Zapfenantwort unter dunkeladaptierten Bedingungen.

Anschließend wurde die Netzhaut durch Belichtung der Kaninchenaugen im ColorDome über fünf Minuten wieder helladaptiert und das photopische ERG gemessen. Die Messung bestand aus sechs verschiedenen Schritten. Zu Beginn wurden zwei helladaptierte Einzelblitzantworten und anschließend vier verschiedene helladaptierte Flickerantworten gemessen. Die erste helladaptierte Einzelblitzableitung wurde bei  $1,7 \text{ Hz}$   $4 \text{ ms}$  mit  $10 \text{ cd.s/m}^2$  gemessen. Damit konnte die maximale Zapfenantwort ausgereizt werden und so resultierte die maximale Zapfenantwort unter helladaptierten Bedingungen. Beim zweiten helladaptierten Einzelblitz-ERG wurde bei  $1,7 \text{ Hz}$   $4 \text{ ms}$  mit  $3 \text{ cd.s/m}^2$  eine reine Zapfenantwort gemessen. Bei den helladaptierten Flickerantworten wurden bei einer Lichtstärke von jeweils  $3 \text{ cd.s/m}^2$  und  $4 \text{ ms}$  mit einer Stimulationsfrequenz von  $5 - 45 \text{ Hz}$  ( $5 \text{ Hz}$ ,  $10 \text{ Hz}$ ,  $30 \text{ Hz}$ ,  $45 \text{ Hz}$ ) ebenso eine reine Zapfenantwort unter helladaptierten Bedingungen erzielt. Solch eine Frequenzserie

erlaubt die Beurteilung der Dynamik einer Funktionsstörung der Zapfen (ISCEV 1989, Vincent et al. 2013, McCulloch et al. 2015).

### 2.1.3.3. Optische Kohärenztomographie

Im Anschluss an das ERG wurde die optische Kohärenztomographie (OCT) durchgeführt um die Anlage der Netzhaut und den Augenhintergrund bildlich darstellen zu können. Die noch in Narkose liegenden Kaninchen wurden hierfür auf einen erhöhten Tisch gelegt, die Hornhäute mit Artelac-Augentropfen (der Firma Bausch & Lomb) zur besseren Einsicht befeuchtet und um gleichzeitig die Methocel-Augentropfen auszuwaschen (Abb. 11). Die Untersuchungen erfolgten an einem modifizierten humanen OCT-Gerät (Spectralis HRA + OCT der Firma Heidelberg Engineering).

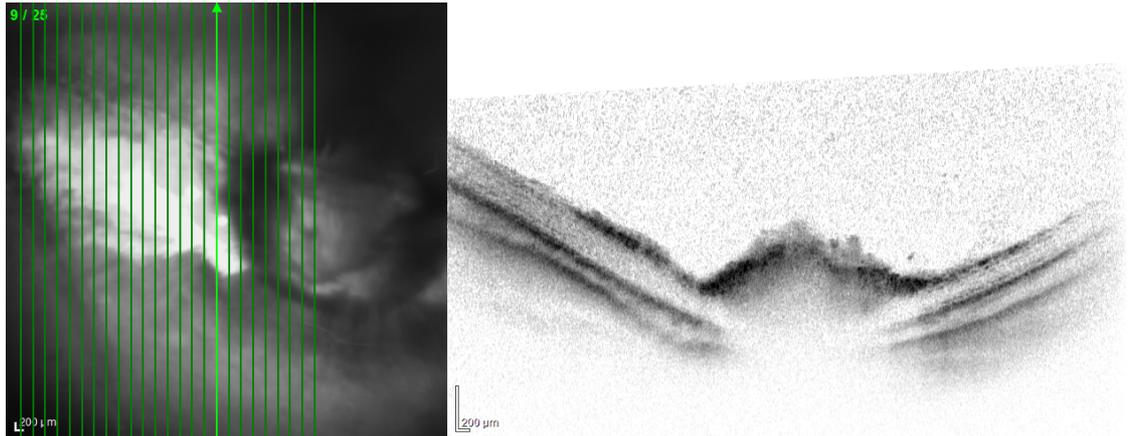
Die Messung des OCT's erfolgte in drei Schritten um möglichst den gesamten Augenhintergrund darstellen zu können. Zuerst wurde ein horizontales Übersichtsbild mit zentral gelegenem Sehnerv, anschließend ein vertikales Schnittbild, welches temporal auf halber Strecke zwischen Sehnerv und Bildrand geschossen wurde. Abschließend wurde eine Volumen-Aufnahme mit 25 Bildern von temporal in Richtung Sehnerv durchgeführt. Dies wurde konsequent an beiden Augen jedes Kaninchens im Vergleich zueinander vorgenommen und makroskopisch beurteilt (Bsp. Abb. 25 a. bis Abb. 27 b.). Allerdings konnte bei den meisten Kaninchen, die postoperativ eine Katarakt entwickelt haben meist keine aussagekräftige OCT-Untersuchung durchgeführt werden, da durch eine Trübung der Linse das Eindringen sowie das Rückreflektieren der OCT-Strahlen einschränkt wird.



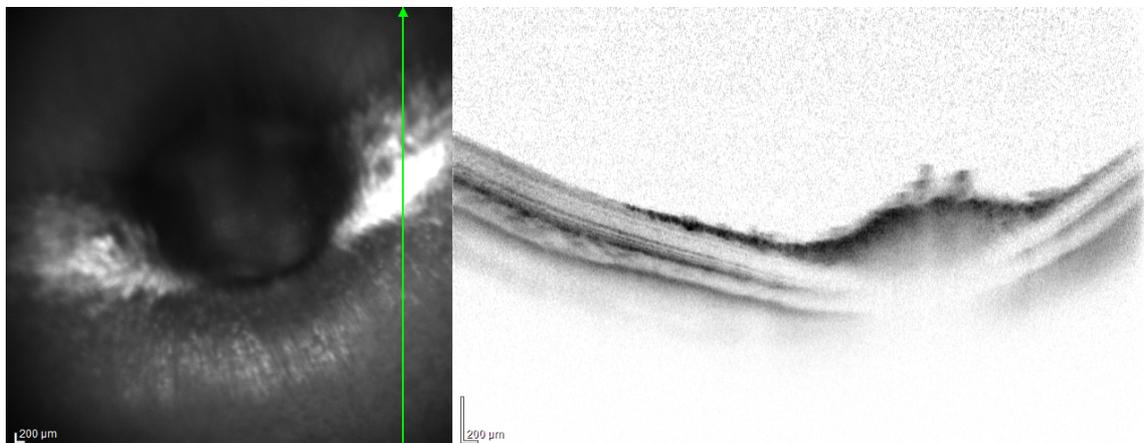
**Abb. 11:** Beispielbild zur Positionierung des narkotisierten Kaninchens zur OCT-Untersuchung

#### 2.1.4. OCT-Beispielbilder Verträglichkeitsstudie

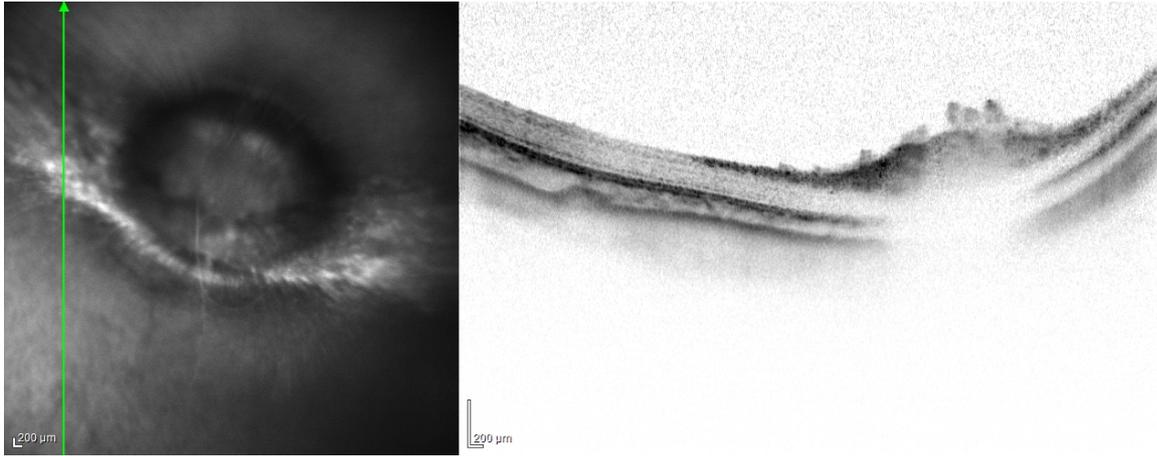
In den folgenden Abbildungen (Abb. 12 a.-14 b.) sind OCT Beispielbilder der Verträglichkeitsstudie über einen (Abb. 12.a) und b.), drei (Abb. 13 a. und b.) sowie über sechs Monate (Abb. 14 a.) und b.) dargestellt. Anschließend sind mit den Abb. 15 a.) bis 17 b.) Beispielbilder des Ablatiomodells der Silikonöl- (Abb. 15 a. und b.), der ViBos-strong (Abb. 16 a. und b.) und der ViBos-soft-Gruppe (Abb. 17 a. und b.) dargestellt.



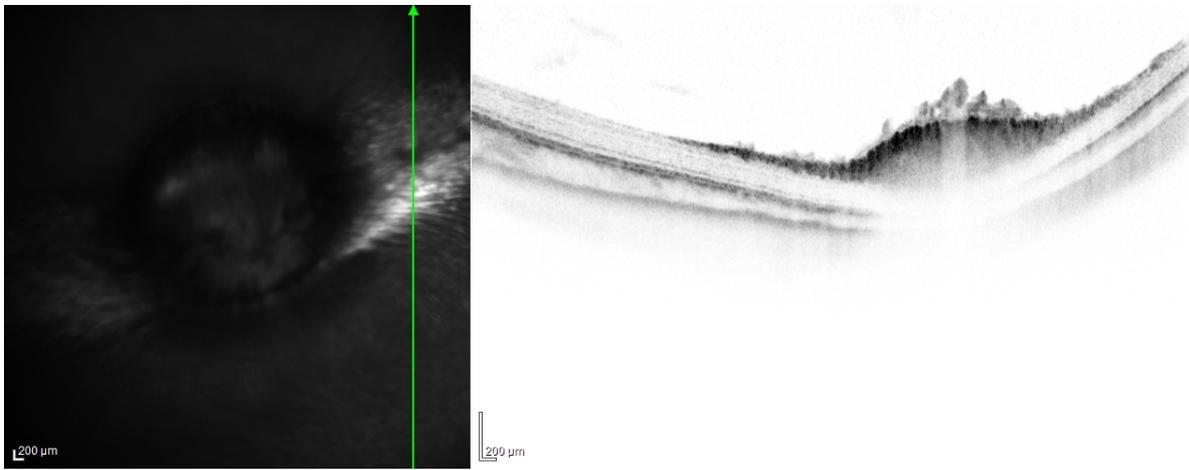
*Abb. 12 a.): Beispielbild OCT des operierten Auges, Abschlussuntersuchung nach einem Monat, ohne besonderen Befund*



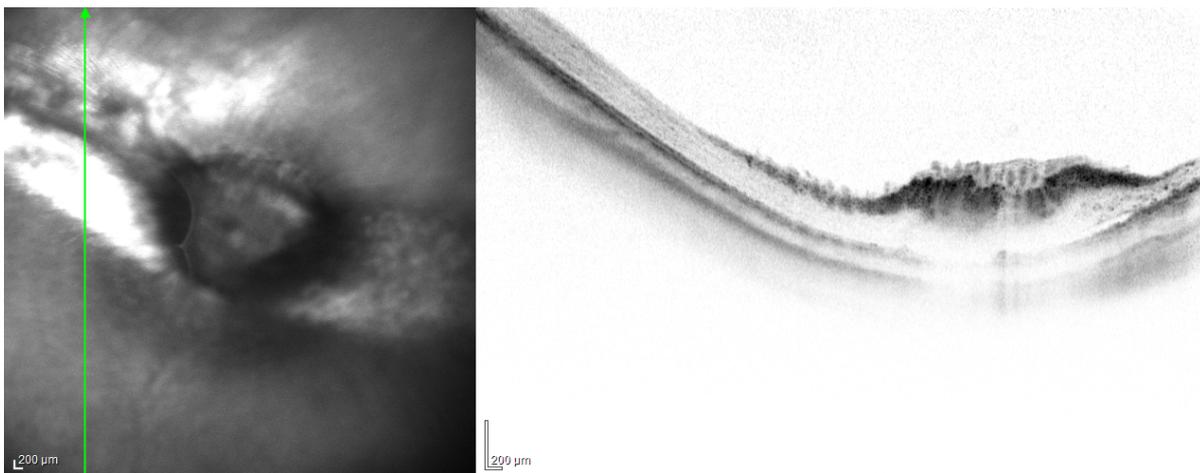
*Abb. 12 b.): Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges, Abschlussuntersuchung nach einem Monat, ohne besonderen Befund*



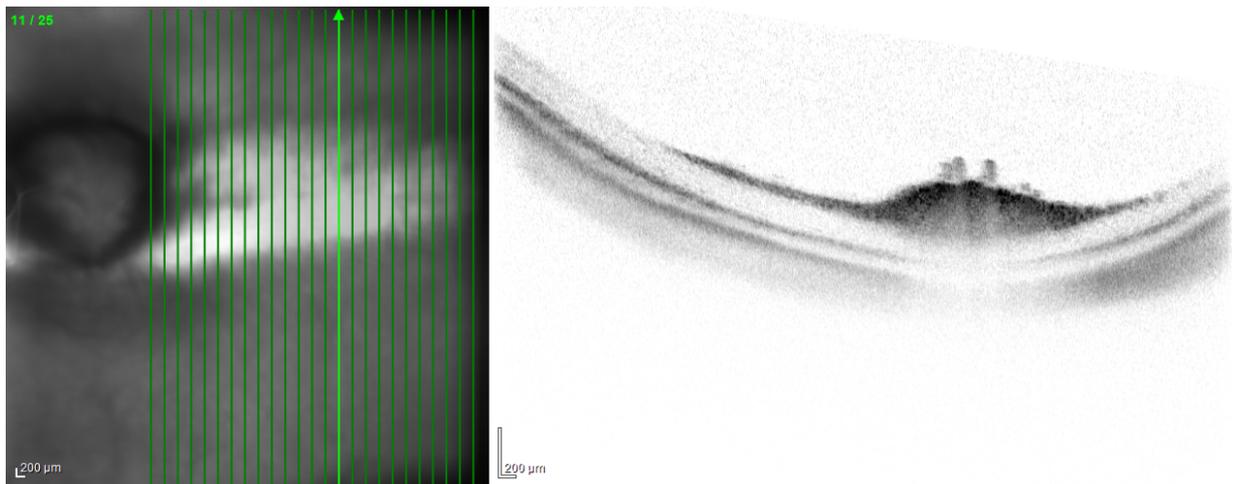
*Abb. 13 a.): Beispielbild OCT des operierten Auges, Abschlussuntersuchung nach drei Monaten, ohne besonderen Befund*



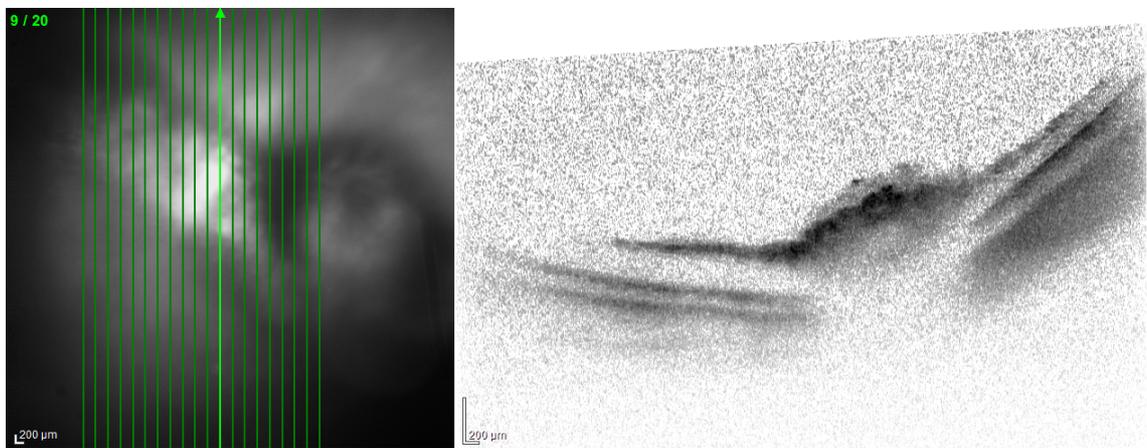
*Abb. 13 b.): Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges, Abschlussuntersuchung nach drei Monaten, ohne besonderen Befund*



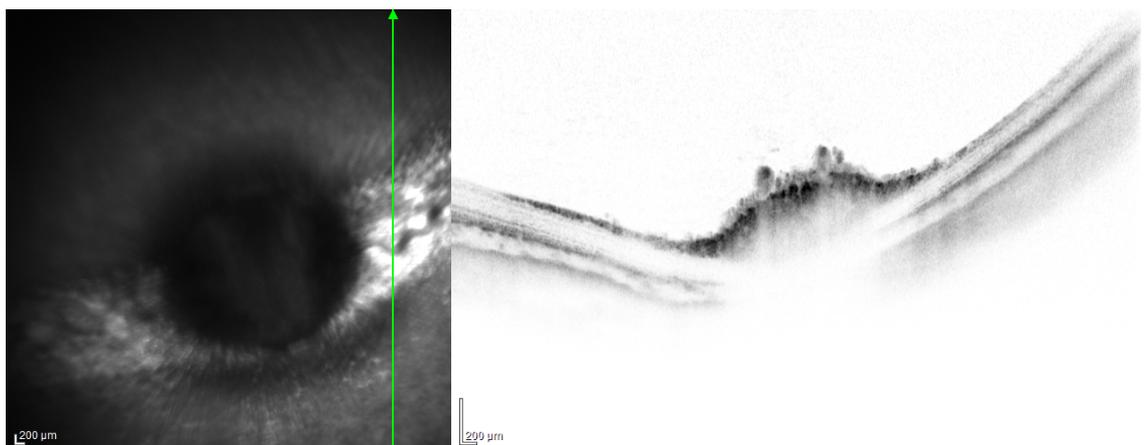
*Abb. 14 a.): Beispielbild OCT des operierten Auges, Abschlussuntersuchung nach sechs Monaten, ohne besonderen Befund*



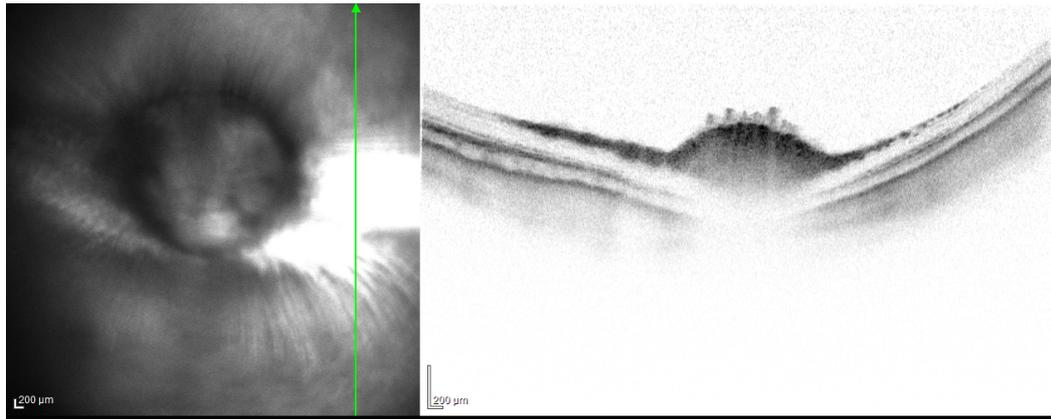
**Abb. 14 b.):** Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges, Abschlussuntersuchung nach sechs Monaten, ohne besonderen Befund



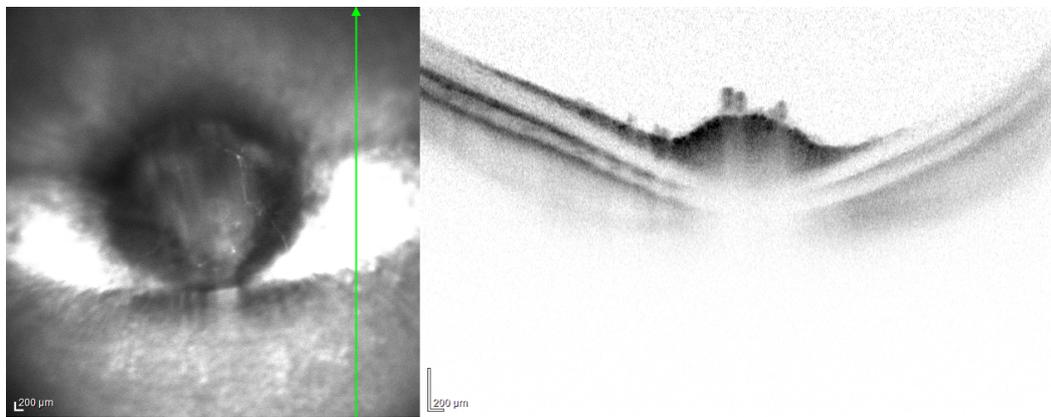
**Abb. 15 a.):** Beispielbild OCT des operierten Auges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit Silikonöl behandelt wurden



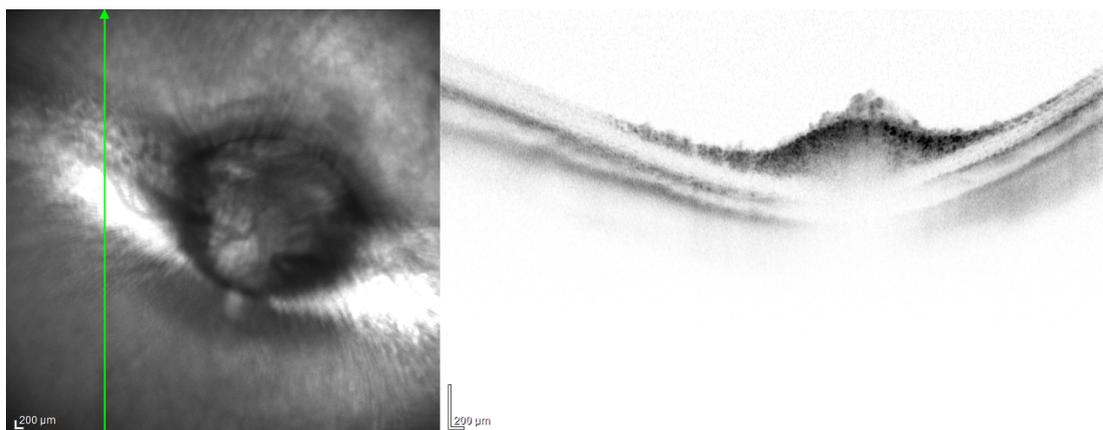
**Abb. 15 b.):** Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit Silikonöl behandelt wurden



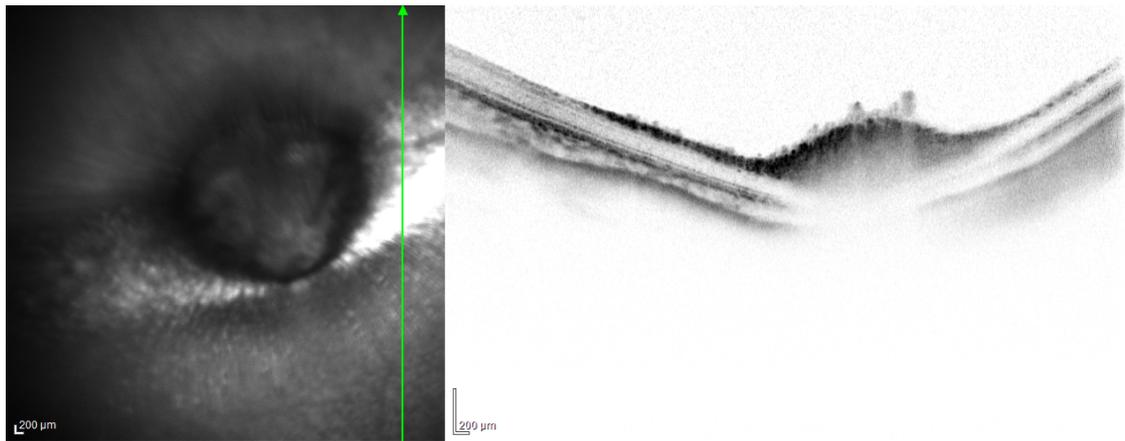
**Abb. 16 a.):** Beispielbild OCT des operierten Auges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit „ViBos-strong“ behandelt wurden



**Abb. 16 b.):** Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit „ViBos-strong“ behandelt wurden



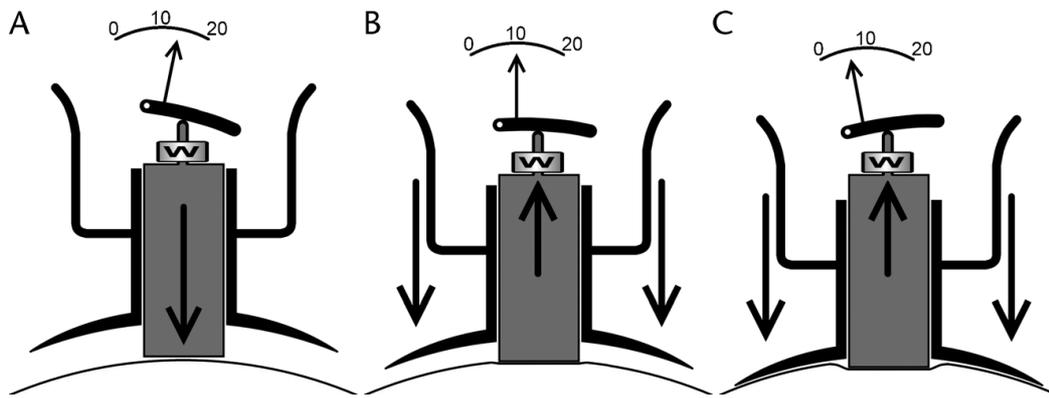
*Abb. 17 a.):* Beispielbild OCT des operierten Auges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit „ViBos-soft“ behandelt wurden



*Abb. 17 b.):* Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit „ViBos-soft“ behandelt wurden

### 2.1.5. Messung des intraokularen Druckes

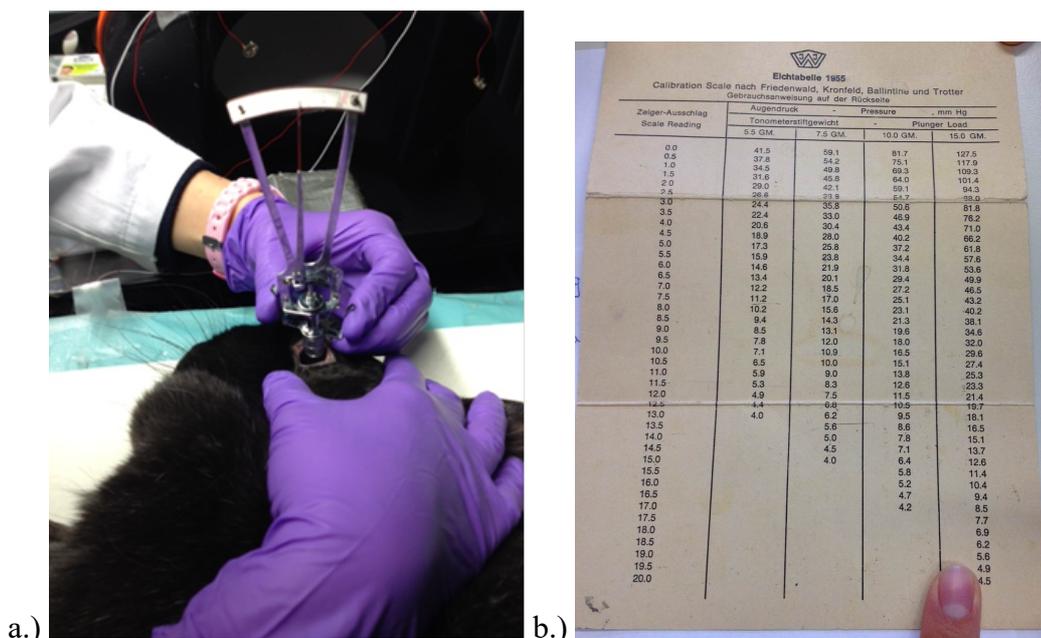
Der intraokulare Druck (IOP) beider Augen wurde mit Hilfe eines Schiötz Tonometers gemessen (Abb. 18). Die Kaninchen wurden hierfür in Seitenlage gelegt, damit das zu untersuchende Auge horizontal zum senkrecht aufgelegten Tonometer lag.



**Abb. 18:** Schematische Darstellung des Eindrückverfahrens des Schiötztonometers (Aus *Tonometry Methods in the Pediatric Emergency Department*, L.G. Yamamoto and D.A. Young, 2010)

Das Schiötz Tonometer bedient sich dem Prinzip der Indentations- oder auch Impressionstonometrie (Abb. 18). Um den Druck messen zu können, wurde das Schiötz Tonometer sanft senkrecht auf das Kaninchenaug aufgelegt (wie in Abb. 19 a.). Je nach IOP, wurde dabei der Senkstift des Tonometers aufgrund der Rigidität der Kornea durch das Gewicht des Senkstiftchens, mehr oder weniger stark in das Tonometer eingeschoben. Der Senkstift des Tonometers bewegt über einen kleinen Hebel eine Nadel, die sich abhängig vom intraokularen Druck mit einem größeren oder kleineren Ausschlag auf der abzulesenden Skala bewegt (Abb. 18). Der dadurch angezeigte Wert auf der Skala des Schiötz-Tonometers kann nun mit Hilfe einer Kalibrierungsskala, abhängig des Gewichtes des Senkstiftchens, abgelesen werden (Abb. 19 b.).

Da der intraokulare Druck (IOP) ein wichtiger Parameter für das Quellverhalten des Glaskörperersatzstoffes im Auge und ein wichtiger erster Hinweis für mögliche Entzündungsgeschehen ist, wurde er stets im Vergleich zwischen dem operierten und dem nicht operierten Partnerauge gemessen. Hierfür wurde bei den in Narkose liegenden Kaninchen der IOP beider Augen, unter Lokalanästhesie der Hornhaut, je dreimal pro Untersuchung gemessen. Dieser wurde präoperativ, einen, drei und sieben Tage postoperativ und bei jeder „großen“ Nachuntersuchung nach einem, drei und / oder sechs Monaten untersucht und dokumentiert.



**Abb. 19:** a.) Beispielbild Messung des IOP's via Schiötz-Tonometer, hierbei muss das Kaninchen in Seitenlage liegen damit das Senkstiftchen des Schiötztonometers senkrecht zur horizontalen Hornhaut aufgelegt werden kann b.) Kalibrierungsskala des verwendeten Schiötz-Tonometers

### 2.1.6. Operation

Alle Operationen dieser Studie wurden vom selben Operateur, Herrn Prof. Dr. Martin Spitzer durchgeführt.

#### 2.1.6.1. Pars plana Vitrektomie Verträglichkeitsstudie

Zuerst wurden die Kaninchen mit Hilfe einer intramuskulären Injektion mit einer Mischung aus Ketamin 35 mg/kg und Medetomidin 0,25 mg/kg in Narkose gelegt und die Pupille des zu operierenden rechten Auges mit Mydriatikum-Tropfen der UAKT weitgestellt.

Im Anschluss daran wurden die Augenlider mit 1:10 verdünnter Povidon-Jod-Lösung abgestrichen und der Bindehautsack gespült. Das OP-Feld wurde nun steril mit Abdecktüchern abgedeckt und die Lider mit Opsite-Folie abgeklebt. Ein Lidsperrer wurde eingesetzt, die Bindehaut am Limbus in der oberen Zirkumferenz mit meridionalen Einschnitten am Rande eröffnet und die Tenonsche Kapsel des Auges freipräpariert und kauterisiert. Anschließend wurde die Infusionskanüle mit mittlerem Ansatz temporal bei 2,5 mm Limbusabstand mit 6.0 Safil oder 7.0 Vicryl aufgenäht, durch welche die Infusion mit gepufferter Augeninfusionslösung (AMO Endsol der Firma Abbott Medical Optics) ins Auge gelangen konnte. Darauffolgend wurden die beiden Sklerotomien für die beiden Instrumente angelegt und mit der Lichtquelle und dem Cutter in das Augeninnere eingegangen. Alle Zugänge in den Glaskörperraum

befanden sich im Bereich der Pars plana, einer Region zwischen äußerem Rand der Netzhaut und dem Zilliarkörper, in der weder größere Gefäße noch wichtige nervöse Strukturen des Auges verlaufen.

Mit Hilfe des Cutters, der eine oszillierende Schneide-Saug-Vorrichtung besitzt, wurde der Glaskörper schrittweise entfernt. Als erstes wurde der Kern des Glaskörpers entfernt und anschließend versucht, eine hintere Glaskörperabhebung zu induzieren, um eine möglichst vollständige Entfernung des posterioren Glaskörpers zu erzielen. Unter Schonung der Linse wurde die Vitrektomie nach anterior erweitert. Nach vollständiger Vitrektomie wurde der gesamte Glaskörperraum mit dem zu untersuchenden Hydrogel auf Hyaluronsäurebasis („ViBos strong“) mit einer gebogenen 20 G Weber-Kanüle aufgefüllt. Durch eine erneute Inspektion mit dem Endlicht und durch Austritt des Gels auf der gegenüberliegenden Sklerotomie wurde die korrekte Füllung kontrolliert. Anschließend wurden die Sklerotomien mit Hilfe eines Vicryl 7-0 Fadens verschlossen und der intraokulare Druck mit Hilfe des Schiötz-Tonometers auf einen Druck von 15 mmHg eingestellt. Im Anschluss daran musste die Infusionskanüle entfernt und deren Sklerotomiewunde ebenso verschlossen werden.

Zum Schluss wurde der Bindehautsack ausgespült, mit einem Vicryl 7-0 Faden mit Einzelknopfnähten verschlossen und Dexamyltrex-Augensalbe in das Auge sowie den Bindehautsack eingegeben. Im Anschluss daran wurde die Narkose mit Atipamezol 1 mg/kg im. antagonisiert, um das Aufwachen des Kaninchens zu beschleunigen und die Nachschlafphase zu verkürzen.

#### **2.1.6.2. Pars plana Vitrektomie im Ablatiomodell**

Die Operation erfolgte zum größten Teil analog der zuvor beschriebenen Operationsmethode. Allerdings wurde zur Testung der Effektivität der eingegebenen Tamponaden nach vollständiger Vitrektomie vor Eingabe der Glaskörpertamponade durch Anlage einer kleinen peripheren Retinotomie und Unterspritzen der Netzhaut mit physiologischer Kochsalzlösung eine Netzhautablösung von zwei Quadranten induziert. Damit im Bereich des intraoperativ gesetzten Foramens wieder eine chorioretinale Adhäsion erfolgen kann, wurde nun von innen mit einem grünen Endolaser punktuell um das Foramen gelasert. Hierbei kommt es zu einer Endophotokoagulation zwischen der Retina und der Choroidea und damit zur Adhäsion der beiden Schichten. Dabei handelte es sich um einen frequenzgedoppelten YAG 532 nm, mit 200 ms und 200 mW Energie pro Spot, als Zielstrahl wurde ein niedrigerenergetischer Diodenlaser mit 635 nm verwendet. Durch das Lasern entsteht im Bereich der äußeren Netzhaut und dem retinalen Pigmentepithel sowie der Choroidea eine Narbe. Das Silikonöl wurde nicht

wie die Hydrogele manuell über eine 20G Weberkanüle, sondern mit Hilfe einer kleinen Silikonölpumpe über die Infusionskanüle eingegeben. Die Sklerotomien wurden analog zur zuvor beschriebenen Operationsmethode verschlossen und ebenso die Wunden versorgt.

### 2.1.7. Nachbeobachtungsuntersuchungen

Das Befinden der Kaninchen wurde postoperativ täglich kontrolliert und die operierten Augen in regelmäßigen Abständen in Sedation oder Narkose, je nach Ausmaß der Nachuntersuchung (s. Tab. 9 und Tab. 10) begutachtet. Bei Untersuchungen mit ERG und OCT wurde stets eine Narkose, bei Untersuchungen ohne ERG und OCT nur eine leichte Sedation mit 0,25 mg/kg Medetomidin durchgeführt. Postoperativ wurde das operierte Auge über vierzehn Tage einmal täglich lokal mit Dexamethason-Augensalbe behandelt.

In der Verträglichkeitsstudie wurde am ersten, dritten und siebten postoperativen Tag eine „kleine“ Nachuntersuchung durchgeführt, bei der jeweils beide Augen jedes Tieres mit der Spaltlampe genau untersucht und der intraokulare Druck mit dem Schiötz Tonometer gemessen wurde. Nach jeweils einem, drei und sechs Monaten postoperativ wurde zusätzlich jeweils eine OCT- sowie eine vollständige ERG-Untersuchung beider Augen jedes Tieres im Vergleich durchgeführt (Tab. 9).

Tab. 9: Nachuntersuchungsplan Verträglichkeitsstudie

<b>Nachuntersuchungsintervall Verträglichkeitsstudie</b>							
	<b>Präoperativ</b>	<b>1. T. p.OP</b>	<b>3.T. p.OP</b>	<b>7. T.p.OP</b>	<b>1 Mon. p.OP</b>	<b>3 Mon. p.OP</b>	<b>6 Mon. p.OP</b>
<b>Gewicht</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>SL</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>IOD OS + OD</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>Fundus</b>	+	+	+	+	+	+	+
<b>ERG</b>	+				+	+	+
<b>OCT</b>	+				+	+	+

Das Nachuntersuchungsprotokoll der Ablatiomodellgruppen wurde identisch zu dem der Verträglichkeitsstudie aufgebaut. Der Unterschied bestand darin, dass die letzte Untersuchung bereits einen Monat postoperativ stattfand. Zu erwähnen ist, dass bei zwei Tieren der Silikonölgruppe noch ein anderes Protokoll zur Anwendung kam. Hierbei war zuerst angedacht, die Tiere über einen Zeitraum von drei Monaten postoperativ zu beobachten. Da aber schon innerhalb der ersten sieben bis vierzehn Tagen davon auszugehen war, dass eine durch die Operation verursachte Netzhautablösung stattfand, wurde dieser Zeitraum auf einen Monat verkürzt. Bei diesen beiden Tieren mit vorab länger geplantem postoperativem Nachuntersuchungszeitraum wurden zur Auswertung

die Ergebnisse der Untersuchung nach einem Monat postoperativ herangezogen (Tab. 10).

Tab. 10: Nachuntersuchungsplan Ablatiomodell

<b>Nachuntersuchungsintervall Ablatiomodell</b>					
	<b>Präoperativ</b>	<b>1. T. p.OP</b>	<b>3.T. p.OP</b>	<b>7. T.p.OP</b>	<b>1 Mon. p.OP</b>
<b>Gewicht</b>	+	+	+	+	+
<b>SL</b>	+	+	+	+	+
<b>IOD OS + OD</b>	+	+	+	+	+
<b>Fundus</b>	+	+	+	+	+
<b>ERG</b>	+				+
<b>OCT</b>	+				+

### 2.1.8. Euthanasie

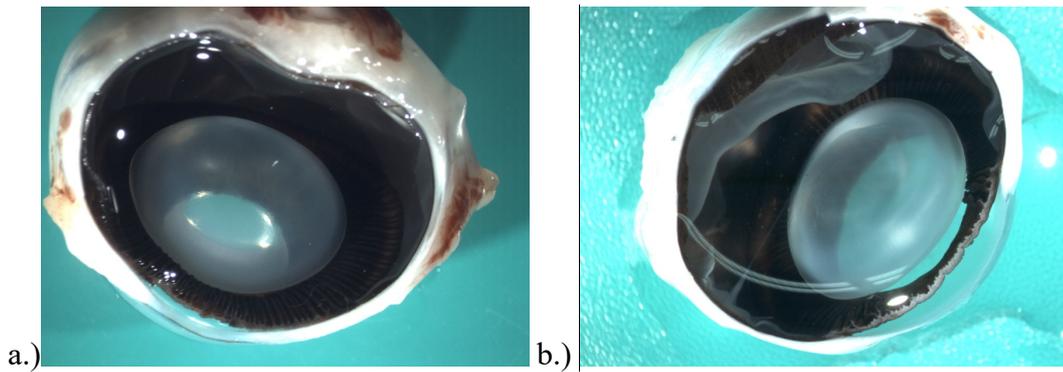
In Anschluss an die letzte Nachuntersuchung wurde bei allen Kaninchen noch in der gleichen Narkose ein intravenöser Zugang mit einer 26 G Vasofix Braunüle in die V. auricularis gelegt, durch welchen die Kaninchen mit 2 ml/kg Narcoren iv. euthanasiert wurden.

### 2.1.9. Bulbusentnahme

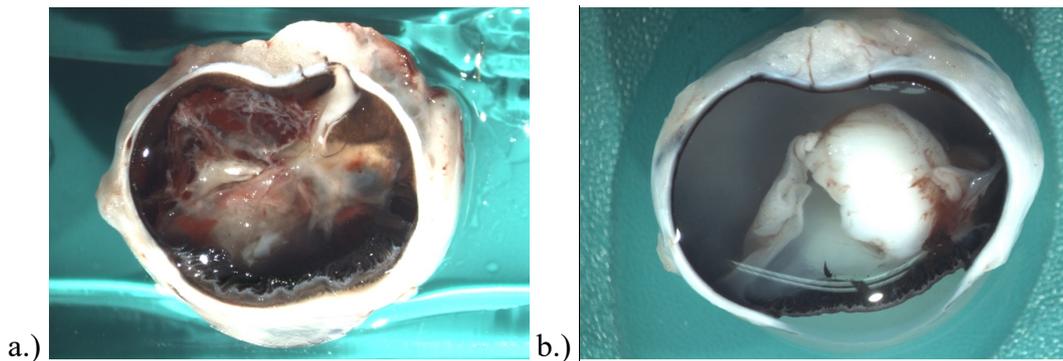
Die Augen wurden nach eingesetztem Herzstillstand rasch entnommen. Zur Entnahme der Augen wurde eine kleine chirurgische, gebogene spitz-spitz Schere und eine feine chirurgische Pinzette verwendet. Nach Setzen kleiner Entlastungsschnitte am temporalen und nasalen Augenwinkel wurde der Augapfel entlang des Bindegewebes nach und nach aus der Augenhöhle vorgelagert und nach Absetzen der großen Gefäße und des N. opticus vollständig entfernt.

### 2.2. Makroskopische Beurteilung der Bulbi

Zur besseren Beurteilbarkeit wurden die entnommenen Bulbi mit einem scharfen Skalpell in ein und zwei Drittel geteilt. Um dabei die Linse zu schonen, wurde der Schnitt am Rande des Limbus leicht schräg angesetzt. Nun wurden mithilfe der Mikroskopkamera ProgRes C10plus von jedem Bulbus mehrere makroskopische Fotos in einer 12,5x Vergrößerung angefertigt (Beispielbilder: Abb. 20 a. und b. Abb. 21 a. und b.).



*Abb. 20: Beispielbilder makroskopische Bilder a.) und b.) ohne besonderen Befund*



*Abb. 21: Beispielbilder makroskopische Bilder mit Netzhautablösung a.) totale Netzhautablösung bis an Linse, Netzhaut nur noch an einer Stelle an Augenhintergrund befestigt; b.) totale Netzhautablösung, Netzhaut liegt komplett auf Linse auf*

### **2.3. Histologie**

Nach Abschluss dieser Vorarbeiten wurden die Augen aufgearbeitet und für die histologische Untersuchung und Beurteilung vorbereitet. Hierbei wurden alle operierten Augen sowie deren Partneraugen mit der HE-Färbung angefärbt. Zusätzlich wurde bei allen Augenpaaren, bei denen am operierten Auge postoperativ keine totale Netzhautablösung stattgefunden hatte, zwei verschiedene immunhistologische Färbungen zum Nachweis der Antigene Brn3a und GFAP angewendet. In jeder Untersuchung bzw. bei jeder Färbung wurden die operierten Augen im Vergleich zu deren Partneraugen untersucht.

#### **2.3.1. Probenbearbeitung und Schnittgewinnung**

##### **2.3.1.1. Fixierung**

Um die entnommenen Augen zu fixieren, wurden sie im Anschluss an die Bulbusentnahme für fünf Tage in einen Behälter mit gepuffertem 4,5%igen Formaldehyd gegeben. Formaldehyd hat ein gutes Diffusionsvermögen und durchdringt auch größere Gewebestücke recht zügig, so dass auch tiefer gelegene Strukturen gut

fixiert werden können. Außerdem härtet es das Gewebe aus, ohne es spröde zu machen und gewährleistet damit eine gute Schnittqualität der Proben (Höfler, Müller 2000).

### **2.3.1.2. Einbetten**

Nach ausreichender Fixation wurden die Augen zuerst geteilt, makroskopisch beurteilt und wenn möglich die Linse entnommen, da diese sich mit dem Mikrotom nur schwer schneiden lässt und für die Beurteilung der Netzhaut nicht relevant ist. Beide Teile kamen im Anschluss in eine kleine Einbettkassette aus Plastik, welche zusammen mit anderen Proben dieser Studie in ein Probenkörbchen gelegt und über Nacht in den Einbettautomaten (TP 1020 der Firma Leica Biosystems) gegeben wurden.

Zu Beginn des Einbettvorgangs wurden die Proben durch Ethylalkohol entwässert, damit diese später in das hydrophobe Paraffin gegossen werden konnten. Da es durch die Entwässerung sehr leicht zu Zerreißen und zu starken Schrumpfungen des Gewebes kommen kann, fand diese nur stufenweise durch eine aufsteigende Alkoholreihe statt. Hierfür wurde der Probenkorb jeweils eine Stunde lang in 70%igen Ethylalkohol, danach je eine Stunde in drei nacheinander angeordnete Gefäße mit 96%igem Ethylalkohol und zum Schluss der Entwässerungsphase je eine Stunde in drei aufeinander folgende Gefäße mit 99%igem Ethylalkohol getaucht. Während der Entwässerung schrumpft das Gewebe meist um ca. 10-15%.

Nach der Entwässerung wurden die Proben im Probenkorb in ein Intermedium eingebracht, welches in der Lage ist, sich mit Alkohol und dem Einbettmedium, dem nicht mit Wasser mischbaren Paraffin, zu mischen. So löst das Intermedium den gesamten Alkohol wieder aus den Proben heraus und dient gleichzeitig auch als Lösungsmittel für das anschließende Einbettmedium. Als Intermedium wurde Chloroform in drei aufeinanderfolgenden Gefäßen des Einbettautomaten gegeben. Der Probenkorb wurde dafür einmal eine Stunde in das erste mit Chloroform gefüllte Gefäß und danach je zwei Stunden in zwei aufeinanderfolgende mit Chloroform gefüllte Gefäße eingetaucht. Im nächsten Schritt wurden die Proben mit dem Einbettmedium durchtränkt, indem sie je zwei Stunden lang in zwei aufeinanderfolgende Gefäße mit flüssigem Paraffin gegeben wurden. Damit das Paraffin ins Gewebe und in alle Hohlräume eindringen konnte, wurde es im Einbettautomaten auf seinen Schmelzpunkt von ca. 56-58°C erwärmt und so in seine flüssige Form überführt (Höfler, Müller 2000).

### **2.3.1.3. Ausgießen**

Um die Proben schneiden zu können, wurden sie mit Hilfe einer Ausgießstation (EG 1140H der Firma Leica Biosystems) in Paraffinblöcke gegossen. Bei einer

Ausgießstation handelt es sich um eine Maschine, die einen Vorrat an flüssigem Paraffin mit einem Schmelzpunkt zwischen 56 und 58°C, bereithält.

Zum Ausgießen wurden kleine Metallformen verwendet, in welche flüssiges Paraffin bis etwa zur Hälfte der Vertiefung gefüllt und anschließend das Auge hineingegeben wurde. Dabei war stets darauf zu achten, dass das Auge mit dem Anschnitt nach unten gelegt wurde und keine Luftblasen innerhalb des Auges verblieben. Die Form wurde nun unter Festhalten der Probe mit einer Pinzette auf eine kleine Kühlplatte gestellt, um so das Paraffin schon leicht erstarren und die Probe in richtiger Ausrichtung fixieren zu lassen. Dann wurde der Rest des Förmchens bis zur Oberkante mit Paraffin aufgefüllt und der Deckel des Einbettkästchens aufgelegt. Direkt im Anschluss daran wurde dies für ca. eine Stunde auf eine Kühlplatte (EG 1140 C der Firma Leica Biosystems) gestellt, um eine homogene, feinkristalline Zusammensetzung durch schnelles Abkühlen des Paraffins zu erreichen. Der gegossene Paraffinblock wurde nun aus der Gussform genommen und bis kurz vor dem Schneiden auf der Kühlplatte belassen, um eine gute Durchkühlung und damit eine gute Schnittfähigkeit des Probenblockes zu gewährleisten (Höfler, Müller 2000).

#### **2.3.1.4. Schneiden der Proben**

Vor dem Schneiden mussten zuerst geeignete Objektträger (SuperFrost Plus der Firma Carl Roth) mit einer zusätzlichen Schicht, dem Poly-L-Lysin (PLL), versehen werden um eine bessere Anhaftung der Schnitte zu ermöglichen. Hierfür wurde die Stammlösung des PLL (Poly-L-Lysine der Firma Sigma-Aldrich) im Verhältnis 1:10 mit destilliertem Wasser (A.d.) verdünnt und in eine Küvette gegeben. In diese Küvette wurden nun alle Objektträger eingetaucht und über Nacht in einem Ständer luftgetrocknet.

Um die in Paraffinblöcke gegossenen Augen schneiden zu können, mussten diese auf der Kühlplatte gut durchgekühlt sein. Zum Schneiden wurden sie mit dem Einbettkassettendeckel am Mikrotom (einem Rotationsmikrotom, RM 2245 der Firma Leica Biosystems) eingespannt und mit dem Grobvorschub korrekt ausgerichtet. Zuerst wurde der Probenblock mit einer Schnittdicke von ca. 20 µm angeschnitten bis alle gewünschten Strukturen der Probe in jedem Schnitt enthalten waren. Nun wurde die Schnittdicke auf die gewünschte Probendicke von 4µm eingestellt und so Schnitte der Proben erzeugt. Die Schnitte wurden nun auf mehrere Objektträger aufgezogen indem sie mit Hilfe eines feinen Pinsels aufgenommen und vom Mikrotom in eine Schale mit kaltem A.d. gegeben wurden. Damit sie sich strecken und Falten vermieden werden konnten, wurden sie mit einem Objektträger vom kalten A.d. in ein Wärmebad mit einer

Temperatur von ungefähr 42°C übertragen. Je Objektträger wurden daraufhin jeweils zwei Schnitte aus dem Wärmebad aufgenommen und über Nacht auf einer Wärmeplatte bei 35°C getrocknet. Die bestückten Objektträger wurden in Objektträgerkisten eingeordnet und bei Raumtemperatur gelagert.

### **2.3.2. Histologische Färbungen**

#### **2.3.2.1. Vorbereitung vor den Färbungen**

##### **2.3.2.1.1. Ansetzen des Tris-gepufferter-Saline-Puffers**

Bei allen drei Färbungen wurde zum Waschen Tris-gepufferter-Saline-(TBS)-Puffer verwendet. Zuerst wurde eine zehnfach konzentrierte TBS-Stammlösung angesetzt. Hierfür wurden 60,75 g Tris- (hydroxymethyl)-aminomethan und 87,66 Natriumchlorid in 900 ml A.d. gelöst und mit 25 %iger Salzsäure auf einen pH von 7,6 eingestellt. Dies wurde dann mit A.d. auf 1000 ml aufgefüllt und bei 4°C im Kühlschrank gelagert. Daraus wurde bei Bedarf eine Gebrauchslösung erstellt, indem sie 1:10 mit A.d. verdünnt wurde.

##### **2.3.2.1.2. Ansetzen des Citratpuffers**

Die Schnitte mussten vor den immunhistologischen Färbungen zwei Minuten lang im Schnellkochtopf in Citratpuffer gekocht werden. Dabei wurden die Antigene demaskiert um diese anschließend durch die Antikörper anfärbbar zu machen. Für die zehnfach konzentrierte Citratpuffer-Stammlösung wurde in einem ersten Schritt des Ansetzvorgangs 2,1 g Citronensäure-Monohydrat in 100 ml A.d. gelöst. Im zweiten Schritt wurde 29,4 g Natriumcitrat-Dihydrat in 850 ml A.d. gelöst und mit der Citronensäure-Monohydrat-Lösung auf einen pH von 6 eingestellt. Anschließend wurde dies mit A.d. auf 1000 ml aufgefüllt und bei 4°C im Kühlschrank gelagert. Um eine Gebrauchslösung zu erhalten wurde die Citratpuffer-Stammlösung mit A.d. 1:10 verdünnt.

##### **2.3.2.2. Entparaffinieren und Rehydrieren der Schnitte**

Zu Beginn musste das Einbettmedium, das Paraffin, wieder vollständig aus den Schnitten entfernt werden. Hierfür wurde wie bereits beim Einbettvorgang ein in Paraffin ebenso wie in Wasser lösliches Intermedium benötigt. In diesem Schritt wurde Xylol als Intermedium verwendet. Jede Probe wurde für je fünf Minuten in vier aufeinander folgende mit Xylol gefüllte Gefäße eingetaucht. Da die Farbstoffe wiederum aber nicht in Xylol löslich sind, wurden alle Schnitte anschließend durch eine absteigende Ethylalkoholreihe getaucht, um sie wieder zu wässern und für die

Farbstoffe zugänglich zu machen. Die absteigende Ethylalkoholreihe bestand aus acht verschiedenen Küvetten, in die jeder Schnitt eine Minute lang eingetaucht wurde. Diese acht Küvetten setzten sich aus je zwei Küvetten von 99%igem, 96%igem und 70%igem Ethylalkohol und abschließend aus zwei Küvetten gefüllt mit A.d., zusammen (Höfler, Müller 2000).

### 2.3.3. Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) stellt eine sehr häufig verwendete Routinefärbung in der Histologie dar und wird oft als Übersichtsfärbung vor immunhistochemischen Färbungen angewendet. Durch die Kontrastierung zwischen dem Kernfarbstoff Hämatoxylin und dem Zytoplasmafarbstoff Eosin dient sie gut zur Darstellung von verschiedenen Gewebestrukturen. Der Vorgang der Färbung wird in der folgenden Tabelle genauer erläutert (Tab. 11).

Tab. 11: Übersicht HE-Färbung

<i>Substanz</i>	<i>Dauer</i>	<i>Wirkung</i>
4x Xylol	20 min.	Entparaffinieren
2x 99% Ethanol	je 1 min.	Rehydrieren
2x 96% Ethanol	je 1 min.	Rehydrieren
2x 70% Ethanol	je 1 min.	Rehydrieren
2x A.d.	je 1 min.	Rehydrieren
Harris Hämatoxylinlösung (HHS)	10 min.	Kernfärbung
2x Leitungswasser	je ca. 30 sec.	spülen
HCL-Alkohol	3 sec.	differenzieren
fließendes Leitungswasser	10 min.	spülen
Eosin Y	2 min.	Zytoplasmafärbung
1x 70% Ethanol	ca. 30 sec.	Wasserentzug
2x 96% Ethanol	je ca. 30 sec.	Wasserentzug
2x 99% Ethanol	je ca. 30 sec.	Wasserentzug
4x Xylol	je ca. 30 sec.	alkohol entziehen
Eukitt		Eindeckeln / Haltbarmachung

### 2.3.4. Immunhistologische Färbungen

Das Prinzip von Immunfärbungen besteht darin, Antigene bestimmter Strukturen mit Hilfe von spezifisch bindenden Antikörpern darzustellen.

Dafür wurden alle Proben wie bei der Entparaffinierung und Rehydrierung beschrieben vorbereitet und anschließend in einem mit Citratpuffer-Gebrauchslösung bei pH 6

gefüllten Schnellkochtopf für zwei Minuten gekocht, um eine Epitopdemaskierung zu erzielen.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Prinzip der Labelled-(Strept-)Avidin-Biotin-Methode angewendet, eine indirekte Färbemethode, bei der ein unkonjugierter Primärantikörper und ein biotinylierter Sekundärantikörper auf die Schnitte gegeben werden. Die spezifische Färbung der gesuchten Antigene kommt aber erst dadurch zustande, dass in zwei weiteren Schritten zuerst das Avidin-Biotin-Enzymkonjugat (der Streptavidin alkalischen Phosphatase) auf die Schnitte gegeben wird, welches gut an den biotinylierten Sekundärantikörper bindet und mit dem im nun vorerst letzten Schritt hinzugegebenen Substrat reagieren kann (Höfler, Müller 2000). Hierfür wurde ein Testkit der Firma Dako Biosciences (Dako REAL Detection System, Alkaline Phosphatase/RED, Rabbit/Mouse) verwendet.

Alle Schritte zwischen dem Primärantikörper und der Inkubation des Substrates wurden in Färbegestellen (Shandon coverplate Technology der Firma Thermofischer scientific) vorgenommen. Im Anschluss an die Substratumsetzung wurde mit filtriertem Hämatoxylin nach Gill III gegengefärbt, durch eine aufsteigende Alkoholreihe und Xylol das Wasser wieder entzogen und schließlich zur Haltbarmachung die Schnitte mit Eukitt eingedeckelt. In der anschließenden Tabelle wurde der genaue Vorgang der immunhistologischen Färbungen Schritt für Schritt notiert (Tab. 12) (Höfler, Müller 2000).

Tab. 12: Übersicht immunhistologische Färbungen

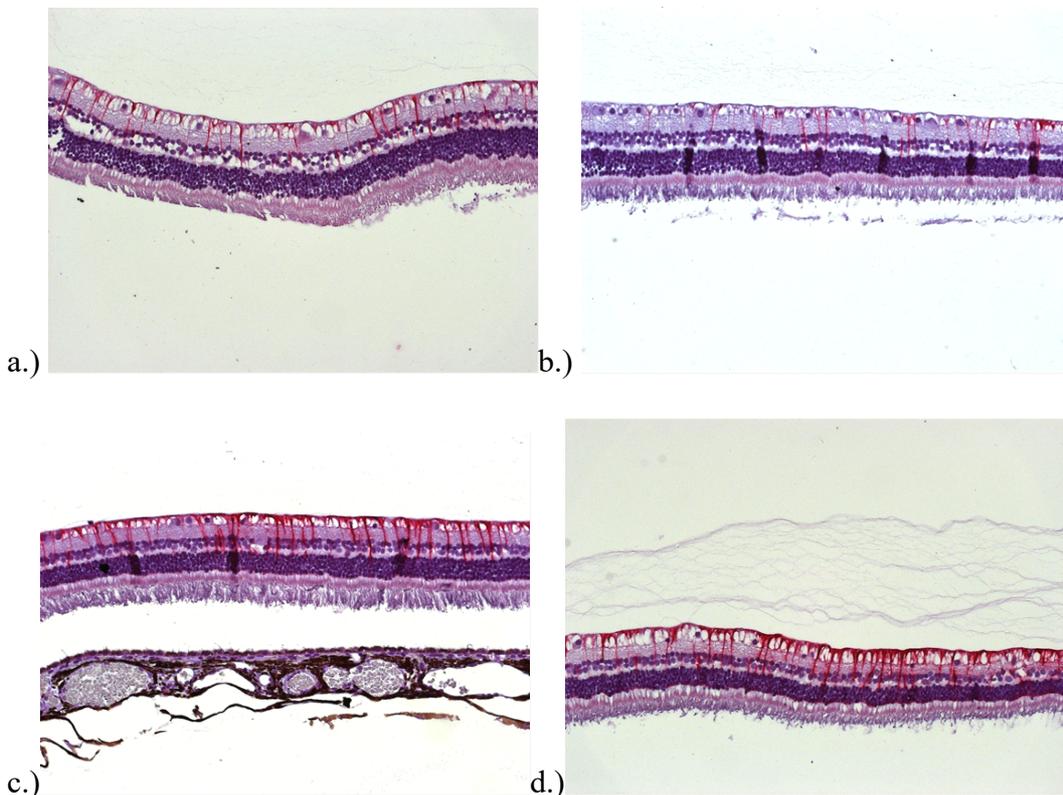
<b>Substanz</b>	<b>Dauer</b>	<b>Wirkung</b>
4x Xylol	20 min.	Entparaffinieren
2x 99% Ethanol	je 1 min.	Rehydrieren
2x 96% Ethanol	je 1 min.	Rehydrieren
2x 70% Ethanol	je 1 min.	Rehydrieren
2x A.d.	je 1 min.	Rehydrieren
Kochen im Schnellkochtopf mit Citratpuffer pH 6,0	2 min.	Epitopdemaskierung
Primärantikörper bei Raumtemperatur	30 min.	spezifische Bindung des Primärantikörpers an das gesuchte Antigen
3x TBS	je 3 min.	Waschen
biotinylierter Sekundärantikörper bei Raumtemperatur	30 min.	Bindung des biotinylierten Sekundärantikörpers an den Primärantikörper
3x TBS	je 3 min.	Waschen
Streptavidin alkalische Phosphatase bei Raumtemperatur (Flasche B Dako Kit)	15 min.	Enzymkomplex, bindet an biotinylierten Sekundärantikörper
3x TBS	je 3 min.	Waschen
Substrat bei Raumtemperatur, abgedunkelt	20 min.	Substratumsetzung durch Enzyme- Farbreaktion
3x TBS	je 3 min.	Waschen
filtriertes Hämatoxylin nach Gill III	20 sec.	Gegenfärbung
Leitungswasser	bis Wasser sich nicht mehr färbt	Waschen
1x70% Ethanol	ca. 30 sec.	Wasserentzug
2x 96% Ethanol	je ca. 30 sec.	Wasserentzug
2x 99% Ethanol	je ca. 30 sec.	Wasserentzug
4x Xylol	je ca. 30 sec.	Alkohol entziehen
Eukitt		Eindeckeln / Haltbarmachung

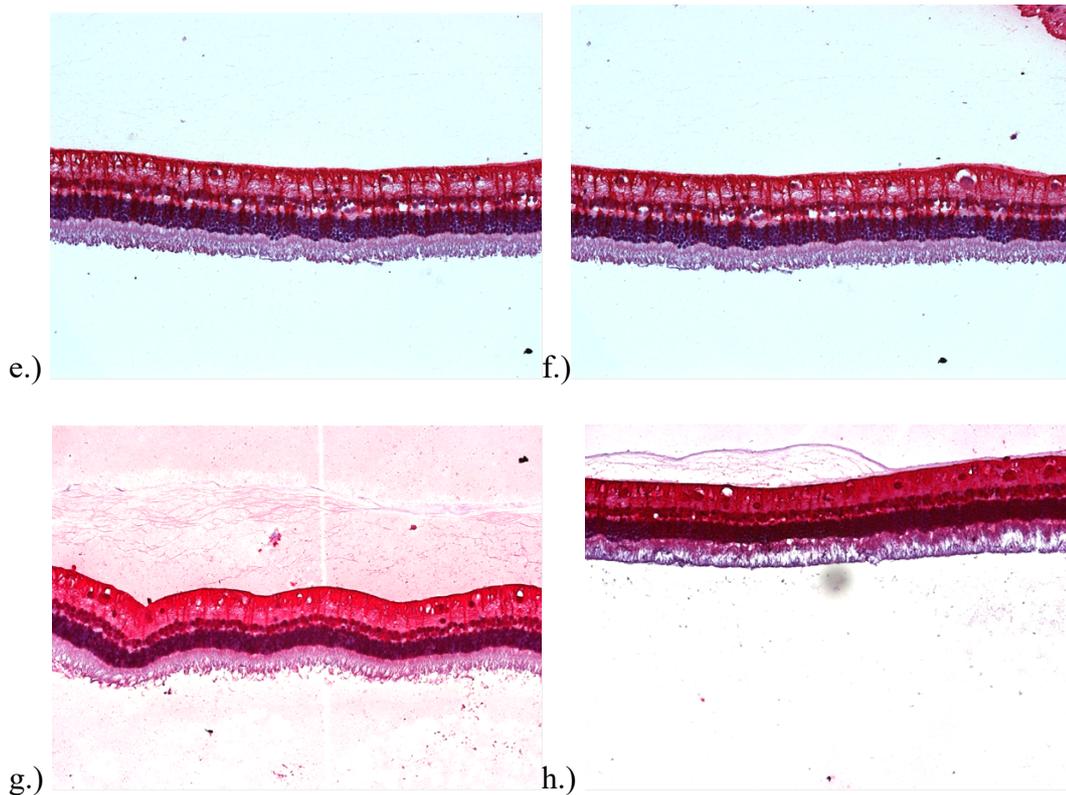
### 2.3.4.1. Anti-Glial Fibrillary Acidic Protein-Färbung

Bei der anti- GFAP- (glial fibrillary acidic protein)- Färbung werden die Antigene der Gliazellen über anti-GFAP-Antikörper markiert. In der Retina werden über diesen Antikörper die Astrozyten und aktivierte Müllerzellen, welche hauptsächlich eine Schutz-, Stütz- und auch nutritive Funktion in der Netzhaut besitzen, markiert (Newman 1989 und Reichenbach 1993).

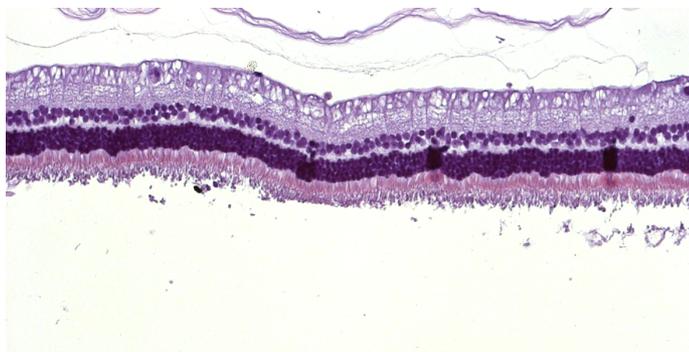
#### 2.3.4.1.1. Auswertungsschema GFAP-Färbung

Zur Auswertung der GFAP-Färbung beider Versuchsgruppen wurde anhand einer Auswertungsskala die Intensität bzw. die Häufung der angefärbten Müllerzellen bestimmt, indem drei neutrale, unabhängige Personen jedes einzelne Bild mit einer Note zwischen eins und vier bewertet haben. Die Augen des, die aufgrund einer Netzhautablösung mit vollständiger Auflösung der Netzhautstruktur nicht immunhistologisch angefärbt werden konnten, wurden mit der Note sechs bewertet. Damit sollten falsch positive Ergebnisse vermieden werden. Hierfür wurden alle Bilder mit einer bestimmten Kennzeichnung benannt, aus der für die bewertenden Personen keine Zugehörigkeit zu einer Untersuchungsgruppe festgestellt werden konnte. (Abb. 22 a. - h.). Für die Bewertung dieser Färbung wurden drei unabhängige Personen dieser Studie der Forschungsgruppe herangezogen. Zur Qualitätskontrolle wurde stets eine Negativkontrolle mitgeführt (Abb. 23).





**Abb. 22:** Beispielbilder für die Auswertungsskala der GFAP-Färbung; Bilder die Beispielbild a.) & b.) gleichen wurden mit der Note 1 bewertet; GFAP-Bilder, die den Beispielbildern c.) & d.) gleichen, wurden mit der Note 2 bewertet; GFAP-Bilder die den Beispielbildern e.)& f.) gleichen, wurden mit Note 3 bewertet; und GFAP-Bilder, die den Beispielbildern g.)& h.) gleichen, wurden mit der Note 4 bewertet.



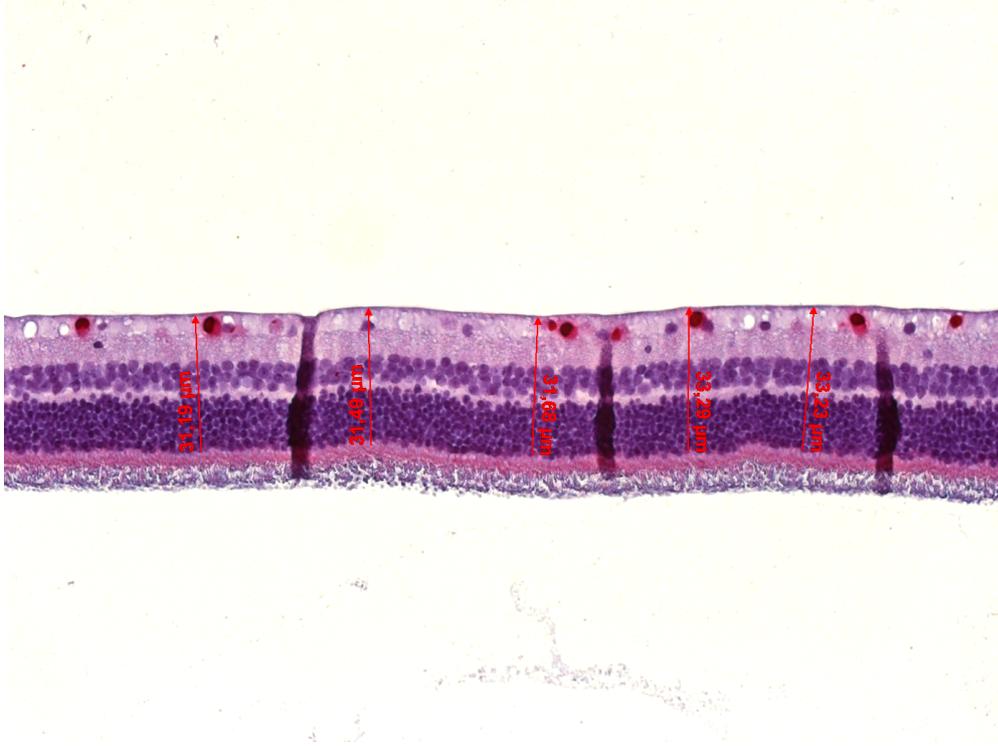
**Abb. 23:** Negativkontrolle GFAP-Färbung, ohne Färbung der retinalen Müllerzellen

#### 2.3.4.2. Anti-Brn3a-Färbung

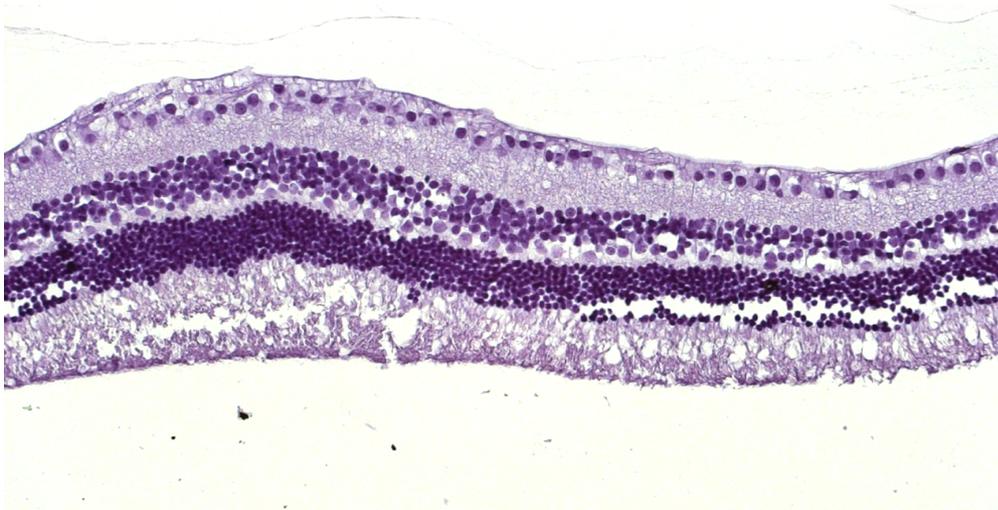
Mit der anti-Brn3a-Antikörperfärbung werden über den POU-Domänen-Transkriptionsfaktor Brn3a, die in der Ganglienzellschicht der Retina gelegenen Ganglienzellen markiert und können mit dem unter Tab. 12 erwähnten Schema angefärbt und später ausgezählt werden. Zur Qualitätskontrolle wurde stets eine Negativkontrolle mitgeführt (Abb. 25).

Zusätzlich wurde diese Färbung genutzt, um die Netzhautdicke der operierten Augen

im Vergleich zu den der jeweiligen Partneraugen in der 200fachen Vergrößerung auszumessen und zu vergleichen (Abb. 24). Hierfür wurden bei jedem der zehn Bilder je Netzhaut eines Auges jeweils fünf Messungen durchgeführt und notiert. Daraus ergab sich pro Auge und Zeitpunkt je einen Mittelwert mit Standardabweichung.



*Abb. 24: Beispielbild zur Ausmessung der Netzhautdicke anhand eines Brn3a-angefärbten (mit rot gefärbten Ganglienzellen) histologischen Querschnitts der Netzhaut in 200x Vergrößerung*



*Abb. 25: Negativkontrolle Brn3a-Färbung, ohne Färbung der Ganglienzellen in der Ganglienzellschicht der Netzhaut*

#### **2.4. Statistische Auswertung**

Zur statistischen Auswertung wurde das Programm Microsoft Excel 2010 sowie das

Statistik-Computerprogramm „JMP“ verwendet. Zuerst wurden eine Häufigkeitsanalyse sowie die Analyse der Signifikanz mit Bestimmung des p-Wertes mit Hilfe des t-Tests bei einem Signifikanzniveau von  $p=0,05$ , durchgeführt. Somit wurde ein Ergebnis mit einem p-Wert  $\leq 0,05$  mit \*,  $\leq 0,01$  mit \*\* und  $\leq 0,001$  mit \*\*\* bewertet.

Ebenso wurde die Normalverteilung aller Daten durch den Shapiro-Wilk-Test sowie die empirische Standardabweichung berechnet. Um die Testqualität bestimmen zu können, wurde zusätzlich die Bonferroni-Korrektur, welcher Alphafehler bei multiplen Vergleichen neutralisiert, sowie eine Varianzanalyse durch den Tukey-Kramer post hoc-Test durchgeführt.

Alle Auswertungen sowie Tests und Analysen der Ergebnisse dieser Studie wurden von mir selbst durchgeführt und dokumentiert. Ebenso wurden alle Beispielbilder (Fotos der Untersuchungen, Makroskopische Beispielbilder und histologische Bilder) sowie alle Tabellen und Diagramme von mir selbst angefertigt und erstellt.



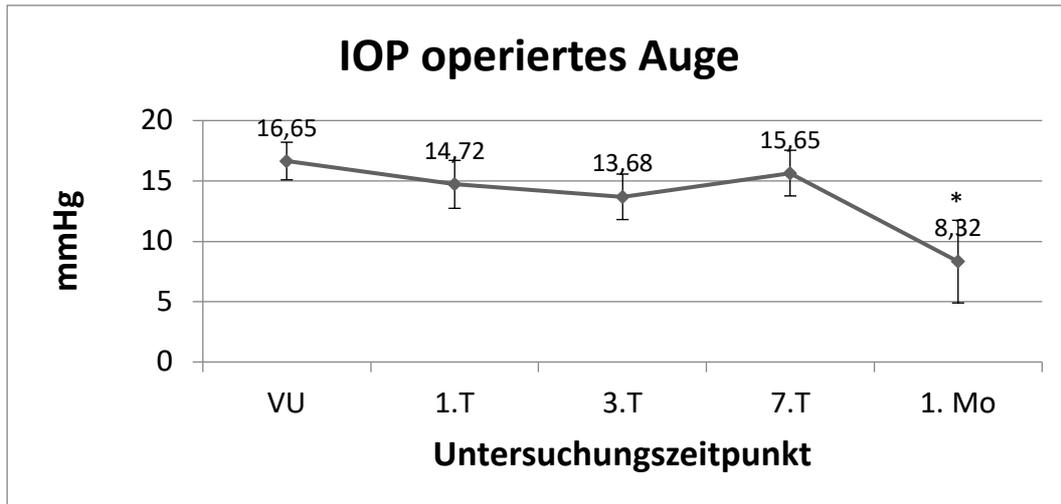
## **IV. ERGEBNISSE**

### **1. Verträglichkeitsstudie**

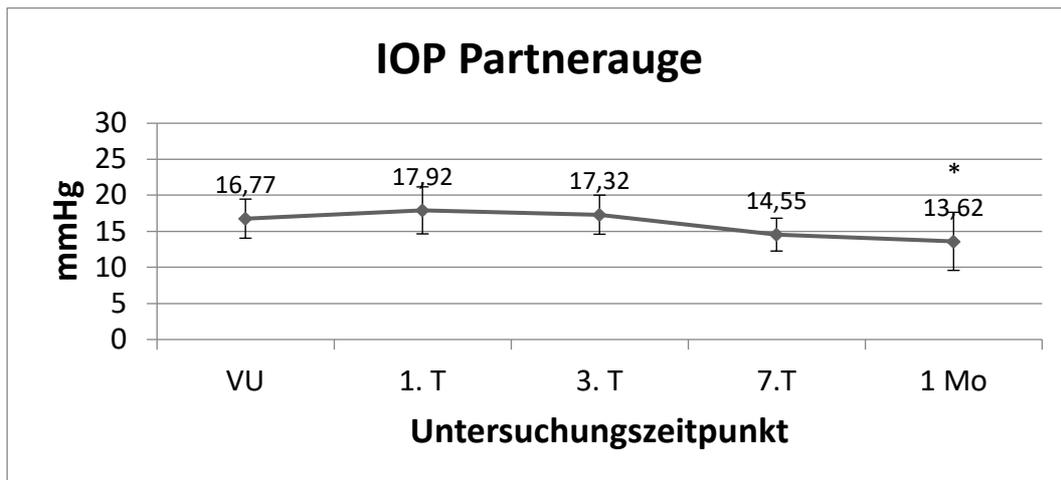
#### **1.1. Intraokularer Druck**

##### **1.1.1. Verträglichkeit über einen Monat**

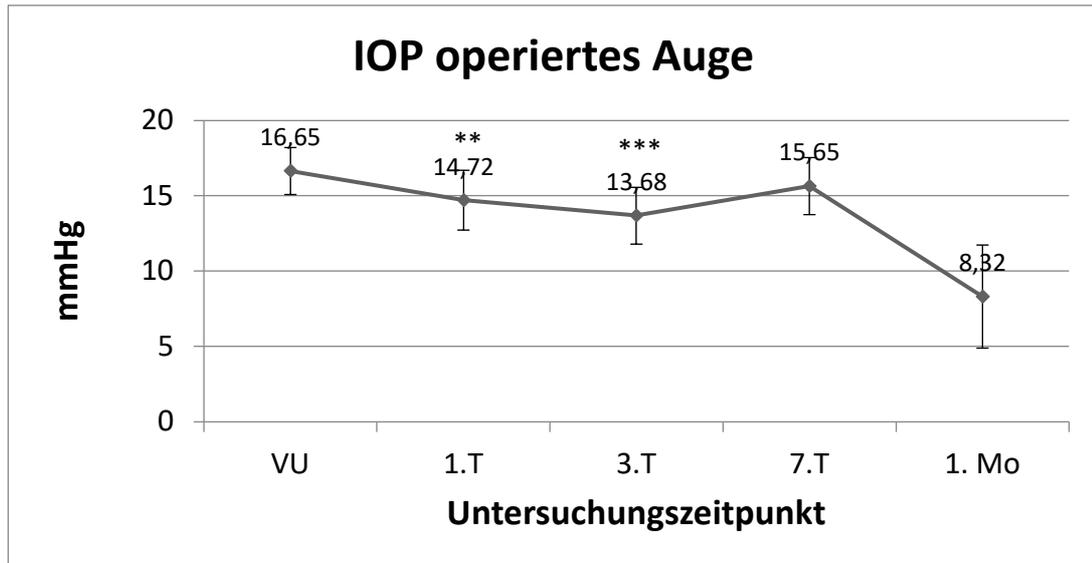
Die mittels t-Test errechnete Signifikanz des intraokularen Druckes der sechs untersuchten Tiere der Verträglichkeitsgruppe bis einen Monat postoperativ beträgt am ersten Untersuchungstag  $p=0,58$ , am dritten Untersuchungstag  $p=0,54$ , am siebten Untersuchungstag  $p=0,83$  und nach einem Monat  $p=0,03$  (\*) (Signifikanzniveau von \* =  $p<0,05$ , \*\* =  $p<0,01$ , \*\*\* =  $p<0,001$ ). Somit besteht zu Beginn kein signifikanter nach einem Monat ein signifikanter Unterschied zwischen dem Druckverlauf des operierten Auges zum Druckverlauf seines Partnerauges (Abb. 26 a. und Abb. 27 a.). Die hohe Standardabweichung des IOP's ist damit zu erklären, dass ein Tier bis eine Woche postoperativ einen IOP von 40 – 42,4 mmHg aufwies. Dieses Tier wurde die ersten Wochen mit mehrmals täglich mit drucksenkenden Augentropfen behandelt. Hierfür wurde 2x tgl. Alphagan (Wirkstoff: Brimonidin, ein Sympathomimetikum) und Xalatan 1x tgl. (Wirkstoff: Latanoprost, ein Prostaglandin-Analogen) Augentropfen angewendet. Aufgrund der starken IOP-Abweichung dieses Tieres wurde es in einer zweiten Auswertungstabelle und zwei neuen Diagrammen ausgeschlossen (Abb. 26 b. und Abb. 27 b.). Dadurch ergab sich zu Beginn ein signifikanter Unterschied zwischen den postoperativ niedrigeren IOP's der operierten zu den etwas höheren IOP's der nicht operierten Partneraugen. Dieser pendelte sich allerdings ab dem siebten Tag auf einen nicht signifikanten Unterschied ein. Hierbei beträgt die Signifikanz am ersten Untersuchungstag postoperativ  $p=0,0013$  (\*\*), am dritten Tag  $p=0,000852$  (\*\*\*), am siebten Tag  $p=0,0614$  und bei der Abschlussuntersuchung  $p=0,0877$ .



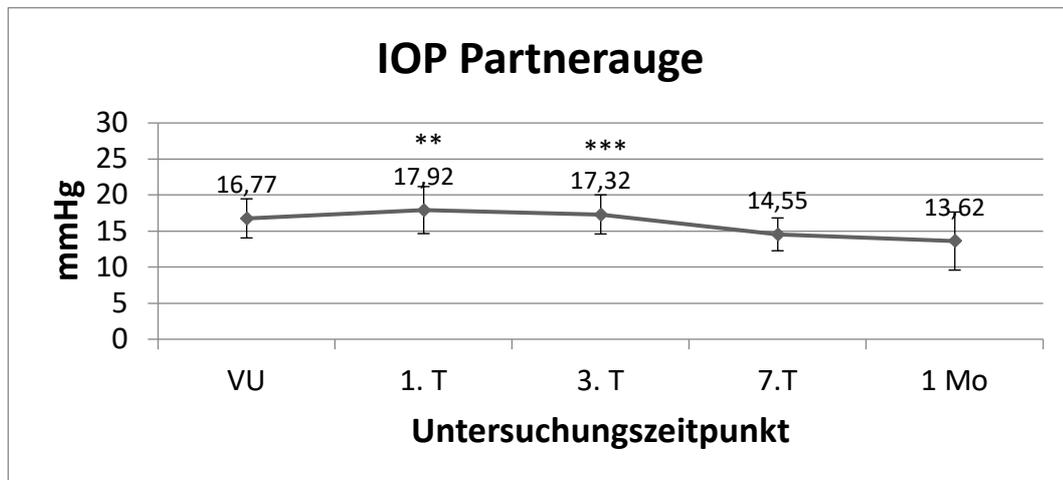
**Abb. 26 a.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen intraokularen Druckes (IOP's) je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat ( $n=6$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, VU=Voruntersuchung, mit  $p=0,58$  am ersten,  $p=0,54$  am dritten,  $p=0,83$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,03$  (\*) nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )



**Abb. 26 b.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat ( $n=6$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, VU=Voruntersuchung, mit  $p=0,58$  am ersten,  $p=0,54$  am dritten,  $p=0,83$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,03$  (\*) nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )



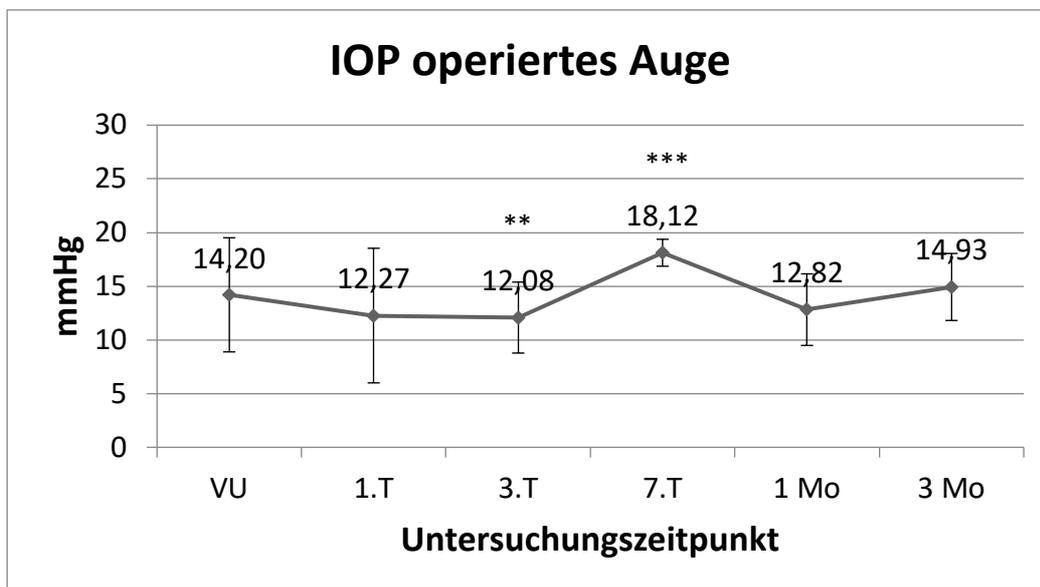
**Abb. 27 a.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen intraokularen Druckes (IOP's) je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat mit Ausschluss des Tieres mit einem postoperativ über eine Woche hohen IOP's von  $>40\text{mmHg}$  ( $n=5$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,00129$  (\*\*) am ersten,  $p=0,000852$  am dritten (\*\*\*),  $p=0,0614$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,0877$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$  =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )



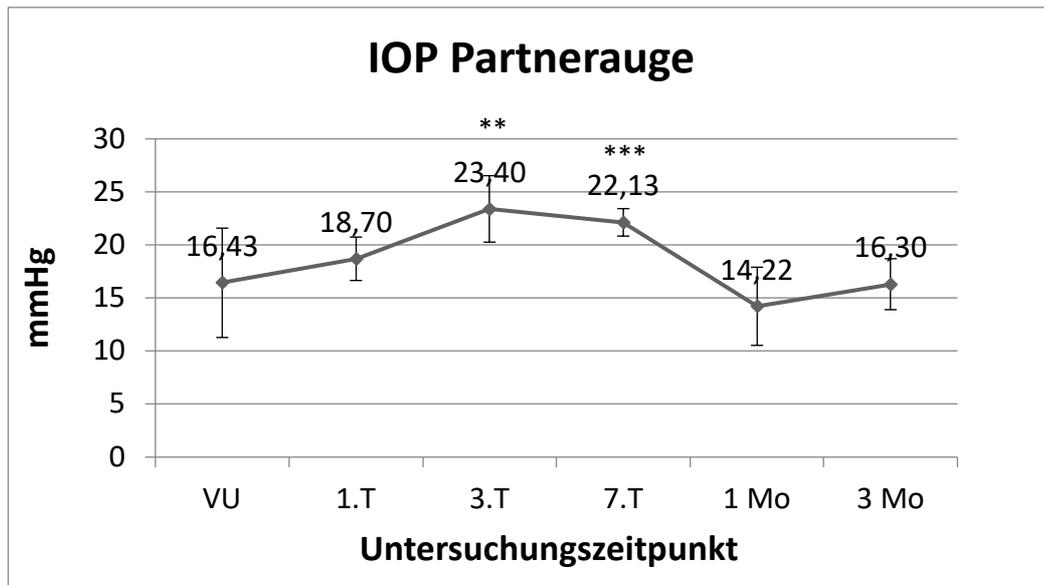
**Abb. 27 b.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat mit Ausschluss des Tieres mit einem postoperativ über eine Woche hohen IOP's von  $>40\text{mmHg}$  ( $n=5$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,00129$  (\*\*) am ersten,  $p=0,000852$  am dritten (\*\*\*),  $p=0,0614$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,0877$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$  =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )

### 1.1.2. Verträglichkeit über drei Monate

Die Signifikanz des IOP's der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate zwischen den rechten, operierten und den linken, nicht operierten Augen beträgt am ersten postoperativen Tag 0,054, am dritten Tag 0,0011 (\*\*), am siebten Tag 0,00055 (\*\*\*), nach einem Monat 0,588 und nach drei Monaten 0,455 (Abb. 28 a. und b.). In dieser Gruppe sind die postoperativ gemessenen IOP's der operierten Augen bis zum siebten postoperativen Tag signifikant niedriger als die der nichtoperierten linken Augen. Bei den Untersuchungen nach einem sowie nach drei Monaten konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den operierten und deren nicht operierten Partneraugen festgestellt werden.



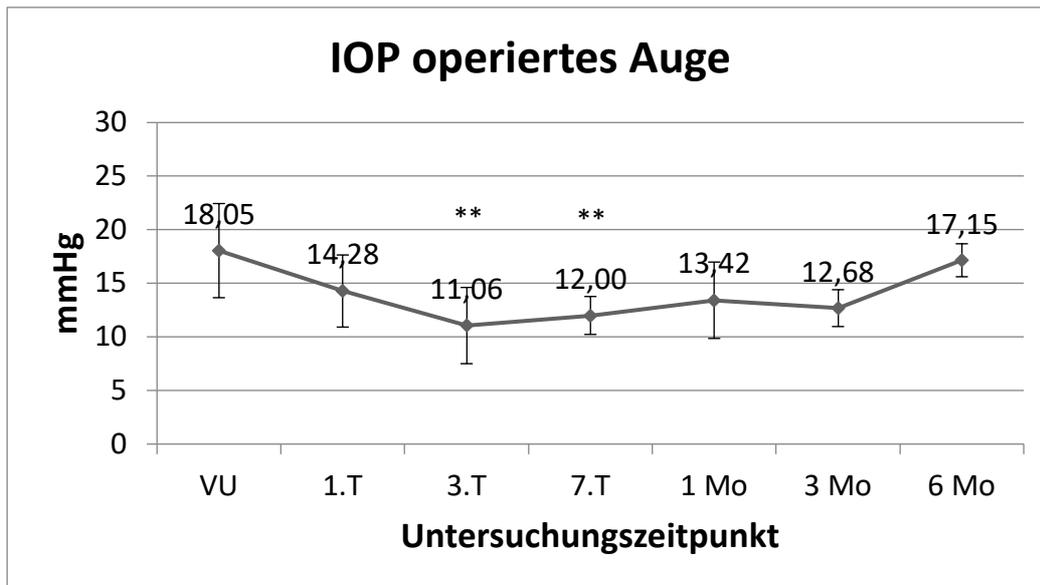
**Abb. 28 a.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate (n=6), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,054$  am ersten,  $p=0,011$  am dritten (\*\*),  $p=0,00055$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag,  $p=0,5883$  nach einem Monat und  $p=0,455$  nach drei Monaten (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )



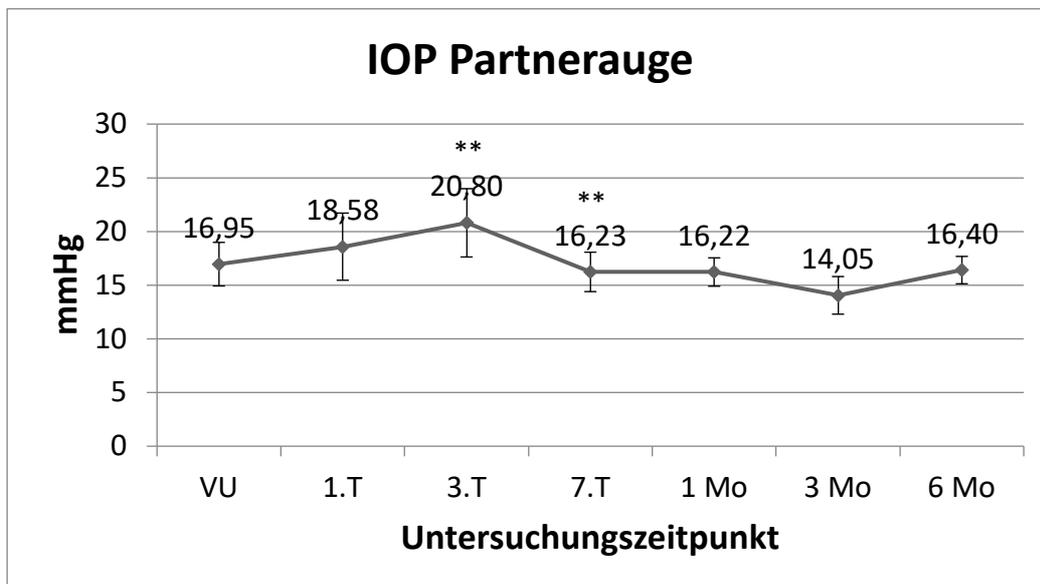
**Abb. 28 b):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate ( $n=6$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,054$  am ersten,  $p=0,011$  am dritten (\*\*),  $p=0,00055$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag,  $p=0,5883$  nach einem Monat und  $p=0,455$  nach drei Monaten (Signifikanzniveau  $*$ = $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )

### 1.1.3. Verträglichkeit über sechs Monate

Die Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate weist am ersten postoperativen Tag einen nicht signifikanten Unterschied beider Augengruppen, anschließend bis zum siebten Tag signifikant niedrigere IOP's der operierten und im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen auf. Zu den Untersuchungszeitpunkten nach einem, drei und sechs Monaten, konnte kein signifikanter Unterschied des intraokularen Druckverlaufes der operierten Augen und deren nicht operierten Partneraugen festgestellt werden. Mittels t-Test ließ sich am ersten postoperativen Tag ein p-Wert von 0,0628, am dritten  $p=0,0035$  (\*\*), am siebten Tag  $p=0,0040$  (\*\*), nach einem Monat  $p=0,179$ , nach drei Monaten 0,242 und nach sechs Monaten  $p=0,421$  errechnen (Abb. 29 a. und b.).



**Abb. 29 a.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate ( $n=6$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0628$  am ersten,  $p=0,0035$  am dritten (\*\*),  $p=0,0040$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag,  $p=0,179$  nach einem Monat,  $p=0,242$  nach drei Monaten und  $p=0,421$  nach sechs Monaten (Signifikanzniveau  $*$  =  $p<0,05$ ,  $**$  =  $p<0,01$ ,  $***$  =  $p<0,001$ )



**Abb. 29 b.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate ( $n=6$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0628$  am ersten,  $p=0,0035$  am dritten (\*\*),  $p=0,0040$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag,  $p=0,179$  nach einem Monat,  $p=0,242$  nach drei Monaten und  $p=0,421$  nach sechs Monaten (Signifikanzniveau  $*$  =  $p<0,05$ ,  $**$  =  $p<0,01$ ,  $***$  =  $p<0,001$ )

## 1.2. Spaltlampenuntersuchung

Präoperativ wurde jedes einzelne Kaninchen genauestens mit einer Handspaltlampe untersucht. Hierbei wurde vom Glaskörperraum bis zur Hornhaut jede Schicht

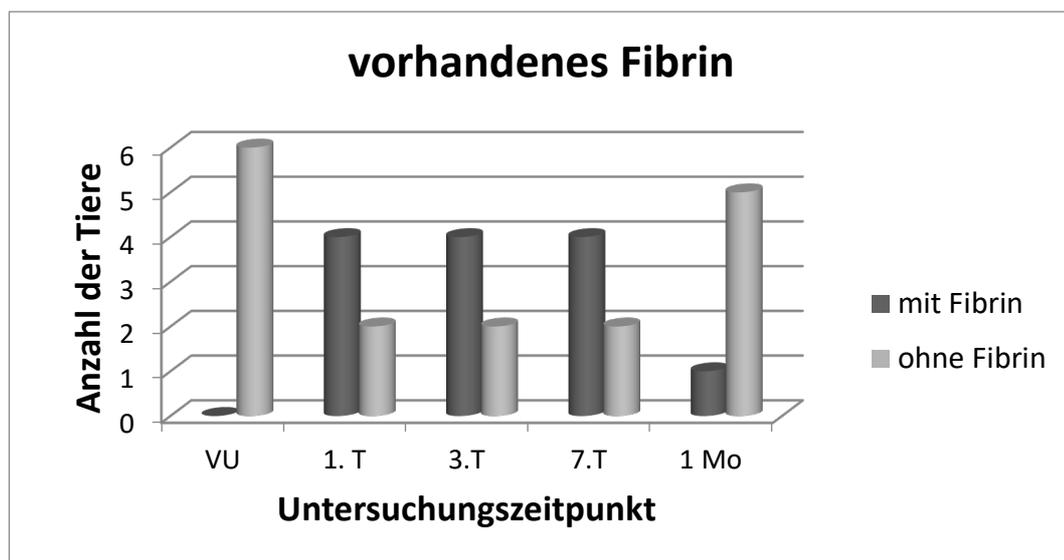
untersucht und speziell auf pathologische Veränderungen wie Entzündungsanzeichen, Fibrinflocken oder kleine Blutgerinnsel sowie Anzeichen einer beginnenden Katarakt geachtet. Jede Auffälligkeit wurde zu jedem Zeitpunkt notiert und in Diagrammen (Abb. 30 bis Abb. 32) dargestellt.

### 1.2.1. Vorhandenes Fibrin

Am ersten Tag postoperativ konnte bei dreizehn der achtzehn Kaninchen der Verträglichkeitsstudie in den operierten Augen mehr oder weniger Fibrin in der vorderen Augenkammer sowie teilweise sogar im vorderen Glaskörperraum festgestellt werden. Ab dem siebten Tag post operationem reduzierte sich dieser Anteil bereits auf elf der achtzehn untersuchten Tiere. Nach einem Monat konnte nur noch bei einem Drittel (6 / 18) der Kaninchen in geringerem Maß Fibrin in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum nachgewiesen werden. Bei den Nachuntersuchungen nach drei und sechs Monaten konnte bei keinem der untersuchten Kaninchen Fibrin gefunden werden.

#### 1.2.1.1. Verträglichkeit über einen Monat

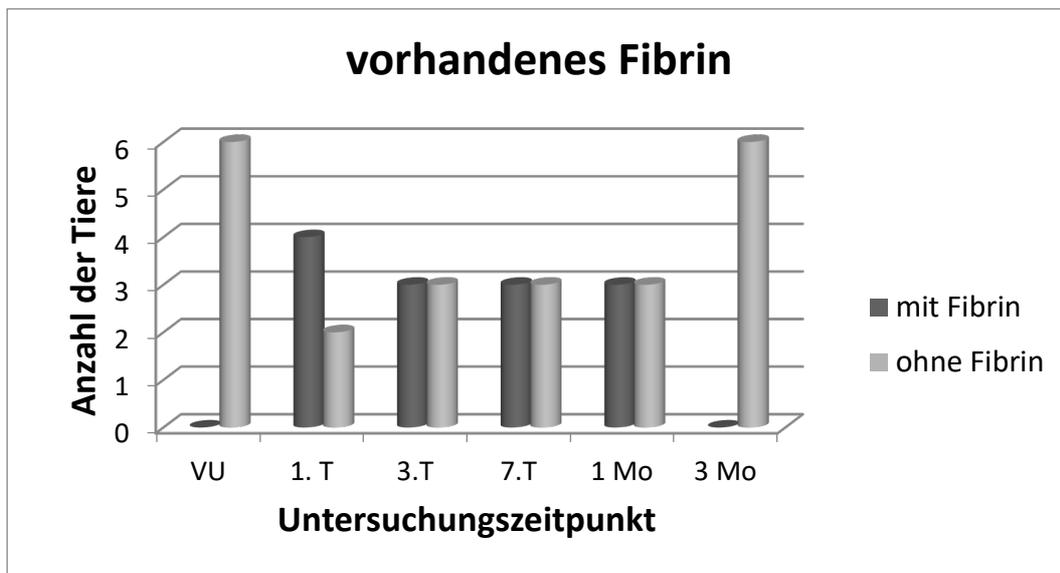
In der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat wurden bei vier der sechs Kaninchen bis sieben Tage postoperativ Fibrinflocken in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum festgestellt. Nach einem Monat konnten nur noch bei einem der sechs untersuchten Kaninchen Fibrinflocken im Glaskörperraum notiert werden (Abb. 30).



*Abb. 30: Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat; postoperativ konnte vom ersten bis zum siebten Tag bei vier der sechs, nach einem Monat nur bei einem Tier der untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum festgestellt werden*

### 1.2.1.2. Verträglichkeit über drei Monate

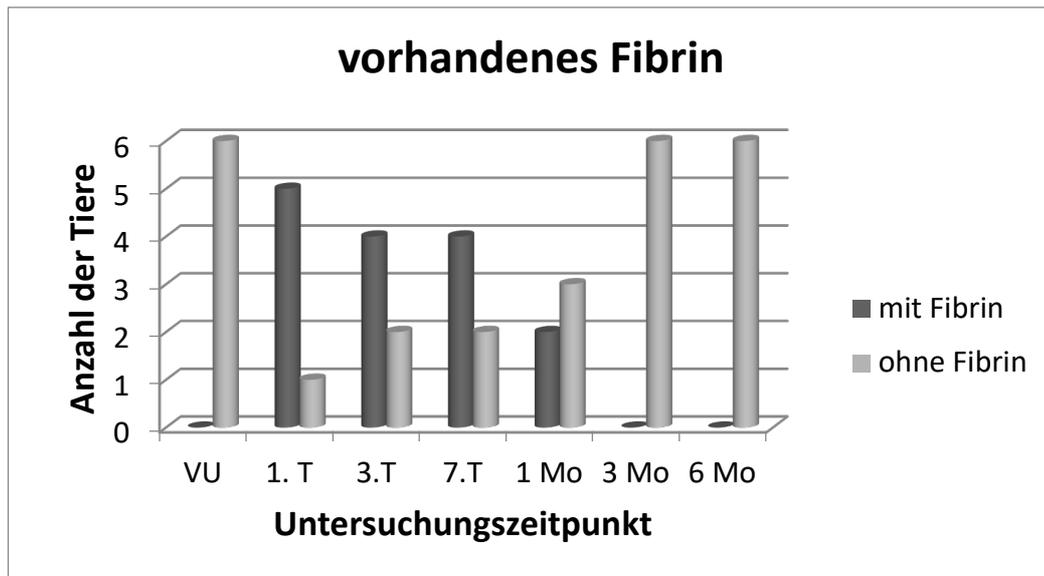
In der Gruppe der Verträglichkeit über drei Monate wurde am ersten Tag post operationem bei vier der sechs Kaninchen Fibrin in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum festgestellt. Ab dem dritten Tag konnten bis zur Untersuchung nach einem Monat, bei drei der sechs Kaninchen vereinzelte Fibrinflocken in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum festgestellt werden. Bei der Abschlussuntersuchung nach drei Monaten konnte bei keinem der untersuchten Kaninchen Fibrin vorgefunden werden (Abb. 31).



*Abb. 31:* Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate; postoperativ konnte am ersten Tag bei vier der sechs, vom dritten Tag bis zu einem Monat konnte bei drei der sechs und nach drei Monaten konnte bei keinem der untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum nachgewiesen werden

### 1.2.1.3. Verträglichkeit über sechs Monate

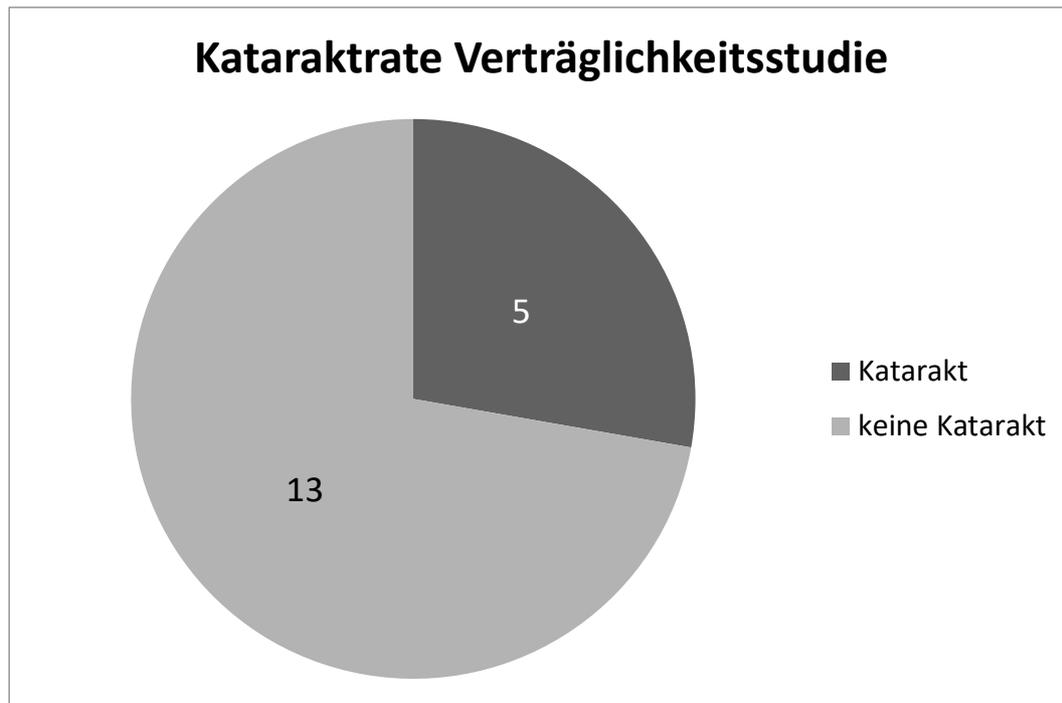
Bei den sechs Kaninchen der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate konnte einen Tag post operationem bei fünf Kaninchen Fibrin im Glaskörperraum dargestellt werden. Am dritten bis zum siebten Tag konnte bei vier der sechs Kaninchen und nach einem Monat nur noch bei zwei der sechs Kaninchen wenige Fibrinflocken nachgewiesen werden. Ab dem dritten Monat post operationem konnte mit der Spaltlampe bei keinem der sechs Kaninchen Fibrin in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum aufgefunden werden (Abb. 32).



*Abb. 32: Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate; postoperativ konnte am ersten Tag bei fünf der sechs, vom dritten bis zum siebten Tag bei vier der sechs und bis zu einem Monat post operationem bei zwei der sechs, ab dem dritten Monat konnte bei keinem der untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum nachgewiesen werden*

### 1.2.2. Kataraktrate

Durch leichtes Berühren der hinteren Linsenkapsel mit dem Operationsbesteck wurde bei zwei der sechs operierten Kaninchen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat intraoperativ eine Kataraktentwicklung verursacht. Die Trübung begann zuerst an der hinteren Linsenkapsel und weitete sich nach und nach auf die gesamte Linse aus. In der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate wurden auf diese Weise bei drei der sechs untersuchten Kaninchen Katarakte verursacht. In der Gruppe über sechs Monate, konnte bei keinem Kaninchen eine Katarakt nachgewiesen werden. Auf diese Weise wurden bei fünf der achtzehn operierten Tiere eine Katarakt in unterschiedlich starkem Ausmaß verursacht (Abb. 33). Allesamt wurden sie iatrogen durch intraoperatives Touchieren der Linse mit dem Operationsbesteck verursacht.



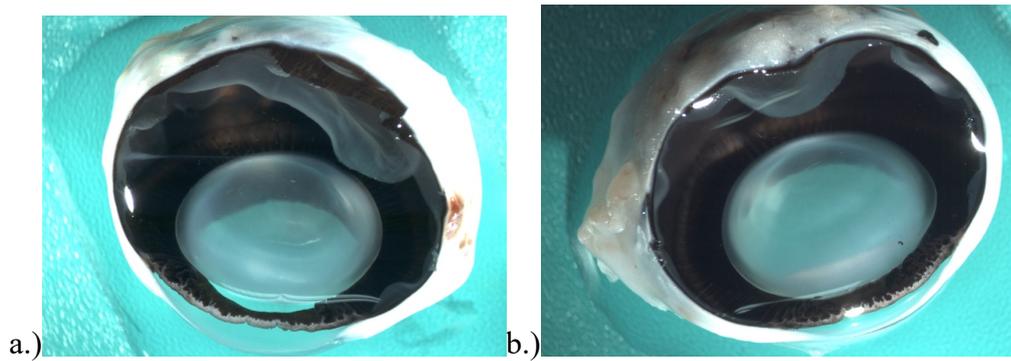
*Abb. 33: Diagramm Kataraktrate der Verträglichkeitsstudie, fünf der achtzehn untersuchten Tiere entwickelten postoperativ eine Katarakt, allesamt iatrogen durch intraoperative Linsenberührungen bedingt*

### **1.3. Makroskopische Beurteilung der entnommenen Augen**

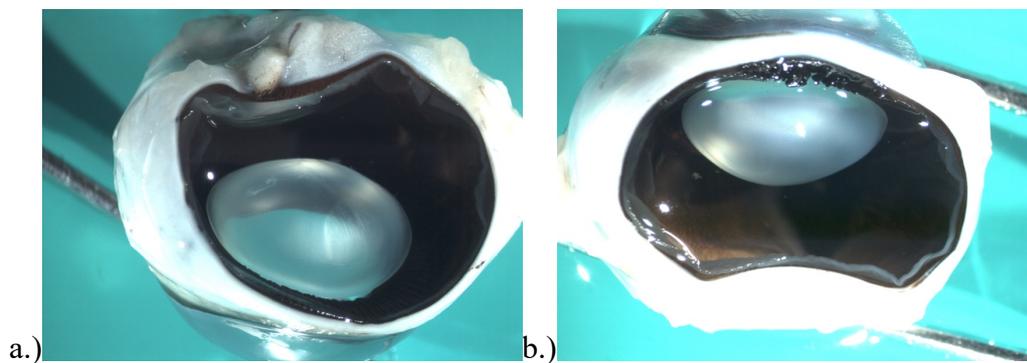
#### **1.3.1. Rate an postoperativen Netzhautablösungen**

Nach Euthanasie und Bulbusentnahme wurden die Augen nach fünftägiger Fixation in 4,5% Formaldehyd mit einer scharfen Klinge aufgeschnitten und makroskopisch beurteilt. Hierbei konnte eine Netzhautablösung bei der Hälfte der Kaninchen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat festgestellt werden. Aufgrund des bereits früh zu erkennenden schlechten Verlaufes wurden zwei Kaninchen in die Gruppe mit dem kürzesten Nachuntersuchungsintervall von einem Monat genommen, um längere Untersuchungen trotz vermuteter Netzhautablösung zu verhindern. In der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate konnte bei lediglich einem und bei der Sechsmonatsgruppe bei keinem der jeweils sechs untersuchten Kaninchen je Untersuchungsgruppe eine Netzhautablösung diagnostiziert werden. Somit konnte insgesamt bei vier der achtzehn operierten Tiere der Verträglichkeitsstudie eine Netzhautablösung festgestellt werden (Abb. 34).





**Abb. 36:** Makroskopische Beispielbilder der Verträglichkeitsstudie über drei Monate, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge, beide mit anliegender, intakter Netzhaut, ohne Fibrinflocken im Glaskörperraum und klarer, physiologischer Linse

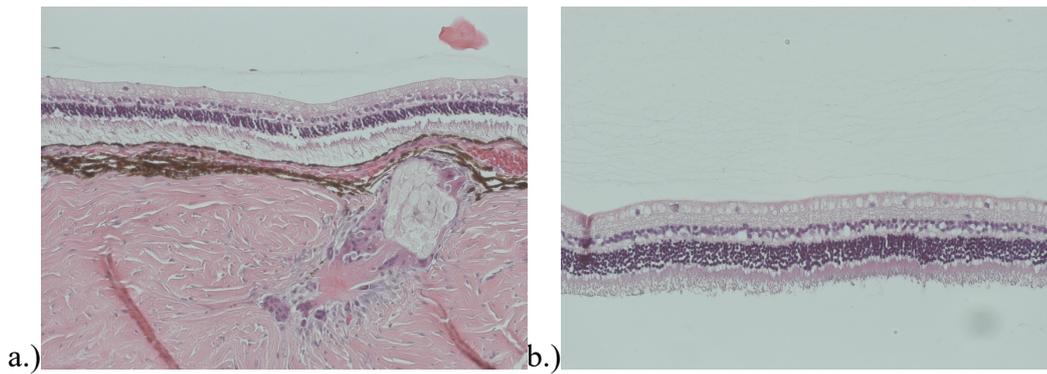


**Abb. 37:** Makroskopische Beispielbilder der Verträglichkeitsstudie über sechs Monate, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge, beide mit anliegender, intakter Netzhaut, ohne Fibrinflocken im Glaskörperraum und klarer, physiologischer Linse

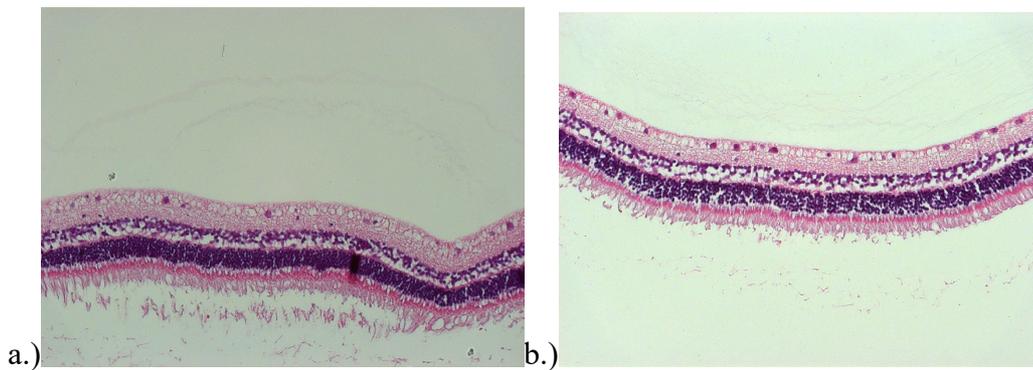
## 1.4. Histologie

### 1.4.1. HE-Färbung

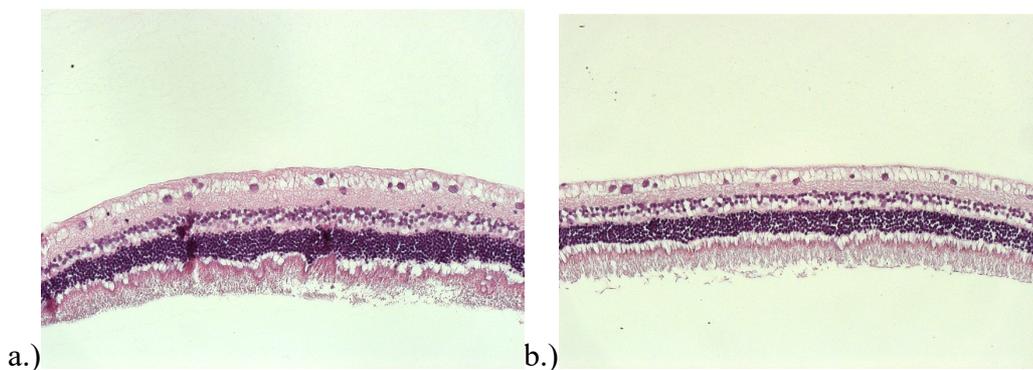
Die HE-Färbung diente dazu die Netzhautstruktur auf ihren physiologischen Aufbau oder Abnormitäten der Struktur untersuchen zu können. Die angefärbte Netzhaut wurde auf jeweils zwei Schnitten pro Objektträger eines jeden Auges bei 200x Vergrößerung beurteilt. Dabei konnte in der Verträglichkeitsgruppe bei lediglich einem Tier der Dreimonatsgruppe hochgradige Veränderungen der Zellverbände und einen Strukturverlust des Netzhautaufbaus festgestellt werden. Diese Strukturveränderungen können mit dem Vorliegen einer vollständigen Netzhautablösung und den damit verbundenen strukturellen sowie entzündlichen Reaktionen erklärt werden. Bei den restlichen siebzehn Kaninchen der Verträglichkeitsgruppe konnten keine Auffälligkeiten der Netzhautstruktur festgestellt werden (Abb. 38 – Abb. 40).



**Abb. 38:** Beispielbilder HE-Färbung, 200x, Verträglichkeit über einen Monat, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; Netzhäute beider Augen obB, intakte, physiologische Netzhaut



**Abb. 39:** Beispielbilder HE-Färbung, 200x, Verträglichkeit über drei Monate, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; Netzhäute beider Augen obB, intakte, physiologische Netzhaut



**Abb. 40:** Beispielbilder HE-Färbung, 200x, Verträglichkeit über sechs Monate, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; Netzhäute beider Augen obB, intakte, physiologische Netzhaut

#### 1.4.2. GFAP-Färbung

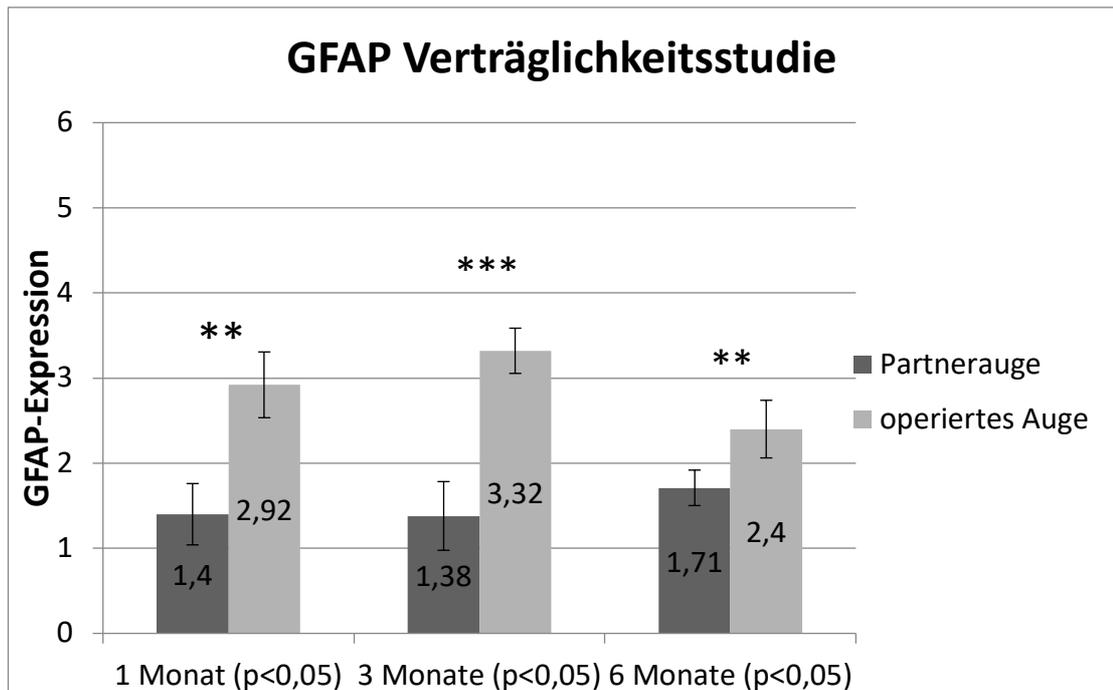
Wie in Abb. 41 in einem Übersichtsdiagramm dargestellt, lässt sich in jeder der drei Gruppen der Verträglichkeitsstudie ein deutlicher Unterschied der GFAP-(glial fibrillary acidic protein)-Expression zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen feststellen. Hinzuzufügen ist, dass diese Färbung nur mit den operierten Augen und deren Partneraugen durchgeführt wurde, bei denen keine totale Netzhautablösung stattgefunden hatte. Zur Qualitätskontrolle diente die

Negativkontrollfärbung (Abb. 42). Somit wurden bei der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat drei von sechs, bei der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate fünf von sechs und bei der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate sechs von sechs Augenpaare angefärbt und ausgewertet.

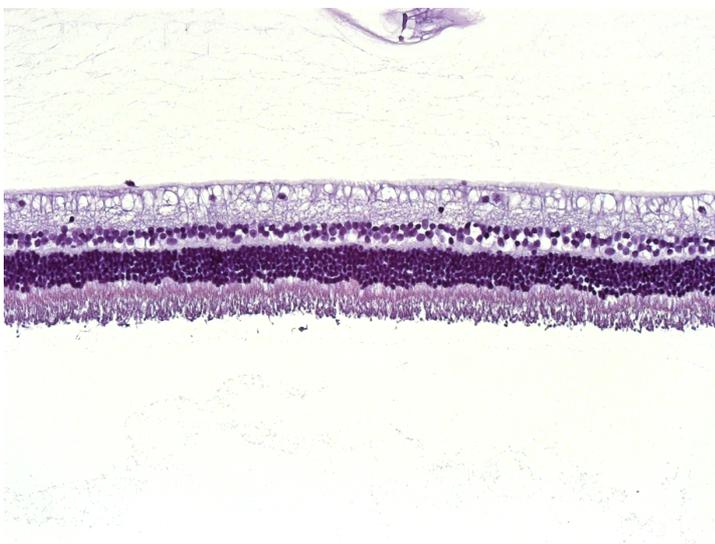
In der Verträglichkeitsstudie über einen Monat (Abb. 43) besteht zwischen den operierten Augen, mit einer durchschnittlichen Bewertung von 2,92 und einer Standardabweichung von 0,39 und den nicht operierten Partneraugen, mit einer durchschnittlichen Bewertung von 1,4 und einer Standardabweichung von 0,36 ein \*\* signifikanter Unterschied ( $p=0,0025$ ).

Mit einem  $p=0,00001$  der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate (Abb. 44), konnte ein \*\*\* signifikanter Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Augen dieser Gruppe festgestellt werden. Die durchschnittliche Bewertung der operierten Augen dieser Gruppe lag bei 3,32 mit einer Standardabweichung von 0,27 und die durchschnittliche Bewertung der nicht operierten Partneraugen lag mit einer Standardabweichung von 0,40 bei 1,38 (Abb. 41).

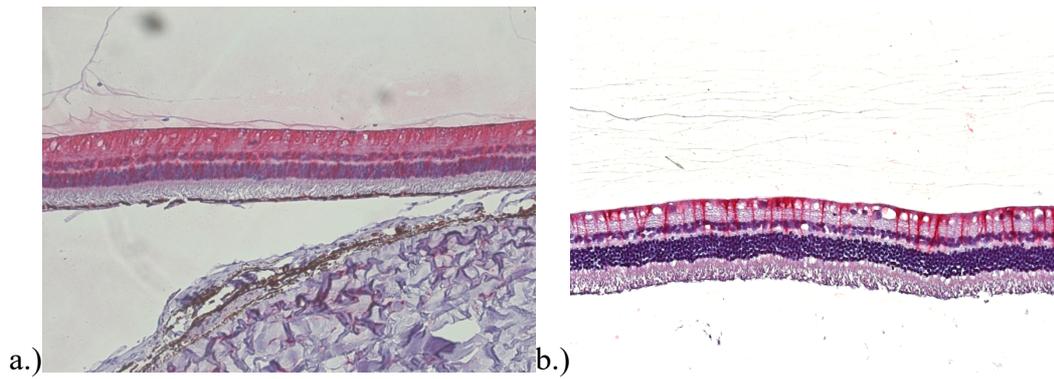
Es fällt auf, dass der Unterschied zwischen den Bewertungen der operierten Augen mit einem durchschnittlichen Wert von 2,4 und einer Standardabweichung von 0,34 und den nicht operierten Partneraugen, mit einem durchschnittlichen Wert von 1,71 und einer Standardabweichung von 0,21, in der Versuchsgruppe über sechs Monate deutlich geringer ist als der der anderen beiden Gruppen der Verträglichkeitsstudie. Allerdings ließ sich mit  $p=0,0029$  trotzdem ein \* signifikanter Unterschied zwischen beiden Augengruppen der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate feststellen (Abb. 45).



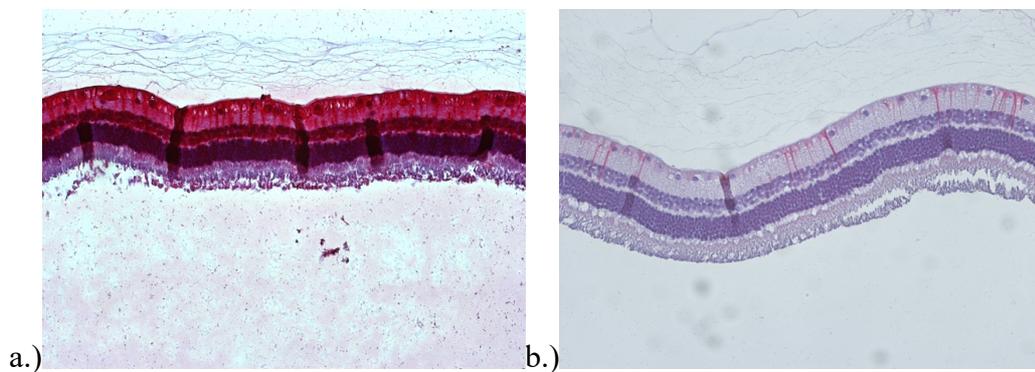
**Abb. 41:** Diagramm GFAP-(glial fibrillary acidic protein)--Färbung Verträglichkeitsstudie; Durchschnitt der Bewertungen der operierten Augen im Vergleich zu den jeweiligen nicht operierten Partneraugen je Verträglichkeitsgruppe; 1 Monat n=3; 3 Monate n=5 und 6 Monate n=6; (jeweils mit Standardabweichung), 1 Monat mit \*\* signifikant stärkerer, 3 Monate mit \*\*\* signifikant stärkerer und 6 Monate mit \*\* signifikant stärkerer GFAP-Expression des operierten Auges im Vergleich zum Partnerauge (Signifikanzniveau \*=p< 0,05, \*\*=p< 0,01, \*\*\*=p< 0,001)



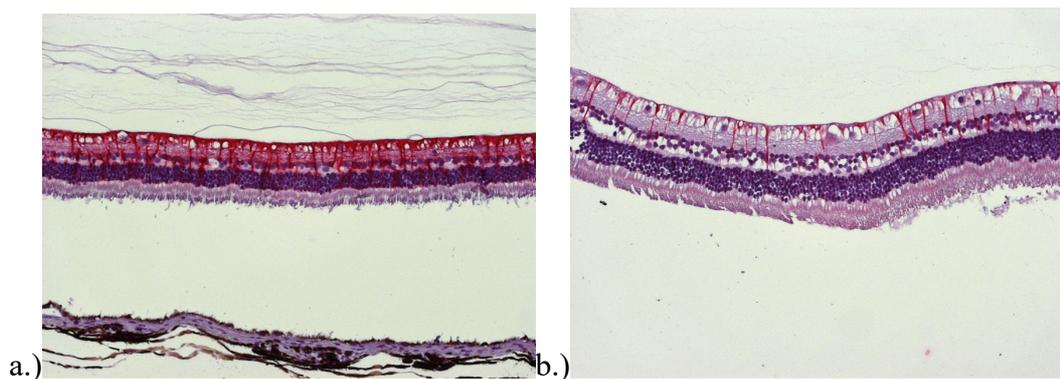
**Abb. 42:** Negativkontrolle GFAP-Färbung; ohne Färbung der retinalen Müller-Zellen.



**Abb. 43:** Beispielbilder GFAP-Färbung Verträglichkeit über einen Monat; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge deutlich mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind



**Abb. 44:** Beispielbilder GFAP-Färbung Verträglichkeit über drei Monate; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge sehr viel mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind

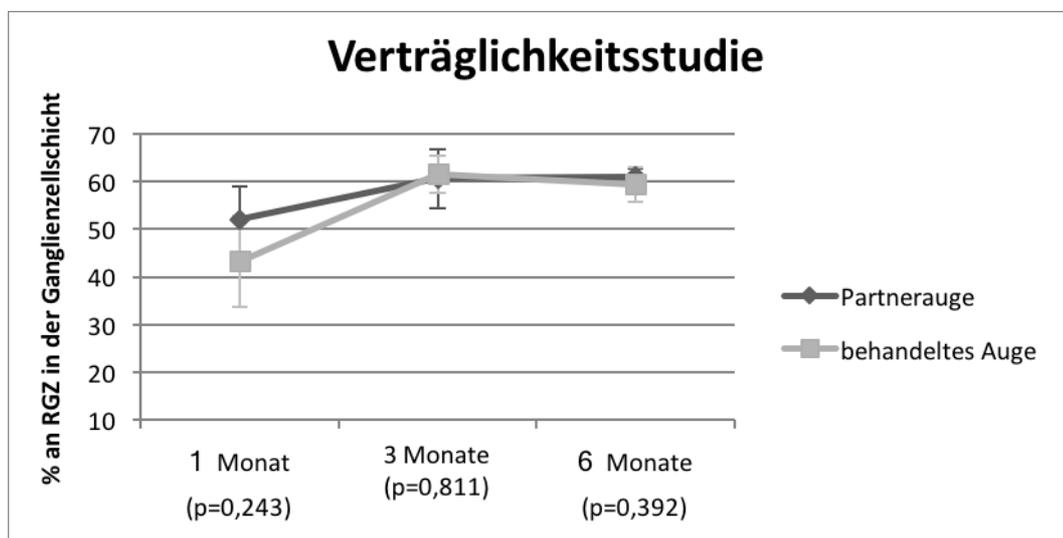


**Abb. 45:** Beispielbilder GFAP-Färbung Verträglichkeit über sechs Monate; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge deutlich mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind

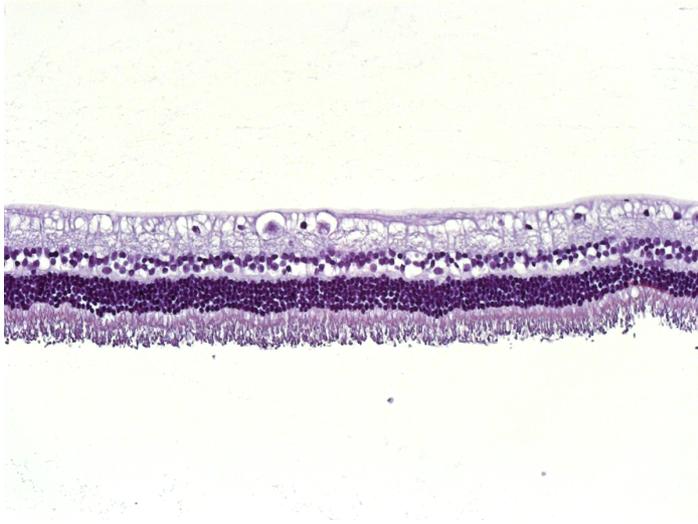
### 1.4.3. Brn3a-Färbung

Um die retinalen Ganglienzellen (RGZ) anzufärben und anschließend auszählen zu können, wurden alle Augen immunhistologisch mit einem anti-Brn3a-Antikörper angefärbt. Zur Qualitätskontrolle diente die Negativkontrollfärbung (Abb. 47).

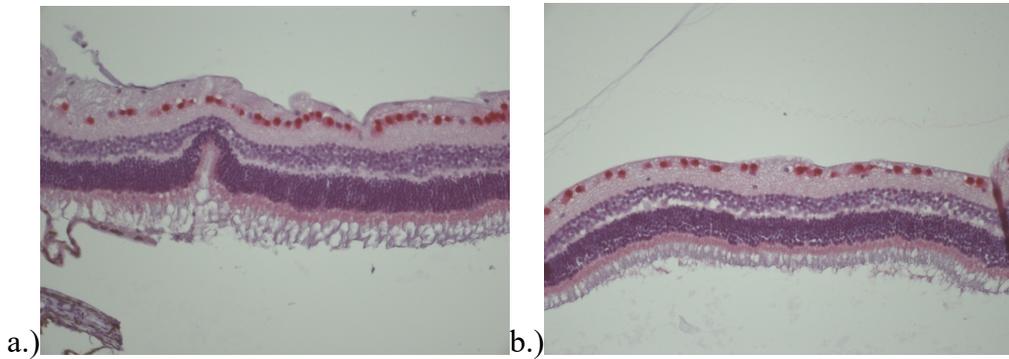
Daraufhin wurden je zehn Bilder pro Auge in einer zweihundertfachen Vergrößerung angefertigt und alle Ganglienzellen pro Bild ausgezählt und notiert. Hierbei konnte bei keiner der drei Verträglichkeitsgruppen ein signifikanter Unterschied zwischen der Ganglienzellanzahl der operierten und der nicht operierten Partneraugen festgestellt werden. Der p-Wert betrug für die Verträglichkeitsgruppe über einen Monat (Abb. 48 a. und b.)  $p=0,243$ , für die Verträglichkeitsgruppe über drei Monate (Abb. 49 a. und b.)  $p=0,811$  und für die Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate (Abb. 50 a. und b.)  $p=0,392$ . Der durchschnittliche prozentuale Anteil an RGZ in der Ganglienzellschicht der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat lag bei 43,27% mit einer Standardabweichung von 9,61 und der der nicht operierten Partneraugen bei 52,09% mit einer Standardabweichung von 6,84. Bei den operierten Augen der Verträglichkeitsstudie über drei Monate betrug er 61,51% mit einer Standardabweichung von 3,82 und der der nicht operierten Partneraugen dieser Gruppe 60,65% mit einer Standardabweichung von 6,14. Der durchschnittliche prozentuale Anteil der RGZ in der Ganglienzellschicht der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate lag bei den operierten Augen bei 59,43% mit einer Standardabweichung von 3,62 und der der nicht operierten Partneraugen bei 61,02% mit einer Standardabweichung von 1,65 (Abb. 46).



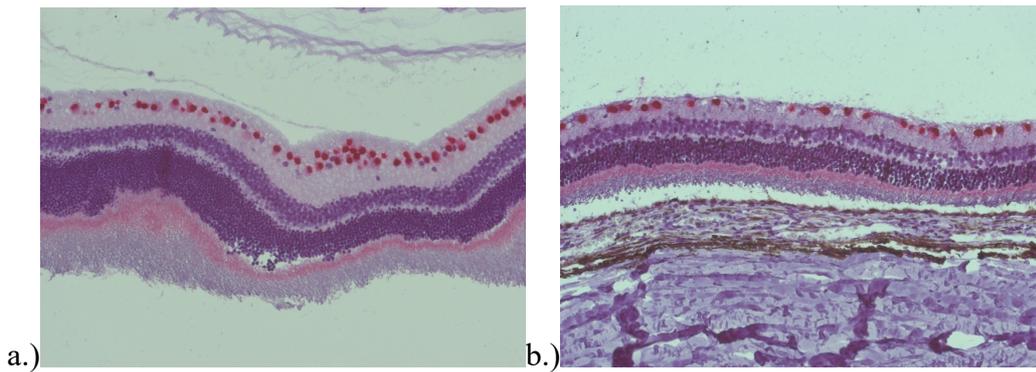
**Abb. 46:** Diagramm über den mit der Brn3a-Färbung ermittelten prozentualen Anteil an retinalen Ganglienzellen (RGZ) in der Ganglienzellschicht der operierten Augen und deren nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsstudie, 1 Monat  $n=3$ ; 3 Monate  $n=5$ ; 6 Monate  $n=6$ ; dargestellt sind Mittelwerte plus/minus deren Standardabweichung



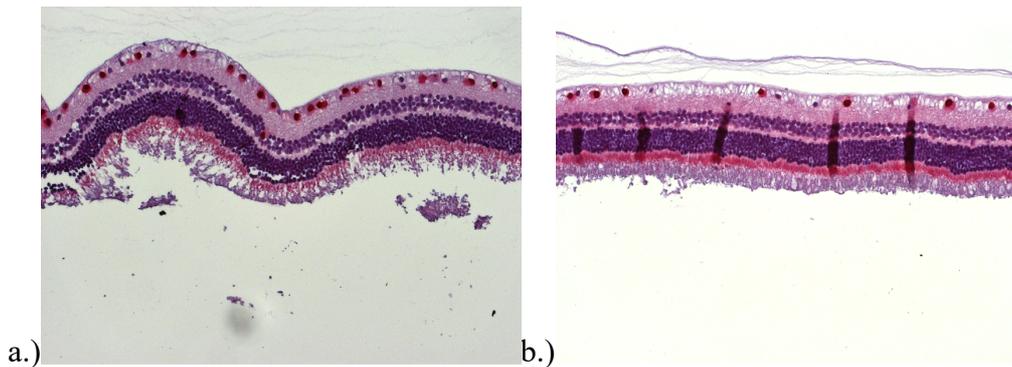
**Abb. 47:** Negativkontrolle der Brn3a-Färbung; ohne Färbung der RGZ



**Abb. 48:** Beispielbild der Brn3a-Färbung der Verträglichkeit über einen Monat; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; beide obB, ohne signifikanten Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge



**Abb. 49:** Beispielbild der Brn3a-Färbung der Verträglichkeit über drei Monate; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; beide obB, ohne signifikanten Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge

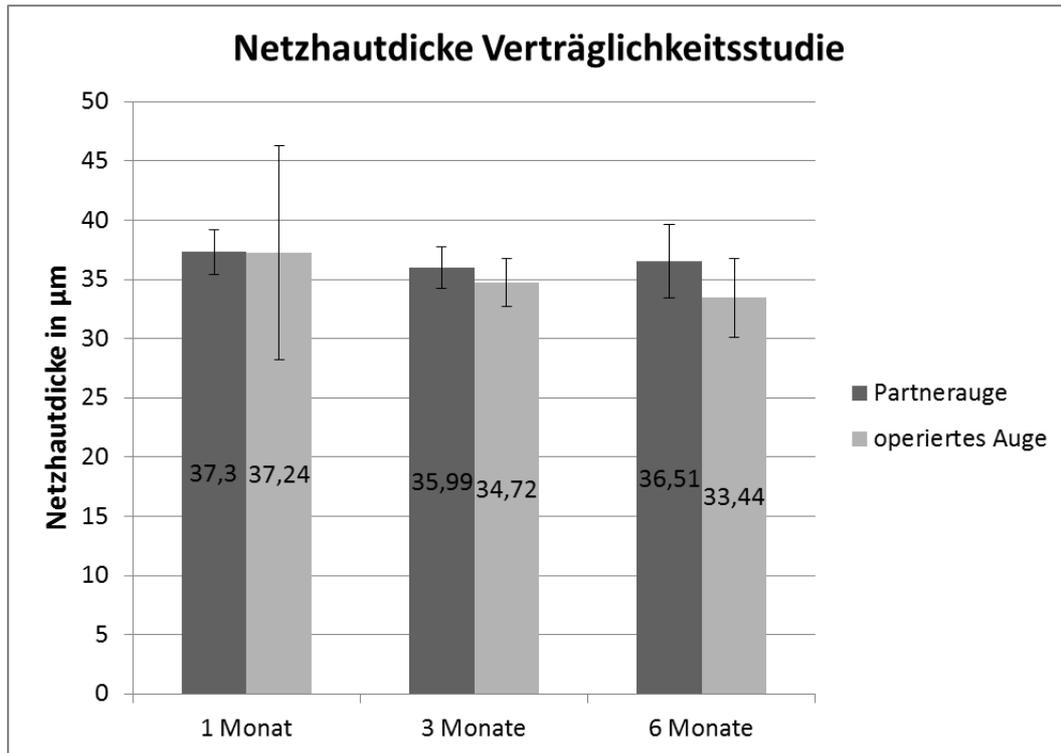


**Abb. 50:** Beispielbild der Brn3a-Färbung der Verträglichkeit über sechs Monate; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; beide obB, ohne signifikanten Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge

#### 1.4.4. Ausmessung der Netzhautdicke

Der Mittelwert der Netzhautdicke der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat lag bei 37,24  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 9,06 und der der nicht operierten Partneraugen lag bei 37,30  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 1,86. Der der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate lag bei 34,72  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 2,00 und der der nicht operierten Partneraugen bei 35,87  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 1,78. Bei der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate betrug der Mittelwert der operierten Augen 33,44  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 3,33 und der der nicht operierten Partneraugen 36,51  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 3,1 (Abb. 51).

Es konnte bei keiner der drei Gruppen der Verträglichkeitsstudie ein signifikanter Unterschied zwischen den linken nicht operierten und den rechten operierten Augen festgestellt werden. Der p-Wert der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat lag bei  $p=0,991$ , der der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate bei  $p=0,259$  und der der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate bei  $p=0,163$ .



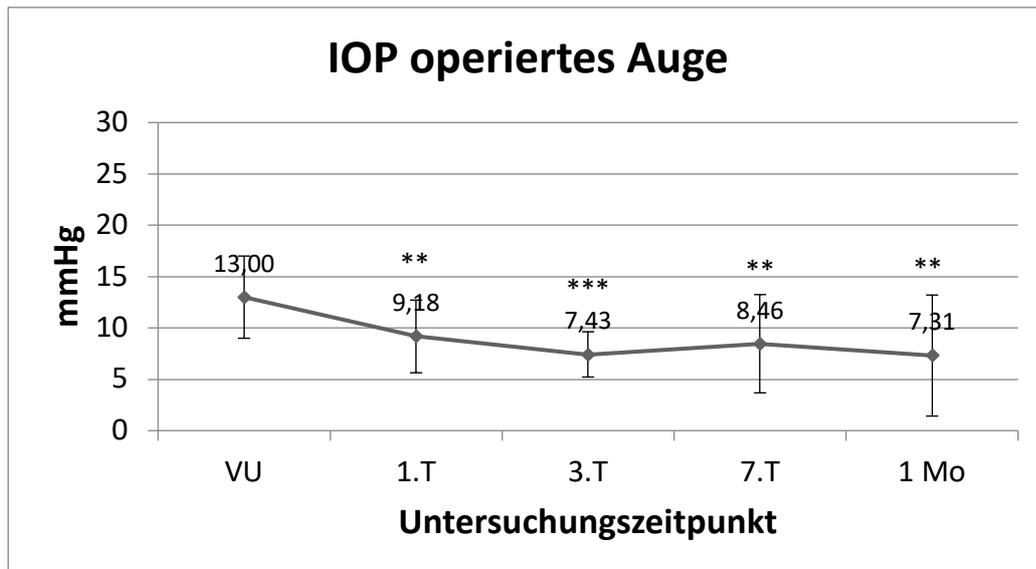
*Abb. 51: Diagramm zur Darstellung der Netzhautdicke der Verträglichkeitsstudie; durchschnittliche Netzhautdicke der operierten Augen im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen je Verträglichkeitsgruppe (jeweils mit der dazugehörigen Standardabweichung) 1 Monat n=3; 3 Monate n=5; 6 Monate n=6, ohne signifikanten Unterschied zwischen den operierten und den Partneraugen*

## 2. Ablatiomodell

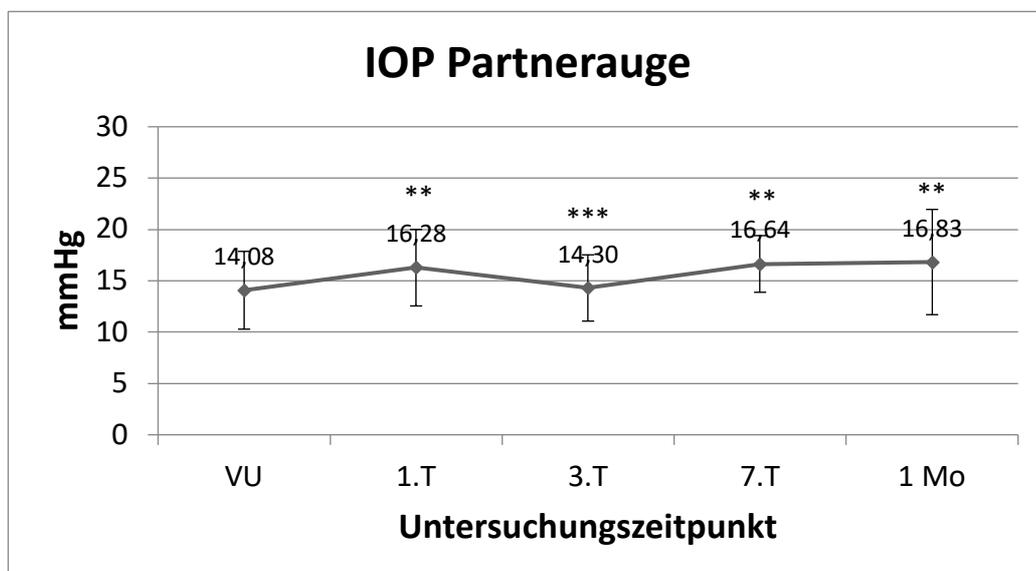
### 2.1. Intraokularer Druck

#### 2.1.1. Silikonöl

In dieser Gruppe des Ablatiomodells konnte zu jedem postoperativen Untersuchungszeitpunkt ein signifikanter Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen festgestellt werden. Hierbei lag bei allen operierten Augen ein signifikant niedrigerer IOP als der der nicht operierten Partneraugen vor. Am ersten postoperativen Tag ließ sich mittels t-Test ein p-Wert von  $p=0,0025$  (\*\*), am dritten Tag  $p=0,00037$  (\*\*\*), am siebten Tag  $p=0,0015$  (\*\*) und nach einem Monat  $p=0,006$  (\*\*) errechnen (Abb. 52 a. und b.).



**Abb. 52 a.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Silikonölgruppe des Abaltiomodells ( $n=8$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0025$  (\*\*) am ersten,  $p=0,00037$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,0015$  (\*\*) am siebten postoperativen Tag und  $p=0,006$  (\*\*) nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$  =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )

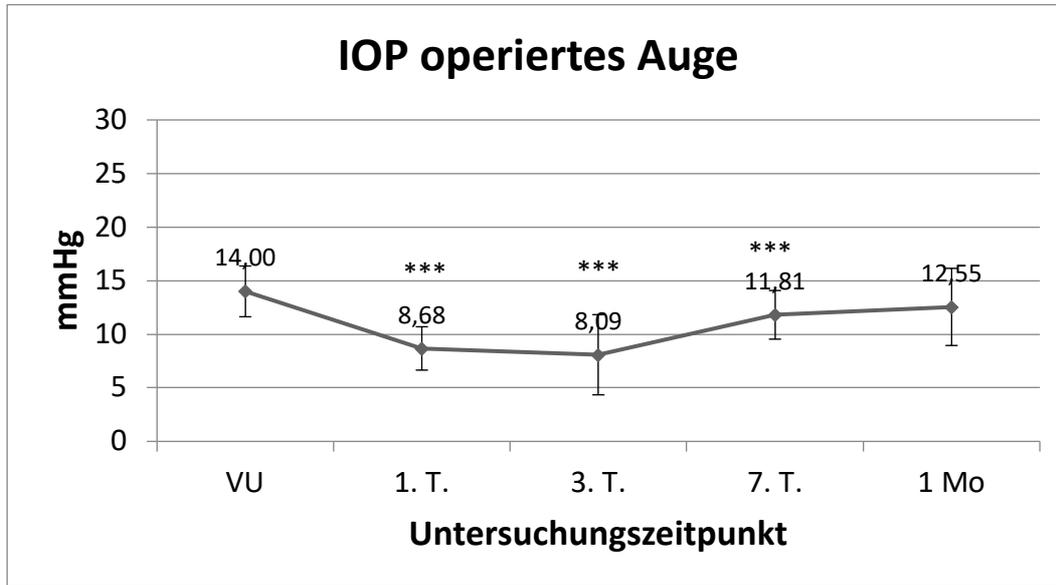


**Abb. 52 b.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Silikonölgruppe des Abaltiomodells ( $n=8$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0025$  (\*\*) am ersten,  $p=0,00037$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,0015$  (\*\*) am siebten postoperativen Tag und  $p=0,006$  (\*\*) nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$  =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )

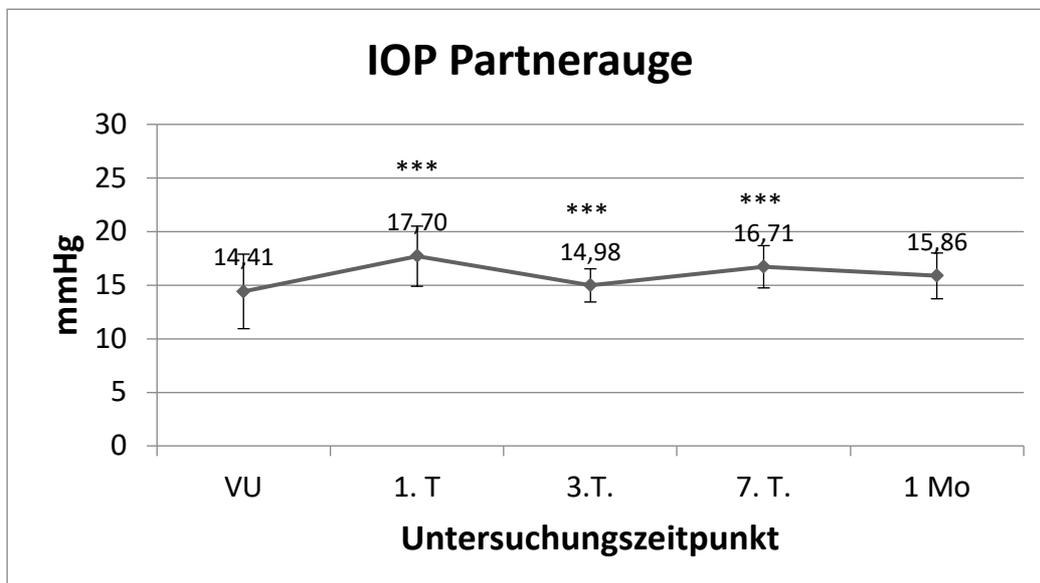
### 2.1.2. „ViBos-strong“

Mit einem postoperativen p-Wert  $p=0,000057$  (\*\*\*) am ersten Tag,  $p=0,0004$  (\*\*\*) am dritten Tag und  $p=0,0007$  (\*\*\*) am siebten Tag wurde ein signifikant niedrigerer IOP der operierten Augen im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen diagnostiziert.

Nach einem Monat konnte mit einem p-Wert von  $p=0,0548$  knapp kein signifikanter Unterschied errechnet werden (Abb. 53 a. und b.).



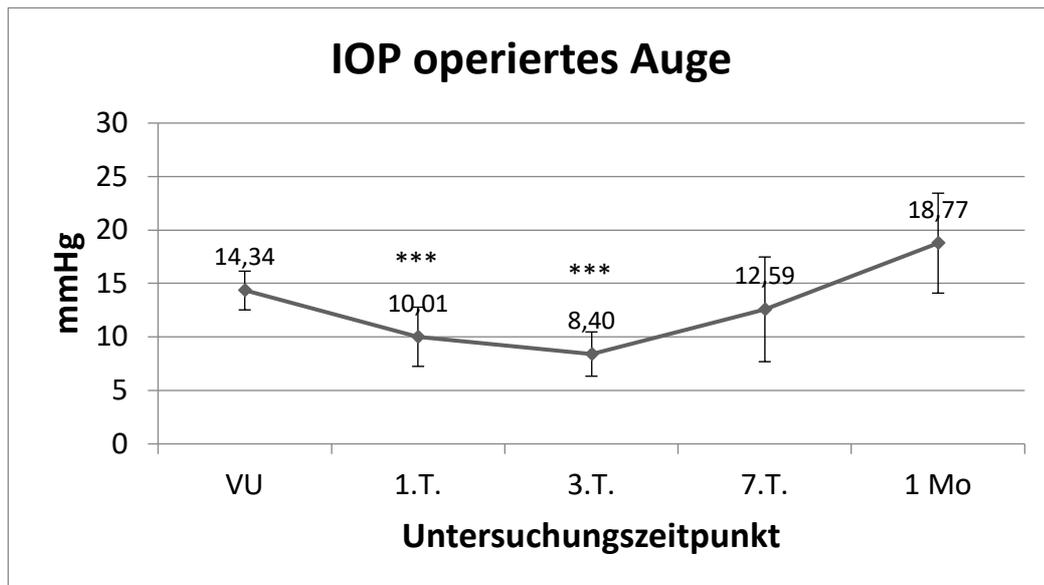
**Abb. 53 a.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der „ViBos-Strong“-Gruppe des Abaltiomodells ( $n=8$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,000057$  (\*\*\*) am ersten,  $p=0,0004$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,0007$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag und  $p=0,0548$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )



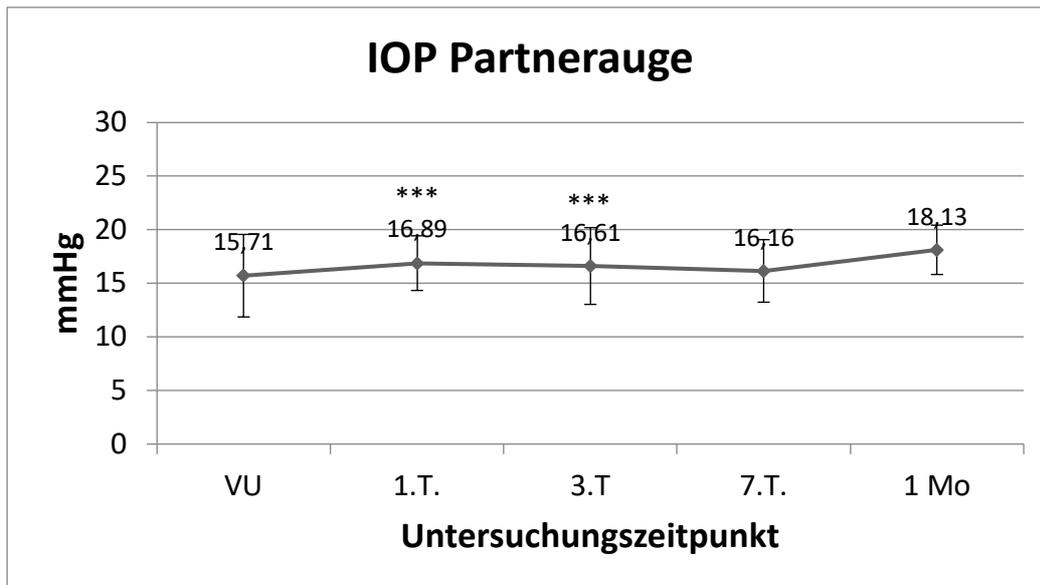
**Abb. 53 b.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der „ViBos-Strong“-Gruppe des Abaltiomodells ( $n=8$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,000057$  (\*\*\*) am ersten,  $p=0,0004$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,0007$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag und  $p=0,0548$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )

### 2.1.3. „ViBos-soft“

In der Ablatiomodell-Gruppe „ViBos-soft“ wurde mit einem p-Wert von  $p=0,7$  (\*\*\*) am ersten und  $p=0,00038$  (\*\*\*) am dritten postoperativen Untersuchungstag ein signifikant niedrigerer IOP der operierten Augen ermittelt. Mit einem p-Wert von  $p=0,151$  am siebten sowie  $p=0,767$  nach einem Monat konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Druckverläufen beider Augenpaare festgestellt werden (Abb. 54 a. und b.).



**Abb. 54 a.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells ( $n=7$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0007$  (\*\*\*) am ersten,  $p=0,00038$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,151$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,767$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*=p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )



**Abb. 54 b.):** Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells ( $n=7$ ), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0007$  (\*\*\*) am ersten,  $p=0,00038$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,151$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,767$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**$ = $p<0,01$ ,  $***$  $p<0,001$ )

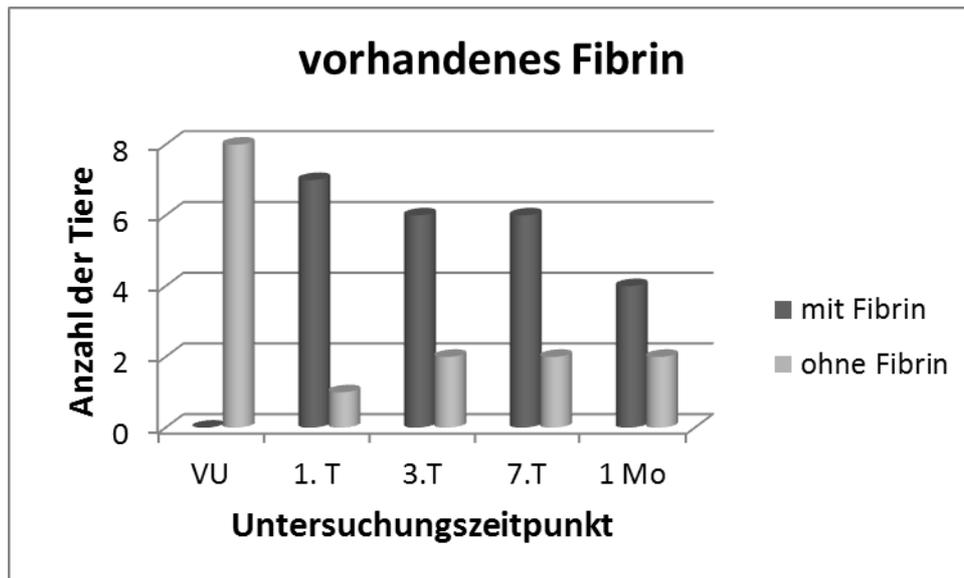
## 2.2. Spaltlampenuntersuchung

### 2.2.1. Vorhandenes Fibrin

Im Ablatiomodell konnte bei den insgesamt 23 untersuchten Kaninchen dieser Versuchsgruppe einen Tag postoperativ bei 22 Kaninchen Fibrin in der vorderen Augenkammer und teilweise im vorderen Glaskörperraum nachgewiesen werden. Am dritten Tag post operationem reduzierte sich der Anteil von 22 auf neunzehn und innerhalb von weiteren vier Tagen auf achtzehn der 23 untersuchten Tiere reduzieren. Bei den Abschlussuntersuchungen konnte noch bei sieben der 23 operierten Tiere Fibrin nachgewiesen werden.

#### 2.2.1.1. Silikonöl

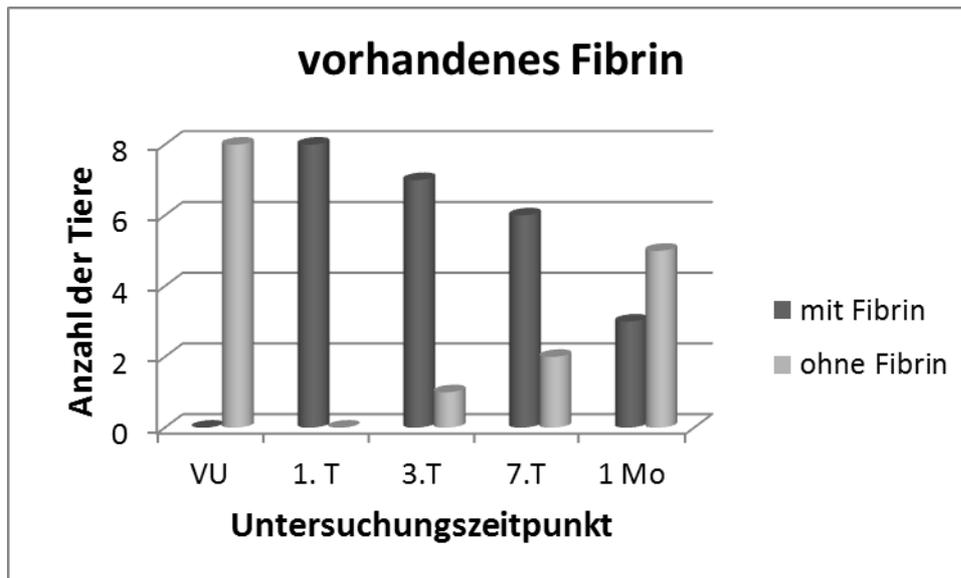
Einen Tag post operationem wurde bei sieben der acht Kaninchen Fibrin in der vorderen Augenkammer und dem vorderen Glaskörperraum festgestellt. Vom dritten bis zum siebten Tag konnte dies noch bei sechs der acht Kaninchen und bei der Abschlussuntersuchung nach einem Monat bei vier der acht Kaninchen dokumentiert werden (Abb. 55).



*Abb. 55: Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der mit Silikonöl behandelten Versuchsgruppe des Ablatiomodells (n=8), postoperativ konnte am ersten Tag bei sieben, am dritten und siebten Tag bei sechs und nach einem Monat bei vier der acht untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum nachgewiesen werden*

#### 2.2.1.2. „ViBos-strong“

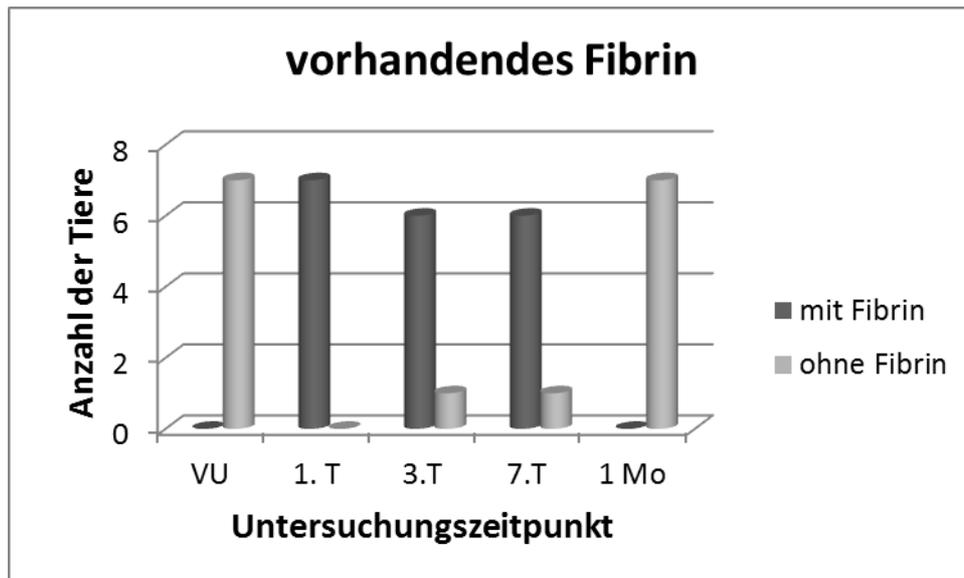
In der Versuchsgruppe, die „ViBos-strong“ als Glaskörpertamponade erhielten, konnte bei der Spaltlampenuntersuchung postoperativ am ersten Tag bei jedem der acht Kaninchen Fibrin festgestellt werden. Zwei weitere Tage später konnte dies noch bei sieben und am siebten Tag noch bei sechs der acht Kaninchen nachgewiesen werden. Bei der Abschlussuntersuchung nach einem Monat konnte noch bei drei der acht Kaninchen Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum diagnostiziert werden (Abb. 56).



*Abb. 56: Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der mit dem Hyaluronsäuregel „ViBos-strong“ behandelten Versuchsgruppe des Ablatiomodells (n=8), postoperativ konnte am ersten Tag bei acht, am dritten Tag bei sieben, am siebten Tag bei sechs und nach einem Monat bei drei der acht untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum nachgewiesen werden*

### 2.2.1.3. „ViBos-soft“

In dieser Versuchsgruppe konnte einen Tag postoperativ bei jedem der sieben Kaninchen Fibrin festgestellt werden. Ab dem dritten bis zum siebten Tag konnte nur noch bei sechs und nach einem Monat bei keinem der sieben untersuchten Kaninchen dieser Gruppe Fibrinreste diagnostiziert werden (Abb. 57).

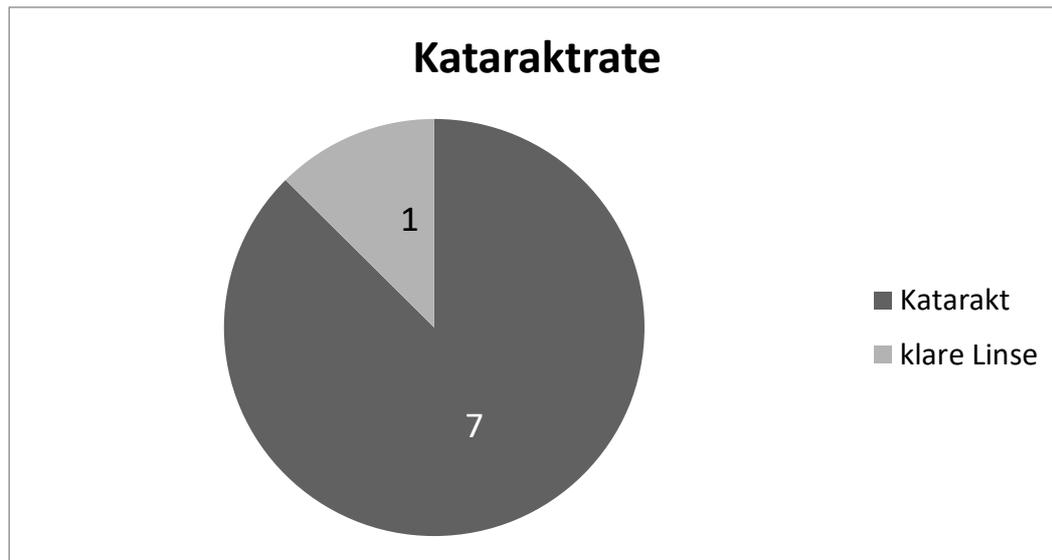


*Abb. 57: Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der mit dem Hyaluronsäuregel „ViBos-soft“ behandelten Versuchsgruppe des Ablatiomodells (n=7), postoperativ konnte am ersten Tag bei allen sieben, am dritten sowie am siebten Tag bei sechs und nach einem Monat bei keinem der sieben untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum festgestellt werden*

## 2.2.2. Kataraktrate

### 2.2.2.1. Silikonöl

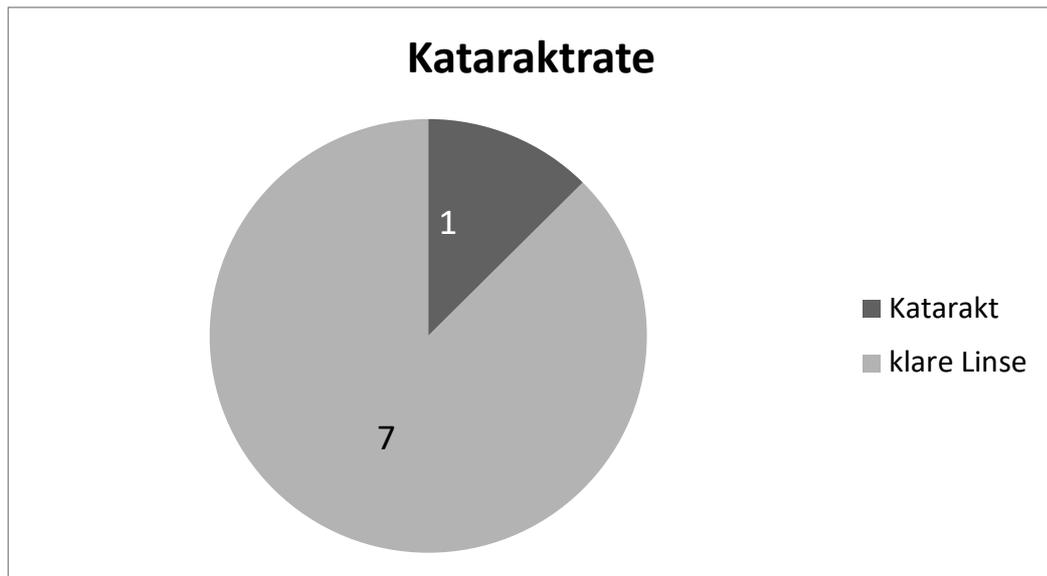
In der Silikonöl-Versuchsgruppe des Ablatiomodells konnte postoperativ bei sieben der acht operierten Kaninchen eine Katarakt nachgewiesen werden. Bei keinem der sieben Kaninchen konnte die Entwicklung der Katarakt auf iatrogene Ursachen zurückgeführt werden (Abb. 58).



*Abb. 58: Diagramm Kataraktrate der Versuchsgruppe des Silikonöls des Ablatiomodells (n=8), sieben der acht operierten Tiere entwickelten postoperativ eine Katarakt, alle sieben betroffenen Tiere sind nicht auf iatrogene Ursachen zurückzuführen*

### 2.2.2.2. „ViBos-strong“

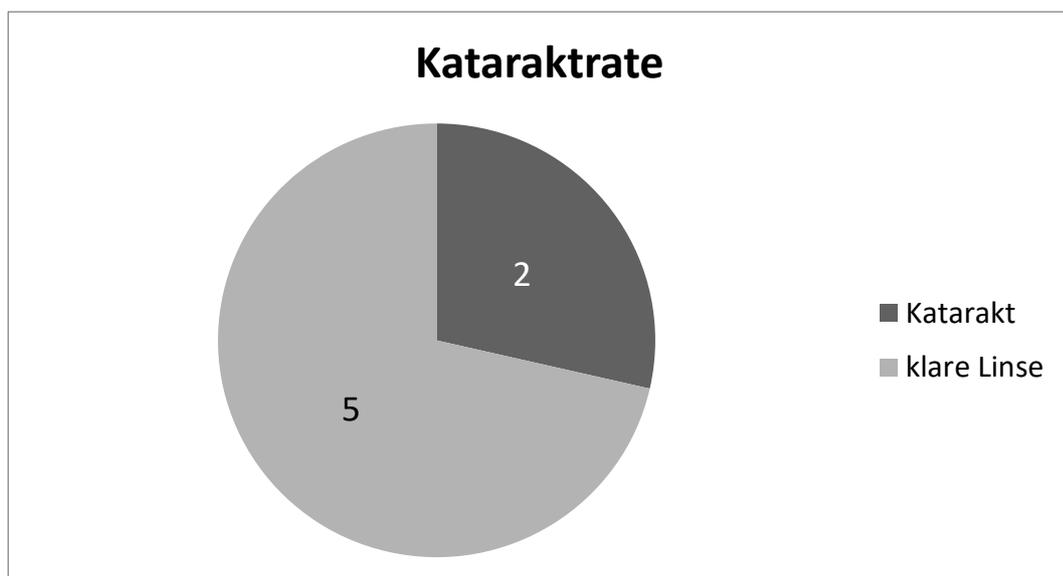
In dieser Versuchsgruppe konnte lediglich bei einem der acht Tiere eine Kataraktentwicklung beobachtet werden (Abb. 59). Diese wurde iatrogen durch intraoperatives Berühren der hinteren Linsenkapsel mit dem Operationsbesteck verursacht und ist damit nicht auf den hier verwendeten Glaskörperersatz des Hyaluronsäuregels „ViBos-strong“ zurückzuführen.



*Abb. 59:* Diagramm Kataraktrate der Versuchsgruppe „ViBos-strong“ des Ablatiomodells ( $n=8$ ), eines der acht operierten Tiere entwickelte postoperativ aufgrund eines intraoperativen Linsentouchs eine Katarakt

#### 2.2.2.3. „ViBos-soft“

Bei zwei der sieben Kaninchen der Versuchsgruppe „ViBos-soft“ des Ablatiomodells, konnte eine Kataraktentwicklung beobachtet werden (Abb. 60). Bei einem der beiden Tiere konnte dies aufgrund von intraoperativem touchieren der hinteren Linsenkapsel mit dem Operationsbesteck zurückgeführt werden.



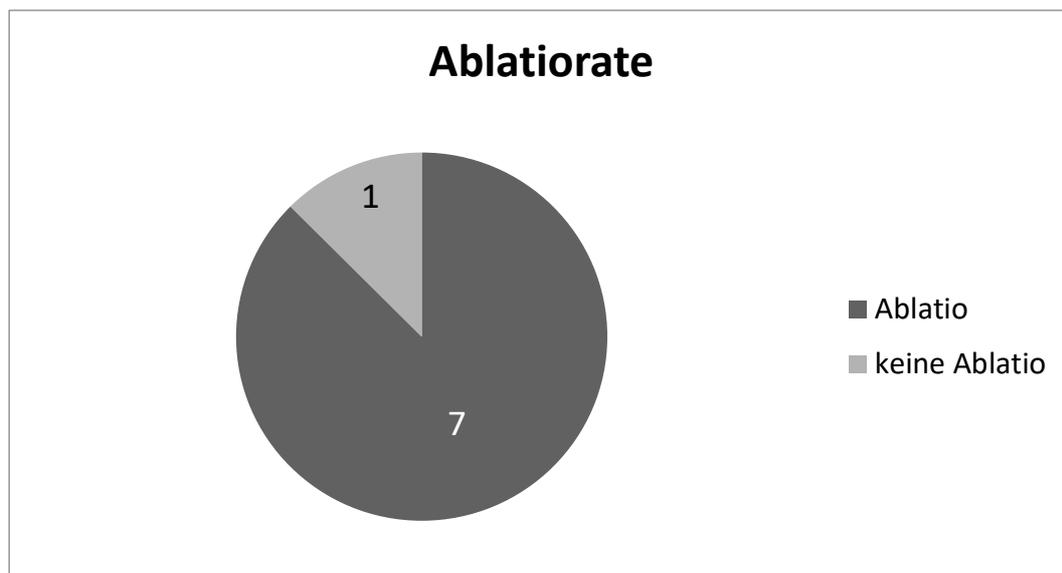
*Abb. 60:* Diagramm Kataraktrate der Versuchsgruppe „ViBos-soft“ des Ablatiomodells ( $n=7$ ), bei zwei der sieben Tiere konnte postoperativ eine Katarakt diagnostiziert werden, bei einem der beiden Tiere wurde diese iatrogen durch intraoperatives berühren der Linse mit dem Operationsbesteck verursacht

### 2.3. Makroskopische Beurteilung des Auges nach Entnahme

#### 2.3.1. Ablatorate

##### 2.3.1.1. Silikonöl

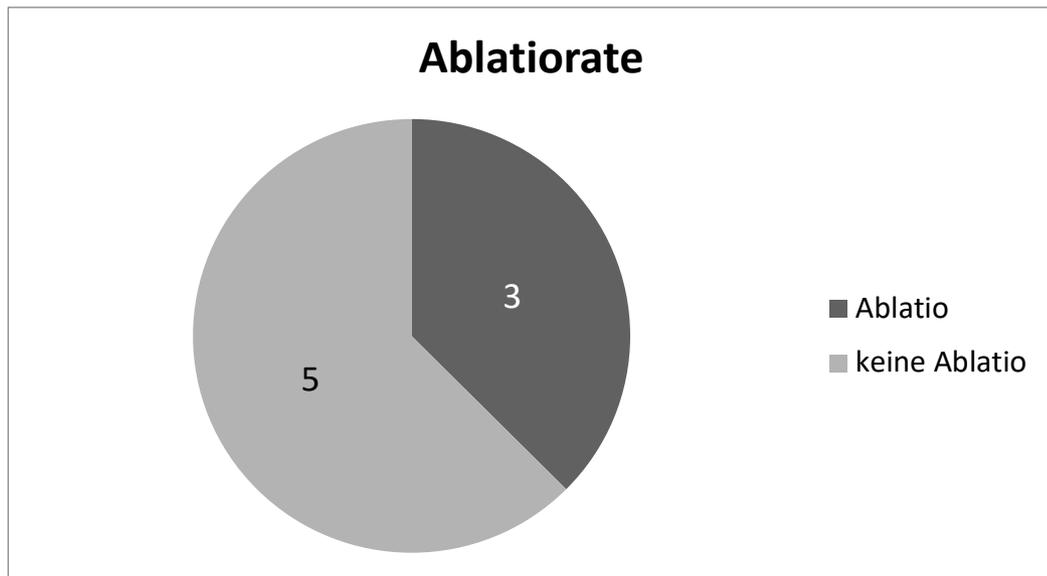
Postoperativ konnte bei sieben der acht untersuchten Kaninchen der Silikonölgruppe eine Netzhautablösung festgestellt werden (Abb. 61). Bei fünf der sieben Tiere mit Netzhautablösung fand eine komplette Ablösung statt, bei der die Netzhaut fast vollständig mit der Linse verklebte.



*Abb. 61: Diagramm Ablatorate der Silikonölgruppe des Ablatiomodells (n=8), bei sieben der acht operierten Kaninchen konnte postoperativ eine Netzhautablösung festgestellt werden*

##### 2.3.1.2. „ViBos-strong“

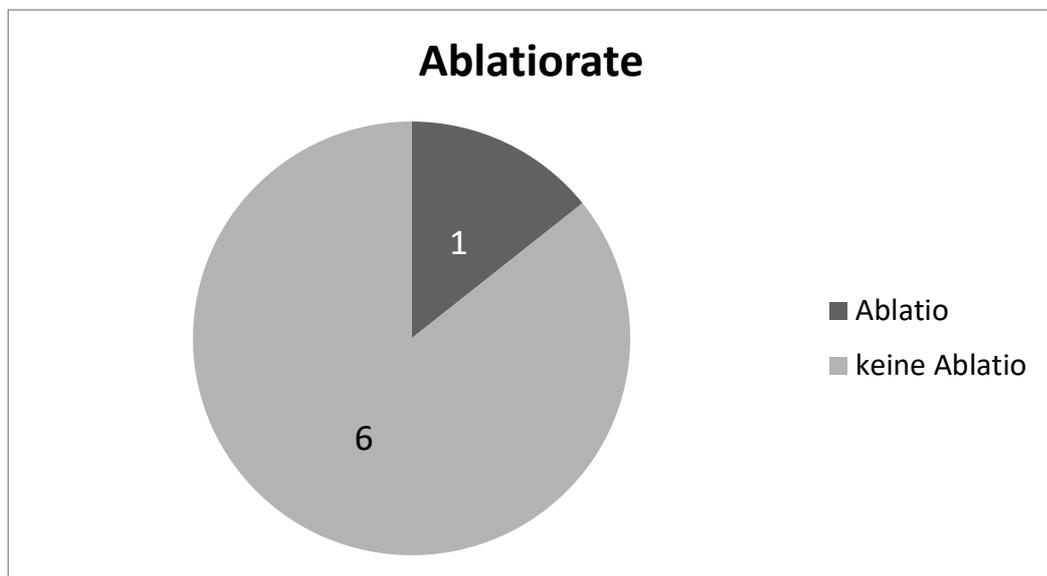
Bei der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit dem Hyaluronsäuregel „ViBos-strong“ behandelt wurden, konnte bei fünf von acht Kaninchen postoperativ keine Netzhautablösung festgestellt werden. Die restlichen drei Kaninchen dieser Gruppe entwickelten postoperativ eine Ablatio retinae (Abb. 62). Bei zwei dieser drei Kaninchen konnte allerdings nur eine partielle und lediglich bei einem Tier dieser Versuchsgruppe eine vollständige Netzhautablösung diagnostiziert werden.



*Abb. 62: Diagramm Ablatorate der „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells (n=8), bei drei der acht operierten Kaninchen dieser Gruppe konnte postoperativ eine Netzhautablösung festgestellt werden (zwei der drei betroffenen Kaninchen entwickelten lediglich eine partielle Ablatio)*

### 2.3.1.3. „ViBos-soft“

Postoperativ konnte bei einem der sieben Kaninchen, die mit dem Hyaluronsäuregel „ViBos-soft“ behandelt wurden, eine totale Netzhautablösung festgestellt werden (Abb. 63).

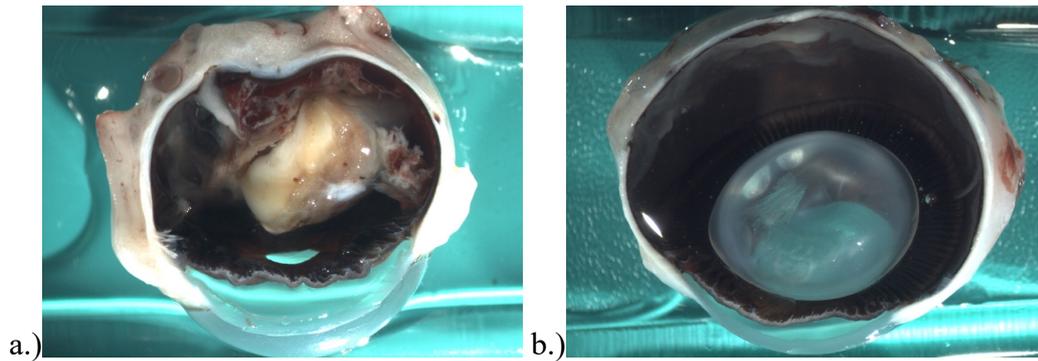


*Abb. 63: Diagramm Ablatorate der „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells (n=7), eines der sieben operierten Tiere dieser Versuchsgruppe entwickelte postoperativ eine Netzhautablösung*

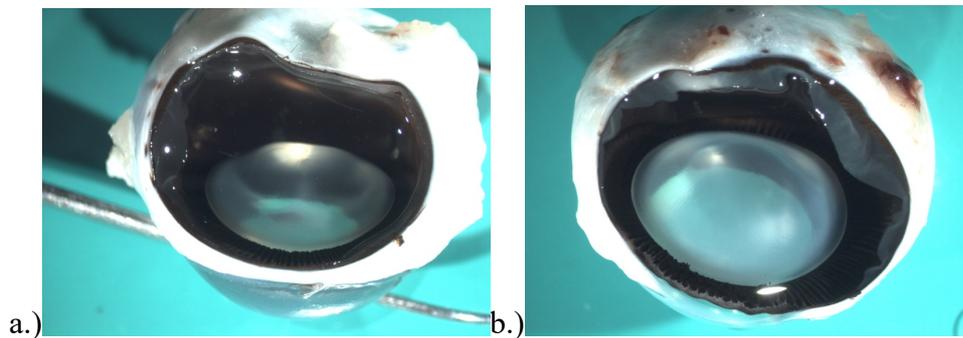
### 2.3.2. Makroskopische Beispielbilder

In den folgenden Abbildungen (Abb. 64 a. bis 66 b.) sind Beispielbilder zur makroskopischen Beurteilung der Silikonöl- (Abb. 64 a. und b.), ViBos-strong (Abb. 65

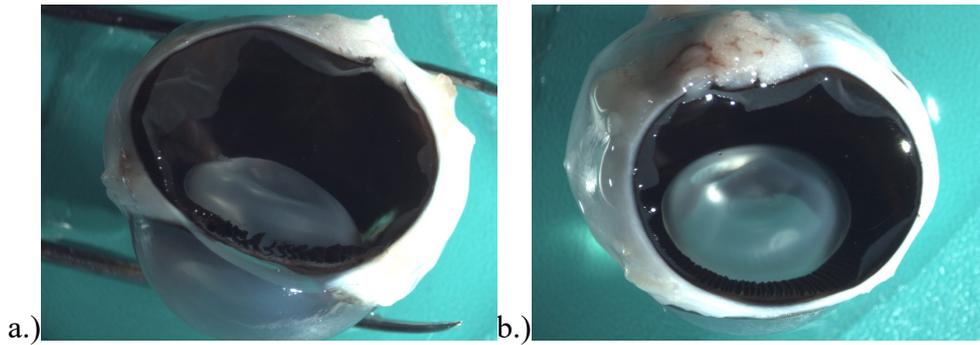
a. und b.) und ViBos-soft-Gruppe (Abb. 66 a. und b.) dargestellt. Dabei wurde das operierte immer im Vergleich zum nichtoperierten Partnerauge bewertet. Das operierte Auge der Silikonölgruppe zeigt eine totale Netzhautablösung mit einer vollständigen Verklebung der Netzhaut mit der Linse (Abb. 64 a.). Die operierten Auge der ViBos-strong-Gruppe (Abb. 65 a.) und der ViBos-soft-Gruppe (Abb. 66 a.) sowie alle nicht operierten Partneraugen zeigen keine makroskopisch sichtbaren pathologischen Befunde auf.



**Abb. 64:** Makroskopische Beispielbilder der Silikonölgruppe des Ablatiomodells, a.) operiertes Auge (totale Netzhautablösung bis an Linse und Kataraktentwicklung); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB.)



**Abb. 65:** Makroskopische Beispielbilder der „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells, a.) operiertes Auge (obB, Anlage aller Netzhautanteile, klarer Glaskörper ohne jegliche makroskopisch sichtbaren Entzündungsanzeichen); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB.)



*Abb. 66: Makroskopische Beispielbilder der „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells, a.) operiertes Auge (obB, Anlage aller Netzhautanteile, klarer Glaskörper ohne jegliche makroskopisch sichtbaren Entzündungsanzeichen); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB.)*

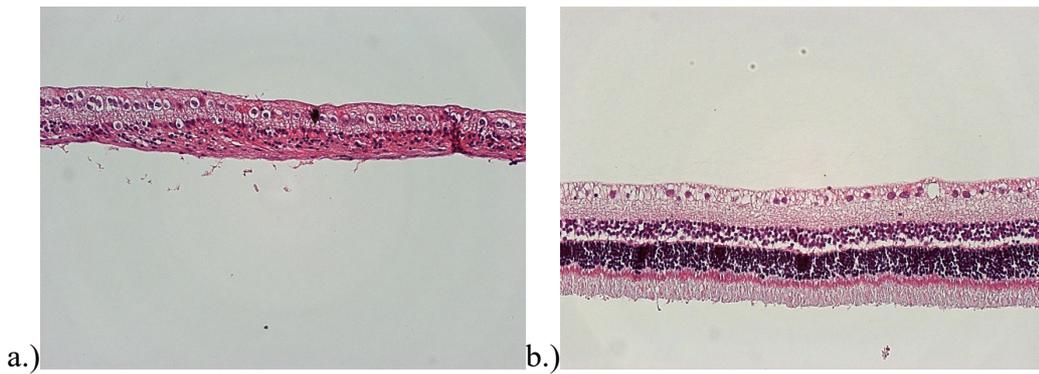
## 2.4. Histologie

### 2.4.1. Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung)

Die HE-Färbung diente dazu festzustellen, ob die Netzhautstruktur erhalten und intakt war. Hierfür wurde, wie unter Punkt 1.5.1. bereits erwähnt, die angefärbte, komplette Netzhaut auf jeweils zwei Schnitten pro Objektträger bei zweihundertfacher Vergrößerung angeschaut und beurteilt.

#### 2.4.1.1. Silikonöl

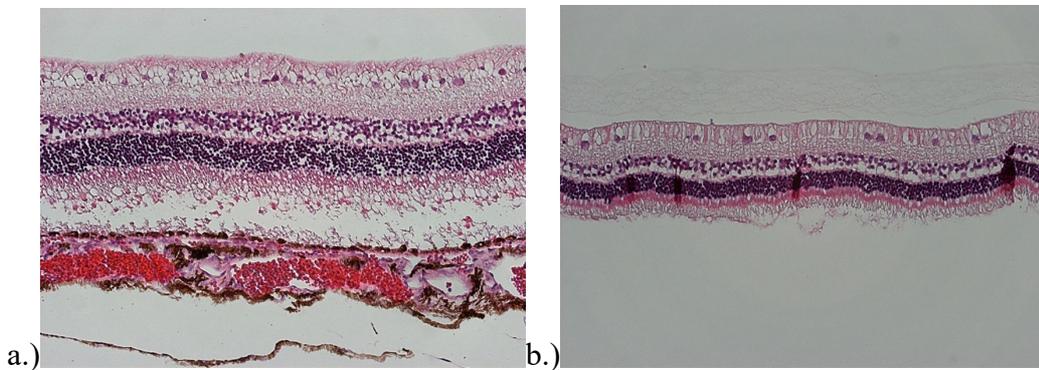
In der Silikonölgruppe des Ablatiomodells konnte lediglich bei einem Tier keine pathologischen Veränderungen der Netzhaut festgestellt werden. Bei zwei weiteren Tieren konnten leichte Veränderungen mit einzelnen, ausgedünnten Anteilen der Netzhaut dargestellt werden. Die restlichen fünf operierten Augen dieser Versuchsgruppe zeigten hochgradige Veränderungen der Netzhaut mit kompletter Ablösung, starker Gliose und Verlust der physiologischen Netzhautstruktur auf. Bei diesen fünf Tieren bestanden außerdem Verklebungen großer Areale der Netzhaut und der Linse (Abb. 67 a. und b).



**Abb. 67:** Beispielbild HE-Färbung Silikonölgruppe des Ablatiomodells, 200x, a.) operiertes Auge (ausgedünnte Netzhaut, beginnende Gliose, nicht mehr klar abgrenzbare Schichtung); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB)

#### 2.4.1.2. „ViBos-strong“

Sechs der acht Kaninchen dieser Versuchsgruppe wiesen in der HE-Färbung keine pathologischen Auffälligkeiten der Netzhautstruktur auf. Bei einem Kaninchen mit partieller Netzhautablösung konnten abgrenzbare Bereiche mit ausgedünnten Netzhautanteilen und Strukturverlust dargestellt werden. Bei einem weiteren Kaninchen wurde eine komplette Netzhautablösung mit starker Narbenbildung und Verlust der Netzhautstruktur festgestellt (Abb. 68 a. und b.).

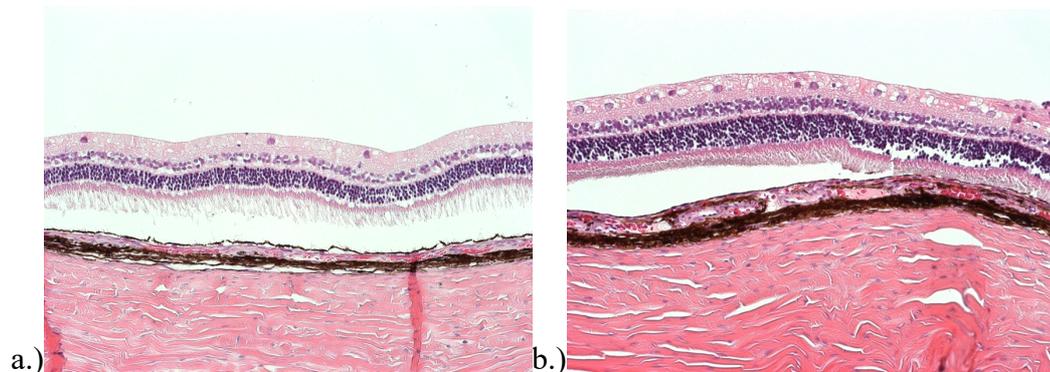


**Abb. 68:** Beispielbild HE-Färbung „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells, 200x, a.) operiertes Auge (aufgelockerte Netzhautstruktur, physiologische Schichtung der Netzhaut aber vorhanden); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB)

#### 2.4.1.3. „ViBos-soft“

Lediglich bei einem Tier dieser Versuchsgruppe konnte eine komplette Netzhautablösung mit Verlust der Netzhautstruktur festgestellt werden. Bei zwei weiteren Kaninchen konnte bei ansonsten völlig unauffälliger Netzhaut jeweils an nur einer umschriebenen Stelle eine komplette Auflösung der Netzhautstruktur diagnostiziert werden. Zusätzlich konnten bei zwei weiteren Kaninchen leichte Veränderungen mit ausgedünnten Stellen der Netzhaut bei erhaltener Netzhautstruktur,

dargestellt werden. Die restlichen zwei Kaninchen dieser Versuchsgruppe besaßen eine völlig unauffällige, in dieser Färbung physiologisch erscheinende Netzhaut (Abb. 69 a. und b.).

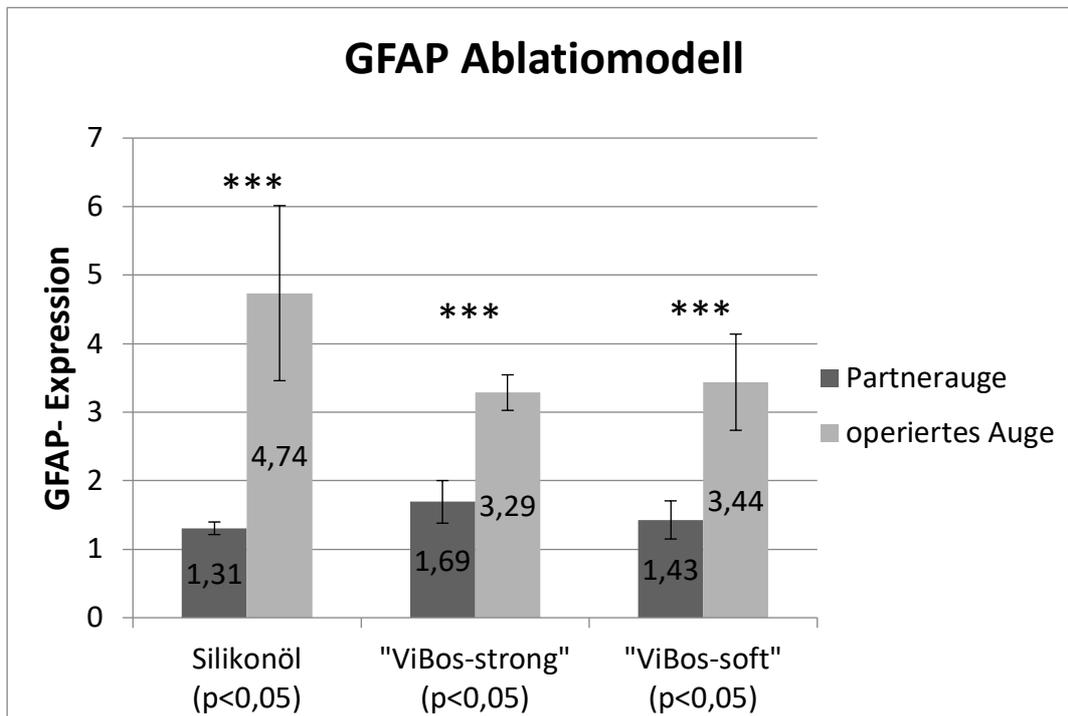


**Abb. 69:** Beispielbild HE-Färbung „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells, 200x, a.) operiertes Auge (etwas dünn erscheinende Netzhaut, physiologische Schichtung der Netzhaut erhalten); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB)

#### 2.4.2. GFAP-Färbung

In jeder der drei Gruppen des Ablatiomodells lässt sich, wie bereits bei der Verträglichkeitsstudie festgestellt, ein deutlicher Unterschied der GFAP-Expression zwischen den operierten Augen im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen darstellen (Abb. 70). Wie in der Verträglichkeitsstudie ist zu erwähnen, dass hierfür nur diejenigen Augenpaare verwendet wurden, deren operierten Augen postoperativ keine totale Netzhautablösung erlitten. Für die Augen, die postoperativ eine totale Netzhautablösung erlitten, wurde für die Bewertung der GFAP-Expression ein Wert von 6 eingefügt, um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden und die starke GFAP-

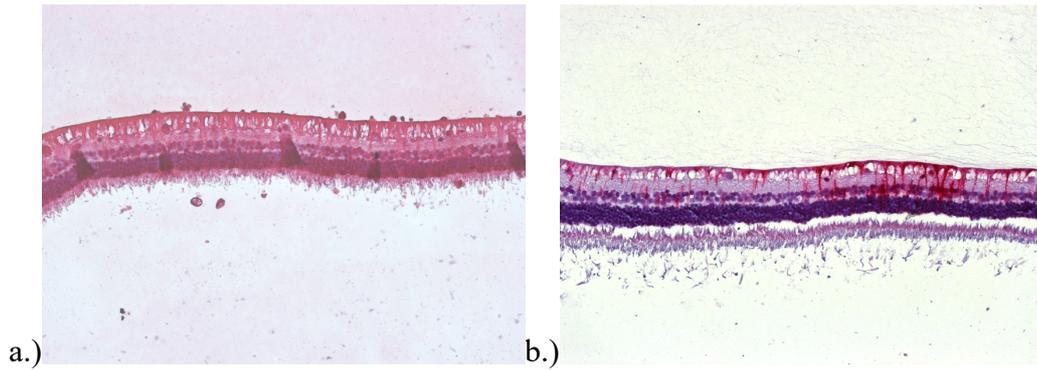
Expression, die eine Netzhautablösung zur Folge hat, betonen zu können.



**Abb. 70:** Diagramm GFAP-Färbung Ablatiomodell; Durchschnitt der Bewertungen der operierten Augen im Vergleich zu den jeweiligen nicht operierten Partneraugen je Gruppe des Ablatiomodells (jeweils mit Standardabweichung), mit hochsignifikantem Unterschied zwischen den operierten Augen und den nicht operierten Partneraugen jeder Untersuchungsgruppe (\*signifikant ( $p < 0,05$ ), \*\* sehr signifikant ( $p < 0,01$ ), \*\*\* hochsignifikant ( $p < 0,001$ ))

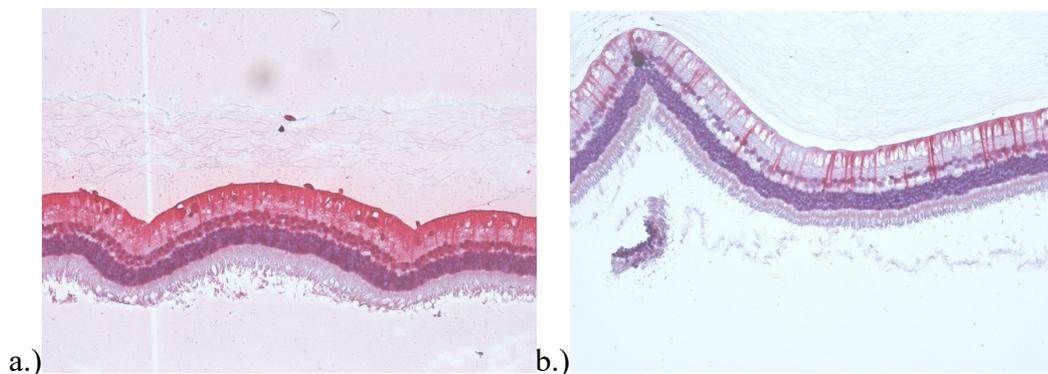
Die Silikonölgruppe (Abb. 71 a. und b.) besitzt mit einem über den t-Test ermittelten p-Wert von 0,00013 bei einem Signifikanzniveau von 0,05, einen \*\*\* signifikanten Unterschied der GFAP-Expression zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen. Die durchschnittliche Note der Bewertung des operierten Auges lag bei 4,74 mit einer Standardabweichung von 1,28 und die des nicht operierten Partnerauges bei 1,31 mit einer Standardabweichung von 0,09. Die sehr hohe Standardabweichung der operierten Augen dieser Versuchsgruppe erklärt sich mit der hohen Rate an totalen Netzhautablösungen mit komplettem Strukturverlust der Netzhaut. Diese konnten infolgedessen nicht angefärbt werden und erhielten somit eine Bewertung mit der Note sechs. Die Augen von lediglich drei Tieren dieser Gruppe konnten angefärbt und

ausgewertet werden.



**Abb. 71:** Beispielbilder GFAP-Färbung der Silikonölgruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge sehr viel mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind

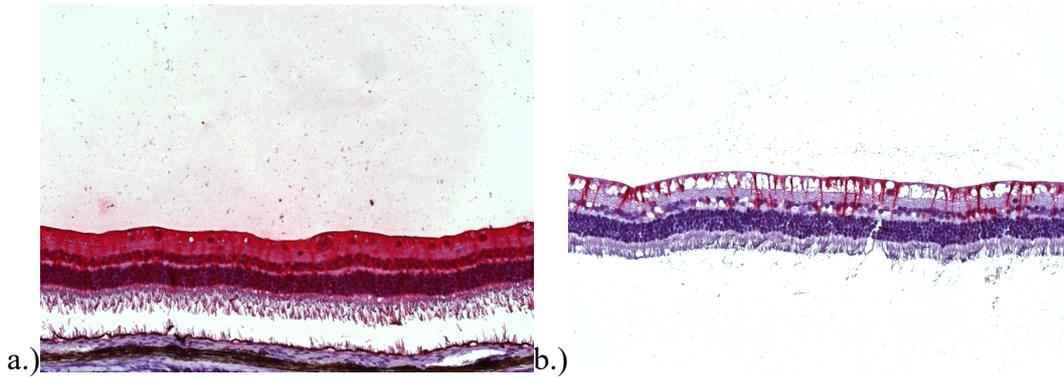
Der durchschnittliche Wert der Bewertung der operierten Augen der „ViBos-strong“-Gruppe (Abb. 72 a. und b.) lag mit einer Standardabweichung von 0,26 bei 3,29 und der der dazugehörigen nicht operierten Partneraugen mit einer Standardabweichung von 0,31 bei 1,69. Der p-Wert dieser Gruppe, entspricht mit einem Wert von 0,0000005 einem \*\*\* signifikanten Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen.



**Abb. 72:** Beispielbilder GFAP-Färbung „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge sehr viel mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind

Ebenso konnte in der ViBos-soft-Gruppe (Abb. 73 a. und b.) ein \*\*\* signifikanter Unterschied zwischen den beiden Augengruppen mit einem p-Wert von 0,000006 dargestellt werden. Hierbei betrug die durchschnittliche Bewertung der operierten Augen 3,44 mit einer Standardabweichung von 0,70 und die der nicht operierten

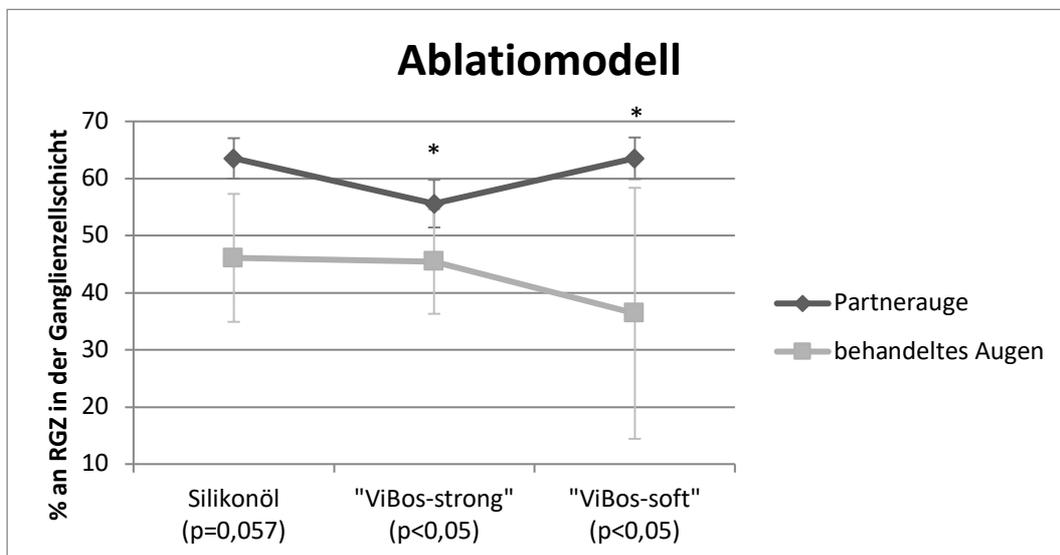
Partneraugen 1,43 mit einer Standardabweichung von 0,28.



**Abb. 73:** Beispielbilder GFAP-Färbung „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge sehr viel mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind

### 2.4.3. Brn3a-Färbung

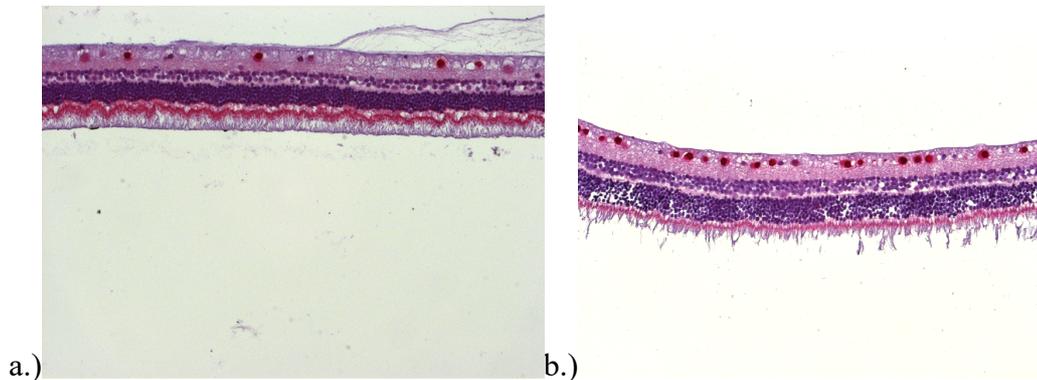
Im folgenden Diagramm sind alle durchschnittlichen Werte der prozentualen Anteile der Ganglienzellen in der Ganglienzellschicht der operierten und nicht operierten Partneraugen aller Gruppen des Ablatiomodells dargestellt (Abb. 74).



**Abb. 74:** Diagramm über den mit der Brn3a-Färbung ermittelten prozentualen Anteil an retinalen Ganglienzellen (RGZ) in der Ganglienzellschicht der operierten Augen und deren nicht operierten Partneraugen der drei Gruppen des Ablatiomodells, dargestellt sind Mittelwerte plus/minus deren Standardabweichung, p-Wert der Silikonölgruppe  $p=0,0567$ , p-Wert der „ViBos-strong“-Gruppe  $p=0,0292$  (\*), p-Wert der „ViBos-soft“-Gruppe  $p=0,0114$  (\*) (Signifikanzniveau  $*=p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***=p<0,001$ )

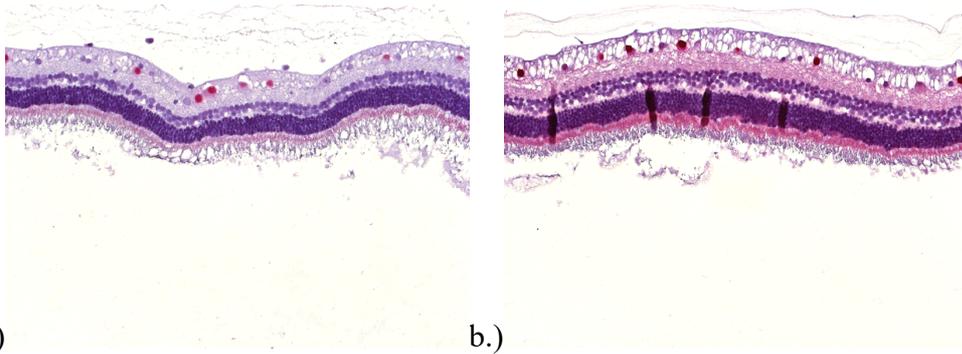
Der prozentuale Anteil der RGZ in der Ganglienzellschicht der Silikonölgruppe des Ablatiomodells betrug bei den operierten Augen durchschnittlich 46,11 % mit einer

Standardabweichung von 11,21 und bei den nicht operierten Partneraugen 63,51 % mit einer Standardabweichung von 3,54. Mit einem p-Wert von  $P=0,0567$  entspricht dies nur knapp keinem signifikanten Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Augen dieser Gruppe. Hinzuzufügen ist, dass diese Färbung ebenso wie bei der GFAP-Färbung der Silikonölgruppe lediglich bei drei Tieren, die postoperativ keine totale Netzhautablösung erlitten, durchgeführt werden konnte (Abb. 75 a. und b.).



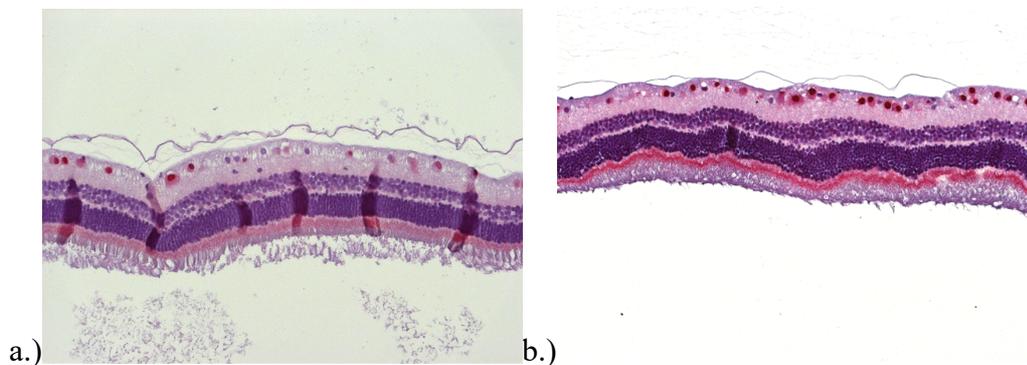
**Abb. 75:** Beispielbild der Brn3a-Färbung der Silikonölgruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; ohne signifikanten Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge

Bei der Gruppe des Ablatiomodells, die intraoperativ als Glaskörpertamponade das Hyaluronsäuregel „ViBos-strong“ erhielt, betrug der durchschnittliche prozentuale Anteil der RGZ in der Ganglienzellschicht der operierten Augen 45,45 % mit einer Standardabweichung von 9,14 und der nicht operierten Partneraugen 55,60 % mit einer Standardabweichung von 4,17. Der über den t-Test ermittelte p-Wert von  $p=0,0292$  entspricht einem \* signifikanten Unterschied zwischen den beiden Augengruppen. In dieser Gruppe wurden fünf von acht Tieren dieser histologischen Untersuchung unterzogen, da drei Tiere postoperativ eine komplette Netzhautablösung entwickelten (Abb. 76 a. und b.)



**Abb. 76:** Beispielbild der Brn3a-Färbung der „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; mit significantem Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge

Die „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells besitzt ebenso wie die „ViBos-strong“-Gruppe mit einem p-Wert von 0,0114 einen \* signifikanten Unterschied des prozentualen Ganglienzellanteils zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen. Der prozentuale Anteil an RGZ in der Ganglienzellschicht der operierten Augen dieser Gruppe beträgt 36,40 % mit einer Standardabweichung von 21,98 und der, der nicht operierten Partneraugen 63,55 % mit einer Standardabweichung von 3,64. In dieser Versuchsgruppe wurden sechs der sieben Tiere dieser histologischen Untersuchung unterzogen, da ein Kaninchen postoperativ eine totale Netzhautablösung entwickelte (Abb. 77 a. und b.).



**Abb. 77:** Beispielbild der Brn3a-Färbung der „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; mit significantem Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge

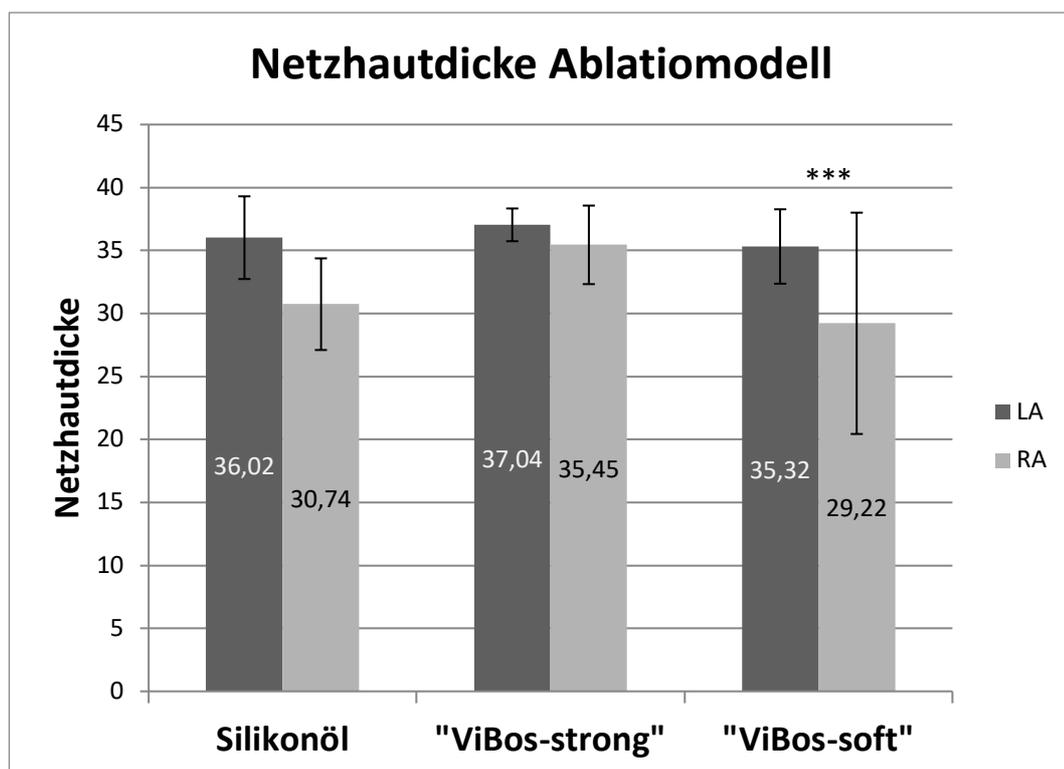
#### 2.4.4. Ausmessung der Netzhautdicke der drei Ablatiomodell-Gruppen

In der Ablatiomodell-Gruppe, bei der als Glaskörpertamponade intraoperativ Silikonöl verabreicht wurde, betrug die durchschnittliche Dicke der Netzhaut des operierten Auges 30,74  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 3,64 und die des nicht operierten Partnerauges 38,68  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 3,55. Daraus lässt ein p-Wert von 0,0606 ermitteln, welcher bei einem Signifikanzniveau von 0,05, auch wenn nur

knapp, keinem signifikanten Unterschied zwischen beiden Augengruppen entspricht (Abb. 78).

In der „ViBos-strong“-Gruppe, konnte mit einem p-Wert von 0,681 kein signifikanter Unterschied der Netzhautdicke zwischen den jeweiligen Partneraugen und den operierten Augen festgestellt werden. Bei dieser Gruppe lag die durchschnittliche Dicke der Netzhaut der operierten Augen bei 35,45  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 8,79 und die der nicht operierten Partneraugen bei 37,04  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 2,95 (Abb. 78).

Die durchschnittliche Netzhautdicke der „ViBos-soft“-Gruppe lag bei 29,22  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 3,12 und die der nicht operierten Partneraugen dieser Gruppe bei 35,32  $\mu\text{m}$  mit einer Standardabweichung von 1,30. Mit einem p-Wert von 0,0008 konnten \*\*\* signifikant niedrigere Werte der Netzhautdicke der operierten im Vergleich zu ihren nicht operierten Partneraugen ermittelt werden (Abb. 78).



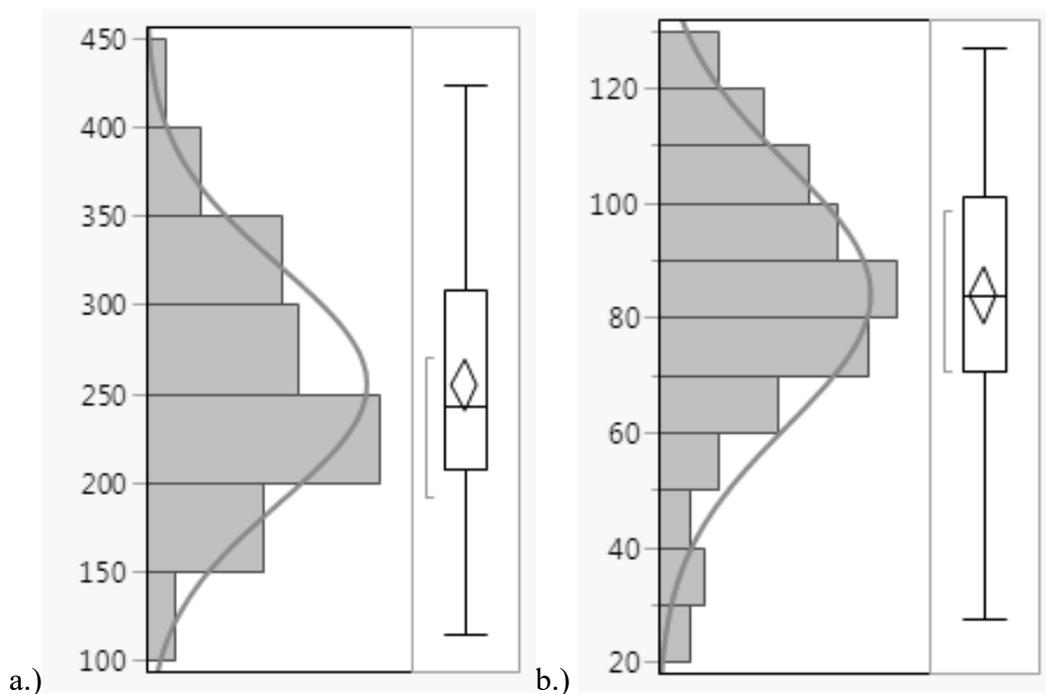
**Abb. 78:** Diagramm zur Darstellung der Netzhautdicke der drei Gruppen des Ablatiomodells; Netzhautdicke der operierten Augen im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen (jeweils mit der dazugehörigen Standardabweichung), mit \*\*\* signifikant niedrigeren Messwerten der operierten Augen der „ViBos-soft“-Gruppe im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen (Signifikanzniveau  $*=p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***=p<0,001$ )

### 3. ERG-Auswertung

Da die allgemein gestellten Fragen an die ERG-Auswertung für beide Modelle gemeinsam beantwortet werden konnten, werden diese in einem gemeinsamen Unterpunkt zusammengefasst und die spezifischen Fragen in einzelnen Abschnitten geklärt. Bei jedem Tier und zu jedem Untersuchungszeitpunkt wurden die operierten Augen im Vergleich zu deren nicht operierten Partneraugen gemessen.

#### 3.1. Normalverteilung der Daten

Ob die Gesamtheit der ERG-Daten dieser Arbeit normalverteilt ist, wurde anhand des Shapiro-Wilk-W-Tests ermittelt. Der Test ergab eine Normalverteilung der skotopischen sowie photopischen Datenverteilungen (Abb. 79 a. und b.).

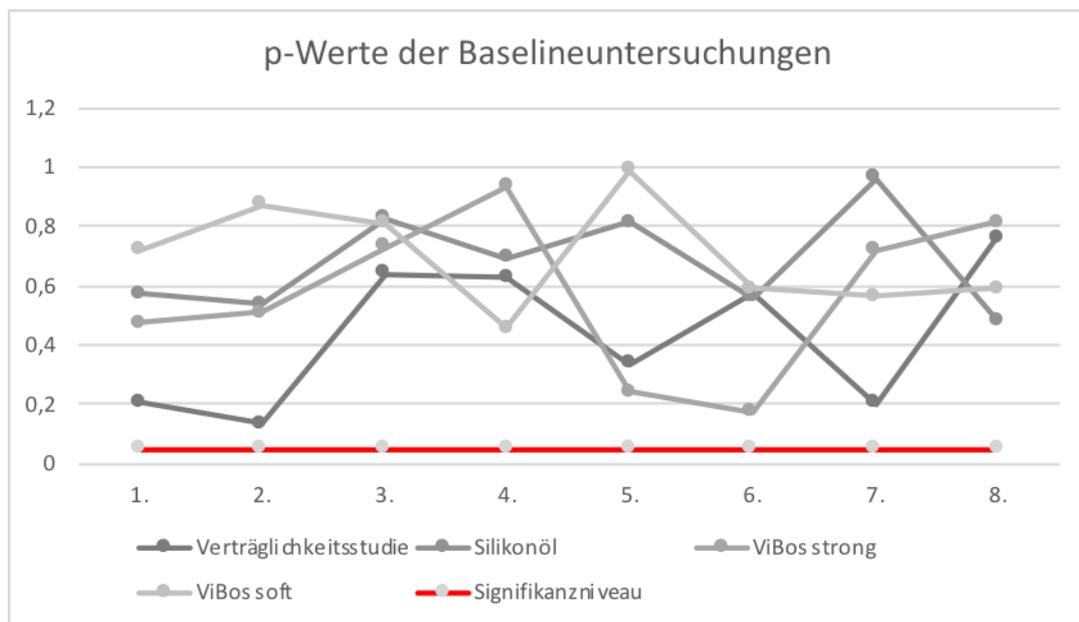


**Abb. 79:** a.) Darstellung Normalverteilung der skotopischen ERG-Wellenamplituden des Standardflashes bei  $3 \text{ cd.s/m}^2$  ; b.) Darstellung Normalverteilung der photopischen ERG-Wellenamplituden des 30Hz Flickers bei  $3 \text{ cd.s/m}^2$

### 3.2. Unterschiede zwischen den Baselines der operierten Augen zu den Baselines der Partneraugen

Um ausschließen zu können, dass bereits bei den Voruntersuchungen zur Aufnahme der Kaninchen in die Studie signifikante Unterschiede zwischen den später operierten und deren Partneraugen bestanden, wurden zuerst alle Baselineuntersuchungen jedes Schrittes (Steps) der rechten und der linken Augen je Gruppe miteinander verglichen.

Über den t-Test wurde der p-Wert zwischen beiden Augen aller Baseline-Messungen jedes Steps aller Gruppen berechnet. Darüber konnte man lediglich bei drei der 180 Einzeltests einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Partneraugen feststellen. Um aber eine mögliche Alphafehler-Kumulierung bei multiplen Paarvergleichen ausschließen zu können, wurde die Bonferroni-Korrektur angewendet. Hier lag das Signifikanzniveau bei einem n-tel ( $n = \text{Anzahl der zu testenden Paarvergleiche}$ ) des ursprünglichen Signifikanzniveaus. Nach der Bonferroni-Korrektur konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Baselines der rechten und der linken Augen jedes Steps aller Gruppen nachgewiesen werden (Abb. 80).



**Abb. 80:** Darstellung der p-Werte der Baselineuntersuchungen, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden

### 3.3. Unterschied zwischen den operierten Augen und den Kontrollaugen

In diesem Abschnitt wurden die ERG-Wellenamplituden der jeweils operierten Augen mit den nicht operierten Partneraugen zum Zeitpunkt der jeweiligen

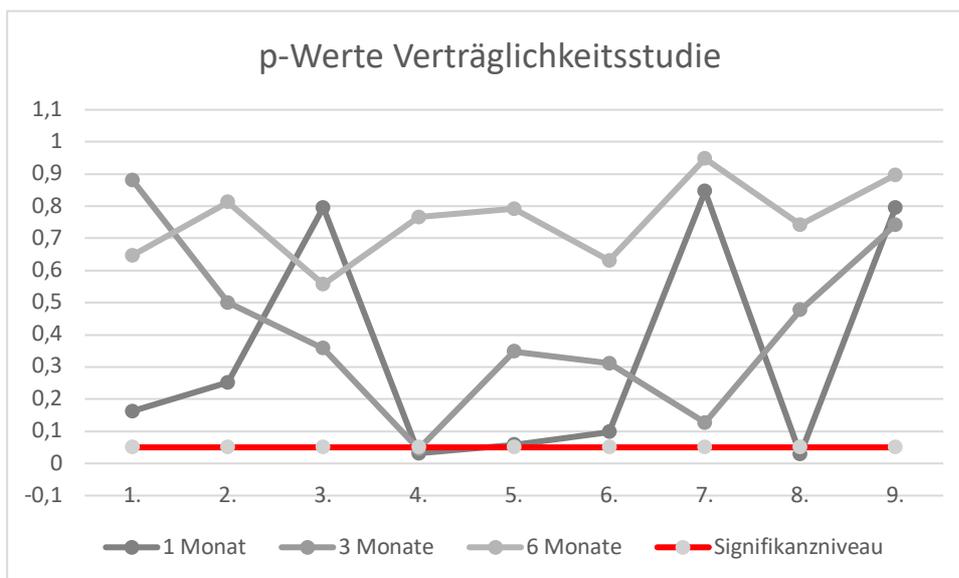
Abschlussuntersuchung jeder einzelnen Gruppe verglichen und die Signifikanz zwischen beiden Augengruppen über den t-Test ermittelt.

### 3.3.1. Verträglichkeitsstudie

In der Verträglichkeitsstudie über einen Monat konnten mit einem Signifikanzniveau von  $p=0,05$  \* signifikante Unterschiede der Gipfelzeiten der a-Wellenamplituden ( $p=0,020$ ) und der b-Wellenamplituden ( $p=0,031$ ) des skotopischen Standardflashes und der Gipfelzeiten der b-Wellenamplituden des photopischen Einzelblitz-Steps ( $p=0,028$ ) zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen festgestellt werden. Die Auswertungen der restlichen Steps dieser Untersuchungsgruppe wiesen keine weiteren signifikanten Unterschiede zwischen beiden Augen auf (s. Abb. 81).

In der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate konnte mit einem über den t-Test ermittelten p-Wert von 0,045, ein \* signifikanter Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen der Gipfelzeiten der b-Wellenamplituden des skotopischen Standardflashes bei 3 cd.s/m<sup>2</sup> festgestellt werden. In allen weiteren Steps konnte kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Augen ermittelt werden (s. Abb. 81).

In der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate konnte sowohl in den skotopischen als auch in den photopischen Steps kein signifikanter Unterschied der a- und b-Wellenamplituden und deren Gipfelzeiten zwischen den operierten Augen und den nicht operierten Partneraugen festgestellt werden (s. Abb. 81).



**Abb. 81:** Darstellung der p-Werte der Verträglichkeitsstudie, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. Scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden,

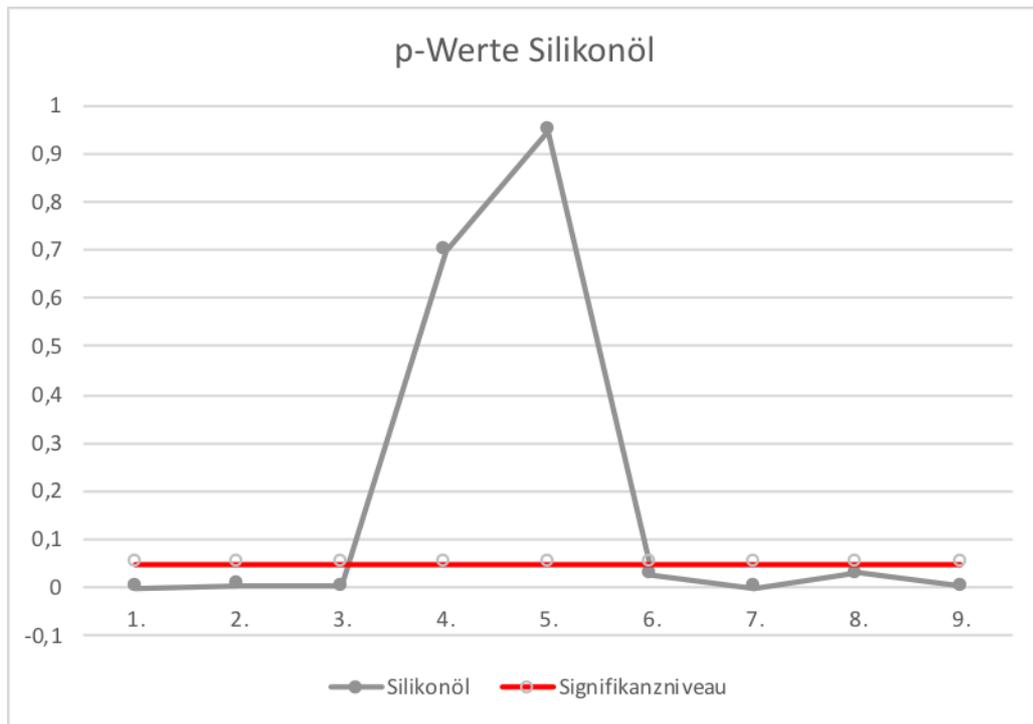
5. Phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. Phot. b-Wellenamplituden, 8. Phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. Phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker

### 3.3.2. Ablatiomodell

In den nachfolgenden Unterpunkten dieses Abschnitts wurden je Gruppe der Wirksamkeitsstudie die jeweils operierten Augen mit den nicht operierten Partneraugen verglichen und über den t-Test die Signifikanz zwischen beiden Augen ermittelt.

#### 3.3.2.1. Silikonölgruppe

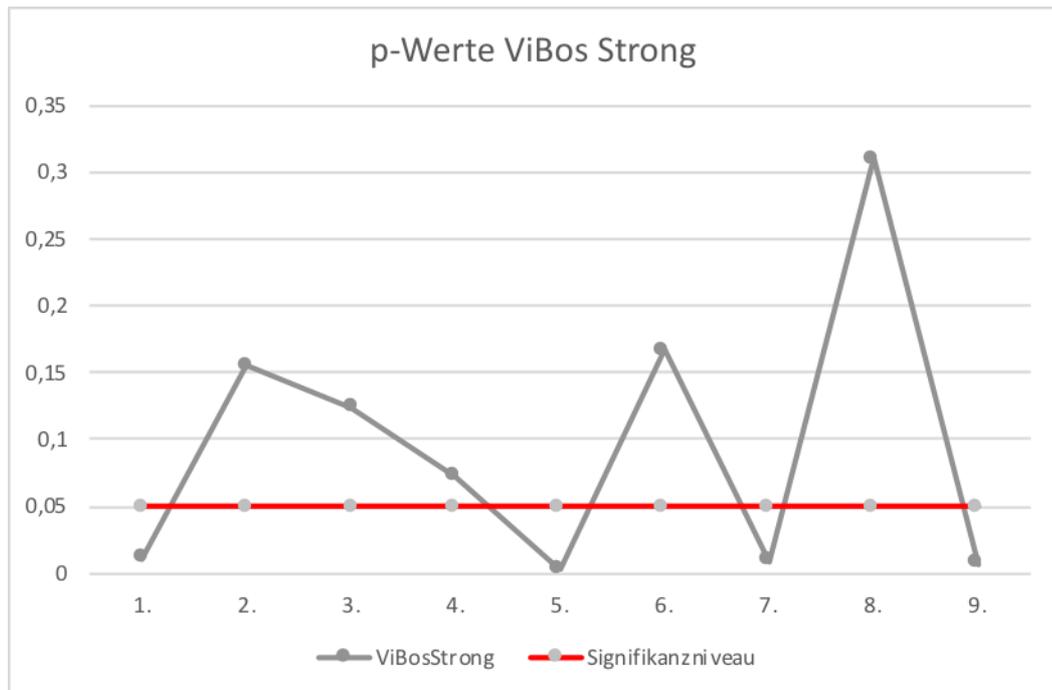
Zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen der Silikonölgruppe der Wirksamkeitsstudie konnten diverse Unterschiede der a- und b-Wellenamplituden und deren Gipfelzeiten festgestellt werden. Die a-Wellenamplituden des skotopischen Standardflashes wiesen mit einem p-Wert von 0,0002 einen \*\*\* signifikanten Unterschied zwischen beiden Augen auf. Ebenso konnte ein \*\* signifikanter Unterschied der Gipfelzeiten der a-Wellenamplituden des skotopischen Standardflashes zwischen beiden Augen festgestellt werden. Die b-Wellenamplituden des skotopischen Standardflashes wiesen mit einem p-Wert von 0,0012 einen \*\* signifikanten Unterschied zwischen den operierten und nicht operierten Augen auf. Beim photopischen Einzelblitzstep bei 3 cd.s/m<sup>2</sup> konnte ein \* signifikanter Unterschied der Gipfelzeiten der a-Wellenamplituden (p=0,028), ein \*\*\* signifikanter Unterschied der b-Wellenamplituden (p=0,0001) und ein \* signifikanter Unterschied der Gipfelzeiten der b-Wellenamplituden (p=0,030) zwischen beiden Augen festgestellt werden. Zusätzlich bestand beim photopischen 30 Hz Flicker mit einem p-Wert von 0,0023 ein \*\* signifikanter Unterschied zwischen den beiden Partneraugen (Abb. 82).



**Abb. 82:** Darstellung der p-Werte der Silikonölgruppe der Wirksamkeitsstudie, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker

### 3.3.2.2. „ViBos-strong“-Gruppe

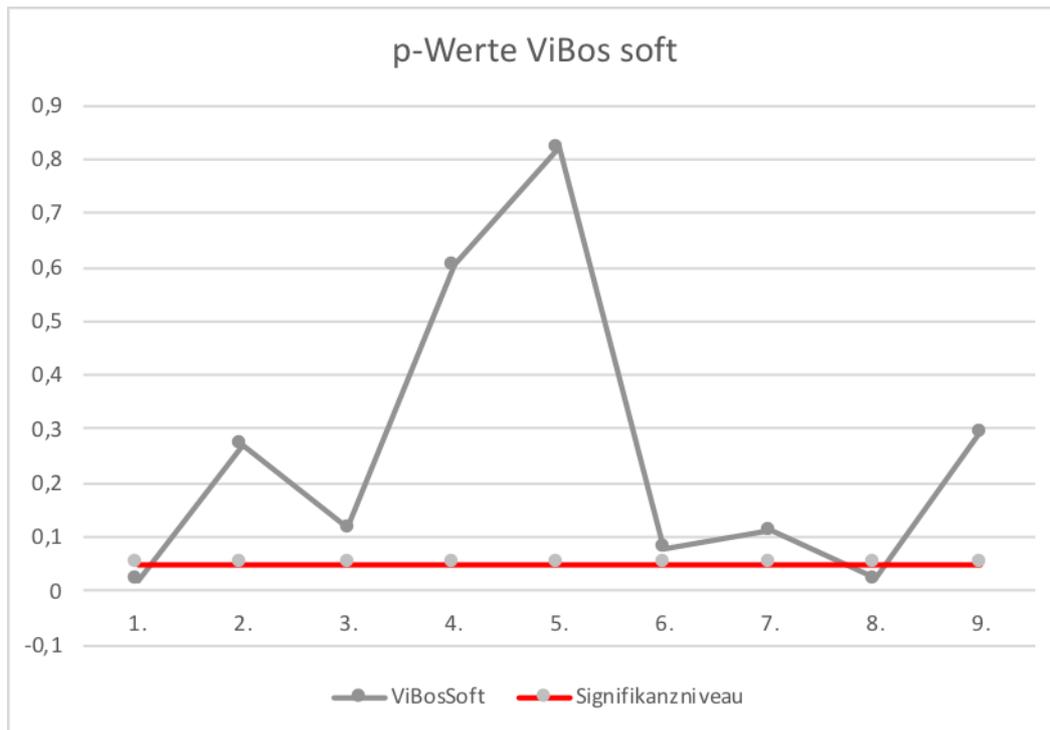
In der „ViBos-strong“-Gruppe der Wirksamkeitsstudie konnte mit einem p-Wert von 0,011 ein \* signifikanter Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen der a-Wellenamplituden des skotopischen Standardflashes ermittelt werden. Zusätzlich bestand ein \*\* signifikanter Unterschied der a- ( $p=0,003$ ) und b-Wellenamplituden ( $p=0,0089$ ) des photopischen Einzelblitzsteps bei  $3 \text{ cd.s/m}^2$  sowie des photopischen 30 Hz Flickers (p-Wert 0,0024) zwischen beiden Augen (Abb 83).



**Abb. 83:** Darstellung der p-Werte der „ViBos-strong“-Gruppe der Wirksamkeitsstudie, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker

### 3.3.2.3. „ViBos-soft“-Gruppe

In der „ViBos-soft“-Gruppe der Wirksamkeitsstudie konnte mit einem p-Wert von 0,021 der a-Wellenamplituden des skotopischen Standardflashes ein \* signifikanter Unterschied zwischen beiden Augen festgestellt werden. Ebenso bestand mit einem p-Wert von 0,023 ein \* signifikanter Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen der Gipfelzeiten der b-Wellenamplituden des photopischen Einzelblitzsteps bei 3 cd.s/m<sup>2</sup>. Die restlichen Steps dieser Untersuchungsgruppe wiesen keinen weiteren signifikanten Unterschied zwischen den beiden Augen auf (Abb. 84).

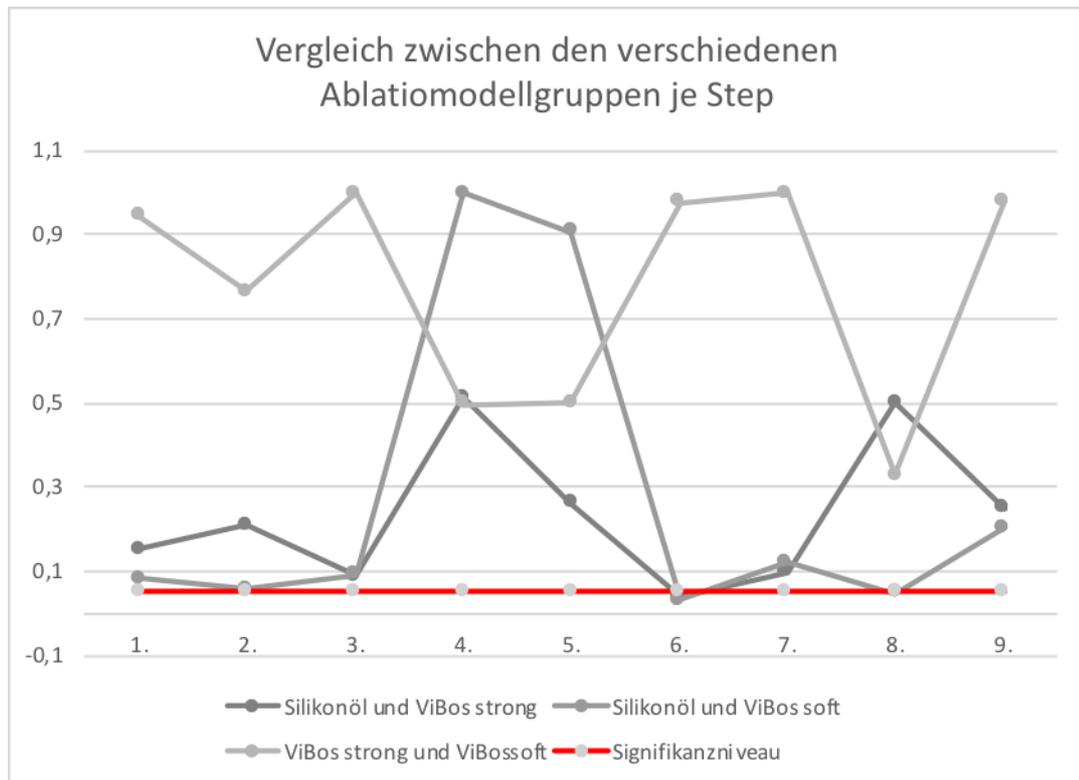


**Abb. 84:** Darstellung der p-Werte der „ViBos-soft“-Gruppe der Wirksamkeitsstudie, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker

### 3.4. Unterschied zwischen den operierten Augen der drei verschiedenen Ablatiomodell-Gruppen

Um die verschiedenen Gruppen des Ablatiomodells untereinander vergleichen zu können, wurden nur die operierten Augen der Abschlussuntersuchungen nach vier Wochen miteinander verglichen. Hierzu wurde zum einen eine Varianzanalyse (Analysis of variance, kurz ANOVA-Test) und ein Tukey-Kramer-post-hoc-Test angewendet, um auf signifikante Gruppenunterschiede zu testen (Signifikanzniveau von  $p=0,05$ ) (Abb. 85).

Wie in Abb. 85 mit dem Anova- Post-hoc-Test dargestellt, besteht bei den Gipfelzeiten der a-Wellenamplituden des photopischen Einzelblitzsteps bei  $3\text{cd.s/m}^2$  zwischen der Silikonölgruppe und der „ViBos-soft“-Gruppe mit einem p-Wert von 0,0306 ein \* signifikanter Unterschied. Ebenso besteht ein \* signifikanter Unterschied zwischen der Silikonölgruppe und der „ViBos-strong“-Gruppe mit einem p-Wert von 0,0389. Auch beim Vergleich der Gipfelzeiten der b-Wellenamplituden des photopischen Einzelblitzsteps bei  $3\text{cd.s/m}^2$  der Silikonölgruppe und der ViBos-soft-Gruppe mit einem p-Wert von 0,0463 besteht ein \* signifikanter Unterschied



**Abb. 85:** Vergleich zwischen den einzelnen Ablatiomodellgruppen, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker

### 3.5. Übersichten des ERG-Verlaufes der jeweiligen Versuchsgruppen

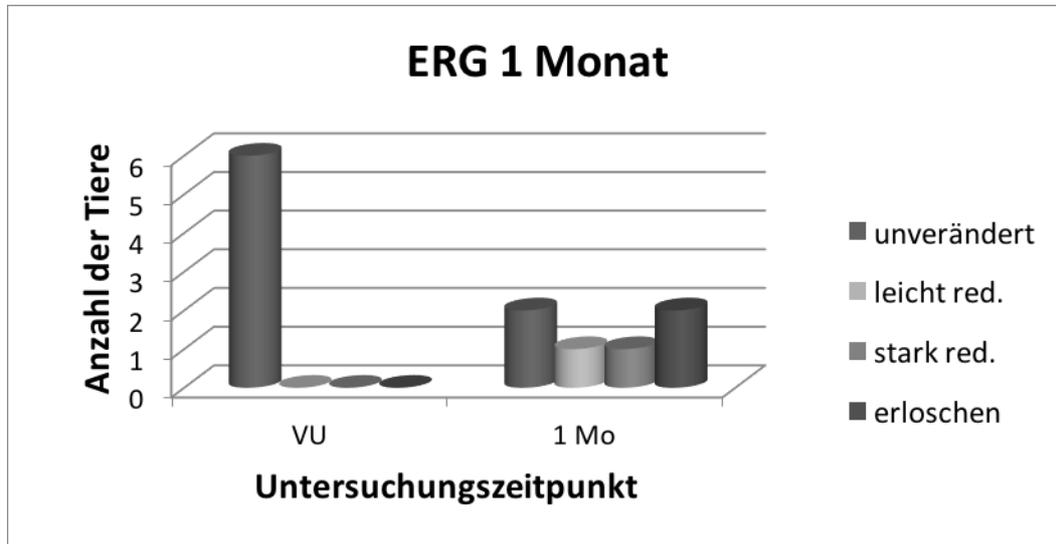
In den nachfolgenden Diagrammen wurde die Ableitbarkeit der ERG-Untersuchungen zu jedem Untersuchungszeitpunkt je Versuchsgruppe dargestellt. Dies wurde anhand eines Vergleichs zwischen der Amplitudenhöhe der operierten und der nicht operierten Kontrollaugen zu jedem Versuchszeitpunkt bestimmt.

Das ERG wurde als unverändert bewertet, wenn die Amplitudenhöhe des operierten Auges postoperativ mindestens 95% der erreichten Mikrovolt des Vergleichsauges erreichte. Leicht verändert waren alle diejenigen, die zwischen 65 - 95%, stark reduziert alle, die mindesten 15 - 65% der Mikrovolt des Vergleichsauges erreicht haben. Als erloschen wurde das ERG unter 15 % der Amplitude des Kontrollauges erreicht haben.

#### 3.5.1. Verträglichkeitsstudie

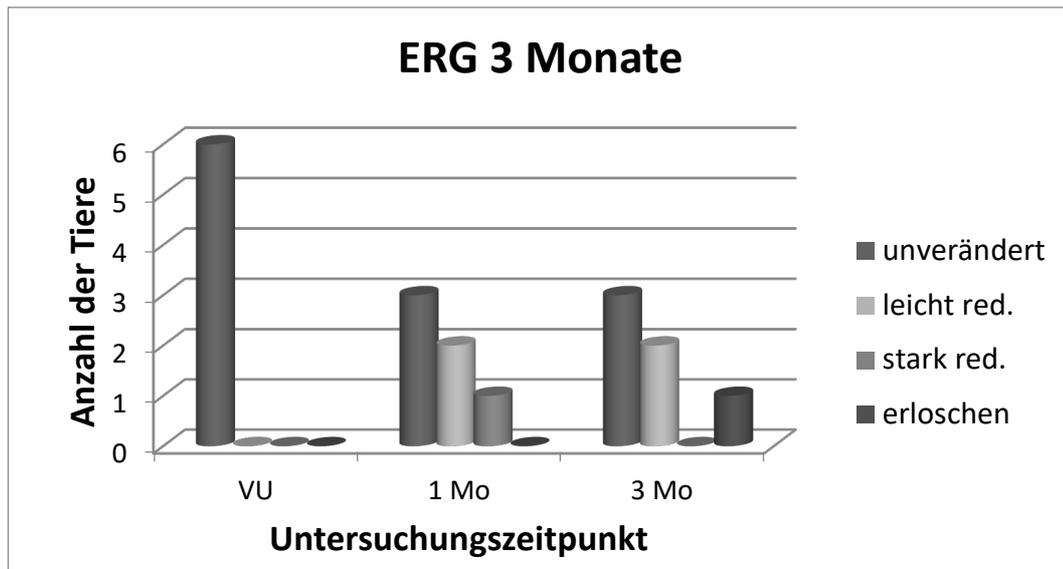
In der Verträglichkeitsstudie konnte in der Versuchsgruppe über einen Monat bei der postoperativen Nachuntersuchung bei zwei Tieren ein unverändertes ERG, bei einem Tier ein leicht reduziertes ERG, ebenso bei einem Tier ein stark reduziertes ERG und bei den restlichen zwei Tieren konnte kein ERG mehr abgeleitet werden (Abb. 86). Hierbei ist hinzuzufügen, dass bei den beiden mit unverändertem ERG keine

Netzhautablösung sowie keine Katarakt vorlag, bei dem Tier mit leicht reduziertem ERG konnte eine kleine Netzhautfalte und keine Kataraktentwicklung festgestellt werden. Ein Tier hatte eine fast vollständige Netzhautablösung ohne das Vorliegen einer Katarakt und bei den restlichen beiden Tieren wurde eine vollständige Netzhautablösung mit Kataraktentwicklung festgestellt.



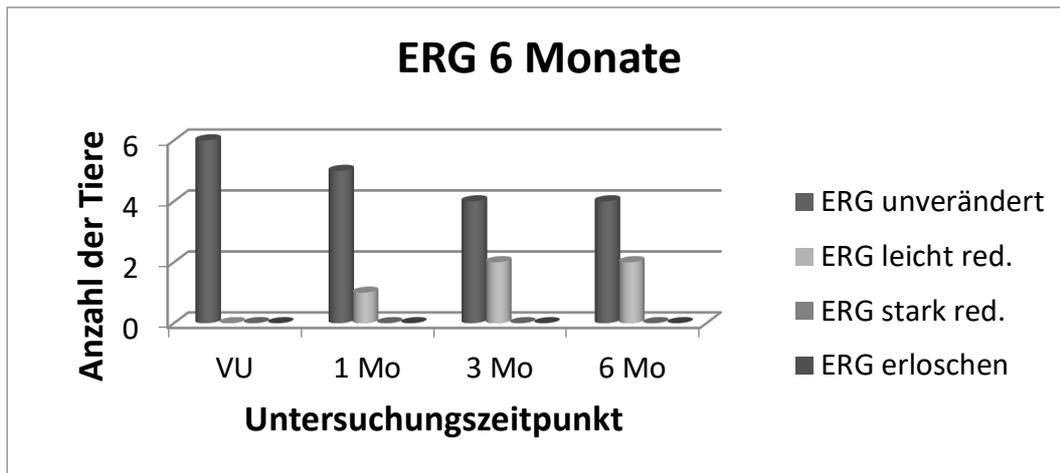
**Abb. 86:** Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ und einen Monat postoperativ, zwei Tiere mit unverändertem ERG und ohne Netzhautablösung und Kataraktentwicklung, ein Tier mit leicht reduziertem ERG sowie kleiner Netzhautfalte ohne Kataraktentwicklung, ein Tier mit fast vollständiger Netzhautablösung und ohne Kataraktentwicklung, zwei Tiere mit vollständig erloschenem ERG sowie vollständiger Netzhautablösung und Kataraktentwicklung.

In der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate konnten zum Nachuntersuchungszeitpunkt nach einem sowie nach drei Monaten bei drei der sechs Tiere ein unverändertes ERG abgeleitet werden. Bei zwei Tieren konnten leicht reduzierte und bei einem Tier keine Amplituden mehr abgeleitet werden. Postoperativ war bei einem der sechs untersuchten Tiere dieser Gruppe kein ERG mehr ableitbar (Abb. 87). In dieser Gruppe konnte bei drei der Tiere keine Netzhautablösung sowie keine Kataraktentwicklung, bei zwei Tieren eine beginnende Kataraktentwicklung und bei einem Tier eine vollständige Netzhautablösung mit Kataraktentwicklung festgestellt werden.



*Abb. 87: Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ sowie einen Monat und drei Monate postoperativ. Drei Tiere mit unverändertem ERG, sowie ohne Anzeichen für eine Netzhautablösung oder eine Katarakt, bei zwei Tieren aufgrund einer leichten Katarakt ein leicht reduziertes ERG und bei einem Tier zu Beginn ein deutlich reduziertes, anschließend erloschenes ERG aufgrund einer Netzhautablösung mit Kataraktentwicklung.*

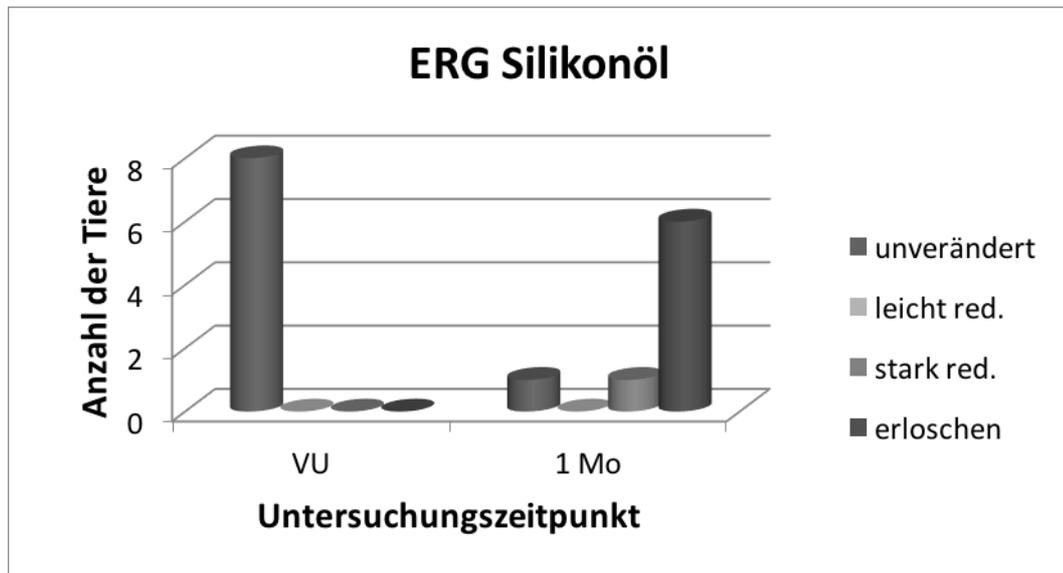
In der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate konnten bei den postoperativen Nachuntersuchungen nach einem Monat bei fünf der untersuchten Tiere, nach drei und sechs Monaten bei je vier Tieren ein unverändertes ERG abgeleitet und keine Hinweise auf das Vorliegen einer Katarakt sowie einer Netzhautablösung festgestellt werden. Bei den restlichen zwei Tieren konnten leicht reduzierte Amplituden abgeleitet werden (Abb. 88). In dieser Gruppe konnte bei keinem Tier eine Netzhautablösung und bei lediglich zwei Tieren eine sehr feine Trübung der hinteren Linsenkapsel nach intraoperativem Linsentouch festgestellt werden.



*Abb. 88:* Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate ( $n=6$ ) zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ sowie einen Monat, drei und sechs Monate postoperativ. Nach einem Monat konnte bei fünf der untersuchten Tiere ein unverändertes ERG sowie keinerlei Hinweise auf Netzhautablösung oder eine Katarakt nachgewiesen werden, bei lediglich einem Tier ein leicht reduziertes ERG aufgrund feiner Trübung der hinteren Linsenkapsel, nach drei sowie sechs Monaten konnte bei vier Tieren ein unverändertes ERG ohne Netzhautablösung und Kataraktentwicklung und bei zwei Tieren ein leicht reduziertes ERG ohne Hinweis auf Netzhautablösung aber feiner Trübung der hinteren Linsenkapsel festgestellt werden.

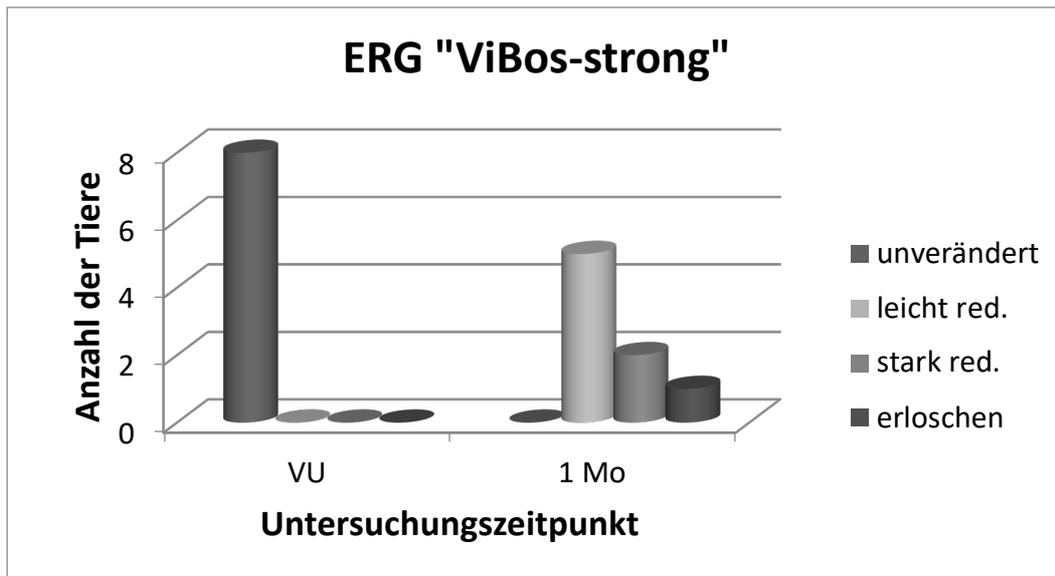
### 3.5.2. Ablatiomodell

Im Ablatiomodell dieser Studie wurde jeweils bei der Voruntersuchung sowie der postoperativen Untersuchung nach einem Monat ein ERG abgeleitet. In der Ablatiomodellgruppe, die intraoperativ als Glaskörpertamponade Silikonöl erhielt, konnte bei lediglich einem Tier ein unverändertes ERG zum Untersuchungszeitpunkt nach einem Monat abgeleitet werden, bei einem weiteren Tier ein stark reduziertes ERG und bei den restlichen sechs Tieren konnte kein ERG mehr abgeleitet werden (Abb. 89). In dieser Gruppe konnte postoperativ lediglich bei einem Tier eine vollständig anliegende Netzhaut sowie eine Linse ohne Hinweis auf Kataraktentwicklung festgestellt werden. Bei allen der restlichen sieben Tiere lag eine Katarakt sowie bei sechs Tieren eine vollständige, bei einem Tier eine fast vollständige Netzhautablösung vor.



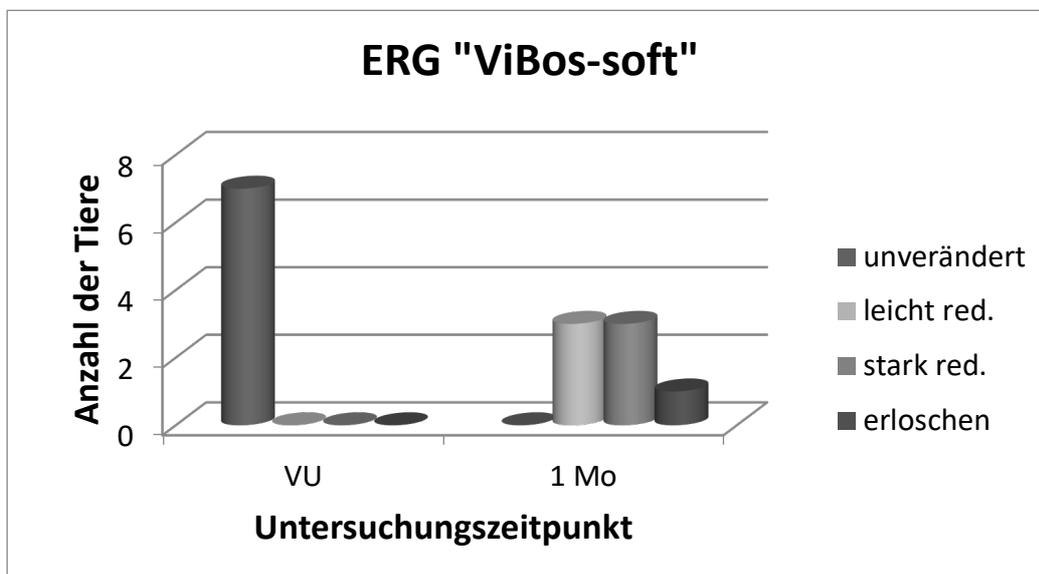
*Abb. 89: Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Ablatiomodellgruppe, die intraoperativ als Glaskörpertamponade Silikonöl erhielt, zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ und einen Monat postoperativ (n=8). Ein Tier ohne Hinweis auf Netzhautablösung sowie Kataraktentwicklung, ein Tier mit fast vollständiger Netzhautablösung und Kataraktentwicklung, sechs Tiere mit vollständiger Netzhautablösung und Kataraktentwicklung.*

In der Gruppe des Ablatiomodells, in der das Hyaluronsäuregel „ViBos-strong“ als Glaskörpertamponade eingegeben wurde, konnten nach einem Monat bei fünf der acht Tiere leicht reduzierte ERG-Amplituden, bei zwei Tieren stark reduzierte und bei einem Tier keine ERG-Amplituden mehr abgeleitet werden (Abb. 90). Hierbei konnte bei einem Tier eine vollständige Netzhautablösung sowie bei zwei Tieren eine partielle Netzhautablösung festgestellt werden. Das Tier mit vollständiger Netzhautablösung entwickelte ebenso eine mature Katarakt mit Kerntrübung und starken Entzündungsreaktionen. Bei den restlichen fünf Tieren konnte keine Netzhautablösung oder eine Kataraktentwicklung festgestellt werden.



**Abb. 90:** Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Ablatiomodellgruppe, die intraoperativ als Glaskörpertamponade das Hyaluronsäuregel „ViBos-strong“ erhielt, zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ und einen Monat postoperativ (n=8). Ein Tier mit vollständiger Netzhautablösung und Kataraktentwicklung, zwei Tiere mit partieller Netzhautablösung, ohne Kataraktentwicklung und fünf Tiere mit vollständig anliegender Netzhaut und ohne Anzeichen einer Katarakt.

In der Versuchsgruppe die als Glaskörpertamponade das Hyaluronsäuregel mit der etwas niedrigeren Viskosität „ViBos-soft“ erhielten, konnte einen Monat postoperativ bei drei der sieben Tiere ein leicht reduziertes ERG abgeleitet werden. Ebenso konnte bei drei weiteren Tieren ein stark reduziertes ERG abgeleitet und beim letzten Tier dieser Gruppe konnten keine ERG-Amplituden mehr gemessen werden (Abb. 91). Eine vollständige Netzhautablösung konnte bei dem Tier mit erloschenem ERG, bei zwei weiteren Tieren konnte eine Kataraktentwicklung bei den restlichen vier Tieren konnte keine Netzhautablösung und keine Katarakt festgestellt werden.



*Abb. 91: Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Ablatiomodelgruppe, die intraoperativ als Glaskörpertamponade das Hyaluronsäuregel „ViBos-soft“ erhielt, zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ und einen Monat postoperativ (n=7). Bei einem Tier konnte eine vollständige Netzhautablösung ohne Kataraktentwicklung, bei zwei Tieren eine anliegende Netzhaut aber das Vorliegen einer Katarakt und bei fünf Tieren weder eine Katarakt noch eine Netzhautablösung festgestellt werden*



## V. DISKUSSION

Zur Beantwortung der beiden gestellten Hauptfragen unterteilt sich die Diskussion dieser Arbeit, neben der Diskussion zum Aufbau und der Methodik, in zwei größere Unterpunkte.

### 1. Diskussion über den Aufbau und Methodik der beiden durchgeführten Studien

In diesem Versuch wurden ausschließlich Chinchilla-Bastard-Kaninchen verwendet, die im Vergleich zu den meisten Zuchtlinien der für Versuche verwendeten Kaninchenrassen eine pigmentierte Netzhaut besitzen. Die pigmentierte Netzhaut war in dieser Studie gewünscht, da es bei albinotischen Netzhäuten zu verfälschten Werten bei den elektrophysiologischen Untersuchungen kommt. Dies beschrieb Russel-Eggitt et al. im Jahre 1990 damit, dass aufgrund des fehlenden Enzyms Tyrosinase kein Tyrosin zum Pigment Melanin gespalten werden kann, welches eine Hypopigmentation der Netzhaut sowie der Iris zur Folge hat. Durch die lichtdurchlässige Iris und einer stärkeren Reflektion der einfallenden Lichtreize an der albinotischen Netzhaut, kommt es zu stärkeren Effekten an den Photorezeptoren und damit zu abweichenden Ergebnissen der elektrophysiologischen Untersuchungen. Dies hat beim ERG eine signifikant höhere a-Welle sowie niedrigere Latenzzeiten der a- und b-Wellen zur Folge und kann dadurch erklärt werden, dass die a-Welle hauptsächlich durch die Photorezeptoren generiert wird. Durch den stärker einfallenden Lichtreiz auf der Netzhaut werden die Photorezeptoren viel rascher und stärker gereizt, was zu einem deutlich stärkeren Weiterleitungssignal führt, erzielen.

Um eine möglichst gute Vergleichbarkeit zu erzielen, wurde bei den Vor- sowie Nachuntersuchungen stets darauf geachtet alle Untersuchungen streng nach dem gleichen Schema durchzuführen. Da bei den jungen Versuchstieren eine Netzhautablösung sehr rasch und in extremem Ausmaß ablaufen kann, wurde in Erwägung gezogen bereits beim geringsten Verdacht eine vollständige große Nachuntersuchung mit ERG- und OCT-Untersuchung durchzuführen. Hiervon wurde aufgrund der besseren Vergleichbarkeit zu bestimmten Zeitpunkten und dem erhöhten Risiko zusätzlicher Vollnarkosen der Tiere abgesehen. Die initial höhere Rate an intraoperativen iatrogenen Linsenverletzungen hätte durch das vorherige Üben an Kaninchenaugen eventuell minimiert werden können. Um das richtige Gefühl für die Bulbus- sowie die Linsengröße und deren Verhältnis zu erlangen wäre jedoch das

Training an Kaninchen desselben Alters und derselben Rasse notwendig gewesen und zudem bereits Hydrogele injiziert werden müssen, da dies die Operationstechnik beeinflusste. Aus tierschutzrechtlichen Gründen wurde hierauf verzichtet, da keine wie zuvor beschriebenen Präparate aus anderen Studien zu erlangen waren. Alleine für Übungszwecke durften keine weiteren Tiere geopfert werden.

Die hohe Rate an Katarakten und die häufig eingeschränkt durchzuführenden OCT- und ERG-Untersuchungen, lassen die Überlegung einer vorherigen Linsenextraktion zu. Mit einer vorherigen Extraktion der Linse hätte man in einigen Fällen exaktere Aussagen über den postoperativen elektrophysiologischen sowie durch die OCT-Untersuchungen auch histologischen Zustand der Augen treffen und so einen besseren postoperativen Vergleich aller Netzhäute ermöglichen können. Eine Linsenextraktion wäre jedoch erneut mit erhöhtem Operationsrisiko für das Tier sowie mit der erhöhten Gefahr einer Netzhautablösung im aphaken Auge verbunden. Dann hätte aber keine Aussage über die Kataraktogenität der neuartigen Endotamponade getroffen werden können.

Die Verwendung relativ junger, sich noch im Wachstum befindender Kaninchen ist als kritisch zu bewerten, da dies eine höhere Anfälligkeit gegenüber Netzhautablösungen, der Narkose sowie diversen Schwankungen der gemessenen Parameter beinhaltet. Das junge Alter der Kaninchen wurde eingeplant, um möglichst junge weibliche Kaninchen aneinander zu gewöhnen und eine Haltung in Gruppen von bis zu acht Tieren ermöglichen zu können. Für eine Gruppenhaltung ist eine sehr frühe Vergesellschaftung äußerst wichtig, da Kaninchen mit zunehmendem Alter immer schwerer aneinander zu gewöhnen sind und es dabei zu ausgeprägten Rankämpfen zwischen den einzelnen Tieren kommen kann. Da in dieser Studie eine möglichst artgerechte Haltung der Kaninchen in Genossenschaft angestrebt wurde, wurden die Kaninchen in sehr jungem Alter von durchschnittlich fünf bis zehn Wochen gekauft, aneinander gewöhnt und vergesellschaftet. Anschließend wurden sie bis zu einem Mindestgewicht von 2,5 kg für die ersten Voruntersuchungen aufgezogen. Die minimalen wachstumsbedingten Schwankungen der Ergebnisse wurden durch den direkten Vergleich zwischen den jeweils rechten operierten zu den linken nicht operierten Partneraugen umgangen.

Insgesamt stellte die Unterbringung in Gruppen der weiblichen Kaninchen im Vergleich zu den aufgrund ausgeprägter Rankämpfe einzeln gehaltenen männlichen Kaninchen, keinen Nachteil für die durchgeführten Untersuchungen dar. Es wurde darauf geachtet, dass die Tiere erst nach vollem Erwachen aus der Narkose in die Gruppe gesetzt wurden. Zwischen den in Gruppen und einzeln gehaltenen Tieren konnten keine Differenzen der zu untersuchenden Parameter festgestellt werden.

Die Gruppenhaltung wurde stets sehr positiv bewertet, da vor allem das Wohlbefinden, die Ausprägung der Muskulatur und die Vitalität der Tiere positiv auffielen. Auffällig war, dass die Tiere der Einzelhaltung deutlich schneller an Gewicht zulegten, leichter verfetteten und zusätzlich deutlich mehr stereotype Verhaltensweisen wie Gitternagen oder Kreislaufen zeigten. Letzteres konnte in der Gruppenhaltung nicht beobachtet werden. Viel Wert wurde zudem auf einen ruhigen Umgang mit den Tieren sowie auf Personal, das die einzelnen Tiere unterscheiden und in Ruhe mit möglichst wenig Stress aus der Gruppe herausfangen konnte, gelegt.

Die örtliche Trennung der Unterbringungs- von der Untersuchungsstätte stellte durch die nötigen Transporte einen zusätzlichen und nicht vermeidbaren Stressfaktor für die Tiere dar. Leider war dies aufgrund der örtlich gebundenen Gerätschaften des ERG- und OCT-Gerätes nicht anders möglich.

Vor allem bezüglich der Messung des IOP's spielte das junge Alter der Kaninchen eine Rolle, da wie von Pallikaris et al. (2005) erwähnt, der Durchmesser der Kornea sowie deren Rigidität einen Einfluss auf die Messung des intraokularen Druckes mit dem Schiötz-Tonometer haben kann. Positiv zu bewerten ist, dass die IOP-Messungen immer zur selben Uhrzeit durchgeführt wurden, um so Veränderungen der Werte allein aufgrund von Schwankungen des zirkadianen Rhythmus zu umgehen. Da aber alle Messungen im Vergleich zum jeweils unbehandelten Partnerauge durchgeführt wurden, spielten derartige Schwankungen in diesem Versuch nur eine untergeordnete, klinisch nicht relevante Rolle. Bei der Messung des intraokularen Druckes war aufgrund der zwingend notwendigen horizontalen Lage des Bulbus stets eine Sedation der Tiere notwendig. Vor allem die erhöhte Empfindlichkeit junger Kaninchen gegenüber Vollnarkosen, die heftigeren Reaktionen der Netzhaut auf anfallende Reize sowie die schneller und extremer ablaufenden Netzhautablösungen stellten neben dem kleinen Bulbus im Verhältnis zur Linse, eine Herausforderung dar. Zusätzlich zu diskutieren ist die Verwendung des Schiötz-Tonometers, welches eine etwas ältere aber dennoch zuverlässige und kostengünstige Methode zur Ermittlung des IOP's darstellt (Yamamoto und Young, 2010). Hierbei kann darüber diskutiert und als nachteilig befunden werden, dass aufgrund der notwendigen Seitenlage der Tiere eine Sedation zur Untersuchung zwingend erforderlich ist und es bei nicht korrekter Auflage des Tonometer-Senkstiftchens im Zentrum der Kornea zu verfälschten Werten kommen kann. Zur Qualitätskontrolle wäre eine zusätzliche Messung mit einem Applanationstonometer, wie beispielsweise dem Tono-Pen, wünschenswert gewesen.

Das ERG diente der Beurteilung der Netzhautfunktion, indem die abgeleiteten ERG-

Kurven postoperativ mit den präoperativen Baseline-Untersuchungen sowie stets mit den nicht operierten Partneraugen verglichen wurden. Die Schwierigkeit hierbei stellte zum einen die hohe Störanfälligkeit des ERG's auf andere Reize sowie die Narkosetiefe der Tiere dar. Eine zu flache oder zu tiefe Narkose konnte schnell Schwankungen innerhalb der ERG-Kurven verursachen. Solche Schwankungen führten zu verfälschten Ergebnissen, welche eine erneute Dunkeladaption und einen erneuten Untersuchungsstart des jeweiligen Tieres zwingend notwendig machten. Dies wiederum bedeutete eine deutlich längere und damit eine erhöhte Narkosebelastung des jeweiligen Tieres. Ebenso kam es durch die hohe Kataraktrate zu abweichenden Ergebnissen der ERG-Kurven. Eine Katarakt kann durch das erschwerte Eindringen der Lichtreize in das Augeninnere zu einem fehlenden Reiz auf der Netzhaut und damit zum Ausbleiben einer ableitbaren ERG-Kurve führen. Dagegen kann eine nur leichte und lockere Trübung der Linse durch eine verstärkte Streuung der Lichtreize sogar zu erhöhten ableitbaren ERG-Kurven führen. Auch hier ließe sich über eine vorangegangene Linsenextraktion zur besseren Beurteilbarkeit der Funktionalität und Vitalität der Netzhaut sowie des gesamten Auges *in vivo* diskutieren, aber wiederum um den Preis, dass die Auswirkungen der Hydrogele auf die Linsentransparenz nicht untersucht hätten werden können.

Die Bewertung der Spaltlampenuntersuchung, die zum Nachweis von Fibrin und Blut im Augeninneren sowie des Zustands der Linse und des Fundus beitrug, wurde von ein und derselben Person sowie immer nach dem gleichen Vorgehensschema durchgeführt. Hierbei können minimale Schwankungen der Ergebnisse entstanden sein, die aufgrund der individuellen Empfindungen des Untersuchers erklärt werden können. Um dabei eine neutrale Bewertung zu ermöglichen, wurde die Zugehörigkeit der entsprechenden Gruppe des jeweils untersuchten Tieres während der kompletten Untersuchung stets verblendet. Hinzuzufügen ist, dass via Spaltlampenuntersuchung lediglich eine grobe Beurteilung des Fundus durchgeführt werden konnte. Die genaue Bewertung des Fundus beinhaltete die OCT-Untersuchung sowie die anschließende histologische Aufarbeitung der Proben dieser Studie. Eine OCT-Untersuchung ist bei Vorliegen einer Katarakt kaum bis meist sogar gar nicht durchführbar und somit die genauere Betrachtung des Augenhintergrundes *in vivo* in diesen Fällen nicht möglich gewesen.

Betrachtet man die histologische Aufarbeitung und Auswertung dieser Arbeit fällt auf, dass der Schwerpunkt vor allem darin lag, die Vitalität sowie die Funktionalität der Netzhaut zu beurteilen. Um diese Punkte bestmöglich bewerten zu können, wurde die HE-, die anti-GFAP und die anti-Brn3a-Färbung angewendet. Die HE-Färbung wurde

als sogenannte Übersichtsfärbung durchgeführt, um die postoperative Netzhautstruktur besser beurteilen zu können. Die Beurteilung dieser Färbung wurde ebenso durch einen Dritten verblindet und jeweils im Vergleich zum nicht operierten Partnerauge durchgeführt. Betrachtet man nun die Färbung, die das *Glial fibrillary acidic protein* (anti-GFAP-Färbung) markiert, fällt auf, dass neben den Müllerzellen teilweise auch weitere Strukturen der Netzhaut bzw. der Reste des Glaskörpers minimal angefärbt wurden. Da die Auswertung nicht über eine Software die die Farbintensität eines Bildes misst, sondern durch menschliche Bewertung erfolgte, beeinflusste dies die Auswertung nicht. Das GFAP wird in physiologischen Netzhäuten kaum exprimiert (Björklund, Bignami und Dahl 1984). Die Ausschüttung an GFAP der Müllerzellen in der Netzhaut wird in hypoxischen Zuständen, wie zum Beispiel beim Vorliegen einer Netzhautablösung, eines Glaukoms oder einer traumatischen Verletzung des Auges, deutlich gesteigert. Zu dieser Aktivierung der Gliazellen und damit zu einer vermehrten Ausschüttung an GFAP kommt es bereits innerhalb weniger Minuten und kann bis einige Tage nach Aussetzen des störenden Faktors andauern (Iandiev et al. 2006). Damit dient diese Färbung vor allem dazu, die entstandene Aktivierung bzw. beginnende Gliose der Netzhaut und damit indirekt das Ausmaß der Schädigung der Netzhaut durch den eingegebenen Glaskörperersatzstoff zu bewerten. Dabei ist zu beachten, dass alleine der intraoperative Reiz zu Reaktionen und damit zu einer Aktivierung der Gliazellen führen kann. Dies besitzt unter anderem eine einschränkende Wirkung auf das Sehvermögen des betroffenen Auges, da durch die Steigerung der Gliose Änderungen des retinalen Metabolismus zustande kommen. Diese führen häufig zum Untergang von Neuronen. Zusätzlich zur intraretinalen Gliose kommt es zur subretinalen Fibrose, welche eine Regeneration äußerer Segmente der Netzhaut verhindert. Da die retinalen Gliazellen sehr fragil sind und rasch anschwellen und zerstört werden, war post mortem auf eine sehr rasche Probenentnahme und -fixierung zu achten (Dixon et al. 1981).

Im Vergleich dazu werden bei der zweiten immunhistologischen Färbung, der sogenannten anti-Brn3a-Färbung, die Ganglienzellen der Netzhaut markiert. Die retinalen Ganglienzellen (RGZ) erhalten die neuronalen Signale der Bipolarzellen und dienen als drittes afferentes Neuron der Netzhaut der direkten Informationsweiterleitung an das Gehirn. Die Axone der Ganglienzellen laufen zum Sehnerv zusammen und verlassen im Discus nervus opticus das Auge in Richtung Gehirn. Da die RGZ außerordentlich anfällig für hypoxische sowie metabolische Störungen sind, diente diese Färbung vor allem der Beurteilung der Netzhautvitalität.

## **2. Diskussion zur Bewertung der Verträglichkeit des „ViBos strong“**

Um die Verträglichkeit des getesteten Hydrogels auf Hyaluronsäurebasis „ViBos-strong“ beurteilen zu können, wurden die einzelnen Ergebnisse aller Untersuchungen der operierten sowie deren unbehandelten Partneraugen miteinander verglichen.

Aus dem Verlauf des intraokularen Druckes der Verträglichkeitsstudie lassen sich insgesamt positive Rückschlüsse der eingegebenen Glaskörpertamponade ziehen. Bei den ersten postoperativen Messungen des IOP's konnte, außer bei einem einzigen Tier, zu Beginn ein deutlicher Abfall des IOP's festgestellt werden. Da sich der IOP relativ zügig wieder auf Normwerte einpendelte, wurde dies als nicht klinisch relevant bewertet. Postoperativ konnte bei keinem Tier klinisch relevant niedrige Werte über einen längeren Zeitraum als über zwei bis drei Tage dokumentiert werden. Bei einem Tier der Einmonats-Verträglichkeitsgruppe lag der IOP 24 Stunden post operationem bei über 40 mmHg. Aufgrund dessen wurde dieses Tier mit drucksenkenden Augentropfen (zweimal täglich Alphagan-Augentropfen (Brimonidin, ein Sympathomimetikum, alpha-2-Agonist) und einmal täglich Xalathan-Augentropfen (Latanoprost, ein Prostaglandin-Derivat) behandelt und der IOP häufiger kontrolliert. Brimonidin führt zu einer verminderten Kammerwasserproduktion und ebenso wie Latanoprost zu einer Steigerung des uveoskleralen Kammerwasserabflusses. Der postoperative Anstieg nach Glaskörpertamponade mit „ViBos-strong“ wird als Nebenwirkung vermutet. Diese Nebenwirkung ist ebenso bei Glaskörpertamponaden mit Silikonöl zu beobachten. Um verfälschte Ergebnisse zu vermeiden, wurde die Auswertung des intraokularen Druckes der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat zuerst einschließlich dieses Tieres in zwei Diagrammen und anschließend analoge Diagramme mit Ausschluss dieses Tieres erstellt. Zusätzlich konnte am ersten und dritten postoperativen Tag ein \* signifikant niedrigerer durchschnittlicher IOP der operierten Augen im Vergleich zu dem der nicht operierten Partneraugen festgestellt werden, welcher sich ab dem siebten Tag wieder regulierte. Nichtausschluss dieses Tieres führte zu deutlich höheren Standardabweichungen und bis zur Abschlussuntersuchung zu keinem signifikanten Unterschied zwischen den durchschnittlichen Druckwerten beider Augengruppen. Dies lässt auf ein in vivo nicht sehr starkes Quellverhalten des hier verwendeten Hydrogels „ViBos-strong“ sowie zusätzlich leicht entzündliche postoperative Reaktionen der operierten Augen schließen. Nach einem solchen Eingriff am Auge ist stets mit dezenten Entzündungsreaktionen, die innerhalb von wenigen Tagen wieder nachlassen sollten, zu rechnen. In Versuchen

der herstellenden Firma hatte „ViBos-strong“ in vitro einen Quelfaktor von 1,82. Dieser Volumenanstieg stellte sich in vitro innerhalb von 5 – 10 Minuten ein (Angaben des Herstellers des Gels Firma Croma, Pharma, Leobendorf, Österreich). Dabei ist aber zu beachten, dass in diesem in vitro Versuch das Gel in ein mit Flüssigkeit gefülltes Gefäß gegeben wurde und somit ausreichend überschüssige Flüssigkeit zur Quellung des Gels zur Verfügung stand. In vivo ist aufgrund eines kleineren verfügbaren Angebotes an Flüssigkeit mit einer weniger ausgeprägten Quellung der eingegebenen Tamponade zu rechnen.

Kritisch zu beurteilen ist, dass bei dieser Studie ausschließlich sehr junge, sich noch im Wachstum befindende Kaninchen eingesetzt wurden, deren Bulbi nach und nach an Größe zunahmten. Dadurch änderte sich der Durchmesser der Kornea zwischen der Erst- bis zur Abschlussuntersuchung leicht, wodurch minimale Schwankungen des intraokularen Druckes erklärt werden können. Ebenso erhöht sich mit zunehmendem Alter die Rigidität der Bulbushülle, welche laut Pallikaris et al. (2005) zusammen mit der zunehmenden Bulbusgröße, einen Einfluss auf die Messung des IOP mit dem Schiötz-Tonometer besitzt. Zu beachten ist, dass jedes Individuum trotz gewisser Normwerte individuelle Unterschiede aufweist. Um diese individuellen Unterschiede größtmöglich umgehen zu können, wurde je Kaninchen nur das rechte Auge operiert und das linke Auge jeweils als unbehandeltes Kontrollauge zum direkten Vergleich genutzt. Zusätzlich zu den individuellen Unterschieden kommt hinzu, dass der intraokulare Druck einem zirkadianen Rhythmus unterliegt, wobei die morgendlichen Werte oftmals etwas über denen des Nachmittags oder des Abends liegen können (Augustin 2013). Dem IOP der Kaninchen wird unter anderem nachts eine Erhöhung zugeschrieben (Lui 1998). Um aussagekräftige und standardisierte Werte zu erhalten, wurden alle Untersuchungen vormittags in einer kleinen Zeitspanne zwischen neun und zwölf Uhr durchgeführt.

Als weiteren Parameter zur Beurteilung der Verträglichkeit wurde die Bewertung des eingelagerten Fibrins im Glaskörperraum herangezogen. Zum einen entsteht intraokulares Fibrin im Rahmen von entzündlichen Geschehen wobei es in den Glaskörperraum übergehen kann und zum anderen durch intraoperativ verursachte Blutungen. Je nach Ausmaß der Blutung oder Entzündung kommt es zu mehr oder weniger intraokularem Fibrin. Fokale oder geringe diffuse Blutungen können meist vollständig resorbiert werden und bleiben meist ohne Folgen (Dörr, Seifert und Uehlinger 1980). Ebenso kommt es meist nach Abklingen der Entzündung zur vollständigen Resorption (Sachsenweger 2003). Da es sich in dieser Studie

hauptsächlich um kleinere Blutungen handelte, löste sich das intraokulare Fibrin größtenteils innerhalb von vier bis sechs Wochen vollständig auf.

Vokovic (2013) beschrieb den Heilungsverlauf intravitrealer Blutungen anhand einer Studie mit Chinchilla-Kaninchen, die Vollblut intravitreal injiziert bekamen und dessen Resorption über zwölf Wochen hinweg dokumentiert wurde. Durch histologische Untersuchungen stellte er fest, dass die Glaskörperreinigung drei Wochen nach der Einblutung einsetze und insgesamt etwa sechs bis zehn Wochen benötigt. Den Grund der langsamen Fibrinresorption sah er vor allem darin, dass zu Beginn nur eine sehr moderate Anzahl an polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten vorhanden war, wodurch der Fibrinzerfall zwar in Gang gesetzt wurde, es aber trotzdem zu einer langsamen Resorption der Fibrinabbauprodukte kam. Erst sechs Wochen postinjektionem fand in einigen Fällen eine spontane Auflösung der Blutkoagel statt. Forrester et al. beschrieb im Jahre 1980, dass bereits eine Woche nach einer intravitrealen Einblutung eine umfangreiche Fibrinolyse einsetzt, welche zu Beginn durch eine eingeschränkte inflammatorische Zellantwort ebenso nur sehr langsam in Gang kommt. Erst ab der dritten Woche stellte er eine deutliche Zunahme an intravitrealen Makrophagen und damit eine Abnahme an Zelldebris fest. Dieser Vorgang zog sich auch in dieser Studie über einen Zeitraum von sechs Wochen bis teilweise sogar über mehrere Monate hinweg. In wenigen Fällen verblieb Blutdebris im Auginneren bestehen, ohne resorbiert zu werden. Da es in den Versuchen dieser Arbeit lediglich zu kleineren Blutungen und gering-gradig ausgeprägten Fibrinansammlungen kam, konnten diese innerhalb von drei bis maximal sechs Wochen fast vollständig aufgelöst und resorbiert werden. Somit störten sie den postoperativen Verlauf, trotz des langsamen Fibrinolyse- und Resorptionszeitraums, kaum. Zu erwähnen ist allerdings, dass der Fibringehalt in der Vorderkammer und im Glaskörperraum an mehreren definierten postoperativen Zeitpunkten jeweils durch eine subjektive Spaltlampenuntersuchung durch dieselbe Person erfasst wurde, um trotz der subjektiven Beurteilung eine Vergleichbarkeit zu erhalten.

Betrachtet man die Kataraktrate der Verträglichkeitsstudie, fällt auf, dass ausschließlich durch Berühren der Linse mit dem Operationsbesteck iatrogen bedingte Katarakte verursacht wurden. Leider führten diese je nach Ausmaß häufig zu verfälschten ERG-Ergebnissen und meist zu einer schwer bis teilweise sogar unmöglichen OCT- und Spaltlampenuntersuchung, was trotz intakter Netzhaut zu vermeintlich schlechteren Ergebnissen der in-vivo Untersuchungen zur Folge hatte. Die relativ hohe Rate an intraoperativ verursachten Linsentouchs ist auf die im Verhältnis zum menschlichen

Auge größere und konvexere Linse des Kaninchenauges zurückzuführen. Dies führt zu einer deutlich schwierigeren Handhabung der für den Humanbedarf angefertigten Operationsinstrumente im Auge. Im ERG kann eine sehr dichte Katarakt zu einer Reduktion oder bei noch etwas lockereren, beginnenden Katarakten zu einer leichten Erhöhung der ERG-Amplituden führen. Diese Erhöhung der ERG-Kurven bei leichten Katarakten wurde 1967 von Rubin et al. mit der Streuung der einfallenden Lichtstrahlen erklärt, welche im Umkehrschluss zu erhöhten Reizen an der auf die Kornea aufgesetzte Elektrode führt. In Fällen mit schon sehr dichter Trübung der Linse, wurde der Zustand des Auges nach dem Aufschneiden makroskopisch beurteilt. Hierbei konnte meist kein ERG mehr abgeleitet und keine OCT-Untersuchung mehr durchgeführt werden. Dies führte so zu einer relativen Minderung der ERG- und OCT-Ergebnisse bei teilweise intakten und potentiell physiologisch arbeitenden Netzhäuten.

In der Verträglichkeitsstudie konnte bei vier der achtzehn Kaninchen eine postoperative Netzhautablösung nachgewiesen werden. In vielen Fällen konnten die Anzeichen einer postoperativen Netzhautablösung schon frühzeitig festgestellt werden, weshalb drei der Tiere mit frühzeitigen Ablösungsanzeichen in die Verträglichkeitsgruppe über einen Monat genommen wurden, um ihnen eine längere Untersuchungsperiode zu ersparen. Damit wurde bei einem relativ hohen Anteil von 3/6 der Tiere der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat eine Netzhautablösung festgestellt. In der Dreimonatsgruppe der Verträglichkeitsstudie konnte bei lediglich einem der sechs Tiere post mortem eine Netzhautablösung festgestellt werden. Bei diesem Tier waren die Untersuchungsmöglichkeiten in vivo sowie die Einsicht in das Innere des Auges aufgrund einer stark ausgeprägten Kataraktentwicklung nur sehr schlecht bis gar nicht gegeben. Positiv zu beurteilen ist, dass bei allen sechs Tieren der Verträglichkeitsstudie über sechs Monate eine vollständige Anlage sowie ein histologisch nahezu physiologischer Zustand aller Netzhäute erzielt werden konnte.

Um die intraokulare Verträglichkeit des eingesetzten Hydrogels auf die inneren Strukturen des Auges und insbesondere der Netzhaut noch besser bewerten zu können, stellte die histologische Untersuchung einen weiteren wichtigen Parameter dar. Diese setzte sich aus der HE-Färbung als Übersichtsfärbung zur Beurteilung der Netzhautstruktur, der anti-GFAP-Färbung zur Darstellung des Müllerzellanteils bzw. deren Aktivität und damit der Beurteilung des Ausmaßes der gliotischen Reaktionen der Netzhaut sowie der dritten Färbung der anti-Brn3a-Färbung, welche die retinalen Ganglienzellen markiert und somit als ein wichtiger Parameter zur Beurteilung der Netzhautvitalität fungiert, zusammen.

Um die anti-GFAP-Färbung auswerten zu können, wurden mehrere Verfahren durchdacht. Aufgrund der besseren Beurteilbarkeit und um falsch-positive Ergebnisse minimieren zu können wurden drei voneinander unabhängige Personen zur Beurteilung der einzelnen histologischen Bilder in einer 200x Vergrößerung herangezogen. Hierbei fließt zwar das individuelle Empfinden und die Wahrnehmung der einzelnen Personen mit ein, es kommt jedoch nicht, wie bei einem automatisierten Programm, das die Farbintensität des gesamten Bildes misst, zu falschpositiven Ergebnissen. Alle Augen, die aufgrund totaler Ablatio retinae mit starker Narbenbildung nicht mehr anzufärben waren, wurden mit der Note sechs bewertet. Hierbei konnte in allen Gruppen der Verträglichkeits- als auch der Wirksamkeitsstudie zwar ein \*\* signifikanter bis \*\*\* signifikanter Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen festgestellt werden ohne aber, dass die Absolutwerte stark unterschiedlich wurden. Dies lässt auf eine gute Verträglichkeit mit abklingenden Reizzuständen schließen, die neben der eingegebenen Glaskörpertamponade ebenso durch den operativen Eingriff verursacht wurden.

Das glial fibrillary acidic Protein ist, wie von Björklund et al im Jahre 1984 beschrieben, die Hauptkomponente der astrozytären Zwischenglieder und wird in physiologisch vorliegendem Zustand der Säugetiernetzhaut kaum bis gar nicht vorgefunden. Eine stärkere Intensität kann, wie von Chang et. al. (2006) dargelegt, durch die Erhöhung der GFAP-Expression bei Aktivierung der Müllerzellen erklärt werden. Hypoxische oder traumatische Zustände der Netzhaut führen zu einer solchen Aktivierung der Müllerzellen und reflektieren eine Änderung der metabolischen Vorgänge der Zellen der Netzhaut. Ebenso führt eine Netzhautablösung, vermutlich durch den einsetzenden hypoxischen Zustand sowie den traumatischen Reiz der Zellen, zu einer Aktivierung der Gliazellen. Folglich kommt es innerhalb von wenigen Minuten, bis Stunden oder sogar Tage zu einer beginnenden Gliose (Iandiev et al. 2006). Dies führt zu einer Hochregulation der Immunreaktivität an GFAP und Vimentin sowie zu einer subretinalen Fibrose. Im Gegenzug wird dabei die Proteinexpression, die vor allem für die Homöostase und glioneuronale Interaktionen involviert sind, herunterreguliert. Es kommt zu einer veränderten Membrandurchlässigkeit, da dabei normalerweise einwärtsgerichtete  $K^+$ -Transporter der Plasmamembranen gestört werden, welche zur Aufrechterhaltung des hyperpolarisierten Membranpotentials sowie das Abpuffern von extrazellulärem  $K^+$  verantwortlich sind. Es entsteht eine Depolarisation sowie eine erhöhte intrazelluläre  $Ca^{2+}$ -Empfänglichkeit (Francke et al. 2002). Damit kommt es schlussendlich zur Erregung der Zelle und einer Glutamatexzitoxizität. Die Gliose bedingt somit nach und nach ein Absterben der Neuronen, deren Axone und Synapsen.

Durch die gleichzeitig entstandene subretinale Fibrose werden regenerative Vorgänge der äußeren Segmente der Retina verhindert (Iandiev et al. 2006). Da die Kaninchenretina beinahe avaskulär ist, geht man von deutlich aggressiveren hypoxischen Zuständen nach einer Netzhautablösung im Vergleich zur gut vaskularisierten und damit deutlich robusteren menschlichen Netzhaut, aus (Dixon et al. 1981).

Das Brn3a-Protein gehört den POU-Domänen-Transkriptionsfaktoren der retinalen Ganglienzellen an und wird von allen postmitotischen RGZ exprimiert (Quina et al. 2005). Damit gilt die anti-Brn3a-Färbung von retinalem Gewebe als spezifische Färbung für vitale Ganglienzellen. Ganglienzellen sind aufgrund ihres hohen Stoffwechselumsatzes, welcher vor allem über oxidative Phosphorylierung in den Mitochondrien abläuft, sehr anfällig für einen Mangel an Sauerstoff und Stoffwechselprobleme. Kuehn et al. beschrieb im Jahre 2005, dass eine Aktivierung der retinalen Gliazellen unter anderem zum Absterben von RGZ führen kann, da die unterstützende Funktion der Gliazellen vermindert wird und die Synthese von zytotoxischen Stoffen wie z.B. Zytokinen oder Stickstoffmonoxid zur Folge hat.

Obwohl über die immunhistologische anti-GFAP-Färbung eine deutliche Aktivierung der Müllerzellen festgestellt wurde, konnte über die Auszählung der Ganglienzellen bei keiner Untersuchungsgruppe der Verträglichkeitsstudie ein signifikanter Unterschied der RGZ-Anzahl zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen festgestellt werden. In den Untersuchungsgruppen über drei und sechs Monate konnten beinahe gleiche Ergebnisse erzielt werden. Lediglich in der Untersuchungsgruppe über einen Monat lagen die ausgezählten Ganglienzellwerte der operierten Augen mit durchschnittlich 43,27 Ganglienzellen pro Bild etwas unter denen der jeweiligen Partneraugen, mit durchschnittlichen 52,09 Ganglienzellen pro Bild. Die hohe Standardabweichung von 9,61 der vier ausgewerteten Augenpaare dieser Gruppe bestätigt eine hohe Differenz zwischen den unterschiedlichen Augen. Diese Differenz liegt vermutlich daran, dass eines der vier untersuchten Tiere eine fast komplette Netzhautablösung erlitt, welche vermutlich trotz der makroskopisch intakten Netzhautstruktur zum Ganglienzelluntergang führte. Für die Auswertung wurde pro Auge jeweils aus einer annähernd ähnlichen Position der Netzhaut ein Objektträger mit je zwei Schnitten angefärbt. Pro Auge wurde je ein histologischer Schnitt ausgewertet indem die RGZ anhand von zehn Bildern in der 200x Vergrößerung des angefärbten Schnittes ausgezählt wurden. Da die Augen nach der Entnahme und der Fixierung immer manuell in 1/3 und 2/3 geteilt wurden und von den 2/3 die histologischen Schnitte

angefertigt wurden, war zwar immer eine ähnliche aber keine genormte Schnittposition gegeben. Kleinere, nicht vermeidbare Unterschiede der RGZ-Anzahl zwischen den verschiedenen Schnitten der Netzhaut können so erklärt werden.

Die Dicke der Netzhaut kann unter anderem Hinweise auf viele krankheitsbedingte Veränderungen der Netzhaut geben. So liegt bei einer Verdickung der Netzhaut z.B. der Verdacht auf ein retinales Ödem oder eine retinale Gliose, bei einer Ausdünnung hingegen der Verdacht einer Photorezeptoratrophie oder ein Verlust von Ganglienzellen wie bei einem Glaukom nahe. Zustände, in der die Blut-Retina-Schranke der retinalen Kapillaren oder des Pigmentepithels gestört werden, können zu einem Flüssigkeits- und Proteinaustritt aus den Gefäßen in das Netzhautgewebe führen. In vielen Fällen hat dies unter anderem eine Störung des Netzhautstoffwechsels zur Folge (Marmor et al. 1999). Zur retinalen Gliose kann es bei verletzungsbedingten Reparaturzuständen der Netzhaut kommen, welche durch eine Überexpression der Intermediärfilamente, wie z.B. dem Glial Fibrillary Acidic Protein (GFAP) oder dem Vimentin, gekennzeichnet sind. Eine Gemeinsamkeit vieler Netzhauterkrankungen ist die durch reaktive Müllerzellen verursachte und nicht behandelbare Gliose der Netzhaut, welche zur Narbenbildung innerhalb der einzelnen Netzhautschichten und damit zu Einschränkungen der Netzhautfunktion, bis hin zur Erblindung führen kann (Bargagna-Mohan et al. 2010). Im Gegensatz dazu kann es aufgrund von toxischen oder stoffwechselbedingten Störungen der Photorezeptoren zu einem Verlust an Stäbchen und Zapfen kommen, welche eine Ausdünnung der Netzhaut zur Folge haben kann. Ebenso kann ein dauerhaft zu hoher IOP, der auf der Netzhaut lastet, zu einer Netzhautdegeneration mit folgender Ausdünnung führen. Da ein erhöhter intraokularer Druck eine Minderperfusion der retinalen Zellen bewirkt, führt dies häufig zum Zelltod der empfindlichen Ganglien- und / oder Photorezeptorzellen. In der Verträglichkeitsstudie ließ sich kein signifikanter Unterschied zwischen den durchschnittlichen Werten der Netzhautdicke der operierten und der nicht operierten Partneraugen feststellen. Dies lässt ebenso eine gute Verträglichkeit ohne toxische Nebenwirkungen oder allzu starke Stoffwechselstörungen des Hydrogels „ViBos-strong“ vermuten.

Betrachtet man nun die Ergebnisse der elektrophysiologischen Untersuchungen des Elektroretinogramms, lassen sich ebenso gute Rückschlüsse auf die Verträglichkeit der Glaskörpertamponade „Vibos-strong“ ziehen. Das ERG galt in dieser Studie als äußerst wichtiger Parameter für die Verträglichkeit der eingegebenen Glaskörpertamponade, da hiermit die Vitalität sowie die Funktionalität der Netzhaut untersucht und dargestellt werden kann. In der Verträglichkeitsstudie über einen Monat wurden mit zwei komplett

erloschenen ERG's, einem stark reduzierten sowie einem nur leicht reduzierten und zwei vollkommen unauffälligen Ableitungen das schlechteste Ergebnis der Verträglichkeitsstudie festgestellt. Zu erwähnen ist, dass bei beiden Tieren mit vollkommen erloschenem ERG eine vollständige Netzhautablösung sowie eine Katarakt vorlag. Ebenso lag bei dem Tier mit stark reduziertem ERG eine fast vollständige Netzhautablösung vor. Damit kann die starke ERG-Verschlechterung erklärt werden, da zum einen eine mature Katarakt die Lichtreize vollständig reflektiert und die Netzhaut zudem nicht mehr in einer funktionstüchtigen Lage vorlag. In der Dreimonatsgruppe konnte bei drei der sechs untersuchten Tiere ein unauffälliges, bei zwei Tieren ein leicht reduziertes und bei lediglich einem Tier ein erloschenes ERG dokumentiert werden. Auch in dieser Gruppe lag bei dem Tier mit vollständig erloschenem ERG eine vollständige Netzhautablösung sowie eine Katarakt vor und bei beiden Tieren mit leicht reduziertem ERG eine beginnende Katarakt vor. Erfreulicherweise konnten die besten Ergebnisse in der Sechsmonatsgruppe gesehen werden. Hier konnten bei vier Kaninchen vollkommen unauffällige sowie bei zwei Kaninchen nur leicht reduzierte Amplituden abgeleitet werden. Bei beiden Tieren lag auch in dieser Gruppe eine feine Trübung der hinteren Linsenkapsel vor, welches eine leichte Verschlechterung der Ablesbarkeit des ERG's zur Folge haben kann.

Dies bedeutet, dass bei neun der achtzehn untersuchten Kaninchen der Verträglichkeitsstudie ein vollkommen unauffälliges ERG abgeleitet werden konnte. Betrachtet man nun die ganz exakte Analyse der Amplituden jeder einzelnen Messung, so fällt auf, dass beim Vergleich der operierten und deren nicht operierten Partneraugen leichte Unterschiede festgestellt wurden. In der Versuchsgruppe über einen Monat konnte bei den skotopisch gemessenen Gipfelzeiten der a- sowie der b-Wellenamplituden des Standardflashes und zusätzlich bei den photopisch gemessenen Gipfelzeiten der b-Wellenamplituden des Einzelblitzsteps signifikante Unterschiede zwischen den operierten und den nicht operierten Augen festgestellt werden. In der Dreimonatsgruppe bestanden signifikante Unterschiede zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen bei den skotopisch gemessenen Gipfelzeiten der b-Wellenamplituden des Standardflashes. Erfreulicherweise konnte in der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate zu keinem Untersuchungszeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den rechten und linken Augen festgestellt werden.

Weiterhin ist kritisch zu betrachten, dass es aufgrund der recht hohen Kataraktrate teilweise zu verfälschten Ergebnissen kam. Dies liegt daran, dass eine komplett oder teilweise getrübe Linse, die Lichtreize der Elektroden nicht mehr aufgenommen werden

können oder teilweise sogar zu stark reflektiert werden.

### **3. Diskussion zur Bewertung der Wirksamkeit der getesteten Hydrogele im Vergleich zum Silikonöl im Ablatiomodell**

Die Effektivität der im Versuch angewandten Tamponaden wurde im Ablatiomodell getestet, in dem intraoperativ eine Netzhautablösung induziert und die Netzhaut anschließend per Drainage der subretinalen Flüssigkeit, Endolaserung des Foramens sowie mit Hilfe der eingegebenen Glaskörpertamponade wieder angelegt wurde. Analog zur Erörterung der Verträglichkeit wurde die Auswertung und Bewertung der Wirksamkeit durchgeführt.

Betrachtet man den postoperativen Verlauf des intraokularen Druckes der verschiedenen Gruppen des Ablatiomodells, fällt vor allem in der Silikonölgruppe zu jedem postoperativen Untersuchungszeitpunkt ein \*\* - \*\*\* signifikanter Unterschied zwischen den Werten des IOP's der operierten Augen im Vergleich zu ihren nicht operierten Partneraugen auf. Die niedrigeren IOP-Werte lassen sich aufgrund der hohen Rate an Netzhautablösungen und damit verbundenen möglichen intraokularen Entzündungsreaktionen erklären. In der „ViBos-strong“-Gruppe bestand bis eine Woche nach dem operativen Eingriff ebenso ein \*\*\* signifikanter Unterschied des IOP's zwischen beiden Augengruppen, welcher sich bis zur Abschlussuntersuchung nach einem Monat wieder regulierte. Im Gegensatz dazu konnte in der „ViBos-soft“-Gruppe nur bis zum dritten postoperativen Untersuchungstag ein \*\*\* signifikanter Unterschied festgestellt werden. Der Quellfaktor des „ViBos soft“ Hydrogels beträgt in vitro 1,54 (Angaben des Herstellers des Gels Firma Croma, Pharma, Leobendorf, Österreich). Dies lässt auf gute tamponierende Eigenschaften sowie eine gute Verträglichkeit der Hyaluronsäuregele schließen.

Die Kataraktrate der Silikonölgruppe lag wie auch die Ablatorate mit sieben von acht Tieren recht hoch. Bei sechs der sieben Tiere, die postoperativ eine Katarakt entwickelten, konnte bei der makroskopischen Beurteilung der eröffneten Augen eine totale Netzhautablösung mit einer massiv vernarbten und der Linse direkt aufliegenden Netzhaut vorgefunden werden. Dadurch konnte unter anderem die physiologische Nähr- und Sauerstoffversorgung über das Kammerwasser des hinteren Linsenanteils nicht aufrechterhalten werden, welches die Kataraktentwicklung vermutlich zusätzlich begünstigte.

Grundsätzlich stellt sich die Frage, ob es postoperativ zuerst zum entzündlichen Geschehen kommt, welches eine Netzhautablösung sowie eine Kataraktentwicklung zur

Folge hat oder ob erst infolge einer Netzhautablösung eine Kataraktentwicklung und anschließend entzündliche Reaktionen entstehen. Bei dem Tier, das postoperativ eine Katarakt ohne vollständiges Aufliegen der abgelösten Netzhaut auf der Linse entwickelte, wird eine Verbindung zur Glaskörpertamponade, dem Silikonöl, vermutet. Die genaue Pathogenese der Kataraktentwicklung am postvitrektomierten Auge mit Silikonöltamponade ist derzeit noch unklar. Man weiß aber, dass der Einsatz von Silikonöl als Glaskörpertamponade einen begünstigenden Effekt auf die Entwicklung einer Katarakt hat (Petermeier et al. 2010, Effert et al. 1992). Die Rate einer Kataraktentwicklung nach vitreoretinalem Eingriff wird in verschiedenen Quellen unterschiedlich hoch beschrieben. Schachat et al. 1983 stellten elf Monate nach einer PPV eine ausgeprägte Linsentrübung bei 17 % der Augen fest. Blankenship und Machemer stellten im Jahre 1985 sogar in 75 % der untersuchten Fälle eine Kataraktentwicklung innerhalb von zehn Jahren fest. Im Jahre 1997 konnten Freeman et al. eine Kataraktrate von 75 % nach einem Jahr und nach zwei Jahren sogar eine Kataraktrate von 95 % nachweisen. Dies spricht sehr für einen Zusammenhang zwischen dem eingegebenen Silikonöl und der Begünstigung einer Kataraktentwicklung.

In der „ViBos-strong“-Gruppe der Wirksamkeitsstudie konnte nach einem Monat bei einem Tier eine Kataraktentwicklung festgestellt werden. In diesem Fall konnte bei der makroskopischen Beurteilung eine totale Netzhautablösung mit Narbenbildung und eine komplette Katarakt mit Kerntrübung festgestellt werden. Hierbei handelte es sich zusätzlich um eine intraoperativ verursachte Katarakt. Bei drei weiteren Tieren dieser Gruppe konnten feine, kleine Trübungen der hinteren Linsenkapsel festgestellt werden, die meist vor allem im Randbereich vorzufinden waren. Diese zeigten keine Auswirkungen auf das ERG, die Spaltlampen- oder die OCT-Untersuchung. In der „ViBos-soft“-Gruppe konnte hingegen bei zwei der sieben Tiere eine beginnende Katarakt festgestellt werden. Bei einem dieser beiden Tiere handelte es sich um eine lockere Trübung der hinteren Linsenkapsel, welche im ERG zu leicht erhöhten Werten führte. Beim zweiten Tier dieser Gruppe mit beginnender Katarakt kann die Ursache auf intraoperatives Berühren der hinteren Linsenkapsel mit dem Operationsbesteck zurückgeführt werden.

Damit besitzen die beiden untersuchten Hydrogele auf Hyaluronsäurebasis eine deutlich niedrigere Rate an postoperativ entwickelten Katarakten als der derzeitige Goldstandard, das Silikonöl. Dies lässt neben einer guten Zusammensetzung und Verträglichkeit ebenso auf gute tamponierende Eigenschaften der untersuchten

Hyaluronsäuregele schließen. Allerdings lässt die hohe Kataraktrate und deren Einfluss auf die Ergebnisse die Überlegung zu, dass es aus Sicht der Ergebnis- und Befunderhebung sinnvoll gewesen wäre, die PPV mit einer Linsenextraktion zu kombinieren, um eine schlechte bis nicht mehr mögliche Einsicht ins Auge durch die Entwicklung einer Katarakt zu verhindern. Dies hätte die Beurteilbarkeit des postoperativen Zustandes der Augen und die Aussagekraft der elektrophysiologischen Untersuchungen deutlich verbessert. Es ist aber hinzuzufügen, dass eine zusätzliche Extraktion der Linse einen deutlich invasiveren Eingriff am Auge bedeuten würde, welcher mit zusätzlichen Operationsrisiken und -folgen verbunden ist. Im aphaken Auge könnte es möglicherweise nach Eingabe der Gele in den Glaskörperaum zum Eindringen von Gelbestandteilen in den Schlemm-Kanal kommen, was wiederum einen erhöhten intraokularen Druck und ggf. weitere Entzündungsreaktionen verursachen könnte.

Im Ablatiomodell lag die Rate an postoperativen Reablationes in der Silikonölgruppe sieben der acht untersuchten Tiere sehr hoch. Im Vergleich dazu lag die Rate an Reablationes der „ViBos-strong“-Gruppe mit drei von acht Tieren, deutlich unter der der Silikonölgruppe. Es ist hinzuzufügen, dass es sich bei zwei der drei vorgefundenen Netzhautablösungen dieser Untersuchungsgruppe lediglich um partielle Reablationes handelte. In der „ViBos-soft“-Gruppe konnte mit einem der sieben operierten Tiere das beste Ergebnis an effektiver Netzhautanlage der Wirksamkeitsstudie erzielt werden.

Insgesamt lassen die besseren Ergebnisse beider untersuchten Hyaluronsäuregele im Vergleich zum Silikonöl auf gute tamponierende Eigenschaften und damit auf eine gute Wirksamkeit schließen. Dies wird durch die beiden partiellen Reablationes der Wirksamkeitsgruppe des „ViBos-strong“-Gels zusätzlich betont, da die Tamponade möglicherweise das Ausmaß und die Progression der Ablatio begrenzt hat. In der Wirksamkeitsstudie konnte, vermutlich durch die gesetzte Netzhautablösung und die direkte Manipulation der Netzhaut, eine ausgeprägte Steigerung der Müllerzellaktivität zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen festgestellt werden. Die stärksten Reaktionen der Müllerzellen wurden in der Silikonölgruppe festgestellt. Die Steigerung der Müllerzellantwort lässt sich neben starken Reaktionen der abgelösten Netzhäute, vor allem auch damit erklären, dass aufgrund der sehr hohen Rate an Netzhautablösungen lediglich drei der acht operierten Tiere mit dieser histologischen Färbung untersucht und beurteilt werden konnten und somit die restlichen Tiere mit der Note 6 bewertet wurden. Eine deutliche Steigerung konnte ebenso in beiden Wirksamkeitsgruppen der getesteten Hydrogele festgestellt werden. In der Gruppe, die

intraoperativ das Hyaluronsäuregel „ViBos-strong“ erhielt, konnte eine Steigerung der operierten Augen mit einer durchschnittlichen Bewertung von 3,29 im Vergleich zu 1,69 der nicht operierten Partneraugen, entsprechend 48,63%, festgestellt werden. Mit einer prozentualen Steigerung der Farbintensität der mit „ViBos-soft“ operierten Augen um 58,43% im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen und einer durchschnittlichen Bewertung von 3,44 der operierten Augen im Vergleich zu 1,43 der Partneraugen, lässt sich ebenso eine deutlich höhere Intensität der Färbung und damit eine deutlich höhere Aktivität der Müllerzellen feststellen. Damit schneiden beide Gele, vor allem aber das „ViBos-strong-Gel“ in dieser Untersuchung deutlich besser ab als das Silikonöl.

Iandiev et al. (2006) zeigte in einer Studie mit intraoperativ gesetzten Netzhautablösungen bei Schweinen, dass es postoperativ infolge einer Netzhautablösung zügig zu einem deutlichen Anstieg der GFAP-Expression kommt. Als mögliche Ursache für den Photorezeptorabbau und die Müllerzellaktivierung vermutete er einen hypoxischen Zustand des betroffenen Netzhautgewebes. Außerdem beschrieb er, dass in der nur partiell vaskularisierten und teilweise avaskulären Netzhaut der Kaninchen mit extremeren Reaktionen gerechnet werden müsse, als beim Menschen. Dies erklärt er damit, dass beim Menschen die Blutversorgung nach einer Netzhautablösung aufgrund der vaskularisierten Netzhaut nicht sofort unterbrochen ist und es damit zu weniger ausgeprägten Reaktionen nach einer Netzhautablösung kommt.

In der Wirksamkeitsstudie konnte hinsichtlich der Anzahl an RGZ in der Silikonölgruppe mit einem p-Wert von 0,057 bei einem Signifikanzniveau von 0,05 nur knapp kein signifikanter Unterschied zwischen den operierten Augen und deren nichtoperierten Partneraugen festgestellt werden. In beiden Ablatiomodell-Gruppen mit den eingesetzten Hydrogelen konnten allerdings signifikante Unterschiede zwischen den operierten und den nicht operierten Partneraugen festgestellt werden. Die Betrachtung der Anzahl an retinalen Ganglienzellen der Gruppe des „ViBos-strong“-Gels zeigt einen \* signifikanten Unterschied zwischen den operierten und nicht operierten Partneraugen. Die „ViBos-soft“-Gruppe schnitt bei dieser histologischen Untersuchung am schlechtesten ab. Hier ließ sich mit einem p-Wert von 0,011 und durchschnittlichen 36,40 RGZ je Schnittbild der Netzhaut der operierten Augen im Vergleich zu durchschnittlichen 63,55 RGZ je Schnittbild der Netzhaut der nicht operierten Partneraugen ein \* signifikanter Unterschied darstellen. In einer früheren Biokompatibilitätsuntersuchung von „ViBos-soft“ zeigte dieses aber keine negativen Auswirkungen auf Ganglienzellen bzw. die innere Netzhaut. Diese Untersuchungen fanden früher statt und waren nicht Bestandteil dieser Arbeit. In der Silikonölgruppe

konnte mit einem p-Wert von 0,060 nur knapp kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Wobei betont werden sollte, dass aufgrund der hohen Netzhautablösungsrate mit vollständiger Verklebung der Netzhaut mit der Linse, diese Färbung bei lediglich drei Augenpaaren durchgeführt werden konnte. Bei beiden anderen Versuchsgruppen konnten die Augen mit vorliegender Netzhautablösung aufgrund der fehlenden Verklebung der Netzhaut mit der Linse trotzdem histologisch untersucht und ausgewertet werden.

Die schlechtere Rate der Wirksamkeitsstudie im Vergleich zur Verträglichkeitsstudie lässt sich vor allem durch die Umbauvorgänge aufgrund des gesetzten Reizes durch die intraoperativ verursachte Netzhautablösung erklären. Gleichzeitig muss betont werden, dass die „ViBos-soft“-Gruppe der Wirksamkeitsstudie mit deutlich stärkeren Umbauvorgängen und einer erheblichen Dickenzunahme der Netzhaut einhergeht. Dies lässt sich sicherlich mit dem intraoperativ gesetzten Reiz vereinbaren, allerdings ist die Stärke der Reaktionen an den Netzhautzellverbänden ebenso auf entzündliche sowie metabolisch bedingte Veränderungen des Netzhautmilieus zurückzuführen.

Bezüglich der Netzhautschichtdicke ließ sich in der Wirksamkeitsstudie ein \*\*\* signifikanter Unterschied zwischen den operierten und den nicht operierten Augen der „ViBos-soft“-Gruppe mit einem p-Wert von 0,0008 feststellen. Mögliche Ursachen hierfür könnten neben einem zu hohen IOP auch toxische Eigenschaften des Gels oder stoffwechselbedingte Störungen sein. Allerdings konnte eine Toxizität in den bereits weiter oben erwähnten Untersuchungen am Kaninchen ausgeschlossen werden. Es konnte postoperativ bei keinem Tier ein dauerhaft zu hoher IOP der operierten Augen dieser Gruppen festgestellt werden. Ebenso ließen sich in der HE-Färbung keine pathologischen Auffälligkeiten der Zellverbände darstellen. Um der Ursache der dünneren Netzhäute dieser Gruppe auf den Grund zu gehen wären weiterführende Untersuchungen sinnvoll. Insgesamt lässt die Beurteilung der Netzhautdicke auf eine gute Verträglichkeit des „ViBos-strong“-Gels schließen, welche nicht zu einer überschießenden Proliferation oder einer Ausdünnung führte.

Ebenso wie in der Verträglichkeitsstudie beschrieben, gelten auch in der Wirksamkeitsstudie die ERG-Untersuchungen als äußerst wichtiger Parameter um die Effektivität der eingegebenen Glaskörpertamponaden miteinander vergleichen und bewerten zu können. Schon zu Beginn der Auswertung fiel auf, dass in der Silikonölgruppe bereits bei sechs der acht untersuchten Tiere keine Amplituden mehr abgeleitet werden konnten. Bei einem weiteren Kaninchen konnte ein stark reduziertes und bei lediglich einem Tier ein gänzlich unauffälliges ERG abgeleitet werden. In der

„ViBos-strong“-Gruppe wurde bei fünf Tieren ein leicht reduziertes, bei zwei Tieren ein stark reduziertes und bei einem Tier ein vollkommen erloschenes ERG festgestellt. In der „ViBos-soft“-Gruppe konnte ebenso bei einem einzigen der sieben untersuchten Tiere (das eine Ablatio aufwies) ein erloschenes, bei drei Tieren ein stark reduziertes und bei drei weiteren Tieren ein lediglich leicht reduziertes ERG abgeleitet werden.

Betrachtet man nun die genaue Analyse zwischen den operierten und nicht operierten Augen aller gemessenen Steps einen Monat post operationem, so schneidet die Silikonölgruppe im Vergleich zu den beiden getesteten Hyaluronsäuregelgruppen deutlich schlechter ab. In der Silikonölgruppe fielen sowohl in den verschiedenen skotopischen als auch in den photopischen Messungen \*\* signifikante Unterschiede zwischen den operierten und unbehandelten Augen auf, welche auf eine deutliche Minderung der Funktionalität sowie der Vitalität der Netzhaut schließen lassen. In der „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells konnte ein \* signifikanter Unterschied der skotopisch gemessenen a-Wellenamplituden des Standardflashes sowie sehr signifikante Unterschiede der a- und b-Wellenamplituden des photopischen Einzelblitzsteps sowie im 30 Hz Flicker festgestellt werden. Bei Betrachtung der Auswertung der Amplituden der „ViBos-soft“-Gruppe fiel vor allem ein \* signifikanter Unterschied der a-Wellenamplituden des skotopischen Standardflashes sowie der photopisch gemessenen Gipfelzeiten der b-Wellenamplituden des Einzelblitzsteps bei 3 cd.s/m<sup>2</sup> auf.

Um eine genaue Aussage über den Vergleich der Einzelnen Glaskörpertamponaden treffen zu können wurden zur Auswertung alle Ergebnisse der operierten Augen der drei getesteten Tamponaden gegenübergestellt und verglichen. Hierbei konnte vor allem bei den Gipfelzeiten der photopisch gemessenen a-Wellenamplituden des Einzelblitzsteps bei 3cd.s/m<sup>2</sup> signifikante Unterschiede zwischen den getesteten Hydrogelen „ViBos-soft“ und „ViBos-strong“ und dem Silikonöl festgestellt werden. Dies lässt vor allem eine Beeinträchtigung des Zapfensystems und deren Reaktionsfähigkeit sowie Reaktionszeit vermuten.

#### **4. Schlussfolgerung**

Zusammenfassend betrachtet, schneidet das „ViBos-strong“-Gel in der Verträglichkeitsstudie sowie in der Wirksamkeitsstudie auffällig gut ab. In der Wirksamkeitsstudie lässt die hohe Rate an erfolgreich angelegten Netzhäuten nach intraoperativ gesetztem Netzhautloch und -Ablösung mit 63% im Vergleich zu 13% des Silikonöls, sehr gute Eigenschaften dieser Glaskörpertamponade erhoffen. Hierzu sollten allerdings noch weitere Studien durchgeführt werden. Unter anderem sollten

unbedingt Langzeitversuche hinzugezogen werden, um besser beurteilen zu können, ob das Gel auch zur Langzeittamponade geeignet und langfristiger Verbleib ohne Entfernung möglich ist.

Weiter sollte geklärt werden, wie das eingegebene Hyaluronsäuregel bei einem akzidentiellen intra- oder postoperativen Unterlaufen unter die Netzhaut wieder entfernt werden kann. Aufgrund der anderen Netzhautphysiologie des Kaninchens im Vergleich zu der des Menschen (wie unter Kap. II 1.3. beschrieben), wäre es zusätzlich sinnvoll Verträglichkeitsstudien in einem dem Menschen noch ähnlicherem Modell (z.B. in Schweineaugen) durchzuführen.

Sind die obengenannten Fragen geklärt, ist eine Testung des in dieser Studie besser abschneidenden „ViBos-strong“-Gels an den Augen einer weiteren Spezies wie z.B. an Schweinen und anschließend im menschlichen Auge zu diskutieren

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

Ziel dieser Arbeit war es einen Glaskörperersatzstoff auf Basis quervernetzter Hyaluronsäure auf seine Verträglichkeit und Wirksamkeit an einem eigens etablierten Modell zu testen. Alle Untersuchungen erfolgten an jungen weiblichen Chinchilla Kaninchen.

Um schon vorherige bzw. angeborene Beeinträchtigungen ausschließen zu können, wurden zu Beginn der Studie die Augen aller Kaninchen eingehend ophthalmologisch voruntersucht. Es wurde der intraokulare Druck gemessen und jeweils eine komplette ERG-, OCT- und Spaltlampenuntersuchung durchgeführt.

Die Verträglichkeitsstudie setzte sich aus drei Gruppen mit jeweils sechs Kaninchen zusammen, welche in einen postoperativen Beobachtungszeitraum von einem, drei oder sechs Monaten nachuntersucht wurden. Das jeweils rechte Auge aller Kaninchen wurde operiert indem via Pars Plana Vitrektomie der Glaskörper entnommen und anschließend die Glaskörpertamponade „ViBos-strong“ eingegeben wurde. In der Wirksamkeitsstudie, dem sogenannten Ablatiomodell, wurde als Glaskörpertamponade entweder „ViBos-strong“, „ViBos-soft“ oder Silikonöl eingegeben. Um hierbei die Wirksamkeit der Glaskörpertamponade testen zu können, wurde vor Eingabe der Tamponade eine Netzhautablösung induziert, indem nach Entnahme des Glaskörpers eine kleine Retinotomie gesetzt und diese mit physiologischer Kochsalzlösung unterspült wurde. Die so verursachte umschriebene Netzhautablösung wurde im Anschluss mittels Drainage der subretinalen Flüssigkeit, Behandlung des Foramens mit Hilfe eines Endolasers und der jeweils eingegebenen Glaskörpertamponade wieder angelegt. Der Erfolg der Netzhautanlage wurde über einen postoperativen Beobachtungszeitraum von einem Monat und mehreren Nachuntersuchungszeitpunkten bewertet. Das jeweils nicht operierte linke Partnerauge jedes Kaninchens diente dabei immer als Kontrollauge, um einen direkten Vergleich zu ermöglichen.

Bereits die guten Ergebnisse der ERG-, OCT-, Spaltlampenuntersuchungen sowie die Messung des intraokularen Druckes ließen auf eine gute Verträglichkeit des Gels „ViBos-strong“ in vivo schließen. Dies konnte durch die positiven histologischen Untersuchungen bestätigt werden. Es konnte gezeigt werden, dass das getestete Hydrogel, eine sehr gute Verträglichkeit, ohne toxische Eigenschaften auf das Augeninnere und die Netzhaut aufweist. Zusätzlich wurden in der Wirksamkeitsstudie gute tamponierende Eigenschaften der untersuchten Gele gezeigt. Zudem konnte in der

Wirksamkeitsstudie eine deutlich höhere Erfolgsrate mit elf von fünfzehn erfolgreich angelegten Netzhäuten nach intraoperativ induzierter Netzhautablösung im Vergleich zur Erfolgsrate mit einer von acht erfolgreich angelegten Netzhäuten der Silikonölgruppe, erzielt werden. Das Hyaluronsäuregel „ViBos-soft“ konnte zwar mit sehr guten tamponierenden Eigenschaften und einer Rate von 86% an postoperativ angelegten Netzhäuten punkten, leider mussten aber ausgeprägte Veränderungen in den elektrophysiologischen Untersuchungen notiert werden, wobei diese aber am ehesten auf die Netzhautpathologie durch die Ablatio retinae zurückzuführen sind.

Schließlich sollten die guten optischen Eigenschaften der beiden getesteten Hydrogele auf Hyaluronsäurebasis betont werden, welche nahezu denen des physiologischen Glaskörpers gleichen und postoperativ ähnliche Visuseigenschaften zeigen. Dagegen muss nach PPV mit Glaskörpertamponade aus Silikonöl aufgrund des deutlich verschiedenen Brechungsindex mit einer deutlichen Minderung der Sehschärfe und des Visus gerechnet werden.

Abschließend betrachtet sind weitere Untersuchungen mit dem Ziel der Testung des Gels „ViBos-strong“ im menschlichen Auge sinnvoll, da in diesen Versuchen eine gute Verträglichkeit, die passende optische Qualität und eine gute tamponierende Eigenschaft nachweisen können. Aufgrund der guten Verträglichkeit und der langsamen Resorption der Tamponade im Laufe der Zeit ist in den meisten Fällen eine Zweitoperation zur Entfernung der Tamponade, wie sie beim Silikonöl nötig ist, nicht zwingend erforderlich, da bereits nach sechs Monaten das Gel im Auginneren der Versuchstiere nicht mehr nachweisbar war.

## VII. SUMMARY

The aim of the present dissertation was to test the compatibility and efficiency of a vitreous body substitute based on cross-linked hyaluronic acid.

In order to exclude already existing or inherent impairments, all rabbits' eyes were examined beforehand at the beginning of the study. Next to the measurement of the intraocular pressure, complete ERG, OCT and slit lamp examinations were performed.

The compatibility study consisted of three groups including six rabbits each. The groups were examined within a post-operative observation period of one, three and six months. Each rabbit's right eye was operated removing the vitreous body via 'Pars Plana Vitrectomy' and inserting the vitreous body tamponade 'ViBos-strong' in the following. In order to be able to test the efficacy of the novel vitreous body substitute, a detachment of the retina was induced before inserting the tamponade by creating a small retinotomy after the removal of the vitreous body and by detaching the retina by injecting physiologic saline solution through the retinotomy. Following this, the detachment of the retina was reattached by using air, an endolaser and by injecting the vitreous body tamponade. The retinal reattachment's success was evaluated during a post-operative observation period of a with several fixed follow-up examinations. At the examinations, each rabbit's non-operated left eye served as control eye allowing a direct comparison.

The promising results of the ERG, OCT and slit lamp examinations as well as of the intraocular pressure measurements were indicating a good in vivo compatibility of the gel „ViBos-strong“. The histologic examinations could confirm this. It could be shown that the 'tested' hydrogel has a very good compatibility without any toxic properties when inside of the eye close to the retina. Furthermore, the compatibility study could demonstrate good tamponade characteristics. Moreover, the novel hydrogels achieved a significantly higher success rate of eleven from fifteen regarding retinal reattachment after an intra-operative induced detachment of the retina compared to the test group using silicone oil, which had a success rate of only one from eight. Although the hyaluronic acid gel „ViBos-soft“ had very good tamponade characteristics as well as a rate of six from seven of successfully reattached retinas, more changes were observed in the electro-physiological examinations compared to „ViBos-strong“.

It has to be emphasized that both tested hydrogels based on cross-linked hyaluronic acid had good optical features possessing similar optical properties like natural vitreous. In

summary, further examinations aiming to test the gel „ViBos-strong“ in the human eye can be recommended as the study results proved a good compatibility, matching optical characteristic features and good tamponade characteristics. Due to its bio-degradable nature, a second operation to remove the tamponade is, in contrast to when using silicone oil, not necessary.

## VIII. LITERATURVERZEICHNIS

- Ammermüller, J. und Kolb, H. (1995):** The organization of the turtle inner retina I. The organization of on- and off-center pathways. *The Journal of Comparative Neurology*, 358: 1-34
- Augustin, A.J., Lutz, J. und Grus, F.H. (2000):** Physiologie für die mündliche Prüfung. Berlin: Springer-Verlag, 3. Auflage, S.191
- Bargagna-Mohan, P., Paranthan, R.R., Hamza, A., Dimova, N., Trucchi, B., Srinivasan, C., Elliott, G.I., Zhan, C.G., Lau, D.L., Zhu, H., Kasahara, K., Inagaki, M., Cambi, F. und Mohan, R. (2010):** Withaferin A Targets Intermediate Filaments Glial Fibrillary Acidic Protein and Vimentin in a Model of Retinal Gliosis. *The Journal of Biological Chemistry*, 285, S. 7657-7669
- Björklund, H., Bignami, A. und Dahl, D. (1984):** Immunohistochemical demonstration of glial fibrillary acidic protein in normal rat müller glia and retinal astrocytes. *Neuroscience letters*, 54, S. 363-368
- Blankenship, G.W. und Machemer, R. (1985):** Long-term diabetic vitrectomy results; report of 10 year follow-up. *Ophthalmology*, 92(4), S. 503–506
- Boppart, S.A. (2003):** Optical coherence tomography: Technology and applications for neuroimaging. *Psychophysiology*, 40, S. 529–541
- Brown, K.T. und Wiesel, T.N. (1961):** Analysis of the intra retinal electroretinogram in the intact cat eye. *Journal of Physiology*, 158, S. 229–256
- Brown, K.T. und Wiesel, T.N. (1961):** Localization of origins of electroretinogram components by intra retinal recording in the intact cat eye. *Journal of Physiology*, 158, S. 257–280
- Brubaker, R.F. (1991):** Flow of aqueous humor in humans [The Friedenwald Lecture]. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 32 (13), S. 3145-3166
- Chang, M.L., Wu, C.H., Jiang-Shieh, Y.F., Shieh, J.Y. und Wen, C.Y. (2007):** Reactive changes of retinal astrocytes and Müller glial cells in kainate-induced neuroexcitotoxicity. *Journal of Anatomy*, 210 (1), S. 54–65
- Chirila, T.V., Tahija, S., Hong, Y., Vijayasekaran, S. und Constable, I.J. (1994):** Synthetic polymers as materials for artificial vitreous body: review and recent advances. *Journal of Biomaterials Applications*, 9(2), S. 121-37
- Conner, J.D., Detwiler, P.B. und Sarthy, P.V. (1985):** Ionic and electrophysiological properties of retinal Müller (glial) cells of the turtle. *The Journal of Physiology*, 362, S. 79-92
- Dave, V.P., Pathengay, A., Schwartz, S.G. und Flynn, H.W. (2014):** Endophthalmitis following pars plana vitrectomy: a literature review of incidence, causative organisms, and treatment outcomes. *Clinical Ophthalmology*, 8, S. 2183–2188
- Dixon, R.G. und Eng, L.F. (1981):** Glial Fibrillary Acidic Protein in the Retina of the Developing Albino Rat; an Immunoperoxidase Study of Paraffin-Embedded tissue. *The Journal of comparative Neurology*, 195, S. 305-321
- Dörr, W., Seifert, G. und Uehlinger, E. (1980):** Spezielle pathologische Anatomie Band 12, Pathologie des Auges, Springer Verlag
- Dowling, J.E., Blanks, B.B. (1966):** Organization of the primate retina: Electron microscopy, *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological sciences*, S. 80-111
- Draeger, J., Jessen, K. und Rumberger, E. (1993):** Tonometrie, Stuttgart, New York: Thieme Verlag
- Drexler, W., Morgner, U., Ghanta, R.K., Kärtner, F.X., Schuman, J.S. und Fujimoto, J.G. (2001):** Ultrahigh-resolution ophthalmic optical coherence tomography, *NIH Public Access, Author Manuscript*, 7(4), S. 502–507

- Effert, R. (1992):** Extrakapsuläre Kataraktextraktion mit Pakoemulsifikation und Pars-PlanaVitrektomie mit Silikonöltamponade in einer Sitzung, *Klin. Mbl. Augenheilk.* 201, S. 244–246
- Eisner, G. (1975):** Zur Anatomie des Glaskörpers, *Graefes Arch.* 193, S. 33-56
- von Engelhardt, W. und Breves, H. (2009):** *Physiologie der Haustiere*, 3. Auflage, Enke-Verlag, Stuttgart, S.87-97
- Foos, R.Y. (1972):** Posterior vitreous detachment. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 76(2), S. 480-497
- Foster, W.J. (2008):** Vitreous substitutes, *Expert Rev Ophthalmol.*, 3(2), S. 211-218
- Forrester, J.V. und Grierson, I. (1980):** Repair in the rabbit vitreous after haemorrhage, Wundheilung des Auges und ihre Komplikationen, *Bergmann Verlag München*, S. 389 ff.
- Francke, M., Faude, F., Pannicke, T., Bringmann, A., Eckstein, P., Reichelt, W., Wiedemann, P. und Reichenbach, A. (2001):** Electrophysiology of Rabbit Müller (Glial) Cells in Experimental Retinal Detachment and PVR, *IOVS*, Vol. 42, No. 5, S. 1072-1079
- Francke, M, Weick, M., Pannicke, T., Uckermann, O., Grosche, J., Goczalik, I., Milenkovic, I., Uhlmann, S., Faude, F., Wiedemann, P., Reichenbach, A.und Bringmann, A. (2002):** Upregulation of Extracellular ATP-Induced Müller Cell Responses in a Dispace Model of Proliferative Vitreoretinopathy, *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, Vol. 23, No.3, S. 870-881
- Freeman, W.R., Azen, S.P. und Kim, J.W. (1997):** Vitrectomy for the treatment of full-thickness stage 3 or 4 macular holes, *Arch Ophthalmologie* 115, S. 11–21
- Fujimoto, J.G. (2003):** Optical coherence tomography for ultrahigh resolution in vivo imaging, *Nature Biotechnology*, Vol. 21, No. 11, S. 1038
- Fujimoto, J.G., Pitris, C., Boppart, S.A. und Brezinski, M.E. (2000):** Optical Coherence Tomography: An Emerging Technology for Biomedical Imaging and optical Biopsy, *Neoplasia*, Vol. 2, No. 1-2, S. 9-25
- Gauvin, M., Lina, J.M. und Lachapelle, P. (2014):** Advance in ERG Analysis: From Peak Time and Amplitude to Frequency, Power, and Energy, *Biomed Research International*, Article ID 246096
- Gensler, H.M. (1967):** An evaluation of the schiottz tonometer in glaucoma screening programs, *American Journal of Optometry and Archives of American Academy of Optometry*, Vol. 51, S. 634-641
- Gouras, P. (1984):** Color Vision, *Prog. Ret. Res.*, 3, S. 227-261
- Grisanti, S., Wiedemann, P. (1993):** Proliferative vitreoretinopathy. On the significance of protein transfer through the blood-retina barrier. *Ophthalmologie*, 90(5), S. 468-471
- Grüb, M. und Mielke, J. (2004):** Kammerwasserdynamik. *Ophthalmologie*, 101(4), S. 357-365
- Gum, G.G., Gelatt, K.N. und Esson, D.W. (2007):** *Physiology of the Eye. Veterinary Ophthalmology*, 4. Aufl., S.149-182
- Gum, G.G, Gelatt, K.N. und Miller, D.N. und Mackay, E.O. (1989):** Intraocular pressure in normal dairy cattle. *Vet Ophthalmol* 1 (2-3), S. 159-161
- Hagemann, G. S. und Johnson, L.V. (1991):** Structure, composition and function of the retinal interphotoreceptor matrix. Osborne N., Chader J., *Progress in retinal research* Oxford, New York, Pergamon Press. S. 207-250

- Hascall, V.C. und Laurent, T.C. (1997):** Hyaluronan: Structure and Physical Properties. Glycoforum, Science of Hyaluronan, Vol. 1, A2
- Hay, A. und Landers, M.B. (1994):** Types of pathogenetic mechanisms of retinal detachment. Ryan S.J., Retina III. St. Louis, Mosby. S. 2436-2488
- Hockwin, O. (1989):** Biochemie des Auges. Georg Thieme Verlag, Stuttgart
- Höfler, H. und Müller, K.M. (2000):** Praxis der Immunhistochemie, Urban und Fischer Verlag, München und Jena, S. 69-78
- Hong, Y., Chirila, T.V., Vijayasekaran, S., Dalton, P.D., Tahija, S.G., Cuypers, M.J. und Constable, I.J. (1996):** Crosslinked poly(1-vinyl-2-pyrrolidinone) as a vitreous substitute. Biomed Mater Res., 30(4), S. 441-448
- Hood, D.C. und Birch, D.G. (1992):** A computational model of the amplitude and implicit time of the b-wave of the human ERG. Vis Neurosci, 8, S. 107-126
- Hood, D.C. und Birch, D.G. (1997):** Assessing abnormal rod photoreceptor activity with the a-wave of the electroretinogram: applications and methods. Documenta Ophthalmologica, 92, S. 253-267
- Hopkins, J.M. und Boycott, B.B. (1995):** Synapses between cones and diffuse bipolar cells of a primate retina. Neurocytol., 24, S. 680-694
- Iandiev, I., Uckermann, O., Pannicke, T., Wurm, A., Tenckhoff, S., Pietsch, U.C., Reichenbach, A., Wiedemann, P., Bringmann, A. und Uhlmann, S. (2006):** Glial Cell Reactivity in a Porcine Model of Retinal Detachment. Invest Ophthalmol Vis Sci. 47, S. 2161–2171
- Jaffe, G.J. und Caprioli, J. (2004):** Optical Coherence Tomography to Detect and Manage Retinal Disease and Glaucoma. American Journal of Ophthalmology, Vol. 37, No.1, S. 156-169
- Jamison, J.A., Bush, R.A., Lei, B. und Sieving, P.A. (2001):** Characterization of the rod photoresponse isolated from the dark-adapted primate ERG. Vis Neurosci, 18, S. 445-455
- Takehi, K., Kinoshita, M. und Yasueda, S. (2003):** Hyaluronic acid: separation and biological implications. Journal of Chromatography B, 797, S. 347-355
- Kefalov, V.J. (2011):** Rod and Cone Visual Pigments and Phototransduction through Pharmacological, Genetic, and Physiological Approaches. JBC Papers in Press, S. 1635-1641
- Kiernan, D.F., Mieler, W.F. und Hariprasad, S.M. (2010):** Spectral-Domain Optical Coherence Tomography: A Comparison of Modern High-Resolution Retinal Imaging Systems. American Journal of Ophthalmology, Vol.149, No.1, S. 18-31
- Kirchhof, B., Tavakolian, U., Paulmann, H. und Heimann, K. (1986):** Histopathological findings in eyes after silicon oil injection. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol., 224 S. 34-37
- Kleinberg, T.T., Tzekov, R.T., Stein, L., Ravi, N. und Kaushal, S. (2011):** Vitreous Substitutes: A Comprehensive Review. Survey of Ophthalmology, Vol. 56, No. 4, S.300-323
- Klinke, R. und Silbernagl, S. (1996):** Lehrbuch der Physiologie. 2. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, S. 87-97
- Kolb, H., Linberg, K.A. und Fisher, S. K. (1992):** Neurons of the human retina: A golgi study. Journal of Comp. Neur., 31, S. 147-187
- Kuehn, M.H., Fingert, J.H. und Kwon, Y.H. (2005):** Retinal Ganglion Cell Death in Glaucoma: Mechanisms and Neuroprotective Strategies. Elsevier Inc., S. 383-395

- Lang, G.K., Esser, J., Gareis, O., Lang, G.E., Lang, S.J., Recker, D., Spraul, C.W. und Wagner, P. (2014):** Augenheilkunde, 5. Auflage, 2014, Thieme Verlag Stuttgart, S. 316-320
- Lee, V.H.L. (1983):** Esterase activities in adult rabbit eyes. *Pharm sci*, 72, S. 238-239
- Lee, V.H.L., Chang, S.C., Oshiro, C.M. und Smith, R.E. (1985):** Ocular esterase composition in albino and pigmented rabbits: Possible implications in ocular prodrug design and evaluation. *Current Eye Research*, Vol. 4, No. 11, S. 1117-1125
- Leydecker, W. (1980):** Glaukom. In: Axenfeld T, Paul H (Hrsg): Lehrbuch und Atlas der Augenheilkunde. Stuttgart, New York: Fischer, S. 440 - 462
- Liesegang, T.J. (1990):** Viscoelastic Substances in Ophthalmology. *Survey of Ophthalmology*, Vol. 34, No. 4, S. 268-293
- Lui, J.H. (1998):** Circadian rhythm of intraocular pressure. *Glaucoma*, (2), S. 141-147
- Machemer, R., Buettner, H., Norton, E.W. und Parel, J.M. (1971):** Vitrectomy, a pars plana approach. *Trans AM Acad Ophthalmol Otolaryngol.*,75(4), S. 813-820
- Machemer, R., Parel, J.M. und Norton, E.W.D. (1972):** Vitrectomy, a pars plana approach Technical improvements and further results. *Trans AM Acad Ophthalmol Otolaryngol.* 76(2), S.462-466
- Mariacher, S., Szurman, P. (2015):** Künstlicher Glaskörper, Strategien zum Glaskörperersatz. *Der Ophthalmologe*, Springer Verlag, S. 572-579
- Marmor, M.F. (1994):** Mechanism of normal retinal adhesion. Ryan S.J., *Retina III*. St. Louis, Mosby, S. 1931-1953
- Marmor, M.F. (2000):** Mechanisms of fluid accumulation in retinal edema. *Macular Edema*, S. 35-45
- Marmor, M.F., Holder, G.E., Seeliger, M.W. und Yamamoto, S. (2004):** Standard for clinical electroretinography. *Doc Ophthalmol*, 108, S. 107-114
- McCuen, B.W., De Juan, E. und Landers, M.B. (1985):** Silicone oil in vitreoretinal surgery: II. Results and complications. *Retina*, 5, S. 198-205
- McCulloch, D.L., Marmor, M.F., Brigell, M.G., Hamilton, R., Holder, G.E., Tzekov, R. und Bach, M. (2015):** ISCEV Standard for full-field clinical electroretinography. *Doc Ophthalmol*, 130, S. 1–12
- Messmer, E. (1990):** Prophylaxe der Netzhautablösung und Behandlung der Retinoschisis. *Fortschr Ophthalmol*, 87, S. 62-69
- Michaelson, I. C. und Stein, R. (1972):** A national study on the prevention of retinal detachment. *Isr J Med Sci*, 8(8), S. 1421-1423
- Mulisch, M. und Welsch, U. (2010):** Mikroskopische Technik. 18. Auflage, Springer-Verlag, S.88-119 und 172-268
- Newman, E.A. (1989):** Electrophysiology of retinal glial cells. *Prog. Ret. Res.*, 8, S. 153-172
- O'Malley, C. und Heintz, R.M. (1975):** Vitrectomy with an alternative instrument system. *Annals of Ophthalmology*, 7(4), S. 585-568, 591-594
- Österlin, S. (1975):** Changes in the vitreous with age. *Trans. Ophthal. Soc.*, S. 372-377
- Pallikaris, I.G., Kymionis, G.D., Ginis, H.S., Kounis, G.A. und Tilimbaris, M.K. (2005):** Ocular rigidity in living human eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46 (2), S. 409-414
- Petermeier, K., Szurman, P., Bartz-Schmidt, U. und Gekeler, F. (2010):** Pathophysiologie der Katarakt-Entwicklung nach Vitrektomie. *Klinisches Monatsblatt Augenheilkunde*, 227(3), S. 175-180
- Prince, J.H., Diesem, C.D., Eglitis, J. und Ruskell, G.L. (1960):** Anatomy and histology of the eye and orbit in domestic animals. Springfield, Illinois, Ch.C. Thomas, S. 307 ff.

- Pruett, R.C., Schepens, C.L. und Swann, D.A. (1979):** Hyaluronic acid vitreous substitute. A six-year clinical evaluation. *Arch Ophthalmol.*, 97(12), S. 2325-2330
- Quina, L.A., Pak, W., Lanier, J., Banwait, P., Gratwick, K., Liu, Y., Velasquez, T., O'Leary, D.D., Goulding, M. und Turner, E.E. (2005):** Brn3a-Expressing Retinal Ganglion Cells Project Specifically to Thalamocortical and Collicular Visual Pathways. *The Journal of Neuroscience*, 25(50), S. 11595-11604
- Reichenbach, A., Stolzenburg, J.U., Eberhardt, W., Chao, T.I., Dettmer, D. und Hertz, L. (1993):** What do Retinal Müller (Glial) Cells do for their Neuronal 'Small Siblings'. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, Vol. 6, S. 201-213
- Reichenbach, A., Wurm, A., Pannicke, T., Iandiev, I., Wiedemann, P. und Bringmann, A. (2007):** Müller cells as players in retinal degeneration and edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 245, S. 627-636
- Ripandelli, G., Coppé, A.M., Capaldo, A. und Stirpe, M. (1998):** Optical coherence Tomography. *Semin Ophthalmol*, S. 199-202
- Rubin, L.F., und Bourns, T.K. (1967):** Hemeralopia in dogs: heredity of hemeralopia in Alaskan Malamutes. *Am J Vet Res* 28(123), S. 355-357
- Rumberger, E. (2008):** Physiologische und messtechnische Prinzipien der Augendruckmessung. *Tonometrie*, 1. Aufl., Draeger J., Rumberger E. (Hrsg.), Neubrandenburg, Rethra Verlag, S. 3-48
- Russel-Eggitt, I., Kriss, A. und Taylor, D.S. (1990):** Albinism in Childhood: a flash VEP and ERG study. *British Journal of Ophthalmology*, 74, S. 136-140
- Sachsenweger, M. (2003):** Duale Reihe Augenheilkunde, Georg Thieme Verlag, S. 244-245
- Salomon, F.V., Geyer, H. und Gille, U. (2014):** Anatomie für die Tiermedizin, 3. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, S. 589-619
- Samuelson, D.A. (1999):** Ophthalmic embryology and anatomy. Gelatt KN. *Veterinary ophthalmologie* 3 rd ed. Philadelphia, London, S. 3- 123
- Schachat, A.P., Oyakawa, R.T., Michels, R.G. und Rice, T.A. (1983):** Complications of vitreous surgery for diabetic retinopathy.II. Postoperative complications. *Ophthalmology*, 90, S. 522 – 529
- Schramm, C., Spitzer, M.S., Henke-Fahle, S., Steinmetz, S., Januschowski, K., Heiduschka, P., Geis-Gerstorfer, J., Biedermann, T., Bartz-Schmidt, K.U. und Szurman, P. (2012)** The Cross-linked Biopolymer Hyaluronic Acid as an Artificial Vitreous Substitute. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, Vol. 53, No. 2, 53, S. 613– 621
- Sebag, J. (1987):** Age-related changes in human vitreous structure. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.*, 225(2), S. 89-93
- Sebag, J. (1987):** Vitreo-retinal interface and the role of vitreous in macular disease. Breancato R., Coscas G. et al., *Proceedings of the retina workshop*. Amsterdam, S. 3-6
- Shiells, R.A. und Falk, G. (1999):** Contribution of rod, on-bipolar, and horizontal cell light responses to the ERG of dogfish retina. *Visual Neuroscience*, 16, S. 503–511
- Sickel, W. (1972):** Retinal metabolism in dark and light, *Physiology of Photoreceptor Organs*. Handbook of Sensory Physiology, Springer Verlag, Vol. 7 / 2, S. 667-727
- Soman, N. und Banerjee, R. (2003):** Artificial vitreous replacements, *Biomed Mater Eng.*, 13(1), S. 59-74
- Spitzer, M.S. und Januschowski, K. (2015):** Gesunder Glaskörper und seine Alterung. *Ophthalmologie*, Springer Verlag, 112, 552-558
- Steel, D.H. und Lotery, A.J. (2013):** Idiopathic vitreomacular traction and macular hole: a comprehensive review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Eye* 27, S 1–21
- Suri, S. und Banerjee, R. (2006):** In vitro evaluation of in situ gels as short term vitreous substitutes.

Journal of Biomedical Materials Research Part A, S. 650-664

**Svorenova, I., Strmen, P. und Olah, Z. (2010):** Optical coherence tomography - a new imaging method in ophthalmology. Bratisl Lek Listy, 111 (5), S. 306 -307

**Swindle, K.E. und Ravi, N. (2007):** Recent advances in polymeric vitreous substitutes. Expert Rev. Ophthalmol., 2 (2), S. 255-265

**Thomas, D. und Duguid, G. (2004):** Optical coherence tomography: a review of the principles and contemporary uses in retinal investigation. Eye, 18, S. 561–570

**Tian, N. und Slaughter, M.M. (1995):** Correlation of dynamic responses in the On bipolar neuron and the b-wave of the electroretinogramm. Vision Res, 35, S. 1359-1364

**Vincent, A., Robson, R.G. und Holder, G.E. (2013):** Pathognomonic (Diagnostic) ERGs a Review and Update. The Journal of Retinal and Vitreous Diseases, Vol. 33, No. 1, S. 5-12

**Vukovic, D. (2013):** Natural Evolution of Experimental Vitreous Hemorrhage and Effects of Corticosteroids on its Course. Srp Arh Celok Lek.,141(11-12), S. 732-737

**Wachtmeister, L. (1987):** Basic research and clinical aspects of the oscillatory potentials of the electroretinogram. Documenta Ophthalmologica, 66, S. 187-194

**Wacker Silicones:** Begreifen und Verstehen, Schulversuche mit Wacker-Siliconen, S. 6-15

**Wagner, F., Heider, H.J., Görig, C. und Fehr, M. (1998):** Augenkrankheiten beim Zwergkaninchen. Teil 1: Anatomie, Untersuchungsgang, Erkrankungen der Augenlider, der Konjunktive und des Tränennasenkanals. Tierärztl. Praxis, 1998b, 26 (K), S. 205-210

**Walde, I., Nell, B., Schäffer, E. und Köstlin, R. (2008):** Augenheilkunde, Lehrbuch und Atlas, Hund, Katze, Kaninchen und Meerschweinchen. 3. Auflage, Schattauer Verlag, Stuttgart, S. 709-717

**Werblin, F. (1991):** Synaptic connections, receptive fields, and patterns of activity in the tiger salamander retina. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 32, S. 459-483

**Wolf, G. (2004):** The Visual Cycle of the Cone Photoreceptors of the Retina. Nutrition Reviews, Vol. 62, No. 7, S. 283-286

**Yamamoto, L.G., Young, D.A. (2010):** Tonometry Methods in the Pediatric Emergency Department. Pediatric Emergency Care, Volume 26, Number 9, 26, S. 678-686

**Zhu, M., Penfold, P.L., Madigan, M.C. und Billson, F.A. (1997):** Effect of human vitreous and hyalocyte-derived factors on vascular endothelial cell growth. Aust NZ J Ophthalmol., 25, S. 57-60

## IX. ANHANG

### 1. Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1:** *Schematischer Aufbau des menschlichen Auges, Grehn F.:Augenheilkunde. Springer Medizin Verlag Heidelberg, Heidelberg 2009*
- Abb. 2:** *Schematischer Aufbau der Netzhaut und ihrer Schichten mit den wesentlichen Zellen und den angrenzenden Strukturen des Glaskörpers und des retinalen Pigmentepithels. S - Stäbchen, Z - Zapfen, H - Horizontalzellen, B - Bipolarzellen, I – Interplexiforme Zellen, M - Müller Zellen, A - Amakrine Zellen, VA - Verlagerte amakrine Zellen, G - Ganglienzellen, As -Astrozyten. (Schema modifiziert nach J.E. Dowling und B.B. Boycott 1966)*
- Abb. 3:** *e: pigmentierter Fundus eines Kaninchens; f: albinotischer Fundus eines Kaninchens, aus: „Anatomie für die Tiermedizin“ Herausgegeben von F.V. Salomon, H. Geyer, U. Gille; 3. Auflage, Enke-Verlag Stuttgart 2015*
- Abb. 4:** *Strukturformel Silikonöl: Grundstruktur Dimethylpolysiloxan (Quelle: Wacker Silicones, Begreifen und Verstehen, Schulversuche mit Wacker-Siliconen)*
- Abb. 5:** *Strukturformel Hyaluronsäure aus (Hascall V.und Laurent T. (1997))*
- Abb. 6:** *Strukturformel der Hyaluronsäure-SH, mit angehängter Thiolgruppe an der Seitenkette (Quelle: Croma Pharma GmbH)*
- Abb. 7:** *ERG-Kurven der Standard-Protokolle, (Marmor, Fulton et al. 2009); „a“ und „b“ bezeichnet die Wellen im ERG; der Zeitpunkt der Lichtstimulation wird durch die eingezeichneten Pfeile dargestellt; das „t“ steht für die Zeit, die nach der Lichtstimulation bis zum Höhepunkt der Reaktion (Gipfelzeit) benötigt wird;„dark adapted“= dunkeladaptiert, „light adapted“=lichtadaptiert, „rod response“= Stäbchenantwort, „cone response“=Zapfenantwort, „oscillatory potentials“= OP, „30 Hz flicker“= Flickerantwort , „combined rod-cone response“= kombinierte Stäbchen- und Zapfenantwort.*
- Abb. 8:** *Prinzip der Interferometrie, die beim OCT genutzt wird (Thomas und Duguid 2004)*
- Abb. 9:** *Beispielbild einer Spaltlampenuntersuchung bei einem narkotisierten Kaninchen mit einer Handspaltlampe*
- Abb. 10:** *Beispielbild ERG-Untersuchung eines Kaninchens mit Anlage der Linsenelektrode auf der Hornhaut, einer Elektorde sc. des Oberlids sowie der Erdungselektrode sc. am Nacken*
- Abb. 11:** *Beispielbild zur Postitionierung des narkotisierten Kaninchens zur OCT-Untersuchung*
- Abb. 12 a.):** *Beispielbild OCT des operierten Auges, Abschlussuntersuchung nach einem Monat,*

*ohne besonderen Befund*

- Abb. 12 b.):** *Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges, Abschlussuntersuchung nach einem Monat, ohne besonderen Befund*
- Abb. 13 a.):** *Beispielbild OCT des operierten Auges, Abschlussuntersuchung nach drei Monaten, ohne besonderen Befund*
- Abb. 13 b.):** *Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges, Abschlussuntersuchung nach drei Monaten, ohne besonderen Befund*
- Abb. 14 a.):** *Beispielbild OCT des operierten Auges, Abschlussuntersuchung nach sechs Monaten, ohne besonderen Befund*
- Abb. 14 b.):** *Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges, Abschlussuntersuchung nach sechs Monaten, ohne besonderen Befund*
- Abb. 15 a.):** *Beispielbild OCT des operierten Auges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit Silikonöl behandelt wurden*
- Abb. 15 b.):** *Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit Silikonöl behandelt wurden*
- Abb. 16 a.):** *Beispielbild OCT des operierten Auges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit „ViBos-strong“ behandelt wurden*
- Abb. 16 b.):** *Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit „ViBos-strong“ behandelt wurden*
- Abb. 17 a.):** *Beispielbild OCT des operierten Auges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit „ViBos-soft“ behandelt wurden*
- Abb. 17 b.):** *Beispielbild OCT des nicht operierten Partnerauges der Versuchsgruppe des Ablatiomodells, die mit „ViBos-soft“ behandelt wurden*
- Abb. 18:** *Schematische Darstellung des Eindrückverfahrens des Schiötztonometers (Aus Tonometry Methods in the Pediatric Emergency Department, L.G. Yamamoto and D.A. Young, 2010)*
- Abb. 19:** *a.) Beispielbild Messung des IOP's via Schiötz-Tonometer, hierbei muss das Kaninchen in Seitenlage liegen damit das Senkstifchen des Schiötztonometers senkrecht zur horizontalen Hornhaut aufgelegt werden kann b.) Kalibrierungsskala des verwendeten Schiötz-Tonometers*
- Abb. 20:** *Beispielbilder makroskopische Bilder a.) und b.) ohne besonderen Befund*

- Abb. 21:** *Beispielbilder makroskopische Bilder mit Netzhautablösung a.) totale Netzhautablösung bis an Linse, Netzhaut nur noch an einer Stelle an Augenhintergrund befestigt; b.) totale Netzhautablösung, Netzhaut liegt komplett auf Linse auf*
- Abb. 22:** *Beispielbilder für die Auswertungsskala der GFAP-Färbung; Bilder die Beispielbild a.) & b.) glichen wurden mit der Note 1 bewertet; GFAP-Bilder, die den Beispielbildern c.) & d.) glichen, wurden mit der Note 2 bewertet; GFAP-Bilder die den Beispielbildern e.)& f.) glichen, wurden mit Note 3 bewertet; und GFAP-Bilder, die den Beispielbildern g.)& h.) glichen, wurden mit der Note 4 bewertet.*
- Abb. 23:** *Negativkontrolle GFAP-Färbung, ohne Färbung der retinalen Müllerzellen*
- Abb. 24:** *Beispielbild zur Ausmessung der Netzhautdicke anhand eines Brn3a-angefärbten (mit rot gefärbten Ganglienzellen) histologischen Querschnitts der Netzhaut in 200x Vergrößerung*
- Abb. 25:** *Negativkontrolle Brn3a-Färbung, ohne Färbung der Ganglienzellen in der Ganglienzellschicht der Netzhaut*
- Abb. 26 a.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen intraokularen Druckes (IOP's) je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat (n=6), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, VU=Voruntersuchung, mit p=0,58 am ersten, p=0,54 am dritten, p=0,83 am siebten postoperativen Tag und p=0,03 (\*) nach einem Monat (Signifikanzniveau \*= p<0,05, \*\*=p<0,01, \*\*\*p<0,001)*
- Abb. 26 b.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat (n=6), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, VU=Voruntersuchung, mit p=0,58 am ersten, p=0,54 am dritten, p=0,83 am siebten postoperativen Tag und p=0,03 (\*) nach einem Monat (Signifikanzniveau \*= p<0,05, \*\*=p<0,01, \*\*\*p<0,001)*
- Abb. 27 a.)** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen intraokularen Druckes (IOP's) je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat mit Ausschluss des Tieres mit einem postoperativ über eine Woche hohen IOP's von >40mmHg (n=5), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit p=0,00129 (\*\*) am ersten, p=0,000852 am dritten (\*\*\*), p=0,0614 am siebten postoperativen Tag und p=0,0877 nach einem Monat (Signifikanzniveau \*= p<0,05, \*\*=p<0,01, \*\*\*p<0,001)*

- Abb. 27 b.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat mit Ausschluss des Tieres mit einem postoperativ über eine Woche hohen IOP's von >40mmHg (n=5), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,00129$  (\*\*) am ersten,  $p=0,000852$  am dritten (\*\*\*),  $p=0,0614$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,0877$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 28 a.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate (n=6), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,054$  am ersten,  $p=0,011$  am dritten (\*\*),  $p=0,00055$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag,  $p=0,5883$  nach einem Monat und  $p=0,455$  nach drei Monaten (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 28 b.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate (n=6), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, , mit  $p=0,054$  am ersten,  $p=0,011$  am dritten (\*\*),  $p=0,00055$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag,  $p=0,5883$  nach einem Monat und  $p=0,455$  nach drei Monaten (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 29 a.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate(n=6), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0628$  am ersten,  $p=0,0035$  am dritten (\*\*),  $p=0,0040$  (\*\*) am siebten postoperativen Tag,  $p=0,179$  nach einem Monat,  $p=0,242$  nach drei Monaten und  $p=0,421$  nach sechs Monaten (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 29 b.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate (n=6), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0628$  am ersten,  $p=0,0035$  am dritten (\*\*),  $p=0,0040$  (\*\*) am siebten postoperativen Tag,  $p=0,179$  nach einem Monat,  $p=0,242$  nach drei Monaten und  $p=0,421$  nach sechs Monaten (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 30:** *Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat; postoperativ konnte vom ersten bis zum siebten Tag bei vier der sechs, nach einem Monat nur bei einem Tier der untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum festgestellt werden*

- Abb. 31:** *Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate; postoperativ konnte am ersten Tag bei vier der sechs, vom dritten Tag bis zu einem Monat konnte bei drei der sechs und nach drei Monaten konnte bei keinem der untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / im Glaskörperraum nachgewiesen werden*
- Abb. 32:** *Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate; postoperativ konnte am ersten Tag bei fünf der sechs, vom dritten bis zum siebten Tag bei vier der sechs und bis zu einem Monat post operationem bei zwei der sechs, ab dem dritten Monat konnte bei keinem der untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum nachgewiesen werden*
- Abb. 33:** *Diagramm Kataraktrate der Verträglichkeitsstudie, fünf der achtzehn untersuchten Tiere entwickelten postoperativ eine Katarakt, allesamt iatrogen durch intraoperative Linsenberührungen bedingt*
- Abb. 34:** *Diagramm Ablatorate der Verträglichkeitsstudie, vier der achtzehn untersuchten Tiere entwickelten postoperativ eine Netzhautablösung*
- Abb. 35:** *Makroskopische Beispielbilder der Verträglichkeitsstudie über einen Monat, a.) operiertes Auge (leichter Linsentouch an hinterer Linsenkapsel mit beginnender Katarakt sichtbar); b.) nicht operiertes Partnerauge (Linse bereits entnommen, ansonsten obB), beide mit anliegender, intakter Netzhaut und ohne Fibrinflocken im Glaskörperraum*
- Abb. 36:** *Makroskopische Beispielbilder der Verträglichkeitsstudie über drei Monate, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge, beide mit anliegender, intakter Netzhaut, ohne Fibrinflocken im Glaskörperraum und klarer, physiologischer Linse*
- Abb. 37:** *Makroskopische Beispielbilder der Verträglichkeitsstudie über sechs Monate, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge, beide mit anliegender, intakter Netzhaut, ohne Fibrinflocken im Glaskörperraum und klarer, physiologischer Linse*
- Abb. 38:** *Beispielbilder HE-Färbung, 200x, Verträglichkeit über einen Monat, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; Netzhäute beider Augen obB, intakte, physiologische Netzhaut*
- Abb. 39:** *Beispielbilder HE-Färbung, 200x, Verträglichkeit über drei Monate, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; Netzhäute beider Augen obB, intakte, physiologische Netzhaut*
- Abb. 40:** *Beispielbilder HE-Färbung, 200x, Verträglichkeit über sechs Monate, a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; Netzhäute beider Augen obB, intakte, physiologische Netzhaut*

- Abb. 41:** *Diagramm GFAP-(glial fibrillary acidic protein)--Färbung Verträglichkeitsstudie; Durchschnitt der Bewertungen der operierten Augen im Vergleich zu den jeweiligen nicht operierten Partneraugen je Verträglichkeitsgruppe; 1 Monat n=3; 3 Monate n=5 und 6 Monate n=6; (jeweils mit Standardabweichung), 1 Monat mit \*\* signifikant stärkerer, 3 Monate mit \*\*\* signifikant stärkerer und 6 Monate mit \*\* signifikant stärkerer GFAP-Expression des operierten Auges im Vergleich zum Partnerauge ( Signifikanzniveau \*= $p < 0,05$ , \*\*= $p < 0,01$ , \*\*\*= $p < 0,001$ )*
- Abb. 42:** *Negativkontrolle GFAP-Färbung; ohne Färbung der retinalen Müller-Zellen*
- Abb. 43:** *Beispielbilder GFAP-Färbung Verträglichkeit über einen Monat; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge deutlich mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind*
- Abb. 44:** *Beispielbilder GFAP-Färbung Verträglichkeit über drei Monate; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge sehr viel mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind*
- Abb. 45:** *Beispielbilder GFAP-Färbung Verträglichkeit über sechs Monate; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge deutlich mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind*
- Abb. 46:** *Diagramm über den mit der Brn3a-Färbung ermittelten prozentualen Anteil an retinalen Ganglienzellen (RGZ) in der Ganglienzellschicht der operierten Augen und deren nicht operierten Partneraugen der Verträglichkeitsstudie, 1 Monat n=3; 3 Monate n=5; 6 Monate n=6; dargestellt sind Mittelwerte plus/minus deren Standardabweichung*
- Abb. 47:** *Negativkontrolle der Brn3a-Färbung; ohne Färbung der RGZ*
- Abb. 48:** *Beispielbild der Brn3a-Färbung der Verträglichkeit über einen Monat; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; beide obB, ohne signifikanten Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge*
- Abb. 49:** *Beispielbild der Brn3a-Färbung der Verträglichkeit über drei Monate; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; beide obB, ohne signifikanten Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge*
- Abb. 50:** *Beispielbild der Brn3a-Färbung der Verträglichkeit über sechs Monate; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; beide obB, ohne signifikanten Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge*
- Abb. 51:** *Diagramm zur Darstellung der Netzhautdicke der Verträglichkeitsstudie; durchschnittliche Netzhautdicke der operierten Augen im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen je Verträglichkeitsgruppe (jeweils mit der dazugehörigen Standardabweichung) 1 Monat n=3; 3 Monate n=5; 6 Monate n=6, ohne signifikanten*

*Unterschied zwischen den operierten und den Partneraugen*

- Abb. 52 a.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der Silikonölgruppe des Abaltiomodells (n=8), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0025$  (\*\*) am ersten,  $p=0,00037$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,0015$  (\*\*) am siebten postoperativen Tag und  $p=0,006$  (\*\*) nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 52 b.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der Silikonölgruppe des Abaltiomodells (n=8), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0025$  (\*\*) am ersten,  $p=0,00037$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,0015$  (\*\*) am siebten postoperativen Tag und  $p=0,006$  (\*\*) nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 53 a.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der „ViBos-Strong“-Gruppe des Abaltiomodells (n=8), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,000057$  (\*\*\*) am ersten,  $p=0,0004$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,0007$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag und  $p=0,0548$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 53 b.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der „ViBos-Strong“-Gruppe des Abaltiomodells (n=8), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,000057$  (\*\*\*) am ersten,  $p=0,0004$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,0007$  (\*\*\*) am siebten postoperativen Tag und  $p=0,0548$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 54 a.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der operierten Augen der „ViBos-soft“-Gruppe des Abaltiomodells (n=7), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0007$  (\*\*\*) am ersten,  $p=0,00038$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,151$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,767$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 54 b.):** *Diagramm Verlauf des durchschnittlichen IOP's je Untersuchungszeitpunkt der nicht operierten Partneraugen der „ViBos-soft“-Gruppe des Abaltiomodells (n=7), angegeben als Mittelwert mit Standardabweichung, mit  $p=0,0007$  (\*\*\*) am ersten,  $p=0,00038$  (\*\*\*) am dritten,  $p=0,151$  am siebten postoperativen Tag und  $p=0,767$  nach einem Monat (Signifikanzniveau  $*$ =  $p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***p<0,001$ )*
- Abb. 55:** *Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der mit Silikonöl behandelten Versuchsgruppe des Ablatiomodells (n=8), postoperativ konnte am ersten Tag bei sieben, am dritten und siebten Tag bei sechs und nach einem Monat bei vier der acht untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum nachgewiesen werden*
- Abb. 56:** *Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der mit dem Hyaluronsäuregel „ViBos-strong“ behandelten Versuchsgruppe des Ablatiomodells (n=8), postoperativ konnte am ersten Tag bei acht, am dritten Tag bei*

sieben, am siebten Tag bei sechs und nach einem Monat bei drei der acht untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum nachgewiesen werden

**Abb. 57:** *Diagramm über den Verlauf des vorhandenen Fibrins im Glaskörperraum bei der mit dem Hyaluronsäuregel „ViBos-soft“ behandelten Versuchsgruppe des Ablatiomodells (n=7), postoperativ konnte am ersten Tag bei allen sieben, am dritten sowie am siebten Tag bei sechs und nach einem Monat bei keinem der sieben untersuchten Tiere Fibrin in der vorderen Augenkammer / dem Glaskörperraum festgestellt werden*

**Abb. 58:** *Diagramm Kataraktrate der Versuchsgruppe des Silikonöls des Ablatiomodells (n=8), sieben der acht operierten Tiere entwickelten postoperativ eine Katarakt, alle sieben betroffenen Tiere sind nicht auf iatrogene Ursachen zurückzuführen*

**Abb. 59:** *Diagramm Kataraktrate der Versuchsgruppe „ViBos-strong“ des Ablatiomodells (n=8), eines der acht operierten Tiere entwickelte postoperativ aufgrund eines intraoperativen Linsentouchs eine Katarakt*

**Abb. 60:** *Diagramm Kataraktrate der Versuchsgruppe „ViBos-soft“ des Ablatiomodells (n=7), bei zwei der sieben Tiere konnte postoperativ eine Katarakt diagnostiziert werden, bei einem der beiden Tiere wurde diese iatrogen durch intraoperatives berühren der Linse mit dem Operationsbesteck verursacht*

**Abb. 61:** *Diagramm Abliorate der Silikonölgruppe des Ablatiomodells (n=8), bei sieben der acht operierten Kaninchen konnte postoperativ eine Netzhautablösung festgestellt werden*

**Abb. 62:** *Diagramm Abliorate der „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells (n=8), bei drei der acht operierten Kaninchen dieser Gruppe konnte postoperativ eine Netzhautablösung festgestellt werden (zwei der drei betroffenen Kaninchen entwickelten lediglich eine partielle Ablatio)*

**Abb. 63:** *Diagramm Abliorate der „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells (n=7), eines der sieben operierten Tiere dieser Versuchsgruppe entwickelte postoperativ eine Netzhautablösung*

- Abb. 64:** Makroskopische Beispielbilder der Silikonölgruppe des Ablatiomodells, a.) operiertes Auge (totale Netzhautablösung bis an Linse und Kataraktentwicklung); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB.)
- Abb. 65:** Makroskopische Beispielbilder der „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells, a.) operiertes Auge (obB, Anlage aller Netzhautanteile, klarer Glaskörper ohne jegliche makroskopisch sichtbaren Entzündungsanzeichen); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB.)
- Abb. 66:** Makroskopische Beispielbilder der „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells, a.) operiertes Auge (obB, Anlage aller Netzhautanteile, klarer Glaskörper ohne jegliche makroskopisch sichtbaren Entzündungsanzeichen); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB.)
- Abb. 67:** Beispielbild HE-Färbung Silikonölgruppe des Ablatiomodells, 200x, a.) operiertes Auge (ausgedünnte Netzhaut, beginnende Gliose, nicht mehr klar abgrenzbare Schichtung); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB)
- Abb. 68:** Beispielbild HE-Färbung „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells, 200x, a.) operiertes Auge (aufgelockerte Netzhautstruktur, physiologische Schichtung der Netzhaut aber vorhanden); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB)
- Abb. 69:** Beispielbild HE-Färbung „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells, 200x, a.) operiertes Auge (etwas dünn erscheinende Netzhaut, physiologische Schichtung der Netzhaut erhalten); b.) nicht operiertes Partnerauge (obB)
- Abb. 70:** Diagramm GFAP-Färbung Ablatiomodell; Durchschnitt der Bewertungen der operierten Augen im Vergleich zu den jeweiligen nicht operierten Partneraugen je Gruppe des Ablatiomodells (jeweils mit Standardabweichung), mit hochsignifikantem Unterschied zwischen den operierten Augen und den nicht operierten Partneraugen jeder Untersuchungsgruppe (\*signifikant ( $p < 0,05$ ), \*\* sehr signifikant ( $p < 0,01$ ), \*\*\* hochsignifikant ( $p < 0,001$ ))
- Abb. 71:** Beispielbilder GFAP-Färbung der Silikonölgruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge sehr viel mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind
- Abb. 72:** Beispielbilder GFAP-Färbung „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge sehr viel mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind

- Abb. 73:** *Beispielbilder GFAP-Färbung „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge, b.) nicht operiertes Partnerauge; beide mit deutlicher Färbung der retinalen Müllerzellen, wobei auffällt, dass beim operierten Auge sehr viel mehr angefärbte Müllerzellen vorhanden sind*
- Abb. 74:** *Diagramm über den mit der Brn3a-Färbung ermittelten prozentualen Anteil an retinalen Ganglienzellen (RGZ) in der Ganglienzellschicht der operierten Augen und deren nicht operierten Partneraugen der drei Gruppen des Ablatiomodells, dargestellt sind Mittelwerte plus/minus deren Standardabweichung, p-Wert der Silikonölgruppe  $p=0,0567$ , p-Wert der „ViBos-strong“-Gruppe  $p=0,0292$  (\*), p-Wert der „ViBos-soft“-Gruppe  $p=0,0114$  (\*) (Signifikanzniveau  $*=p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***=p<0,001$ )*
- Abb. 75:** *Beispielbild der Brn3a-Färbung der Silikonölgruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; ohne signifikanten Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge*
- Abb. 76:** *Beispielbild der Brn3a-Färbung der „ViBos-strong“-Gruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; mit signifikantem Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge*
- Abb. 77:** *Beispielbild der Brn3a-Färbung der „ViBos-soft“-Gruppe des Ablatiomodells; a.) operiertes Auge; b.) nicht operiertes Partnerauge; mit signifikantem Unterschied zwischen der RGZ-Anzahl im operierten und dem nicht operierten Partnerauge*
- Abb. 78:** *Diagramm zur Darstellung der Netzhautdicke der drei Gruppen des Ablatiomodells; Netzhautdicke der operierten Augen im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen (jeweils mit der dazugehörigen Standardabweichung), mit \*\*\* signifikant niedrigeren Messwerten der operierten Augen der „ViBos-soft“-Gruppe im Vergleich zu den nicht operierten Partneraugen (Signifikanzniveau  $*=p<0,05$ ,  $**=p<0,01$ ,  $***=p<0,001$ )*
- Abb. 79:** *a.) Darstellung Normalverteilung der skotopischen ERG-Wellenamplituden des Standardflashes bei  $3 \text{ cd.s/m}^2$ ; b.) Darstellung Normalverteilung der photopischen ERG-Wellenamplituden des 30Hz Flickers bei  $3 \text{ cd.s/m}^2$*
- Abb. 80:** *Darstellung der p-Werte der Baselineuntersuchungen, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden*
- Abb. 81:** *Darstellung der p-Werte der Verträglichkeitsstudie, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. Scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. Phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-*

Wellenamplituden, 7. Phot. b-Wellenamplituden, 8. Phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. Phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker

- Abb. 82:** *Darstellung der p-Werte der Silikonölgruppe der Wirksamkeitsstudie, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker*
- Abb. 83:** *Darstellung der p-Werte der „ViBos-strong“-Gruppe der Wirksamkeitsstudie, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker*
- Abb. 84:** *Darstellung der p-Werte der „ViBos-soft“-Gruppe der Wirksamkeitsstudie, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker*
- Abb. 85:** *Vergleich zwischen den einzelnen Ablatiomodelgruppen, 1. scot. a-Wellenamplituden, 2. Scot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 3. scot. B-Wellenamplituden, 4. Scot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 5. phot. a-Wellenamplituden, 6. phot. Gipfelzeiten a-Wellenamplituden, 7. phot. b-Wellenamplituden, 8. phot. Gipfelzeiten b-Wellenamplituden, 9. phot. b-Wellenamplituden 30 Hz Flicker*
- Abb. 86:** *Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Verträglichkeitsgruppe über einen Monat zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ und einen Monat postoperativ, zwei Tiere mit unverändertem ERG und ohne Netzhautablösung und Kataraktentwicklung, ein Tier mit leicht reduziertem ERG sowie kleiner Netzhautalte ohne Kataraktentwicklung, ein Tier mit fast vollständiger Netzhautablösung und ohne Kataraktentwicklung, zwei Tiere mit vollständig erloschenem ERG sowie vollständiger Netzhautablösung und Kataraktentwicklung.*

- Abb. 87:** *Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Verträglichkeitsgruppe über drei Monate zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ sowie einen Monat und drei Monate postoperativ. Drei Tiere mit unverändertem ERG, sowie ohne Anzeichen für eine Netzhautablösung oder eine Katarakt, bei zwei Tieren aufgrund einer leichten Katarakt ein leicht reduziertes ERG und bei einem Tier zu Beginn ein deutlich reduziertes, anschließend erloschenes ERG aufgrund einer Netzhautablösung mit Kataraktentwicklung.*
- Abb. 88:** *Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Verträglichkeitsgruppe über sechs Monate (n=6) zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ sowie einen Monat, drei und sechs Monate postoperativ. Nach einem Monat konnte bei fünf der untersuchten Tiere ein unverändertes ERG sowie keinerlei Hinweise auf Netzhautablösung oder eine Katarakt nachgewiesen werden, bei lediglich einem Tier ein leicht reduziertes ERG aufgrund feiner Trübung der hinteren Linsenkapsel, nach drei sowie sechs Monaten konnte bei vier Tieren ein unverändertes ERG ohne Netzhautablösung und Kataraktentwicklung und bei zwei Tieren ein leicht reduziertes ERG ohne Hinweis auf Netzhautablösung aber feiner Trübung der hinteren Linsenkapsel festgestellt werden.*
- Abb. 89:** *Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Ablatiomodellgruppe, die intraoperativ als Glaskörpertamponade Silikonöl erhielt, zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ und einen Monat postoperativ (n=8). Ein Tier ohne Hinweis auf Netzhautablösung sowie Kataraktentwicklung, ein Tier mit fast vollständiger Netzhautablösung und Kataraktentwicklung, sechs Tiere mit vollständiger Netzhautablösung und Kataraktentwicklung.*
- Abb. 90:** *Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Ablatiomodellgruppe, die intraoperativ als Glaskörpertamponade das Hyaluronsäuregel „ViBos-strong“ erhielt, zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ und einen Monat postoperativ (n=8). Ein Tier mit vollständiger Netzhautablösung und Kataraktentwicklung, zwei Tiere mit partieller Netzhautablösung, ohne Kataraktentwicklung und fünf Tiere mit vollständig anliegender Netzhaut und ohne Anzeichen einer Katarakt.*
- Abb. 91:** *Diagramm über die Ableitbarkeit des ERG's der Ablatiomodellgruppe, die intraoperativ als Glaskörpertamponade das Hyaluronsäuregel „ViBos-soft“ erhielt, zu den Untersuchungszeitpunkten präoperativ und einen Monat postoperativ (n=7). Bei einem Tier konnte eine vollständige Netzhautablösung ohne Kataraktentwicklung, bei zwei Tieren eine anliegende Netzhaut aber das Vorliegen einer Katarakt und bei fünf Tieren weder eine Katarakt noch eine Netzhautablösung festgestellt werden*

## **2. Tabellenverzeichnis**

*Tab. 1: Übersicht angewandte Chemikalien*

*Tab. 2: Übersicht angewandte Pufferlösungen*

*Tab. 3: Übersicht des verwendeten Testkits*

*Tab. 4: Übersicht aller angewandten Antikörper*

*Tab. 5: Übersicht über die verwendeten Verbrauchsmaterialien*

*Tab. 6: Übersicht über die angewandten Medikamente*

*Tab. 7: Übersicht der verwendeten Glaskörpertamponaden*

*Tab. 8: Übersicht der genutzten Geräte*

*Tab. 9: Nachuntersuchungsplan Verträglichkeitsstudie*

*Tab. 10: Nachuntersuchungsplan Ablatiomodell*

*Tab. 11: Übersicht HE-Färbung*

*Tab. 12: Übersicht immunhistologische Färbungen*

### 3. Publikationen

#### 3.1. Paper:

Schnichels S, Schneider N, Hohenadl C, Hurst J, Schatz A, Januschowski K und Spitzer MS

Efficacy of two different thiol-modified crosslinked hyaluronate formulations as vitreous replacement compared to silicone oil in a model of retinal detachment. PLoS One. 2017 Mar 1;12(3) eCollection 2017. IF: 2,766

#### 3.2. Kongressvorträge:

Januschowski K, Schnichels S, Hurst J, Pohl L, Schneider N, Mariacher S, Ebner M, Bartz-Schmidt KU und Spitzer MS

Ein standardisiertes ex-vivo Model zur Messung der Druckverlaufs von Endotamponaden

113. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG), Berlin, Germany, 1-4 October 2015

Spitzer MS, Schneider N, Pohl L, Reither C, Hohenadl C, Hurst J, Schnichels S & Januschowski K

Quervernetztes Hyaluronat als Glaskörperersatz versus Silikonöl–Vergleich der Wirksamkeit in einem Ablatiomodell

113. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG), Berlin, Germany, 1-4 October 2015

#### 3.3. Poster:

Lisa Pohl, Nele Heider, Jose Hurst, Martin Prinz, Christine Hohenadl, Charlotte Reither, Kai Januschowski, Sven Schnichels und Martin Spitzer

Thiolated cross-linked hydrogel as a vitreous substitute – a 6-month follow-up study  
Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2019, Vancouver, Kanada, 28. April -02 May 2019

Spitzer MS, Schneider N, Hurst J, Hohenadl C, Januschowski K und Schnichels S  
Efficacy of two different thiol-modified crosslinked hyaluronate formulations compared to silicone oil in a model of retinal detachment

Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2017, Baltimore, USA, 7-11 May 2017

Schneider N, Januschowski K, Hurst J, Pohl L, Schultheiss M, Hohenadl C, Reither C, Schnichels S und Spitzer MS

Evaluation of a retinal detachment model for testing hydrophilic vitreous substitute  
Association for Research in Vision and Ophthalmology (ARVO) 2015, Denver, USA, 3-7 May 2015

## **X. DANKSAGUNG**

Vor allem möchte ich Herrn Prof. Dr. Martin Spitzer, Herrn Dr. Schnichels und Herrn Prof. Kai Januschowski für die Überlassung des Themas und der jederzeit sehr engagierten und hilfsbereiten Unterstützung danken. Besonders möchte ich mich auch für das Vertrauen und die Freiheit bedanken, die mir während der Arbeit an diesem Forschungsprojekt gewährt wurde.

Mein besonderer Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. Hartmut Gerhards, der die Doktorvaterschaft dieser externen Arbeit übernahm und mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite stand.

Frau Heike Enderle gilt ein großes Dankeschön für ihre engagierte Hilfe bei der Durchführung der Versuche und Untersuchungen der Versuchstiere. Ohne ihre unermüdliche Hilfe und ihr Know-How der Elektrophysiologischen Untersuchungen, hätte sich die Durchführung der Versuche als äußerst knifflig dargestellt. Herzlichen Dank für ihre Freundschaft und jeden anderen wertvollen, unterstützenden Beistand. Ebenso danke ich an dieser Stelle Frau Dr. José Hurst und Frau Johanna Hofmann, die mir zu jeder Zeit auf ihre äußerst liebevolle Art mit großem Engagement und viel Hilfsbereitschaft zur Seite standen und jeder Zeit ein offenes Ohr für all meine Fragen hatten.

Für die außerordentlich engagierte und professionelle Einführung in sämtliche immunhistologische Arbeiten danke ich den Damen der Histologie der Universitätsaugenklinik Tübingen, die mir immerzu mit unermüdlichem Rat und Tat zur Seite standen und mir alles Wichtige für die Histologie beibrachten. Hierfür danke ich Claudia Riedinger, Frau Monika Wild und Frau Christiana Fischer-Lamprecht sehr, auch dafür, dass sie immer für mich da waren und sehr bemüht waren, jegliche Probleme gemeinsam zu lösen.

Ein sehr großes Dankeschön gilt auch Herrn Dr. Andreas Schatz, der mir die Auswertung des ERG's nahebrachte und mir dabei mit seinem Wissen und seiner Hilfsbereitschaft eine große Hilfe war.

Für ihre unermüdlichen Bemühungen um das Wohlergehen der Kaninchen dieser Studie möchte ich auch noch Frau Dr. Antje Semrau ein großes Dankeschön aussprechen. Um das kurze Leben unserer Kaninchen so gesund und schön wie möglich zu gestalten, stand Sie mir jederzeit mit sehr viel Herzblut und Engagement zur Seite. Vielen Dank.

Von ganzem Herzen danke ich meinen Eltern und Geschwistern, die mich bei meinem bisherigen Lebensweg immerzu unterstützt haben und mir in allen Hochs sowie auch Tiefs den nötigen, liebevollen Halt geben. Meinen Eltern gilt ein besonderer Dank, da sie jeden Tag aufs Neue alles für mich und meine Geschwister geben und uns immerzu mit Liebe entgegenreten.

Zu guter Letzt danke ich meinem Mann Christoph, der mir mit seiner unendlichen Ausdauer, Ruhe und Geduld in jeder Situation liebevoll den Rücken stärkt und immer für mich da ist. Mit seiner ausgeglichenen Art und seiner Liebe schafft er es immer im richtigen Moment mich aufzumuntern und neuen Mut zuzusprechen.