

Aus der Augenklinik
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Professor Dr. med. Siegfried Priglinger

**Prämakuläres Gewebe bei
traktiven Makulopathien**

Habilitationsschrift
zur Erlangung der Venia Legendi
für das Fach Augenheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Dr. med. Denise Vogt

München

2022

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	III
1 Vorwort	4
2 Einführung und Zielsetzung	5
3 Hintergrund	8
4 Wissenschaftliche Arbeiten.....	14
4.1 Prämakuläre Membranen bei Makulaschichtforamen und Pseudoforamen der Makula 14	
4.1.1 Klinischer Hintergrund.....	15
4.1.2 Patienten und Methoden.....	19
4.1.3 Ergebnisse	24
4.1.4 Diskussion	34
4.2 Prämakuläre Membranen bei idiopathischem Macular Pucker, proliferativer Vitreoretinopathie und durchgreifendem Makulaforamen	37
4.2.1 Klinischer Hintergrund.....	38
4.2.2 Patienten und Methoden.....	40
4.2.3 Ergebnisse	45
4.2.4 Diskussion	52
5 Schlussfolgerungen und Ausblick.....	56
6 Zusammenfassung.....	60
7 Fremdliteraturverzeichnis zum Thema.....	65
8 Schriftenverzeichnis	71
9 Anhang	87

Abkürzungsverzeichnis

BCVA	Best-korrigierte Sehschärfe (engl.: best-corrected visual acuity)
CRT	Zentrale retinale Dicke (engl.: central retinal thickness)
ELM	Äußere Grenzmembran (engl.: external limiting membrane)
ERM	Epiretinale Membran (engl.: epiretinal membrane)
EZ	Ellipsoide Zone der Innensegmente (engl.: ellipsoid zone)
iERM	Idiopathische epiretinale Membran
iERM-FS	Foveoschisis bei idiopathischer epiretinaler Membran
ILM	Innere Grenzmembran (engl.: internal limiting membrane)
LHEP	Makulaschichtforamen-assoziierte epiretinale Proliferation (engl.: lamellar hole-associated epiretinal proliferation)
NFL	Nervenfaserschicht (engl.: nerve fiber layer)
OCT	Optische Kohärenztomographie
PVR	Proliferative Vitreoretinopathie
SD-OCT	Spektral-Domain optische Kohärenztomographie
n	Anzahl der Augen
r	Korrelationskoeffizient
p	Signifikanzwert

1 Vorwort

Diese vorliegende kumulative Habilitationsschrift beschreibt Vorkommen und Charakteristika prämakulärer Membranen im Bereich der vitreoretinalen Grenzfläche bei traktiven Makulopathien wie dem Makulaschichtforamen und dem Pseudofoamen der Makula, der Foveoschisis bei idiopathischer epiretinaler Membran (iERM-Foveoschisis), dem durchgreifenden Makulaforamen, dem idiopathischen Macular pucker sowie der proliferativen Vitreoretinopathie.

Grundlage sind acht ausgewählte Originalarbeiten, die den klinischen Verlauf sowie immunhistologische und ultrastrukturelle Eigenschaften der vitreoretinalen Grenzfläche einschließlich prämakulärer Membranen und innerer Grenzmembran (ILM) bei diesen Krankheitsbildern darstellen und vergleichen. Die vorgelegten, ausgesuchten Arbeiten umfassen klinische Studien sowie klinisch-pathologische Untersuchungen, bei denen die chirurgisch exzidierten Präparate mittels Flachschnittpräparation für die Phasen- und Interferenzmikroskopie, Immunhistologie und Transmissionselektronenmikroskopie aufbereitet wurden. Auch die Entwicklung eines erfolgreich etablierten Zellkulturmodells wird beschrieben und erläutert.

Zum besseren Verständnis sind ausgewählte Abbildungen und Tabellen aus den entsprechenden Originalarbeiten in dieser Habilitationsschrift aufgeführt. Zentrale Aussagen der Originalarbeiten betonen die Kernfragen wichtiger Diskussionspunkte. Dabei sind die eigenen Veröffentlichungen zum Thema aufsteigend nach Erscheinungsdatum bei den entsprechenden Kapiteln gelistet. Die zum Thema zitierte Fremdliteratur ist in numerischer Form im Literaturverzeichnis angegeben.

2 Einführung und Zielsetzung

Der Begriff traktive Makulopathie bezeichnet in der Retinologie eine Gruppe von Erkrankungen der Netzhaut des Auges, welche die Stelle des schärfsten Sehens (Macula lutea) betreffen. Hauptsymptome erkrankter Patienten sind Visusverlust und Verzerstsehen. Zu den traktiven Makulopathien zählen das vollständig durchgreifende Makulaforamen, das Makulaschichtforamen und Pseudoforamen der Makula sowie die Foveoschisis bei idiopathischer epiretinale Membran (iERM-Foveoschisis) als nicht-vollständig durchgreifende Makuladefekte, die idiopathische epiretinale Gliose sowie deren fortgeschrittene Form namens Macular pucker, das vitreomakuläre Traktionssyndrom und die proliferative Vitreoretinopathie.

Zur Diagnosestellung traktiver Makulopathien werden moderne bildgebende hochauflösende Verfahren wie die Spektral-Domain optische Kohärenztomographie (SD-OCT) in der klinischen Praxis standardmäßig eingesetzt. Durch die detaillierte Darstellung einzelner Netzhautschichten lassen sich feinste Veränderungen im Bereich der Makula bereits früh diagnostizieren und im Verlauf beurteilen.

Gemeinsam ist allen Formen von traktiven Makulopathien das Vorhandensein von prämakulären Membranen, welche häufiger auch als epiretinale Membranen (ERM) bezeichnet werden.^{19,24,36,71,74} Diese sind pathologische, mehrschichtige Proliferationen von Zellen und extrazellulärer Kollagenmatrix im Bereich der makulären vitreoretinalen Grenzfläche, der anatomischen Grenze zwischen Glaskörperinnenschicht und innerer Grenzmembran (ILM) der Netzhaut.^{41,42,73,75}

Das Vorkommen von prämakulären Membranen in der Gesamtbevölkerung ist häufig. Funduskopisch sichtbare prämakuläre Membranen zeigen sich bei fast jedem Dritten über 45 Jahre altem Menschen.⁵²

Mittels immunzytochemischer und ultrastruktureller Untersuchungen war es in den vergangenen Jahren möglich unterschiedliche Zellarten in prämakulären Membranen nachzuweisen. Als Hauptzelltyp wurden in großer Anzahl α -smooth muscle actin-positive Myofibroblasten, welche aus verschiedenen Vorläuferzellen wie den retinalen glialen Müller-Zellen oder Hyalozyten transdifferenzieren, bei allen Formen traktiver Makulopathien gefunden.^{65,67,68,88} Auf Grund ihrer Fähigkeit zur Kontraktion und der Produktion einer extrazellulären Kollagenmatrix verursachen prämakuläre Membranen eine Faltenbildung

Einführung und Zielsetzung

innerer Netzhautschichten im Bereich der Makula.^{18,33,38,39,47,78.} Erkrankte Patienten sind dadurch neben einem massiven Sehverlust, vor allem durch ein ausgeprägtes Verzerrensehen im täglichen Leben wie beispielsweise beim Lesen, Schreiben oder Autofahren stark funktionell beeinträchtigt.

Als einzig aktives therapeutisches Vorgehen besteht derzeit die Möglichkeit der mikrochirurgischen Intervention mit Entfernung der prämakulären Membranen und der ILM von der Oberfläche der Netzhaut. Ziel dieses sogenannten „Peelings“ während der Makulachirurgie ist die Lösung bestehender, antero-posteriorer und/oder tangentialer Traktionen. Zur Rezidivprophylaxe werden dabei alle bestehenden, prämakulären Zell- und Kollagenauflagerungen einschließlich ILM im Bereich der Makula vollständig abgetragen.^{17,66} Mit einer Dicke von 4-10 µm stellt sich die ILM jedoch als sehr dünne und transluzide Struktur dar, sodass die Entfernung des Glaskörpers mit Peeling als ein diffiziles Verfahren gilt, welches mit entsprechenden Risiken verbunden ist.

Da altersbedingte Pathologien des Glaskörpers maßgeblich an der Entwicklung traktiver Makulopathien beteiligt sind, haben die hier vorgelegten Forschungsarbeiten vor dem Hintergrund des steigenden Altersdurchschnitts in der Population eine besondere klinische Relevanz. Ziel dieses kumulativen Habilitationsvorhabens war deshalb, die Kenntnis über die Entstehung und Abgrenzung einzelner traktiver Makulopathien untereinander zu verbessern und dadurch Handlungsempfehlungen für operative vitreoretinale Eingriffe aufzuzeigen.

Vor diesem Hintergrund ergaben sich zahlreiche Fragestellungen und Zielsetzungen, die Gegenstand der nachfolgend aufgeführten wissenschaftlichen Arbeiten sind und sich wie folgt darstellen:

- I. Welche Unterschiede zeigen sich histopathologisch im Bereich der vitreoretinalen Grenzfläche in Bezug auf Vorkommen und Charakterisierung von prämakulären Membranen bei Augen mit Makulaschichtforamen und Pseudoforamen der Makula? (**Arbeit A und B**) Welche Zellarten lassen sich immunzytochemisch und ultrastrukturell bei typisch traktiven prämakulären Membranen, wie sie bei Augen mit Pseudoforamen der Makula vorkommen, und bei der atypischen Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation beschreiben? (**Arbeit A und B**)

Einführung und Zielsetzung

- II. Welche Hinweise ergeben sich bezüglich des Fortschreitens der atypischen Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation im klinischen Zeitverlauf bei Augen mit Makulaschichtforamen, welche ausschließliche diese Form von prämakulärer Proliferation aufweisen? Zeigt sich bei diesen Augen eine Korrelation von intraretinalen Veränderungen und Abnahme der best-korrigierten Sehschärfe? (**Arbeit C**)
- III. Findet sich die atypisch prämakuläre Zellproliferation nicht nur bei Makulaschichtforamen sondern auch bei anderen, traktiven Makulopathien wie bei Augen mit durchgreifendem Makulaforamen oder Macular pucker? Lässt sich deren Vorkommen und Zellzusammensetzung untereinander vergleichen und eine Korrelation mit dem morphologischen SD-OCT Befund herstellen? (**Arbeit D**)
- IV. Wie lässt sich die vitreomakuläre Grenzfläche bei Augen mit iERM-Foveoschisis, einer neuen Entität nicht-vollständig durchgreifender Makuladefekte, klinisch-pathologisch beschreiben und welche Unterschiede bestehen zur bekannten myopen Foveoschisis? (**Arbeit E**)
- V. Wie verhalten sich kultivierte und mittels Traktion aufgespannte, prämakuläre Membranen im Vergleich zu unkultivierten und nicht aufgespannten, prämakulären Membranen von Augen mit Macular pucker, welche mittels Immunzytochemie und Elektronenmikroskopie analysiert und verglichen werden? Welche Zellarten und Phänotypen lassen sich beschreiben? (**Arbeit F**)
- VI. Gibt es Unterschiede in der Zellverteilung und Zellzusammensetzung von prämakulären Membranen bei Augen mit Macular pucker und proliferativer Vitreoretinopathie mittels Testung neuer, Fibrose-hemmender Marker in der Immunzytochemie und morphologischer Analyse mittels Elektronenmikroskopie? (**Arbeit G**)
- VII. Lassen sich mittels Immunfluoreszenz und Elektronenmikroskopie neurotrophe Wachstumsfaktoren sowie Glia-/ und Ganglienzellen bei Augen mit großen vollständig durchgreifenden Makulaforamen nachweisen? (**Arbeit H**)

In den folgenden Kapiteln wird ein zusammenfassender Überblick über die in den Publikationen angeführten Methoden und Studienergebnisse gegeben. Zudem erfolgt eine Einordnung dieser Arbeiten in die aktuelle wissenschaftliche Literatur.

3 Hintergrund

Traktive Makulopathien stellen eine heterogene Gruppe erworbener vitreoretinaler Erkrankungen dar. Pathogenetisch resultieren traktive Makulopathien aus antero-posterioren oder tangential gerichteten Zugkräften im Bereich des Übergangs des Glaskörpers zur Netzhautoberfläche, der vitreoretinalen Grenzfläche. Wesentliche kausale Faktoren hierfür sind altersbedingte Pathologien des Glaskörpers sowie das Vorkommen von pathologischen prämakulären Membranen.

Anatomie der vitreoretinalen Grenzfläche

Die vitreoretinale Grenzfläche wird gebildet aus innerer Grenzmembran (engl. internal limiting membrane, ILM) der Netzhaut und Glaskörperrinde.

Die ILM ist eine Basalmembran der retinalen Fußplatten der Müller-Zellen. Sie besteht neben Mukopolysacchariden vor allem aus Typ I und Typ IV Kollagenfibrillen. Die zur Netzhaut gewandte retinale Seite zeigt eine unregelmäßig gewellte Seite. Die vitreale, zum Glaskörper weisende Seite hat hingegen eine glatte Oberfläche.

Als Glaskörperrinde wird der äußere Anteil des Glaskörpers bezeichnet. Bestandteile sind überwiegend Kollagen Typ II Fibrillen sowie singuläre Zellen, u.a. Fibroblasten und Hyalozyten.⁶

Die feste Adhärenz von Glaskörper und Netzhaut im Bereich des hinteren Pols hat dabei klinisch eine besondere Bedeutung. Kollagene, radiär einlaufende Fasern der Glaskörperbasis in die ILM prädisponieren durch feste Verbindungen der extrazellulären Bindungsproteine Fibronectin und Laminin zur Entstehung traktiver Veränderungen zentral in der Makula.⁶

Altersbedingte hintere Glaskörperabhebung

Die physiologische Ablösung der hinteren Glaskörperrinde von der ILM der Netzhaut, als hintere Glaskörperabhebung bezeichnet, zählt zu den altersbedingten Veränderungen des Auges.³⁷ Ursächlich dafür ist die mit dem Alter zunehmende Glaskörperverflüssigung (Syneresis).^{6,37} Durch strukturelle, altersbedingte Veränderungen erfolgt eine schrittweise

Hintergrund

Auflösung der netzwerk-ähnlichen Struktur des Glaskörpers. Hierzu zählen im Detail der Verlust von Kollagen IX sowie die damit verbundene Zusammenlagerung verbleibender Kollagenfibrillen, als auch die zunehmende Produktion an Hyaluronsäure durch Hyalozyten. Als Folge davon ändert sich die Zusammensetzung des Glaskörpers von gelartig zu flüssig.⁷⁶ Daneben trägt auch das Nachlassen physiologischer vitreoretinaler Adhäsionen der Bindungsproteine Laminin und Fibronectin zur Entwicklung der altersbedingten hinteren Glaskörperabhebung bei.^{6,37}

Die altersbedingte, hintere Glaskörperabhebung wird normalerweise erst bei Menschen ab dem 40. Lebensjahr beobachtet. In der Literatur werden Prävalenzen bei unter 50-Jährigen mit weniger als 10% angegeben. Bei den über 70-Jährigen findet sich bei mindestens 60% der Augen eine hintere Glaskörperabhebung.⁸⁰ Untersuchungen konnten zeigen, dass verschiedene Stadien über Jahre durchlaufen werden, bevor sich eine vollständige, komplette hintere Glaskörperabhebung zeigt.⁸⁰ Nach einer beginnenden perifovealen Ablösung des Glaskörpers, trennen sich im Verlauf vitreofoveale und vitreopapilläre Anheftungen.⁸⁰

Dieser Vorgang von Glaskörperverflüssigung und Lösung vitreoretinaler Adhäsionen verläuft bei der Mehrheit der Bevölkerung simultan ohne daraus resultierende Pathologien. Löst sich der Glaskörper durch verbleibende, vitreoretinale Anheftungen jedoch nicht komplett von der Netzhautoberfläche, entstehen antero-posteriore und/ oder tangential Traktionen. Dies nennt sich atypische hintere Glaskörperabhebung.^{37,75,80} Zudem ist auch eine Spaltung innerhalb der Glaskörperrinde möglich, Vitreoschisis genannt, bei der sich durch persistierende, vitreofoveale Adhäsionen nur der innere Anteil der Glaskörperrinde löst und der äußere Teil mit der ILM der Netzhaut verbunden bleibt.

Sowohl die atypische hintere Glaskörperabhebung mit Ausbildung persistierender vitreomakulärer Adhärenzen, als auch die Vitreoschisis spielen in der Pathogenese der verschiedenen traktiven Makulopathien eine entscheidende Rolle.

Prämakuläre Membran

Bei prämakulären Membranen handelt es sich um fibrozelluläre Proliferationen und Kollagenansammlungen, welche sich der Glaskörper zugewandten Seite der ILM auflagern. In der Literatur wird häufiger auch der Begriff epiretinale Membran (ERM) verwendet. Die

Hintergrund

Zellzusammensetzung stellt sich dabei bei den unterschiedlichen Erkrankungen traktiver Makulopathien äußerst heterogen dar.

Sichtbare prämakuläre Membranen sind mittels Funduskopie bei etwa 30% der über 60-Jährigen festzustellen.⁵² Klinisch resultiert je nach Schweregrad und Ausprägung eine deutliche Sehverschlechterung sowie Verzerrtsehen.

In der Pathogenese prämakulärer Membranen sind die atypische hintere Glaskörperabhebung und die Vitreoschisis von entscheidender Bedeutung.^{25,72} In diesem Zusammenhang ist bekannt, dass vitreomakuläre Adhärenzen nicht nur Wachstum und Migration von Zellen retinalen und extra-retinalen Ursprungs induzieren, sondern auch deren De-Differenzierung begünstigen. Im Rahmen der Vitreoschisis verbleiben aus der Glaskörperinnenschicht stammende Hyalozyten auf der ILM und regen retinale Gliazellen an zu proliferieren und zu migrieren.^{71,75} Dadurch transdifferenzieren Hyalozyten und Gliazellen in aktive α -smooth muscle actin positive Myofibroblasten.¹⁰ Diese bilden die prämakuläre Membran und können durch zelluläre kontraktile Eigenschaften eine tangentielle Traktion auf die Netzhaut ausüben, wodurch eine Fältelung innerer Netzhautschichten entsteht.

Andererseits wird angenommen, dass antero-posteriore Zugkräfte zu kleinen Defekten in der ILM führen. Diese als „Poren“ bezeichnete Defekte könnten ursächlich sein für die Durchwanderung retinaler Zellen wie Makrogliazellen, zu denen Müller-Zellen und Astrozyten gehören, und Mikrogliazellen. Aber auch das Durchwandern extra-retinaler Zellen wie Fibroblasten, Makrophagen und retinale Pigmentepithelzellen von der retinalen zur vitrealen Seite der ILM ist bekannt.^{14,33,63}

Diese Theorien erklären das Vorkommen unterschiedlicher Zellarten in prämakulären Membranen, welche in den letzten Jahren mittels Immunzytochemie und Elektronenmikroskopie beschrieben wurden.^{18,33,38,39,47,78}

Traktive Makulopathien

Traktive Makulopathien treten im mittleren und fortgeschrittenen Erwachsenenalter auf und führen bei den betroffenen Patienten zu Visusminderung und Verzerrtsehen. Unterschiedliche Formen klinischer Erscheinungsbilder entwickeln sich je nach Auftreten und Ausprägung der Zugkräfte.

Hintergrund

Die bisherige klinische Diagnosestellung traktiver Makulopathien mittels Funduskopie wird heute ergänzt durch moderne Bildgebung. Die optische Kohärenztomographie (OCT) liefert als ophthalmologisches, bildgebendes Verfahren hochauflösende Querschnittscans der Netzhautschichten. Die exakte Beurteilung dieser einzelnen Netzhautschichten erbrachte in der Diagnostik und Therapieplanung vitreoretinaler Erkrankungen einen wesentlichen Fortschritt. Mit der Einführung und Weiterentwicklung zur hochauflösenden Spektral-Domain OCT (SD-OCT) wird aktuell sogar eine axiale Auflösung von bis zu 3-5 μm erreicht. Dadurch hat sich insbesondere die Darstellbarkeit der vitreoretinalen Grenzfläche und damit das Wissen über Morphologie und Fortschreiten vitreoretinaler Pathologien nochmals entscheidend verbessert.

Die SD-OCT Aufnahme eines Normalbefundes der Makula zeigt **Abbildung 3.1**. Zentral ist die foveale Depression zu erkennen. Farblich dargestellt sind die Grenze zwischen Netzhaut und Glaskörper (grün), die äußere Grenzmembran (blau), die ellipsoide Zone der Innensegmente der Photorezeptoren (rot) und die Bruch'sche Membran, die Grenze zur Aderhaut (orange).

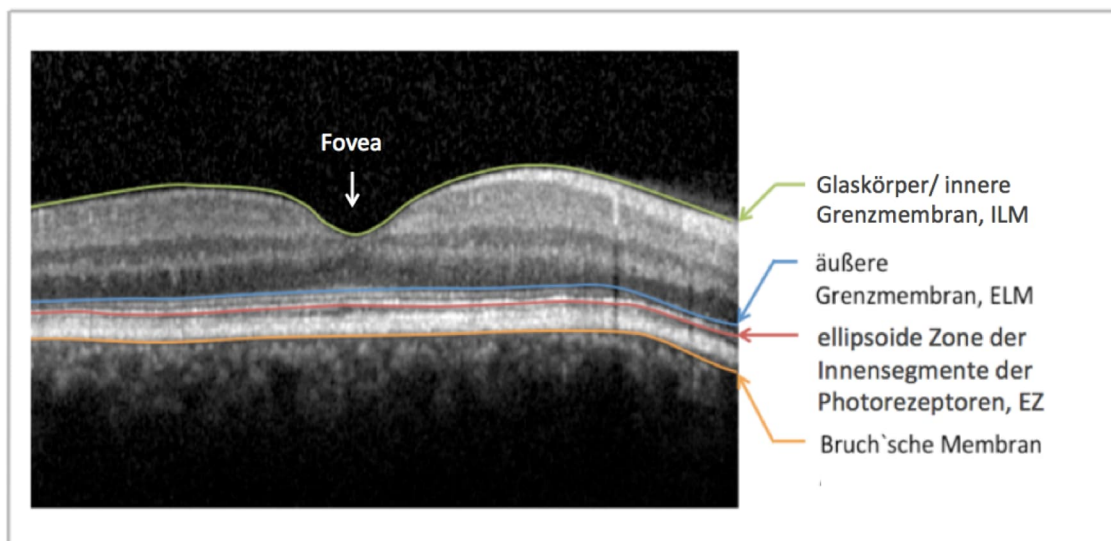
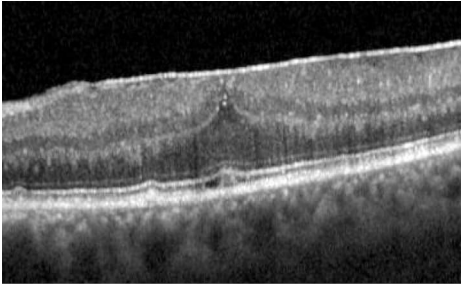
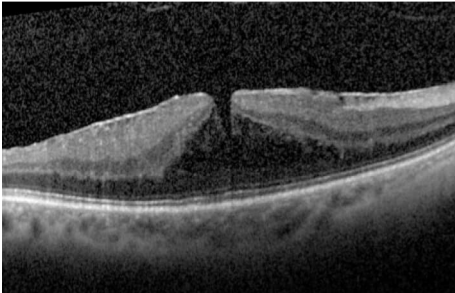


Abbildung 3.1 Hochauflösende Spektral-Domain optische Kohärenztomographie (SD-OCT) Aufnahme eines gesundes rechten Auges eines 30-jährigen Mannes. (modifiziert nach Abbildung 3.1., aus Compera, Denise (2015). *Schichtforamen und Pseudofoforamen der Makula: hochauflösende optische Kohärenztomographie und klinischer Verlauf im retrospektiven Vergleich*. Dissertation, LMU München: Medizinische Fakultät).

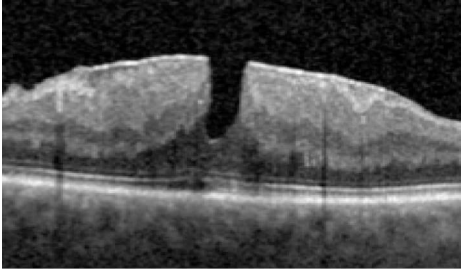
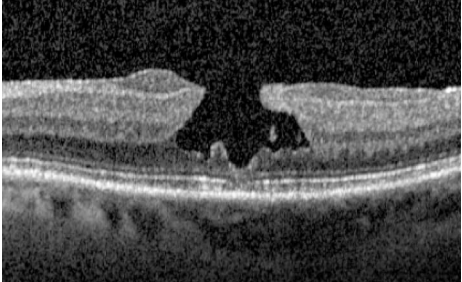
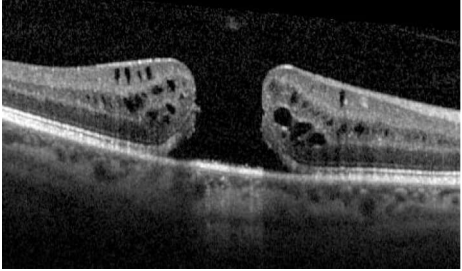
Hintergrund

Derzeit werden verschiedene Unterformen traktiver Makulopathien diagnostisch voneinander abgegrenzt. **Tabelle 1** gibt einen Überblick.

Tabelle 1. Auflistung relevanter traktiver Makulopathien mit Spektral-Domain optischer Kohärenztomographie-Aufnahme und entsprechender Beschreibung.

Diagnose mit zugehörigem SD-OCT Befund	Beschreibung
<p>Idiopathische epiretinale Gliose</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Idiopathisch nach einer hinteren Glaskörperabhebung ohne andere pathologische Veränderungen • Prämakuläre Membran (Synonym: epiretinale Membran, ERM) als eine Ansammlung und Proliferation von Zellen und Kollagen auf der vitrealen Seite der inneren Grenzmembran • „Cellophanmakulopathie“ (frühe Form) meist asymptomatisch • „Macular pucker“ (fortgeschrittene Form) durch starke exzentrische Traktion mit Metamorphopsien und Visusminderung
<p>Foveoschisis bei idiopathischer epiretinale Gliose (iERM-Foveoschisis)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • traktive prämakuläre Membran • Foveoschisis zwischen äußerer nukleärer Schicht und innerer Körnerschicht auf Ebene der Henle Nervenfaserschicht • <i>Optional:</i> mikrozystische Räume in der inneren Körnerschicht, Verdickung der Netzhaut und Faltenbildung der Netzhaut

Hintergrund

<p>Pseudoforamen der Makula</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Sonderform der idiopathischen epiretinalen Gliose • Prämakuläre Membran • Steile foveale Kontur • Normale zentrale foveale Dicke mit erhöhter parafovealen Dicke ohne Verlust von retinalem Gewebe
<p>Makulaschichtforamen</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Irreguläre foveale Kontur • foveale Kavitation mit unterminierten fovealen Rändern • Vorhandensein eines fovealen Gewebeverlusts • <i>Optional:</i> prämakuläre Proliferation, Defekt der ellipsoiden Zone (Photorezeptorschichtdefekt), zentraler, fovealer „Höcker“
<p>Idiopathisches durchgreifendes Makulaforamen</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Klein ($\leq 250 \mu\text{m}$) • Mittel (> 250 und $\leq 400 \mu\text{m}$) • Groß ($> 400 \mu\text{m}$) • Mit oder ohne VMT • Primär oder sekundär

(Modifiziert nach Tabelle 1 aus Vogt D, Gandorfer A & Schumann RG. (2022) Epi- und intraretinale Makulaveränderungen. In Kampik A, Grehn F & Pleyer U (Hrsg.), Augenärztliche Differentialdiagnose. 3. vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage, voraussichtliches Erscheinungsdatum 03.11.2021, Thieme, Stuttgart) sowie ergänzt aus Hubschman JP, Govetto A, Spaide RF, et al. Optical coherence tomography-based consensus definition for lamellar macular hole. Br J Ophthalmol. 2020 Dec;104(12):1741-1747. Epub 2020 Feb 27.)

Zur Behandlung traktiver Makulopathien ist je nach Schweregrad und Ausprägung eine mikrochirurgische Intervention mit Entfernung des prämakulären Gewebes und der ILM von der Oberfläche der Netzhaut möglich. Das Hauptziel dieses sogenannten „Peelings“ während der Makulachirurgie ist die Lösung der bestehenden Traktionen.

4 Wissenschaftliche Arbeiten

4.1 Prämakuläre Membranen bei Makulaschichtforamen und Pseudofoamen der Makula

Publikationen

(aufsteigend nach Erscheinungsjahr gelistet)

- A. **Compera D**, Entchev E, Haritoglou C, Scheler R, Mayer WJ, Wolf A, Kampik A, Schumann RG. Lamellar Hole-Associated Epiretinal Proliferation in Comparison to Epiretinal Membranes of Macular Pseudoholes. *Am J Ophthalmol.* **2015** Aug;160(2):373-384.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2015.05.010. Epub 2015 May 15.
- B. **Compera D**, Entchev E, Haritoglou C, Mayer WJ, Hagenau F, Ziada J, Kampik A, Schumann RG. Correlative Microscopy of Lamellar Hole-Associated Epiretinal Proliferation. *J Ophthalmol.* **2015**;2015:450212. doi: 10.1155/2015/450212. Epub 2015 Sep 3.
- C. **Compera D**, Schumann RG, Cereda MG, Acquistapace A, Lita V, Priglinger SG, Staurenghi G, Bottoni F. Progression of lamellar hole-associated epiretinal proliferation and retinal changes during long-term follow-up. *Br J Ophthalmol.* **2018** Jan;102(1):84-90. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-310128. Epub 2017 May 25.
- D. Schumann RG, Hagenau F, Guenther SR, Wolf A, Priglinger SG, **Vogt D**. Premacular cell proliferation profiles in tangential traction vitreo-maculopathies suggest a key role for hyalocytes. *Ophthalmologica.* **2019**;242(2):106-112. doi: 10.1159/000495853. Epub 2019 Apr 4.
- E. **Vogt D**, Stefanov S, Guenther SR, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Comparison of vitreomacular interface changes in myopic foveoschisis and idiopathic epiretinal membrane foveoschisis. *Am J Ophthalmol.* **2020** Sep;217:152-161. doi: 10.1016/j.ajo.2020.04.023. Epub 2020 Apr 29.

Arbeit A stellt eine histopathologische Charakterisierung von 25 chirurgisch exzidierten Präparaten von prämakulärem Gewebe und innerer Grenzmembran (ILM) bei 11 Augen mit Makulaschichtforamen und 14 Augen mit Pseudofoamen der Makula dar. Mittels Serienschnitttechnik wurden Flachpräparate für immunhistologische, ultrastrukturelle, interferenz- und phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen angefertigt. Die Bewertung der morphologischen Eigenschaften der zellulären Proliferation nach Zellverteilung,

Zelldichte und zellulärem Phänotyp wurde mit den Befunden der hochauflösenden Spektral-Domain-OCT (SD-OCT) korreliert. Basierend auf den Daten der SD-OCT wurden in **Arbeit B** für eine verbesserte topographische Darstellung von zellulären und extrazellulären Komponenten mittels pars plana Vitrektomie mit Peeling gewonnene Präparate von 10 Augen mit atypischer Makulaschichtforamen-assoziiierter prämakulärer Proliferation für die direkte Korrelation immunzytochemischer und ultrastruktureller Ergebnisse durch kombinierte, fluoreszenz- und immunelektronenmikroskopische Analyse unter Verwendung eines Immunonanogold-Partikels (Fluoronangold®) aufgearbeitet. **Arbeit C** stellt in Ergänzung dazu eine klinische, retrospektive SD-OCT basierte Untersuchung von 34 Augen mit Makulaschichtforamen, welche ausschließlich eine atypische Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation aufweisen, dar. Mittels SD-OCT wurde die Zunahme der atypischen prämakulären Proliferation, intraretinale Veränderungen sowie die zentrale Netzhautdicke im Zeitverlauf beurteilt und mit klinischen Daten korreliert. In **Arbeit D** wurde in einer klinisch-pathologischen Studie das Vorkommen der atypischen prämakulären Proliferation mittels Immunfluoreszenz-/ und Elektronenmikroskopie bei 10 Augen mit Makulaschichtforamen untersucht und mit anderen, traktiven Makulopathien, die ebenfalls in der SD-OCT dieses Gewebe zeigten, verglichen. **Arbeit E** beschreibt immunzytochemisch und ultrastrukturell die vitreomakuläre Grenzfläche der neu definierten Entität der iERM-Foveoschisis (früher Mischform zwischen Makulaschichtforamen und Pseudoforamen der Makula) bei 5 operierten Augen im Vergleich zu 5 Augen mit bekannter, myoper Foveoschisis. Zusätzlich erfolgte eine klinische Korrelation mit gewonnenen Daten aus der SD-OCT.

4.1.1 Klinischer Hintergrund

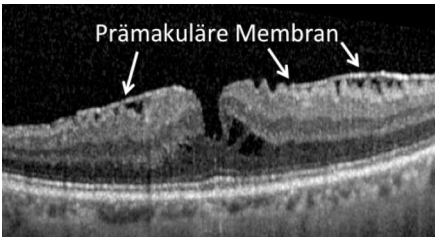
Makulaschichtforamen und Pseudoforamen der Makula zählen als nicht-vollständig durchgreifende Makuladefekte zur Gruppe der traktiven Makulopathien und wurden entsprechend biomikroskopischer und histologischer Untersuchungen erstmals von Gass im Jahr 1975 beschrieben.²⁰ Sie treten überwiegend in der alternden Bevölkerung auf und beeinträchtigen die betroffenen Patienten durch Visusminderung und Verzerrtsehen.


Die Einführung der hochauflösenden SD-OCT im Jahr 2013 erbrachte durch verbesserte Darstellung der vitreoretinalen Grenzfläche sowie retinaler Schichten eine Anpassung der Diagnosekriterien für Makulaschichtforamen und Pseudoforamen. Anhand dieser wurden

Makulaschichtforamen definiert durch eine irreguläre foveale Kontur, einen Defekt der inneren Fovea sowie eine innere Spaltbildung.¹³ Pseudoforamen der Makula stellen eine Sonderform der epiretinalen Gliose dar und weisen dadurch immer eine traktive prämakuläre Membran auf. Daneben zeigten sie eine steile Kontur der Fovea, eine normale, zentrale foveale Dicke sowie eine erhöhte, parafoveale Netzhautdicke.¹³

Durch die Darstellung feinsten morphologischer Details ließen sich nicht nur entgegen früherer Annahmen traktive prämakuläre Membranen bei Makulaschichtforamen nachweisen,^{26,83} sondern auch mittels hochauflösender SD-OCT eine bisher unbekannt Form prämakulären Gewebes beschreiben.⁵⁷ Ein Großteil der Augen mit Makulaschichtforamen zeigte neben den bekannten, traktiven prämakulären Membranen eine homogene atypische dicke prämakuläre Proliferation. In der SD-OCT lässt sich diese als hypodenses, dicht aufgelagertes Material darstellen, welches im Gegensatz zur konventionellen, prämakulären Membran kaum zelluläre, kontraktile Komponenten aufweist.⁵⁷ Diese bisher namenlose, neue Entität wurde als Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation (engl.: lamellar hole-associated epiretinal proliferation, LHEP) benannt.^{54,55,56} **Tabelle 2** zeigt in einer Übersicht die wichtigsten Charakteristika der zwei verschiedenen prämakulären Gewebe.

Tabelle 2 Charakteristika prämakulären Gewebes

Prämakuläres Gewebe	Beschreibung
<p>Prämakuläre Membran (Synonym: epiretinale Membran, ERM)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • Fibrozelluläre Ansammlung und Proliferation von Zellen und extrazellulärer Kollagenmatrix auf der vitrealen Seite der inneren Grenzmembran • Hauptzelltyp: Myofibroblasten • traktive Eigenschaften • zeigt sich in der SD-OCT als hyperreflektive dünne Membran

<p>Atypische dichte prämakuläre Proliferation</p> <p>(Synonym: Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation, LHEP)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> • homogene atypische dichte Ansammlung und Proliferation von Zellen und extrazellulärer Matrix auf der vitrealen Seite der inneren Grenzmembran • Hauptzelltypen: Gliazellen und Hyalozyten • kaum zelluläre, kontraktile Komponenten • zeigt sich in der SD-OCT als hypodenses, dicht aufgelagertes Material
--	--

Weitere Untersuchungen von Augen mit Makulaschichtforamen zeigten eine positive Korrelation der Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation nicht nur mit Photorezeptorschicht-Defekten, sondern auch mit schlechterer Sehschärfe [Schumann RG, Compera D et al. 2015].^{50,58,62} Bisher wurde Makulaschichtforamen ein oft über viele Jahre stabiler Krankheitsverlauf zugeschrieben.^{7,56} Zudem konnte gezeigt werden, dass das Vorkommen dieser atypischen, hyporeflektiven, prämakulären Proliferation in seltenen Fällen auch bei anderen, traktiven Makulopathien, wie dem durchgreifenden Makulaforamen oder dem Macular pucker vorkommt.^{5,35} Die Entwicklung dieser Zellproliferation an der vitreomakulären Grenzfläche, als auch die pathogenetische Rolle der prämakulären Proliferation im Verlauf vitreomakulärer Erkrankungen gilt nach wie vor als nicht abschließend verstanden.

Zuletzt hat das Vorkommen von sich morphologisch nicht deutlich zu einer Entität zuordenbaren Formen von Makulaschichtforamen und Pseudofoamen der Makula erneut zur Debatte über Terminologie und Pathogenese geführt. Durch das Vorhandensein verschiedener Begriffe wie „macular pseudohole with stretched edges“ oder „tractional lamellar macular hole“ in der Literatur für ähnliche, morphologische Erscheinungsbilder in der SD-OCT resultierten Unsicherheiten im therapeutischen Vorgehen.^{21,23} Diese anhaltende Diskussion über Definition und Abgrenzung von Makulaschichtforamen und Pseudofoamen der Makula untereinander war Anlass für einen im Jahr 2020 erschienenen Konsens führender, internationaler Retinologen in diesem Gebiet.³⁴ Auf Grundlage relevanter Publikationen zu diesem Thema wurden in diesem aktuellen Review die bestehenden SD-OCT-basierten

morphologischen Kriterien angepasst und erweitert. Demnach sind Makulaschichtforamen derzeit klassifiziert durch eine (1) irreguläre foveale Kontur, (2) eine foveale Kavitation mit unterminierten fovealen Rändern, sowie das (3) Vorhandensein eines fovealen Gewebeverlusts. Begleitend optional können eine (1) prämakuläre Proliferation, ein (2) Defekt der ellipsoiden Zone (Photorezeptorschichtdefekt) und ein (3) zentraler, fovealer „Höcker“ (engl. Foveal bump) vorkommen.³⁴ Pseudoforamen der Makula weisen immer eine (1) traktive prämakuläre Membran mit Aussparung der Fovea, (2) steile foveale Ränder und eine (3) Zunahme der zentralen Netzhautdicke auf. Optional können (1) mikrozystische Läsionen in der inneren Körnerschicht und eine (2) normale, zentrale Netzhautdicke vorkommen.³⁴

Hervorzuheben, ist vor allem die Festlegung einer einheitlichen Terminologie und Definition für bisherige, ähnliche, morphologische Erscheinungsbilder, welche als „macular pseudohole with stretched edges“ oder „tractional lamellar macular hole“ bezeichnet wurden. Hierfür wird fortan die Bezeichnung Foveoschisis bei idiopathischer epiretinaler Membran (engl. Idiopathic epiretinal membrane foveoschisis, iERM-Foveoschisis) verwendet.³⁴ Charakteristika sind eine (1) prämakuläre Membran und eine (2) retinale Schisis auf Höhe der Henle-Schicht. Optionale weitere Kriterien sind (1) mikrozystische Läsionen in der inneren Körnerschicht, eine (2) Zunahme der Netzhautdicke und (3) Netzhautfalten.³⁴

Eine erste klinisch-retrospektive Studie unserer Arbeitsgruppe zu diesem Thema zeigte, dass Patienten mit Pseudoforamen der Makula durch eine Operation mittels pars plana Vitrektomie mit Peeling der traktiven prämakulären Membran und ILM postoperativ mehrheitlich durch einen Anstieg der best-korrigierten Sehschärfe profitieren [Schumann RG, Compera D et al. 2015]. Bei Patienten mit Makulaschichtforamen bestand mehrheitlich auf Grund des langen, stabilen Krankheitsverlaufes kein operativer Handlungsbedarf [Schumann RG, Compera D et al. 2015]. Je nach Morphologie und Art prämakulären Gewebes in der SD-OCT war bei einzelnen Augen mit Makulaschichtforamen nach Operation jedoch ein signifikanter Visusanstieg zu sehen. Ziel der an diese Ergebnisse anschließenden **Arbeiten A-E** war deshalb, mittels SD-OCT basierten Studien und histo-pathologischen Korrelationen Merkmale der Makula-Morphologie nicht-vollständig durchgreifender Makuladefekte zu beschreiben, prämakuläres Gewebe zu charakterisieren sowie die Ergebnisse mit dem klinischen Verlauf zu korrelieren. Dies soll helfen eine Entscheidung zur vitreoretinalen Chirurgie zu treffen und individuelle Therapieempfehlungen zu geben.

4.1.2 Patienten und Methoden

Arbeit A stellt eine klinisch-pathologische Studie von insgesamt 25 chirurgisch exzidierten Präparaten von prämakulärem Gewebe und ILM von 11 Augen mit Makulaschichtforamen und 14 Augen mit Pseudofoamen dar, die als Flachpräparate in toto mittels Serienschnitttechnik für die Phasenkontrast- und Interferenzmikroskopie, für die immunzytologische Fluoreszenzmikroskopie sowie für die Transmissionselektronenmikroskopie aufgearbeitet wurden. Für die klinische Analyse erfolgte eine Korrelation mit morphologischen Befunden der SD-OCT.

Die 25 untersuchten Präparate wurden als konsekutive Serie von 25 Patienten gewonnen, die im Zeitraum von Januar 2011 bis März 2013 eine Standard-Pars-Plana-Vitrektomie mit Peeling von prämakulärem Gewebe und ILM erhielten. Eingeschlossen wurden ausschließlich Augen, die nach zu diesem Zeitpunkt aktueller SD-OCT Klassifikation von Duker et al., ein Makulaschichtforamen oder Pseudofoamen aufwiesen.¹³ Für die klinische Analyse wurden die Patientenunterlagen auf Alter, Geschlecht, präoperativ und postoperativ best-korrigierter Visus, Linsenstatus, Follow-up-Zeitraum, sowie das Vorhandensein von Metamorphopsien überprüft.

Mittels SD-OCT wurde vorkommendes, prämakuläres Gewebe in „konventionell epiretinale Membranen“, wenn sie sich als dünne und hyperreflexive Schicht darstellten, und in „atypische Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation“ unterschieden. Letztes zeigte sich als dicke, hyporeflektive Schicht ohne sichtbare Anzeichen von Traktion. Zudem wurden vitreomakuläre Adhäsion und der Zustand der hinteren Glaskörperablösung untersucht. Die Indikation zur Operation erfolgte bei einer Visusminderung von 0.5 oder schlechter, bei einer Sehschärfenverschlechterung von 2 Zeilen oder mehr, oder auf Grund einer subjektiven Verschlechterung bzw. dem Vorkommen von Metamorphopsien.

Die chirurgisch gewonnenen Präparate (durchschnittlich 2 Präparate pro Patient) wurden in einer 2%igen Paraformaldehydlösung fixiert und unter dem Stereomikroskop (MS 5; Leica, Wetzlar, Deutschland) mit Hilfe von Glaspipetten auf dem Glasobjektträger in ihrer maximalen Fläche ausgebreitet. Die Interferenz- und Phasenkontrastmikroskopie erfolgte mit einem modifizierten Fluoreszenzmikroskop (Leica DM 2500, Wetzlar, Deutschland).

Für die immunhistologische Untersuchung kamen insgesamt 9 verschiedene, primäre Antikörper zur Anwendung: für Gliazellen anti-Glial fibrillic acidic protein [anti-GFAP] und anti-Vimentin (jeweils DAKO, Hamburg, Deutschland), für Myofibroblasten (anti- α -smooth

Wissenschaftliche Arbeiten

muscle actin [anti- α -SMA] (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland), für Hyalozyten anti-CD45 und anti-CD64 (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland), für Basalmembran-ILM anti-Laminin (DAKO, Hamburg, Deutschland) und für extrazelluläre Matrix anti-Kollagen Typ I (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland), anti-Kollagen Typ II und anti-Kollagen Typ III (jeweils Biotrend, Köln, Deutschland). Als sekundäre Antikörper wurden entweder „anti-rabbit“ Cy2, „anti-mouse“ Cy3 oder „anti-goat“ Cy5 (jeweils Dianova) verwendet.

Die Präparation verlief in folgenden Schritten: Nach Andauen der fixierten Präparate mit 0.1% Pepsin erfolgte eine Inkubation über Nacht bei Raumtemperatur mit den primären Antikörpern. Die Verdünnung richtete sich nach den Empfehlungen des Herstellers. Die sekundären Antikörper wurden jeweils in einer Verdünnung von 1:100 für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Bei begrenzter Anzahl der Fluorochrome sowie Antikörperspezies wurden Färbekombinationen von maximal 3 verschiedenen Antikörpern durchgeführt. Für die Negativkontrollen wurde der primäre Antikörper in der Präparationsreihe weggelassen und durch Verdünnungen und Isotyp-Kontrollen ersetzt (IgG2a, monoklonaler Maus-Antikörper, X0934; DAKO, Hamburg, Deutschland; M5409; Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland). In Vorbereitung für die Elektronenmikroskopie erfolgte abschließend eine 5-minütige Postfixierung in einer Glutaraldehyd-Lösung (2%). Für die Zellkernfärbung am Flachpräparat wurde DAPI (4',6-Diamidino-2-phenylindol, AKS-38448; Dianova, Hamburg, Deutschland) verwendet. Zur fluoreszenzmikroskopischen Fotodokumentation diente eine Digitalkamera (ProgRes CF; Jenoptik, Jena, Deutschland).

Für die elektronenmikroskopische Darstellung wurden alle Proben mit Osmiumtetroxidlösung (2%) (Daltons Fixierung) nachfixiert und in aufsteigenden Ethanolbädern dehydriert sowie in das Kunstharz Epon 812 eingebettet. Es folgte die Herstellung von Semidünnschnitten von 400nm und Ultradünnschnitten von 60nm und eine anschließende Kontrastierung mit Uranylazetat und Bleizitrat. Die ultrastrukturelle Analyse der Proben erfolgte am Zeiss-Elektronenmikroskop EM 9 S-2 (Zeiss, Jena, Deutschland).

Bei 5 Augen wurden nicht für die Immunzytochemie verwendete Präparate direkt in Glutaraldehyd-Lösung (4%) fixiert und für die Transmissionselektronenmikroskopie vorbereitet.

In **Arbeit B** wurden chirurgisch exzidierte Präparate von 10 Augen mit atypischer Makulaschichtforamen-assoziiierter prämakulärer Proliferation für die direkte Korrelation von Immunfluoreszenz- und Elektronenmikroskopie unter Verwendung eines Immunnanogold-Partikels (Fluoronangold®) untersucht.

Eingeschlossen wurden ausschließlich Augen mit Makulaschichtforamen aus einer vorangegangenen Studie, welche aufgrund eines fortschreitenden Visusverlustes oder der Schwere der klinischen Symptome operiert wurden und die basierend auf Untersuchungen der SD-OCT eine atypische Makulaschichtforamen-assoziierte prämakulärer Proliferation aufwiesen. Aus den Patientenakten wurden klinische Daten wie Alter, Geschlecht, Vorgeschichte und best-korrigierte Sehschärfe erfasst. Das operative Vorgehen ist entsprechend den Ausführungen der Arbeit A zu entnehmen.

Die chirurgisch gewonnenen Präparate wurden für die Interferenz- und Phasenkontrastmikroskopie sowie für die Immunzytologie entsprechend den Schritten, wie detailliert in Arbeit A geschildert, aufbereitet. Als primäre Antikörper für die immunhistologische Untersuchung dienten: für Gliazellen anti-Glial fibrillar acidic protein [anti-GFAP] (DAKO, Hamburg, Deutschland); für Hyalozyten anti-CD45 und anti-CD64 (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland); für Myofibroblasten anti- α -smooth muscle actin [anti- α -SMA] (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland); und für die extrazelluläre Matrix anti-Kollagen Typ I [anti-col-I], (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland) und anti-Kollagen Typ II [anti-col-II], (Biotrend, Köln, Deutschland). Als sekundärer Antikörper wurde im Unterschied zu Arbeit A für die korrelative Mikroskopie FluoroNanogold® (Fab-Fragmente, Nanosonden, Yaphank, NY, USA) verwendet. Für die Transmissionselektronenmikroskopie erfolgte eine Inkubation der Präparate mit einer Goldverstärkung, bevor die weiteren in Arbeit A dargestellten Schritte erfolgten.

Arbeit C ist eine klinische Studie von 34 Augen von 30 Patienten mit Makulaschichtforamen, welche ausschließlich eine atypische Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation aufweisen. Ziel war eine Korrelation morphologischer Netzhautveränderungen mit visueller Funktion während der Langzeitbeobachtung.

Diese Studie entstand in Zusammenarbeit mit einer italienischen Arbeitsgruppe. Aus einer retrospektiv überprüften Serie von 167 Augen von 152 Patienten mit nicht-vollständig

durchgreifenden Makuladefekte wurde in diese Analyse ausschließlich eine Untergruppe von 34 nicht-operierten Augen eingeschlossen, die mittels SD-OCT (Heidelberg Engineering, Heidelberg, Germany) sowohl Kriterien von Makulaschichtforamen als auch eine Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation aufwies und im Zeitraum von Juni 2008 bis Juni 2016 an der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München oder an der Augenklinik der Universität Mailand „Luigi Sacco“ (Italien) untersucht wurden und über einen minimalen Nachbeobachtungszeitraum von 6 Monaten verfügten.

Unter Berücksichtigung der zu diesem Zeitpunkt aktuellen Klassifikation wurde die Diagnose eines Makulaschichtforamens gestellt.¹³ Die Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation wurde definiert als prämakuläres Material mit homogener mittlerer Reflektivität, welches ohne kontraktile Eigenschaften der Netzhautoberfläche direkt aufliegt (analog zu den Vorarbeiten A-B).

Ausgewertet wurde basierend auf Befunden der SD-OCT u.a. die Fläche der Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation, die Größe des Makuladefekts (minimal und maximal horizontaler Lochdiameter), die zentrale Netzhautdicke, das Auftreten von Photorezeptorschicht-Defekten und das Vorkommen einer zusätzlichen traktiven konventionellen prämakulären Membran. Die Fläche der Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation wurde manuell mit dem Vermessungswerkzeug der Heidelberg Engineering Software in starker Vergrößerung im zentralen Scan des Makulaforamens durch die Fovea ausgemessen. Der maximal horizontale Lochdiameter wurde auf der Ebene der intraretinalen Spaltung im Bereich der Henle-Faserschicht ermittelt und zeigte den größten Durchmesser im Bereich des Makuladefekts. Der minimal horizontale Lochdiameter wurde auf der Ebene der ILM gemessen. Die zentrale Netzhautdicke wurde als dünnster vertikaler Abstand zwischen retinalem Pigmentepithel und dem dünnsten Teil des Makuladefekts bestimmt. Für die klinische Korrelation erfolgte eine Erfassung der Daten der bestkorrigierten Sehschärfe.

Die statistische Auswertung erfolgte mit der IBM SPSS Statistics 23.0 Software (SPSS Inc, IBM Software Group, Chicago, IL). Dabei wurden Ergebnisse von $p \leq 0.5$ als statistisch signifikant bewertet.

In **Arbeit D** wurde das Vorkommen der atypischen prämakulären Proliferation mittels Immunfluoreszenz- und Elektronenmikroskopie bei 10 Augen mit Makulaschichtforamen

untersucht und mit anderen, traktiven Makulopathien verglichen, die ebenfalls in der SD-OCT dieses Gewebe zeigten.

In diese klinisch-pathologische Korrelation wurden 4 Augen mit Makulaschichtforamen, 3 Augen mit durchgreifendem Makulaforamen und 3 Augen mit Macular pucker eingeschlossen, bei denen sich mittels SD-OCT eine homogene und hyporeflektive Schicht von prämakulären Gewebe ohne Anhalt einer Traktion nachweisen lies. Alle untersuchten Augen erhielten zwischen April 2015 und April 2016 eine Vitrektomie mit Peeling prämakulären Gewebes sowie innerer Grenzmembran. Das detaillierte operative Vorgehen ist den Erläuterungen der Arbeit A zu entnehmen.

Die chirurgisch gewonnenen Präparate wurden als Flachschnittpräparate für die Interferenz- und Phasenkontrastmikroskopie sowie für die Immunzytologie entsprechend den Schritten, wie in Arbeit A geschildert, aufbereitet. Als primäre Antikörper für die immunhistologische Untersuchung dienten: für Gliazellen anti-Glial fibrillic acidic protein [anti-GFAP] (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland); für Hyalozyten anti-CD45 und anti-CD64 (jeweils Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland); für Myofibroblasten anti- α -smooth muscle actin [anti- α -SMA] (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland); für Makrophagen anti-CD68 (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland); für Makrogliazellen anti-Vimentin (DAKO, Hamburg, Deutschland); für Müller-Zellen anti-Gluthamine synthethase [anti-GS] (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) und anti-C-Retinaldehyde binding protein [anti-CRALBP] (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland); für retinale Ganglionzellen anti-Melanopsin (Genetex Biozol, Eching, Deutschland); und zur Melanozyten-Differenzierung anti-Melan-A (DAKO, Hamburg, Germany). Anschließend wurden alle Präparate für die Elektronenmikroskopie aufbereitet. Die genauen Arbeitsschritte hierfür wurden ebenfalls bereits in Arbeit A vorgestellt.

Arbeit E ist eine klinisch-pathologische Studie, in der immunzytochemisch und ultrastrukturell die vitreomakuläre Grenzfläche der neu definierten Entität der iERM-Foveoschisis bei 5 operierten Augen im Vergleich zu 5 Augen mit bekannter myoper Foveoschisis untersucht und mit dem klinischen Verlauf und morphologischen Charakteristika in der SD-OCT verglichen wird.

Die chirurgisch exzidierten Präparate wurden mittels pars plana Vitrektomie mit Peeling prämakulären Gewebes und ILM gewonnen und anschließend als Flachschnittpräparate für

die Phasenkontrast-/ Interferenz-/ und Fluoreszenzmikroskopie sowie als Ultradünnschnitte für die Transmissionselektronenmikroskopie aufgearbeitet. Eine OP-Indikation wurde bei Verschlechterung der best-korrigierten Sehschärfe, bei Verschlechterung der Lebensqualität und bei Vorhandensein von Metamorphopsien gestellt. Die vorliegenden SD-OCT Befunde wurden präoperativ und zu verschiedenen Zeitpunkten der Nachbeobachtung ausgewertet. Zur klinischen Korrelation wurden demographische Daten erfasst und die BCVA dokumentiert. Für die Immunzytochemie sind die genauen Vorgehensweisen in Arbeit A bereits genauer beschrieben. Es wurden folgende primäre Antikörper verwendet: für Gliazellen anti-Glial fibrillar acidic protein [anti-GFAP] (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland); für Hyalozyten anti-CD45 (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland) und für Mikrogliazellen anti-IBA (WAKO, Neuss, Deutschland). Anschließend erfolgte eine Vorbereitung der Präparate für die Transmissionselektronenmikroskopie wie bereits in Arbeit A beschrieben.

4.1.3 Ergebnisse

Die Ergebnisse der **Arbeiten A-C** zeigen, dass funktionelle und morphologische Unterschiede zwischen Makulaschichtforamen und Pseudofoamen bestehen. Morphologisch bestehen Unterschiede in Vorkommen und Erscheinung des prämakulären Gewebes (**Arbeit A und B**). In typisch traktiven prämakulären Membranen der Pseudofoamen finden sich als vorherrschender Zelltyp überwiegend traktive anti- α -SMA positive Myofibroblasten. Im hyporeflektiven Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Gewebe (atypische prämakuläre Zellproliferation) fanden sich immunzytochemisch und ultrastrukturell Hyalozyten und Gliazellen. Mittels Analyse der hochauflösenden SD-OCT zeigen sich bei Vorkommen der Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation signifikant häufiger Defekte in der Photorezeptorschicht (Ellipsoid zone) und eine Zunahme der maximal gemessenen intraretinalen Spaltbildung im Zweitverlauf, welche jeweils mit einer schlechteren, best-korrigierten Sehschärfe korrelieren. Darüberhinaus lässt sich eine Korrelation der Zunahme der Fläche mit Zunahme der maximalen, intraretinalen Spaltbildung (**Arbeit C**) nachweisen. Aber auch beim durchgreifenden Makulafoamen und Macular pucker findet sich selten eine atypische prämakuläre Zellproliferation, die unabhängig von der Diagnose klinisch-pathologisch eine ähnliche Zusammensetzung zeigt (**Arbeit D**). Die Untersuchung der iERM-Foveoschisis im Vergleich zur myopen Foveoschisis zeigt, dass

Wissenschaftliche Arbeiten

prämakuläres Gewebe bei beiden Entitäten eine fibrozelluläre Zellzusammensetzung aufweist, sich aber nur bei Augen mit hoher Myopie ultrastrukturelle Veränderungen der ILM nachweisen lassen (**Arbeit E**).

In **Arbeit A** demonstrierte die immunzytochemische und ultrastrukturelle Analyse von 25 chirurgisch exzidierten Präparaten von prämakulären Membranen und ILM von 11 Augen mit Makulaschichtforamen und 14 Augen mit Pseudofoamen, dass Unterschiede zwischen Makulaschichtforamen und Pseudofoamen der Makula hinsichtlich der Morphologie sowie der Ultrastruktur bestehen.

Mittels SD-OCT zeigten sich zwei Formen prämakulären Gewebes, dessen Vorkommen sich bei Makulaschichtforamen und Pseudofoamen unterscheidet. Bei Makulaschichtforamen zeigte sich in 27% (3 von 11 Augen) eine „atypische Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation“ sowie in 27% (3 von 11 Augen) eine „konventionelle epiretinale Membran“. Die übrigen 46% (5 von 11 Augen) zeigten eine Kombination beider Formen. Im Gegensatz dazu wiesen alle Pseudofoamen (100%) eine „konventionelle epiretinale Membran“ auf. Eine „atypische Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation“ fand sich nicht bei Pseudofoamen. Die **Tabelle 3** zeigt die Antigen-Expression bei Makulaschichtforamen und Pseudofoamen im Vergleich.

Tabelle 3 Primäre Antikörper für die immunhistologischen Untersuchungen von Arbeit A sowie Antigenpräsentation der Zellen im Flachpräparat von prämakulärem Gewebe und innerer Grenzmembran (ILM) bei Augen mit Makulaschichtforamen und Pseudofoamen der Makula. (+ stark positiv; + positiv, (+) wenig, - negativ)

Nr.	Primärer Antikörper Anti-	Zielstruktur	Antigen Expression in	
			Makulaschichtforamen (n = 11 Augen)	Pseudofoamen (n = 14 Augen)
1	Glial fibrillar acidic protein (GFAP)	Intermediär-Filamente der Gliazellen	++	+
2	Vimentin	Gliazellen (Müller-Zellen, Astrozyten)	++	(+)
3	α -smooth muscle actin (α -SMA)	Intrazelluläre Aktin Filamente der Myofibroblasten	(+)	++
4	CD45	Hyalozyten	++	+

Wissenschaftliche Arbeiten

5	CD64	Hyalozyten	++	+
6	Laminin	Basalmembran-ILM	++	++
7	Kollagen Typ I	Neugebildetes Kollagen	++	+
8	Kollagen Typ II	Glaskörper-Kollagen	+	(+)
9	Kollagen Typ III	Extrazelluläre Matrix	++	(+)

Bei Makulaschichtforamen dominierten GFAP-positive sowie CD45- und CD64-positive Zellen (**Abbildung 4.1A** Mitte links und Mitte rechts). Daneben fanden sich positive Zellen für Kollagen Typ I und Kollagen Typ III. Zudem konnten bisher noch nicht beschriebene Co-Lokalisationen von jeweils GFAP mit CD64, Kollagen Typ I und Kollagen Typ II beschrieben werden. Im Gegensatz dazu zeigte sich in den zellreichen „konventionellen epiretinalen Membranen“ der Pseudofoamen eine stark positive Anfärbung von glattmuskulärem Aktin (α -SMA) als Marker für Myofibroblasten-artige Transdifferenzierung (**Abbildung 4.1B** Mitte links). Zellen für GFAP, Kollagen Typ I und Kollagen Typ II zeigten sich ebenfalls positiv (**Abbildung 4.1B** Mitte rechts).

Elektronenmikroskopisch ließ sich in allen untersuchten Augen der Pseudofoamen und in 82% (9 von 11 Augen) der Makulaschichtforamen die innere Grenzmembran (ILM) darstellen. In der „atypischen Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation“ der Makulaschichtforamen zeigten sich dicht gepackte Zellproliferationen in denen Fibroblasten und Hyalozyten dominierten, welche sich meist als Zellagglomeraten präsentierten (**Abbildung 4.1A** Unten links und Unten rechts). In der extrazellulären Matrix zeigte sich überwiegend in dichten Strängen angeordnetes Glaskörperkollagen. Traktive Myofibroblasten fanden sich nur vereinzelt. Demgegenüber fanden sich in „konventionellen epiretinalen Membranen“ der Pseudofoamen im Glaskörperkollagen vorliegende dicht gepackte mehrschichtige Zellverbände, die sich überwiegend aus Myofibroblasten zusammensetzten (**Abbildung 4.1B** Unten links). Zudem zeigten sich fibrilläre Präzipitate, „*fibrous long-spacing collagen*“ (FLSC) genannt, welche im Zusammenhang mit Abbau und Umbau von Kollagen stehen (**Abbildung 4.1B** Unten rechts).

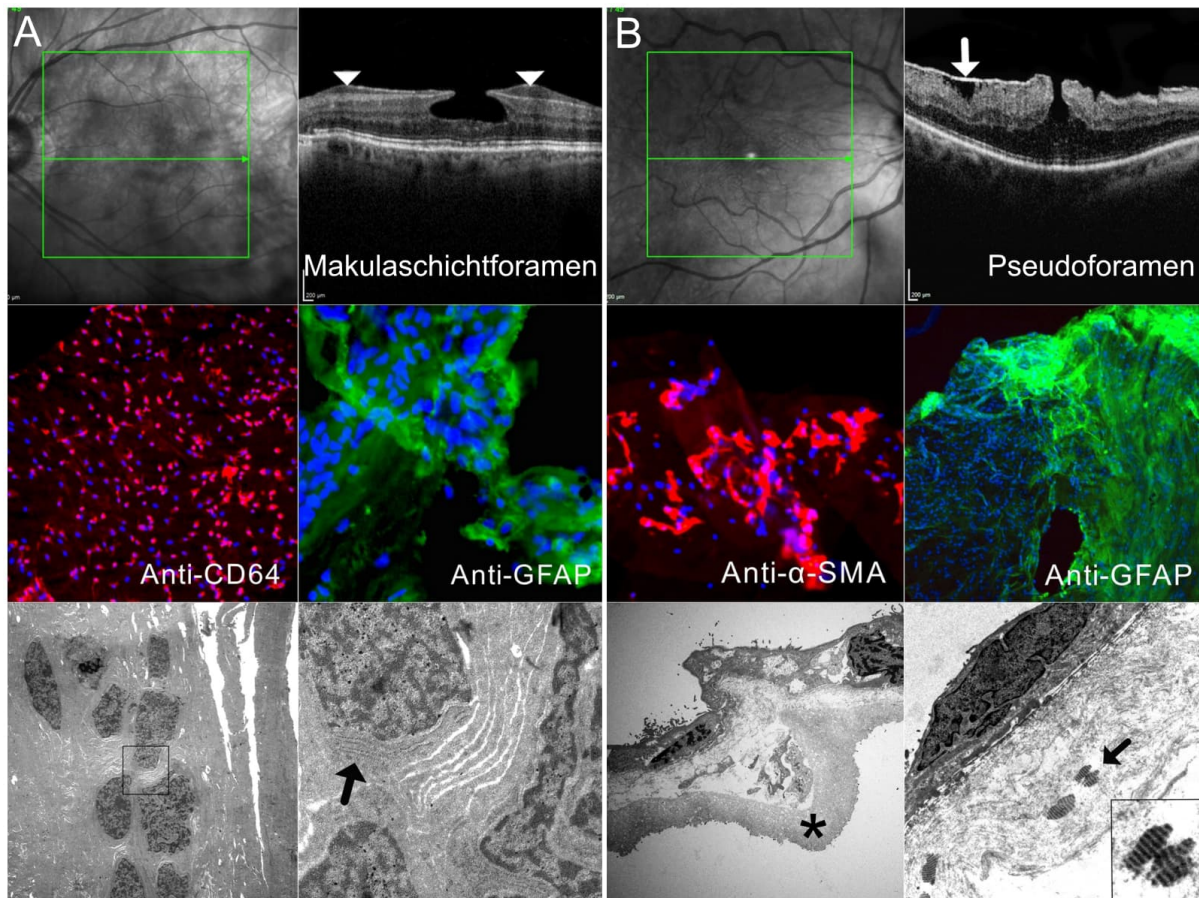


Abbildung 4.1 (A) Makulaschichtforamen mit „atypischer Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation“ (LHEP): (Oben links, oben rechts) Spektral-Domänen optische Kohärenztomographie Aufnahme einer 70-jährigen weiblichen Patientin mit Makulaschichtforamen und LHEP (Pfeilspitzen); (Mitte links) Positive Immunreaktivität des Hyalozytenmarkers anti-CD64 (rot) in Darstellung mit der Zellkernfärbung 4',6-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blau); (Mitte rechts) Positive Immunreaktivität des Gliazellmarkers anti-GFAP (grün) in Darstellung mit der DAPI-Zellkernfärbung (blau); (Unten links) Die Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme der LHEP zeigt eine dicht gepackte Zellproliferation von Fibroblasten und Hyalozyten. (Unten rechts) Die Detail-Aufnahme des dargestellten Rechtecks aus der Abbildung unten links zeigt Fibroblasten, welche durch ein reichlich vorhandenes raues endoplasmatisches Retikulum (schwarzer Pfeil) gekennzeichnet sind.

(Originalvergrößerung: (Mitte links) x100; (Mitte rechts) x400; (Unten links) x3000, (Unten rechts) x120 000)

(B) Pseudofoamen der Makula mit „konventioneller epiretinale Membran“ (ERM): (Oben links, oben rechts) Spektral-Domänen optische Kohärenztomographie Aufnahme eines 72-jährigen männlichen Patienten mit Pseudofoamen und ERM (weißer Pfeil); (Mitte links) Immunmarkierung und Zellkernfärbung (blau) zeigen positive Immunreaktivität für den Myofibroblasten-Zellmarker anti- α -smooth muscle actin (anti- α -SMA) (rot) und (Mitte rechts) positive Immunreaktivität für den Gliazellmarker anti-GFAP (grün). (Unten links) In der Transmissionselektronenmikroskopie zeigt sich ein dicht gepackter mehrschichtiger Zellverband mit Myofibroblasten auf nativem Glaskollagen auf der vitrealen Seite der inneren Grenzmembran (Sternchen). (Unten rechts) Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme eines Myofibroblasten, der auf einem dicken Glaskörper-Kollagenstrang mit eingebetteten fibrillären Präzipitaten (Pfeil, Detail) liegt.

(Originalvergrößerung: (Mitte links, Mitte rechts) x100; (Unten links) x3000; (Unten rechts) x4400)

Wissenschaftliche Arbeiten

In **Arbeit B** zeigte sich gemäß den Einschlusskriterien bei allen 10 Augen mit Makulaschichtforamen eine Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation. Die Ergebnisse der korrelativen Mikroskopie offenbarten eine positive Immunreaktivität des Gliazellmarkers anti-GFAP sowie der Hyalozytenmarkern anti-CD45 und anti-CD64 in allen Präparaten (siehe **Abbildung 4.2**). Zudem zeigten sich die Marker für Kollagen Typ I und Kollagen Typ II häufig positiv (siehe **Abbildung 4.2**). Ko-lokalisierungen bestanden zwischen anti-GFAP und anti-CD45 sowie zwischen anti-GFAP und anti-Kollagen Typ I.

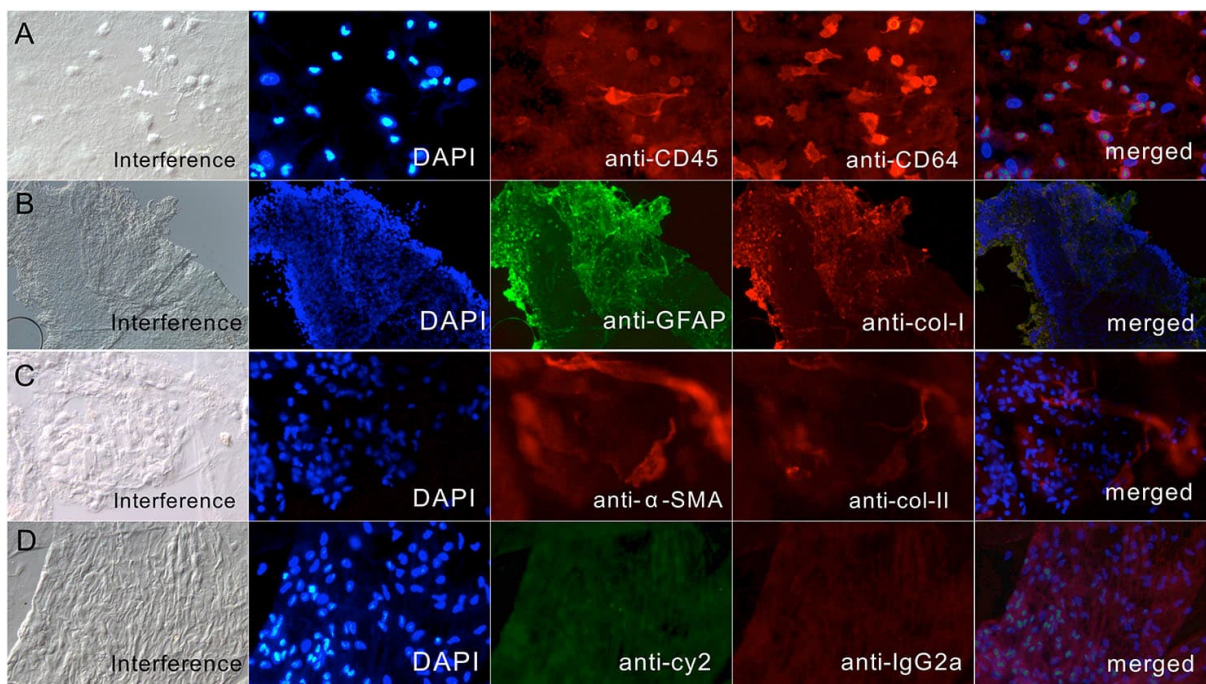


Abbildung 4.2 Interferenzmikroskopie, Zellkernfärbung mit 4',6-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blau) und immunzytochemische Färbung der Makulaschichtforamen-assoziierten epiretinalen Proliferation (LHEP) von Augen mit Makulaschichtforamen. (A) Positive Immunmarkierung mit den Hyalozytenmarkern anti-CD45 (rot) und anti-CD64 (rot) (B) Positives Immunostaining von anti-GFAP (grün) und anti-Kollagen Typ I (anti-col-I) (rot). (C) Immunmarkierung mit anti- α -SMA) (rot) und anti-Kollagen Typ II (anti-col-II) (rot). (D) Negativkontrollprobe mit positiver Zellkernfärbung, aber keiner spezifischen Immunreaktivität der Zellproliferation.

(Originalvergrößerung: (A) x400; (B) x100; (C-D) x400)

Mittels Transmissionselektronenmikroskopie lies sich die innere Grenzmembran (ILM) in 8 von 10 Augen (80%) darstellen. In der Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation wurden Fibroblasten und Hyalozyten als Hauptzelltypen identifiziert (siehe **Abbildung 4.3**). Myofibroblasten fanden sich in nur einzelnen Präparaten. Daneben stellte sich natives Glaskörperkollagen (NVC) neben neugebildetem Kollagen (NFC) als

Wissenschaftliche Arbeiten

vorherrschender Kollagentyp dar, in welchem gelegentlich fibrilläre Präzipitate gefunden wurde.

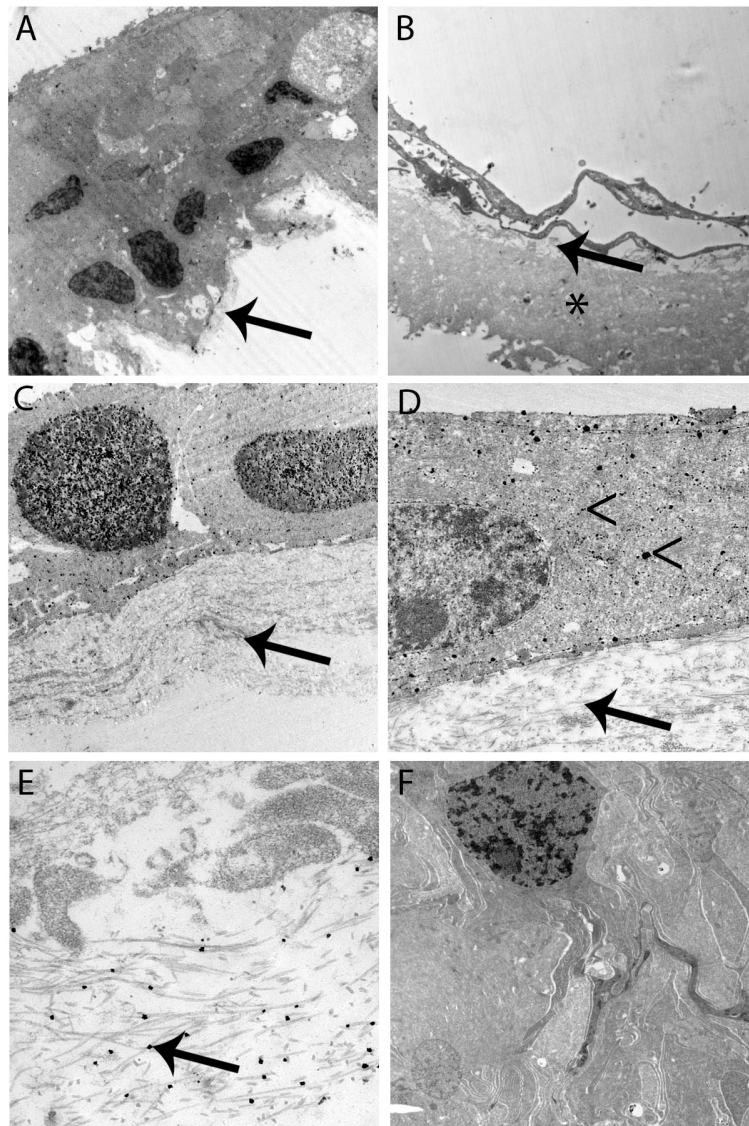


Abbildung 4.3 Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen der Makulaschichtforamen-assoziierten epiretinalen Proliferation (LHEP) unter Verwendung eines Immunnanogold-Partikels (Fluoronangold®). (A) Dichte Zellagglomeration von Fibroblasten und Hyalozyten, welche auf einem dicken Glaskörperkollagenstrang (Pfeil) liegen. (B) Innere Grenzmembran (Sternchen) mit feinen Glaskörperkollagenablagerungen (Pfeil) und dünnen Zellausläufern auf der vitrealen Seite. (C, D) Natives Glaskörperkollagen (Pfeil) mit GFAP-positiven Fibroblasten, wie die Immunnanogoldfärbung (Pfeilspitze) zeigt. (E) Die kleinen schwarzen Punkte (Pfeil) stellen Immunnanogold-Partikel dar, die Kollagen Typ II des Glaskörperkollagens färben. (F) Die Negativkontrolle zeigt eine dichte epiretinale Zellproliferation von fibroblastenartigen Zellen. (Originalvergrößerung: (A) x3.000; (B) x4.400; (C, F) x7.500; (D) x18.000; (E) x55.000)

In **Arbeit C** zeigte sich bei den eingeschlossenen 34 Augen mit Makulaschichtforamen und Makulaschichtforamen-assoziiierter prämakulärer Proliferation eine Zunahme der Fläche dieser Proliferation über einen durchschnittlichen Nachbeobachtungszeitraum von 40.5 Monaten (Wilcoxon Test, $P < 0.001$) (siehe **Abbildung 4.4A**). Zudem zeigte sich im Zeitverlauf eine signifikante Zunahme des minimalen und maximalen Lochdurchmessers (Wilcoxon Test, minimaler horizontaler Lochdiameter $P < 0.03$; maximaler horizontaler Lochdiameter $P < 0.004$) (siehe **Abbildung 4.4B**). Hierbei korrelierte die Zunahme der Fläche der Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation signifikant mit der Zunahme des maximalen horizontalen Lochdiameter (Pearson's, $r = 0.417$, $P = 0.015$, Spearman's rho, $r = 0.355$, $P = 0.040$). Darüberhinaus korrelierten die Zunahme des maximalen horizontalen Lochdiameter und das Vorkommen von Photorezeptorschichtdefekten mit einer schlechteren best-korrigierten Sehschärfe (maximaler horizontaler Lochdiameter Spearman's rho, $r=0.379$, $p=0.027$; Mann-Whitney U test $P = 0.027$; Photorezeptorschichtdefekte Mann-Whitney U test, $P < 0.02$) (siehe **Abbildung 4.4C**). Die zentrale Netzhautdicke zeigte sich im Zeitverlauf nicht signifikant abnehmend (Wilcoxon Test, $P = 0.07$). Eine zusätzliche traktive konventionelle prämakuläre Membran mit retinalen Falten wurde bei der Hälfte der Augen (50%, 17 von 34 Augen) demonstriert.

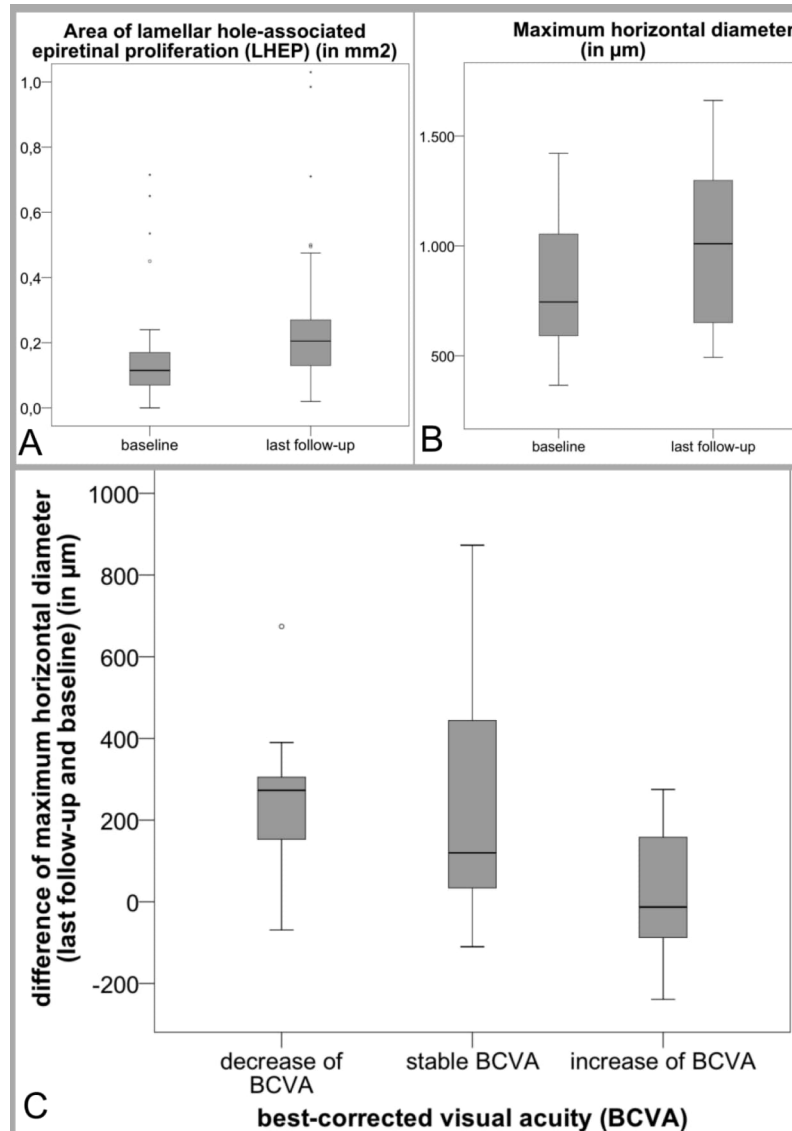


Abbildung 4.4 (A) Die beiden Boxplots zeigen die Fläche der Makulaschichtforamen-assoziierten epiretinalen Proliferation (LHEP) von Augen mit Makulaschichtforamen bei Erstvorstellung (baseline) und zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung (last follow-up) dar. Die Zunahme der LHEP-Fläche zwischen baseline und letztem Follow-up war statistisch signifikant (Wilcoxon-Test, $P < 0,001$). (B) Die beiden Boxplots zeigen den maximalen horizontalen Lochdurchmesser, gemessen auf Höhe der intraretinalen Spaltbildung des Defekts bei Erstvorstellung (baseline) und zum Zeitpunkt der letzten Nachuntersuchung (last follow-up). Es zeigte sich eine signifikante Zunahme des maximalen horizontalen Loch-Diameters im Nachbeobachtungszeitraum (Wilcoxon-Test, $P < 0,004$). (C) Die Boxplots veranschaulichen den Zusammenhang zwischen best-korrigierter Sehschärfe (BCVA) und maximalem horizontalem Loch-Diameter bei Erstvorstellung und zum Zeitpunkt des letzten Follow-ups. Die Patienten wurden in drei Gruppen eingeteilt: diejenigen, die während der Nachbeobachtung eine Verschlechterung der BCVA zeigten; diejenigen, die eine stabile BCVA hatten und jene, die im Nachbeobachtungszeitraum einen Anstieg der BCVA aufwiesen. Die Werte des maximalen horizontalen Loch-Diameters wurden aus der Differenz zwischen der Werte von letztem Follow-up und Erstvorstellung berechnet und sind auf der y-Achse angezeigt. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Abnahme der BCVA und der Zunahme des maximalen horizontalen Loch-Diameters sowie zwischen Zunahme des BCVA und Abnahme des maximalen horizontalen Loch-Diameters (Mann Whitney Test, $P = 0,027$).

In **Arbeit D** zeigte sich bei allen untersuchten Augen eine atypische prämakuläre Proliferation, welche sich in der SD-OCT als eine dicke, isoreflektive Schicht darstellte und überwiegend am Rand der Fovea lokalisiert werden konnte. Zusätzlich konnte in der SD-OCT bei allen Augen eine traktive prämakuläre Membran gefunden werden, welche in Form von Netzhautfalten tangentiale Traktion auf untere Netzhautschichten ausübte und sich direkt in unmittelbarer Nachbarschaft befand. Die Analyse der Flachschnittpräparate unter dem Fluoreszenzmikroskop erbrachte positive autofluoreszierende Granula bei Cy2 (Emission: 503 nm; Wellenlänge 489 nm) und bei Cy3 (Emission: 562 nm; Wellenlänge 549 nm) als auch bei Cy5 (Emission: 664 nm; Wellenlänge 646 nm) unabhängig von der Krankheitsentität. Die Anti-Vimentin und Anti-GS Färbungen waren stark positiv, ebenso wie anti-GFAP Färbungen. Positive Immunfärbungen für anti-CRALBP und für die Hyalozyten-Zellmarker anti-CD45 und anti-CD64 wurden ebenfalls in allen Augen nachgewiesen. Im Gegensatz dazu war der Myofibroblastenmarker anti- α -SMA selten positiv. Ultrastrukturell zeigte die prämakuläre Proliferation unabhängig von der bestehenden Diagnose eine identische, dicht gepackte Zellzusammensetzung und Zellcharakteristik im Sinne eines einheitlichen Zell-Phänotyps mit ähnlichen, intrazellulären glialen Merkmalen. Myofibroblasten fanden sich nicht. In der umgebenen, extrazellulären Matrix wurde natives Glaskörperkollagen als Hauptkollagentyp identifiziert. Im nativen Glaskörperkollagen wurden in einigen Proben fibrilläre Präzipitate (engl. FLSC) gefunden. Die ILM wies typische Basalmembrancharakteristika auf und wurde in 8 von 10 Präparaten gesehen. Die Mehrheit der Präparate zeigte neben der prämakulären Proliferation auch Anteile einer traktiven prämakulären Membran, wie in **Abbildung 4.5** dargestellt. Oft waren beide Schichten miteinander verbunden und als Doppelschichten von Zellproliferationen zu sehen.

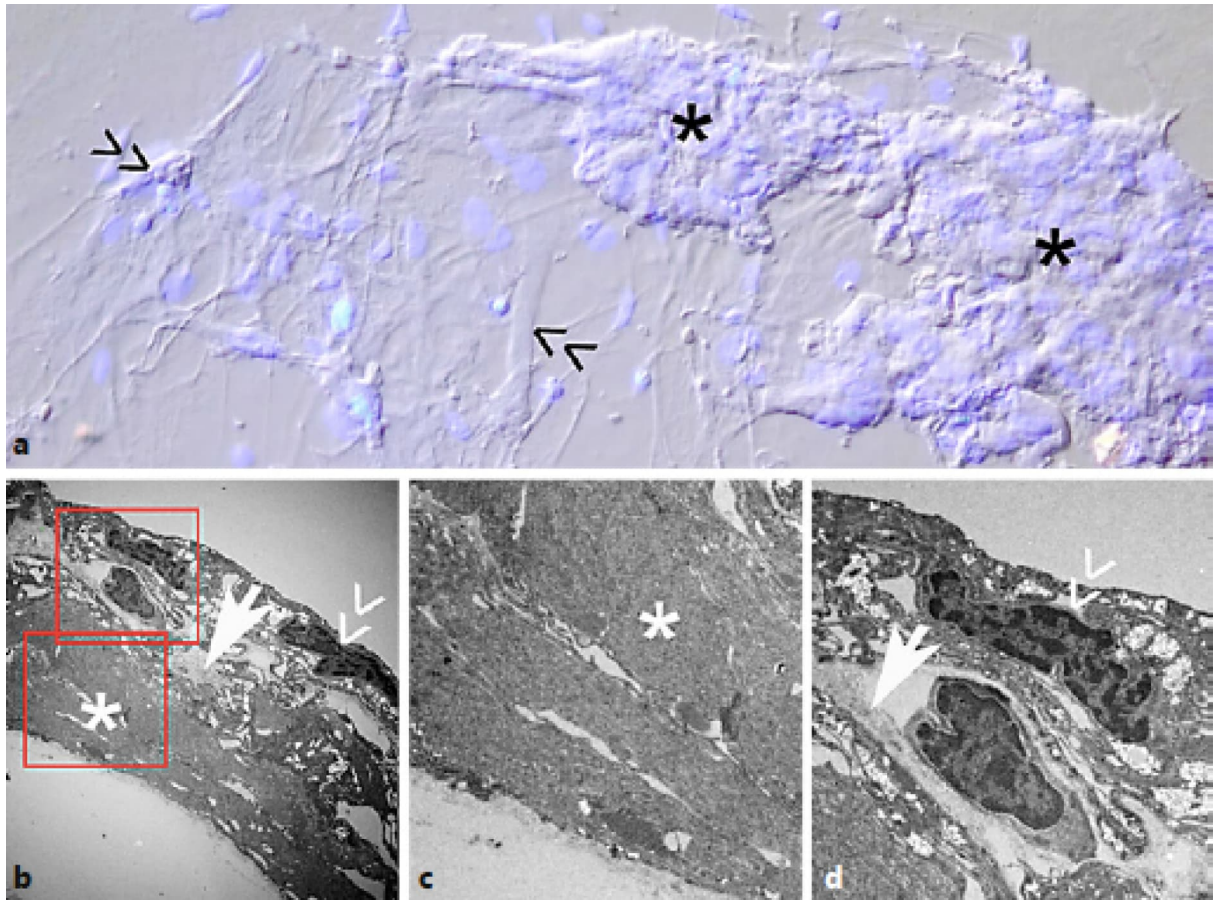


Abbildung 4.5 Das prämakuläre Gewebe präsentiert sich als zweischichtiger Komplex von sowohl atypischer prämakulärer Proliferation als auch traktiver prämakulärer (epiretinale) Membran. a Interferenzmikroskopie (in Kombination mit DAPI-Zellkernfärbung) der Flachschnittpräparation der prämakulären Proliferation (Sternchen) und der traktiven prämakulären Membran (Bereich zwischen den Pfeilspitzen). b Transmissionselektronenmikroskopie Aufnahmen mit Darstellung der prämakulären Proliferation (Sternchen) und der traktiven prämakulären Membran (Pfeilspitzen), die das Glaskörperkollagen umschließen (Pfeil). c Gleicher Bereich wie im unteren Rechteck von b, welches die nicht-tractive prämakuläre Proliferation (Sternchen) bei höherer Vergrößerung darstellt. d Gleicher Bereich wie im oberen Rechteck von b, welches die traktive prämakuläre Membran mit Hyalozyten (Pfeilköpfe) und dazwischenliegendem Glaskörperkollagen (Pfeil) bei höherer Vergrößerung zeigt.
(Originalvergrößerung: a, c x100; b x20.000; d x20.000)

In **Arbeit E** zeigte die immunzytochemische und elektronenmikroskopische Charakterisierung der Augen mit iERM-Foveoschisis und myoper Foveoschisis eine positive Reaktion auf anti- α -SMA, anti-IBA1 und anti-GFAP in allen Präparaten. Ultrastrukturell fanden sich bei beiden Entitäten an zellulären Bestandteilen Myofibroblasten-ähnliche Zellen, Fibroblasten und Hyalozyten (siehe **Abbildung 4.6**) Auch Kollagenstränge kamen als natives Glaskörperkollagen oder als neu synthetisiertes Kollagen zur Darstellung ebenso wie fibrilläre Kollagenpräzipitate. In Augen mit iERM-Foveoschisis zeigte sich die ILM mit einer

Wissenschaftliche Arbeiten

regulären Struktur. Nur in Augen mit myoper Foveoschisis stellte sich die ILM im Ultradünnschnitt partiell rarefiziert und an der retinalen Seite stark zerklüftet dar. Darüberhinaus zeigten sich nur bei einigen Präparaten der myopen Foveoschisis große retinale Zellfragmente und Anteile der retinalen Nervenfaserschicht an der ILM.

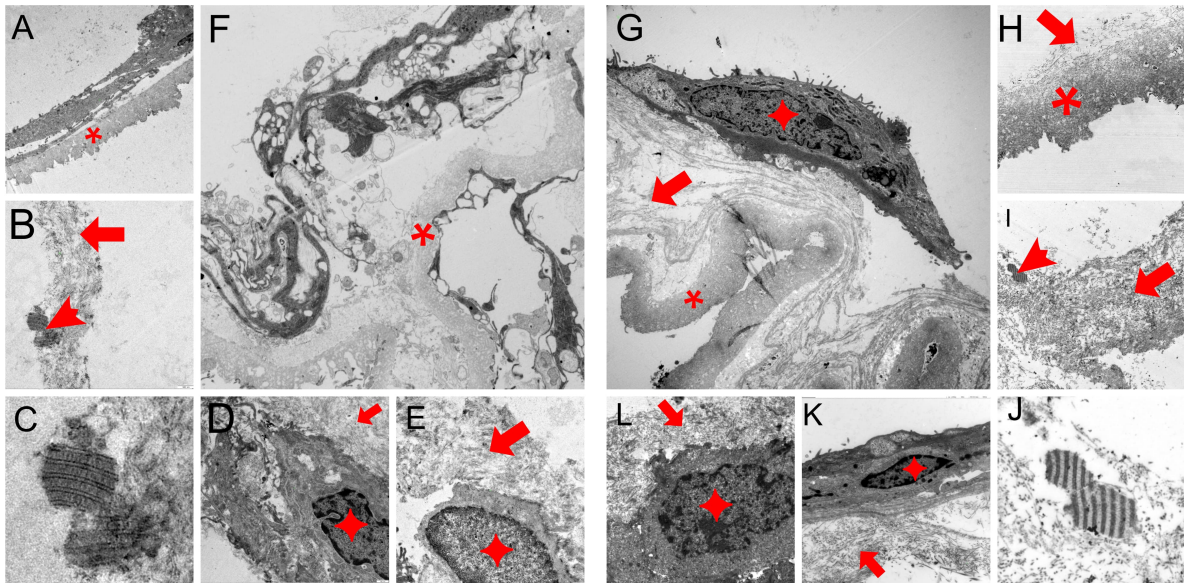


Abbildung 4.6 Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von Patienten mit (A-D) myoper Foveoschisis (mFS) und (G-J) Foveoschisis bei idiopathischer epiretinaler Membran (iERM-FS). (A) Innere Grenzmembran (ILM) (Sternchen). (B) Glaskörperkollagenstränge (Pfeil) und fibrilläre Kollagenpräzipitate (FLSC) (Pfeilspitze). (C) Vergrößerung von FLSC. (D) Myofibroblastenähnliche Zelle (Stern). (E) Fibroblast (Stern). (F) Mehrschichtige fibrozelluläre Zellkomposition und ILM (Stern). (G) Myofibroblasten-ähnliche Zellen (4-zackiger Stern) bei Augen mit iERM-Foveoschisis, die auf dicken Kollagensträngen (Pfeil) zu finden sind, welche einer ILM aufliegen (Stern). (H) ILM (Sternchen) eingebettet in Glaskörperkollagen (Pfeil) (I) FLSC (Pfeilspitze) und Glaskörperkollagen (Pfeil). (J) Vergrößerung von FLSC. (K, L) Hyalozyt (Stern) neben Glaskörperkollagensträngen. (Originalvergrößerungen: A, F, G: x300; B, E, I, L: x1200; C, F, K: x7000; D, J: x20 000; H: x4500)

4.1.4 Diskussion

Die ausgewählten **Arbeiten A-C** verdeutlichen, dass sich Makulaschichtforamen und Pseudoforamen der Makula sowohl funktionell als auch morphologisch voneinander unterscheiden. Insbesondere das Vorkommen unterschiedlicher Formen prämakulären Gewebes lässt vermuten, dass Unterschiede in der Pathogenese in Bezug auf reaktiv kontraktile oder atrophisch degenerative Prozesse bestehen. Darüberhinaus finden sich aber auch Ähnlichkeiten in Bezug auf Vorkommen und Charakteristika des prämakulären

Gewebes bei Makulaschichtforamen und Pseudofoamen zu anderen traktiven Makulopathien (**Arbeit D-E**). Dies hat im Hinblick auf das operativ therapeutische Vorgehen eine große klinische Relevanz.

Das Erscheinungsbild prämakulären Gewebes in der hochauflösenden SD-OCT zeigte sich im Einklang mit immunhistologischen und ultrastrukturellen Eigenschaften. Pseudofoamen weisen definitionsgemäß typisch traktive, prämakuläre Membranen mit deutlich traktiver Komponente und assoziierten Netzhautfalten auf, die sich durch eine fibrozelluläre Ansammlung von Myofibroblasten und extrazellulärer Kollagenmatrix auszeichnen. Die hyporeflektive Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation ist durch eine zellärmere Zellzusammensetzung charakterisiert, die mit einer kaum traktiven Komponente einhergeht. Zudem wurde gezeigt, dass das Vorkommen dieser Proliferation bei Makulaschichtforamen mit Defekten äußerer Netzhautschichten, einer zunehmenden, intraretinalen Spaltbildung sowie mit einer schlechteren Sehschärfe assoziiert ist.

Die Herkunft der Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation wird unterschiedlich diskutiert. Den histopathologischen Untersuchungen dieser Arbeiten zu folge, handelt es sich um abgewandeltes Gewebe der Glaskörperinde. In dieses kollagenolytisch veränderte Glaskörper-Material eingelagert, finden sich migrierende Gliazellen und Hyalozyten, welche extrazelluläres Material produzieren können, aber keine kontraktile Merkmale aufweisen. Dies könnte die individuell unterschiedliche Zunahme der Proliferation im klinischen Verlauf erklären. Diese These wird durch einen bereits publizierten Fallbericht einer De-novo Entstehung eines Makulaschichtforamens unterstrichen. Dieser zeigt die zeitliche Abfolge des neu aufgetretenen Makuladefekts und die Entwicklung einer prämakulären Zellproliferation in Verbindung mit einer inkompletten, hinteren Glaskörperabhebung [Compera et al. *Retina Brief Case Rep* 2018]. Daneben wird vermutet, dass migrierende und proliferierende Müller-Zellen aus mittleren und äußeren Netzhautschichten in der Pathogenese von großer Bedeutung sind.^{54,55,56} Durch den auftretenden Makuladefekt könnten Müller-Zellen zur Unterstützung des Heilungsprozesses zur Proliferation angeregt werden und folglich zur vitreomakulären Grenzfläche wandern.

Auch der Vergleich von prämakulärem Gewebe bei Makulaschichtforamen und Pseudofoamen sowie der neu definierten iERM-Foveoschisis mit anderen traktiven Makulopathien betont die Wichtigkeit der hinteren Glaskörperabhebung in der Pathogenese der traktiven Makulopathien. Insbesondere die histologischen Ergebnisse der **Arbeit E** heben

in diesem Zusammenhang die Relevanz der kompletten Entfernung traktiver Komponenten prämakulären Gewebes an der vitreoretinalen Grenzfläche im Rahmen einer operativen Behandlung hervor.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die Unterscheidung und Abgrenzung von Makulaschichtforamen und Pseudoforamen der Makula gegeneinander trotz verbesserter Darstellbarkeit prämakulären Gewebes weiterhin von hoher klinischer und therapeutischer Relevanz ist. Da Augen mit Pseudoforamen und mit iERM-Foveoschisis postoperativ ein funktionell besseres Ergebnis erzielen als Augen mit Makulaschichtforamen, ist bei diesen Patienten eine Therapieempfehlung zur Vitrektomie mit Membran-Peeling gegeben. Diese sollte insbesondere bei individueller, subjektiver Beeinträchtigung wie Verzerrtsehen oder Visusverlust frühzeitig ausgesprochen werden. Bei Makulaschichtforamen wird die Operationsindikation eher zurückhaltend gestellt. Bei Patienten mit Makulaschichtforamen und relativ gutem Visus, geringer subjektiver Einschränkung im täglichen Leben sowie fehlenden, traktiven Komponenten in der SD-OCT kann mit einem operativen Eingriff zunächst zugewartet werden.

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass die Ergebnisse der hier durchgeführten klinisch-pathologischen Studien zu diesem Themengebiet wesentlich dazu beigetragen haben, den klinischen Verlauf und die Morphologie in Hinblick auf Vorkommen und Charakteristika von prämakulärem Gewebe bei Makulaschichtforamen und Pseudoforamen darzustellen. Zudem lieferten sie wichtige Hinweise zur Pathogenese traktiver Makulopathien und ermöglichten dadurch therapeutische Behandlungsempfehlungen wie oben beschrieben abzuleiten. Auch zur Festlegung der aktuell gültigen international akzeptierten SD-OCT Klassifikation nicht-vollständig durchgreifender Makuladefekte haben die Ergebnisse dieser Arbeiten einen wichtigen Beitrag geleistet.

4.2 Prämakuläre Membranen bei idiopathischem Macular Pucker, proliferativer Vitreoretinopathie und durchgreifendem Makulaforamen

Publikationen

(aufsteigend nach Erscheinungsjahr gelistet)

- F. **Vogt D**, Vielmuth F, Wertheimer C, Hagenau F, Guenther SR, Wolf A, Spindler V, Priglinger SG, Schumann RG. Premacular membranes in tissue culture. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* **2018** Sep;256(9):1589-1597. doi: 10.1007/s00417-018-4033-6. Epub 2018 Jun 21.
- G. Guenther SR, Schumann RG, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG, **Vogt D**. Comparison of surgically excised premacular membranes in eyes with macular pucker and proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res.* **2019** Mar;44(3):341-349. doi: 10.1080/02713683.2018.1542006. Epub 2019 Jan 9.
- H. **Vogt D**, Haritoglou C, Mautone L, Hagenau F, Guenther SR, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Premacular cells as source of neurotrophic factors in idiopathic macular holes. *Curr Eye Res.* **2020** Nov;45(11):1395-1402. doi: 10.1080/02713683.2020.1752389. Epub 2020 May 12.

Die hier vorgestellten **Arbeiten F-G** befassen sich mit den kontraktilen Komponenten prämakulärer Membranen bei idiopathischem Macular pucker und bei proliferativer Vitreoretinopathie. In **Arbeit H** wurden schwerpunktmäßig neurotrophe Wachstumsfaktoren beim großen durchgreifenden Makulaforamen untersucht.

In **Arbeit F** erfolgte die Kultivierung prämakulärer Membranen von 16 Augen mit idiopathischem Macular pucker mittels Etablierung eines von uns erarbeiteten Traktionsmodells. Dabei wurden morphologische und ultrastrukturelle Eigenschaften untersucht und mit 16 nicht-kultivierten, prämakulären Membranen verglichen. Die **Arbeit G** stellt einen morphologischen und ultrastrukturellen Vergleich 28 chirurgisch exzidierten, prämakulärer Membranen von 16 Augen mit idiopathischem Macular pucker und 12 Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie dar. Die Untersuchung neuer, Fibrose-hemmender Marker in der Immunzytochemie war dabei von besonderem Interesse. **Arbeit H** beschreibt das Vorkommen neurotropher Wachstumsfaktoren und histopathologische Charakteristika der vitreomakulären Grenzfläche bei 24 Augen mit großem idiopathischen durchgreifenden Makulaforamen mit einem Durchmesser von mehr als 400 µm.

4.2.1 Klinischer Hintergrund

Die Erkrankung des idiopathischen Macular pucker bezeichnet eine fortgeschrittene Form der epiretinalen Gliose. Per definitionem weisen Augen mit Macular pucker eine primäre, fibrozelluläre prämakuläre Membran im Bereich der vitreoretinalen Grenzfläche auf.⁷² Auch die proliferative Vitreoretinopathie zeichnet sich durch pathologische Zell- und Kollagenansammlungen aus, welche präretinal auf der ILM und auch subretinal unter der Netzhaut vorkommen. Als überreaktiver Prozess nach Netzhautreparatur tritt dies meist als Komplikation nach Ablatiochirurgie sowie nach Trauma oder Verletzungen des Auges auf.

Als zelluläre Zielstrukturen sind bereits kontraktile Myofibroblasten in prämakulären Membranen identifiziert worden. Myofibroblasten sind Zellen, die sich aus Vorläuferzellen wie aus Glaskörperzellen stammenden Hyalozyten oder retinalen Pigmentepithelzellen transdifferenzieren können. Auf Grund ihrer ausgeprägten Fähigkeit zur aktiven Kontraktion sowie zur Produktion von großen Mengen extrazellulärer Matrix sind sie hauptverantwortlich für die retinalen Veränderungen bei idiopathischem Macular pucker und proliferativer Vitreoretinopathie.^{18,33,38,39,47,78} Insbesondere die dadurch verursachte Faltenbildung der Makula führt bei den Erkrankten neben einem Verlust an Sehschärfe zu einem ausgeprägten Verzerren des Sehens. Starke Beeinträchtigungen im täglichen Leben wie beispielsweise beim Lesen, Schreiben oder Autofahren sind die Folge.

Würde es gelingen, die Transdifferenzierung der prämakulären Zellen zu Myofibroblasten zu unterbinden oder die kontraktile Aktivität dieser Myofibroblasten zu hemmen, könnte eine pharmakologische Inhibition der Fibrose als adjuvante Therapie die chirurgische Intervention ergänzen oder sogar ersetzen. Auch in anderen medizinischen Fachrichtungen wie der Kardiologie, Nephrologie und Pulmologie sind transdifferenzierte Myofibroblasten bei der Entstehung pathologischer, fibrotischer Veränderungen im Fokus der Forschung, sodass die Entwicklung pharmakologischer Therapieansätze nicht nur in der Ophthalmologie von großem Interesse ist.

Zielstrukturen zur Hemmung der kontraktilen Aktivität von Myofibroblasten sind u.a. die α -Integrine, die nachweislich eine Schlüsselrolle in der Aktivierung von latentem TGF- β spielen.^{30,85,89} Aber auch andere Fibrose-hemmende, immunhistochemische Marker wie anti-Galectin, anti-IBA1, anti-Emmprin und anti-RCA I scheinen bei der Transdifferenzierung zu Myofibroblasten beteiligt zu sein.^{2,3,51,53,59,60,64,81,86}

Daneben haben Vorversuche zur Etablierung des neuen Modells zur Kultivierung prämakulärer Membranen gezeigt, dass Zellen des chirurgisch exzidierten, prämakulären Gewebes mittels Traktion für mehrere Tage in Kultur gehalten werden können. Die Applikation von Traktion auf das zu kultivierende Gewebe war dabei durch die Beeinflussung zellulärer Prozesse auf mikrobiologischer Ebene entscheidend für die erfolgreiche Kultivierung.^{30,41} Glaskörpertraktion spielt bekanntlich bei der Pathogenese von prämakulären Zellansammlungen auf der inneren Grenzmembran eine wesentliche Rolle. Prämakuläre Membranen wurden in der Vergangenheit bisher noch nicht erfolgreich kultiviert. Hier ist es erstmals gelungen, ein Zellkulturmodell für die Kultivierung prämakulärer Membranen zu entwickeln. Dabei wird mittels feiner Nadeln mechanische Zugkraft auf ausgespanntes chirurgisch exzidiertes, prämakuläres Gewebe im Kulturmedium ausgeübt, so dass die pathogenetischen Verhältnisse der Zugkräfte des Glaskörpers an der Netzhaut für die Entwicklung fibrotischer Membranen im Auge nachempfunden werden können und die Zellproliferation und -migration angeregt wird. Das Traktionsmodell wurde bereits durch die Arbeitsgruppe von Frau Prof. Dr. med. K. H. Eibl-Lindner zur Kultivierung von Linsenkapseln verwendet und dadurch im Rahmen der hier vorgestellten Arbeit modifiziert und auf prämakuläre Membranen angewendet.⁸²

Bei durchgreifenden Makulaforamen hat die Weiterentwicklung der Makulachirurgie zuletzt zu einer deutlichen Verbesserung des morphologischen und funktionellen Outcomes geführt. Durch Lösung der Traktionskräfte auf die Makula hat sich die pars plana Vitrektomie mit Entfernung prämakulären Gewebes und ILM zu einem anerkannten Verfahren entwickelt, welches zu guten anatomischen und funktionellen Ergebnissen führt.^{11,28,46,61,79} Beim großen Makulaforamen mit einem Durchmesser von mehr als 400 µm ist die postoperative Wiedereröffnung des Makulaforamens aber immer noch eine der häufigsten Langzeitkomplikationen. In diesen Fällen kann die chirurgische Technik des ILM-Peelings nur begrenzt erneut angewandt werden. Die Verwendung der „inverted-ILM Flap“ Technik ist nur eine Möglichkeit, dieses Problem zu lösen.^{48,49} Der verwendete ILM Flap induziert nicht nur eine Gliazellproliferation, sondern wirkt auch als biologischer Stimulus für das Zellwachstum.⁷⁷ Darüberhinaus wurden kürzlich andere Therapieansätze im Zusammenhang mit wundheilungsfördernden Adjuvantien wie Wachstumsfaktoren^{4,43,87} und autologem Thrombozyten Konzentrat/ Serum postuliert.^{12,22} Bisher ist jedoch wenig bekannt über Verschluss-bezogene Faktoren eines Makulaforamens und beteiligte, zelluläre Elemente oder

extrazelluläre Signale. Bisherige ultrastrukturelle Analysen zeigten eine Proliferation von Gliazellen und neu gebildetem Kollagen in der ILM, wobei eine positive Korrelation zwischen Größe des Makulaforamens und Zelldichte gezeigt wurde.^{16,69,70} Hierbei scheinen Müller-Zellen, welche die wichtigsten Gliazellen der Netzhaut darstellen, eine Schlüsselrolle zu übernehmen.⁹ Durch Expression zahlreicher Zytokine reagieren aktivierte Müller-Zellen auf pathologische Veränderungen und sollen in der frühen Phase einer Verletzung das retinale Gewebe vor weiteren Schäden schützen. Shioda und Kollegen berichteten über neurotrophe Faktoren, die von aktiven Müller-Zellen exprimiert wurden.⁷⁷ Kenntnisse über histopathologische Veränderungen der vitreoretinalen Grenzfläche sind bisher nur unzureichend untersucht.

Ziel dieser hier vorgestellten **Arbeiten F-H** war deshalb die Untersuchung kontraktile Komponenten sowie neurotropher Wachstumsfaktoren von chirurgisch exzidiertem, prämakulärem Gewebe von Patienten mit idiopathischem Macular pucker, proliferativer Vitreoretinopathie und großem, durchgreifendem Makulaforamen mittels Zellkultur, Immunzytochemie und Transmissionselektronenmikroskopie. Die immunzytochemische Analyse sowie die ultrastrukturellen Untersuchungen des kultivierten Gewebes sowie der isolierten Zellen dienten der Beschreibung des Phänotyps prämakulärer Zellen und der Charakterisierung der Myofibroblasten. Dadurch soll das Wissen über Pathogenese traktiver Makulopathien erweitert und das chirurgische Vorgehen in der Therapie verbessert werden. Langfristig soll die Prüfung pharmakologischer Therapieansätze in Zukunft fachübergreifend Möglichkeiten einer Fibrose-hemmenden Behandlung liefern.

4.2.2 Patienten und Methoden

Die **Arbeit F** stellt eine immunzytochemische sowie ultrastrukturelle Untersuchung von kultivierten und nicht-kultivierten, prämakulären Membranen mit idiopathischem Macular pucker dar. Die 32 chirurgisch exzidierten Präparate von 32 Patienten wurden mittels Standard pars plana Vitrektomie mit Membran-Peeling zwischen Juni 2015 und März 2016 an der Augenklinik der LMU München gewonnen, wie in Arbeit A erläutert. Mittels eines neu etablierten Traktionsmodells wurden 16 Augen mit Ausübung eines tangentialen Zuges in Zellkultur gehalten und mittels Zeitraffer-Mikroskopie (Time-Lapse Microscopy) untersucht,

bevor wie bei den 16 nicht-kultivierten Membranen zum Vergleich eine Analyse mittels Immunzytochemie und Transmissionselektronenmikroskopie erfolgte.

Insgesamt wurden 16 der 32 Präparate für die Zellkultur vorbereitet. Von diesen 16, wurden 7 besonders große Präparate geteilt, um einen direkten Vergleich zu erhalten. Nach Entfaltung der Präparate unter einem Stereomikroskop (MS 5; Leica, Wetzlar, Deutschland) wurden die prämakulären Membranen auf den Kunststoffplatten der Zellkultur (NUNC, Langenselbold, Deutschland) mit Hilfe entomologisch feiner Pins zur Ausübung tangentialer Traktion fixiert. Anschließend wurden die Proben unter Standardzellkulturbedingungen für 2 Tage (48 h) kultiviert. Die Gewebekulturen wurden in einem Inkubator bei 37 °C und in einer angereicherten Atmosphäre von 5%-igem Carbondioxid durchgeführt. Das Nährmedium (Mischung des 0,584 g/l L-Glutamin enthaltenden Kulturmediums (DMEM, Biochrom AG, Berlin, Deutschland) mit 10% fetalen Kälberserum (Biochrom AG, Berlin, Deutschland) und 50 IE Penicillin/ml/50 µg Streptomycin/ml (Biochrom AG, Berlin, Deutschland)) wurde jeden zweiten Tag ausgetauscht. Zur Einzelzellanalyse der prämakulären Zellen in Zellkultur erfolgte die Zeitrafferanalyse mit dem automatisierten Zeitraffer-Mikroskop (Time-Lapse Mikroskopie, Leica DMI8, Kamera; Hamamatsu ORCA Flash4.0 sCMOS, Objektiv: HCX PL Fluotar 20×/0.50)). Die Bilder wurden in 20-minütigen Zeitabständen für 15 h mit einer Vergrößerung von ×200 in vier oder fünf verschiedenen Bereichen mit dichter Zellverteilung aufgenommen. Bereiche ohne Zellen wurden nicht analysiert. Die Proben wurden in einem Inkubator bei 37 °C und 5% CO₂ (Okolab, Ottaviano, Italien) auf dem Mikroskopsystem gehalten. Die Belichtungszeit wurde konstant und kurz (2 s) für alle Positionen und alle Zeitpunkte gehalten. Zwei Filme pro Probe wurden aufgenommen und analysiert. Nach der Zellkultur- und Zeitrafferanalyse wurden die Proben sofort in eine 2%ige Paraformaldehyd in 0,1 M phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) zur weiteren Untersuchung eingebracht.

Für die zytologische Charakterisierung wurden die Zellen fixiert und mit immunzytochemischen Färbemethoden dargestellt. Die genauen Präparationsschritte sind den Ausführungen der Arbeit A zu entnehmen. Als primäre Antikörper kamen zur Anwendung: für Myofibroblasten anti- α -smooth muscle actin [anti- α -SMA] (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland), für Myofibroblasten Aktivierung und Proliferation anti-Galectin-1 (R&D Systems, Minneapolis, USA) und anti-Galectin-3 (ABCAM, Cambridge, UK), für Zelladhäsion bei Myofibroblasten-Transdifferenzierung anti-Integrin α V, anti-Integrin α V β 3 sowie anti-Integrin α V β 5 (jeweils ABCAM, Cambridge, UK), für Gliazellen anti-Glial fibrillar acidic protein [anti-GFAP] (DAKO, Hamburg, Deutschland sowie Santa Cruz

Wissenschaftliche Arbeiten

Biotechnology, Heidelberg, Deutschland), für Hyalozyten anti-CD45 und anti-CD64 (jeweils Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland), für Mikrogliazellen anti-IBA1 (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Deutschland) und anti-Isolectin-B4 (Sigma Aldrich, St Louis, USA), für retinale Pigmentepithelzellen anti-Cytokeratin-8 [anti-CK8] (Sigma Aldrich, Taufkirchen, Germany), und für extrazelluläre Matrix anti-Kollagen Typ I (Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Deutschland). Die anschließende ultrastrukturelle Untersuchung mittels Transmissionselektronenmikroskopie erfolgte ebenfalls analog der Darstellung in Arbeit A.

Bei **Arbeit G** handelt es sich um eine klinisch-pathologische Fallserie von chirurgisch exzidierten, prämakulären Membranen von 28 Augen von 28 Patienten mit idiopathischem Macular pucker (16 Augen) und proliferativer Vitreoretinopathie (12 Augen). Alle Präparate wurden für die Flachschnittpräparation, Phasenkontrastmikroskopie und Interferenzmikroskopie, sowie Immunzytochemie aufbereitet. Von insgesamt 8 der 28 Augen erfolgte zusätzlich eine ultrastrukturelle Beurteilung mittels Transmissionselektronenmikroskopie.

Die 28 Präparate wurden konsekutiv durch eine standardisierte, pars plana Vitrektomie mit Membran-Peeling zwischen Mai 2014 und April 2015 an der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität gewonnen. Das operative Vorgehen erfolgte wie in Arbeit A beschrieben. Für die Immunzytochemie kamen folgende, primäre Antikörper zur Anwendung: für Myofibroblasten anti- α -smooth muscle actin [anti- α -SMA] (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, USA sowie GeneTex, Irvine, USA), für Zelladhäsion bei Myofibroblasten-Transdifferenzierung anti-Integrin α V, anti-Integrin α V β 3 sowie anti-Integrin α V β 5 (jeweils ABCAM, Cambridge, UK), für Myofibroblasten Aktivierung und Proliferation anti-Galectin-1 (R&D Systems, Minneapolis, USA) und anti-Galectin-3 (ABCCAM, Cambridge, UK sowie LifeSpan BioSciences, Seattle, USA), für extrazelluläre Matrix und Myofibroblasten anti-Transforming growth factor- β [anti-TGF- β] (R&D Systems, Minneapolis, USA), für extrazelluläre Matrix anti-Kollagen Typ I (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, USA), für Hyalozyten anti-CD45 und anti-CD64 (jeweils Santa Cruz Biotechnology, Dallas, USA), für Makrophagen anti-CD68 (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, USA), für Gliazellen anti-Glial fibrillary acidic protein [anti-GFAP] (Santa Cruz Biotechnology, Dallas, USA), für Mikrogliazellen anti-IBA1 (Wako Chemicals GmbH, Neuss, Deutschland) und anti-Isolectin-B4 (Sigma-Aldrich, St Louis, USA), für retinale Pigmentepithelzellen anti-Cytokeratin-8

Wissenschaftliche Arbeiten

[anti-CK8] (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany), anti-EMMPRIN (CD147) (R&D Systems, Minneapolis, USA) und anti-Ricinus communis agglutinin I [anti-RCA-I] (Vector Laboratories, Burlingame, USA) und für endotheliale Zellen anti-Ulex europaeus agglutinin I [anti-UEA I/ anti-Lectin] (LifeSpan BioSciences, Seattle, USA). Die genauen Präparationsschritte sind den Aufführungen bei Arbeit A zu entnehmen. Die ultrastrukturellen Untersuchungen erfolgten ebenfalls wie bei Arbeit A dargestellt.

Arbeit H ist eine klinisch-pathologische Fallserie chirurgisch exzidierte Präparate aus prämakulärem Gewebe und innerer Grenzmembran von 24 Augen von 24 Patienten mit großem durchgreifenden Makulaforamen mit einem Durchmesser von mehr als 400 µm. Die untersuchten Präparate wurden direkt vom Rand des Makulaforamens während einer standardisierten, pars plana-Vitrektomie mit Peeling zwischen Januar 2014 und April 2016 an der Augenklinik der LMU gewonnen.

Mittels optischer Kohärenztomographie (SD-OCT; Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland) erfolgte nach definierten Einschlusskriterien die Selektion der Patienten. Zusätzlich wurde das Stadium des durchgreifenden Makulaforamens und das Vorhandensein einer fokalen vitreomakulären Traktion (VMT) dokumentiert. Für die klinische Analyse wurden die Patientenakten auf Alter, Geschlecht und präoperative Anamnese überprüft.

Von insgesamt 24 Präparaten wurden 17 Präparate als Flachschnittpräparate für die Phasenkontrast- und Interferenzmikroskopie sowie für die Immunzytochemie aufbereitet. Die genauen Schritte der OP sowie der Präparation sind Arbeit A zu entnehmen. Die verwendeten Antikörper finden sich in **Tabelle 4**. Ultrastrukturelle Ergebnisse wurden von 13 der 24 Augen analysiert. Sechs Präparate wurden direkt nach der Immunzytochemie für die Transmissionselektronenmikroskopie präpariert und 7 Präparate wurden nur für die Transmissionselektronenmikroskopie aufbereitet. Die genauen Schritte sind bereits in Arbeit A beschrieben.

Wissenschaftliche Arbeiten

Tabelle 4 Überblick über die verwendeten Antikörper einschl. Antikörper-Spezifität und Antikörper–Zielstruktur.

Anti-	Antibody specificity and source	Antibody dilution	Target structure/ function
Neurotrophic factor			
Glial cell derived neurotrophic factor (GDNF)	Rabbit, sc-328, Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Germany	1:50	Neuroprotective neurotrophic factor
	Goat, sc-328-G, Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Germany	1:50	
Ciliary neurotrophic factor (CNTF)	Rabbit, HPA019654, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany	1:50	Neuroprotective neurotrophic factor
Cell specific antigen			
Glial fibrillary acidic protein (GFAP)	Mouse, sc-9973, Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Germany	1:50	Intermediate type filaments of glial cells
	Rabbit, Z 0334, DAKO, Jena, Germany	1:50	
Vimentin	Goat, V 4630, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Germany	1:40	Intermediate type filaments of glial cells
Cellular retinaldehyde-binding protein (CRALBP)	Goat, sc-18757, Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Germany	1:50	Müller glial cells
Neurofilament (NF)	Mouse, M 0726, DAKO, Jena, Germany	1:50	Retinal ganglion cells
Calretinin	Rabbit, GTX103261, GeneTex, GeneTex, Eching, Germany	1:50	Retinal ganglion cells, amacrine and horizontal cells
Melanopsin	Rabbit, GTX19383, GeneTex, Eching, Germany	1:20	Dendrites and axons of retinal ganglion cells

4.2.3 Ergebnisse

Die Ergebnisse der **Arbeit F** zeigten, dass Myofibroblasten, Hyalozyten sowie Makro- und Mikrogliazellen die Hauptzelltypen in den 32 untersuchten, chirurgisch exzidierten, prämakulären Membranen von Augen mit idiopathischem Macular pucker darstellen. Die Korrelation von Zeitraffer-Mikroskopie mit der Immunfluoreszenzmikroskopie identifizierte, schnelle, unidirektional gerichtete, klein rundliche Zellen durch positive Immunreaktivität von anti-IBA1 als Mikrogliazellen (siehe **Abbildung 4.7**). Sich langsam bewegende, länglich große Zellen wurden als α -smooth-muscle actin (α -SMA)-positive Myofibroblasten beschrieben.

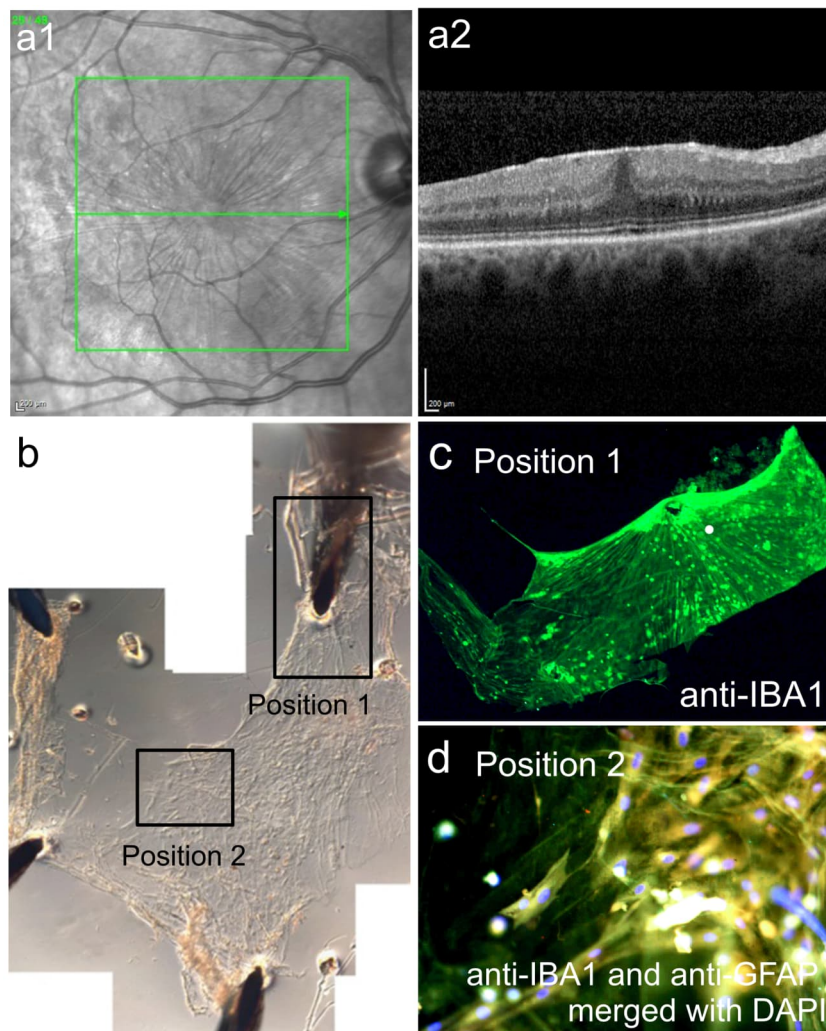


Abbildung 4.7 Prämakuläre Membran in der Zellkultur unter Anwendung tangentialer Traktion. (a1,a2) Spektral-Domains optische Kohärenztomographie-Aufnahmen einer 73-jährigen Frau mit idiopathischem Macular Pucker. (b) Das Interferenzmikroskopische Bild zeigt die flach ausgebreitete Membran, welche für die Zeitraffermikroskopie mittels feinen Nadeln aufgespannt wurde. (c) Positive Immunmarkierung mit anti-IBA1, einem

Wissenschaftliche Arbeiten

Mikroglia marker. (d) Darstellung der Zellkernfärbung 4',6'-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blau) in Überlagerung mit positiver Immunmarkierung von anti-IBA1 und negativer Immunmarkierung von anti- GFAP.
(Originalvergrößerung: (b) x200; (c) x50; (d) x200)

In der Fluoreszenzmikroskopie fand sich neben positiver Färbung von anti- α -SMA, welches oft in Co-Lokalisation mit anti-Kollagen Typ I zu sehen war, eine positive Reaktion der Integrine (anti-Integrin α V, anti-Integrin- α v β 3 und anti-Integrin- α v β 5), von anti-Isolectin- β 4, sowie der Hyalozyten-Marker anti-CD45 und anti-CD64. Nach Zellkultur mit Applikation von tangentialer Traktion wurde eine verstärkte, positive Immunreaktivität von anti- α -SMA sowie der verschiedenen Integrine beobachtet. Alle anderen Immunmarkierungen zeigten ähnliche Ergebnisse wie bei den Bedingungen vor bzw. ohne Zellkultur.

Mittels Transmissionselektronenmikroskopie zeigten sich ultrastrukturelle Unterschiede prämakulärer Membranen ohne bzw. vor und nach Zellkultur (siehe **Abbildung 4.8**). Nach Zellkultur mit Applikation von tangentialer Traktion wurden Myofibroblasten, Fibroblasten und Gliazellen beobachtet. Ohne Zellkultur fanden sich überwiegend Hyalozyten und Gliazellen sowie einzelne Myofibroblasten. Retinale Pigmentepithelzellen wurden in keiner der Membranen gefunden. Die extrazelluläre Matrix bestand aus nativem Glaskörperkollagen sowie neu gebildetem Kollagen. Dicke Kollagenstränge und fibrilläre Kollagenpräzipitate wurden sowohl vor/ohne als auch nach Zellkultur in der Hälfte der Augen beobachtet. Die innere Grenzmembran zeigte sich nach Zellkultivierung unverändert.

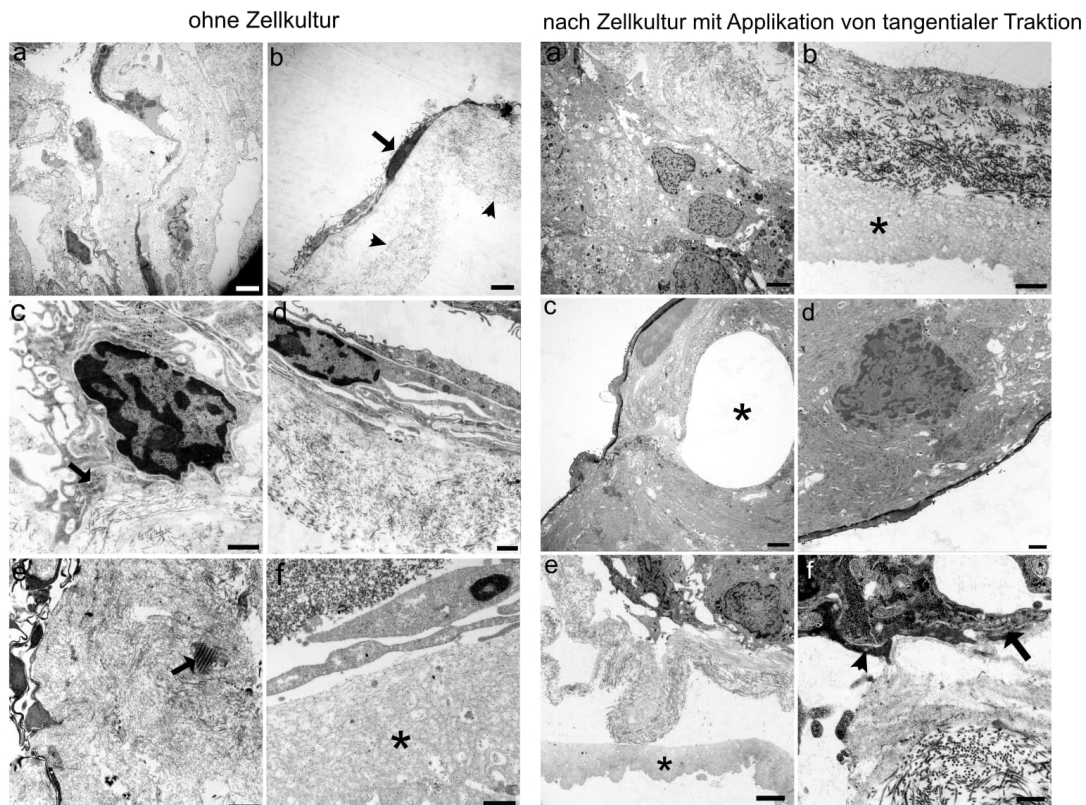


Abbildung 4.8 (Links) Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen prämakulärer Membranen ohne Zellkultur. (a) Hyalozyten auf dicken Kollagensträngen. (b) Hyalozyt (Pfeil) auf Kollagenstrang (Pfeilspitze). (c) Vergrößerung eines Myofibroblasten, der sich durch intrazelluläre Aktinfilamente auszeichnet (Pfeil). (d) Vergrößerung eines Hyalozyten, der durch dichtes Zytoplasma gekennzeichnet ist. (e) Dicke Kollagenstränge und fibrilläre Präzipitate (Pfeil). (f) Innere Grenzmembran (Sternchen).

(Originalvergrößerung: (a, b) $\times 3000$, bar = 2500 nm; (c, e, f) $\times 12.000$, bar=1000 nm; (d) $\times 7000$, bar=500 nm)

(Rechts) Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen prämakulärer Membranen nach Zellkultur mit Applikation von tangentialer Traktion mittels feiner Nadeln. (a) Dichte Proliferation von Fibroblasten. (b) Die Grenzmembran (Sternchen) zeigte nach der Zellkultivierung elektronenmikroskopisch keine Veränderungen. (c) Dargestellt ist ein kleines Loch (Sternchen) in der Membran durch das Aufspannen mit der Nadel verursacht, um welches sich eine dichte Proliferation von Gliazellen zeigt. (d) Höhere Vergrößerung der dichten mehrschichtigen Proliferation von Gliazellen. (e) Fibroblast und Myofibroblast befinden sich auf dicken Kollagensträngen. Die innere Grenzmembran ist mit einem Sternchen markiert. (f) Höhere Vergrößerung eines Myofibroblasten mit intrazellulären Aktinfilamenten (Pfeil) und subplasmalen zytoplasmatischen Filamente (Pfeilspitze). (Originalvergrößerung: (a, c) $\times 3000$, bar = 2500 nm; (b, e, f) $\times 12.000$, bar = 1000 nm; (d) $\times 7000$, bar = 500 nm)

Die in **Arbeit G** angewandten immunzytochemischen und ultrastrukturellen Untersuchungen der 28 untersuchten, prämakulären Membranen von 16 Augen mit idiopathischem Macular pucker und 12 Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie ergaben eine unterschiedliche Zellzusammensetzung bei diesen beiden vitreoretinalen Erkrankungen. Transdifferenzierte

Wissenschaftliche Arbeiten

Myofibroblasten ließen sich aber bei beiden Entitäten nachweisen. An fibrotischen Prozessen beteiligte immunzytochemische Marker wurden sowohl in Augen mit idiopathischem Macular pucker als auch in Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie positiv gefunden. Es zeigte sich in allen untersuchten Membranen eine stark positive Immunreaktivität von anti- α -SMA, sowie der verschiedenen Integrin-Marker insbesondere von anti-Integrin α v β 3 (siehe **Abbildung 4.9**). Zudem zeigte sich eine starke Färbung von anti-Galectin, anti-EMMPRIN, anti-RCA I, anti-IBA1 und anti-Kollagen-Typ I (siehe **Abbildung 4.9**).

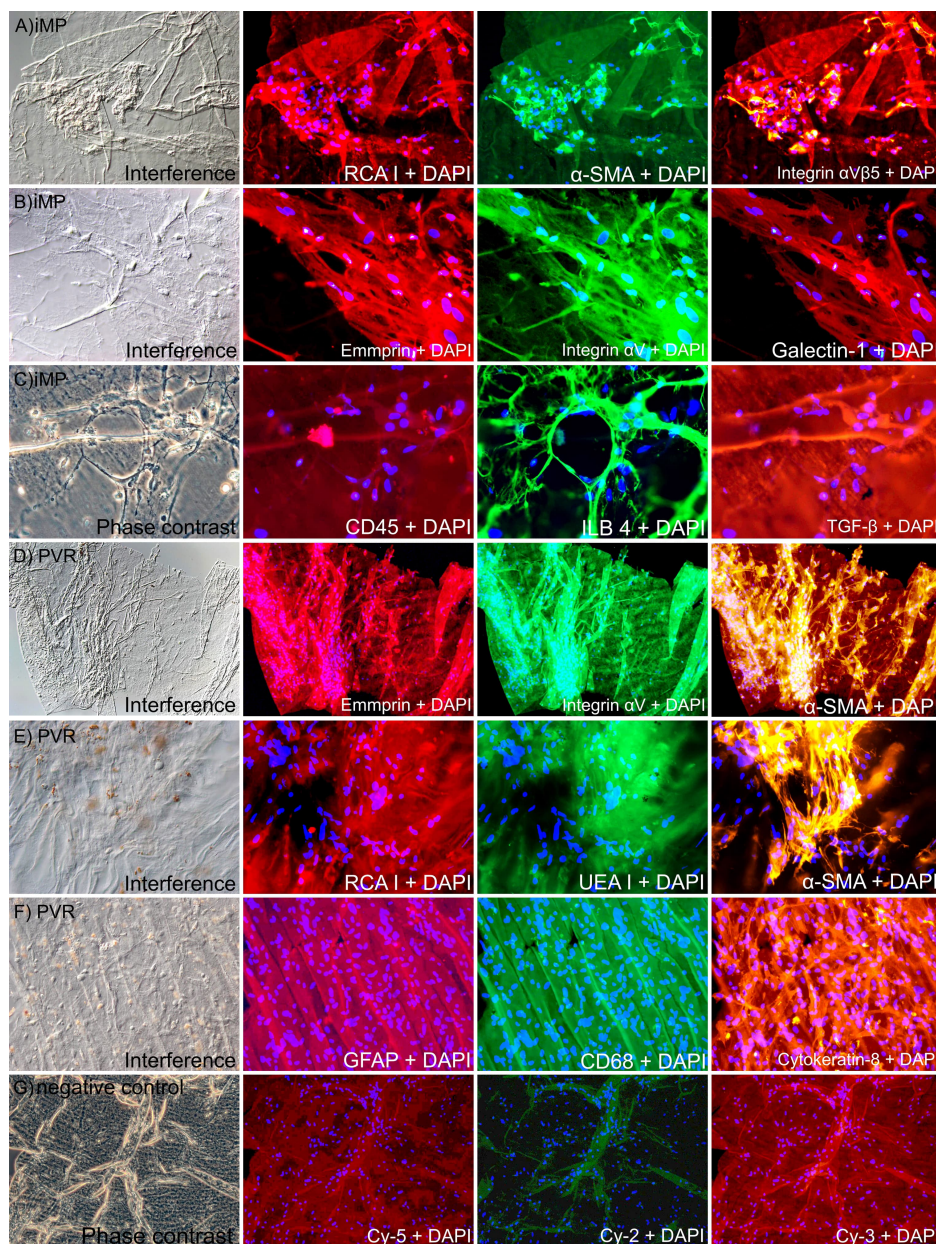


Abbildung 4.9 Phasenkontrast- und Interferenzmikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie und immunzytochemische Färbung zusammen dargestellt mit der Zellkernfärbung von 4',6'-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blau) von prämakulären Membranen von Augen mit

idiopathischem Macular Pucker (iMP) und proliferativer Vitreoretinopathie (PVR). (A) Die prämakulären Zellen zeigen eine positive Immunreaktivität von anti-RCA-I (rot), anti- α -SMA (grün) und anti-Integrin- α (rot) in Augen mit iMP. (B) Positives immunostaining von anti-EMMPRIN (rot), anti-Integrin- α V (grün) und anti-Galectin-1 (rot). (C) Positive Immunreaktivität von anti-CD45 (rot), anti-ILB4 (grün) und anti-TGF- β (grün). (D) Prämakuläre Zellen in Augen mit PVR zeigen eine positive Immunreaktivität von anti-EMMPRIN (rot), anti-integrin- α V (grün) und anti- α SMA (rot) (E) Positive Immunmarkierung von anti-RCA-I (rot), anti-UEA I/ Lectin (grün) und α -SMA (rot). (F) Positive Immunreaktivität von anti-GFAP (rot), anti-CD68 (grün) und anti-CK8 (rot). (G) Negativkontrollen für anti-Cy5 (rot), anti-Cy2 (grün) und anti-Cy3 (rot). (Originalvergrößerung: (A) $\times 100$; (B) $\times 400$; (C) $\times 100$; (D) $\times 400$; (E) $\times 400$; (F) $\times 400$; (G) $\times 400$)

Ultrastrukturell zeigte sich bei Augen mit idiopathischem Macular pucker als dominierende Zelltypen Myofibroblasten, Fibroblasten und Hyalozyten, welche in dicke Glaskörperkollagenstränge eingebettet waren (siehe **Abbildung 4.10**). Makro- und Mikrogliazellen fanden sich nur in einzelnen, untersuchten Präparaten. Im Gegensatz dazu waren in Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie retinale Pigmentepithelzellen sowie Myofibroblasten die vorherrschenden Zelltypen, welche mehrheitlich von neu gebildetem Kollagen umgeben waren (siehe **Abbildung 4.10**).

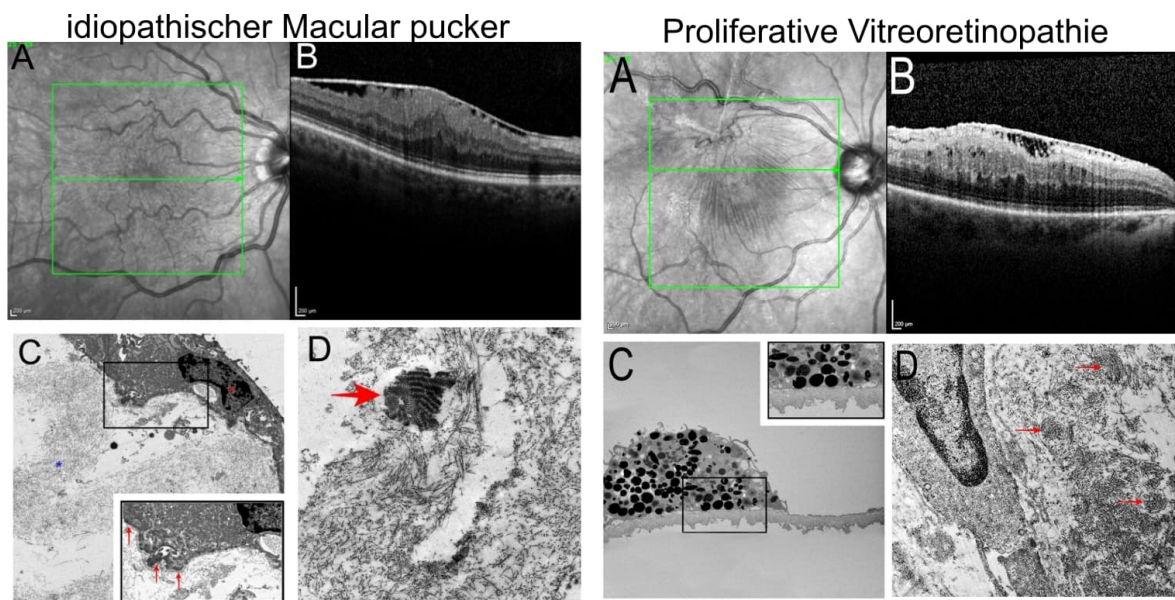


Abbildung 4.10 (Links) Beispiel eines Auges mit idiopathischem Macular pucker. (A,B) Spektral-Domain optische Kohärenztomographie-Aufnahmen einer 73-jährigen Frau mit idiopathischem Macular pucker. (C) Die Transmissionselektronenmikroskopie der prämakulären Membran zeigt einen Myofibroblasten (rotes Sternchen) auf einem nativem Glaskörperkollagenstrang (blaues Sternchen). Im vergrößerten Ausschnitt sind subplasmalemmale Kondensationen (rote Pfeile) zu sehen, die für eine Myofibroblast

Wissenschaftliche Arbeiten

charakteristisch sind. (D) Die Transmissionselektronenmikroskopie stellt fibrilläre Präzipitate (roter Pfeil) dar, welche in einen dicken Glaskörper-Kollagenstrang eingebettet sind.

(Originalvergrößerung: (C) x4400; (D) x12 000)

(Rechts) Beispiel eines Auges mit proliferativer Vitreoretinopathie. (A,B) Die Spektral-Domain optische Kohärenztomographie-Aufnahmen eines 61-jährigen Mannes mit proliferativer Vitreoretinopathie (PVR) zeigen eine prämakuläre Membran, die ein Jahr nach operativer Versorgung mittels Vitrektomie bei Netzhautablösung mit großem Netzhautriss aufgetreten ist. (C) In der Transmissionselektronenmikroskopie Aufnahme zeigt sich eine retinale Pigmentepithelzelle (RPE-Zelle), die auf der vitrealen Seite der inneren Grenzmembran liegt. Im vergrößerten Ausschnitt sind die für RPE-Zellen charakteristischen intrazytoplasmatischen Melaningranula zu sehen. (D) In Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie zeigte sich oft neu gebildetes Kollagen (NFC, rote Pfeile).

(Originalvergrößerung: (C) x3000; (D) x20 000)

In **Arbeit H** wurden 24 Augen von 24 Patienten mit großem durchgreifenden Makulaforamen mit einem Durchmesser von mehr als 400 μm eingeschlossen, die eine Pars-plana-Vitrektomie mit Peeling prämakulären Gewebes und ILM erhielten. Die bestkorrigierte Sehschärfe der Patienten betrug zu Beginn der Operation $0,9 \pm 0,35$ logMAR (Median 0,9 logMAR; Bereich, 0,3-1,7 logMAR). Mittels SD-OCT betrug der mittlere Makulaforamen-Durchmesser der eingeschlossenen Augen $506,08 \pm 78,52$ μm (Median 506,5 μm ; Bereich, 401-657 μm). Insgesamt wiesen 21 von 24 Augen (88%) ein Makulaforamen Stadium IV und 3 von 24 Augen (12%) ein Makulaforamen Stadium III auf. Von diesen 3 Augen zeigten 2 Augen eine vitreomakuläre Traktion (VMT) in der SD-OCT. Nach der Operation persistierte bei 1 von 12 Augen (8 %) ein durchgreifendes Makulaforamen. Die genauen Ergebnisse der Auswertung der Zellzahl sowie der Immunzytochemie sind **Tabelle 5** zu entnehmen.

Tabelle 5 Analyse von Zellzahl und Zelldichte sowie der Immunreaktivität in Flachschnittpräparaten der inneren Grenzmembran (ILM), welche chirurgisch von 17 von 24 Augen mit idiopathischem großen Makulaforamen gewonnen wurden.

	Cell density		
	<10 [cells/mm ²] N = 6 eyes	10-50 [cells/mm ²] N = 5 eyes	>50 [cells/mm ²] N = 6 eyes
Stage of macular hole (Stage III/ Stage IV)	0/6	0/5	3/3
Macular hole diameter [μ m] (min-max)	508 \pm 95 (400-650)	521 \pm 81 (415-657)	508 \pm 74 (429-636)
Presence of focal VMT (yes/ no)	0/6	0/5	4/2
Results of cell characteristics using flat mount preparation			
Cell density [cells/mm ²] (range)	4 \pm 2 (1-7)	28 \pm 9 (16-45)	117 \pm 67 (52-214)
Total number of cells (range)	41 \pm 26 (4-68)	208 \pm 141 (68-412)	944 \pm 534 (413-1826)
Area of examined ILM [mm ²] (range)	9 \pm 4 (2-15)	7 \pm 4 (2-12)	9 \pm 5 (4-17)
Analysis of immunoreactivity using flat mount preparation			
Neurotrophic factors			
Anti-GDNF (++/+/-)	3/3/0	5/0/0	5/1/0
Anti-CNTF (++/+/-)	6/0/0	5/0/0	6/0/0
Cell specific antigens			
Anti-GFAP (++/+/-)	1/4/1	3/2/0	1/4/1
Anti-Vimentin (++/+/-)	3/3/0	3/2/0	4/2/0
Anti-CRALBP (++/+/-)	0/3/3	0/3/2	0/4/2
Anti-NF (++/+/-)	0/1/5	1/4/0	0/2/4
Anti-Calretinin (++/+/-)	0/2/4	2/3/0	5/1/0
Anti-Melanopsin (++/+/-)	0/5/1	1/4/0	0/5/1

FTMH, full-thickness macular hole; VMT, vitreomacular traction. GDNF, Glia cell derived neurotrophic factor; CNTF, Ciliary neurotrophic factor; GFAP, Glial fibrillary acidic protein; CRALBP, Cellular retinaldehyde-binding protein, NF, Neurofilament.

++, very present; +, present; -, not present.

Mittels Transmissionselektronenmikroskopie wurde die ILM in allen untersuchten Präparaten gefunden. Mehrheitlich zeigte sich eine mehrschichtige Zellproliferation (7 von 13 Präparate, 54%). Eine einschichtige Zellproliferation wurde in 2 von 13 Präparaten (15%) gefunden und einzelne Zellen traten in 4 von 13 Präparaten (31%) auf. Kleine Zellreste auf der retinalen Seite der ILM wurden in 2 von 13 Präparaten (14%) gesehen, wohingegen Zellfragmente in

keinem Präparat vorkamen. Makrogliazellen wie Müller-Zellen und fibröse Astrozyten wurden in 6 von 13 Präparaten (46%) gefunden. Hyalozyten wurden in 5 von 13 Proben (38%), Myofibroblasten in 4 von 13 Proben (31%) und Fibroblasten in 4 von 13 Proben (31%) festgestellt. Im Gegensatz dazu wurden Makrophagen und retinale Pigmentepithelzellen nicht gefunden. Natives Glaskörperkollagen (NVC) wurde in 4 von 13 Präparaten (31%) dokumentiert, eingebettet als kontinuierliche Schicht zwischen den prämakulären Zellen und der ILM. Kollagenstränge wurden gelegentlich in 3 von 13 Präparaten (23%) dokumentiert. Neu gebildetes Kollagen (NFC) wurde in einer Probe (7%) gefunden und fibrilläre Präzipitate (FLSC) wurden nicht gesehen.

4.2.4 Diskussion

Die vorgestellten **Arbeiten F-G** legen dar, dass prämakuläre Membranen von Augen mit idiopathischem Macular pucker und proliferativer Vitreoretinopathie sich in ihrer zellulären und extrazellulären Morphologie unterscheiden, was den unterschiedlichen klinischen Verlauf beider Erkrankungen erklärt.

Die Untersuchungen mittels Zellkultur mit Applikation von tangentialer Traktion sowie mittels Fluoreszenz- und Elektronenmikroskopie zeigten bei Augen mit idiopathischem Macular pucker Hyalozyten, Gliazellen und Fibroblasten als Hauptvorläuferzellen der Myofibroblasten (siehe **Arbeit F und G**). Bei Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie kann davon ausgegangen werden, dass Myofibroblasten überwiegend aus retinalen Pigmentepithelzellen transdifferenzieren (siehe **Arbeit G**).

Beiden Erkrankungen war jedoch eine Transdifferenzierung von Myofibroblasten aus Vorläuferzellen durch positive Immunreaktivität von getesteten fibrotischen Markern wie anti-Integrin und anti-Galectin gemeinsam. Dies gibt Hinweise auf Gemeinsamkeiten in der Pathogenese beider Erkrankungen.

Myofibroblasten transdifferenzieren aus verschiedenen Vorläuferzellen, wodurch diese ihre typischen Eigenschaften verlieren und anstelle dessen kontraktile Eigenschaften gewinnen.³¹ Daher wurden Myofibroblasten als Hauptzielstruktur bei der Regulierung von Fibrose identifiziert.³² Als ein wichtiger Faktor zur Aktivierung von Myofibroblasten wurde mechanischer Stress sowie die Sekretion von TGF- β bestimmt.^{29,30,32,84} Gemäß hier gefundener Ergebnissen wurde anti- α -SMA, welches ein intrazelluläres Aktinfilament darstellt und als Marker für Myofibroblasten gilt, als einer der wichtigsten, positiven Marker

bei traktiven Makulopathien identifiziert. Nach Applikation von Traktion im Zellkulturmodell war anti- α -SMA verstärkt nachweisbar. In der Co-Lokalisation mit Kollagen Typ I wird α -SMA als essentiell für die extrazelluläre Matrixproduktion und Kontraktion angesehen.³⁰

Als Marker für Myofibroblasten-Transdifferenzierung wurden Integrine und Galectine beschrieben, welche auch in unseren Untersuchungen deutlich positiv nachgewiesen wurden. Die Integrin-vermittelte Adhäsion beeinflusst mehrere Signalwege, u.a. für Proliferation, Differenzierung und Motilität. Dadurch wird den Integrinen eine wichtige Funktion bei der Transdifferenzierung von Fibroblasten in Myofibroblasten via indirekter Aktivierung von latentem TGF- β und Neoexpression von α -SMA zugeschrieben.^{29,30,85,89} Galectine sind als Fibrose-fördernde Proteingruppe in erster Linie an Zell-Zell- und Zell-Matrix-Interaktionen beteiligt und scheinen für die Aktivierung, Migration und Proliferation von Myofibroblasten wichtig zu sein.^{1,59} Neben seiner regulatorischen Funktion auf TGF- β -Rezeptoren spielt insbesondere Galectin-3 auch eine wichtige Rolle bei Integrin-vermittelten Signalwegen.

In der Vergangenheit wurden insbesondere Makrogliazellen wie Müller-Zellen oder Astrozyten in prämakulären Membranen beschrieben. Aktivierte Mikrogliazellen wurden erst kürzlich in traktiven Makulopathien gefunden.^{81,86} Im Rahmen dieser Arbeiten zeigte sich, dass Mikrogliazellen, durch die Mikroglia-Marker anti-IBA1 und anti-Isolectin-B4 nachgewiesen, häufig in prämakulären Membranen vorkommen. Mikrogliazellen, die als hochdynamische Zellen gelten und morphologischen und funktionellen Veränderungen unterliegen, haben regulatorische Funktionen⁶⁴ und beteiligen sich durch die Sekretion von TGF- β an der Myofibroblasten-Transdifferenzierung sowie an fibrotischen Prozessen.⁸¹

Zusammenfassend gibt es Hinweise, dass in der Krankheitsentstehung trotz unterschiedlicher zellulärer Komponenten und extrazellulärer Matrix von prämakulären Membranen bei idiopathischem Macular pucker und proliferativer Vitreoretinopathie bei beiden Erkrankungen durch den Nachweis transdifferenzierter Myofibroblasten Gemeinsamkeiten bestehen. Die Übertragung der Anwendung möglicher therapeutischer pharmakologischer Strategien der proliferativen Vitreoretinopathie auf andere traktive Makulopathien ist daher denkbar. Somit unterstützen die Ergebnisse der hier vorgestellten Arbeiten den Ansatz der medikamentösen Fibrose-hemmenden Behandlung. In Zukunft soll die pharmakologische Testung therapeutischer Substanzen wie beispielsweise von Alkylphosphocholinen im Zellkulturmodell erfolgen.

Die Untersuchungen innerhalb der **Arbeit H** ergaben, dass chirurgisch exzidiertes, prämakuläres Gewebe von großen, idiopathisch durchgreifenden Makulaforamina eine variable Zusammensetzung prämakulärer Zellen und Glaskörperkollagen auf der vitrealen Seite der ILM aufweist. Die prämakulären Zellen fanden sich positiv für neurotrophe Wachstumsfaktoren und Makrogliazellmarker. Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass neurotrophe Faktoren, die von aktivierten Müller-Zellen innerhalb der prämakulären Zellzusammensetzung produziert werden, zur Regeneration des Makulaforamens beitragen können.

Der Glial cell line-derived neurotrophic factor spielt durch Schutz neuraler Zellen eine wichtige Rolle im funktionellen Glia-Neuronen-Netzwerk.^{8,27} Es wird berichtet, dass GDNF, der in Astrozyten und Müller-Zellen lokalisiert ist, zu einer Hochregulierung der GFAP-Expression in Müller-Zellen führt¹⁵ und nachweislich das Überleben von retinalen Ganglien- und Photorezeptorzellen fördert.^{8,27} Über die Aktivierung von Müller-Zellen soll CNTF ebenfalls Photorezeptoren schützen.⁴⁰ Die Daten bestätigen das Vorkommen der neurotrophen Faktoren GDNF und CNTF in prämakulären Membranen. Im Gegensatz zu Shoide et al. wurden sie hier jedoch nicht in der ILM selbst gefunden.⁷⁷ Da Müller-Zellen als zelluläre Hauptbestandteile prämakulärer Membranen identifiziert wurden, besteht die Hypothese, dass neurotrophe Faktoren von aktivierten Müller-Zellen exprimiert wurden, die an Heilungsprozessen des retinalen Gewebes als Reaktion auf pathologische Veränderungen beteiligt sind.

Darüber hinaus weist die Expression der spezifischen Proteine Anti-Neurofilament, Anti-Calretinin und Anti-Melanopsin, die als Marker für retinale Ganglienzellen beschrieben wurden, auf das Vorhandensein von Neuritenfortsätzen in prämakulären Membranen hin.^{44,45} In der Netzhaut führen verschiedene, retinale Erkrankungen nicht nur zu Gliazellproliferation und -migration, sondern auch zu neuronalen Veränderungen einschließlich Neuriteneinsprossungen. Diese neugebildeten Neuriten stammen von retinalen Neuronen wie z.B. Ganglienzellen ab. Obwohl das Neuritenwachstum nicht vollständig verstanden ist, gibt es Hinweise darauf, dass die Expression von neurotrophen Faktoren der Müller-Zellen mit dem Wachstum von Neuritenfortsätzen verbunden sein könnte.^{44,45} Dies unterstreicht das mögliche Potenzial der neuronalen Umgestaltung der menschlichen Netzhaut.

Zusammenfassend unterstützen die Ergebnisse die These, dass der Einsatz von neurotrophen Wachstumsfaktoren die Sehfunktion bei Patienten mit großem durchgreifenden

Wissenschaftliche Arbeiten

Makulaforamen durch eine bessere Erholung des Netzhautgewebes verbessern könnte. Weitere Studien müssen folgen, um dies im Detail genauer zu untersuchen.

5 Schlussfolgerungen und Ausblick

Die hier vorgestellten Arbeiten beschreiben klinische Verläufe und morphologische Befunde der SD-OCT in Zusammenhang mit Vorkommen und Zellzusammensetzung prämakulären Gewebes im Bereich der vitreomakulären Grenzfläche bei verschiedenen, traktiven Makulopathien wie dem Makulaschichtforamen und dem Pseudoforamen der Makula, der iERM-Foveoschisis, dem durchgreifenden Makulaforamen, dem idiopathischen Macular pucker und der proliferativen Vitreoretinopathie.

Die Ergebnisse der ausgewählten **Arbeiten A-H** ermöglichen eine Beantwortung der oben genannten Fragen wie folgt:

- I. Makulaschichtforamen und Pseudoforamen der Makula unterscheiden sich im klinischen Verlauf und im Vorkommen von prämakulärem Gewebe. Pseudoforamen zeigen per Definition eine traktive prämakuläre Membran. Bei Makulaschichtforamen zeigt sich auch bei fast allen Augen prämakuläres Gewebe mittels SD-OCT. Neben den typisch traktiven prämakulären Membranen wurde bei Makulaschichtforamen „atypisches epiretinales Gewebe“ an den Foramenrändern beschrieben. Immunzytochemisch und ultrastrukturell zeigten sich ebenfalls Unterschiede im prämakulären Gewebe. In den zellreichen prämakulären Membranen der Pseudoforamen zeigte sich eine stark positive Anfärbung von glattmuskulärem Aktin (α -SMA) als Marker für Myofibroblasten-artige Transdifferenzierung. Zellen für GFAP, Kollagen Typ I sowie Typ II zeigten sich ebenfalls positiv. Ultrastrukturell fanden sich in Glaskörperkollagen vorliegende dicht gepackte mehrschichtige Zellverbände, die sich überwiegend aus Myofibroblasten zusammensetzten sowie fibrilläre Präzipitate, „fibrous long-spacing collagen“ (FLSC) genannt, welche im Zusammenhang mit Abbau und Umbau von Kollagen stehen. Bei Makulaschichtforamen dominierten GFAP-positive sowie CD45- und CD64-positive Zellen. Daneben fanden sich positive Zellen für Kollagen Typ I und Typ III. Elektronenmikroskopisch zeigten sich dicht gepackte Zellproliferationen aus Fibroblasten und Hyalozyten überwiegend eingebettet in dichte Stränge von Glaskörperkollagen. Traktive Myofibroblasten fanden sich nur vereinzelt.
- II. Makulaschichtforamen mit atypischer Makulaschichtforamen-assoziiertes prämakulärer Proliferation zeigten eine zunehmende Fläche der Proliferation im Lauf der Zeit. Diese

Schlussfolgerungen und Ausblick

korrelierte zudem mit der Zunahme des maximalen Foramendiameters. Darüberhinaus korrelierten die Zunahme des maximal horizontalen Foramendiameters und das Vorkommen von Photorezeptorschichtdefekten mit einer schlechteren, best-korrigierten Sehschärfe. Die zentrale Netzhautdicke zeigte sich im Zeitverlauf nicht signifikant abnehmend und eine zusätzliche traktive konventionelle prämakuläre Membran mit Falten innerer Netzhautschichten in der SD-OCT wurde bei der Hälfte der Augen demonstriert.

- III. Bei allen eingeschlossenen Augen mit Makulaschichtforamen, durchgreifendem Makulaforamen und Makular pucker zeigte sich eine atypische prämakuläre Proliferation, welche sich in der SD-OCT als eine dicke isoreflektive Schicht darstellte, sowie mehrheitlich auch eine zusätzliche traktive prämakuläre Membran. Immunzytochemisch waren die Präparate aller untersuchten Augen stark positiv für anti-Vimentin, anti-GFAP und anti-GS, sowie positiv für anti-CRALBP und für die Hyalozyten-Zellmarker anti-CD45 und anti-CD64. Der Myofibroblastenmarker anti- α -SMA war nur selten positiv. Ultrastrukturell zeigte die prämakuläre Proliferation unabhängig von der bestehenden Diagnose eine identische dicht gepackte Zellzusammensetzung und Zellcharakteristik im Sinne eines einheitlichen Zell-Phänotyps mit ähnlichen intrazellulären glialen Merkmalen umgeben von nativem Glaskörperkollagen. Myofibroblasten fanden sich nicht. Entsprechend des SD-OCT Befundes ließen sich ultrastrukturell bei der Mehrheit der Präparate neben der prämakulären Proliferation auch Anteile einer traktiven prämakulären Membran nachweisen.
- IV. Bei Augen mit iERM-Foveoschisis fand sich ebenso, wie bei Augen mit myoper Foveoschisis, eine positive Reaktion auf anti- α -SMA, anti-IBA1 und anti-GFAP in allen untersuchten Präparaten. Ultrastrukturell fanden sich bei beiden Entitäten an zellulären Bestandteilen Myofibroblasten-ähnliche Zellen, Fibroblasten und Hyalozyten. Auch Kollagenstränge kamen als natives Glaskörperkollagen oder als neu synthetisiertes Kollagen vor ebenso wie fibrilläre Kollagenpräzipitate. In Augen mit iERM-Foveoschisis zeigte sich die ILM mit ihrer regulären, bekannten Struktur. Dagegen war nur bei Augen mit myoper Foveoschisis die ILM im Ultradünnschnitt partiell rarefiziert und an der retinalen Seite stark zerklüftet. Darüberhinaus fanden sich große Fragmente von retinalen Zellen sowie retinale Nervenfaserschichtanteile an der ILM nur bei Präparaten der myopen Foveoschisis.
- V. In prämakulären Membranen von Augen mit idiopathischem Macular pucker wurden Myofibroblasten, Hyalozyten sowie Makro- und Mikrogliazellen als Hauptzelltypen

Schlussfolgerungen und Ausblick

identifiziert. Die Korrelation von Zeitraffer-Mikroskopie mit der Immunfluoreszenzmikroskopie identifizierte, schnelle, unidirektional gerichtete, klein rundliche Zellen als Mikrogliazellen durch positive Immunreaktivität von anti-IBA1. Sich langsam bewegende, länglich große Zellen wurden als α -SMA-positive Myofibroblasten beschrieben. Nach Zellkultur mit Applikation von tangentialer Traktion wurde eine verstärkte, positive Immunreaktivität von anti- α -SMA sowie der verschiedenen Integrine beobachtet. Mittels Transmissionselektronenmikroskopie wurden nach Zellkultur mit Applikation von tangentialer Traktion Myofibroblasten, Fibroblasten und Gliazellen beobachtet. Ohne Zellkultur fanden sich überwiegend Hyalozyten und Gliazellen sowie einzelne Myofibroblasten.

- VI. Es ließen sich Unterschiede in der Zellzusammensetzung von prämakulären Membranen von Augen mit idiopathischem Macular pucker und Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie nachweisen. Gemeinsam war jedoch bei beiden Erkrankungen das Vorkommen von transdifferenzierten Myofibroblasten. Immunzytochemische Marker für fibrotische Prozesse wie anti- α -SMA, anti-Integrin $\alpha\beta 3$ und anti-Galectin wurden in Augen mit idiopathischem Macular pucker und in Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie positiv gefunden. Im elektronenmikroskopischen Befund dominierten bei Augen mit idiopathischem Macular pucker Myofibroblasten, Fibroblasten und Hyalozyten, welche in dicke Glaskörperkollagenstränge eingebettet waren. Bei Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie fanden sich überwiegend retinale Pigmentepithelzellen sowie Myofibroblasten umgeben von neu gebildetem Kollagen.
- VII. Diese Arbeit zeigt eine variable Zusammensetzung prämakulärer Zellen und Glaskörperkollagen auf der vitrealen Seite der ILM bei chirurgisch exzidiertem, prämakulären Gewebe von großen idiopathisch durchgreifenden Makulaforamina mit einem Durchmesser von mehr als 400 μm . Die prämakulären Zellen zeigten eine positive Immunreaktion für neurotrophe Wachstumsfaktoren und Makrogliazellmarker. Daraus lässt sich vermuten, dass neurotrophe Faktoren, die von aktivierten Müller-Zellen innerhalb der prämakulären Zellzusammensetzung produziert werden, zur Regeneration des Makulaforamens beitragen könnten. Daneben unterstreicht die positive Immunreaktivität von Marker für retinale Ganglienzellen das mögliche Potenzial der neuronalen Umgestaltung der menschlichen Netzhaut.

Schlussfolgerungen und Ausblick

Die im Rahmen dieser Habilitation gewonnenen Erkenntnisse über Vorkommen und Charakteristik prämakulären Gewebes bei Augen mit Makulaschichtforamen und Pseudofoamen wird als Basis einer neuer klinisch-pathologischen Studie mit Langzeitverlauf verwendet. Durch Einschluss einer hohen Patientenanzahl und strikter Abgrenzung der einzelnen Entitäten untereinander (Makulaschichtforamen, Pseudofoamen und iERM-Foveoschisis) anhand morphologischer Kriterien in der SD-OCT sollen variable klinische Verläufe der einzelnen Formen identifiziert und verglichen werden. Ziel soll sein, mittels prognostischer, in der SD-OCT gefundener Faktoren selektiv Patienten auszuwählen, die von einer Vitrektomie mit Entfernung prämakulären Gewebes und ILM besonders profitieren.

Zudem ist geplant, die pharmakologische Testung therapeutischer Substanzen im Zellkulturmodell durchzuführen. Als Alternative zur operativen Makulachirurgie soll hierbei der Ansatz einer medikamentösen Fibrose-hemmenden Therapie zur Behandlung traktiver Makulopathien fortgeführt und ausgebaut werden.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die Ergebnisse neue Erkenntnisse zum pathophysiologischen Verständnis zur Entstehung traktiver Makulopathien liefern und durch weitere anknüpfende Untersuchungen eine Verbesserung des operativen Vorgehens erzielt werden kann.

6 Zusammenfassung

Diese vorliegende, kumulative Habilitationsschrift beschreibt Vorkommen und Charakteristika prämakulären Gewebes im Bereich der vitreoretinalen Grenzfläche in Korrelation zu morphologischen Spektral-Domain optischer Kohärenztomographie (SD-OCT) Befunden bei traktiven Makulopathien wie dem Makulaschichtforamen und dem Pseudoforamen der Makula, der Foveoschisis bei idiopathischer epiretinaler Membran (iERM-Foveoschisis), dem vollständig durchgreifenden Makulaforamen, dem idiopathischen Macular pucker sowie der proliferativen Vitreoretinopathie. Neben der differentialdiagnostischen Abgrenzung der nicht-vollständig durchgreifenden Makuladefekte untereinander war die Verbesserung des pathophysiologischen Verständnisses zur Entstehung traktiver Makulopathien und sich daraus ableitende neue Therapieoptionen von zentraler Bedeutung. Da die Pathogenese traktiver Makulopathien in engem Zusammenhang mit altersbedingten Veränderungen des Glaskörpers steht, haben die hier vorgelegten Forschungsarbeiten einen hohen klinischen Stellenwert vor dem Hintergrund des steigenden Altersdurchschnitts in der Bevölkerung.

Traktive Makulopathien stellen in der Retinologie eine Gruppe von erworbenen Netzhauterkrankungen dar. Durch morphologische Veränderungen im Bereich der Stelle des schärften Sehens führen sie bei erkrankten Patienten zu Visusverlust und Verzerstehen. Charakteristisch weisen alle Augen mit traktiven Makulopathien eine traktive prämakuläre Membran an der vitreoretinalen Grenzfläche auf. Auch unter dem Begriff epiretinale Membran (ERM) bekannt, stellt sie eine pathologische, präretinale Ansammlung und Proliferation von Zellen und Kollagenfasern dar. Durch die Ausbildung antero-posteriorer oder tangential gerichteter vitreomakulärer Zugkräfte können prämakuläre Membranen zu schweren epiretinalen, intra- und subretinalen Pathologien führen. Therapeutisch ist ein operatives, mikrochirurgisches Vorgehen mit Entfernung der prämakulären Membranen und der ILM von der Oberfläche der Netzhaut je nach Ausprägung und Schweregrad die einzig mögliche Behandlungsoption. Dabei ist die Lösung der bestehenden Traktionen das Hauptziel dieses sogenannten „Peelings“ während der vitreoretinalen Makulachirurgie.

Die vorgelegten ausgesuchten Originalarbeiten umfassen klinische Untersuchungen mittels SD-OCT sowie klinisch-pathologische Korrelationen von chirurgisch exzidierten Präparaten prämakulären Gewebes, die mittels Flachschnittpräparation für die Phasen- und

Zusammenfassung

Interferenzmikroskopie, Immunhistologie und Transmissionselektronenmikroskopie aufbereitet wurden. Auch die Entwicklung eines erfolgreich etablierten Zellkulturmodells ist gelungen.

Arbeit A ist eine klinisch-pathologische Korrelation von 25 chirurgisch exzidierten Präparaten prämakulären Gewebes und ILM bei 11 Augen mit Makulaschichtforamen und 14 Augen mit Pseudofoamen. Mittels Serienschnitttechnik wurden Flachpräparate für immunhistologische, ultrastrukturelle, interferenz- und phasenkontrastmikroskopische Untersuchungen angefertigt. Die Bewertung der morphologischen Eigenschaften wurde mit den Befunden der hochauflösenden SD-OCT korreliert. Die Ergebnisse ergaben in prämakulären Membranen der Pseudofoamen dicht gepackte mehrschichtige Zellverbände aus kontraktiven Myofibroblasten, die eine stark positive Anfärbung von glattmuskulärem Aktin (α -SMA) als Marker für Myofibroblasten-artige Transdifferenzierung aufwiesen. Bei Makulaschichtforamen dominierten GFAP-positive sowie CD45- und CD64-positive Zellen, welche sich elektronenmikroskopisch als dicht gepackte Zellproliferationen aus Fibroblasten und Hyalozyten überwiegend eingebettet in dichte Stränge von Glaskörperkollagen darstellten.

In **Arbeit B** wurde ausschließlich Gewebe der Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation von 10 Augen mit Makulaschichtforamen für die direkte Korrelation immunzytochemischer und ultrastruktureller Ergebnisse durch kombinierte, fluoreszenz- und immunelektronenmikroskopische Analyse unter Verwendung eines Immunnanogold-Partikels (Fluoronangold®) aufgearbeitet. Die Ergebnisse der korrelativen Mikroskopie zeigten eine positive Immunreaktivität des Gliazellmarkers anti-GFAP sowie der Hyalozytenmarkern anti-CD45 und anti-CD64 in allen Präparaten. Mittels Transmissionselektronenmikroskopie ließen sich Fibroblasten und Hyalozyten als Hauptzelltypen identifizieren. Myofibroblasten waren nur in einzelnen Präparaten zu finden. Daneben stellte sich natives Glaskörperkollagen neben neugebildetem Kollagen als vorherrschender Kollagentyp dar.

Arbeit C stellt eine klinische, retrospektive SD-OCT basierte Untersuchung von 34 Augen mit Makulaschichtforamen, welche ausschließlich eine atypische Makulaschichtforamen-assoziierte prämakuläre Proliferation aufweisen, dar. Mittels SD-OCT wurde die Zunahme der Proliferation, intraretinale Veränderungen sowie die zentrale Netzhautdicke im Zeitverlauf beurteilt und mit klinischen Daten korreliert. Diese Arbeit konnte zeigen, dass Makulaschichtforamen mit atypischer Makulaschichtforamen-assoziiertes prämakulärer

Zusammenfassung

Proliferation eine Zunahme der Fläche dieser Proliferation im Zeitverlauf aufwiesen und eine signifikante Korrelation mit der Zunahme des maximalen Lochdiameters bestand. Darüberhinaus korrelierten die Zunahme des maximalen horizontalen Lochdiameters und das Vorkommen von Photorezeptorschichtdefekten mit einer schlechteren best-korrigierten Sehschärfe.

In der klinisch-pathologischen Korrelation in **Arbeit D** wurde bei 4 Augen mit Makulaschichtforamen, 3 Augen mit durchgreifendem Makulaforamen und 3 Augen mit Macular pucker das Vorkommen einer gemeinsamen, atypischen prämakulären Proliferation in der SD-OCT mittels Immunfluoreszenz-/ und Elektronenmikroskopie untersucht und miteinander verglichen. Die Ergebnisse zeigten bei allen untersuchten Augen eine atypische prämakuläre Proliferation, welche sich in der SD-OCT als eine dicke, isoreflektive Schicht darstellte. Zusätzlich konnte in der SD-OCT bei allen Augen eine traktive prämakuläre Membran gefunden werden. Immunzytochemisch waren die anti-Vimentin und anti-GS Färbungen stark positiv, ebenso wie anti-GFAP Färbungen. Positive Immunfärbungen für anti-CRALBP und für die Hyalozyten-Zellmarker anti-CD45 und anti-CD64 waren ebenfalls in allen Augen nachweisbar. Im Gegensatz dazu war der Myofibroblastenmarker anti- α -SMA selten positiv. Ultrastrukturell zeigte die prämakuläre Proliferation unabhängig von der bestehenden Diagnose eine identisch dicht gepackte Zellzusammensetzung und Zellcharakteristik im Sinne eines einheitlichen Zell-Phänotyps mit ähnlichen, intrazellulären, glialen Merkmalen. Myofibroblasten fanden sich nicht. Die Mehrheit der Präparate zeigte analog zum SD-OCT neben der prämakulären Proliferation auch Anteile einer traktiven prämakulären Membran.

In **Arbeit E** wird die vitreomakuläre Grenzfläche immunzytochemisch und ultrastrukturell bei 5 Augen iERM-Foveoschisis (früher als „macular pseudohole with stretched edges“ oder „tractional lamellar macular hole“ bezeichnet) untersucht und mit 5 Augen mit bekannter myoper Foveoschisis verglichen sowie mit dem klinischen Verlauf und morphologischen Charakteristika in der SD-OCT korreliert. Die Befunde der Augen mit iERM-Foveoschisis und myoper Foveoschisis zeigten bei beiden Formen in allen Präparaten eine positive Reaktion auf anti- α -SMA, anti-IBA1 und anti-GFAP. Ultrastrukturell fanden sich bei beiden Entitäten Myofibroblasten-ähnliche Zellen, Fibroblasten und Hyalozyten sowie Kollagenstränge, natives Glaskörperkollagen, neu synthetisiertes Kollagen ebenso wie fibrilläre Kollagenpräzipitate. In Augen mit iERM-Foveoschisis zeigte sich die ILM mit einer regulären Struktur. Ultrastrukturell war nur in Augen mit myoper Foveoschisis die ILM

Zusammenfassung

partiell rarefiziert und an der retinalen Seite stark zerklüftet. Darüberhinaus zeigten sich nur bei einigen Präparaten der myopen Foveoschisis große retinale Zellfragmente und Anteile der retinalen Nervenfaserschicht an der ILM.

In **Arbeit F** erfolgte die Kultivierung prämakulärer Membranen von 16 Augen mit idiopathischem Macular pucker mittels Etablierung eines neu erarbeiteten Traktionsmodells. Dabei wurden morphologische und ultrastrukturelle Eigenschaften untersucht und mit 16 nicht-kultivierten, prämakulären Membranen verglichen. Als Ergebnis ließen sich Myofibroblasten, Hyalozyten sowie Makro- und Mikrogliazellen als Hauptzelltypen beschreiben. Die Korrelation von Zeitraffer-Mikroskopie mit der Immunfluoreszenzmikroskopie identifizierte, schnelle, unidirektional gerichtete, klein rundliche Zellen als Mikrogliazellen durch positive Immunreaktivität von anti-IBA1. Sich langsam bewegende, länglich große Zellen wurden als α -smooth-muscle actin (α -SMA)-positive Myofibroblasten beschrieben. Nach Zellkultur mit Applikation von tangentialer Traktion wurde eine verstärkte, positive Immunreaktivität von anti- α -SMA sowie der verschiedenen Integrine beobachtet. Mittels Transmissionselektronenmikroskopie wurden nach Zellkultur mit Applikation von tangentialer Traktion Myofibroblasten, Fibroblasten und Gliazellen beobachtet. Ohne Zellkultur fanden sich überwiegend Hyalozyten und Gliazellen sowie einzelne Myofibroblasten.

Die **Arbeit G** stellt einen morphologischen und ultrastrukturellen Vergleich 28 chirurgisch exzidiertes, prämakulärer Membranen von 16 Augen mit idiopathischem Macular pucker und 12 Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie dar. Von besonderer Bedeutung war die Untersuchung neuer immunzytochemischer Marker, welche bei fibrotischen Vorgängen mitwirken. Die Ergebnisse zeigten eine unterschiedliche zelluläre und extrazelluläre Morphologie. Gemeinsam war jedoch das Vorkommen von transdifferenzierten Myofibroblasten. Es zeigte sich nämlich in allen Präparaten eine positive Reaktivität der immunozytochemischen Marker anti- α -SMA, anti-Integrin α v β 3 und anti-Galectin. Ultrastrukturell dominierten bei Augen mit idiopathischem Macular pucker Myofibroblasten, Fibroblasten und Hyalozyten. Bei Augen mit proliferativer Vitreoretinopathie waren retinale Pigmentepithelzellen sowie Myofibroblasten die vorherrschenden Zelltypen.

Die **Arbeit H** stellt eine klinisch-pathologische Fallserie chirurgisch exzidiertes Präparate aus prämakulärem Gewebe und innerer Grenzmembran von 24 Augen von 24 Patienten mit großem durchgreifenden Makulaforamen mit einem Durchmesser von mehr als 400 μ m dar. Mittels Immunzytochemie zeigte sich eine positive Immunreaktivität der neurotrophen

Zusammenfassung

Wachstumsfaktoren anti-GDNF und anti-CNTF innerhalb der Zellzusammensetzung prämakulären Gewebes von chirurgisch exzidierten Präparaten. Aufgrund der gefundenen Ko-Lokalisationen dieser neurotrophen Faktoren mit den Gliazellmarkern anti-GFAP und anti-Vimentin wird die Hypothese aufgestellt, dass aktivierte Makrogliazellen wie Müller-Zellen neurotrophe Faktoren produzieren. Mit Hilfe der Transmissionselektronenmikroskopie zeigte sich in der Arbeit eine große Vielfalt der Zellzusammensetzung von prämakulären Zellen, die als Makrogliazellen und Hyalozyten auf der vitrealen Seite der ILM und nicht innerhalb des Kollagennetzwerks der ILM selbst identifiziert wurden.

Zusammenfassend lässt sich aus den hier vorgestellten, diesem Habilitationsprojekt zugrunde liegenden Originalarbeiten ableiten, dass die Abgrenzung von Augen mit Makulaschichtforamen und Pseudofoamen der Makula auf Grund ihres klinischen Verlaufs und unterschiedlicher Formen prämakulären Gewebes in der SD-OCT weiterhin empfohlen wird. Zudem ist eine neue Entität, die iERM-Foveoschisis beschrieben. Die atypische prämakuläre Proliferation kommt überwiegend bei Makulaschichtforamen vor, kann sich selten aber auch in ähnlicher Zellzusammensetzung bei anderen traktiven Makulopathien zeigen. Das Ausmaß der zellulären Kontraktilität prämakulären Gewebes ist nach aktuell gewonnenen Erkenntnissen für den Therapieerfolg nach vitreoretinaler Chirurgie prognostisch von wesentlicher Bedeutung.

Bei Augen mit idiopathischem Macular pucker und proliferativer Vitreoretinopathie gibt es durch das Vorkommen von transdifferenzierten Myofibroblasten bei beiden Erkrankungen Hinweise auf zelluläre Gemeinsamkeiten in der Pathogenese. Somit unterstützen die Ergebnisse der hier vorgestellten Arbeiten den Ansatz der medikamentösen Fibrose-hemmenden Behandlung und sollen darüberhinaus helfen neue Strategien zur pharmakologischen Hemmung von Fibrose zu entwickeln. Das Vorkommen neurotropher Wachstumsfaktoren in Ko-Lokalisation mit Gliazellen sowie der Nachweis retinaler Ganglienzellmarker in prämakulärem Gewebe bei großen durchgreifenden Makulaforamina lässt vermuten, dass aktivierte Müller-Zellen neurotrophe Wachstumsfaktoren produzieren und das mögliche Potenzial des neuronalen Remodellings der menschlichen Netzhaut in Zukunft an Bedeutung gewinnen wird.

7 Fremdliteraturverzeichnis zum Thema

1. Abu-El-Asrar AM, Missotten L, Geboes K. Expression of myofibroblast activation molecules in proliferative vitreoretinopathy epiretinal membranes. *Acta Ophthalmol.* 2011; 89(2):e115-21.
2. Alge CS, Priglinger SG, Kook D, et al. Galectin-1 influences migration of retinal pigment epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016; 47(1):415-426.
3. Argüeso P, Panjwani N. Focus on molecules: galectin-3. *Exp Eye Res.* 2011; 92(1):2-3.
4. Arias JD, Hoyos AT, Alcántara B, Sanchez-Avila RM, Arango FJ, Galvis V. Plasma rich in growth factors for persistent macular hole: a pilot study. *Retin Cases Brief Rep.* 2019 Dec31.
5. Bae K, Lee SM, Kang SW, Kim ES, Yu SY, Kim KT. Atypical epiretinal tissue in full-thickness macular holes: pathogenic and prognostic significance. *Br J Ophthalmol.* 2018 Apr;bjophthalmol-2017-311810.
6. Bishop PN. Vitreous as a Substrate for Vitreolysis. *Dev Ophthalmol.* 2009; 7-19.
7. Bottoni F, Deiro AP, Giani A, Orini C, Cigada M, Staurenghi G. The Natural History of Lamellar Macular Holes: A Spectral Domain Optical Coherence Tomography Study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2013; 251(2):467-475.
8. Bringmann A, Iandiev I, Pannicke T, Wurm A, Hollborn M, Wiedemann P, Osborne NN, Reichenbach A. Cellular signaling and factors involved in Müller cell gliosis: neuroprotective and detrimental effects. *Prog Retin Eye Res.* 2009 ; 28:423–451. Epub 2009 Aug 4.
9. Bringmann A, Pannicke T, Grosche J, Francke M, Wiedemann P, Skatchov SN, Osborne NN, Reichenbach A. Müller cells in the healthy and diseased retina. *Prog Retin Eye Res.* 2006 Jul;25(4):397-424. Epub 2006 Jul 12. Review.
10. Bringmann, A, Wiedemann P. Muller Glial Cells in Retinal Disease. *Ophthalmologica.* 2012; 227(1):1-19.
11. Brooks HL Jr. Macular hole surgery with and without internal limiting membrane peeling. *Ophthalmology.* 2000;107:1939–1948. discussion 1948-1949.
12. Dimopoulos S, William A, Voykov B, Ziemssen F, Bartz-Schmidt KU, Spitzer MS. Anatomical and visual outcomes of autologous thrombocyte serum concentrate in the treatment of persistent full-thickness idiopathic macular hole after ILM peeling with brilliant blue G and membrane blue dual. *Acta Ophthalmol.* 2017 Aug;95(5):e429-e430.
13. Duker JS, Kaiser PK, Binder S, et al. The international vitreomacular traction study group classification of vitreomacular adhesion, traction, and macular hole. *Ophthalmology.* 2013; 120(12):2611–2619.
14. Foos RY. Nonvascular Proliferative Extraretinal Retinopathies. *Am J Ophthalmol.* 1978; 86(5):723-725.

Fremdliteraturverzeichnis zum Thema

15. Frasson M, Picaud S, Léveillard T, Simonutti M, Mohand-Said S, Dreyfus H, Hicks D, Sabel J. Glial cell line-derived neurotrophic factor induces histologic and functional protection of rod photoreceptors in the rd/rd mouse. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1999;40:2724 – 2734.
16. Gandorfer A, Haritoglou C, Scheler R, Schumann R, Zhao F, Kampik A. Residual cellular proliferation on the internal limiting membrane in macular pucker surgery. *Retina.* 2012;32(3):477-485.
17. Gandorfer A, Haritoglou C, Scheler R, Schumann R, Zhao F, Kampik A. Residual cellular proliferation on the internal limiting membrane in macular pucker surgery. *Retina.* 2012 Mar;32(3):477-485.
18. Gandorfer A, Rohleder M, Grosselfinger S, et al. Epiretinal pathology of diffuse diabetic macular edema associated with vitreomacular traction. *Am J Ophthalmol.* 2005; 139:638-652.
19. Gandorfer A, Rohleder M, Kampik A. Epiretinal pathology of vitreomacular traction syndrome. *Br J Ophthalmol.* 2002; 86:902-909.
20. Gass JD. Lamellar Macular Hole: A Complication of Cystoid Macular Edema after Cataract Extraction: A Clinicopathologic Case Report. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1975; 73:231-250.
21. Gaudric A, Aloulou Y, Tadayoni R, Massin P. Macular pseudoholes with lamellar cleavage of their edge remain pseudoholes. *Am J Ophthalmol.* 2013;155(4):733–742.
22. Gaudric A, Massin P, Paques M, Santiago PY, Guez JE, Le Gargasson JF, Mundler O, Drouet L. Autologous platelet concentrate for the treatment of full-thickness macular holes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1995; 233:549–554.
23. Govetto A, Dacquay Y, Farajzadeh M, Platner E, Hirabayashi K, Hosseini H, et al. Lamellar macular hole: two distinct clinical entities? *Am J Ophthalmol.* 2016 Apr; 164: 99–109.
24. Green WR. The macular hole: histopathologic studies. *Arch Ophthalmol.* 2006; 124:317-321.
25. Gupta P, Yee KMP, Garcia P, et al. Vitreoschisis in macular diseases. *Br J Ophthalmol.* 2011; 95(3):376–380.
26. Haouchine B, Massin P, Tadayoni R, Erginay A, Gaudric A. Diagnosis of Macular Pseudoholes and Lamellar Macular Holes by Optical Coherence Tomography. *Am J Ophthalmol.* 2004; 138(5):732-739.
27. Harada C, Harada T, Quah HM, Maekawa F, Yoshida K, Ohno S, Wada K, Parada LF, Tanaka K. Potential role of glial cell line-derived neurotrophic factor receptors in Müller glial cells during light-induced retinal degeneration. *Neuroscience.* 2003;122(1):229-235.
28. Haritoglou C, Reiniger IW, Schaumberger M, Gass CA, Priglinger SG, Kampik A. Five year follow-up of macular hole surgery with peeling of the internal limiting membrane: update of a prospective study. *Retina.* 2006;26(6):618-622.
29. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, et al. Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling. *Am J Pathol.* 2012; 180(4):1340-1355.

Fremdliteraturverzeichnis zum Thema

30. Hinz B. It has to be the α v: myofibroblast integrins activate latent TGF- β 1. *Nat Med.* 2013; Dec;(12):1567-1568.
31. Hinz B. Myofibroblasts. *Exp Eye Res.* 2016; 142:56-70.
32. Hinz B. The myofibroblasts: paradigm for a mechanically active cell. *J Biomech.* 2010; 43:146-155.
33. Hiscott PS, Grierson I, Trombetta CJ, et al. Retinal and epiretinal glia - an immunohistochemical study. *Br J Ophthalmol.* 1984; 68:698-707.
34. Hubschman JP, Govetto A, Spaide RF, Schumann R, Steel D, Figueroa MS, Sebag J, Gaudric A, Staurengi G, Haritoglou C, Kadonosono K, Thompson JT, Chang S, Bottoni F, Tadayoni R. Optical coherence tomography-based consensus definition for lamellar macular hole. *Br J Ophthalmol.* 2020 Dec;104(12):1741-1747. Epub 2020 Feb 27.
35. Itoh Y, Levison AL, Kaiser PK, Srivastava SK, Singh RP, Ehlers JP. Prevalence and characteristics of hyporeflective preretinal tissue in vitreomacular interface disorders. *Br J Ophthalmol.* 2016 Mar; 100(3): 399–404.
36. Johnson MW. Perifoveal vitreous detachment and its macular complications. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 2005; 103:537-567.
37. Johnson MW. Posterior Vitreous Detachment: Evolution and Role in Macular Disease. *Retina.* 2012; 32 Suppl 2, S174-178.
38. Kampik A, Green WR, Michels RG, et al. Ultrastructural features of progressive idiopathic epiretinal membrane removed by vitreous surgery. *Am J Ophthalmol.* 1980; 90:797-809.
39. Kampik A, Kenyon KB, Michels RG, et al. Epiretinal and vitreous membranes: comparative study of 56 cases. *Arch Ophthalmol.* 1981; 99:1445-1454.
40. Kase S, Saito W, Mori S, Saito M, Ando R, Dong Z, Suzuki T, Noda K, Ishida S. Clinical and histological evaluation of large macular hole surgery using the inverted internal limiting membrane flap technique. *Clin Ophthalmol.* 2016;11:9-14.
41. Klingberg F, Chow ML, Koehler A, et al. Prestress in the extracellular matrix sensitizes latent TGF-beta1 for activation. *J Cell Biol.* 2014; 207: 283-97.
42. Krebs I, Glittenberg C, Zeiler F, Binder S. Spectral domain optical coherence tomography for higher precision in the evaluation of vitreoretinal adhesions in exudative age-related macular degeneration. *Br J Ophthalmol.* 2011; 95:1415-1418.
43. Lansing MB, Glaser BM, Liss H, Hanham A, Thompson JT, Sjaarda R, Gordon AJ. The effect of pars plana vitrectomy and transforming growth factor-beta 2 without epiretinal membrane peeling on full-thickness macular holes. *Ophthalmology.* 1993;100(6):868–871–discussion871–872.
44. Lesnik Oberstein SY, Lewis GP, Dutra T, Fisher SK. Evidence that neurites in human epiretinal membranes express melanopsin, calretinin, rod opsin and neurofilament protein. *Br J Ophthalmol.* 2011;95(2):266-272. Epub 2010 Oct 22.

Fremdliteraturverzeichnis zum Thema

45. Lewis GP, Betts KE, Sethi CS, Charteris DG, Lesnik-Oberstein SY, Avery RL, Fisher SK. Identification of ganglion cell neurites in human subretinal and epiretinal membranes. *Br J Ophthalmol.* 2007;Sep;91(9):1234-1238. Epub 2006 Nov 15.
46. Lois N, Burr J, Norrie J, Vale L, Cook J, McDonald A, Boachie C, Ternet L, McPherson G. Internal limiting membrane peeling versus no peeling for idiopathic full-thickness macular hole: a pragmatic randomized controlled trial. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(3):1586-1592.
47. Messmer EM, Heidenkummer HP, Kampik A. Ultrastructure of epiretinal membranes associated with macular holes. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 1998; 236:248-254.
48. Michalewska Z, Michalewski J, Adelman RA, Nawrocki J. Inverted internal limiting membrane flap technique for large macular holes. *Ophthalmology.* 2010;117(10):2018–2025.
49. Michalewska Z, Michalewski J, Dulciewska-Cichecka K, Adelman RA, Nawrocki J. Temporal inverted internal limiting membrane flap technique versus classic inverted internal limiting membrane flap technique: a comparative study. *Retina.* 2015;35(9):1844–1850.
50. Michalewska Z, Michalewski J, Odrobina D, Nawrocki J. Non-Full-Thickness Macular Holes Reassessed with Spectral Domain Optical Coherence Tomography. *Retina.* 2012; 32(5):922-929.
51. Nawroth R, Hartmann A, Wild P, et al. EMMPRIN (CD147). A prognostic and potentially therapeutic marker in urothelial cancer. *Pathologe.* 2010; 31 Suppl 2:251-4.
52. Ng Ch, Cheung N, Wang JJ, et al. Prevalence and risk factors for epiretinal membranes in a multi-ethnic United States population. *Ophthalmology.* 2011; 118:694-699.
53. O'Hare M, Roberts LM, Lord JM. Biological activity of recombinant Ricinus communis agglutinin A chain produced in Escherichia coli. *FEBS Lett.* 1992; 299(3):209-212.
54. Pang CE, Maberley DA, Freund KB, et al. Lamellar hole-associated epiretinal proliferation: a clinicopathologic correlation. *Retina.* 2016; 36:1408-1412.
55. Pang CE, Spaide RF, Freund KB. Comparing functional and morphologic characteristics of lamellar macular holes with and without lamellar hole-associated epiretinal proliferation. *Retina.* 2015; 35:720-726.
56. Pang CE, Spaide RF, Freund KB. Epiretinal Proliferation Seen in Association with Lamellar Macular Holes: A Distinct Clinical Entity. *Retina.* 2014; 34(8):1513-1523.
57. Parolini B, Schumann RG, Cereda MG, Haritoglou C, Pertile G. Lamellar Macular Hole: A Clinicopathologic Correlation of Surgically Excised Epiretinal Membranes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011; 52(12):9074-9083.
58. Parravano M, Oddone F, Boccassini B, et al. Functional and Structural Assessment of Lamellar Macular Holes. *Br J Ophthalmol.* 2013; 97(3):291-296.
59. Priglinger CS, Obermann J, Szober CM, et al. Epithelial-to-Mesenchymal Transition of RPE Cells In Vitro Confers Increased β 1,6-N-Glycosylation and Increased Susceptibility to Galectin-3 Binding. *PLoS One.* 2016; 11(1):e0146887.

Fremdliteraturverzeichnis zum Thema

60. Priglinger CS, Szober CM, Priglinger SG, et al. Galectin-3 induces clustering of CD147 and integrin- β 1 transmembrane glycoprotein receptors on the RPE cell surface. *PLoS One*. 2013; 8(7):e70011.
61. Rahimy E, MCCannel CA. Impact of internal limiting membrane peeling on macular hole reopening. A systematic review and meta-analysis. *Retina*. 2016;36:679–687.
62. Reibaldi M, Parravano M, Varano M, et al. A. Foveal Microstructure and Functional Parameters in Lamellar Macular Hole. *Am J Ophthalmol*. 2012; 154(6):974-980 e971.
63. Roth AM, Foos, RY. Surface Wrinkling Retinopathy in Eyes Enucleated at Autopsy. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol*. 1971; 75(5):1047-1058.
64. Rungger-Brändle E, Dosso AA, Leuenberger PM. Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000; 41:1971-1980.
65. Schumann RG, Eibl KH, Zhao F, et al. Immunocytochemical and ultrastructural evidence of glial cells and hyalocytes in internal limiting membrane specimens of idiopathic macular holes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011; 52:7822-7834.
66. Schumann RG, Gandorfer A, Eibl KH, Henrich PB, Kampik A, Haritoglou C. Sequential epiretinal membrane removal with internal limiting membrane peeling in brilliant blue G-assisted macular surgery. *Br J Ophthalmol*. 2010 Oct;94(10):1369-1372.
67. Schumann RG, Gandorfer A, Ziada J, et al. Hyalocytes in epiretinal membranes: a correlative light and electron microscopic study. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2014; 252: 1887-1894.
68. Schumann RG, Hagenau F, Haritoglou C, et al. Cells at the vitreoretinal interface in small full-thickness macular holes. *Retina*. 2015 Jun;35(6):1158-1165.
69. Schumann RG, Hagenau F, Haritoglou C, Wolf A, Schaumberger MM, Kampik A, Gandorfer A. Cells at the vitreoretinal interface in small full-thickness macular holes. *Retina*. 2015;35(6):1158-1165.
70. Schumann RG, Rohleder M, Schaumberger MM, Haritoglou C, Kampik A, Gandorfer A. Idiopathic macular holes: ultrastructural aspects of surgical failure. *Retina*. 2008;28(2):340-349.
71. Sebag J, Gupta P, Rosen RR, et al. Macular holes and macular pucker: the role of vitreoschisis as imaged by optical coherence tomography/scanning laser ophthalmoscopy. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 2007; 105:121-129.
72. Sebag J, Niemeyer M, Koss MJ. III.B. Anomalous Posterior Vitreous Detachment and Vitreoschisis. *Springer New York*, New York, NY. 2014; Seiten 241–263.
73. Sebag J, Wang MY, Nguyen D, et al. Vitreopapillary adhesion in macular diseases. *Trans Am Ophthalmol Soc*. 2009; 107:35-46.
74. Sebag J. Anomalous posterior vitreous detachment: a unifying concept in vitreo-retinal disease. *Graefes Arch Clin Exp*. 2004; 242:690-698.
75. Sebag J. Vitreochisis. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2008; 246:329–332.

Fremdliteraturverzeichnis zum Thema

76. Sebag J., Balazs EA. Morphology and Ultrastructure of Human Vitreous Fibers. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1989; 30(8):1867-1871.
77. Shiode Y, Morizane Y, Matoba R, Hirano M, Doi S, Toshima S, Takahashi K, Araki R, Kanzaki Y, Hosogi M, et al. The role of inverted internal limiting membrane flap in macular hole closure. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017; 58(11):4847-4855. doi: 10.1167/iovs.17-21756.
78. Smiddy WE, Maguire AM, Green WR, et al. Idiopathic epiretinal membranes: Ultrastructural characteristics and clinicopathologic correlation. *Ophthalmology.* 1989; 96:811-820.
79. Spiteri Cornish K, Lois N, Scott NW, Burr J, Cook J, Boachie C, Tadayoni R, la Cour M, Christensen U, Kwok AK. Vitrectomy with internal limiting membrane peeling versus no peeling for idiopathic full-thickness macular hole. *Ophthalmology.* 2014;121(3):649-655. Epub 2013 Dec 4.
80. Uchino E, Uemura A, Ohba N. Initial Stages of Posterior Vitreous Detachment in Healthy Eyes of Older Persons Evaluated by Optical Coherence Tomography. *Arch Ophthalmol.* 2001; 119(10):1475-1479.
81. Weller M, Esser P, Heimann K, Wiedemann P. Retinal microglia: a new cell in idiopathic proliferative vitreoretinopathy? *Exp Eye Res.* 1991; 53(2):275-281.
82. Wertheimer C, Siedlecki J, Kook D, et al. EGFR inhibitor Gefitinib attenuates posterior capsule opacification in vitro and in the ex vivo human capsular bag model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2015; Mar; 253:409-417.
83. Witkin AJ, Ko TH, Fujimoto JG, et al. Redefining Lamellar Holes and the Vitreomacular Interface: An Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography Study. *Ophthalmology.* 2006; 113(3):388-397.
84. Wormstone IM. Posterior capsule opacification: a cell biological perspective. *Exp Eye Res.* 2002; 74:337-347.
85. Worthington JJ, Klementowicz JE, Travis MA. TGF β : a sleeping giant awoken by integrins. *Trends Biochem Sci.* 2011; 36(1):47-54.
86. Zeng HY, Green WR, Tso MO. Microglial activation in human diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol.* 2008; 126:227-232.
87. Zhang L, Li X, Yang X, Shen Y, Wu M. Internal limiting membrane insertion technique combined with nerve growth factor injection for large macular hole. *BMC Ophthalmol.* 2019 Dec 10;19(1):247.
88. Zhao F, Gandorfer A, Haritoglou C, et al. Epiretinal cell proliferation in macular pucker and vitreomacular traction syndrome: Analysis of flat-mounted internal limiting membrane specimens. *Retina.* 2013; 33:77-88.
89. Zhou Y, Hagood JS, Lu B, Merryman WD, Murphy-Ullrich JE. Thy-1-integrin α v β 5 interactions inhibit lung fibroblast contraction-induced latent transforming growth factor- β 1 activation and myofibroblast differentiation. *J Biol Chem.* 2010; 285(29):22382-22393.

8 Schriftenverzeichnis

- Angabe des Impact Factors (IF) der betreffenden Zeitschrift für das Erscheinungsjahr der Publikation (abgerufen bei InCites Journal Citation Reports, <https://jcr-clarivate-com.emedien.ub.uni-muenchen.de/JCRJournalHomeAction.action#>)
- Zugehörigkeit der Publikationen gekennzeichnet zu „Top-Journale“ (Q1) (innerhalb der ersten 25% der bestgereihten Journale), „Standard-Journale“ (Q2, Q3) (zwischen 25% - 75% der bestgereihten Journale) oder „sonstige Journale“ (Q4) (innerhalb der letzten 25% der bestgereihten Journale) (abgerufen unter <https://www.scimagojr.com>)
- Erst- oder Letztautorenschaft durch Fettdruck hervorgehoben

Gesamtanzahl der Originalarbeiten:

Gesamt: **19** (IF 53,407)

Top-Journale 13 (IF 44,544)

Standard-Journale 5 (IF 8,163)

Sonstige Journale 1 (IF 0,700)

Originalarbeiten mit Erst- oder Letztautorenschaften:

Gesamt: **9** (IF 25,560)

Top-Journale: 6 (IF 19,919)

Standard-Journale: 3 (IF 5,641)

Sonstige Journale: 0

1. Originalarbeiten als Erst- oder Letztautorin

1. **Vogt D**, Haritoglou C, Mautone L, Hagenau F, Guenther SR, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Premacular cells as source of neurotrophic factors in idiopathic macular holes. *Curr Eye Res.* **2020** Nov;45(11):1395-1402. doi: 10.1080/02713683.2020.1752389. Epub 2020 May 12.

Impact factor: 2,424

Standard Journal (Q2)

2. **Vogt D**, Stefanov S, Guenther SR, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Comparison of vitreomacular interface changes in myopic foveoschisis and idiopathic epiretinal membrane foveoschisis. *Am J Ophthalmol.* **2020** Sep;217:152-161. doi: 10.1016/j.ajo.2020.04.023. Epub 2020 Apr 29.

Impact factor: 5,258

Top-Journal (Q1)

3. Guenther SR, , Schumann RG, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG, **Vogt D**. Comparison of surgically excised premacular membranes in eyes with macular pucker and proliferative vitreoretinopathy. *Curr Eye Res.* **2019** Mar;44(3):341-349. doi: 10.1080/02713683.2018.1542006. Epub 2019 Jan 9.

Impact factor: 1,754

Standard Journal (Q2)

4. Schumann RG, Hagenau F, Guenther SR, Wolf A, Priglinger SG, **Vogt D**. Premacular cell proliferation profiles in tangential traction vitreo-maculopathies suggest a key role for hyalocytes. *Ophthalmologica.* **2019**;242(2):106-112. doi: 10.1159/000495853. Epub 2019 Apr 4.

Impact factor: 1,926

Top Journal (Q1)

5. **Vogt D**, Vielmuth F, Wertheimer C, Hagenau F, Guenther SR, Wolf A, Spindler V, Priglinger SG, Schumann RG. Premacular membranes in tissue culture. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* **2018** Sep;256(9):1589-1597. doi: 10.1007/s00417-018-4033-6. Epub 2018 Jun 21.

Impact factor: 2,250

Top Journal (Q1)

6. **Compera D**, Schumann RG, Cereda MG, Acquistapace A, Lita V, Priglinger S, Staurenghi G, Bottoni F. Progression of lamellar hole-associated epiretinal proliferation and retinal changes during long-term follow-up. *Br J Ophthalmol.* **2018** Jan;102(1):84-90. doi: 10.1136/bjophthalmol-2016-310128. Epub 2017 May 25.

Impact factor: 3,615

Top Journal (Q1)

Schriftenverzeichnis

7. **Compera D**, Entchev E, Haritoglou C, Mayer WJ, Hagenau F, Ziada J, Kampik A, Schumann RG. Correlative microscopy of lamellar hole-associated epiretinal proliferation. *J Ophthalmol.* **2015**;2015:450212. doi: 10.1155/2015/450212. Epub 2015 Sep 3.

Impact factor: 1,463

Standard Journal (Q2)

8. **Compera D**, Entchev E, Haritoglou C, Scheler R, Mayer WJ, Wolf A, Kampik A, Schumann RG. Lamellar hole-associated epiretinal proliferation in comparison to epiretinal membranes of macular pseudoholes. *Am J Ophthalmol.* **2015** Aug;160(2):373-384.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2015.05.010. Epub 2015 May 15.

Impact factor: 3,831

Top Journal (Q1)

9. Schumann RG*, **Compera D***, Schaumberger MM, Wolf A, Fazekas C, Mayer WJ, Kampik A, Haritoglou C. Epiretinal membrane characteristics correlate with photoreceptor layer defects in lamellar macular holes and macular pseudoholes. *Retina* **2015** Apr;35(4):727-35. doi: 10.1097/IAE.0000000000000375.*these authors contributed equally to this work.

Impact factor: 3,039

Top Journal (Q1)

2. Originalarbeiten als Ko-Autorin

10. Deiters V, **Vogt D**, Guenther SR, Kortuem K, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Real-life results of anti-VEGF treatment in fellow eyes with nAMD. *Ophthalmologe*. **2021** Aug 5. doi: 10.1007/s00347-021-01473-7. Online ahead of print.

Impact factor: 1,059 (Jahr 2020)

Standard Journal (Q3)

11. Hagenau F, Nobl M, **Vogt D**, Schworm B, Siedlecki J, Kreutzer T, Luft N, Priglinger S. Highly concentrated autologous platelet-rich plasma restores foveal anatomy in lamellar macular hole surgery. *Klin Monbl Augenheilkd*. **2021** May 17. doi: 10.1055/a-1409-9268. Online ahead of print.

Impact factor: 0,700 (Jahr 2020)

Sonstiges Journal (Q4)

12. Faes L, Rosenblatt A, Schwartz R, Touhami S, Ventura CV, Chatziralli IP, Ruiz-Medrano J, **Vogt D**, Savastano A, Ruiz-Garcia H, Pohlmann D, Loewenstein A; International Retinal Collaborative. Overcoming barriers of retinal care delivery during a pandemic-attitudes and drivers for the implementation of digital health: a global expert survey. *Br J Ophthalmol*. **2020** Oct 16:bjophthalmol-2020-316882. doi: 10.1136/bjophthalmol-2020-316882. Online ahead of print.

Impact factor: 4,638

Top Journal (Q1)

13. Hagenau F, **Vogt D**, Ziada J, Guenther SR, Haritoglou C, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Vitrectomy for diabetic macular edema: optical coherence tomography criteria and pathology of the vitreomacular interface. *Am J Ophthalmol*. **2019** Apr;200:34-46. doi: 10.1016/j.ajo.2018.12.004. Epub 2018 Dec 14.

Impact factor: 4,031

Top Journal (Q1)

14. dell'Omo R, **Vogt D**, Schumann RG, De Turrís S, Virgili G, Staurenghi G, Cereda M, Costagliola C, Priglinger SG, Bottoni F. The Relationship Between Blue-Fundus Autofluorescence and Optical Coherence Tomography in Eyes With Lamellar Macular Holes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. **2018** Jun 1;59(7):3079-3087. doi: 10.1167/iovs.18-24379.

Impact factor: 3,812

Top Journal (Q1)

15. Ziada J, Hagenau F, **Compera D**, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Vitrectomy for intermediate age-related macular degeneration: a clinicopathologic correlation. *Retina*. **2018** Mar;38(3):531-540. doi: 10.1097/IAE.0000000000001573.

Impact factor: 3,815

Top Journal (Q1)

Schriftenverzeichnis

16. Wertheimer C, Eibl-Lindner KH, **Compera D**, Kueres A, Wolf A, Docheva D, Priglinger SG, Priglinger C, Schumann RG. A cell culture technique for human epiretinal membranes to describe cell behavior and membrane contraction in vitro. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. **2017** Nov;255(11):2147-2155. doi: 10.1007/s00417-017-3767-x. Epub 2017 Aug 7.

Impact factor: 2,249

Top Journal (Q1)

17. Schumann RG, Langer J, **Compera D**, Luedke K, Schaumberger MM, Kreutzer T, Mayer WJ, Wolf A, Priglinger SG. Assessment of intravitreal ocriplasmin treatment for vitreomacular traction in clinical practice. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. **2017** Nov;255(11):2081-2089. doi: 10.1007/s00417-017-3747-1. Epub 2017 Jul 28.

Impact factor: 2,249

Top Journal (Q1)

18. Mayer WJ, Fazekas C, Schumann R, Wolf A, **Compera D**, Kampik A, Haritoglou C. Functional and morphological correlations before and after video-documented 23-gauge pars plana vitrectomy with membrane and ILM peeling in patients with macular pucker. *J Ophthalmol*. **2015**;2015:297239. doi: 10.1155/2015/297239. Epub 2015 Sep 3.

Impact factor: 1,463

Standard Journal (Q2)

19. Schumann RG, Wolf A, Mayer WJ, **Compera D**, Hagenau F, Ziada J, Kampik A, Haritoglou C. Pathology of internal limiting membrane specimens following intravitreal injection of ocriplasmin. *Am J Ophthalmol*. **2015** Oct;160(4):767-78. doi: 10.1016/j.ajo.2015.06.020. Epub 2015 Jun 29.

Impact factor: 3,831

Top Journal (Q1)

3. Kasuistiken/ Case Reports

1. **Vogt D**, Freissinger S, Schumann RG, Priglinger SG, Wolf A. Central posterior lens capsule used instead of intervted ILM flap: a clinic-pathological case report. *Retin Cases Brief Rep*. **2020** Jun 15. doi: 10.1097/ICB.0000000000001030. Online ahead of print.

Impact factor: 0,790 (Jahr 2019)

Standard Journal (Q3)

2. Siedlecki J, Vounotrypidis E, **Vogt D**, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Lamellar hole-associated epiretinal proliferation presenting with perifoveal exsudative vascular anomalous complex. *Am J Ophthalmol Case Rep*. **2019** Apr 4;14:112-116. doi: 10.1016/j.ajoc.2019.03.008. eCollection 2019 Jun.

Impact factor: 0,785

Standard Journal (Q3)

3. **Compera D**, Cereda MG, Schumann RG, Bottoni F. Development and progression of a lamellar macular hole with lamellar hole-associated epiretinal proliferation. *Retin Cases Brief Rep* **2017** Jun 23. doi: 10.1097/ICB.0000000000000605. [Epub ahead of print]

Impact factor: 0,770

Standard Journal (Q3)

4. Übersichtsartikel/ Reviews

1. **Vogt D**, Wachtlin J, Priglinger SG, Schumann RG. Lamellar macular holes: Morphological characteristics and treatment success. *Ophthalmologe*. **2019** Nov;116(11):1020-1025. doi: 10.1007/s00347-019-00966-w. Review. German.

Impact factor: 0,742

Standard Journal (Q3)

2. **Vogt D**, Bottoni F, Priglinger SG, Schumann RG. [Lamellar macular holes with hyporefective epiretinal proliferation: OCT diagnostics and clinical course]. *Ophthalmologe*. **2017** Dec;114(12):1100-1109. doi: 10.1007/s00347-017-0597-5. Review. German.

Impact factor: 0,842

Standard Journal (Q3)

3. Schumann RG, **Vogt D**, Haritoglou C, Hagenau F, Siedlecki J, Wolf A, Priglinger SG. [Histopathological correlation of epiretinal tissue in lamellar macular holes and macular pseudoholes]. *Ophthalmologe*. **2017** Dec;114(12):1110-1116. doi: 10.1007/s00347-017-0592-x. Review. German.

Impact factor: 0,842

Standard Journal (Q3)

4. **Compera D**, Priglinger S, Schumann RG. [Efficacy and Safety Profile of Ocriplasmin Treatment - an Update] *Klin Monbl Augenheilk*. 2019 Jun;236(6):791-797. doi: 10.1055/s-0043-106855. Epub 2017 Jun 9.

Impact factor: 0,882

Standard Journal (Q3)

5. Buchkapitel/ Book chapters

1. **Vogt, D.** (2021) Diagnostik und Therapie makulärer Blutungen. Kapitel 7 Netzhaut. *Standardabläufe in der Augenheilkunde* (1. Auflage). Hrsg. Hirneiß C, Mackert MJ, Messmer EM, Priglinger SG. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, Germany 2021. Seite 142.
2. **Vogt, D.** Herold, T. (2021) Diagnostik und Therapie von Glaskörperblutungen. Kapitel 7 Netzhaut. *Standardabläufe in der Augenheilkunde* (1. Auflage). Hrsg. Hirneiß C, Mackert MJ, Messmer EM, Priglinger SG. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, Germany 2021. Seite 143-145.
3. **Vogt, D.** Hirneiß CW. (2021) Glaukom operativ in Kapitel 3 Glaukom. *Standardabläufe in der Augenheilkunde* (1. Auflage). Hrsg. Hirneiß C, Mackert MJ, Messmer EM, Priglinger SG. Georg Thieme Verlag KG, Stuttgart, Germany 2021. Seite 80-88.

6. Sonstige Veröffentlichungen

Beiträge für Fachzeitschriften (nicht gelistet in PubMed)

1. Deiters V, **Vogt D.** Vergleich von Partneraugen im Real-Life-Setting – Langzeitergebnisse der intravitrealen Therapie bei neovaskulärer AMD. *Ophthalmologische Nachrichten*. DOG Kongressausgabe / Pharma und Medtech 10/2020; Seite 20-21.
2. **Vogt D,** Wolf A. Modifizierter Makula-Flap aus Linsenkapselmateriale - Ergebnisse einer immunzytochemischen Analyse - Verschluss eines persistierenden Makulaforamens nach Ablatio retinae. *Ophthalmologische Nachrichten*. DOG Kongressausgabe 1 09/2019; Seite 18.
3. **Vogt D.** Unerlässlich für die Diagnose - Myope Foveoschisis: Optische Kohärenztomographie und histopathologische Korrelation. *Ophthalmologische Nachrichten*. 12/2018; Seite 20.
4. **Vogt D.** Retinale Blutflussänderungen als Prädiktoren - OCT-Angiographie bei idiopathischer epiretinaler Gliose nach Makulachirurgie. *Ophthalmologische Nachrichten*. DOG Kongressausgabe 2 09/2017; Seite 19-20.
5. **Compera D.** Makulaschichtforamen im Langzeitverlauf - Veränderungen des epiretinalen Gewebes korrelieren mit retinalem Defekt. *Ophthalmologische Nachrichten*. DOG Kongressausgabe 2 10/2016; Seite 17.
6. **Compera D.** Epiretinales Gewebe bei Makulaschichtforamen. *Augenspiegel*. Januar 2016. Seite 28-31.
7. **Compera D,** Schumann RG. Material der Glaskörperwand mit Zelleinlagerungen: Makulaschichtforamen-assoziierte epiretinale Proliferation: Vorkommen und Charakterisierung. *Ophthalmologische Nachrichten*. DOG Kongressausgabe 1 09/2015; Seite 9-10.
8. **Compera D,** Schumann RG. Schicht- und Pseudofovenen der Makula – Epiretinale Membranen: Charakterisierung mittels SD-OCT und korrelativer Mikroskopie. *Ophthalmologische Nachrichten*. DOG Kongressausgabe 1 09/2014; Seite 14-15.
9. **Compera D,** Schuman RG. Schicht- und Pseudofovenen der Makula –Hochauflösende OCT und klinisch-pathologischer Verlauf im retrospektiven Vergleich. *Ophthalmologische Nachrichten*. DOG Kongressausgabe, Special Bilddiagnostik 09/2013; Seite 14.

Schriftenverzeichnis

Zitierfähige Abstracts/ Kongressbeiträge

1. **Vogt D**, Stefanov S, Guenther SR, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Comparison of vitreomacular interface changes in myopic foveoschisis and idiopathic epiretinal membrane foveoschisis. *EURETINA Virtual Congress 2020*. 02.-04. October 2020.
2. **Vogt D**, Deiters V, Günther SR, Siedlecki J, Kortuem KU, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Langzeitergebnisse der intravitrealen Therapie bei neovaskulärer AMD: Vergleich von Partneraugen im real-life Setting. *Virtueller Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2020*. 08.-11. Oktober 2020. German Medical Science.
3. Günther SR, **Vogt D**, Hagenau F, Zaytseva Y, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Klinisch-pathologischer Vergleich von idiopathischen und traumatischen Makulaforamina. *117. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2019*; Berlin: German Medical Science 2019;SA 17-01.
4. **Vogt D**, Hagenau F, Guenther SR, Schumann RG, Wolf A. Immunzytochemische Untersuchung eines modifizierten Makula-Flaps aus Linsenkapselmaterial zum Verschluss eines persistierenden Makulaforamens nach Ablatio retinae. *117. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2019*; Berlin: German Medical Science 2019;PFR 05-07.
5. **Vogt D**, Liegl R, Stefanov S, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Makulachirurgie bei myoper Foveoschisis: Optische Kohärenztomographie und histopathologische Korrelation. *116. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2018*; Bonn: German Medical Science 2018;Do23-01; Ophthalmologe (2018) 114(Suppl 2): 7.
6. **Vogt D**, dell’Omo R, Schumann RG, Cereda M, Priglinger SG, Costagliola C, Staurenghi G, Bottoni F. Vergleich von optischer Kohärenztomographie und Fundusautofluoreszenz in Augen mit Makulaschichtforamen. *116. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2018*; Bonn: German Medical Science 2018;Do23-02.
7. Hagenau F, **Vogt D**, Mautone L, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. ILM-flap-Technik in der Makulaforamen-Chirurgie: Vor- und Nachteile aus histopathologischer Sicht. *116. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2018*; Bonn: German Medical Science 2018;Fr07-02.
8. **Vogt D**, Liegl R, Stefanov S, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Macular surgery in myopic foveoschisis: Optical coherence tomography findings and histopathological correlation. *18th EURETINA Congress 2018*, Vienna, Austria, 08:36 Fr21.9.
9. **Compera D**, Hagenau F, Wolf A, Priglinger S, Schumann RG. Autofluorescent pigment cells in hyporeflective epimacular tissue surgically removed from eyes with traction maculopathies. *115. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2017*; Berlin: German Medical Science 2017;SaF03-07; Ophthalmologe (2017) 114(Suppl 2): 7.

Schriftenverzeichnis

10. **Compera D**, Hagenau F, Wolf A, Mayer WJ, Priglinger SG, Schumann RG. Analysis of intraretinal circulation by OCT-angiography in eyes with macular pucker before and after surgery. *115. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2017*; Berlin German Medical Science 2017;PSa05-04; Ophthalmologie (2017) 114(Suppl 2): 7.
11. Hagenau F, **Compera D**, Günther S, Vielmuth F, Spindler V, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Vergleich epimakulärer Membranen bei diabetischer Retinopathie mit idiopathischen fibrozellulären Membranen vor und nach Zellkultur. *115. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2017*; Berlin: German Medical Science 2017;FrF03-06; Ophthalmologie (2017) 114(Suppl 2): 7.
12. Schumann RG, **Compera D**, Hagenau F, Wolf A, Mayer WJ, Priglinger SG. Identifizierung von Übergangsformen bei der Klassifikation von Schichtforamen und Pseudoforamen der Makula. *115. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2017*; Berlin: German Medical Science 2017;SaF01-07; Ophthalmologie (2017) 114(Suppl 2): 7.
13. Haritoglou C, **Compera D**, Wolf A, Schumann RG. ILM-flap in der Chirurgie des Makulaforamens – Ist ein neuronales „remodeling“ möglich? *115. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2017*; Berlin: German Medical Science 2017;PFR05-10; Ophthalmologie (2017) 114(Suppl 2): 7.
14. Mautone L, Hagenau F, **Compera D**, Banyai D, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Vorkommen von Poren der inneren Grenzmembran bei verschiedenen vitreomakulären Erkrankungen häufiger als bisher angenommen. *115. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2017*; Berlin: German Medical Science 2017;DoF05-07; Ophthalmologie (2017) 114(Suppl 2): 7.
15. Langer J, Luedke K, **Compera D**, Schaumberger MM, Kreutzer T, Mayer WJ, Priglinger SG, Schumann RG. Assessment of intravitreal ocriplasmin treatment for vitreomacular traction in clinical practice. *115. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2017*; Berlin: German Medical Science 2017;PDo11-09; Ophthalmologie (2017) 114(Suppl 2): 7.
16. **Compera D**, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Autofluorescent pigment cells in hyporeflexive premacular tissue surgically removed from eyes with traction maculopathies. *17th EURETINA Congress 2017*, Barcelona, Spain, 15.42 Do7.9.
17. Hagenau F, **Compera D**, Ziada J, Guenther SR, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. The vitreomacular interface in eyes with diabetic macular edema correlated with SD-OCT classification. *17th EURETINA Congress 2017*, Barcelona, Spain, 10.06 Do7.9.
18. Schumann RG, Mautone C, Haritoglou C, **Compera D**, Hagenau F, Wolf A, Priglinger SG. Histopathology of the ILM Flap and its potential of neuronal remodeling in full-thickness macular holes. *17th EURETINA Congress 2017*, Barcelona, Spain, 09.00 Do7.9.

Schriftenverzeichnis

19. Mautone L, **Compera D**, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Histopathologie des ILM Flap und sein Potential für neurologisches Remodelling. *30. Jahrestagung der Retinologischen Gesellschaft (RG) 2017*; Stuttgart, V52SA24.06.
20. **Compera D**, Hagenau A, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Identifizierung von Übergangsformen bei der Klassifikation von Schichtforamina und Pseudoforamina der Makula. *30. Jahrestagung der Retinologischen Gesellschaft (RG) 2017*; Stuttgart, V50SA24.06.
21. Guenther SR, **Compera D**, Wolf A, Hagenau F, Priglinger SG, Schumann RG. Analyse verschiedener Immunhistologische Fibrosemarker bei idiopathischer epiretinale Gliose und proliferativer Vitreoretinopathie. *30. Jahrestagung der Retinologischen Gesellschaft (RG) 2017*; Stuttgart, V53SA24.06.
22. Schumann RG, **Compera D**, Langer J, Luedtke K, Kreutzer T, Mayer WJ, Wolf A, Priglinger SG. Real-life Daten der Ocriplasmin Behandlung bei VMT. *30. Internationaler Kongress der Deutschen Ophthalmochirurgen (DOC) 2017*, Nürnberg, DOCWK3.17 SA 13.5.
23. **Compera D**, Langer J, Mayer WJ, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Epiretinale Gewebe und retinale Veränderungen bei Makulaschichtforamen. *30. Internationaler Kongress der Deutschen Ophthalmochirurgen (DOC) 2017*, Nürnberg, DOCWK3.5 SA 13.5.
24. Hagenau F, **Compera D**, Ziada J, Günther S, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Die vitreoretinale Grenzfläche bei diabetischem Makulädem korreliert mit SD-OCT Kriterien. *30. Internationaler Kongress der Deutschen Ophthalmochirurgen (DOC) 2017*, Nürnberg, DOCWK3.14 SA 13.5.
25. **Compera D**, Wertheimer C, Eibl-Lindner KH, Vielmuth F, Spindler V, Priglinger SG, Schumann RG. Surgically excised epiretinal membranes in cell culture. *2nd FLOREtina International Congress 2017*; Florence, Italy, OS1-01; 27.4.
26. Mautone L, Haritoglou C, **Compera D**, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Histopathology of the ILM flap and its potential of neuronal remodelling in full-thickness macular holes. *2nd FLOREtina International Congress 2017*; Florence, Italy, OS1-08; 27.4.
27. Hagenau F, **Compera D**, Guenther S, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. The vitreomacular interface in eyes with diabetic macular edema correlated with SD-OCT classification. *2nd FLOREtina International Congress 2017*; Florence, Italy, OM1-14; 27.4.
28. Langer J, **Compera D**, Mayer WJ, Priglinger SG, Schumann RG. Complications in vitreomacular traction eyes following ocriplasmin injection. *2nd FLOREtina International Congress 2017*; Florence, Italy, OM2-21; 29.4.
29. **Compera D**. Development and Progression in lamellar macular hole-associated epiretinal proliferation. *Societa Italiana della Retina (SIR) Congresso annual 2017*; Venezia, Italy, Fr17.02.
30. **Compera D**, Langer J, Mayer WJ, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Epiretinale Gewebe und retinale Veränderungen bei Augen mit Makulaschichtforamen. *114. Jahrestagung der*

Schriftenverzeichnis

- Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2016*; Berlin: German Medical Science 2016; Doc 16dogSA12-02.
31. **Compera D**, Wolf A, Wertheimer C, Vielmuth F, Eibl-Lindner KH, Spindler V, Priglinger SG, Schumann RG. Immunzytochemischer Vergleich von chirurgisch Exzidierten und kultivierten epiretinalen Membranen. *114. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2016*; Berlin: German Medical Science 2016; Doc 16dogSol1-05.
 32. **Compera D**, Langer J, Mayer WJ, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. Epiretinal tissue and retinal changes in lamellar holes. *16th EURETINA Congress 2016*, Copenhagen, Denmark, 09.24 Do8.9.
 33. **Compera D**, Wolf A, Wertheimer C, Eibl-Lindner KH, Vielmuth F, Priglinger SG, Schumann RG. Immunocytochemical comparison of surgically excised and cell-cultured epiretinal membranes. *16th EURETINA Congress 2016*, Copenhagen, Denmark, 14.44 Do8.9.
 34. Wertheimer C, Eibl-Lindner KH, **Compera D**, Kueres A, Wolf A, Priglinger SG, Schumann RG. The human macular pucker in vitro. *16th EURETINA Congress 2016*, Copenhagen, Denmark, 14.42 Do8.9.
 35. Wolf A, **Compera D**, Schumann RG, Priglinger C, Kueres A, Priglinger SG, Wertheimer C. The human proliferative vitreoretinopathy membrane in vitro. *16th EURETINA Congress 2016*, Copenhagen, Denmark, 15.18 Do8.9.
 36. Langer J, **Compera D**, Mayer WJ, Kreutzer T, Priglinger SG, Schumann RG. Complications in vitreomacular traction eyes following ocriplasmin injection. *16th EURETINA Congress 2016*, Copenhagen, Denmark, ePoster, Fr9.9.
 37. Wertheimer C, Eibl-Lindner KH, **Compera D**, Kueres A, Wolf A, Docheva D, Popov C, Priglinger A, Priglinger SG, Schumann RG. Neues Zellkulturmodell für chirurgisch gewonnene epiretinale Membranen bei Macular pucker. *29. Jahrestagung der Retinologischen Gesellschaft (RG) 2016*; Berlin, V77SA18.06.
 38. Wertheimer C, Eibl-Lindner KH, **Compera D**, Kueres A, Wolf A, Docheva D, Popov C, Priglinger C, Priglinger SG, Schumann RG. Neues Zellkulturmodell für chirurgisch gewonnene epiretinale Membranen bei idiopathischem Macular pucker. *29. Internationaler Kongress der Deutschen Ophthalmochirurgen (DOC) 2016*, Nürnberg, DOCWK3.10, SA11.6.
 39. **Compera D**, Kreutzer TC, Kortüm K, Mayer WJ, Wolf A, Priglinger S, Schumann RG. Characteristics of lamellar macular hole-associated epiretinal proliferation. *1st FLOREtina International Congress 2015*; Florence, Italy, M01:20.12.
 40. **Compera D**, Kreutzer T, Kortüm K, Mayer WJ, Wolf W, Kampik A, Schumann RG. Optische Kohärenztomographie von Makulaschichtforamen-assoziiertes epiretinaler Proliferation. *113. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2015*; Berlin: German Medical Science 2015; Doc 15dogDO.01.10.

Schriftenverzeichnis

41. **Compera D**, Entchev E, Haritoglou C, Wolf A, Mayer WJ, Kampik A, Schumann RG. Charakterisierung epiretinler Membranen bei Schichtforamen und Pseudofoamen der Makula mittels SD-OCT und korrelativer Mikroskopie. *112. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2014*; Berlin: German Medical Science 2014; Doc 14dogDo11-04.
42. Schumann RG, **Compera D**, Wolf A, Liegl R, Kampik A, Haritoglou C. Klinisch-pathologische Korrelation bei ILM-Peeling nach Jetrea®-Injektion. *112. Jahrestagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) 2014*; Berlin: German Medical Science 2014; Doc 14dogDo11-07.
43. Schumann RG, **Compera D**, Schaumberger MM, Wolf A, Mayer WJ, Kampik A, Haritoglou C. Hochauflösende optische Kohärenztomographie und histopathologische Korrelation bei Makulaschichtforamen und Pseudofoamen. *Bayerische Ophthalmologische Gesellschaft (BayOG) 2013*; München: SA29.06.
44. **Compera D**, Haritoglou C, Schaumberger MM, Mayer WJ, Kampik A, Schumann RG. Pseudofoamen und Schichtforamen der Makula – Klinischer Verlauf und postoperative Ergebnisse im retrospektiven Vergleich. *Bayerische Ophthalmologische Gesellschaft (BayOG) 2013*; München: SA29.06.

Verzeichnis bisher abgehaltene Vortragsveranstaltungen

1. **Vogt D.** Der besondere Fall. *Eyecademy Novartis* **2021**; Sa23.01.
2. **Vogt D.** Myope und idipathische ERM-assoziierte Foveoschisis: Wo liegt der Unterschied? *Münchener Ophthalmologische Gesellschaft (MOG)* **2020**; SA05.12.
3. **Vogt D.** Foveoschisis bei idiopathischer epiretinale Gliose und pathologischer Myopie. *Klinik-interne Fortbildung der Augenklinik der LMU München.* **2020**;Fr17.07.
4. **Vogt D.** Foveoschisis bei idiopathischer epiretinale Gliose und pathologischer Myopie. *FABIO-Kurs und Kongress (Forum für angewandte Bildgebung in der Augenheilkunde) der Augenklinik der LMU München.* **2020.** Sa08.06.
5. **Vogt D.** OCT Normalbefund und OCT-Angiographie. *FABIO-Kurs und Kongress (Forum für angewandte Bildgebung in der Augenheilkunde) der Augenklinik der LMU München.* **2020.** Do06.06.
6. **Vogt D.** Interaktive Falldemonstration. *FABIO-Kurs und Kongress (Forum für angewandte Bildgebung in der Augenheilkunde) der Augenklinik der LMU München.* **2020.** Do06.06.
7. **Vogt D.** Und das ist prämakulär. *FABIO-Kurs und Kongress (Forum für angewandte Bildgebung in der Augenheilkunde) der Augenklinik der LMU München.* **2018.**Sa21.04.
8. **Vogt D.** Traktive Makulopathien. *FABIO-Kurs und Kongress (Forum für angewandte Bildgebung in der Augenheilkunde) der Augenklinik der LMU München.* **2018.**Sa21.04.
9. **Vogt D.** OCT Normalbefund und Autofluoreszenz. *FABIO-Kurs und Kongress (Forum für angewandte Bildgebung in der Augenheilkunde) der Augenklinik der LMU München.* **2018.** Fr20.04.
10. **Vogt D.** Progressionsparameter bei trockener AMD. *RETINA-Kolleg (Consilium diagnosticum) der Augenklinik der LMU München.* **2018**; Mi31.01.
11. **Vogt D.** OCT-Angiographie nach Makulachirurgie. *Münchener Ophthalmologische Gesellschaft (MOG)* **2017**; SA09.12.
12. **Compera D.** Makulaschichtforamen: Epiretinale Gewebe und retinale Veränderungen. *Klinik-interne Fortbildung der Augenklinik der LMU München.* **2017**;Fr06.05.
13. **Compera D.** Development and Progression of lamellar hole-associated epiretinal proliferation. *S.I.R (Societa Italiana della Retina).* **2017**; Fr17.02.
14. **Compera D.** Epiretinale Membranen: Neue Erkenntnisse aus der Organkultur. *Münchener Ophthalmologische Gesellschaft (MOG)* **2016**; SA10.12.
15. **Compera D.** OCT-Angiographie bei Pigmentepithelabhebung bei altersbedingter Makuladegeneration. *RETINA-Kolleg (Consilium diagnosticum) der Augenklinik der LMU München.* **2016**; Mi23.11.

Schriftenverzeichnis

16. **Compera D.** OCT-Angiographie: Neue Perspektiven im klinischen Alltag. *Klinik-interne Fortbildung der Augenlinik der LMU München.* **2016**; Fr16.09.
17. **Compera D.** Makulaschichtforamen: Prädiktive Faktoren im OCT. *Münchener Ophthalmologische Gesellschaft (MOG)* **2015**; SA06.12.
18. **Compera D,** Schumann RG. Kultivierung epiretinaler Membranen zur Isolierung und Charakterisierung von transdifferenzierten Myofibroblasten für die Entwicklung pharmakologischer Therapieansätze. *Klinik-interne Fortbildung der Augenlinik der LMU München.* **2015**; Mi02.12.
19. **Compera D.** Pseudofoamen und Makulaschichtforamen in der optischen Kohärenztomographie. *Klinik-interne Fortbildung der Augenlinik der LMU München.* **2015**;Fr13.11.
20. **Compera D.** Charakterisierung epiretinaler Membranen bei Schichtfoamen und Pseudofoamen mittels SD-OCT und korrelativer Mikroskopie. *Klinik-interne Fortbildung der Augenlinik der LMU München.* **2014**; Mi19.02.
21. **Compera D.** Schichtfoamen und Pseudofoamen der Makula - Klinischer Verlauf und postoperative Ergebnisse im retrospektiven Vergleich. *Klinik-interne Fortbildung der Augenlinik der LMU München.* **2013**; Mi25.09.

9 Anhang

Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 3.1** Hochauflösende Spektral-Domain optische Kohärenztomographie (SD-OCT) Aufnahme eines gesundes rechten Auges eines 30-jährigen Mannes. (modifiziert nach Abbildung 3.1., aus Compera, Denise (2015). *Schichtforamen und Pseudofovenen der Makula: hochauflösende optische Kohärenztomographie und klinischer Verlauf im retrospektiven Vergleich*. Dissertation, LMU München: Medizinische Fakultät).....11
- Abbildung 4.1** (A) Makulaschichtforamen mit „atypischer Makulaschichtforamen-assoziierten prämakulären Proliferation“ (LHEP): (Oben links, oben rechts) Spektral-Domain optische Kohärenztomographie Aufnahme einer 70-jährigen weiblichen Patientin mit Makulaschichtforamen und LHEP (Pfeilspitzen); (Mitte links) Positive Immunreaktivität des Hyalozytenmarkers anti-CD64 (rot) in Darstellung mit der Zellkernfärbung 4',6-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blau); (Mitte rechts) Positive Immunreaktivität des Gliazellmarkers anti-GFAP (grün) in Darstellung mit der DAPI-Zellkernfärbung (blau); (Unten links) Die Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme der LHEP zeigt eine dicht gepackte Zellproliferation von Fibroblasten und Hyalozyten. (Unten rechts) Die Detail-Aufnahme des dargestellten Rechtecks aus der Abbildung unten links zeigt Fibroblasten, welche durch ein reichlich vorhandenes raues endoplasmatisches Retikulum (schwarzer Pfeil) gekennzeichnet sind.....27
- Abbildung 4.2** Interferenzmikroskopie, Zellkernfärbung mit 4',6-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blau) und immunzytochemische Färbung der Makulaschichtforamen-assoziierten epiretinalen Proliferation (LHEP) von Augen mit Makulaschichtforamen. (A) Positive Immunmarkierung mit den Hyalozytenmarkern anti-CD45 (rot) und anti-CD64 (rot) (B) Positives Immunostaining von anti-GFAP (grün) und anti-Kollagen Typ I (anti-col-I) (rot). (C) Immunmarkierung mit anti- α -SMA (rot) und anti-Kollagen Typ II (anti-col-II) (rot). (D) Negativkontrollprobe mit positiver Zellkernfärbung, aber keiner spezifischen Immunreaktivität der Zellproliferation.28
- Abbildung 4.3** Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen der Makulaschichtforamen-assoziierten epiretinalen Proliferation (LHEP) unter Verwendung eines Immunnanogold-Partikels (Fluoronangold®). (A) Dichte Zellagglomeration von Fibroblasten und Hyalozyten, welche auf einem dicken Glaskörperkollagenstrang (Pfeil) liegen. (B) Innere Grenzmembran (Sternchen) mit feinen Glaskörperkollagenablagerungen (Pfeil) und dünnen Zellausläufern auf der vitrealen Seite. (C, D) Natives Glaskörperkollagen (Pfeil) mit GFAP-positiven Fibroblasten, wie die Immunnanogoldfärbung (Pfeilspitze) zeigt. (E) Die kleinen schwarzen Punkte (Pfeil) stellen

Anhang

Immunonanogold-Partikel dar, die Kollagen Typ II des Glaskörperkollagens färben. (F) Die Negativkontrolle zeigt eine dichte epiretinale Zellproliferation von fibroblastenartigen Zellen.29

Abbildung 4.4 (A) Die beiden Boxplots zeigen die Fläche der Makulaschichtforamen-assoziierten epiretinalen Proliferation (LHEP) von Augen mit Makulaschichtforamen bei Erstvorstellung (baseline) und zum Zeitpunkt der letzten Nachbeobachtung (last follow-up) dar. Die Zunahme der LHEP-Fläche zwischen baseline und letztem Follow-up war statistisch signifikant (Wilcoxon-Test, $P < 0,001$). (B) Die beiden Boxplots zeigen den maximalen horizontalen Lochdiameter, gemessen auf Höhe der intraretinalen Spaltbildung des Defekts bei Erstvorstellung (baseline) und zum Zeitpunkt der letzten Nachuntersuchung (last follow-up). Es zeigte sich eine signifikante Zunahme des maximalen horizontalen Loch-Diameters im Nachbeobachtungszeitraum (Wilcoxon-Test, $P < 0,004$). (C) Die Boxplots veranschaulichen den Zusammenhang zwischen best-korrigierter Sehschärfe (BCVA) und maximalem horizontalen Loch-Diameter bei Erstvorstellung und zum Zeitpunkt des letzten Follow-ups. Die Patienten wurden in drei Gruppen eingeteilt: diejenigen, die während der Nachbeobachtung eine Verschlechterung der BCVA zeigten; diejenigen, die eine stabile BCVA hatten und jene, die im Nachbeobachtungszeitraum einen Anstieg der BCVA aufwiesen. Die Werte des maximalen horizontalen Loch-Diameters wurden aus der Differenz zwischen der Werte von letztem Follow-up und Erstvorstellung berechnet und sind auf der y-Achse angezeigt. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der Abnahme der BCVA und der Zunahme des maximalen horizontalen Loch-Diameters sowie zwischen Zunahme des BCVA und Abnahme des maximalen horizontalen Loch-Diameters (Mann Whitney Test, $P = 0,027$).31

Abbildung 4.5 Das prämakuläre Gewebe präsentiert sich als zweischichtiger Komplex von sowohl atypischer prämakulärer Proliferation als auch traktiver prämakulärer (epiretinale) Membran. a Interferenzmikroskopie (in Kombination mit DAPI-Zellkernfärbung) der Flachschnittpräparation der prämakulären Proliferation (Sternchen) und der traktiven prämakulären Membran (Bereich zwischen den Pfeilspitzen). b Transmissionselektronenmikroskopie Aufnahmen mit Darstellung der prämakulären Proliferation (Sternchen) und der traktiven prämakulären Membran (Pfeilspitzen), die das Glaskörperkollagen umschließen (Pfeil). c Gleicher Bereich wie im unteren Rechteck von b, welches die nicht-tractive prämakuläre Proliferation (Sternchen) bei höherer Vergrößerung darstellt. d Gleicher Bereich wie im oberen Rechteck von b, welches die traktive prämakuläre Membran mit Hyalozyten (Pfeilköpfe) und dazwischenliegendem Glaskörperkollagen (Pfeil) bei höherer Vergrößerung zeigt.33

Abbildung 4.6 Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen von Patienten mit (A-D) myoper Foveoschisis (mFS) und (G-J) Foveoschisis bei idiopathischer epiretinale Membran (iERM-FS). (A) Innere Grenzmembran (ILM) (Sternchen). (B) Glaskörperkollagenstränge (Pfeil) und fibrilläre Kollagenpräzipitate (FLSC) (Pfeilspitze). (C) Vergrößerung von FLSC. (D) Myofibroblastenähnliche Zelle (Stern). (E) Fibroblast (Stern). (F) Mehrschichtige fibrozelluläre Zellkomposition und ILM

Anhang

(Stern). (G) Myofibroblasten-ähnliche Zellen (4-zackiger Stern) bei Augen mit iERM-Foveoschisis, die auf dicken Kollagensträngen (Pfeil) zu finden sind, welche einer ILM aufliegen (Stern). (H) ILM (Sternchen) eingebettet in Glaskörperkollagen (Pfeil) (I) FLSC (Pfeilspitze) und Glaskörperkollagen (Pfeil). (J) Vergrößerung von FLSC. (K, L) Hyalozyt (Stern) neben Glaskörperkollagensträngen.34

Abbildung 4.7 Prämakuläre Membran in der Zellkultur unter Anwendung tangentialer Traktion. (a1,a2) Spektral-Domain optische Kohärenztomographie-Aufnahmen einer 73-jährigen Frau mit idiopathischem Macular Pucker. (b) Das Interferenzmikroskopische Bild zeigt die flach ausgebreitete Membran, welche für die Zeitraffermikroskopie mittels feinen Nadeln aufgespannt wurde. (c) Positive Immunmarkierung mit anti-IBA1, einem Mikrogliamarker. (d) Darstellung der Zellkernfärbung 4',6'-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blau) in Überlagerung mit positiver Immunmarkierung von anti-IBA1 und negativer Immunmarkierung von anti- GFAP.....45

Abbildung 4.8 (Links) Transmissionselektronenmikroskopische Aufnahmen prämakulärer Membranen ohne Zellkultur. (a) Hyalozyten auf dicken Kollagensträngen. (b) Hyalozyt (Pfeil) auf Kollagenstrang (Pfeilspitze). (c) Vergrößerung eines Myofibroblasten, der sich durch intrazelluläre Aktinfilamente auszeichnet (Pfeil). (d) Vergrößerung eines Hyalozyten, der durch dichtes Zytoplasma gekennzeichnet ist. (e) Dicke Kollagenstränge und fibrilläre Präzipitate (Pfeil). (f) Innere Grenzmembran (Sternchen).....47

Abbildung 4.9 Phasenkontrast- und Interferenzmikroskopie, Fluoreszenzmikroskopie und immunzytochemische Färbung zusammen dargestellt mit der Zellkernfärbung von 4',6'-Diamidino-2-phenylindole (DAPI) (blau) von prämakulären Membranen von Augen mit idiopathischem Macular Pucker (iMP) und proliferativer Vitreoretinopathie (PVR). (A) Die prämakulären Zellen zeigen eine positive Immunreaktivität von anti- RCA-I (rot), anti- α -SMA (grün) und anti-Integrin- α (rot) in Augen mit iMP. (B) Positives immunostaining von anti-EMMPRIN (rot), anti-Integrin- α V (grün) und anti-Galectin-1 (rot). (C) Positive Immunreaktivität von anti-CD45 (rot), anti-ILB4 (grün) und anti- TGF- β (grün). (D) Prämakuläre Zellen in Augen mit PVR zeigen eine positive Immunreaktivität von anti-EMMPRIN (rot), anti-integrin- α V (grün) und anti- α SMA (rot) (E) Positive Immunmarkierung von anti-RCA-I (rot), anti- UEA I/ Lectin (grün) und α -SMA (rot). (F) Positive Immunreaktivität von anti-GFAP (rot), anti-CD68 (grün) und anti- CK8 (rot). (G) Negativkontrollen für anti-Cy5 (rot), anti-Cy2 (grün) und anti-Cy3 (rot).48

Abbildung 4.10 (Links) Beispiel eines Auges mit idiopathischem Macular pucker. (A,B) Spektral-Domain optische Kohärenztomographie-Aufnahmen einer 73-jährigen Frau mit idiopathischem Macular pucker. (C) Die Transmissionselektronenmikroskopie der prämakulären Membran zeigt einen Myofibroblasten (rotes Sternchen) auf einem nativem Glaskörperkollagenstrang (blaues Sternchen). Im vergrößerten Ausschnitt sind subplasmale Kondensationen (rote Pfeile) zu sehen, die für eine

Anhang

Myofibroblast charakteristisch sind. (D) Die Transmissionselektronenmikroskopie stellt fibrilläre Präzipitate (roter Pfeil) dar, welche in einen dicken Glaskörper-Kollagenstrang eingebettet sind.....49

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1. Auflistung relevanter traktiver Makulopathien mit Spektral-Domain optischer Kohärenztomographie-Aufnahme und entsprechender Beschreibung.....	12
Tabelle 2 Charakteristika prämakulären Gewebes	16
Tabelle 3 Primäre Antikörper für die immunhistologischen Untersuchungen von Arbeit A sowie Antigenpräsentation der Zellen im Flachpräparat von prämakulärem Gewebe und innerer Grenzmembran (ILM) bei Augen mit Makulaschichtforamen und Pseudofoamen der Makula. (+ stark positiv; + positiv, (+) wenig, - negativ).....	25
Tabelle 4 Überblick über die verwendeten Antikörper einschl. Antikörper-Spezifität und Antikörper-Zielstruktur.	44
Tabelle 5 Analyse von Zellzahl und Zelldichte sowie der Immunreaktivität in Flachschnittpräparaten der inneren Grenzmembran (ILM), welche chirurgisch von 17 von 24 Augen mit idiopathischem großen Makulafoamen gewonnen wurden.	51

Danksagung

An dieser Stelle Danke ich Herrn Professor Dr. med. Siegfried Priglinger, Direktor der Augenklinik der LMU München, für die Möglichkeit an seiner Klinik als Assistenzärztin in der Augenheilkunde ausgebildet zu werden und habilitieren zu dürfen. Für meine klinische und wissenschaftliche Ausbildung bot mir die Augenklinik unter seiner Leitung stets ein optimales Arbeitsumfeld. Auch bei Herrn Professor Dr. med. Anselm Kampik, ehemaliger Direktor der Augenklinik, möchte ich mich bedanken für die Möglichkeit eine Doktorarbeit unter seiner Leitung durchführen zu können und als Assistenzärztin die Weiterbildung an der Augenklinik beginnen zu dürfen.

Ein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter, Kollegin und guten Freundin Frau Prof. Dr. med. Ricarda G. Schumann, die mich seit meinem Beginn in der Augenheilkunde im Jahr 2012 nicht nur durch fachliche und kollegiale, sondern vielmehr durch ihre freundschaftliche Art und Weise begleitet und unterstützt hat. Diese Freundschaft hat einen großen Teil zu meiner Habilitationsarbeit beigetragen. Danke Ricarda!

Von ganzem Herzen möchte ich mich bei meiner Familie bedanken. Ein besonderer Dank gilt meinem Ehemann Bastian und unserer Tochter Frieda. Ihr erfüllt mein Leben mit Liebe und Freude! Basti, ich bedanke mich bei dir für den Rückhalt, die Unterstützung und dein aufgebrachtes Verständnis. Du hast mich all die vielen Jahre auf dem Weg zur Habilitation begleitet und mir immer zur Seite gestanden. Ohne all das wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Ebenso Danke ich meinen Eltern und meinem Bruder, die mich auf meinem bisherigen Weg stets begleitet und unterstützt haben. Liebe Mama und lieber Papa, ihr habt mir diese Ausbildung ermöglicht und damit den wichtigsten Grundstein zum Gelingen dieser Arbeit gelegt. Aber auch meinen Schwiegereltern möchte ich für die herzliche Aufnahme in die Familie und die verständnisvolle Unterstützung sowie die häufige Kinderbetreuung wie u.a. auf Frauenchiemsee danken.

Aber auch bei all meinen Freunden und Kollegen, die mich über die Jahre hinweg tatkräftig unterstützt und gefördert haben und dadurch diese Habilitation erst ermöglicht haben, will ich mich an dieser Stelle bedanken.