

**Implantation und Explantation von inaktiven, epiretinal fixierten Retina Implant
Systemen am Minipig**

von

Johannes Menzel-Severing

**Implantation und Explantation von inaktiven, epiretinal fixierten Retina Implant
Systemen am Minipig**

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Johannes Menzel-Severing
aus Bonn

Berichter: Herr Universitätsprofessor Dr. med. Peter Walter
Herr Universitätsprofessor Dr. med. Joachim Weis

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Juli 2010

**Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online
verfügbar.**

Meinen Eltern:

Für eure Liebe und Unterstützung, die mich immer und überall begleitet haben.

1. EINLEITUNG

1.1: Krankheitsbild Retinitis pigmentosa

- 1.1.1: Epidemiologie
- 1.1.2: Vererbung und Pathogenese
- 1.1.3: Klinisches Bild und Diagnostik
- 1.1.4: Therapieansätze

1.2: Retinainplantate

- 1.2.1: Historie, Typen
 - 1.2.1.1: *Kortikale Stimulation*
 - 1.2.1.2: *Stimulation des N. opticus*
 - 1.2.1.3: *Subretinales Implantat*
 - 1.2.1.4: *Transsklerale Stimulation*
 - 1.2.1.5: *Epiretinales Implantat*
- 1.2.2: Entwicklung von EPI-RET® III: Vorgeschaltete Untersuchungen
 - 1.2.2.1: *Implantation und Nagelfixation mit Histologie*
 - 1.2.2.2: *Funktionstests*
 - 1.2.2.3: *Explantation*
 - 1.2.2.4: *Tiermodell Minipig*

1.3: Fragestellung

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1: Vorbemerkung

2.2: Versuchstiere

2.3: Implantate

2.4: Operationsvorbereitung

- 2.4.1: Zirkuläre periphere Netzhautlaserkoagulation
- 2.4.2: Narkose

2.5: Maschinelles OP-Setup

2.6: Operatives Vorgehen bei der Implantation

- 2.7: Postoperative Untersuchungen**
- 2.8: Operatives Vorgehen bei der Explantation**
- 2.9: Histologie**

3. E R G E B N I S S E

- 3.1: Intra- und Postoperative Befunde**
- 3.2: Histologie**

4. D I S K U S S I O N

- 4.1: Tiermodell Minipig**
- 4.2: Implantation und Explantation**
- 4.3: Andere chirurgische Implantationsverfahren**
 - 4.3.1: Extraokuläre Stimulation im Bereich der Sehbahn
 - 4.3.2: Intraokuläre Stimulation im Bereich der Retina
 - 4.3.2.1: Subretinales Implantat*
 - 4.3.2.2: Transsklerale Stimulation*
 - 4.3.2.3: Epiretinales Implantat*
- 4.4: Histologie**
- 4.5: Humanstudie**

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

6. L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

7. A N H A N G

Abkürzungsverzeichnis

ARVO	Association for Research in Vision and Ophthalmology
BSS	Balanced Saline Solution
CD	Cluster of Differentiation
CMOS	Complementary Metal Oxide Semiconductor
EKG	Elektrokardiogramm
ERG	Elektroretinogramm
FZ	Fingerzählen
GFAP	Glial Fibrillary Acidic Protein
GK	Glaskörper
HE	Hämatoxylin-Eosin
IE	Internationale Einheiten
IOL	Intraokularlinse
LCA	Leucocyte Common Antigen
mg	Milligramm
MPG	Medizinproduktegesetz
ms	Millisekunde
mW	Milliwatt
μ A	Mikroamper
μ m	Mikrometer
μ V	Mikrovolt
N.O.	Nervus opticus
OCT	Optische Kohärenz-Tomographie
PDMS	Polydimethylsiloxan
PFD/PFCL	Perfluordekalin/Perfluorkarbon
PPV	Pars plana Vitrektomie
RP	Retinitis pigmentosa
RPE	Retinales Pigmentepithel
RWTH	Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule
VK	Vorderkammer
Z.n.	Zustand nach

1. EINLEITUNG

Fortschritte im Bereich der Mikroelektronik ermöglichen neue Ansätze bei der Entwicklung von Therapien für bisher nicht behandelbare fortschreitende Rezeptordegenerationen der Netzhaut (75). Zu diesen Erkrankungen zählen die Altersbedingte Makuladegeneration sowie die Retinitis pigmentosa (RP).

1.1: Krankheitsbild Retinitis pigmentosa

Bei der Retinitis pigmentosa (Synonym verwendet wird die korrektere Bezeichnung Retinopathia pigmentosa) handelt es sich um eine Gruppe hereditärer retinaler Pigmentdystrophien, welche vorwiegend das Stäbchen-System betrifft.

1.1.1: Epidemiologie

Die Prävalenz der Retinitis pigmentosa beträgt weltweit ca. 1:5000 (52). In einer multizentrischen Studie in Japan, an welcher 29 Zentren für visuelle Rehabilitation teilnahmen, war Retinitis pigmentosa die Hauptursache der Sehbehinderung oder Blindheit und betraf 25% der Patienten (42). In Kuwait war die Erkrankung Hauptursache von Sehbehinderung oder Blindheit in Personen unter 60 Jahren (3), während in Dänemark Retinitis pigmentosa 29% der Fälle von Blindheit in Personen zwischen 20 und 64 Jahren ausmachten (20). In Deutschland sind ca. 15.000 Personen an einer RP erblindet.

Die Retinitis pigmentosa tritt bei 20-30% der Patienten in Assoziation mit über 30 verschiedenen systemischen Erkrankungen und Syndromen auf (41). Darunter befinden sich:

- *Usher-Syndrom:*

Diese schwere autosomal rezessiv vererbte Erkrankung kombiniert Taubheit und Blindheit. Die Entwicklung einer Retinopathie setzt vor Erreichen der Pubertät ein.

- *Bardet-Biedl-Syndrom:*

Hierbei sind mentale Behinderung, Polydaktylie, Adipositas und Hypogenitalismus assoziiert mit einer ausgeprägten RP, welche ca. 75% der Patienten vor Erreichen des 20. Lebensjahres erblinden lässt.

- *Bassen-Kornzweig-Syndrom (Abetalipoproteinämie):*

Die Vererbung der Erkrankung erfolgt autosomal dominant. Gemeinsam mit der Ausbildung einer Retinopathie vor Erreichen des zehnten Lebensjahrs finden sich spinocerebelläre Ataxie, periphere Neuropathie, Steatorrhoe sowie am Auge Ophthalmoplegie und Ptosis.

- *Refsum-Syndrom:*

Ein autosomal rezessiv vererbbarer Mangel an Phythansäure-Alpha-Hydroxylase. Die hierdurch bedingte Akkumulation von Phythansäure führt zu einer Erkrankung der Netzhaut in der zweiten Lebensdekade, zusätzlich Polyneuropathie, zerebelläre Ataxie, Taubheit, Anosmie, Kardiomyopathie, Ichthyosis und am Auge Katarakt, Miosis und prominente Hornhautnerven.

1.1.2: Vererbung und Pathogenese

Erkrankungsalter, Geschwindigkeit der Progression sowie das Ausmaß der Sehbeeinträchtigung sind sehr variabel und abhängig vom zugrunde liegenden Vererbungsmodus.

Meist ist die Ursache eines Erkrankungsfalles monogen, jedoch ist eine Vielzahl unterschiedlicher genetischer Veränderungen bekannt. Die zugrunde liegenden Veränderungen des Codes können isoliert auftreten (sporadische Mutationen) oder einem bestimmten Vererbungsmuster folgen (Autosomal dominant, autosomal rezessiv oder x-gebunden, vergleiche Tabelle 1).

Tabelle 1: Aufstellung der für RP verantwortlichen Gene und Loci, nach (2)

Vererbungsmodus	Kartierte Genloci (nicht identifiziert)	Kartierte und identifizierte Gene
Autosomal dominant (30-40% aller Fälle, leichteste Verlaufsform)	RP33	CA4, CRX, FSCN2, GUCA1B, IMPDH1, NR2E3, NRL, PRPF3, PRPF8, PRPF31, RDS, RHO , ROM1, RP1, RP9, SEMA4A, TOPORS
Autosomal rezessiv (50-60% aller Fälle)	RP22, RP25, RP28, RP29, RP32	ABCA4, CERKL, CNGA1, CNGB1, CRB1, LRAT, MERTK, NR2E3, NRL, PDE6A, PDE6B, PRCD, PROML1, RGR, RHO, RLBP1, RP1, RPE65, SAG, TULP1, USH2A
x-gebunden (5-15% aller Fälle, schwerste Verlaufsform)	RP6, RP23, RP24, RP34	RP2, RPGR

Am häufigsten finden sich Mutationen des Rhodopsin-Gens (RHO, ca. 25% der dominant vererbten Fälle), des USH2A-Gens (ca. 20% der rezessiv vererbten Fälle) und des RPGR-Gens (ca. 70% der x-gebundenen Fälle). Die Gendefekte führen zum vorzeitigen Zelltod der Photorezeptoren aufgrund gestörter Stoffwechselprozesse durch defekte oder fehlende Proteine. So codiert beispielsweise RHO für das Sehpigment der Stäbchen, welche als Photorezeptoren für das Sehen bei Dunkelheit sowie für die Wahrnehmung peripherer Bewegungen verantwortlich sind. Die alterierten Genprodukte stören die physiologischen Abläufe intrazellulärer Transportsysteme (22;58).

1.1.3: Klinisches Bild und Diagnostik

In der Anamnese ist Nyktalopie ein typisches Frühsymptom der Retinitis pigmentosa, verursacht durch progressiven Verlust vorwiegend der Stäbchen-Photorezeptor-Funktion. In der Folge entwickelt sich hieraus ein beidseits fortschreitender Verlust des peripheren Gesichtsfelds, während der Visus zunächst oft unbeeinträchtigt bleiben kann. Sekundäre Mitbeteiligung der Zapfen führt jedoch zusätzlich zu einer atrophischen Makulopathie. Diese bedingt gewöhnlich eine vollständige Erblindung der Betroffenen vor Erreichen des 60. Lebensjahres. Den progressiven Sehverlust symbolisiert Abbildung 1:

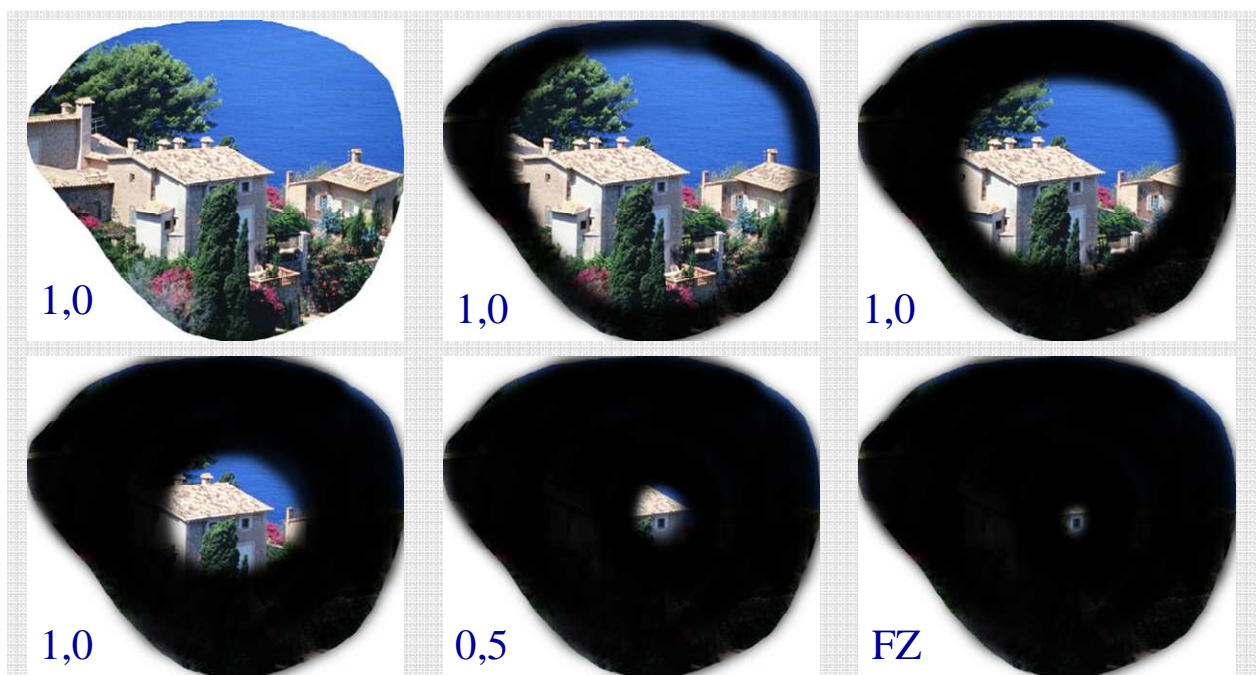


Abbildung 1: Zunehmende Sehbehinderung durch Einengung des Gesichtsfelds und bei fortgeschrittenem Stadium Abfallen der zentralen Sehschärfe.

Die klassische klinische Trias bei der ophthalmoskopischen Beurteilung des Augenhintergrundes besteht aus (vergleiche Abbildung 2):

- Verengung der Arteriolen
- „Knochenbälkchen“-artige intraretinale Pigmentablagerungen
- Wächserne Papillenblässe

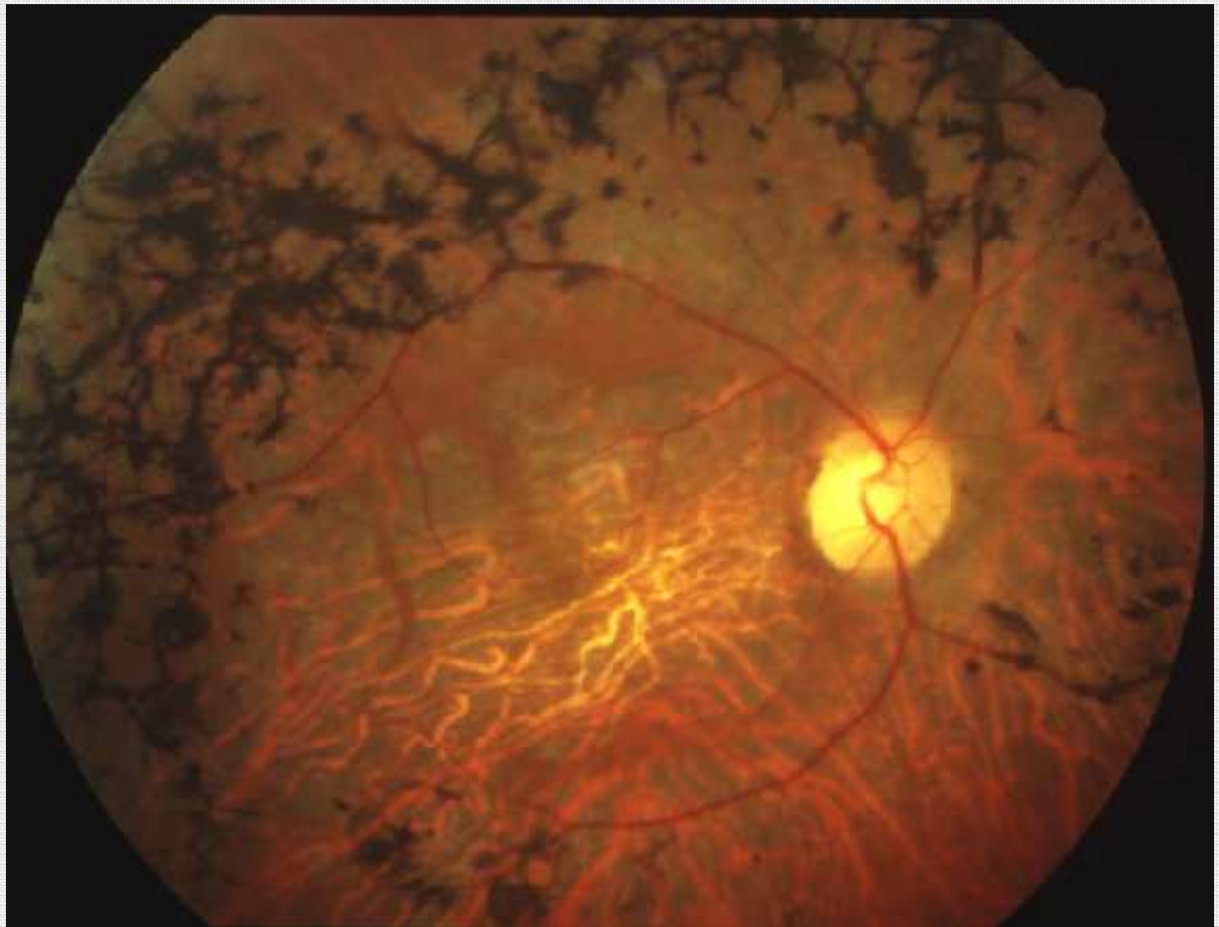


Abbildung 2: Funduskopisches Bild bei Retinitis pigmentosa.

Testung des Farbsehens ergibt keinen pathologischen Befund oder zeigt einen Defekt der blauen Photorezeptoren (erworbene Tritanopie), welcher charakteristisch ist für eine fortgeschrittene Retinitis pigmentosa. Bei der Dunkeladaptationstestung zeigt ein Anstieg der erforderlichen Leuchtintensität zur Lichtwahrnehmung um den Faktor 100 einen gravierenden Verlust von Stäbchen-Photorezeptoren-Sensitivität.

Eine Verminderung des Kontrastsehens ist ein häufiges Phänomen bei Retinitis pigmentosa. Sie kann helfen eine subjektive Sehverschlechterung von Patienten mit gutem Visus zu erklären (61;63).

Mittels apparativer Diagnostik lassen sich zudem folgende Befunde erheben:

- *ERG*: Deutlich reduzierte Amplituden von Stäbchen- und kombinierter Antwort bei Dunkeladaptation. Zunächst noch gut erhaltene photopische Antwort, später sind jedoch auch die Potenziale bei Helladaptation und Flimmerlicht reduziert.

Das multifokale ERG ermittelt nur zentral nachweisbare Potentiale mit reduzierten Amplituden (53).

- *Goldmann-Perimetrie*: Klassisches Ringskotom in der mittleren Peripherie, im Verlauf Ausdehnung nach peripher und zentral.

- *Fluoreszenzangiographie*: Diffuse Hyperfluoreszenz und diskrete hypofluoreszente Areale (Fensterdefekte sowie Pigmentierungen). Zudem weisen diejenigen Areale mit den geringsten Amplituden im ERG eine erhöhte Autofluoreszenz auf (71).

- *Optische Kohärenz-Tomographie (OCT)*: Reduktion der Netzhautdicke und Zustand der Photorezeptorenschicht lassen sich beurteilen; zusätzlich kann ein ggfs. vorhandenes diskretes Makulaödem erkannt werden (77).

Häufig finden sich zusätzlich posteriore subkapsuläre Katarakte, Myopie und Glaskörperveränderungen (72). Ein Offenwinkelglaukom tritt bei 3% der Patienten auf. Drusen der Papille werden ebenfalls gehäuft beobachtet.

Atypische Präsentationen der Retinitis Pigmentosa sind eine *Sektor-RP* (Beteiligung nur eines meist nasalen Quadranten oder nur der unteren Hälfte der Netzhaut), eine *perizentrale RP* (Beginn der Pigmentveränderungen nahe der Papille mit Ausbreitung entlang der Gefäßarkaden und nasal) sowie eine *RP mit exsudativer Vaskulopathie* (Coats-artiges Erscheinungsbild mit Lipidablagerungen in der Netzhaut und einer exsudativen Netzhautablösung).

1.1.4: Therapieansätze

Eine spezifische Therapie der Retinitis pigmentosa steht derzeit nicht zur Verfügung. Verschiedene untersuchte Ansätze, darunter Immunstimulation, hyperbare Oxygenierung oder Skleraresektion, konnten bisher keinen gangbaren Behandlungsweg zur Verbesserung des Sehvermögens aufzeigen (14;87;92). Einige Arbeiten diskutieren die Transplantation von retinalem Pigmentepithel (62;93), Photorezeptoren (12;38) oder Stammzellen (66;74;76;83). Ansätze zur kausalen Therapie der RP kommen aus dem Bereich der Gentherapie. Ziel ist es hierbei, bei rezessiven Formen fehlende Genprodukte zu substituieren oder die defekten Gene vektorvermittelt zu ersetzen (4;11;57). Dominant exprimierte fehlerhafte Erbinformation wird durch Ribozym-basierte oder interferenz-RNA-basierte Gentherapie inaktiviert (gene silencing) (21;68). Bis zur klinischen Anwendung sind diese Methoden bisher jedoch nicht gelangt. Auch ermöglicht eine Beeinflussung der krankheitsauslösenden Gendefekte nicht die Sanierung durch bereits abgestorbene Photorezeptoren verursachter Defekte.

Die tägliche Einnahme von 15.000 IE Vitamin A kann bei frühzeitigem Behandlungsbeginn die Progression der Erkrankung verzögern (13). Die Gabe von Omega-3-Fettsäuren oder Lutein scheinen vergleichbare Wirkungen zu haben, weshalb einige Autoren die Einhaltung entsprechender Diäten als potentiell förderlich bewerten (10;43;44). Bei Entstehung eines zystoiden Makulaödems kann eine systemische Therapie mit Acetazolamid unternommen werden. Eine Laser- oder Kryokoagulation ist bei Auftreten von Coats-ähnlichen Gefäßen indiziert (81). Die Entwicklung eines hinteren Polstars sollte frühzeitig zu einer Kataraktoperation veranlassen. Optimierung des verbleibenden Visus durch Korrektur von refraktiven Fehlsichtigkeiten erbringt eine substantielle Erleichterung für die Betroffenen. Des Weiteren kommen vergrößernde Sehhilfen zum Einsatz (32).

Verschiedene Therapieansätze aus dem Bereich der Neuroprothetik werden im folgenden Abschnitt vorgestellt.

1.2: Retinainplantate

Unterschiedliche Verfahren der künstlichen Stimulation des visuellen Systems zur Erzeugung von Seheindrücken werden derzeit erprobt. Hierdurch soll den an Retinitis pigmentosa oder anderen Netzhautdystrophien erblindeten Patienten eine Orientierung im Raum möglich werden. Gemeinsames Konzept ist die elektrische Stimulation von Neuronen des visuellen Systems durch räumlich und zeitlich definierte elektrische Felder, welche die Aussendung eines Aktionspotentials veranlassen (75;90).

1.2.1: Historie, Typen

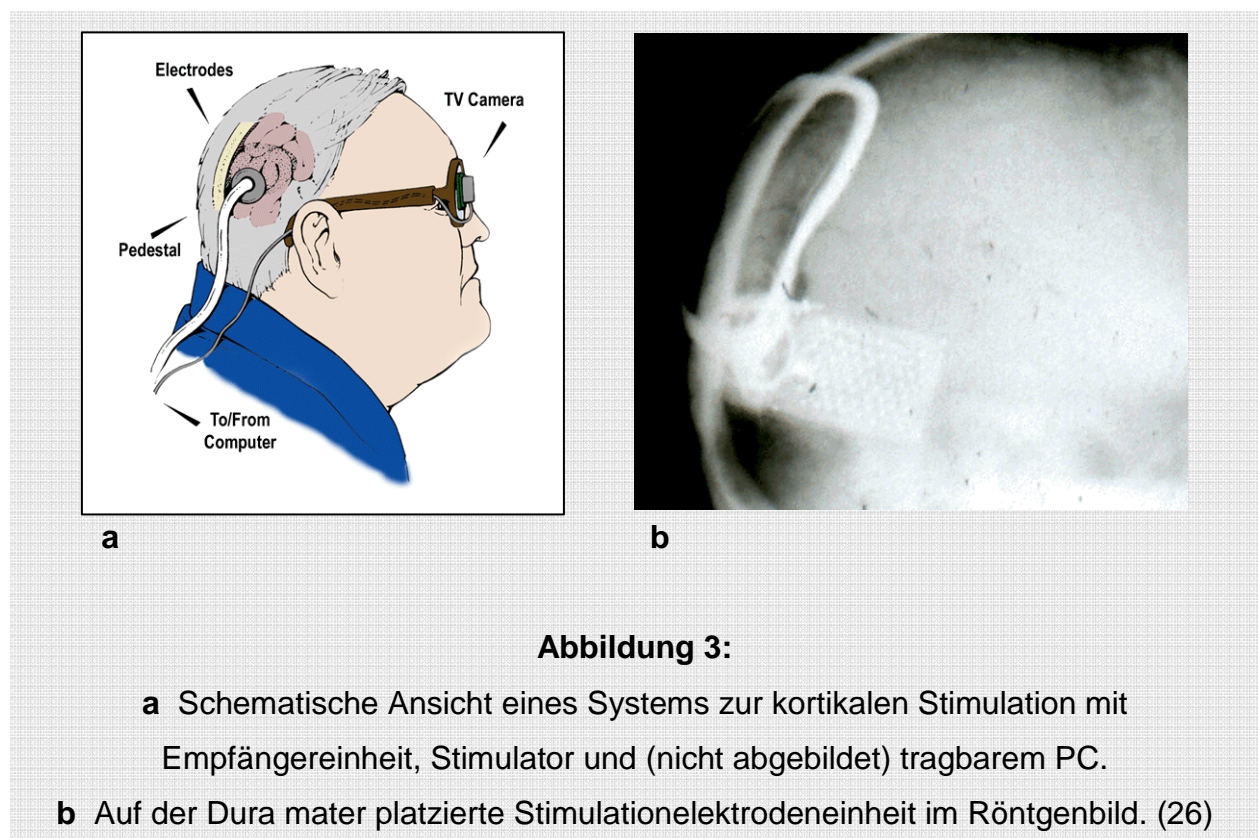
Versuche zur künstlichen Wiederherstellung des Sehvermögens begannen nach der Entdeckung der Elektrizität im 18. Jahrhundert mit der direkten elektrischen Stimulation blinder Augen (86). Ab den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts entstand die Erprobung von Implantaten auf dem visuellen Cortex, welche mittels gezielter Elektrostimulation verwertbare Seh wahrnehmungen erzeugen sollten (18;19;27). Seit den 70er Jahren verfolgt man die Aktivierung der Sehrinde durch Stimulation der Netzhaut als therapeutische Möglichkeit (24).

Obwohl bisher noch nicht zum klinisch anwendbaren Produkt gereift, können heute auf verschiedenen Ebenen der Sehbahn visuelle Phänomene evoziert werden:

1.2.1.1: Kortikale Stimulation

Dieses System verwendet Reizelektroden, welche über der Sehrinde implantiert sind (26). Aus den Daten zweier externer Sensorsysteme – Kamera und Ultraschalldetektor für Entfernungen und Hindernisse – werden Stimulationscodes errechnet mit denen die Elektroden aktiviert werden. Auf diese Weise lassen sich im Experiment bei Probanden Phosphene erzeugen. Die Anbringung der Reizelektroden erfolgte auf der Oberfläche des visuellen Cortex oder intrakortikal, was geringere Stimulationsstromamplituden erforderlich macht und eine höhere Ortsauflösung erwarten lässt. Im Langzeitversuch schienen die wahrgenommenen Phosphene stabil.

Die Topographie der Stimulation stellt besondere Anforderungen an die Codierung des Stimulators, da im visuellen Cortex bereits eine Vorverarbeitung der auf der Netzhaut pixelartig gewonnen Sehinformationen in komplexe Wahrnehmungen wie Bewegung, Farbe oder Kontrast stattgefunden hat. Nach der dauerhaften Implantation ist durch die von außen nach intrakraniell führende Kabelverbindung eine fortwährende Infektionsgefahr zu befürchten.



1.2.1.2: Stimulation des N. opticus

Auch bei diesem Konzept wird eine mantelartig um den Sehnerv angebrachte Stimulationselektrode via Kabel mit Daten aus einem externen Sensor-Prozessor-System angesteuert (16). Nach geeignetem Training ist es mit dieser Hilfe möglich, Muster anhand der von ihnen ausgelösten spezifischen Phosphene wieder zu erkennen (17).

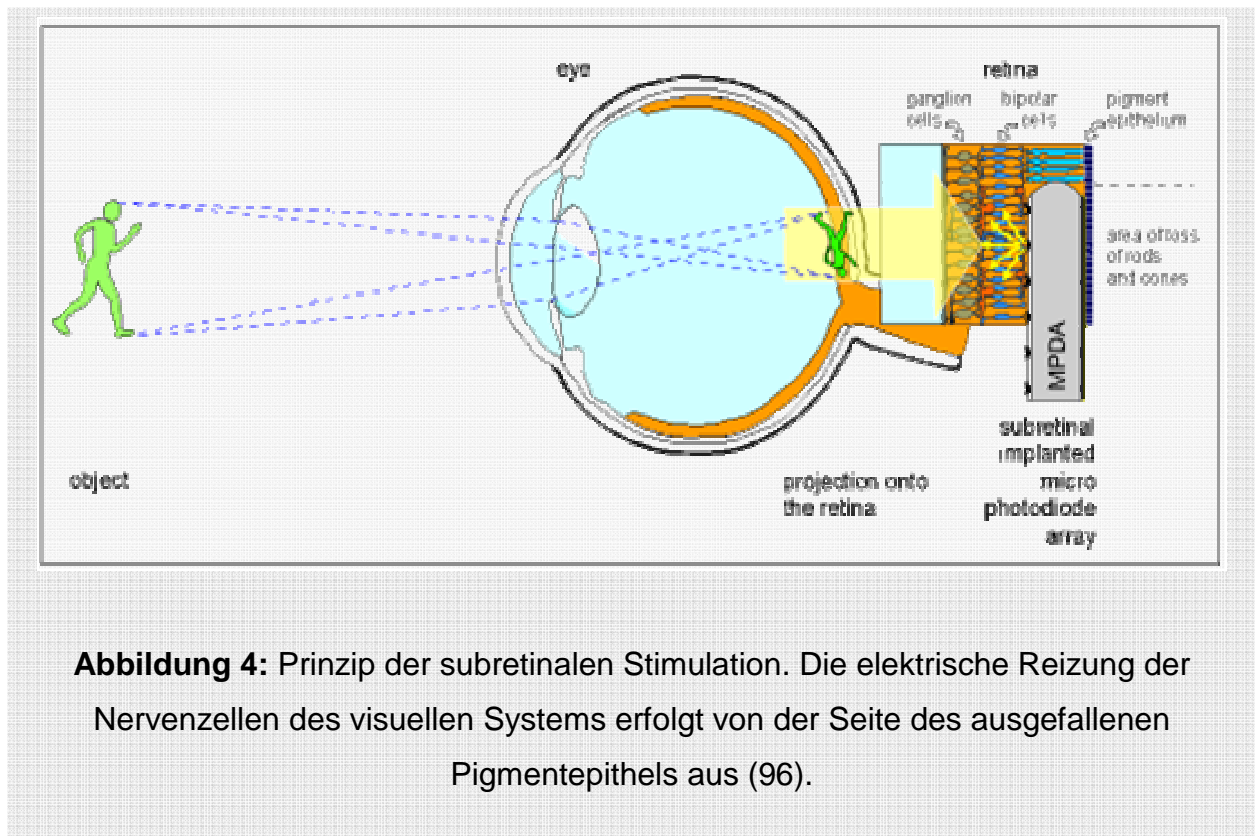
1.2.1.3: Subretinales Implantat

Das Prinzip der retinalen Stimulation fußt auf der Überlegung, die Funktion der ausgefallenen Photorezeptoren durch künstliche Hilfsmittel zu ersetzen. Die Möglichkeit zur retinalen Nervenstimulation besteht trotz der Inaktivitätsatrophie der retinalen sowie der Optikusneurone fort, da selbst im Spätstadium der Erkrankung noch erregbare Zellen in ausreichender Anzahl vorhanden sind (48;79). Bei blinden menschlichen Probanden konnten daher durch elektrische Netzhautstimulation Seh wahrnehmungen erzeugt werden (46;47;49).

Im Fall des subretinalen Implantates imitiert eine Vielzahl winziger Photodioden die physiologische Aufgabe der Neurorezeptoren, indem sie das einfallende Licht in einen elektrischen Impuls umwandeln. Die Positionierung der auf flexiblen Folien platzierten Reizelektroden zwischen der Pigmentepithelschicht und der äußeren plexiformen Nervenfaserschicht der Netzhaut erlaubt einen frühen Zugang zum visuellen System, noch bevor komplexe Verschaltungen durch Interneurone stattfinden (97). Externe Encoder zur Signalverarbeitung sind nicht erforderlich, da hierfür das natürliche Netzwerk der Retina genutzt werden kann (96). Zudem können die Augenbewegungen des Patienten für die Lokalisierung von Objekten weiterhin ausgenutzt werden. Jedoch ist eine zusätzliche Energieversorgung der subretinalen Mikrophotodioden notwendig, damit diese die notwendige Energie zur Aktivierung der postsynaptischen Neurone aufbringen können (34).

Für das Einbringen von Implantaten in den subretinalen Raum sind unterschiedliche Zugangswege denkbar: Erstens der Zugang „ab externo“, bei welchem das zu verpflanzende Implantat durch Sklera und Choroidea hindurch von außen in den subretinalen Raum eingebracht wird. Und zweitens der Zugang „ab interno“, bei welchem im Anschluß an eine Vitrektomie eine Retinotomie erfolgt. Durch die Retinotomie hindurch wird iatrogen eine lokale Netzhautablösung induziert, welche Raum für das Implantat schafft.

Aufgrund der subretinalen Lage des Implantats ist keine besondere Befestigung erforderlich. Die Pumpfunktion des retinalen Pigmentepithels (RPE) erzeugt einen Sog, durch welchen die Stimulatorfolie zwischen RPE und Netzhaut fixiert wird (95).



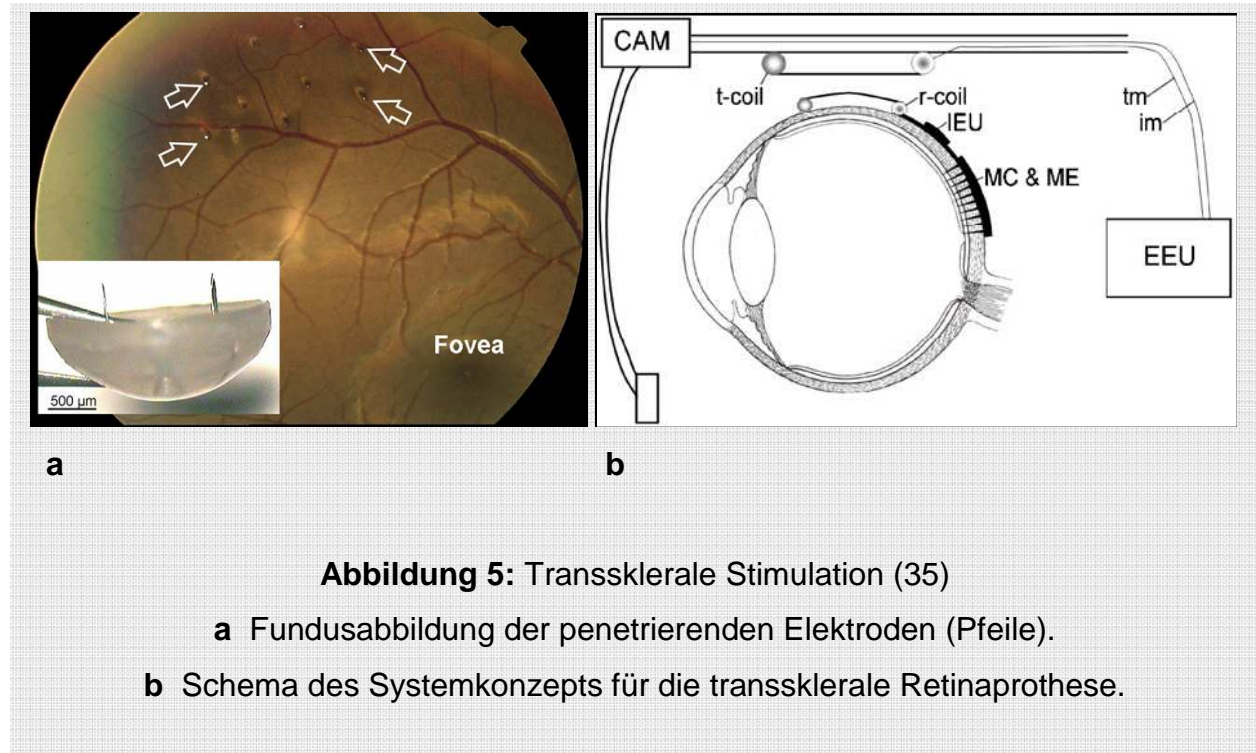
1.2.1.4: Transsklerale Stimulation

Ein weiterer Ansatz zielt darauf ab, intraokuläre Retinastimulation mit weniger invasiven Methoden wie der transskleralen und transchoroidalen Stimulation zu erreichen.

Der Retina-Stimulator erhält seine Eingangssignale von einer Kamera, welche in eine Brille integriert werden kann. Die implantierten Systemkomponenten (eine Empfängerspule für die kabellose Daten- und Energieversorgung des Implantats durch Induktion, die Stimulationselektronik sowie eine Trageschale für die Mikroelektroden) befinden sich auf der Außenseite der Sklera, während nur die Reizelektroden selbst diese penetrieren um Kontakt mit der Retina zu erhalten. Dies geschieht mit der Zielsetzung, die Gefahr unerwünschter Gewebereaktionen durch minimales Eindringen in den intraokulären Raum zu verringern (35). Erste in-vivo-Untersuchungen an Primaten sprechen für eine technische und chirurgische Machbarkeit sowie gute Bioverträglichkeit (36).

Eine Besonderheit der Chirurgie bei transskleraler Stimulation ist die langsame Penetration der Elektroden: Während der Operation wird die mit Nadelelektroden

besetzte Stimulatorschale außen am Bulbus befestigt. Die Einwärtsbewegung der Elektroden erfolgt dann ohne weiteres äußeres Zutun im Verlauf der der folgenden Tage und Wochen. Dieses Vorgehen erscheint nach den bisherigen Erfahrungen atraumatischer als eine forcierte Penetration.



1.2.1.5: Epiretinales Implantat

Hier erfolgt die elektrische Stimulation retinaler Ganglienzellen von der Oberfläche der Netzhaut aus. Dieses Verfahren wird derzeit von mehreren Arbeitsgruppen in Deutschland und den USA untersucht (29;50;75;87). Mit der fortschreitenden Entwicklung einher gingen verschiedene Firmengründungen, unter anderem Second Sight Medical Products in den USA, Intelligent Medical Implants und Epiret in Deutschland.

Obwohl im Detail Unterschiede bei den verwendeten Bauteilen bestehen, haben die verschiedenen Systeme für die epiretinale Stimulation ein gemeinsames Grundkonzept. Da das natürliche Signal auf Ganglienzellebene bereits durch Bipolarzellen, Horizontalzellen und Amakrine Zellen vorverarbeitet ist, muss für die epiretinale Sehprothese auf technischem Weg eine Simulation dieser Vorverarbeitung stattfinden (vergleiche Abbildung 6). Die Justierung der verwendeten

Filter für Parameter wie Kontrast, Farbe, Orientierung oder Bewegung erfolgt nach der Implantation, wenn die genaue Lage des Stimulators und seiner Reizelektroden feststeht. Erste funktionelle Tests deuten darauf hin, dass es möglich ist spezifisch die unter der Elektrode liegenden Ganglienzellen zu stimulieren. Oberflächlich unter der Elektrode verlaufende afferente Nervenfasern weiter entfernt liegender rezeptiver Felder werden von der lokalen Stimulation nicht wesentlich beeinflusst (49).

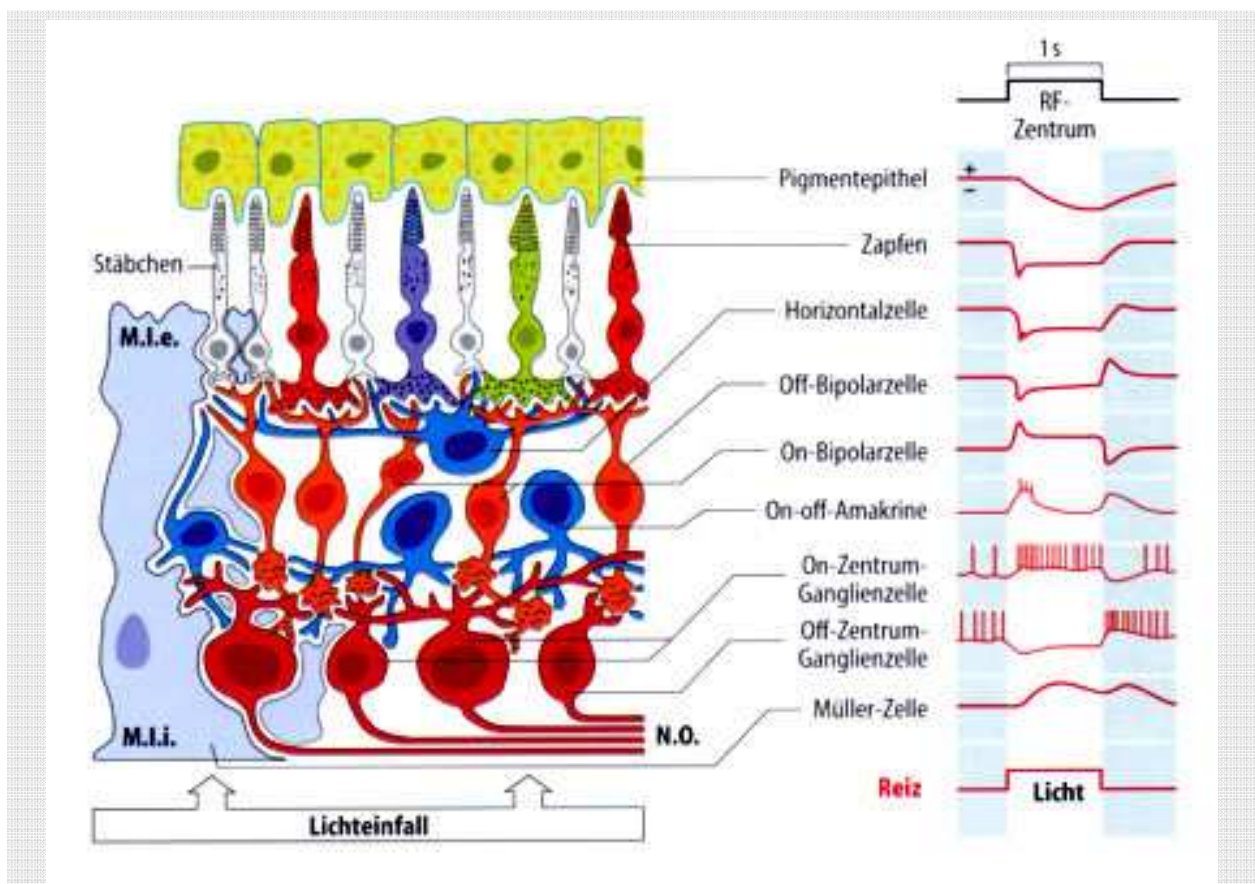


Abbildung 6: Schematische Darstellung des neuronalen Netzwerks der Retina. Das von den Photorezeptoren (Stäbchen/Zapfen) ausgesendete neuronale Signal wird in den darauf aufliegenden Nervenzellschichten vorverarbeitet. Erst dann erfolgt die Fortleitung in den Nervus opticus (N.O.) über die oberflächlichen Nervenfaserbündel der Ganglienzellen. An dieser Stelle im visuellen System erfolgt die Einwirkung des epiretinalen Implantats.

Die Eingangssignale erhält der Retina-Encoder auch hier von einer CMOS-Kamera, welche in eine Brille integriert werden kann. Die entstehenden Daten– ebenso wie die für den Betrieb des intraokulären Chips erforderliche Energie – werden im Fall der EPI-RET®-Prothese über ein Transpondersystem kabellos an einen intraokulär liegenden Empfänger übertragen. Anschließend werden die Impulse über dreidimensionale Mikroelektroden an die Nervenzellen vermittelt (vergleiche Abbildung 7).

Eine Fixation des Implantats auf der Netzhautoberfläche erfolgt mechanisch durch Netzhautnägel oder mittels biochemischer Fixation (5;29;50;94).

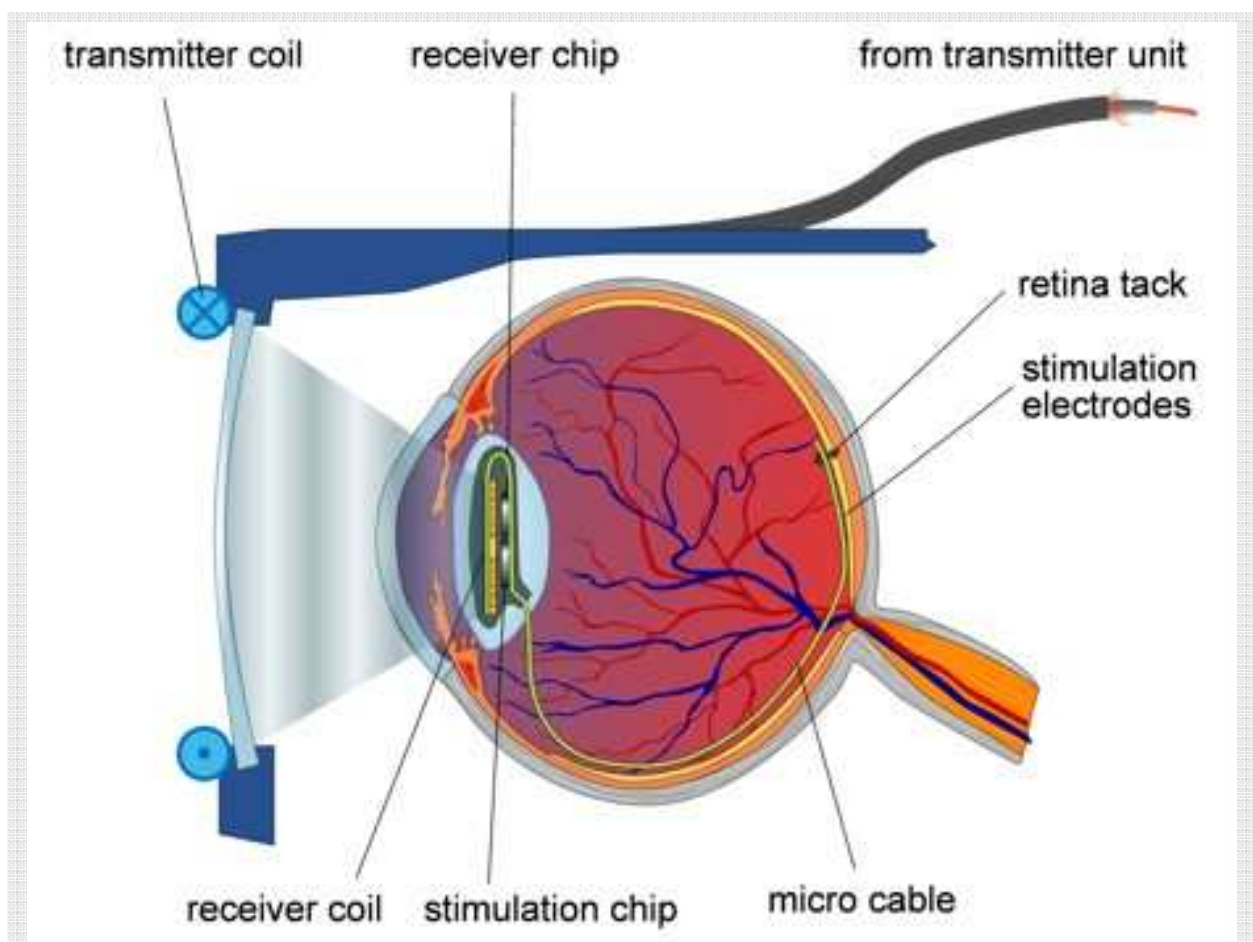


Abbildung 7: Schema des Systemkonzepts für die epiretinale Sehprothese im Rahmen des EPI-RET®-Forschungsprojekts. Eine Besonderheit im Vergleich zu den epiretinalen Konzepten anderer Arbeitsgruppen ist seine vollständig intraokuläre Lage: Auf transsklerale Kabelverbindungen wird vollständig verzichtet.

1.2.2: Entwicklung von EPI-RET® III: Vorgeschaltete Untersuchungen

Im Rahmen des EPI-RET®-Verbundprojektes wurden verschiedene Komponenten und Aspekte zur Entwicklung der vollständig intraokulären epiretinalen Sehprothese EPI-RET® III erprobt. Im Tierexperiment wurden hierzu unterschiedliche Fixationsmethoden, die Biokompatibilität der verwendeten (Hüll-)Materialien sowie die Machbarkeit der chirurgischen Implantation und Explantation getestet. Zusätzlich lieferten Stimulationstests elektrophysiologische Parameter wie Reizschwellen zur Auslösung ableitbarer Feldpotentiale am visuellen Cortex.

1.2.2.1: Implantation und Nagelfixation mit Histologie

Durch Implantation inaktiver Stimulatorstrukturen bei Kaninchen wurde die technische Umsetzbarkeit der Methode sowie die Verträglichkeit der Kontakte auf der Netzhaut untersucht.

Die bestmögliche Fixation wurde hierbei mit einem Netzhautnagel aus Titan erreicht. Netzhautnägel befinden sich seit den 1980er Jahren im klinischen Einsatz (8;25). Sie dienen hier der Reparatur komplizierter Netzhautablösungen, beispielsweise bei Riesenrissen mit eingeschlagenen Rändern (67;69;73). Bei der Verwendung zusammen mit der epiretinalen Sehprothese sorgt der Netzhautnagel für engen Kontakt der Elektroden mit dem Gewebe, eine Voraussetzung für eine möglichst optimale Reizweiterleitung vom Implantat auf die angezielten Ganglienzellen. Zudem muss für die Funktionstestung und adäquate Modulation der Reizströme die räumliche Beziehung zwischen Stimulator und Interneuronen konstant sein. Die zur Fixation verwendeten Netzhautnägel verursachten selten eine Blutung an der Punktionsstelle (37;89;91).

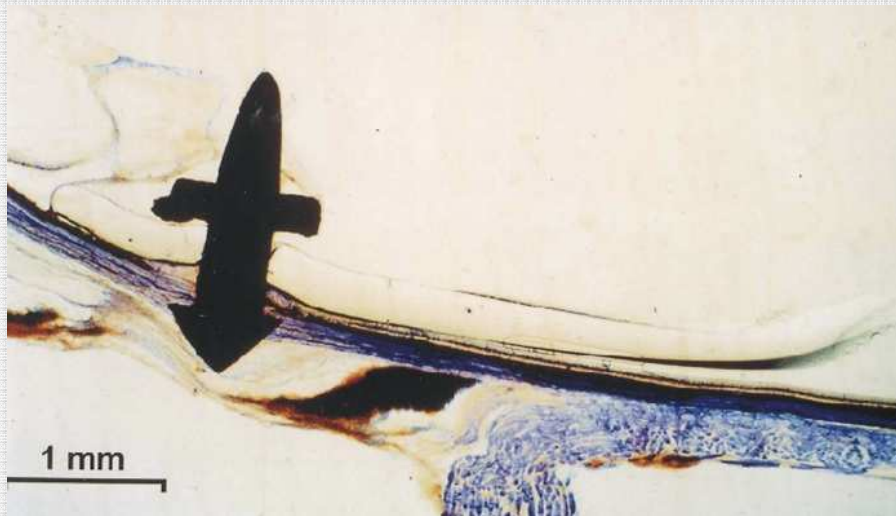


Abbildung 8: Implantierte und Nagelfixierte Mikrokontaktfolie (Kaninchennetzhaut, Schliffpräparat, Anfärbung mit Toluidine Blau) (91).

Die retinalen Implantate werden mit einer geeigneten biokompatiblen Beschichtung versehen, um sie vor Oxidation und enzymatischem Angriff zu schützen sowie um eine Gewebereaktion mit negativen Auswirkungen auf die Prothesenfunktionalität bei chronischer Implantation zu vermeiden (7). Als besonders gewebeverträglich erwies sich Polydimethylsiloxan (PDMS). Histologische Studien nach Langzeit-Trageversuchen im Tiermodell ergaben, dass auch in Kombination mit einem Netzhautnagel keine inflammatorischen Reaktionen oder Proliferationen von Pigmentepithel oder Gliazellen hervorgerufen werden (23;65;91). Die normale Dicke und Schichtung der Netzhaut blieb auch nach einer chronischen Implantation eines epiretinalen PDMS-Implantates über 6 Wochen intakt (40). Fluoreszenzangiographische Aufnahmen zeigten eine gute Perfusion des Implantationsareals (6).

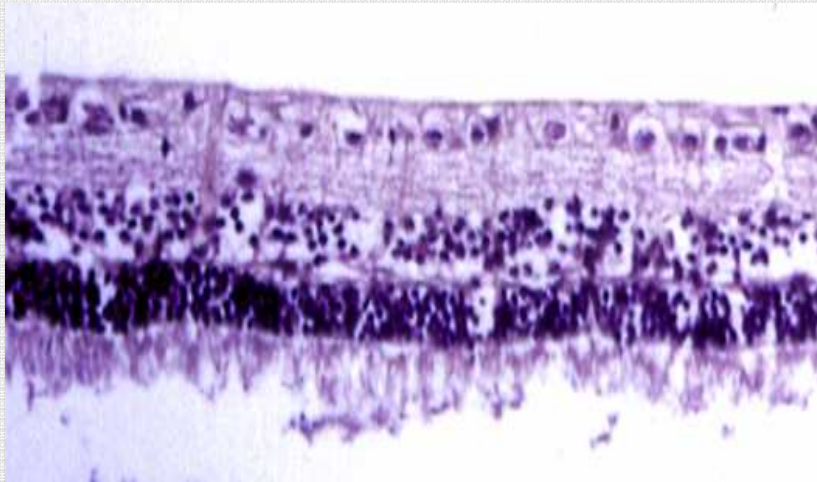


Abbildung 9: Lichtmikroskopische Darstellung eines Schnittes in HE-Färbung durch die Kaninchennetzhaut nach Implantation und Nagelfixation einer Epiretinalen Kontaktstruktur. Es sind keine Veränderungen von Zellschichtung, Zellzahl oder Zellmorphologie erkennbar (91).

Die Implantation komplexer Vorläufermodelle des EPI-RET® III Implantats gelang zuerst im Rahmen von Studien an Katzen und Schweinen. Zur Implantation erfolgen zunächst die Entfernung der Linse mittels Phakoemulsifikation sowie eine vollständige Vitrektomie einschließlich Entfernung der hinteren Glaskörpergrenzmembran, um einen bestmöglichen Kontakt des Implantates zur Nervenzellschicht zu gewährleisten. Das Einführen gelingt über einen cornealen Zugang. Der Empfänger wird im Sulcus ciliaris platziert, während der Netzhautstimulator durch eine exzentrische Öffnung der hinteren Kapsel in die hintere Augenkammer ragt. Dort wird er von einem Kissen aus Perfluorodekalin getragen und kann durch dessen Absaugen auf die zentrale Netzhaut abgesenkt werden.

1.2.2.2: Funktionstests

Der Nachweis der Aktivierung retinaler Neurone nach elektrischer Stimulation gelang durch Ableitung von Feldpotentialen des Tractus opticus (siehe Abbildung 10) (87).

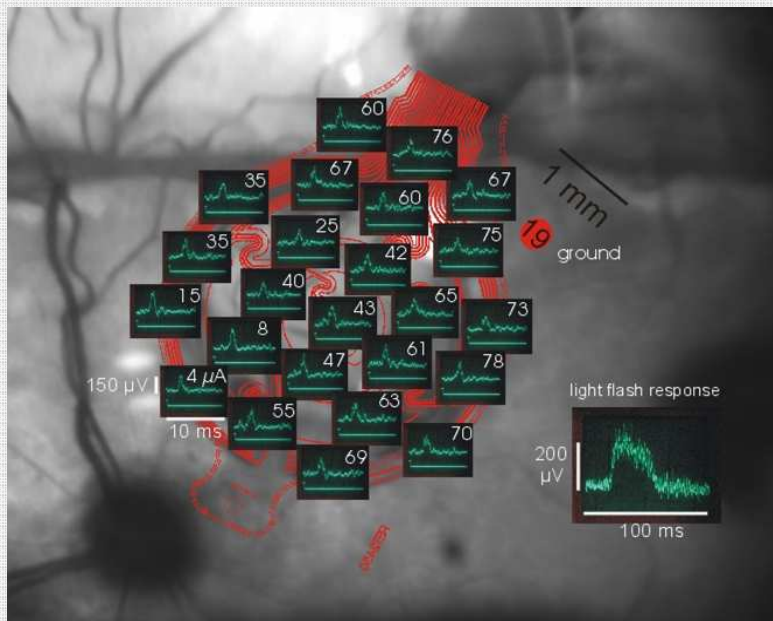


Abbildung 10: Nachweis der retinalen Aktivierung nach elektrischer Netzhautstimulation durch Ableitung von Feldpotentialen des Tractus opticus. Die Zahlen über jedem Inset entsprechen der zur Generation eines Feldpotentials einer Amplitude von $200\mu\text{V}$ erforderlichen Stimulationsamplitude in μA (87).

Dass eine epiretinale Stimulation von Ganglienzellen außerdem geeignet ist, auch über der Sehrinde des Großhirns ableitbare Potentiale zu evozieren, konnten Dawson und Radtke im Tierversuch an Katzen zeigen. Auf der Membrana limitans interna platzierte Reizelektroden waren noch 10 Wochen nach der Implantation funktionsfähig. Sie erlaubten außerdem eine Messung der zur Erzeugung kortikaler Potentiale erforderlichen Reizschwelle (24).

Die Höhe der zur kortikalen Aktivierung erforderlichen elektrischen Ladungen bewegt sich in einem ausreichend niedrigen und somit unbedenklichen Bereich, wie in Akuttests beim Kaninchen bestimmt werden konnte (88).

Bei gleich bleibendem Reiz schien diese zentrale Aktivität stabil. Dies zeigten Messungen mit dauerhaft implantierten epiduralen Ableitelektroden während biphasischer epiretinaler Stimulation beim Göttinger Minipig (59).

Auch anhand subretinaler Stimulation konnte (erneut beim Kaninchen wie auch beim Schwein) eine Aktivierung der Sehbahn durch die Registrierung kortikaler Potentiale nachgewiesen werden (82).

Weitere Tests am Tiermodell zeigten zudem, dass bei Stimulation an unterschiedlichen Reizorten auch unterschiedliche Orte im primären Sehkortex aktiviert werden (28;89).

Anhand optischer Bildgebung der Kortexaktivierung nach epi- und subretinaler Stimulation gelangten Eysel et al. zu der Auffassung, die vermutlich erzielbare Auflösung des hervorgerufenen Seheindrucks ermögliche es, praktische Verrichtungen des täglichen Lebens wieder durchzuführen (30).

Ein wichtiger Schritt hin zur vollständig intraokulär implantierbaren Sehprothese wurde mit der erfolgreichen drahtlosen Aktivierung eines Vorläufermodells des EPI-RET® III-Systems bei Katzen vollzogen. Dies war der erste Nachweis retinotoper Aktivierung des visuellen Kortex bei kabelloser Stimulation nach erfolgreicher Implantation eines vollständig intraokulären Komplettsystems (89). Der Nachweis gelang durch optische Bildgebung intrinsischer Signale (Vgl. Abbildung 11 und Abbildung 12). Es konnte darüber hinaus eine Verschiebung der korticalen Antwort sichtbar gemacht werden, welche gut mit einer Positionsveränderung der aktivierten Retinaelektrodenpaare korrelierte.

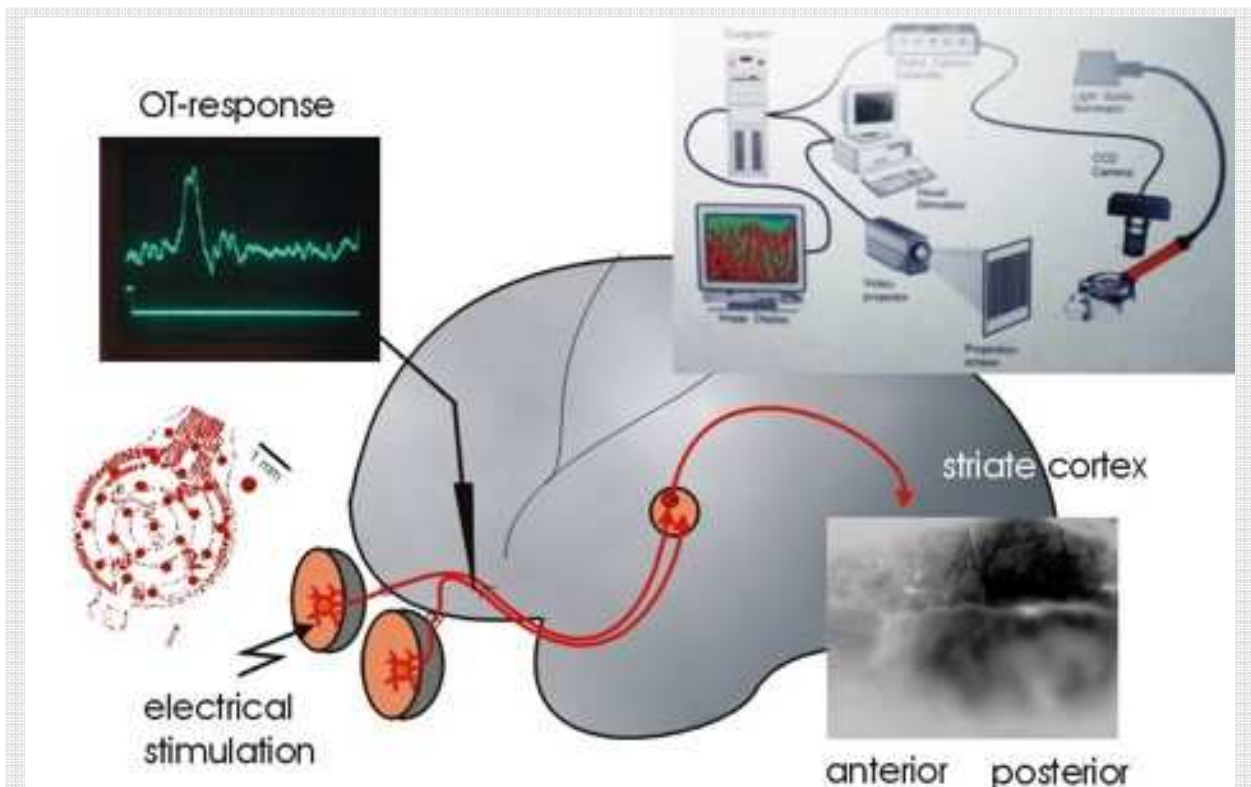
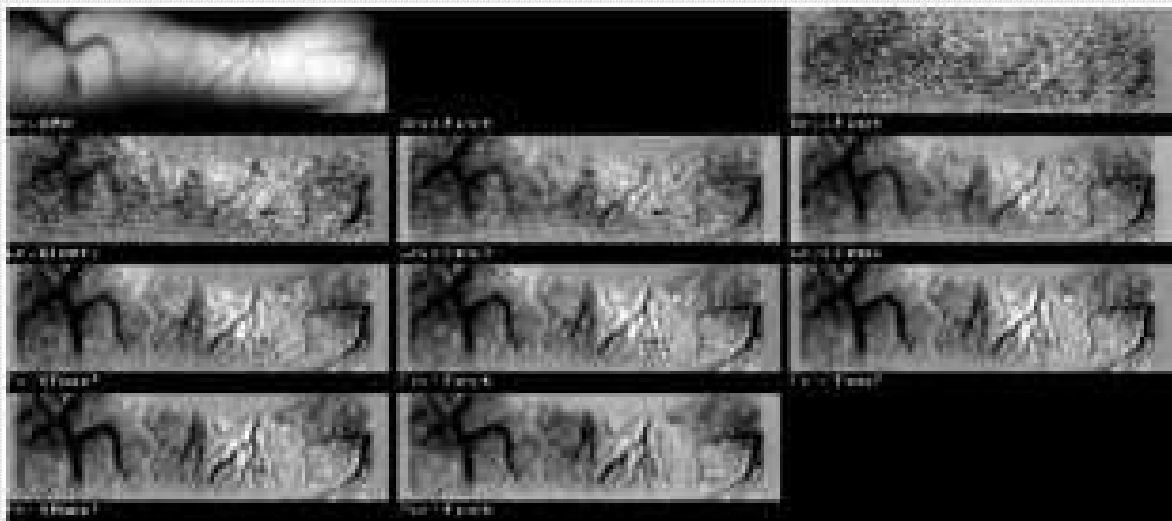
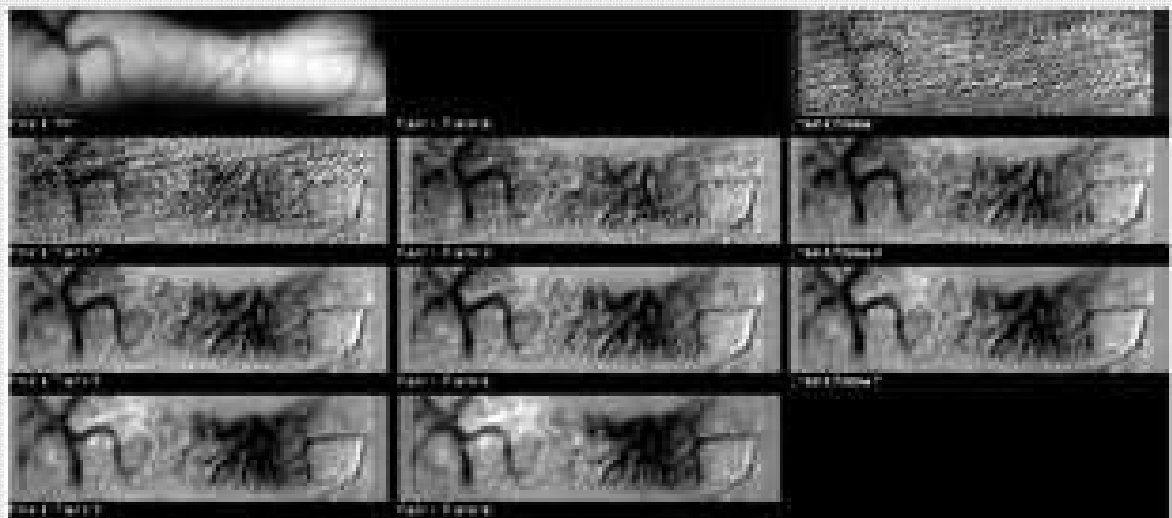


Abbildung 11: Versuchsaufbau zur optischen Bildgebung: Die Funktion des Implantats wird zunächst durch eine episkleral platzierte Elektrode überprüft. Durch Anlage einer Fensterung des Neurocraniums wird der Aufblick auf die Pia mater im Bereich der Sehrinde ermöglicht. Kortikale Aktivität unter jenem Bereich wird sequentiell aufgezeichnet und analysiert (siehe Abbildung 12). Hierzu werden die Unterschiede der Absorbtionsmaxima von oxygenierten sowie desoxygeniertem Hämoglobin verwendet (6). So können mit hoher Auflösung Unterschiede der neuronalen Aktivität im Bereich des gesamten untersuchten Cortexareals sichtbar gemacht werden.



a



b

Abbildung 12:

a Das untersuchte Cortexareal zeigt eine geringere Aktivität, wenn eine Aktivierung der Netzhaut durch Licht oder epiretinale elektrische Stimulation fehlen.

b Nach Aktivierung wird ein Anstieg der (unter- wie überschwelligen) kortikalen Aktivität verzeichnet. Die Lokalisation dieser Aktivität auf der Sehrinde verändert sich entsprechend der Position des stimulierenden Elektrodenpaars auf der Retina.

Auch beim Menschen konnte das Konzept der epiretinalen Sehprothese bereits erfolgreichen Funktionstests unterzogen werden. Hierzu diente die akute Stimulation der Netzhautoberfläche durch einen Retina-Stimulator, der im Rahmen einer Pars plana Vitrektomie transskleral in das Auge eingeführt wurde. Auf diese Weise konnten bei sonst blinden Probanden visuelle Wahrnehmungen hervorgerufen werden (32;45).

Die chronische Implantation eines Prototypen des Retina-Implantates der Firma Second Sight ließ über einen Zeitraum von 10 Wochen wiederholte psychophysische Tests zu. Die von dem an Retinitis pigmentosa erblindeten Probanden angegebenen Seh wahrnehmungen standen während dieser Zeit stets in einem konstanten Verhältnis zur Position der jeweils aktivierten Stimulationselektrode. Auch Größe und Helligkeit der Wahrnehmung entsprach den jeweils gewählten Stimationsparametern. Es war – ähnlich wie bei Trägern von Cochlea-Implantaten – ein gewisser Trainingseffekt im Gebrauch der Sehprothese erkennbar (49).

Die erfolgreiche Aktivierung von vollständig chronisch implantierten und drahtlos angesteuerten EPI-RET® III Systemen bei Retinitis-pigmentosa-Patienten steht zum Zeitpunkt dieser Untersuchung noch aus. Um diesen Schritt vollziehen zu können ist die vorliegende Untersuchung eine wichtige Voraussetzung.

1.2.2.3: Explantation

Eine erfolgreiche Explantation von epiretinalen nagelfixierten Strukturen konnte im Tiermodell durchgeführt werden (7). Die Möglichkeit der Explantation einer vollständigen intraokulären Prothese ist erforderlich, um eine Anwendung elektrisch aktiver Implantate bei menschlichen Probanden zu ermöglichen. Für die klinische Anwendung ist die Explantierbarkeit des eingebrachten Implantats wichtig um dieses bei Funktionsversagen oder unerwünschten Nebewirkungen entfernen zu können, aber auch um einen Austausch durch ein weiterentwickeltes Modell zu ermöglichen. Für die Testung von Prototypen an Versuchspersonen ist ebenfalls die Möglichkeit einer Entfernung der eingebrachten Prothese erforderlich.

1.2.2.4: Tiermodell Minipig

Das Miniaturschwein ist ein häufig verwendetes Versuchstier in der Augenheilkunde (9;33;54;64;70;84;85). Als Modell für ophthalmologische Untersuchungen eignet es

sich, da Anatomie und Physiologie des Auges mit den Parametern beim Menschen gut vergleichbar sind (31;51;60). Gegenüber anderen Tiermodellen bietet das Minipig für die Testung der Implantat-Prototypen zusätzlich den Vorteil, dass signifikante Größenunterschiede zum menschlichen Auge (wie u.a. beim Rhesusaffen) nicht vorhanden sind (55;78). Ebenfalls am Tiermodell Minipig wurden andere Arbeiten aus dem Bereich Retina Implant (56;80;82;82) sowie speziell aus dem EPI-RET® Verbundprojekt (59) durchgeführt. Hierdurch werden entsprechende Vergleiche möglich.

Anatomische Abweichungen und Besonderheiten im Vergleich zum menschlichen Auge finden sich beim Minipig in Form einer ausgeprägteren Vaskularisation von Iris, Ziliarkörper und retinaler Ganglienzellschicht. Die Iris des Schweins zeigt eine starke Tendenz zur Blutung und zur Exsudation von Fibrin bereits bei geringer Manipulation. Eine Pars plana findet sich im porkinen Auge lediglich an der temporalen Seite, diese ist jedoch auch hier außergewöhnlich schmal (39). Dies stellt besondere Anforderungen an die Vorbereitung und Durchführung ophthalmochirurgischer Eingriffe wie z.B. der Pars plana Vitrektomie (PPV).

1.3: Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist der Nachweis, dass das EPI-RET® III System im Tiermodell Minipig unter Schonung des Organs Auge implantierbar sowie explantierbar ist. Die erfolgreiche Durchführung dieser Versuche ist nach dem Medizinproduktegesetz die Grundlage für eine erste Implantation aktiver Reizelektrodenarrays in einer Pilotstudie bei menschlichen Probanden.

Wichtiger Teilaspekt hierbei ist neben der operativen Machbarkeit die Frage, ob durch die chirurgischen Interventionen, durch das Implantat selbst oder durch die Netzhautnägel histomorphologische Veränderungen der Netzhaut induziert werden. Eine inflammatorische oder proliferative Alteration der Retina während oder nach dem Tragen des Implantates ist bedeutungsvoll, da sie potentiell die Anwendungssicherheit und Funktionalität der Sehprothese beeinträchtigen kann.

2. MATERIAL UND METHODEN

2.1: Vorbemerkung

Alle im Rahmen dieser Untersuchung durchgeführten Eingriffe bei Versuchstieren erfolgten unter Beachtung der Deklaration von Helsinki, entsprechend dem Statement der ARVO zur Nutzung von Versuchstieren in der ophthalmologischen Forschung. Die Genehmigung zur Durchführung durch die örtliche Tierschutzbehörde beim Regierungspräsidium Köln lag vor.

2.2: Versuchstiere

Die Untersuchung wurde an fünf männlichen Göttinger Minipigs durchgeführt. Der Lieferant der Tiere war die Universität Göttingen. Das Gewicht der Tiere lag zwischen 60 und 80kg, ihr Alter betrug 4 Jahre. Somit war ihr Wachstum (ebenso wie das der Augen) abgeschlossen. Die Tiere wurden in Einzel-Boxen gehalten. Die Fütterung erfolgte entsprechend gängiger Schemata zur Großtierhaltung. Versuchsbeginn war jeweils frühestens eine Woche nach Ankunft im Universitätsklinikum Aachen. Ein sechstes Tier musste von der Studie ausgeschlossen werden, da es vor Beginn der Experimente eine penetrierende Augenverletzung aufwies.

2.3: Implantate

Als Träger der elektronischen Bestandteile des Implantats fungiert eine Polyimidbasisstruktur. Die Komponenten des Empfängers und des Stimulationschips befinden sich in einer Intraokularlinse integriert. Sie ist über die Polyimidbasisstruktur mit dem Stimulator verbunden. Auf diesem sind 25 einzeln ansteuerbare Reizelektroden aus Iridiumoxid angebracht, welche auf der Netzhautoberfläche zu liegen kommen. Die Höhe der dreidimensionalen Stimulationselektroden beträgt mindestens 30µm, der Durchmesser 60-100µm. Der Stimulatorkopf beherbergt auch

drei Befestigungslöcher für die Nagelfixation (Siehe Abbildung 13). Als Verkapselungsmaterial dient Polydimethylsiloxan (PDMS).

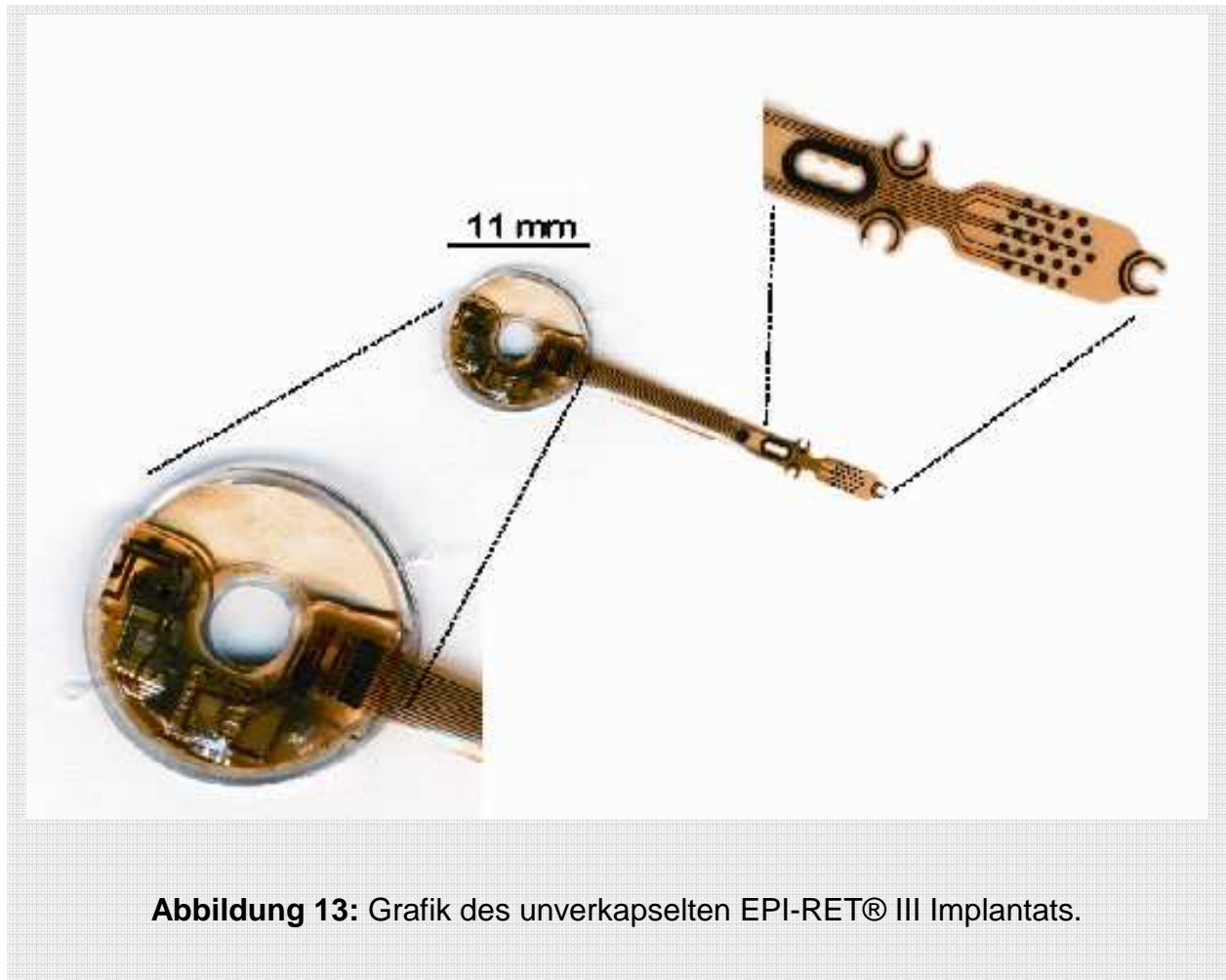


Abbildung 13: Grafik des unverkapselten EPI-RET® III Implantats.

2.4: Operationsvorbereitung

2.4.1: Zirkuläre periphere Netzhautlaserkoagulation

Zur Prophylaxe einer peri- oder postoperativen Ablatio retinae wird bei den fünf Versuchsaugen an der peripheren Netzhaut eine zirkuläre Laserkoagulation mittels Argon-Laser durchgeführt. Dies erfolgt vor dem Hintergrund der im Abschnitt 1.2.2.4 (Tiermodell Minipig) beschriebenen Besonderheit des porkinen Auges: Aufgrund der sehr schmalen Pars plana ist bei der Anlage von Sklerotomien zur Durchführung einer PPV die Gefahr einer iatrogen verursachten Ablatio retinae erhöht.

Zur Durchführung der Laserphotokoagulation erhalten die Tiere eine Kurznarkose mit Stresnil®, Ketanest®, Atropin und Propofol. Die periphere Retina wird anschließend mit einer Energie von 200-300mW bei einer Applikationsdauer von 200ms sowie einer Herdgröße von 200µm behandelt.

2.4.2: Narkose

Die operativen Eingriffe an den Versuchstieren werden in balancierter Inhalationsanästhesie durchgeführt. Zur Prämedikation werden 160mg Stresnil®, 5ml Ketanest® 10% (entspricht 500mg Ketamin) sowie 0,5 mg Atropin verabreicht. Die Narkoseeinleitung erfolgt mit Propofol, die Aufrechterhaltung mittels Isofluran, Lachgas und Sauerstoff. Die Versuchstiere werden nach endotrachealer Intubation auf dem Operationstisch in Seitenlage gelagert. Durch instrumentelles Monitoring (Pulsoxymetrie, EKG, Beatmungsparameter) werden die Kreislauffunktionen im Verlauf des Eingriffs überwacht.

2.5: Maschinelles OP-Setup

Die im Folgenden beschriebenen Eingriffe wurden in unserer Versuchsreihe unter Zuhilfenahme eines Operationsmikroskops der Firma Zeiss, Modell OPMI 6-CFR XY auf einem Stativ der Ausführung S5 durchgeführt. Als kombiniertes

Phakoemulsifikations-Vitrektomiegerät diente das Modell OMNI der Firma Fritz Ruck. Die im Rahmen der Vitrektomie verwendete Lichtquelle stammte ebenfalls von Fritz Ruck.

Weitere Operationsinstrumente und Verbrauchsmaterialien entsprechen denen eines Standardeingriffs am vorderen und hinteren Augenabschnitt (Phako-ECCE und PPV). Darüber hinaus sind außer dem Implantat selbst keine speziellen Ausrüstungsgegenstände zur Durchführung der Implantation oder der Explantation erforderlich.

2.6: Operatives Vorgehen bei der Implantation

Im Rahmen der unmittelbaren Operationsvorbereitung wird maximale Mydriasis mittels Instillation von Tropicamid und Phenylephrin Augentropfen erzielt. Nach der seitlichen Lagerung des Versuchstieres und Schneiden der Wimpern erfolgen Desinfektion sowie steriles Abdecken des OP-Feldes.

Die Konjunktiva wird zirkulär entlang des Limbus eröffnet, und der obere und untere gerade Augenmuskel mit 4-0 Seidefäden angeschlungen. Nun folgt ein 2,8 mm breiter cornealer Schnitt am Limbus. Eine Injektion von kohäsivem Viskoelastikum (Healon®) in die Vorderkammer dient dem Erhalt der Vorderkammertiefe und dem Schutz des Hornhautendothels. Anschließend erfolgen Kapsulorrhexis und extrakapsuläre Linsenentfernung mittels Phakoemulsifikation (siehe Abbildung 14a). Als nächster Schritt erfolgt die Vitrektomie über die Pars plana (siehe Abbildung 14c). Hierzu werden drei Sklerotomien im Abstand von 1,0-1,5 mm zum Limbus angebracht. Nach Insertion des Infusionszulaufs (BSS®) in eine dieser Sklerotomien (alternativ erfolgt bei einigen Eingriffen die Insertion in die Vorderkammer) verbleiben zwei Instrumentenzugänge für die bimanuelle Manipulation am hinteren Augenabschnitt. Unter Zuhilfenahme eines 20 gauge cutters wird zunächst eine exzentrische hintere Kapsulotomie angelegt, durch welche später das Mikrokabel (die Verbindung zur Stimulatoreinheit) in den hinteren Augenabschnitt reichen soll (siehe Abbildung 14b). Nach vollständiger Entfernung des Glaskörpers einschließlich der hinteren Glaskörpergrenzmembran mittels des cutters wird das Auge mit Perfluordecalin (PFD) aufgefüllt.

Für die Implantation der Sehprothese wird der corneale Schnitt auf eine Länge von 10 mm erweitert. Nach erneutem Auffüllen der Vorderkammer mit Viskoelastikum

wird die Reivereinheit in den Sulcus ciliaris bzw. in die Vorderkammer inseriert (siehe Abbildung 14d). Der corneale Schnitt wird nun mittels Nylon 10-0 Einzelknopfnähten wieder verkleinert. Durch die verbleibende Öffnung kann der Stimulator eingebracht werden und kommt durch die Öffnung in der hinteren Kapsel hindurch auf dem PFD-Kissen zu liegen.

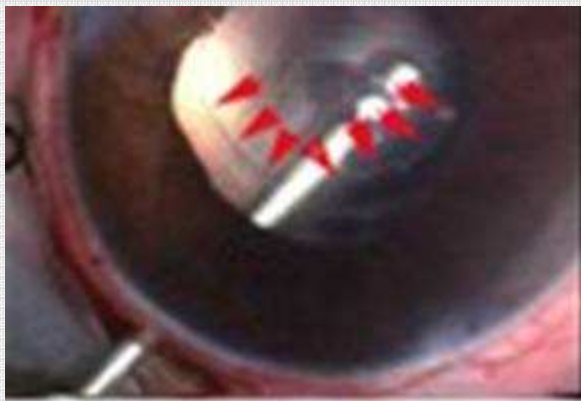
Mittels der Entfernung des PFD und Austausch durch modifizierte Ringerlösung wird der Stimulorkopf anschließend auf den hinteren Pol des Versuchsauges abgesenkt und im Bereich der Makula befestigt (Abbildung 14e). Zur Befestigung dient ein Netzhautnagel aus Titan (Modell nach Heimann, Fa. Geuder, Heidelberg).

Nach erfolgreicher Platzierung und Fixierung des Implantats wird das Auge bei zwei der fünf Versuchstiere dieser Studie zur Verminderung von Nachblutungen mit Luft endotamponiert.

Nun kann der Verschluss des cornealen Zugangs vervollständigt werden. Abschließend werden auch die Sklerotomien mit Vicryl® 7-0 in Kreuzstichnaht verschlossen. Zuletzt werden Isopto-Max®-Augentropfen in das operierte Auge eingebracht. Postoperativ erhalten die Versuchstiere für jeweils 5 Tage Enrofloxacin p.o. sowie Dexamethason i.m. in gewichtsadaptierter Dosierung.



a Phakoemulsifikation der Linse



b Anlegen der posterioren Kapsulotomie



c Pars plana Vitrektomie

Abbildung 14: Einzelne operative Schritte zur Implantation der EPI-RET®-Prothese.
(Hier Abbildungen aus vorausgegangenen Implantationsstudien an Kaninchen.)



d Implantation der Sehprothese



e Nagelfixation des Stimulators

Abbildung 14 (Fortsetzung)

2.6: Postoperative Untersuchungen

Jeweils eine Woche postoperativ werden die Versuchstiere anhand von Spaltlampenbiomikroskopie und indirekter Ophthalmoskopie nachuntersucht. Von besonderem Interesse sind hierbei postoperative Komplikationen wie intraokuläre Nachblutung, starke intraokuläre Reizzustände, Infektion, Anstieg des Augeninnendrucks, Netzhautablösung oder Dislokation des Implantats.

Im Verlauf sind wöchentlich weitere Nachuntersuchungen vorgesehen. Unter Vorwegnahme der Ergebnisse ist jedoch zu bemerken, dass aufgrund der starken Vorderkammerblutung bei allen Versuchstieren eine Beurteilung des tiefen vorderen sowie des hinteren Augenabschnittes nicht möglich war. Bis zur Durchführung der Explantations-OP wurde daher auf weitere detaillierte Untersuchungen verzichtet.

2.7: Operatives Vorgehen bei der Explantation

Zur Explantation des zuvor eingebrachten Komplettsystems werden im Wesentlichen die unter 2.4 beschriebenen Schritte rückgängig gemacht. Dieser zweite chirurgische Eingriff erfolgt bei allen Versuchstieren vier Wochen nach der Implantation.

Die Vorbereitung einschließlich Anästhesie, Lagerung, Desinfektion und Abdecken erfolgen analog der Implantations-Operation (vgl. 2.3.2 bzw. 2.4). Anschließend wird die Vorderkammer erneut eröffnet und gespült, mit dem Ziel, durch Entfernung der Blutkoagel den Augenhintergrund einsehbar zu machen. Dort kann dann der Netzhautnagel entfernt und somit der Stimulator von der Netzhautoberfläche mobilisiert werden. Die Entnahme des Implantats erfolgt anschließend durch den vollständig wiedereröffneten cornealen Zugang. Abschließend wird der corneale Schnitt erneut vernäht. Das durch die Nagelfixation zwangsläufig entstehende Netzhautloch wird mittels Endolaser umstellt, da sonst eine Netzhautablösung begünstigt würde. Zur Prophylaxe postoperativer Komplikationen erhält das Tier Isopto-Max®-Augentropfen.

2.8: Histologie

Nach einer erneuten postoperativen Phase von 4 Wochen werden die Versuchsaugen enukleiert. Anschließend an eine makroskopischen Inspektion wird das Gewebe exemplarisch mit verschiedenen Verfahren für die lichtmikroskopische Untersuchung präpariert:

Nach Einbettung in Paraffin erfolgt die Anfertigung einer HE-Färbung sowie verschiedener immunhistochemischer Färbungen. Die verwendeten Antikörper sowie die Aussagekraft des Nachweises ihrer spezifischen Antigene zeigt Tabelle 2.

Weitere Proben werden nach Einbettung in Hartkunststoff anhand einer Schlifftechnik so aufgearbeitet, dass eine Darstellung der soliden Netzhautnägel in enger Beziehung zu dem umgebenen Netzhautgewebe möglich wird.

Tabelle 2: Verwendete Antikörper zur immunhistochemischen Färbung

Bezeichnung des Antikörpers	Abkürzung	Gewebespezifität	Bedeutung für die Gewebeuntersuchung
Cluster of Differentiation 68	CD 68	Makrophagen und Mikroglia	Zeigt Phagozytose und somit Abbauprozesse an
Leucocyte Common Antigen	LCA	Makrophagen und Lymphozyten	Zeigt inflammatorische Gewebereaktion an
Glial Fibrillary Acidic Protein	GFAP	Aktivierte Müllerzellen	Zeigt Reaktion der retinalen Gliazellen an

3. E R G E B N I S S E

3.1 Intra- und Postoperative Befunde

Zur Vorbereitung der Implantation wurde bei allen Tieren die Linse mittels Phakoemulsifikation entfernt. Anschließend erfolgte eine Pars-plana-Vitrektomie, bei welcher in allen Tieren erfolgreich eine Abhebung der hinteren Glaskörpergrenzmembran induziert wurde. Bevor nun die Hornhaut über 180° eröffnet wurde (Abbildung 15 A) legten wir eine hintere Kapsulotomie an, um im weiteren Verlauf des Eingriffs den Stimulatoranteil in den Glaskörperraum einführen zu können.

Im nächsten Schritt wurde das Implantat mit dem Empfängermodul voran in das Auge vorgeschoben (Abbildung 15 B), wobei die Empfängerspule bei einem Versuchstier wie geplant durch die Pupille hinter der Iris platziert werden konnte, während bei 4 Schweinen aufgrund der Größe des Empfängermoduls alternativ eine Platzierung in der Vorderkammer gewählt wurde.

Anschließend wurde der Stimulorkopf an dem Empfänger vorbei durch die angelegte Kapsulotomie in den Glaskörperraum geschoben, wo er auf der PFCL-Blase zu liegen kam.

Nach Absaugen des PFCL wurde die Stimulatorfolie auf der Netzhaut positioniert und konnte in allen Fällen mit zwei Netzhautnägeln fixiert werden (Abbildung 15 D und E). Während alle Operationen durch erhöhte Blutungsneigung in der Vorderkammer erschwert wurden, kam es bei der Fixation in keinem Versuchstier zu weiteren Blutungen.

Zur Prophylaxe von Nachblutungen wurde bei den letzten beiden Schweinen eine Endotamponade des Glaskörperraumes mittels Luft erzielt (Abbildung 15 F). Bei den ersten 3 Augen war sterile BSS zur in den Glaskörperraum instilliert worden.

Nach Entfernen der Infusion wurden abschließend die Operationszugänge verschlossen.

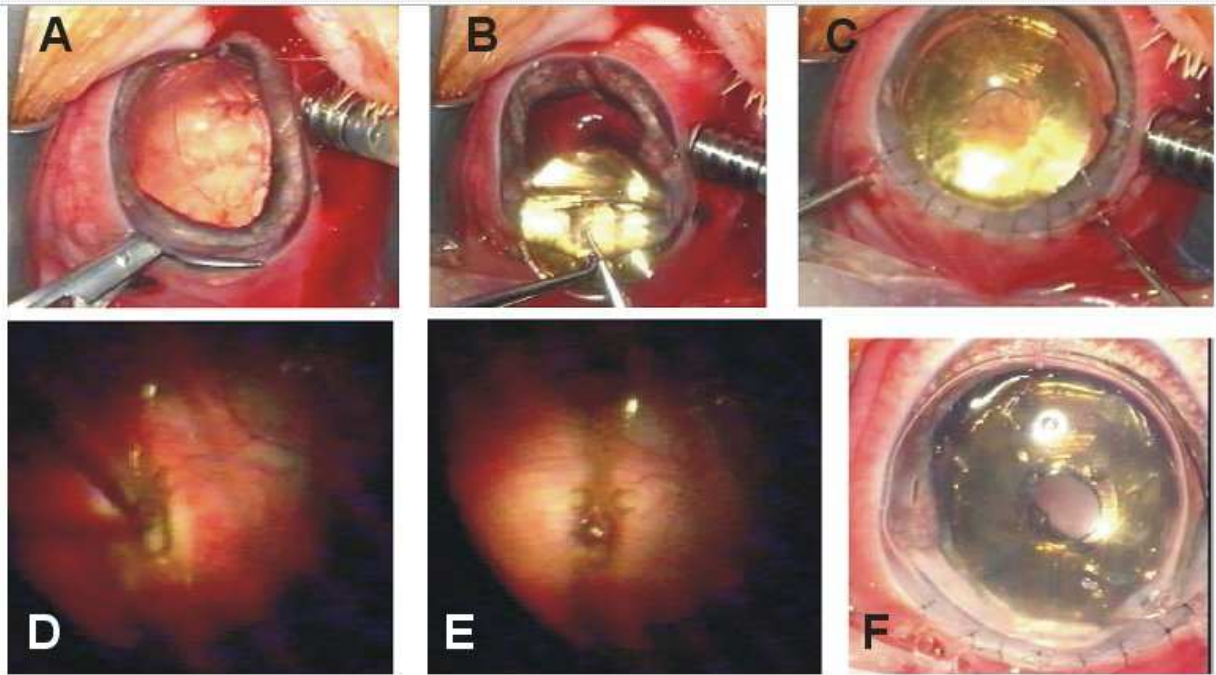


Abbildung 15: Implantation von EPI-RET® III Komplettsystemen beim Schwein:

A) Eröffnung der Vorderkammer des bereits aphaken Auges.

B) Einschieben des Empfangmoduls

C) Wundverschluss

D) Nagelfixation im Langloch an der Basis des Stimulators

E) Stimulator in situ

F) Z.n. Luftauffüllung

Ab der ersten postoperativen Untersuchung der Versuchsaugen nach zwei Wochen war bei allen Versuchstieren eine ausgedehnte Blutung festzustellen, welche die Vorderkammer vollständig ausfüllte. Bei der Explantation wurde daher zunächst die Vorderkammer zur Entfernung der Blutkoagel gespült, wobei erneut verstärkte Blutungen aus Iris und Ziliarkörper auftraten. Ein Funduseinblick war demzufolge bei einigen Augen unmöglich, so dass das Implantat nur unvollständig geborgen werden konnte. In diesen Fällen wurde der vordere Teil (Empfänger) vom Stimulator-Kabel abgetrennt. Letzteres wurde mit dem Stimulator-Kopf im Auge belassen, während nur der Empfänger entfernt wurde.

Aufgrund dieser Schwierigkeiten wurde eine Modifikation des operativen Vorgehens vorgenommen. Anstelle des Einbringens des Implantates in den Sulcus ciliaris, ähnlich einer Intraokularlinse, wurde der Empfängerteil in der Vorderkammer platziert, vergleichbar einer Vorderkammerlinse. Zusätzlich wurde das Auge zum Ende der Operation mit einer Endotamponade aus Luft aufgefüllt. Nach Umsteigen auf diese Vorgehensweise wurde die vollständige Explantation eines intakten Implantates möglich (siehe Abbildung 16). Nach der Entnahme des Implantats zeigte sich funduskopisch eine zirkuläre Netzhautanlage ohne nennenswerte Narbenreaktion.

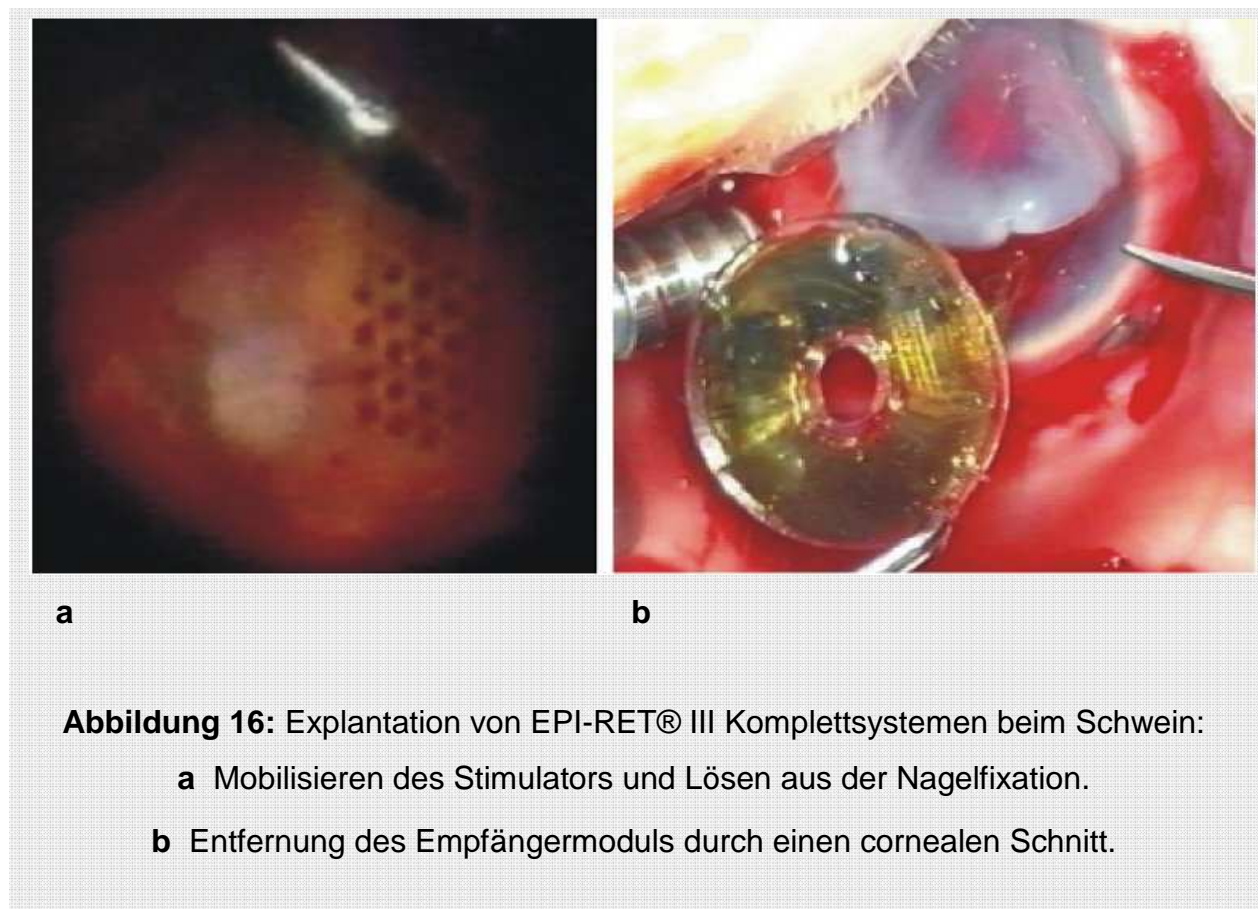


Abbildung 16: Explantation von EPI-RET® III Komplettsystemen beim Schwein:
a Mobilisieren des Stimulators und Lösen aus der Nagelfixation.
b Entfernung des Empfängermoduls durch einen cornealen Schnitt.

Die Ergebnisse und Besonderheiten der einzelnen Versuchstiere im Detail zeigt Tabelle 3.

Tabelle 3: Vergleich wichtiger Eckdaten jedes Versuchstiers im Verlauf der Studie.

Versuchstier	1	2	3	4	5
Implantation erfolgreich	Ja	Ja	Ja	Ja	Ja
Position der Empfänger- spule	Sulcus ciliaris	Vorderkammer	Vorderkammer	Vorderkammer	Vorderkammer
Postoperativer Verlauf	VK-Blutung, sonst reizarmer Befund	VK-Blutung + Fibrin, sonst reizarmer Befund	VK-Blutung, sonst reizarmer Befund	VK- und GK- Blutung, sonst reizarmer Befund	VK-Blutung, sonst reizarmer Befund
Anzahl / Position der Netzhautnägel	2 / Basis + Apex des Stimulators	1 / Apex des Stimulators	1 / Apex des Stimulators	1 / Basis des Stimulators	1 / Apex des Stimulators
Endotampo- nade	BSS	BSS	BSS	Luft	Luft
Intraokuläre Verweildauer des Implantats	4 Wochen	4 Wochen	4 Wochen	4 Wochen	4 Wochen
Explantation gelingen	Nein	Nur Empfänger- spule	Nur Empfänger- spule	Vollständig, in 2 Teilen	Vollständig, intakt

3.2 Histologie

Die HE-Färbung zeigte geringe Veränderungen des retinalen Gewebes in Form einer mäßigen Vakuolisierung der inneren Körnerzellschicht (Abbildung 17). Immunhistochemisch ließ sich eine Hyperplasie der Müller-Zellen, d.h. eine moderate Gliazell-Aktivierung erkennen (Abbildung 18). Inflammatorische Zellen waren jedoch wie in der normalen Retina nicht zu finden (Abbildung 19). Anhand der Schlifftechnik ist zu festzustellen, dass auch die Netzhaut in enger räumlicher Beziehung zu den verwendeten Netzhautnägeln keine zelluläre Reaktion auf das Fixationstrauma und lichtmikroskopisch keine deutliche Gewebeerstörung aufweist (Abbildung 20).

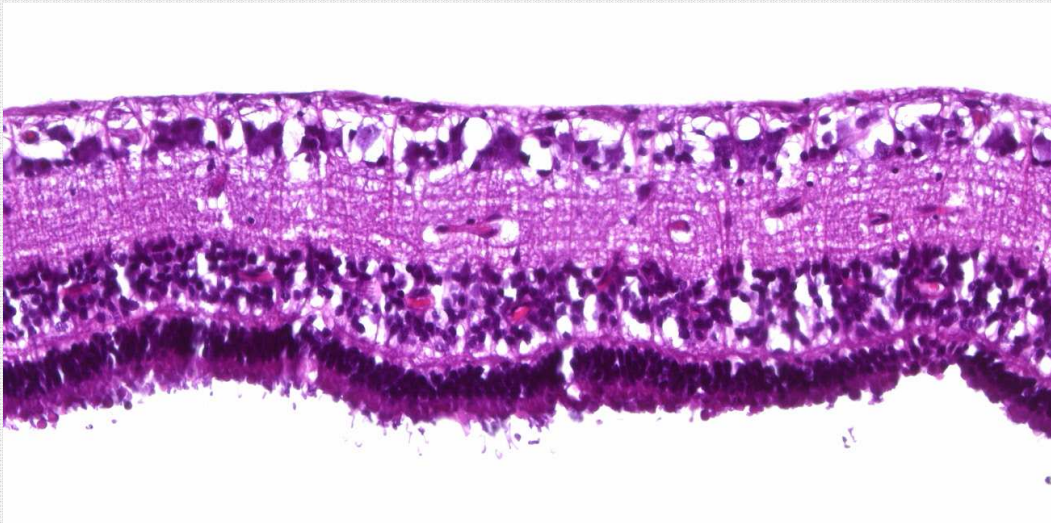


Abbildung 17: Ubiquitäre Vakuolisierung der inneren Körnerzellschicht (HE-Färbung).

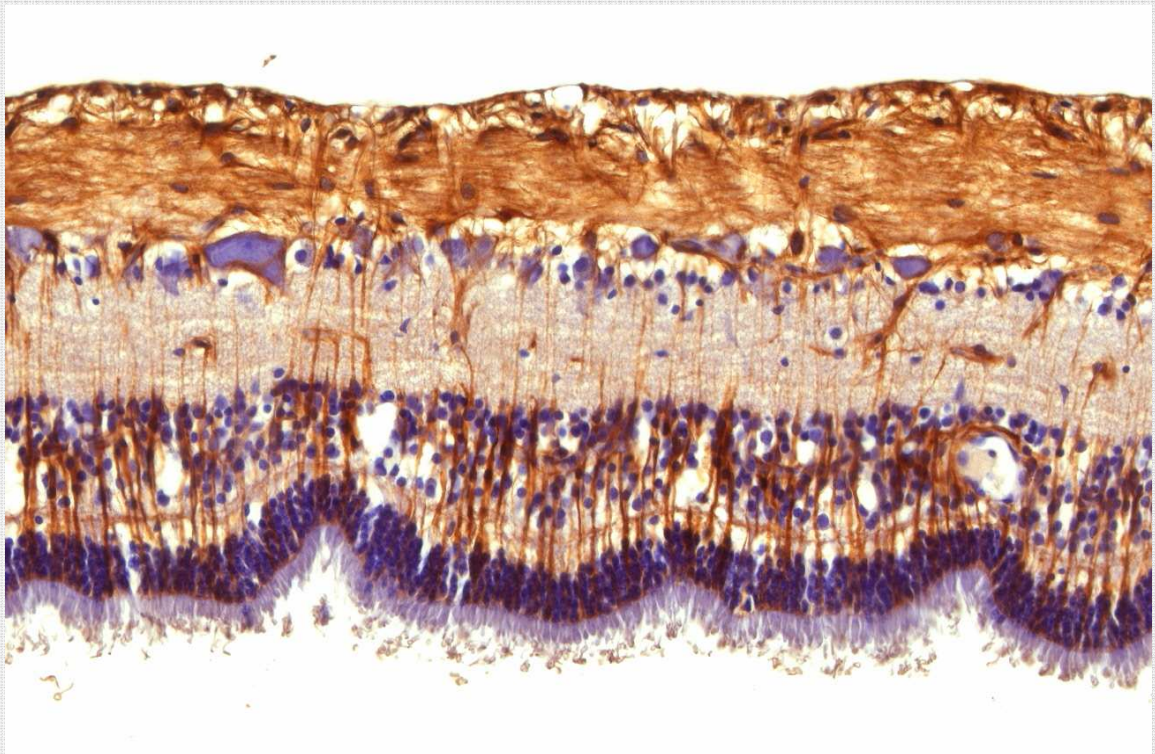
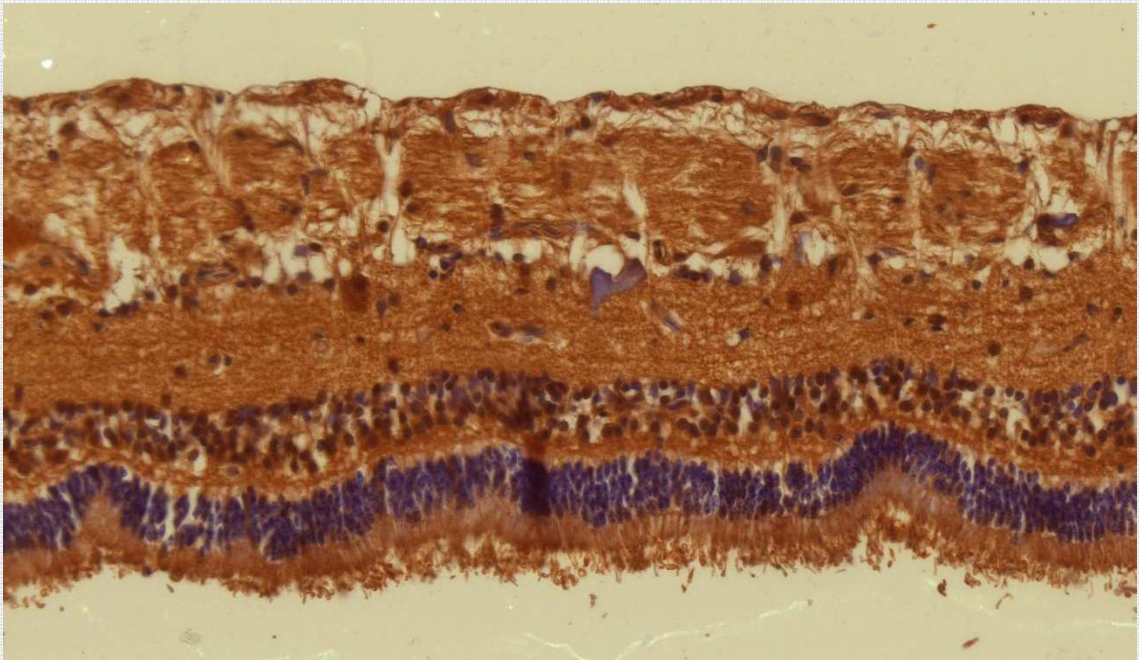
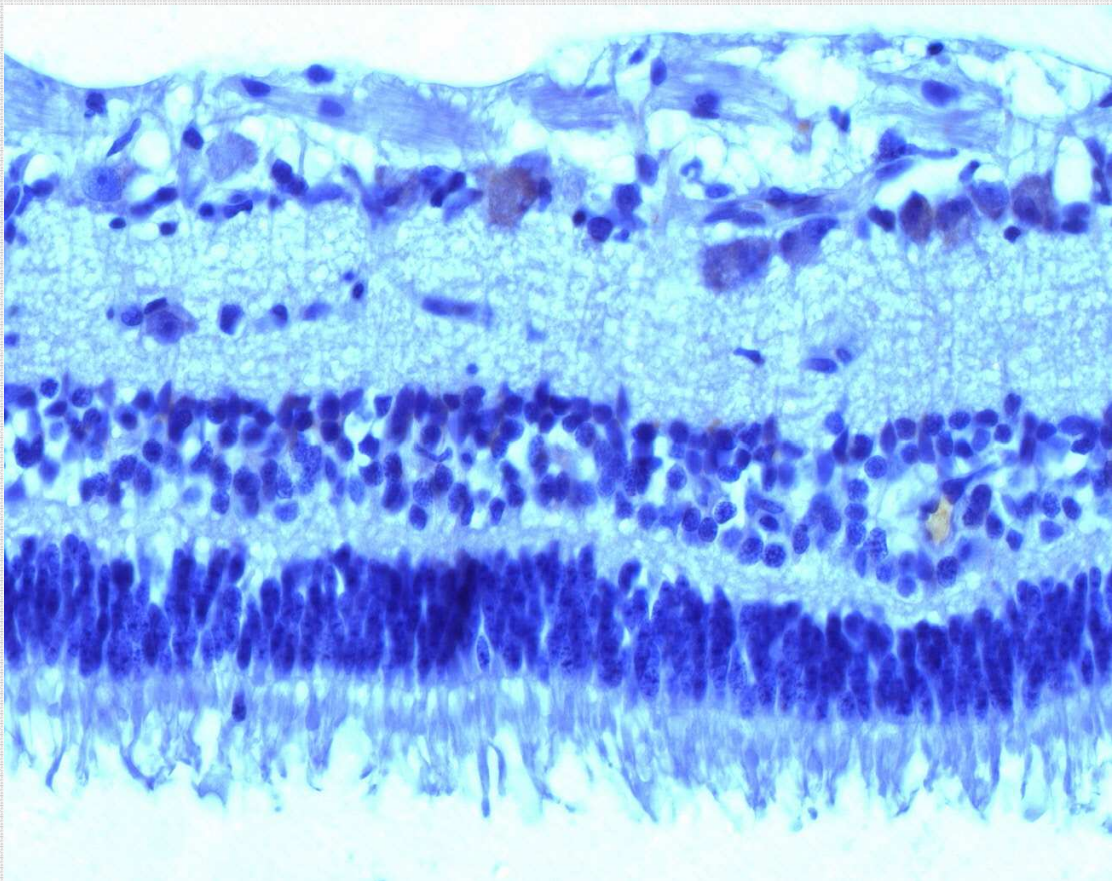


Abbildung 18: Aktivierte Müller-Zellen kommen vermehrt zur Darstellung, ihre typischen Fortsätze reichen transretinal (Immunhistochemische Färbung mit GFAP).



a

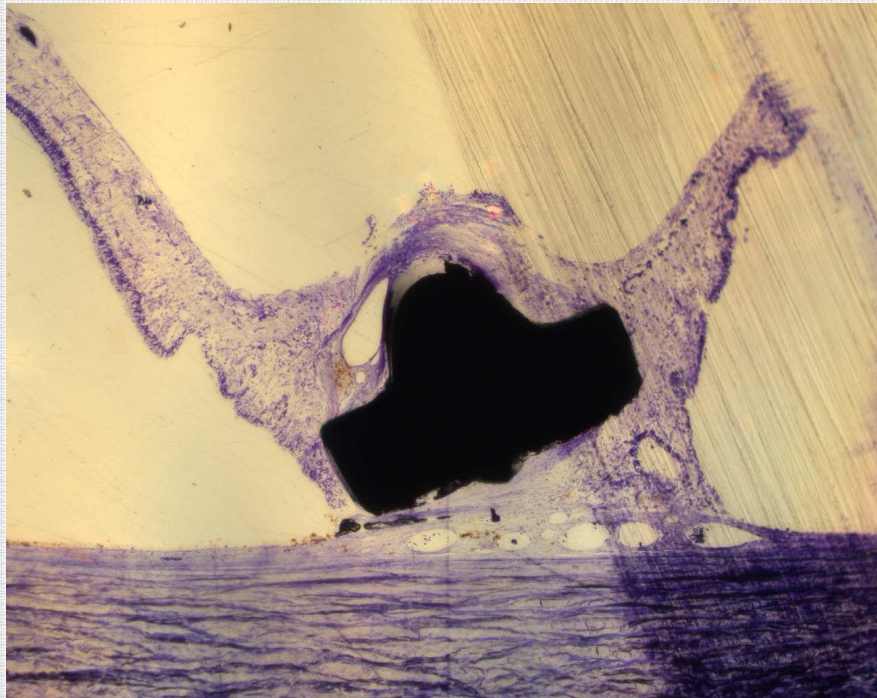


b

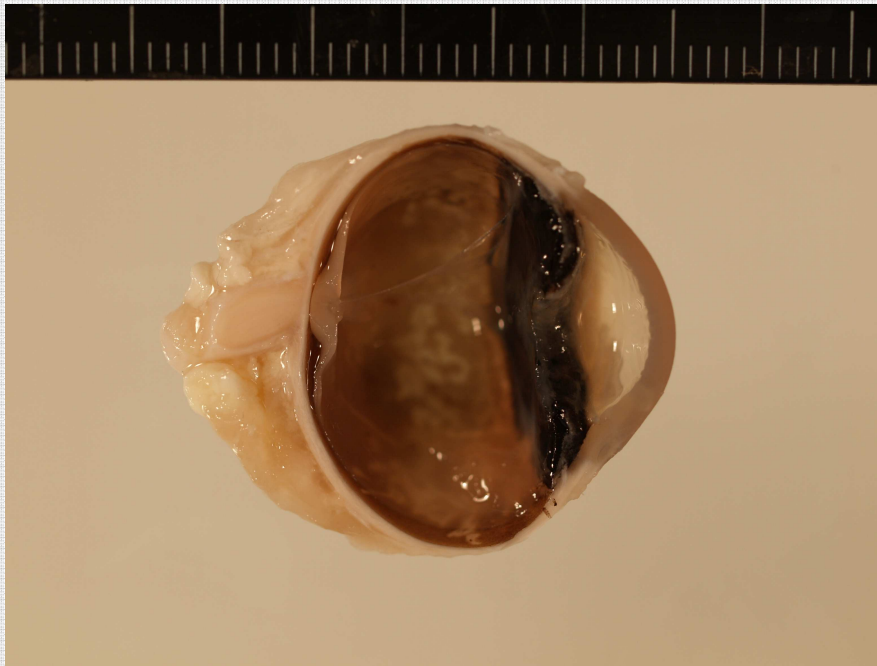
Abbildung 19: Immunkompetente Zellen wie Macrophagen, Lymphozyten oder aktivierte Microglia konnten immunhistochemisch nicht nachgewiesen werden:

a Färbung mit LCA

b Färbung mit CD68



a



b

Abbildung 20:

a Intraretinaler Netzhautnagel (Feinschlifftechnik), leichte Gliose in der Umgebung des Netzhautnagels. Die umgebende Ablösung der Netzhaut vom retinalen Pigmentepithel ist a.E. ein Fixationsartefakt. So zeigt die makroskopische Aufnahme **(b)** noch eine vollständige Netzhautanlage bei weitestgehender Integrität der okulären Strukturen.

4. DISKUSSION

4.1: Tiermodell Minipig

Die Wahl des Tiermodells Minipig wurde durch eine dem menschlichen Auge grundsätzlich ähnliche Anatomie sowie vergleichbare Größenverhältnisse bestimmt (31;51;60). Als vorteilhaft erwies sich eine hieraus entstehende Vorhersagekraft für die erzielbaren Erfolge beim menschlichen Probanden. Hierzu leistete auch der relativ hohe Bekanntheitsgrad des Minipig als Versuchstier einen Beitrag, ebenso wie die Tatsache, dass andere Experimente zur Entwicklung von Sehprothesen ebenfalls am Minipig durchgeführt wurden (56;59;80;82;82)

Die anatomischen Unterschiede des porkinen Auges im Vergleich mit dem Menschen jedoch stellten sich durchaus als spürbare Nachteile dieses Modells heraus. Die besondere Blutungsneigung erschwerte sowohl die Nachuntersuchung als auch die vollständige Explantation. Ursächlich scheint die deutlich ausgeprägtere Vaskularisation von Iris und Ziliarkörper im porkinen Auge, verglichen mit der Situation beim Menschen. Auch die starke Ausbildung von vaskularisierten Membranen ließe sich hierauf zurückführen.

Die Gefahr einer peri- oder postoperativen Amotio retinae konnte durch den prophylaktischen Einsatz eines Netzhautlasers erfolgreich und ohne Beeinträchtigung der Versuchsreihe abgewendet werden.

4.2: Implantation und Explantation

Das EPI-RET®-System stellt ein neues Medizinprodukt dar, welches einer speziellen mikrochirurgischen Technik zum Einbringen in das Auge bedarf. Diese implantations- und explantationschirurgische Strategie jedoch fußt auf einer seriellen Abfolge bereits bekannter, etablierter Methoden. Abgesehen von der Insertion des Systems selbst sind diese vorbereitenden Prozeduren in der Ophthalmochirurgie seit geraumer Zeit bekannt:

- Die extrakapsuläre Linsenextraktion mittels Phakoemulsifikation ist in Deutschland der häufigste chirurgische Eingriff in der Ophthalmologie (15). Ihre Durchführung kann somit als etabliert angesehen werden.
- Die Anlage eines Hornhautschnittes im Bereich des Limbus gehört seit Einführung der Phakoemulsifikation sowie faltbarer Intraokularlinsen nicht mehr zur Routine der Kataraktchirurgie. Die Technik kommt jedoch auch im Rahmen anderer Eingriffe (z.B. bei Hornhautverletzungen) zum Einsatz und kann somit ebenso als eine gängige Prozedur betrachtet werden.
- Die Pars-plana-Vitrektomie (PPV) ist ein in der klinischen Praxis ebenfalls häufig durchgeführter Eingriff, welcher den Zugang zum hinteren Augenabschnitt und Operationen an der Netzhaut ermöglicht. Anwendungsbeispiele sind epiretinale Gliose, proliferative diabetische Retinopathie oder Netzhautablösung. Im Jahr 2006 waren Eingriffe an der Retina mit Pars-plana-Vitrektomie die an der Universitäts-Augenklinik der RWTH Aachen am häufigsten durchgeführte operative Prozedur (1). Somit ist auch diese Technik als sehr gebräuchlich einzustufen.
- Der klinische Einsatz von Netzhautnägeln erfolgt gemeinsam mit einer PPV zur Refixation der Retina am Augenhintergrund bei komplizierten Netzhautablösungen. Bei den Netzhautnägeln handelt es sich um zugelassene Medizinprodukte, die für den klinischen Alltag bereits zur Verfügung stehen (8;25).

Die Tatsache dass die Implantation des EPI-RET®-Systems eine Kombination der oben geschilderten, bereits etablierten Verfahren ist erweist sich als Vorteil für die experimentelle und klinische Umsetzbarkeit.

Bei der Explantation werden die beim Einbringen der Prothese vollzogenen Schritte wieder rückgängig gemacht. Hierzu gehören im Einzelnen das Wiedereröffnen des Hornhautschnittes, Lösen des Stimulorkopfes von der Netzhautoberfläche, Entnahme des Systems über die Vorderkammer und erneuter Verschluss am Limbus.

Die Feststellung dass die Explantation somit im Grunde lediglich die Umkehrung der Implantation darstellt kann als weiterer Vorteil des EPI-RET®-Konzeptes angesehen werden.

Trotz der Verwendung bekannter Operationsmethoden wurden die Eingriffe durch die bereits dargestellte Blutungsneigung im Vorderabschnitt der Versuchsaugen erschwert. Während der Implantation konnten diese Blutungen intraoperativ durch eine Anpassung der Höheneinstellung der Infusionslösung zur vorübergehenden Erhöhung des intraokulären Druckes ausreichend kontrolliert werden.

Postoperativ jedoch führten Nachblutungen zu einer vollständigen Blutfüllung der Vorderkammer. Detaillierte Nachuntersuchungen mit Kontrolle von korrektem Sitz und Verträglichkeit des Implantats waren somit kaum durchführbar.

Insbesondere bei der Explantation bereitete die beschriebene Blutungsneigung des Gewebes Schwierigkeiten. Daher wurde das operative Vorgehen modifiziert: Die Empfängerspule fand ihren Sitz nun in der Vorderkammer, und zur Endotamponade wurde gegen Ende des Eingriffs Luft in das Auge eingefüllt. Unter Zuhilfenahme dieser Maßnahmen konnten die Manipulation der Iris und die Blutungsneigung verringert werden. Eine vollständige Entfernung eines intakten Implantats wurde somit gegen Ende der Versuchsreihe durchführbar. Anhand der im Laufe der Operationsreihe gewonnenen Erfahrungen im Umgang mit dem porkinen Auge wurde die erfolgreiche Demonstration der Machbarkeit von Implantation und Explantation ermöglicht.

4.3: Andere chirurgische Implantationsverfahren

Eingangs beschrieben wurden die unterschiedlichen experimentellen Ansätze zur visuellen Rehabilitation bei Patienten, welche als Folge hereditärer Netzhautdystrophien erblindet sind: Stimulation der Sehrinde oder des N. opticus sowie subretinale, epiretinale oder transsklerale Stimulation der Netzhaut.

Hier soll nun insbesondere die chirurgische Umsetzung der unterschiedlichen Verfahren betrachtet werden, die derzeit parallel zum EPI-RET Konzept weiterentwickelt werden.

4.3.1: Extraokuläre Stimulation im Verlauf der Sehbahn

Die Implantation und Ankoppelung eines Stimulators an den visuellen Kortex weist noch wesentliche Schwierigkeiten auf. Für den chirurgischen Zugang ist eine

Eröffnung der Schädeldecke erforderlich (26). Zusätzlich liegt der visuelle Kortex in einer Falte. Aufgrund der anatomischen und physiologischen Gegebenheiten des optischen Systems ist eine Zuordnung der kortikalen Regionen zu einer bestimmten Netzhautstelle nur bedingt möglich (32). Auch ist ein drahtloses System derzeit noch nicht in Aussicht, die verwendete Kabelverbindung agiert somit weiterhin als mögliche Infektionsbrücke.

Zur Stimulation des N. opticus muss dieser durch einen anspruchsvollen da vergleichsweise ausgedehnten Eingriff an der Orbita zunächst erreicht werden. Der Eingriff beinhaltet eine Dissektion der Dura, einschließlich zugehöriger Gefahren wie Infektion oder Unterbrechung der Blutversorgung des N. opticus (50). Ist der Zugang zum Nerv geschaffen, erschwert die dichte Zusammenlagerung der einzelnen Nervenfasern eine orts aufgelöste Stimulation.

4.3.2: Intraokuläre Stimulation im Bereich der Retina

Wird als Stimulationsort die Retina gewählt, so bringt dies mehrere Vorteile mit sich. Zum einen sind die Anforderungen an eine Codierung des Stimulationssignales geringer. Grund hierfür ist, dass die Vorverarbeitung durch neuronale Vernetzung an diesem früheren Angriffspunkt im visuellen System weniger weit fortgeschritten ist. Die Kortexaktivierung kann durch Ausnutzung der noch vorhandenen physiologischen Leitungsbahnen erreicht werden (48;79).

Hinzu kommen Erfahrungen mit der anatomischen Region Retina aus einer großen Zahl von Operationen im und am Auge. Anatomie, Physiologie und insbesondere der chirurgische Zugang zum Stimulationsort sind durch routinemäßige Eingriffe vertraut.

4.3.2.1: Subretinales Implantat

Unterschiedliche Zugangswege für das Einbringen von Implantaten in den subretinalen Raum wurden oben beschrieben: Der Zugang „ab externo“ sowie der Zugang „ab interno“ (siehe 1.2.1.3).

Bei einem Zugang ab externo bleibt der Glaskörperraum unberührt. Hierdurch würden mögliche Komplikationen der Vitrektomie wie Vitreoretinopathie, Infektion oder Netzhautablösung vermieden. Da die subretinale Platzierung der

Stimulatorfolien keine besondere Fixation erfordert, entfällt eine zusätzliche Traumatisierung des Auges durch die Anwendung von Netzhautnägeln (95).

Beim Eröffnen der Aderhaut besteht jedoch eine nicht unerhebliche Blutungsgefahr. Auch Verletzungen der Netzhaut im Zuge der Schaffung eines subretinalen Raumes bzw. während des Vorschiebens des Stimulators in diesen Raum stehen zu befürchten.

Der Zugang ab interno ähnelt anderen klinischen Standardoperationen an der Netzhaut und ist somit gut kontrollierbar. Der intraokuläre Eingriff lässt jedoch eine höhere Komplikationsrate befürchten. Hierbei stehen Vitreoretinopathie, Infektion und Netzhautablösung im Vordergrund. Zudem ist eine Penetration von Sklera und Choroidea bei diesem zunächst rein intraokulären Vorgehen letztlich dennoch erforderlich, da zur externen Energiezufuhr Kabelverbindungen bis hinter das Ohr verlegt werden müssen. Durch Zug an der Kabelverbindung kann es trotz zunächst erfolgreicher subretinaler Platzierung nachträglich zu einer Dislokation des Implantats kommen.

4.3.2.2: Transsklerale Stimulation

Ziel dieses vergleichsweise jungen Konzepts ist es, durch minimale Invasivität eine Reduktion intraokulärer Komplikationen wie Gewebereaktion, Infektion oder Netzhautablösung zu erreichen (36). Ob die multiple Penetration durch Elektroden von extraokulär bis in den Glaskörperraum im Vergleich zu anderen Verfahren bei chronischer Implantation (>3 Monate) weniger Komplikationen nach sich zieht, ist derzeit kaum vorherzusagen. Während intraokuläre Prozeduren (Vitrektomie, Linsenentfernung, ggfs. transsklerale Kabelführung, temporäre Ablatio retinae für subretinales Implantat, Endotamponade) umgangen werden, wird das Auge nun von außen umfangreich manipuliert (Operativer Zugang zur Orbita, Absetzen mehrerer Augenmuskeln, episklerale Fadenfixierung des Implantats, Reinsertion der Augenmuskeln). Schwierigkeiten bereitet bei diesem Ansatz auch die genaue Steuerung der gewünschten Penetrationstiefe, um die exakte intraretinale Lage und somit Funktion der Elektroden vorherzubestimmen.

4.3.2.3: Epiretinales Implantat

Das von Humayun und seiner Arbeitsgruppe entwickelte Implantat hat wie auch die weiteren epiretinalen Vorrichtungen den Vorteil, dass der chirurgische Zugang zur Netzhaut eine gängige ophthalmologische Operation ist. Das erste, in Zusammenarbeit mit der Firma Second Sight Medical Products gefertigte und bereits im Humanversuch zur Anwendung gekommene Modell dieses Implantats verfügt jedoch über eine transsklerale, transchoroidale und transretinale Kabelverbindung (49). Diese verbindet den epiretinalen Stimulator mit einer Empfängerspule, welche im temporalen Schädel verpflanzt wird. Die Einpflanzung dieses Empfängers profitiert von Vorerfahrungen mit Cochlearimplantaten, welche ebenfalls im Schädelknochen fixiert werden. Jedoch muss die intraokuläre Operation durch weitere, die Bulbuswand penetrierende Schritte ergänzt werden. Um eine Beschädigung des Verbindungskabels durch Augenbewegungen des Patienten zu vermeiden, müssen diese mittels Injektionen von Botulinumtoxin in die äußeren Augenmuskeln unterbunden werden (49).

Das von der Gruppe um Eckmiller entwickelte Implantat der Firma Intelligent Medical Implants bedient sich wie die verwandten Systeme einer externen Signal-Vorverarbeitung, welche auch in diesem Fall drahtlos zu der epiretinal fixierten Mikrokontaktfolie übertragen wird (29). Der Empfänger liegt jedoch auch hier epibulbär, so dass das zu dem epiretinalen Stimulator führende Kabel alle okulären Wandstrukturen überbrücken muss.

In der Zusammenschau wird deutlich, dass sich eine Vielzahl teilweise recht unterschiedlicher Ansätze zur Erzeugung künstlichen Sehens derzeit in der Entwicklung befindet. Der Vergleich unterschiedlicher chirurgischer Strategien mit der hier beschriebenen Methode zeigt, dass jedes Implantationschirurgische Verfahren ein spezifisches Profil von Vorteilen und Schwierigkeiten mit sich bringt. Dies gilt analog für weitere Aspekte, wie Biokompatibilität oder Qualität des erzielbaren Seheindrucks.

Beim klinischen Einsatz könnte somit eine Anwendung kortikaler Stimulation die Therapie der ersten Wahl für Patienten mit einer weiter anterior liegenden Störung darstellen, beispielsweise bei Untergang einer großen Zahl von Ganglienzellen oder bei Zerstörung des Chiasma opticum. Hingegen mag ein Patient mit weitgehend intakten neuronalen Leitungsbahnen von einer sub- oder epiretinalen Stimulation

mehr profitieren. Für eine korrekte Funktion eines subretinalen Implantates muss der optische Apparat des Auges nutzbar sein, während bei Trübungen der brechenden Medien epiretinale Sehprothesen mit ihrer externen Bildwahrnehmung über die CMOS-Kamera geeigneter sein könnten.

Bei der Betrachtung der Chirurgie des Epiret-Konzeptes stehen die bereits diskutierten Aspekte wie die Nutzung etablierter Operationen oder der Verzicht auf durch die Bulbuswand oder die Körperoberfläche hindurchtretende Kabelverbindungen im Vordergrund. Die nahezu vollständige Verkapselung mit bewährten, aus der Fertigung von Intraokularlinsen bekannten, biokompatiblen Materialien kann ein Vorteil gegenüber penetrierender Elektroden sein, welche auf ihrer gesamten Länge mit den Hüllstrukturen des Auges in direktem Kontakt stehen. Im Zuge der weiter voranschreitenden Entwicklung der unterschiedlichen Sehprothesen gilt es, zusätzliche Erfahrungen zu sammeln. Durch weitere Verbesserung und Erprobung der unterschiedlichen Technologien sollten auch die unterschiedlichen Profile bestimmt und Einsatzmöglichkeiten für jeweils geeignete Patientengruppen definiert werden.

4.4: Histologie

Die anhand der HE-Färbung nachweisbare Vakuolisierung der inneren Körnerzellschicht ist ubiquitär vorhanden. Die immunhistochemisch aufgezeigte Aktivierung der Müllerzellen stellt das zelluläre Korrelat dieser retinalen Alteration dar. Es lässt sich kein räumlicher Zusammenhang mit der Positionierung des Implantates nachweisen. Somit ist davon auszugehen, dass diese Veränderungen eine unspezifische Reizreaktion der Netzhaut auf das Operationstrauma darstellen, welche grundsätzlich reversibel und daher unkritisch ist.

Eine inflammatorische Reaktion ist immunhistochemisch mit keinem der verwendeten Antikörper nachweisbar. Dies spricht – in Übereinstimmung mit den Voruntersuchungen – deutlich für eine Biokompatibilität der verwendeten Hüllmaterialien und auch der Reizelektroden.

Anhand der Schlifttechnik ist die Netzhaut in der Umgebung der Netzhautnägel darstellbar, eine Evaluierung des Fixationstraumas wird möglich. An der Stelle der Nagelpenetration ist eine Lokale Kontinuitätsunterbrechung der Netzhaut wie zu erwarten vorhanden. Bereits in nächster Umgebung jedoch zeigen sich die

Netzhautbestandteile unbeeinflusst von dem eingedrungenen Fremdkörper, erneut wird eine inflammatorische Reaktion nicht erkennbar. Eine leichte Gliose sowie geringe Blutungsresiduen in der Umgebung der Netzhautnägeln sind bekannte Begleiterscheinungen bei der Verwendung von Netzhautnägeln und beeinträchtigen oder bedrohen nicht die Integrität der intraokulären Strukturen.

Insgesamt sehen wird daher keine relevante Beeinflussung der Retina durch den chirurgischen Eingriff, das Implantat oder das Befestigungsmaterial. Somit ist langfristig ein negativer Einfluss auf die Sicherheit des Trägers oder die Funktionalität des Implantates nicht zu erwarten.

4.5: Humanstudie

Es konnte gezeigt werden, dass das EPI-RET® III System im Tiermodell Minipig implantierbar sowie auch explantierbar ist. Die grundsätzliche Machbarkeit einer Implantation sowie Explantation beim Menschen erscheint somit möglich. Insbesondere ist dies dadurch begründet, dass beim Menschen weitaus mehr Erfahrungen mit den zur Implantation und Explantation eingesetzten Operationsverfahren vorliegen. Die Anatomie des menschlichen Auges ist vertrauter, die verwendeten Techniken und Materialien speziell hierauf zugeschnitten. Die Neigung zu einer Blutung oder Fibrinexsudation ist beim menschlichen Auge in der Regel geringer als bei dem verwendeten Tiermodell. Insbesondere die hier dargestellten Komplikationen sind daher beim Menschen im gleichen Ausmaß nicht zu erwarten. Das Einsetzen des Empfängerchips in den Sulcus ciliaris verspricht beim Menschen aufgrund der Analogie zur Katarakt-Operation einen guten Erfolg. Zusätzlich deuten die histopathologischen Ergebnisse auf eine sichere Implantierbarkeit auch im menschlichen Auge hin.

Das Risiko für einen Probanden beim Humanexperiment ist kalkulierbarer geworden. Es liegen somit die nach §20 Absatz 1 Nr. 1 und 5 des Medizinproduktegesetzes für eine erste Implantation eines derartigen Systems bei menschlichen Probanden erforderlichen Erfahrungen bezüglich der Risiken vor. Jenes ist der nächste wichtige Entwicklungsschritt auf dem Weg zur klinischen Zulassung einer vollständig implantierbaren epiretinalen Sehprothese. Die im Rahmen dieser Versuchsreihe erarbeiteten Ergebnisse tragen dazu bei, diesen Schritt vollziehen zu können.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Hereditäre Rezeptordegenerationen der Netzhaut, wie die Retinitis pigmentosa, führen zu einem progredienten Visusverlust und münden häufig in einer vollständigen Erblindung des Patienten. Bisher ist es nicht gelungen das Fortschreiten des Krankheitsprozesses aufzuhalten. Zur visuellen Rehabilitation Betroffener wird die Entwicklung einer künstlichen Sehprothese angestrebt. Durch Fortschritte in der Mikrotechnologie und Mikrochirurgie werden unterschiedliche Ansätze denkbar, insbesondere die Stimulation der Netzhaut durch epiretinale, subretinale oder transsklerale Elektroden. Voruntersuchungen deuten an, dass die Elektrostimulation im Bereich der Netzhaut durch eine chronisch implantierte Mikrokontaktfolie geeignet ist, bei Patienten langfristig stabile Sehphänomene zu erzeugen, welche bei der Orientierung im Raum von Nutzen sein können.

Gegenstand der vorliegenden Arbeit ist ein vollständig intraokulär implantierbares und drahtlos aktivierbares epiretinale Empfänger- und Stimulatorsystem. Im Zuge der Entwicklung dieses Systems konnten u.a. die Verträglichkeit der verwendeten Materialien im Auge, eine reversible epiretinale Fixierung durch Netzhautnägel, die Machbarkeit der Implantation eines solchen Systems sowie die Auslösung lokaler kortikaler Aktivierung bei drahtloser Ansteuerung demonstriert werden. Ziel der hier beschriebenen Versuchsreihe war es nun, die sichere Durchführbarkeit der Implantation sowie auch der Explantation des Modells EPI-RET® III zu zeigen und immunhistochemisch die Gewebeverträglichkeit zu prüfen.

Hierzu wurde das System bei fünf Göttinger Minipigs implantiert. Die Augen dieser Tiere besitzen eine dem menschlichen Auge ähnliche Größe und Anatomie. Nach Phakoemulsifikation der Linse sowie Vitrektomie konnte das Implantat durch einen cornealen Schnitt in das Auge eingebracht werden, wobei der Empfänger im Sulcus ciliaris (bzw. Vorderkammer) und der daran angeschlossene Stimulorkopf auf der zentralen Netzhaut platziert wurden. Zur Explantation wurden diese Schritte wieder rückgängig gemacht, um das Implantat möglichst schonend wieder aus dem Auge zu entfernen. Abschließend erfolgte eine histologische Aufarbeitung der operierten Augen. Hierbei wurde besonderes Augenmerk auf die Darstellung möglicher inflammatorischer und proliferativer Veränderungen gelegt.

Die Verwendung bekannter und etablierter chirurgischer Materialien und Vorgehensweisen erwiesen sich als besondere Vorteile des vollständig intraokulären

Konzepts der EPI-RET®-Prothese. Ausgeprägte Blutungsneigung, bedingt durch die besondere Vaskularisation des Corporis ciliaris beim Schwein, erschwerte jedoch insbesondere die Explantation, so dass die Prothese nicht in allen Fällen vollständig geborgen werden konnte. Dies konnte nur durch eine Änderung der Strategie mit Implantation des Empfängers in loco alio (Vorderkammer statt Sulcus ciliaris) erreicht werden.

Das verwendete Tiermodell Minipig zeigte sich dennoch als geeignet, die grundsätzliche Machbarkeit von Implantation und Explantation des EPI-RET®-Systems zu demonstrieren. Die bei Verwendung des Minipig als Modell aufgetretenen Komplikationen sind beim Menschen nicht im gleichen Ausmaß zu erwarten. Vielmehr liegen beim menschlichen Auge sehr umfangreiche und gute Erfahrungen mit der Implantation technischer Hilfsmittel (Intraokularlinsen) vor. Die Anforderungen des MPG an die Sicherheit für einen menschlichen Probanden bei Implantation und Testung des EPI-RET® III-Systems werden daher erfüllt und eine anschließende Humanstudie erscheint möglich. Gestützt wird diese Annahme durch die Abwesenheit immunkompetenter Zellen und das Fehlen einer stark ausgeprägten glialen Reaktion der Netzhaut in der histopathologischen Aufarbeitung der untersuchten Augen.

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Qualität und Statistik: Top 10 DRGs Augenlinik 2006. <http://www.eyenet-aachen.de/03-05-qualitaet-statistik.html> . 22-6-2008. Universitäts-Augenklinik Aachen.
2. Summaries of Genes and Loci Causing Retinal Diseases. <http://www.sph.uth.tmc.edu/retnet/> . 16-6-2008. RetNet.
3. Al Merjan JI, Pandova MG, Al Ghanim M, Al Wayel A, Al Mutairi S. Registered blindness and low vision in Kuwait. *Ophthalmic Epidemiol.* 2005;12(4):251-7.
4. Ali RR, Sarra GM, Stephens C, Alwis MD, Bainbridge JW, Munro PM et al. Restoration of photoreceptor ultrastructure and function in retinal degeneration slow mice by gene therapy. *Nat.Genet.* 2000;25(3):306-10.
5. Alteheld N, Roessler G, Vobig M, Walter P. The retina implant--new approach to a visual prosthesis. *Biomed.Tech.(Berl)* 2004;49(4):99-103.
6. Alteheld N, Roessler G, Walter P. Towards the bionic eye--the retina implant: surgical, ophthalmological and histopathological perspectives. *Acta Neurochir.Suppl* 2007;97(Pt 2):487-93.
7. Alteheld N, Vobig MA, Marzella G, Berk H, Shojaei R, Heimann U et al. Biocompatibility tests on the intraocular vision aid IOVA. *Biomed.Tech.(Berl)* 2002;47 Suppl 1 Pt 1:176-8.
8. Ando F, Kondo J. Surgical techniques for giant retinal tears with retinal tacks. *Ophthalmic Surg.* 1986;17(7):408-11.
9. Andreo LK, Wilson ME, Apple DJ. Elastic properties and scanning electron microscopic appearance of manual continuous curvilinear capsulorhexis and

vitrectorhexis in an animal model of pediatric cataract. *J.Cataract Refract.Surg.* 1999;25(4):534-9.

10. Bahrami H, Melia M, Dagnelie G. Lutein supplementation in retinitis pigmentosa: PC-based vision assessment in a randomized double-masked placebo-controlled clinical trial [NCT00029289]. *BMC.Ophthalmol.* 2006;6:23.
11. Bennett J, Tanabe T, Sun D, Zeng Y, Kjeldbye H, Gouras P et al. Photoreceptor cell rescue in retinal degeneration (rd) mice by in vivo gene therapy. *Nat.Med.* 1996;2(6):649-54.
12. Berger AS, Tezel TH, Del Priore LV, Kaplan HJ. Photoreceptor transplantation in retinitis pigmentosa: short-term follow-up. *Ophthalmology* 2003;110(2):383-91.
13. Berson EL. Nutrition and retinal degenerations. *Int.Ophthalmol.Clin.* 2000;40(4):93-111.
14. Berson EL, Rosner B, Sandberg MA, Hayes KC, Nicholson BW, Weigel-DiFranco C et al. A randomized trial of vitamin A and vitamin E supplementation for retinitis pigmentosa. *Arch.Ophthalmol.* 1993;111(6):761-72.
15. Bockelbrink A, Rasch A, Roll S, Willich N, Greiner W. [What effects has the cataract surgery on the development and regression of Age-Related Macular Degeneration (AMD)?]. *GMS Health Technology Assessment* 2006;2:Doc21.
16. Brelen ME, De Potter P, Gersdorff M, Cosnard G, Veraart C, Delbeke J. Intraorbital implantation of a stimulating electrode for an optic nerve visual prosthesis - Case report. *Journal of Neurosurgery* 2006;104(4):593-7.
17. Brelen ME, Duret F, Gerard B, Delbeke J, Veraart C. Creating a meaningful visual perception in blind volunteers by optic nerve stimulation. *J.Neural Eng* 2005;2(1):S22-S28.

18. Brindley GS. Sensations produced by electrical stimulation of the occipital poles of the cerebral hemispheres, and their use in constructing visual prostheses. *Ann.R.Coll.Surg.Engl.* 1970;47(2):106-8.
19. Brindley GS, Lewin WS. The sensations produced by electrical stimulation of the visual cortex. *J.Physiol* 1968;196(2):479-93.
20. Buch H, Vinding T, La Cour M, Appleyard M, Jensen GB, Nielsen NV. Prevalence and causes of visual impairment and blindness among 9980 Scandinavian adults: the Copenhagen City Eye Study. *Ophthalmology* 2004;111(1):53-61.
21. Cashman SM, Binkley EA, Kumar-Singh R. Towards mutation-independent silencing of genes involved in retinal degeneration by RNA interference. *Gene Ther.* 2005;12(15):1223-8.
22. Colley NJ, Cassill JA, Baker EK, Zuker CS. Defective intracellular transport is the molecular basis of rhodopsin-dependent dominant retinal degeneration. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1995;92(7):3070-4.
23. Daus W, Volcker HE, Alexandridis E, Kasmann B. Histopathology findings following retinal tack implantation. *Ophthalmologica* 1989;199(4):162-4.
24. Dawson WW, Radtke ND. The electrical stimulation of the retina by indwelling electrodes. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 1977;16(3):249-52.
25. de Juan E Jr, Hickingbotham D, Machemer R. Retinal tacks. *Am.J.Ophthalmol.* 1985;99(3):272-4.
26. Dobbelle WH. Artificial vision for the blind by connecting a television camera to the visual cortex. *ASAIO J.* 2000;46(1):3-9.
27. Dobbelle WH, Mladejovsky MG, Evans JR, Roberts TS, Girvin JP. "Braille" reading by a blind volunteer by visual cortex stimulation. *Nature* 1976;259(5539):111-2.

28. Eckhorn R, Stett A, Schanze T, Gekeler F, Schwahn H, Zrenner E et al. [Physiological functional evaluation of retinal implants in animal models]. *Ophthalmologe* 2001;98(4):369-75.
29. Eckmiller R. Learning retina implants with epiretinal contacts. *Ophthalmic Res.* 1997;29(5):281-9.
30. Eysel UT, Walter P, Gekeler HS, Sachs V-PG, Kisvßrdy ZF. Optical Imaging Reveals 2-Dimensional Patterns of Cortical Activation After Local Retinal Stimulation With Sub- and Epiretinal Visual Prostheses. *Invest.Ophthalmol.Vis.Sci.* 2002;43(12):4486.
31. Felix B, Leger ME, Albe-Fessard D, Marcilloux JC, Rampin O, Laplace JP. Stereotaxic atlas of the pig brain. *Brain Res.Bull.* 1999;49(1-2):1-137.
32. Feucht M, Laube T, Bornfeld N, Walter P, Velikay-Parel M, Hornig R et al. [Development of an epiretinal prosthesis for stimulation of the human retina]. *Ophthalmologe* 2005;102(7):688-91.
33. Garcia-Layana A, Pastor JC, Saornil MA, Gonzalez G. Porcine model of proliferative vitreoretinopathy with platelets. *Curr.Eye Res.* 1997;16(6):556-63.
34. Gekeler F, Zrenner E. [Status of the subretinal implant project. An overview]. *Ophthalmologe* 2005;102(10):941-9.
35. Gerding H. A new approach towards a minimal invasive retina implant. *J.Neural Eng* 2007;4(1):S30-S37.
36. Gerding H. [Development of a minimally invasive retinal implant system.]. *Ophthalmologe* 2008;105(5):463-73.
37. Gerding H, Taneri S, Benner FP, Thelen U, Uhlig CE, Reichelt R. Successful long-term evaluation of intraocular titanium tacks for the mechanical stabilization of posterior segment ocular implants. *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik* 2001;32(12):903-12.

38. Gouras P, Tanabe T. Survival and integration of neural retinal transplants in rd mice. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 2003;241(5):403-9.
39. Graf C, Sedlacek M, Daicker B, Gloor B, Meszaros J. Anterior bulbus perforation and vitrectomy in the 'minipig'. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 1982;218(3):141-4.
40. Guven D, Weiland JD, Maghribi M, Davidson JC, Mahadevappa M, Roizenblatt R et al. Implantation of an inactive epiretinal poly(dimethyl siloxane) electrode array in dogs. *Exp.Eye Res.* 2006;82(1):81-90.
41. Hartong DT, Berson EL, Dryja TP. Retinitis pigmentosa. *Lancet* 2006;368(9549):1795-809.
42. Hata H, Yonezawa M, Nakanishi T. Causes of entering institutions for visually handicapped persons during the past fifteen years. *Jap.J.Clin.Ophthalmol.* 2003;57:259-92.
43. Hodge WG, Barnes D, Schachter HM, Pan YI, Lowcock EC, Zhang L et al. The evidence for efficacy of omega-3 fatty acids in preventing or slowing the progression of retinitis pigmentosa: a systematic review. *Can.J.Ophthalmol.* 2006;41(4):481-90.
44. Hoffman DR, Locke KG, Wheaton DH, Fish GE, Spencer R, Birch DG. A randomized, placebo-controlled clinical trial of docosahexaenoic acid supplementation for X-linked retinitis pigmentosa. *Am.J.Ophthalmol.* 2004;137(4):704-18.
45. Hornig R, Laube T, Walter P, Velikay-Parel M, Bornfeld N, Feucht M et al. A method and technical equipment for an acute human trial to evaluate retinal implant technology. *J.Neural Eng* 2005;2(1):S129-S134.
46. Humayun MS, de Juan E Jr, Dagnelie G, Greenberg RJ, Propst RH, Phillips DH. Visual perception elicited by electrical stimulation of retina in blind humans. *Arch.Ophthalmol.* 1996;114(1):40-6.

47. Humayun MS, de Juan E Jr, Weiland JD, Dagnelie G, Katona S, Greenberg R et al. Pattern electrical stimulation of the human retina. *Vision Res.* 1999;39(15):2569-76.
48. Humayun MS, Prince M, de Juan E Jr, Barron Y, Moskowitz M, Klock IB et al. Morphometric analysis of the extramacular retina from postmortem eyes with retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 1999;40(1):143-8.
49. Humayun MS, Weiland JD, Fujii GY, Greenberg R, Williamson R, Little J et al. Visual perception in a blind subject with a chronic microelectronic retinal prosthesis. *Vision Res.* 2003;43(24):2573-81.
50. Javaheri M, Hahn DS, Lakhanpal RR, Weiland JD, Humayun MS. Retinal prostheses for the blind. *Ann.Acad.Med.Singapore* 2006;35(3):137-44.
51. Jones RD, Stuart BP, Greufe NP, Landes AM. Electrophysiology and pathology evaluation of the Yucatan pig as a non-rodent animal model for regulatory and mechanistic toxicology studies. *Lab Anim* 1999;33(4):356-65.
52. Kanski JJ. *Clinical Ophthalmology: A Systematic Approach.* 6th ed. London: Butterworth-Heinemann; 2007.
53. Kellner U, Tillack H, Renner AB. [Hereditary retinochoroidal dystrophies. Part 1: Pathogenesis, diagnosis, therapy and patient counselling]. *Ophthalmologe* 2004;101(3):307-19.
54. Knudsen LL, Dissing T, Hansen MN, Nielsen-Kudsk F. Ocular fluorescein kinetics before and after vitrectomy on swine. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 2001;239(11):832-9.
55. Koch F, Kreiger A, Spitznas M. A light and electron microscopic study of the healing of pars plana incisions in the rhesus monkey. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 1994;232(1):47-56.

56. Kohler K, Hartmann JA, Werts D, Zrenner E. [Histological studies of retinal degeneration and biocompatibility of subretinal implants]. *Ophthalmologie* 2001;98(4):364-8.
57. Kumar-Singh R, Farber DB. Encapsidated adenovirus mini-chromosome-mediated delivery of genes to the retina: application to the rescue of photoreceptor degeneration. *Hum.Mol.Genet.* 1998;7(12):1893-900.
58. Kurada P, Tonini TD, Serikaku MA, Piccini JP, O'Tousa JE. Rhodopsin maturation antagonized by dominant rhodopsin mutants. *Vis.Neurosci.* 1998;15(4):693-700.
59. Laube T, Schanze T, Brockmann C, Bolle I, Stieglitz T, Bornfeld N. Chronically implanted epidural electrodes in Gottinger minipigs allow function tests of epiretinal implants. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 2003;241(12):1013-9.
60. Li ZY, Wong F, Chang JH, Possin DE, Hao Y, Petters RM et al. Rhodopsin transgenic pigs as a model for human retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 1998;39(5):808-19.
61. Lindberg CR, Fishman GA, Anderson RJ, Vasquez V. Contrast sensitivity in retinitis pigmentosa. *Br.J.Ophthalmol.* 1981;65(12):855-8.
62. Little CW, Castillo B, DiLoreto DA, Cox C, Wyatt J, del Cerro C et al. Transplantation of human fetal retinal pigment epithelium rescues photoreceptor cells from degeneration in the Royal College of Surgeons rat retina. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 1996;37(1):204-11.
63. Lodha N, Westall CA, Brent M, Abdolell M, Heon E. A modified protocol for the assessment of visual function in patients with retinitis pigmentosa. *Adv.Exp.Med.Biol.* 2003;533:49-57.
64. Mahmoud TH, McCuen BW, Hao Y, Moon SJ, Tatebayashi M, Stinnett S et al. Lensectomy and vitrectomy decrease the rate of photoreceptor loss in

rhodopsin P347L transgenic pigs. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 2003;241(4):298-308.

65. Majji AB, Humayun MS, Weiland JD, Suzuki S, D'Anna SA, de Juan E Jr. Long-term histological and electrophysiological results of an inactive epiretinal electrode array implantation in dogs. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 1999;40(9):2073-81.
66. Meyer JS, Katz ML, Maruniak JA, Kirk MD. Embryonic stem cell-derived neural progenitors incorporate into degenerating retina and enhance survival of host photoreceptors. *Stem Cells* 2006;24(2):274-83.
67. O'Grady GE, Parel JM, Lee W, Flynn HW, Jr., Olsen KR, Blankenship G et al. Hypodermic stainless steel tacks and companion inserter designed for peripheral fixation of retina. *Arch.Ophthalmol.* 1988;106(2):271-5.
68. O'Neill B, Millington-Ward S, O'Reilly M, Tuohy G, Kiang AS, Kenna PF et al. Ribozyme-based therapeutic approaches for autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 2000;41(10):2863-9.
69. Ohira A, de Juan E, Tsai M. Long-term histologic and electrophysiologic evaluation of the alloy retinal tack. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 1991;229(1):95-8.
70. Petters RM, Alexander CA, Wells KD, Collins EB, Sommer JR, Blanton MR et al. Genetically engineered large animal model for studying cone photoreceptor survival and degeneration in retinitis pigmentosa. *Nat.Biotechnol.* 1997;15(10):965-70.
71. Popovic P, Jarc-Vidmar M, Hawlina M. Abnormal fundus autofluorescence in relation to retinal function in patients with retinitis pigmentosa. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 2005;243(10):1018-27.
72. Pruett RC. Retinitis pigmentosa: clinical observations and correlations. *Trans.Am.Ophthalmol.Soc.* 1983;81:693-735.

73. Puustjarvi TJ, Terasvirta ME. Retinal fixation of traumatic retinal detachment with metallic tacks: a case report with 10 years' follow-up. *Retina* 2001;21(1):54-6.
74. Radtke ND, Aramant RB, Seiler MJ, Petry HM, Pidwell D. Vision change after sheet transplant of fetal retina with retinal pigment epithelium to a patient with retinitis pigmentosa. *Arch.Ophthalmol.* 2004;122(8):1159-65.
75. Rizzo JF, III, Wyatt J, Humayun M, de Juan E, Liu W, Chow A et al. Retinal prosthesis: an encouraging first decade with major challenges ahead. *Ophthalmology* 2001;108(1):13-4.
76. Sagdullaev BT, Aramant RB, Seiler MJ, Woch G, McCall MA. Retinal transplantation-induced recovery of retinotectal visual function in a rodent model of retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 2003;44(4):1686-95.
77. Sandberg MA, Brockhurst RJ, Gaudio AR, Berson EL. The association between visual acuity and central retinal thickness in retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 2005;46(9):3349-54.
78. Sandfeld Nielsen L, Lindberg CR. Measurements of Three Ocular Parameters in the Göttingen Minipig. *Scand.J.Lab.Anim.Sci.* 2005;32(1):9-16.
79. Santos A, Humayun MS, de Juan E Jr, Greenburg RJ, Marsh MJ, Klock IB et al. Preservation of the inner retina in retinitis pigmentosa. A morphometric analysis. *Arch.Ophthalmol.* 1997;115(4):511-5.
80. Schanze T, Sachs HG, Wiesenack C, Brunner U, Sailer H. Implantation and testing of subretinal film electrodes in domestic pigs. *Exp.Eye Res.* 2006;82(2):332-40.
81. Schataneck S, Krastel H, Rohrschneider K, Kruse FE, Alexandridis E. [Coats syndrome in retinitis pigmentosa. Clinical aspects and therapeutic possibilities]. *Ophthalmologe* 1994;91(3):329-32.

82. Schwahn HN, Gekeler F, Kohler K, Kobuch K, Sachs HG, Schulmeyer F et al. Studies on the feasibility of a subretinal visual prosthesis: data from Yucatan micropig and rabbit. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 2001;239(12):961-7.
83. Seiler MJ, Aramant RB. Transplantation of neuroblastic progenitor cells as a sheet preserves and restores retinal function. *Semin.Ophthalmol.* 2005;20(1):31-42.
84. Steinemann TL, Baltz TC, Lam BL, Soulsby M, Walls RC, Brown HH. Mini radial keratotomy reduces ocular integrity. Axial compression in a postmortem porcine eye model. *Ophthalmology* 1998;105(9):1739-44.
85. Sweatt AJ, Ford JG, Davis RM. Wound healing following anterior keratectomy and lamellar keratoplasty in the pig. *J.Refract.Surg.* 1999;15(6):636-47.
86. Uhlig CE, Taneri S, Benner FP, Gerding H. [Electrical stimulation of the visual system. From empirical approach to visual prostheses]. *Ophthalmologe* 2001;98(11):1089-96.
87. Walter P. [Electronic visual prostheses]. *Klin.Monatsbl.Augenheilkd.* 2005;222(6):471-9.
88. Walter P, Heimann K. Evoked cortical potentials after electrical stimulation of the inner retina in rabbits. *Graefes Arch.Clin.Exp.Ophthalmol.* 2000;238(4):315-8.
89. Walter P, Kisvarday ZF, Gortz M, Alteheld N, Rossler G, Stieglitz T et al. Cortical activation via an implanted wireless retinal prosthesis. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 2005;46(5):1780-5.
90. Walter P, Mokwa W. [Epiretinal visual prostheses]. *Ophthalmologe* 2005;102(10):933-40.
91. Walter P, Szurman P, Vobig M, Berk H, Ludtke-Handjery HC, Richter H et al. Successful long-term implantation of electrically inactive epiretinal microelectrode arrays in rabbits. *Retina* 1999;19(6):546-52.

92. Williams LL, Shannon BT, Chambers RB, Leguire LE, Davidorf FH. Systemic immunostimulation after retinal laser treatment in retinitis pigmentosa. *Clin.Immunol.Immunopathol.* 1992;64(1):78-83.
93. Woch G, Aramant RB, Seiler MJ, Sagdullaev BT, McCall MA. Retinal transplants restore visually evoked responses in rats with photoreceptor degeneration. *Invest Ophthalmol.Vis.Sci.* 2001;42(7):1669-76.
94. Yanai D, Weiland JD, Mahadevappa M, Greenberg RJ, Fine I, Humayun MS. Visual performance using a retinal prosthesis in three subjects with retinitis pigmentosa. *Am.J.Ophthalmol.* 2007;143(5):820-7.
95. Zrenner E. Will retinal implants restore vision? *Science* 2002;295(5557):1022-5.
96. Zrenner E, Gekeler F, Gabel VP, Graf HG, Graf M, Guenther E et al. [Subretinal microphotodiode array as replacement for degenerated photoreceptors?]. *Ophthalmologe* 2001;98(4):357-63.
97. Zrenner E, Miliczek KD, Gabel VP, Graf HG, Guenther E, Haemmerle H et al. The development of subretinal microphotodiodes for replacement of degenerated photoreceptors. *Ophthalmic Res.* 1997;29(5):269-80.

7. ANHANG

Vorabveröffentlichungen

Menzel-Severing J, Sellhaus B, Roessler G, Hermanns-Sachweh B, Walter P. Histomorphological and Immunohistochemical Changes to the Retina Following Implantation and Explantation of an Inactive Epiretinal Visual Prosthesis in Minipigs. Postersession anlässlich: The Future of Eye and Vision Research. Association for Research in Vision and Ophthalmology 2010 Annual Conference; 2.-6. Mai 2010; Fort Lauderdale; USA.

Danksagung

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Peter Walter, danke ich herzlich für die Überlassung des Themas sowie für die Möglichkeit zur Mitwirkung in der EPI-RET Arbeitsgruppe. Ich danke zudem Herrn Dr. med. Gernot Rössler für wertvolle Ratschläge bei der Anfertigung des Manuskripts. Frau Corinna Kailuweit möchte ich danken für ihre gute Unterstützung im Zusammenhang mit dem tierexperimentellen Anteil der Arbeit. Mein Dank gilt ebenfalls Herrn Dr. med. Bernd Sellhaus vom Institut für Neuropathologie der RWTH-Aachen, welcher die histologische Aufarbeitung der Studienaugen intensiv begleitete. Herrn Prof. Dr. em. Glodeck der Universität Göttingen danke ich im Namen der EPI-RET Arbeitsgruppe für seine grundlegende Unterstützung bei der Durchführung der tierexperimentellen Arbeiten.

Erklärung § 5 Abs. 1 zur Datenaufbewahrung

Hiermit erkläre ich, dass die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Originaldaten bei meinem Betreuer, Herr Univ.-Prof. Dr. med. Peter Walter, Augenklinik der RWTH Aachen, hinterlegt sind.

Lebenslauf

Persönliche Daten	Johannes Menzel-Severing *05.09.1981 in Bonn
Schulbildung	Juni 2000 Abitur am städtischen Ernst-Moritz-Arndt Gymnasium Bonn.
Wehrdienst	Nov. 2000 – Aug. 2001 Wehrdienst im Bundeswehrzentral Krankenhaus Koblenz.
Studium der Humanmedizin	Okt. 2001 – Sept. 2003 Student an der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn. Erlangung des Physikums im September 2003. Okt. 2003 – Mai 2008 Student an der Rheinisch Westfälischen Technischen Hochschule Aachen. Erlangung der Approbation im Mai 2008.
Berufstätigkeit	seit Aug. 2008 Assistenzarzt an der Augenklinik der RWTH-Aachen.