

Advances in Ophthalmology, vol. 31

Editors: M. J. ROPER-HALL, Birmingham; H. SAUTTER, Hamburg; E. B. STREIFF, Lausanne

Publishers: S. KARGER, Basel

SEPARATUM (Printed in Switzerland)

Adv. Ophthal., vol. 31, pp. 159–232 (Karger, Basel 1975)

Netzhautreaktionen nach Intensivlichtbestrahlung

Teil I: Schwellenläsionen¹

Experimentelle, morphologische und klinische Untersuchungen über pathologische und therapeutische Wirkungen von Laserlicht und von weissem Licht

INGOLF H. L. WALLOW², R. BIRNGRUBER³, V.-P. GABEL²,
F. HILLENKAMP³ und O.-E. LUND²

Inhaltsverzeichnis

I.	Einleitung.....	160
A.	Historischer Abriss über die Doppelwirkung von Intensivlicht.....	160
1.	Intensivlichtbestrahlung und Netzhautschaden.....	160
2.	Intensivlichtbestrahlung und therapeutisch-klinischer Nutzen.....	162
II.	Gegenwärtiger Stand der Forschung.....	165
A.	Physikalisch-physiologische Grundlagen für die Entstehung von Netzhautschäden durch Intensivlichtbestrahlung.....	165
1.	Der Weg des Lichtes durch das Auge.....	165
2.	Die Entstehung von fotochemischem und thermischem Schaden.....	167
B.	Schwellenläsionen.....	172
1.	Definition und Bedeutung.....	172
2.	Eigener Ansatz, Schwellenwerte genauer zu bestimmen.....	173
III.	Material und Methodik.....	174
A.	Versuchstiere und Läsionsgruppen.....	174
B.	Versuchsanordnung.....	177
C.	Medizinische Versuchsbedingungen.....	177
D.	Klinische und histologische Auswertung.....	178
IV.	Ergebnisse.....	179
A.	Die Bestimmung ophthalmoskopischer Schwellenwerte bei Kaninchen und Affen.....	179
B.	Das histologische Bild ophthalmoskopischer Schwellenläsionen des akuten Stadiums bei Kaninchen.....	184
C.	Das histologische Bild ophthalmoskopischer Schwellenläsionen des akuten Stadiums bei Cynomolgusaffen.....	185

1 Teil II: Klinische Läsionen wird in Adv. Ophthal, vol. 33 erscheinen.

2 Augenklinik der Universität München.

3 Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung, Neuherberg bei München.

D. Das histologische Bild ophthalmoskopischer Schwellenläsionen des akuten Stadiums bei Rhesusaffen	201
E. Das histologische Bild ophthalmoskopisch nicht sichtbarer Läsionen des akuten Stadiums bei Cynomolgusaffen	201
F. Das histologische Bild ophthalmoskopisch sichtbarer Läsionen im chronischen Stadium	207
V. Diskussion	216
Zusammenfassung	223
Summary	224
Literatur	225

I. Einleitung

A. Historischer Abriss über die Doppelwirkung von Intensivlicht

1. Intensivlichtbestrahlung und Netzhautschaden

Dass das intensive Licht der Sonne Netzhautschäden verursachen kann, ist seit dem Altertum bekannt. Sokrates erwähnt Leute, die versucht hätten, bei Verfinsterung in die Sonne zu schauen und sie zu studieren. «Da kommt es nämlich vor, dass sie das Augenlicht einbüßen, sofern sie nicht in einem Wasserspiegel oder sonst einer Brechung nur ihr Bild betrachten» [PLATON, Phaidon]. GALEN beschrieb Blendung infolge Sonnenfinsternis. Als Galilei die Sonne durch sein Teleskop betrachtete, verbrannte er seine Augen [zit. in VERHOEFF *et al.*, 1916]. Nach der Sonnenfinsternis vom 17.4.1912 wurden in Mitteleuropa sehr zahlreiche Fälle von Netzhautverletzung beobachtet [WENDENBURG, 1914]. Ihre Gesamtzahl allein in Deutschland wurde auf über 3000 geschätzt [BIRCH-HIRSCHFELD, 1912]. Bei folgenden Sonnenfinsternissen haben sich die Ereignisse, wenn auch mit geringerer Häufung von Erkrankungsfällen, wiederholt [z.B. MEYERRATKEN, 1956]. In dem Bericht über eine weitere Sonnenfinsternis im Jahre 1962 ist das klinische Bild solcher Schäden und die dadurch verursachte vorübergehende oder bleibende Sehschärfenminderung besonders gut dokumentiert [PENNER und MCNAIR, 1966]. Sonnenbedingte Retinopathien wurden gehäuft bei Soldaten gefunden, die von der Sonne her angreifende Flugzeuge zu beobachten hatten [FLYNN, 1942; ECCLES und FLYNN, 1944]. Epidemisches Auftreten solarer Retinopathien wurde schliesslich an Patienten eines psychiatrischen Hospitals gefunden, die absichtlich für einige Zeit in die Sonne gestarrt hatten [ANACLERIO und WICKER, 1970].

Um sonnenbedingte Netzhautschäden genauer untersuchen zu können, wurden schon früh Experimente angestellt, bei denen Sonnenlicht durch optische Linsen gebündelt in die Augen von Versuchstieren geleitet wurde

[CZERNY, 1867; DEUTSCHMANN, 1882]. Das in dieser Zeit aufkommende und in der Industrie zunehmend häufig verwandte Bogenlicht war in der Lage, vergleichbare Netzhautschäden zu erzeugen [WIDMARK, 1893; VERHOEFF *et al.*, 1916] und machte die äusseren Bedingungen des Experimentierens mit Intensivlicht unabhängig von der Sonne. Die Fragen, welche spektralen Lichtanteile an den verschiedenen Augenabschnitten schädigend wirkten, welche Energiedichten für eine Schädigung erforderlich waren und welcher Natur die gesetzten Schäden waren, standen anfangs im Mittelpunkt der Überlegungen. Am umfassendsten gibt die Studie von VERHOEFF *et al.* [1916] über diese Phase der Forschung Auskunft. Die Rolle des ultravioletten, sichtbaren und infraroten Anteils des Lichtspektrums auf das Auge wurde beschrieben. Kaninchen und Affen wurden dabei als Versuchstiere benutzt. Detaillierte Beobachtungen über die Wirkung dosierter Lichtintensitäten auf ein menschliches Auge waren hinzugefügt. Dabei handelte es sich um eine Voluntärin, deren Auge wegen eines malignen Tumors operativ entfernt werden musste. Es wurde geschlossen, dass Netzhautschäden durch Beobachtung einer Sonnenfinsternis auf einem thermischen Schadenmechanismus beruhen: Lichtenergie werde an den pigmentierten Strukturen des Augenhintergrundes absorbiert und in thermische Energie umgewandelt. Die entstehende Wärmeentwicklung führe zu thermischen Gewebsschäden. Diese wurden genau beschrieben und zum Teil mit Bildern histologischer Schnitte belegt. Ein Literaturüberblick von WALKER mit 428 Schrifttumsangaben war Teil dieser Arbeit.

Eine Reihe weiterer Energiequellen kann Netzhautschäden thermischer Natur hervorrufen. OYAMA und SASAKI [1946] berichteten über einen Patienten mit Netzhautverletzung nach der Atombombenexplosion von Hiroshima. Weitere Fälle wurden von ROSE *et al.* [1956] mitgeteilt. Kaninchen, die bei Atombombentestversuchen in einer Entfernung von rund 70 km vom Lichtball des Explosionsortes exponiert waren, zeigten Netzhautverbrennungen [BYRNES *et al.*, 1956]. Modifizierte Flaksuchleuchten produzierten im Experiment ähnliche Verbrennungen an der Haut [SCHMIDT *et al.*, 1954; EVANS *et al.*, 1955]. Aktuelle Bedeutung hat heute besonders der Laser erlangt, der seit seiner theoretischen und praktischen Verwirklichung [SCHAWLOW und TOWNES, 1958; MAIMAN, 1960] vor gut einem Jahrzehnt als Lichtquelle mit besonderen Eigenschaften eine weite Verbreitung in Industrie und Technik gefunden hat. Laserlichtschäden der Netzhaut, aufgetreten als Unfall [z.B. RATHKEY, 1965; ZWENG, 1967] oder erzeugt in der experimentellen Situation [ZARET *et al.*, 1961] sind seitdem bekannt. Mehrere vorläufige Lasersicherheitsrichtlinien verschiedener Institutionen hinsichtlich maximal

zulässiger Strahlenbelastungen für das Auge und seinen empfindlichsten Teil, die Netzhaut, sind entstanden [Ministry of Aviation Code, London, 1965] besonders aber in den USA [Cincinnati-Konferenz, 1968; Department of the Army bulletin and Department of the Navy publication, 1969; Department of the Air Force manual, 1969; American National Standards Institute (Draft), 1972]. Die vorhandene und laufend hinzukommende Literatur über Laser ist so umfangreich geworden, dass seit einiger Zeit Zeitschriften bestehen, die ausschliesslich Laserliteratur referieren (z. B. Laser, Journal of Current Laser Abstracts, Institute for Laser Documentation, Vancouver BC, Canada). Physikalische Grundlagen der Laserlichtentstehung, Technologie üblicher Apparaturen und bisheriger Einsatz von Lasern im medizinischen Bereich sind ausführlich in der Monographie von GOLDMAN [1967] sowie GOLDMAN und ROCKWELL [1971] dargestellt.

2. Intensivlichtbestrahlung und therapeutisch-klinischer Nutzen

Dass die schädigenden Wirkungen des intensiven Lichtes der Sonne oder anderer Lichtquellen auch zu einem therapeutischen Nutzen angewandt werden können, und zwar besonders bei der prophylaktischen und kurativen Behandlung von Netzhautablösungen, ist eine Entdeckung der letzten Jahrzehnte. Sie gründet sich auf die Beobachtung der reaktiven geweblichen Vorgänge nach Netzhautverletzungen verschiedener Art und auf Fortschritte im Verständnis der Ursachen der Netzhautablösung. Schon seit CZERNY [1867] und DEUTSCHMANN [1882] war bekannt, dass es beim Kaninchen an Netzhautstellen, die durch gebündeltes Sonnenlicht bestrahlt worden waren, später zu atrophischen pigmentierten Narben kam, die eine enge Verbindung mit der Aderhaut hatten. Therapeutisch wurde zunächst jedoch nicht der Versuch unternommen, solche Verbindungen mittels Sonnenlicht zu erzeugen und ein solches Verfahren in die Chirurgie der Netzhautablösung einzuführen. Man wandte vielmehr punktuelle Verbrennungen der Lederhaut mittels Galvanokauterisation [DEWECKER und MASSELO, 1882] oder punktuelle Vereisungen mit Kohlesäureschnee [SCHOELER, 1918] an: «Damit ist die in jahrzehntelangen Bemühungen erstrebte Grundlage erzielt, durch extraokuläre Einwirkung mit geringfügigen Reizzuständen ohne Veränderung der Pelluzidität der brechenden Medien eine adhäsive Netzhaut-Aderhautentzündung zu bewirken. Wenngleich der Nachweis bisher nur am Tier erbracht ist (experimentell), so scheint derselbe durch Analogieschluss für den Menschen gesichert.» [SCHÖLER, 1918].

Ein therapeutischer Durchbruch wurde mit Hilfe solcher experimenteller Untersuchungen jedoch erst erreicht, als GONIN [1934] solche chorio-

retinalen Reaktionen gezielt um Netzhautlöcher lokalisiert hatte und bewies, dass dem Netzhautloch die grösste ursächliche Bedeutung bei der Behandlung und Entstehung von Netzhautablösungen zukommt. Seitdem wurden unter Verwendung von Hitze, Kälte und chemischen Substanzen zahlreiche Methoden entwickelt, um in Verbindung mit operativen Massnahmen abgelöste Netzhautbezirke wieder «anzuheften». Eine zusammenfassende Würdigung der diesbezüglichen Konzepte findet sich bei SCHEPENS [1969]. Besonders für die prophylaktische Behandlung der Netzhautablösung, d. h. die Abriegelung von Netzhautlöchern vor Entstehung einer Ablösung blieben diese Verfahren jedoch zunächst unhandlich. Es ist das Verdienst von MEYER-SCHWICKERATH [1949] und von MORON-SALAS [1950], das gebündelte und durch die Pupille in das Auge geworfene Licht als Mittel zur Schaffung therapeutischer Netzhautadhäsionen genutzt zu haben. Im besonderen MEYER-SCHWICKERATH gelang es, nach Versuchen mit Sonnenlicht und mit Bogenlicht in Zusammenarbeit mit der Firma Zeiss/Oberkochen [LITTMANN, 1957] ein klinisches Gerät, den Zeiss-Lichtkoagulator, zu entwickeln, der als Lichtquelle eine Xenon-Höchstdrucklampe benutzt und der sich in mehr als 15 Jahren klinischer Praxis bewährt hat. Bei der klinischen Anwendung der Methode der Lichtkoagulation wird der gebündelte Lichtstrahl unter Augenspiegelkontrolle in das Patientenaug auf bestimmte Augenhintergrundstellen gelenkt. Während Bestrahlungszeiträumen von 0,5 bis 1 sec kommen sogenannte klinische Koagulationen zustande, die ophthalmoskopisch als Bezirke einer weissen Netzhautverfärbung auffallen. Zahlreiche Faktoren beeinflussen die Gesamtstrahlenmenge, die der Operateur anwenden muss, um das empirisch-ophthalmoskopische Ergebnis der weissen Koagulation zu erzielen, wie z. B. Transmissionsfähigkeit der brechenden Augenmedien, Hornhaut, Kammerwasser, Linse und Glaskörper, Durchmesser des Verletzungsstrahles, Pigmentierung des Augenhintergrundes, Wärmekonvektion durch die Gefässe von Aderhaut und Netzhaut während der Koagulation u. a. Neuerdings finden in der Ophthalmologie als Lichtkoagulationsquellen besonderer Effektivität auch Laserstrahler Anwendung [FLOCKS, 1966; NOYORI *et al.*, 1964; ZWENG *et al.*, 1966; JONES und MCCARTNEY, 1966; MARSHALL and MELLERIO, 1967 a, b; TALEFF *et al.*, 1969; CAMPBELL *et al.*, 1969; FANKHAUSER *et al.*, 1967, 1968 a, b, 1971, 1971 a; ROSAN *et al.*, 1969; LITTLE *et al.*, 1970; POMERANTZEFF *et al.*, 1971; L'ESPERANCE, 1972]. Besonders wegen der physikalischen Eigenschaft der geringen Strahldivergenz von Laserlicht wird mehr elektromagnetische Energie pro Strahlquerschnitt und Zeiteinheit befördert als bei herkömmlichen Lichtquellen [SOLON *et al.*, 1961]. Wegen der physikalischen Eigenschaft Monochromasie sind ferner Wellen-

längebereiche auswählbar, die einerseits besonders geringen Transmissionsverlusten in den brechenden Medien unterliegen und die andererseits von bestimmten Augenstrukturen in besonderer Weise absorbiert werden. wie z.B. das Argonlaserlicht vom Hämoglobin im Blut der Netzhautgefäße [L'ESPERANCE, 1968]. Nach FANKHAUSER [1967, 1968a, b, 1971, 1971a] sind mit Lasern bei geeigneter Anwendung (Hornhautkontaktglas, Laserenergieaufteilung in zahlreiche Einzelimpulse) klinische Fotokoagulationen erreichbar, die im Vergleich zum herkömmlichen Lichtkoagulator einen vergleichbaren therapeutischen Nutzen bei verminderter Gesamtstrahlenbelastung des Auges, d.h. einen höheren Wirkungsgrad besitzen. Es ist allerdings möglich, auch den herkömmlichen Lichtkoagulator durch geeignete Zusatzapparaturen zu optimieren [FANKHAUSER *et al.*, 1971b, c; FANKHAUSER und ROULIER, 1971].

Es besteht also ein doppeltes Interesse, Netzhautreaktionen nach Intensivlichtbestrahlung weiter kennenzulernen: Zum einen das Interesse, die Gefährlichkeit von definierten Strahlenmengen auszuloten, um die Lücken in vorhandenen Sicherheitsrichtlinien zu füllen; zum anderen das Interesse, das genaue Zustandekommen des «therapeutischen Nebeneffektes» der prinzipiell schädigenden Strahlung zu verstehen, um dadurch den therapeutischen Bereich von Koagulationen zu bestimmen und ein Zuviel an Lichtbestrahlung zu vermeiden. Über beide Punkte liegen zahlreiche Literaturangaben vor, die jedoch verhältnismässig wenig auf histologische Detailinformationen und ihre klinischen Korrelate eingehen. Daraus ergab sich der Ansatz zur Durchführung eigener Untersuchungen, die sich mit der Wirkung von Helium-Neon- und Argonlaserstrahlen auf die Netzhaut von Kaninchen und Affen befassen. Dieser eigene Ansatz und sein Standort in der gegenwärtigen Forschung werden im folgenden einzeln dargestellt und in zwei Teilen veröffentlicht⁴.

Die experimentellen Untersuchungen wurden durch die Planung von Herrn Prof. Dr. O.-E. LUND ermöglicht, dem ich sehr herzlich danken möchte. Sie wurden im Rahmen des folgenden Projektes durchgeführt: «Untersuchungen der Augengefährdung durch Laserstrahlungsquellen»⁵ (Beteiligte: Augenklinik der Universität München, Direktor – Prof. Dr. O.-E. LUND; Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung m. b. H., München, Projektleiter – Dr. F. HILLENKAMP; Siemens AG, München, Projektleiter – Dr. H. KIEMLE). Den physikalischen Teil der Experimente haben Herr Dipl.-Physiker R. BIRN-

4 Im vorliegenden ersten Teil werden Schwellenläsionen diskutiert; Gegenstand des zweiten Teils sind dann die sogenannten klinischen Läsionen.

5 Das Forschungsvorhaben wurde unter dem Kennzeichen NT 188 vom Bundesministerium für Forschung und Technologie (vormals Bundesministerium für Bildung und Wissenschaft) finanziell gefördert.

GRUBER sowie Herr Dr. rer. nat. F. HILLENKAMP durchgeführt. Mein Kollege, Herr Dr. med. V. P. GABEL, hat einen Teil des apparativen Aufbaus geleitet und war bei der Durchführung zahlreicher Schwellenwertexperimente beteiligt. Für die sehr exakte Anfertigung von Tierhaltern, Kontaktgläsern und anderen Instrumenten ist Herrn Feinmechaniker EBENHOCH aus unserer Klinik zu danken. Meine technische Assistentin, Fräulein M. VOLKHOLZ hat mit unermüdlicher Sorgfalt die sehr grosse Zahl von Schnitten für die Licht- und Elektronenmikroskopie erstellt.

Die wesentlichen Gedankengänge und Ergebnisse einer Reihe von eigenen früheren Arbeiten über die Wirkung von weissem Licht des Lichtkagulators und von Argonlaserslicht auf die Netzhaut von Kaninchen, Affe und Mensch sind vergleichend berücksichtigt. Diese Arbeiten sind in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. M. Tso, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC, mit Unterstützung von Herrn Prof. Dr. L. E. ZIMMERMAN entstanden während eines Aufenthaltes in den USA, der mir durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (Wa 217/1/2) in dankenswerter Weise ermöglicht wurde.

Bei Literaturangaben wurde vorwiegend auf experimentelle Arbeiten abgestellt. Wo Literatur bereits zusammenfassend in anderen Monographien abgehandelt wurde, wird der Leser auf diese verwiesen und auf eine eigene wiederholende Darstellung verzichtet. Das Schrifttum ist berücksichtigt, soweit es bis zum 1. 7. 1973 bekannt war.

II. Gegenwärtiger Stand der Forschung

A. Physikalisch-physiologische Grundlagen für die Entstehung von Netzhautschäden durch Intensivlichtbestrahlung

1. Der Weg des Lichtes durch das Auge

Die elektromagnetischen Wellen des sichtbaren Lichtes können von den biologischen Geweben des Auges überwiegend reflektiert oder gestreut werden wie z. B. von der Sklera oder überwiegend transmittiert werden wie z. B. von den brechenden Medien Hornhaut, Kammerwasser, Linse und Glaskörper.

Bei Kaninchen, Affe und Mensch sind die Transmissionsverhältnisse am Auge gut bekannt und liegen bei einer Gesamttransmission von über 80 % für den Wellenlängenbereich zwischen 500 und 950 nm [LUDVIGH und MCCARTHY, 1938; WIESINGER *et al.*, 1956; BOETTNER und WOLTER, 1962; GEERAETS und BERRY, 1968]. Die von GEERAETS und BERRY gemessenen Transmissionskurven sind in Abbildung 2 dargestellt.

Der Verlust von zirka 20 % ist auf Streuung und Absorption zurückzuführen. Im Primatenaugen wird das transmittierte Licht ferner von den brechenden Medien auf das Zentrum der Netzhaut fokussiert in einem Konzentrationsfaktor, der auf 5×10^4 – 5×10^5 geschätzt wird [Ministry of Aviation, London, 1965]. Die Netzhautmitte, bei Primaten die hochdifferen-

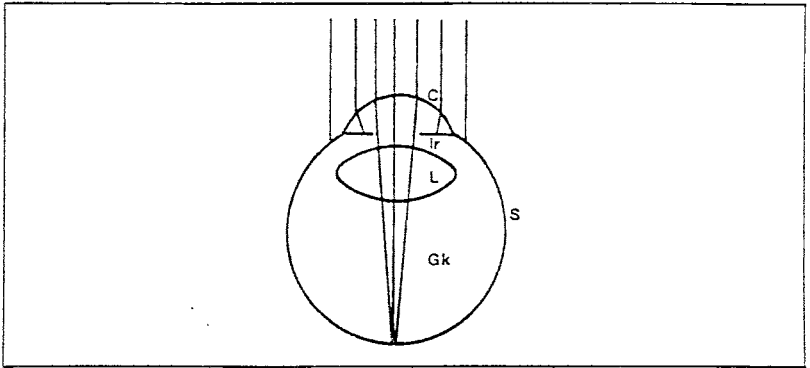


Abb. 1. Verlauf elektromagnetischer Wellen des sichtbaren Lichtes im menschlichen Auge. Sichtbares Licht wird von der Sklera (S) überwiegend reflektiert, von der Iris (Ir) absorbiert, von Cornea (C), Linse (L) und Glaskörper (Gk) transmittiert. Fallen Lichtstrahlen parallel aufs Auge und treten dabei durch die Pupille, so werden sie durch die Brechkraft von Hornhaut und Linse am hinteren Augenpol auf die Netzhaut fokussiert.

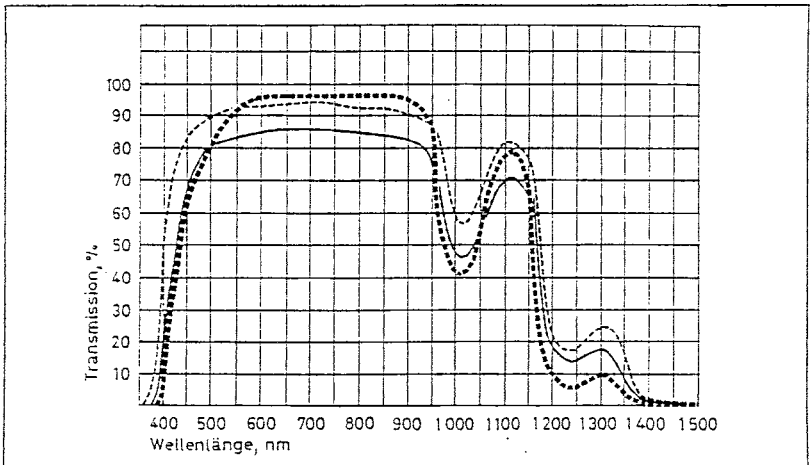


Abb. 2. Transmissionskurven der brechenden Medien des Auges von Kaninchen (---), Mensch (---) und Affe (—) für Licht verschiedener Wellenlängen. Licht des Wellenlängenbereiches zwischen 500 und 950 μm wird zu über 80% transmittiert. Aus GERAETS und BERRY [1968].

zierte Makula und Fovea, wird damit in besonderer Weise exponiert (Abbildung 3).

2. Die Entstehung von fotochemischem und thermischem Schaden

Auf die Netzhaut fallendes Licht wird von den dem Glaskörper zugewandten inneren Netzhautschichten grösstenteils transmittiert, bis es zu den Aussengliedern der Stäbchen- und Zapfenzellen (Fotorezeptorzellen) und zum Netzhautpigmentepithel gelangt (Abbildung 4, 5). In die Legenden für Mikrofotos werden bei den ersten Abbildungen Abkürzungen für Strukturen eingeführt. Diese Abkürzungen werden in den Abbildungen und Legenden späterer Mikrofotos unverändert weiterbenutzt und deshalb nicht jeweils wieder von neuem eingeführt. Alle Mikrofotografien histologischer Präparate stammen von 1,5 μm dicken Eponschnitten, gefärbt mit Toluidinblau (siehe Material und Methodik).

Die auf den Aussensegmenten der Stäbchen- und Zapfenzellen angeordneten Sehpigmente, besonders aber die Pigmentkörner von Pigment-

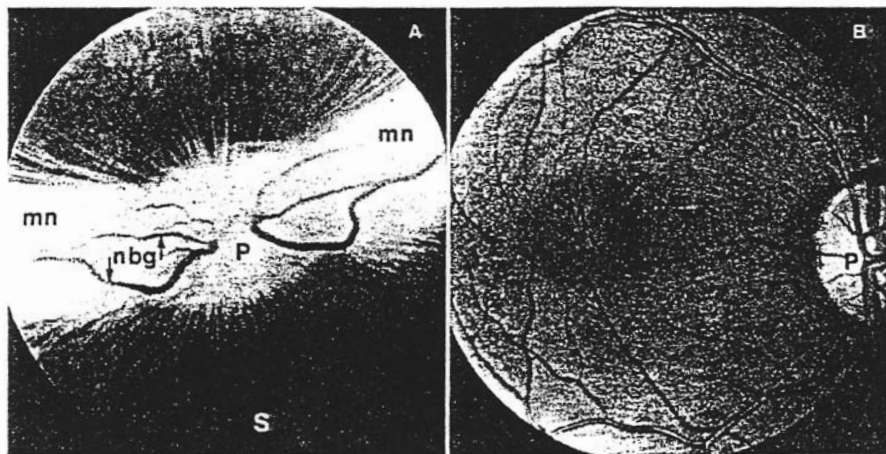


Abb. 3. Fundusfotos dex zentralen Augenhintergrundes von grauem Chinchillakaninchen (A) und Cynomolgusaffen (*Macaca iris*) (B). A Als Gebiet des schärfsten Sehens beim Kaninchen gilt der Sehstreifen (S), der unterhalb der Papilla nervi optici (P) und des horizontal verlaufenden Streifens markhaltiger Nervenfasern (mn) liegt. Netzhautblutgefässe (nbg) sind auf den Streifen markhaltiger Nervenfasern beschränkt. B Gebiet schärfsten Sehens beim Cynomolgusaffen ist das Makulaareal (M) mit seiner Fovea centralis (f). Die Makula liegt temporal der Papilla nervi optici (P). Es besteht ein über die ganze Netzhaut ausgedehntes Blutgefässnetz mit Netzhautarterien (na), Netzhautvenen (nv) und Kapillaren.

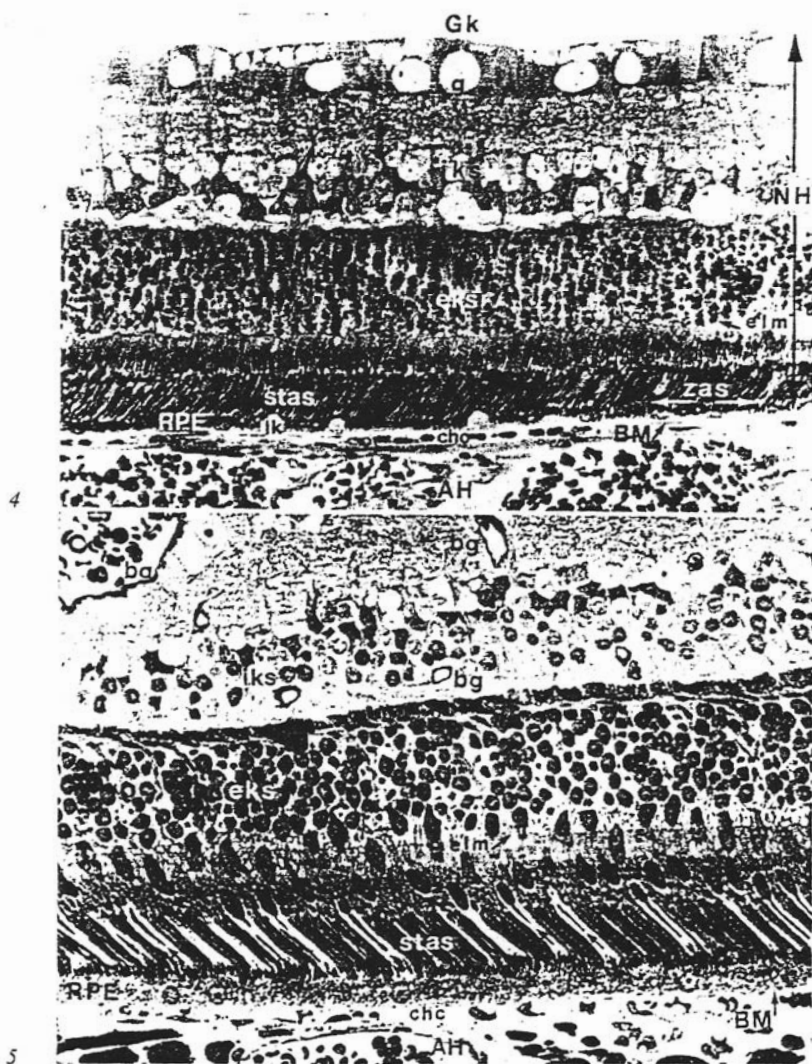


Abb. 4. Mikrofoto der normalen Netzhaut des grauen Chinchillakaninchens (Nähe des Sehstreifens). Aderhaut (AH) und Netzhaut (NH) werden durch die Bruchsche Membran (BM) getrennt. Unterhalb der Bruchschen Membran befindet sich die Choriocapillaris (chc), darüber das retinale Pigmentepithel (RPE), das beim Kaninchen Lipidkörperchen (lk) enthält. Der apikale Saum des Pigmentepithels enthält zahlreiche Pigmentgranula und ist in Kontakt mit den Aussensegmenten von Stäbchenzellen (stas) und von Zapfenzellen (zas). is = Innensegmente der Sehzellen; elm = Membrana limitans externa; eks = externe Körnerschicht (Kerne der Sehzellen); iks = interne Körnerschicht; g = Ganglienzellschicht; Gk = Glaskörperkorperraum. $\times 340$.

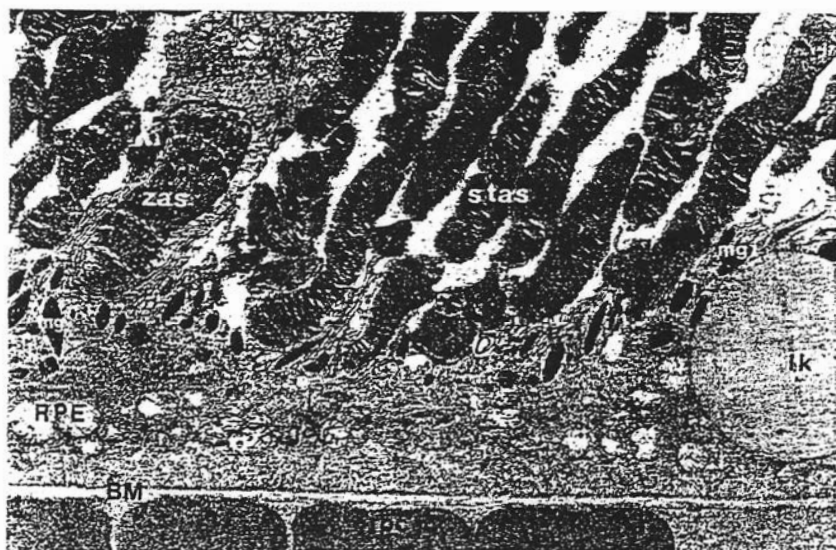


Abb. 6. Elektronenmikroskopische Aufnahme des normalen retinalen Pigmentepithels (RPE) und der angrenzenden Strukturen beim grauen Chinchillakaninchen. Das Pigmentepithel sitzt der Bruchschen Membran auf. Benachbarte Zellen sind durch junctionale Komplexe (jc) miteinander verknüpft. Im apikalen Zellteil sind zahlreiche Melanin granula (mg) angeordnet. rbc = Rote Blutkörperchen in der Choriocapillaris. $\times 4000$.

epithelzellen und von unter der Netzhaut liegenden Aderhautmelanozyten absorbieren das auftretende Licht stark. Die normalen Aussensegmente der Fotorezeptorzellen und das normale retinale Pigmentepithel mit seinem Gehalt an Pigmentgranula sind im elektronenmikroskopischen Bild besser erkennbar. Diese anatomischen Verhältnisse sowie die angrenzenden Kapillaren der Aderhaut sind in Abbildung 6 für das Chinchillakaninchen und in Abbildung 7 für den Cynomolgusaffen elektronenmikroskopisch dargestellt.

Durch Lichtabsorption an den pigmentierten Augenhintergrundstrukturen können zwei Arten von Schadensreaktionen hervorgerufen werden [DUKE-ELDER, 1972]:

Abb. 5. Mikrofoto der normalen Netzhaut des Cynomolgusaffen (hinterer Augenpol). Die Aderhaut ist intensiv pigmentiert. Der apikale Pigmentsaum des retinalen Pigmentepithels ist deutlich erkennbar und ragt den Zapfenaussensegmenten weiter entgegen als den Stäbchenaussensegmenten. Zapfenzellen, erkennbar an den Zapfenaussensegmenten (Pfeile) sowie an den dickeren Innensegmenten sind zahlreich. Die Netzhaut enthält ein mehrschichtiges System von Blutgefäßen (bg). $\times 360$.

a) Fotochemischer Schaden

Absorption von Licht in den Aussensegmenten der Stäbchen- und Zapfenzellen setzt zwar das normale Sehen in Gang; aber wenn zuviel Licht einwirkt, bricht der für die Sehfunktion entscheidende Zyklus der Erneuerung der Sehpigmente zusammen. Die Aktionspotentiale des Elektroretinogramms gehen verloren [NOELL *et al.*, 1966]. Bei weiterer Exposition treten morphologisch nachweisbare Schäden auf [NOELL *et al.*, 1966; GORN und KUWABARA, 1967; KUWABARA und GORN, 1968; FRIEDMAN und KUWABARA, 1968;

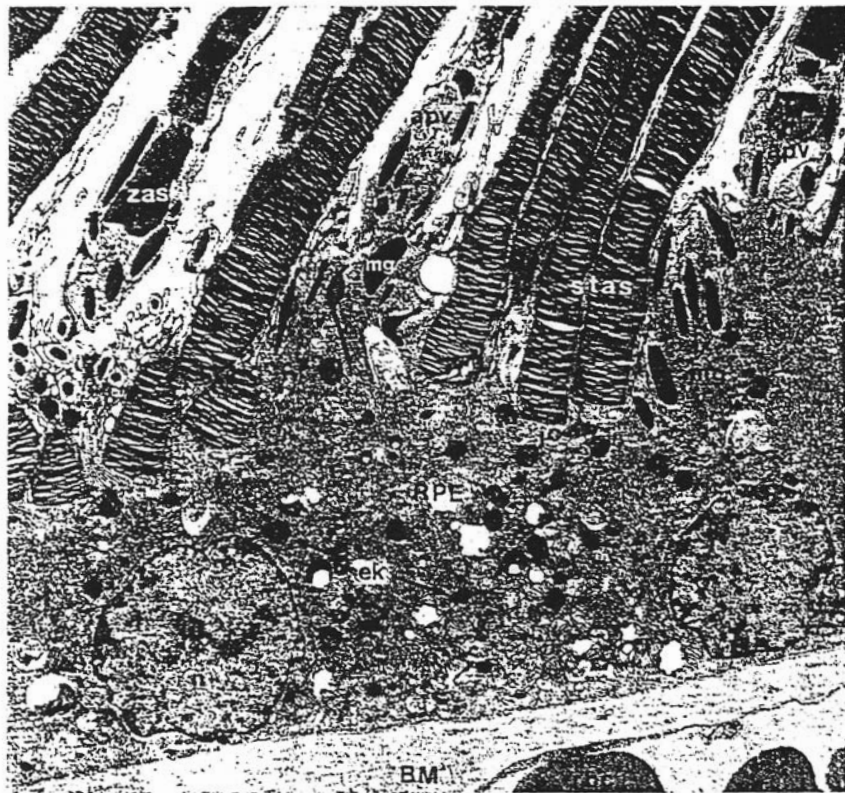


Abb. 7. Elektronenmikroskopische Aufnahme des normalen retinalen Pigmentepithels und der angrenzenden Strukturen beim Cynomolgusaffen. Im Pigmentepithel finden sich neben Melanin granula elektronendichte Körperchen (ek), die wahrscheinlich zur Gruppe der Lysosomen und Residualkörperchen gehören. apv = Apikale Pigmentepithelvilli, die den Zapfenaussensegmenten weiter entgegenragen als den Stäbchenaussensegmenten; n = Zellkern. $\times 4000$.

Tso *et al.*, 1972 b]. Entscheidendes Merkmal dieser ersten Art von Schädigung scheint ein fotochemischer Prozess, der das Sehpigment Rhodopsin bleicht und der nichtthermischer Natur ist [NOELL *et al.*, 1966; HARWERTH und SPERLING, 1971].

b) Thermischer Schaden

Er entsteht als sekundäre Reaktion infolge Hitzeentwicklung. Diese kommt dadurch zustande, dass die elektromagnetische Energie der Lichtwellen bei Absorption in Pigmentepithel und Aderhautmelanozyten zum Teil in thermische Energie umgewandelt wird [VERHOEFF *et al.*, 1916; COGAN, 1950; BYRNES *et al.*, 1956; HAM *et al.*, 1958; GEERAETS *et al.*, 1960; 1962; JONES und MCCARTNEY, 1966; MELLERIO, 1966 MARSHALL und MELLERIO, 1967 a, b]. Das Absorptionsmaximum des Augenhintergrundes liegt bei 757 nm [GEERAETS *et al.*, 1960]. Entscheidend für die Gesamtabsorption des Fundus oculi ist das Melaninpigment, das für Wellenlängen zwischen 400 und 700 nm praktisch lichtundurchlässig ist [HALL *et al.*, 1953]. Absorption durch Blutpigment spielt insgesamt nur eine untergeordnete Rolle (10%) [GEERAETS *et al.*, 1962], wenn man von speziellen Versuchsbedingungen mit dem Argonlaserlicht absieht [L'ESPERANCE, 1968]. Die im Pigmentepithel und in Aderhautmelanozyten entstehende Temperaturerhöhung bewirkt Denaturierung und gegebenenfalls Koagulation von Struktur- und Funktionseiwissen verbunden mit reaktiver Zellschwellung. Die sonst durchsichtige Netzhaut wird am Schadensort trüb, und klinisch kann man mit dem Augenspiegel Stellen weisser Netzhautverfärbung wahrnehmen. Die den Netzhautschaden bestimmenden Parameter sind Energiekonzentration und -einwirkungszeit des einfallenden Intensivlichtes sowie Grad der Pigmentierung in Netzhaut und Aderhaut. Thermische Modelle, die diese und andere Parameter kalkulieren, sind mehrfach angegeben worden [VOS, 1962; ROULIER, 1970, 1971]. Hinzu kommen die Empfindlichkeit der in Netzhaut und Aderhaut befindlichen Strukturen sowie die lokalen Bedingungen, entstehende Wärme abzuleiten [GEERAETS *et al.*, 1962]. Dem Blutfluss in Netzhaut und Aderhaut mit seinem sehr starken Wärmeleitungsvermögen kommt hier besondere Bedeutung zu.

Thermische Schäden treten im Falle von sehr kurzzeitigen Lasereinwirkungen als mechanische Effekte auf und sollen durch eine explosionsartige Ausdehnung des erhitzten Gewebes mit Gasbildung zustande kommen [MARSHALL, 1970]. Elektrische Feldeffekte und sogenannte nichtlineare Wirkungen im Falle von Lasereinwirkungen im Nanosekundenbereich stellen zusätzliche Schädigungsmechanismen dar, die zur Zeit genannt

werden [GOLDMAN, 1967; GOLDMAN und ROCKWELL, 1971]. Gegenstand der hier vorliegenden Arbeit sind laserbedingte thermische Effekte, die bei längeren Expositionszeiten im Millisekundenbereich zustande kommen, in ihrem Spektrum, das von gerade nachweisbaren Schwellenläsionen bis zu intensiven Läsionen des klinisch-therapeutischen Bereiches reicht.

B. Schwellenläsionen

1. Definition und Bedeutung

Als Definition einer Schwellenläsion für die Netzhaut gilt seit den klassischen Untersuchungen von HAM *et al.* [1958] das Vorhandensein einer zarten weisslichen Netzhautverfärbung innerhalb von 5 min nach Exposition in 50 % der Fälle. Diese Untersuchungen wurden unter Verwendung eines weissen Intensivlichtes und Kaninchen als Versuchstieren durchgeführt. Spätere Untersucher haben ihre Beobachtungen zum Teil mit anderen Lichtquellen und anderen Versuchstieren auf längere Beobachtungszeiträume ausgedehnt. Das Vorhandensein oder Fehlen einer Schwellenläsion wurde mit dem Ophthalmoskop festgestellt und mit den physikalischen Daten der Exposition korreliert. Diese Daten ergaben den sogenannten Schwellenwert und waren definiert als Energiedichte (cal/cm^2) oder Leistungsdichte (W/cm^2), gemessen an der Hornhaut. Aufgrund dieser an der Hornhaut gemessenen ins Auge tretenden Lichtstrahlung wurden zusätzlich nicht selten die Energiedichten bzw. Leistungsdichten in der Ebene der Netzhaut rechnerisch ermittelt, ein Verfahren, das wegen einiger nicht exakt bestimmbarer Parameter in letzter Zeit wieder verlassen wurde.

Ein Schwellenwert ist grundsätzlich abhängig von der Empfindlichkeit der Methodik, mit welcher er bestimmt werden kann. Dementsprechend liessen sich mit Untersuchungsmethoden, die feiner als die Ophthalmoskopie waren, Läsionen auch unterhalb der ophthalmoskopischen Schwelle nachweisen: Elektoretinographisch wurden Veränderungen der b-Wellenhöhe festgestellt, wenn nur die Hälfte der Energie verwandt wurde, welche nötig war, um ophthalmoskopisch gerade sichtbare Läsionen zu produzieren [MCNEER *et al.*, 1963]. Enzymaktivierung wurde messbar, wenn Energien um 10–15 % unterhalb der ophthalmoskopischen Schwelle verwandt wurden [GEERAETS *et al.*, 1963]. Biochemisch wurden Veränderungen löslicher retinaler Proteine, gemessen mittels Mikroagarelektrophorese, noch zirka 1,5 mm ausserhalb von Läsionen gefunden, die mit einer Energie von nur 40 % oberhalb des ophthalmoskopischen Schwellenwertes gesetzt worden

waren [CHAN *et al.*, 1963]. Auch anfängliche histologische Beschreibungen von einige Stunden alten ophthalmoskopischen Schwellenläsionen wiesen darauf hin, dass die ophthalmoskopisch ermittelte Schwelle mehr als einen minimalen Schaden angibt [HAM *et al.*, 1958]; denn solche Läsionen beim Kaninchen zeigten eine Schadenausdehnung, die das retinale Pigmentepithel und die äusseren Netzhautschichten mit Pyknose der Kerne von Pigmentepithel und von Stäbchen- und Zapfenzellen umfasste. Einzelne pyknotische Kerne wurden sogar in der inneren Körnerschicht beobachtet. Ferner wurde ein leichtes Ödem der Nervenfaserschicht gesehen. Stäbchen- und Zapfenzellen (die Fotorezeptorzellen) sind Ganglienzellen des Zentralnervensystems, die nach Geburt nicht neugebildet werden können. Zerstörung ihrer Kerne ist daher, nach allem, was wir wissen, mit irreversiblen Funktionsausfall verknüpft. Dieser Ausfall stellt ein mögliches biologisches Kriterium für einen Schwellenwertschaden dar [HAM *et al.*, 1958].

2. Eigener Ansatz, Schwellenwerte genauer zu bestimmen

Am besten würden irreversible Funktionsausfälle aber funktionell geprüft, d. h. mittels Visusbestimmung bei menschlichen Volontären, deren Auge wegen Vorliegens anderweitig nicht behandelbarer Krankheiten (z. B. intraokularer Tumor) entfernt werden muss, oder bei trainierten Primaten [NEWTON, zit. bei GEERAETS *et al.*, 1963]. Ergebnisse solcher Untersuchungen sind bisher nur ganz vereinzelt bekannt geworden [FARRER *et al.*, 1970; TSO, 1972]. Sie sind schwierig zu erhalten und setzen eine ausserordentlich umfangreiche Methodik voraus. Es wird deshalb in dieser Arbeit versucht, funktionelle Rückschlüsse auf indirekte Weise zu gewinnen.

Eigene ophthalmoskopisch definierte Läsionen des Schwellenbereiches sollen mit morphologischen Untersuchungsmethoden genauer auf ihre wahrscheinliche funktionelle Bedeutung hin geprüft werden. Mit anderen Worten: Es wurde versucht, experimentell Laserläsionen zu erzeugen, die teils ophthalmoskopisch sichtbar und teils unsichtbar waren, um diese Läsionen mit morphologischen Befunden zu korrelieren bis zu einem Bereich, wo Schäden mittels verfeinerter Methoden der Lichtmikroskopie und der Elektronenmikroskopie gerade noch definiert werden können. Umschriebene Schäden in diesem Bereich zerstören die Kerne der Sehzellen nicht und wären nach neuen Untersuchungen anatomisch und funktionell reparabel [Tso *et al.*, 1972a, b; TSO, 1972; WALLON und TSO, 1973b, d]. Damit würde eine «morphologische» Schwelle in unmittelbare Nähe der gesuchten funktionellen Schwelle rücken und funktionelle Rückschlüsse nahelegen. Es würde sich ferner ein bestimmtes Verhältnis zwischen ophthalmoskopischem, morpho-

logischem und voraussichtlich funktionellem Schwellenwert ergeben, das besagt, um wieviel die morphologisch/funktionelle Schwelle überschritten sein muss, bevor ophthalmoskopisch sichtbare Netzhautveränderungen auftreten. Dieser Wert könnte dann als Sicherheitsfaktor dem auf ophthalmoskopischer Basis ermittelten Schwellenwert einen korrekten Platz anweisen und einen präziseren Ausgangspunkt für zusätzliche rechnerische Sicherheitsfaktoren liefern als der ophthalmoskopische Schwellenwert allein.

Im ersten Teil dieser Arbeit wird diese Überlegung anhand von Experimenten am Affen und Kaninchen mit dem Argonlaser und dem Helium-Neon-Laser durchgeführt. Voraussetzung dafür war eine möglichst gute Reproduzierbarkeit von Läsionen, die sich physikalisch leicht, am biologischen Objekt jedoch nur schwer erzielen lässt. Reproduzierbarkeit setzte voraus, dass optische Fehler des Auges ausgeglichen wurden, die eine Grössenvariation des Laserlichtfleckes auf der Netzhaut und damit eine Variation der Leistungsdichte der auf die Netzhaut treffenden Strahlung bewirken; ferner, dass der Laserstrahl optimal auf die Netzhaut fokussiert wurde und dass die entstehende Läsion optimal beobachtet werden konnte. Eine solche Versuchsanordnung wurde unter Verwendung eines Kontaktglases auf der Hornhaut des im Experiment befindlichen Tieres erreicht. Darüber ist zum Teil bereits berichtet worden [BIRNGRUBER *et al.*, 1972], teils wird die systematische Darstellung von Absolutwerten unserer Schwellenwertuntersuchungen an anderen Stellen erfolgen. Eine vergleichbare Methodik, Schwellenwerte am System Kontaktglas–Auge zu bestimmen, ist bisher nur einmal in der Literatur beschrieben und angewandt worden [L'ESPERANCE und KELLY, 1969]. Im Zusammenhang dieser Arbeit ist – wie oben erwähnt – das Interesse auf die Erarbeitung histologischer und zytologischer Details ausgerichtet, die bei minimalen Laserläsionen an der Netzhaut entstehen, ferner auf die Korrelation dieser Befunde mit wahrscheinlichen funktionellen Schäden und mit klinisch beobachtbaren Befunden. Hierüber sind in der Literatur wenig Informationen vorhanden.

III. Material und Methodik

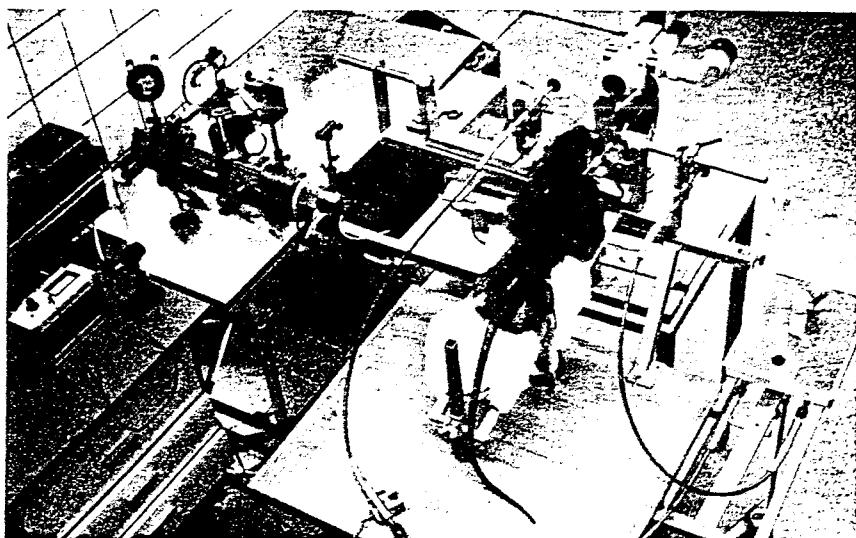
A. Versuchstiere und Läsionsgruppen

Die Versuchstiergruppen für die Untersuchung von schwelennahen Läsionen waren graue Chinchillakaninchen, die im Hinblick auf eine möglichst gleichmässige Augenhintergrundpigmentierung ausgewählt worden waren, sowie Cynomolgusaffen (*Macaca iris*) und Rhesusaffen (*Macaca mulatta*). Das Gewicht der Kaninchen lag bei 2,5–3,5 kg Körpergewicht, das der Cynomolgusaffen bei 2,5–3,0 kg, das der Rhesusaffen bei 4–5 kg. Die

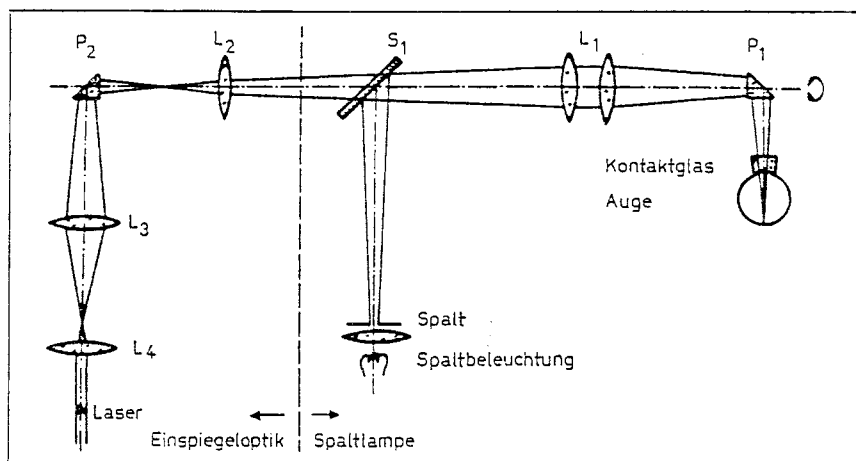
Läsionen wurden mit einem kontinuierlich bei 514,5 nm emittierenden Argonlaser sowie mit einem kontinuierlich bei 632,8 nm emittierenden Helium-Neon-Laser gesetzt. Die Expositionszeiten betragen in der Regel 77, 150 und 270 msec; gelegentlich wurden 125 und 175 msec benutzt. Die Gruppen der Versuchstiere, die Expositionszeiten innerhalb der Gruppen und der benutzte Lasertyp sind in Tabelle I zusammengestellt. Bei Kaninchen wurden dabei in 4 Augen von 2 Tieren sowohl Argon- wie Helium-Neon-Laserläsionen gesetzt, um die Wirkung verschiedener Laser in unmittelbarer Nachbarschaft desselben Fundus beurteilen zu können.

Tabelle I. Materialzusammenstellung über schwelennahe Laserläsionen, produziert in der Netzhaut von grauen Chinchillakaninchen, Cynomolgusaffen (*Macaca iris*) und Rhesusaffen (*Macaca mulatta*)

Expositionszeit (msec)	Zahl Argonläsionen	Zahl Helium-Neon-Läsionen
<i>Kaninchen</i>		
77	53	-
125	184	-
150	94	180
270	35	110
Gesamtzahl	366 (15 Tiere mit 22 Augen)	290 (17 Augen von 10 Tieren)
<i>Cynomolgusaffen</i>		
77	86	-
150	218	-
175	-	14
270	147	60
Gesamtzahl	451 (13 Augen von 8 Tieren)	74 (6 Augen von 3 Tieren)
<i>Rhesusaffen</i>		
77	-	-
150	126	-
270	-	-
Gesamtzahl	126 (6 Augen von 3 Tieren)	



a



b

Abb. 8. A Versuchsanordnung zur Einspiegelung von Laserstrahlen in den Fundus oculi eines Cynomolgusaffen (*Macaca iris*). In der linken Bildseite ist die Laserquelle sichtbar, in der Mitte und rechts das Versuchstier, das auf einem beweglichen Tierhalter ruht und in die vor seinem Kopf befindliche Spaltlampe blickt. B Der optische Strahlengang dieser Versuchsanordnung ist im Schema wiedergegeben. L3 und L4 stellen ein teleskopisches System dar, welches den Laserstrahl über das Prisma P2 und die Sammellinse L2 zum verschieblichen Schlitten S1 leiten. Dieser enthält 2 Teilerspiegel unterschiedlichen Reflexions-/Transmissionsverhältnisses, die in den Strahlengang geschoben werden können: 1 Spiegel mit niedriger Transmission zur Beobachtung des Laserstrahles und 1 Spiegel mit hoher Transmission (ca. 98 %) zur Exposition des Fundus. Die optischen Systeme

B. Versuchsanordnung

Der Rohstrahl eines Argonlasers der Firma Spectra Physics, Modell 165 sowie eines Helium-Neon-Lasers der Firma Spectra Physics, Modell 125, wurde über ein teleskopisches System in eine Zeiss-Fotospaltlampe eingespiegelt (Abb. 3).

Er wurde dann über einen Teilerspiegel in der Fotospaltlampe in den Strahlengang der Spaltbeleuchtung eingeblendet, so dass die Fokusebene des Laserstrahls und die Schärfenebene des Spalts geometrisch zusammenfielen. Die Spaltbeleuchtung diente als Umfeldbeleuchtung, der Laserstrahl wurde zunächst durch Filter abgeschwächt und auf diese Weise als Zielstrahl benutzt. Zur Exposition wurde das Filter entfernt, und die Expositionsdauer wurde durch einen elektromagnetischen Verschluss im Strahlengang gesteuert. Die Spaltlampe war fest montiert. Der aus der Spaltlampe austretende Laserstrahl fiel über ein Funduskontaktglas, das auf die Hornhaut des Tieres gesetzt war, in dessen Auge. Der zum Aufsuchen gewünschter Netzhautbezirke nötige Bewegungsspielraum wurde durch einen für diesen Zweck gebauten Tierhalter ermöglicht. Dieser besass eine Höhenfeineinstellung und gestattete es, das Tier um eine horizontale und um eine vertikale Achse zu drehen, wobei sich das Auge im Schnittpunkt der beiden Drehachsen befand. Der minimale Fokusbereich des Laserstrahls in Luft wurde auf einer Fotoplatte gemessen. Er diente der Schätzung des Fokusbereichs in Netzhautebene des Versuchstieres. Unter Verwendung von optischen Daten über das Kaninchenauge [HUGHES, 1972] wurde der Durchmesser für Kaninchen mit zirka $11 \mu\text{m}$ ermittelt. Der Durchmesser bei Affen liess sich wegen fehlender optischer Daten des Affenauges weniger genau bestimmen und wird auf zirka $16 \mu\text{m}$ geschätzt. Durch Streuung der Messwerte bzw. Messungenauigkeiten bei der Leistungsmessung des Laserstrahls und bei der Zeitmessung der Exposition ergab sich ein Fehler von $\pm 14\%$ bei der Bestimmung der Energiedichte an der Hornhaut des Tieres. Für die Bestimmung der Energiedichte an der Netzhaut kommen zirka 27% hinzu, bedingt durch Variation des Bestrahlungsfleckes beim Fokussieren durch den Experimentator und durch Unsicherheit in der linsenbedingten Fokusverkleinerung. Die bis auf einige Prozent konstanten Transmissionsverluste in den brechenden Medien des Auges sind in diese Berechnung nicht miteinbezogen.

C. Medizinische Versuchsbedingungen

Kaninchen wurden vor Beginn des Versuches durch intravenöse Gabe von Pentobarbitallösung (Nembutal®, 25 mg/kg Körpergewicht) anästhesiert. Die Pupillen wurden mit einer 2%igen Lösung von Cyclopentolate Hydrochlorid (Cyclogyl®) in Kombination mit einer 10%igen Lösung von Phenylephrin Hydrochlorid (Neosynephrin®) auf 8 mm Durchmesser erweitert. Atropinsulfat-Tropfen, 1%ig, waren an dem dem Versuch vorausgehenden Tag verabreicht worden, um vollständige Zykloplegie sicherzustellen. Das Tier wurde dann in den Tierhalter eingesetzt und der Kopf fixiert. Ein Funduskontaktglas

me von Spaltlampenbeleuchtung und Laserstrahl verlaufen ab S_1 gemeinsam und erreichen über die Linse L_1 , das Prisma P_1 und das Hornhautkontaktglas einen gemeinsamen Fokus im Versuchstierauge. Ein Teil des Laserstrahls wurde zur Energiemessung ausgespiegelt.

wurde durch Immersion mit Mythylzellulose (Methocel®) auf die Hornhaut gebracht. Durch das Kontaktglas und nötigenfalls durch zusätzliche Nähte wurden Augenlider und Nickhaut zurückgehalten. Mit dieser Anordnung blieben eine einwandfreie Hornhautdurchsichtigkeit und ein konstant klarer Funduseinblick auch bei mehrstündiger Versuchsdauer erhalten. Intensive, sofort als weisse Herde sichtbare Läsionen wurden als Markierungspunkte neben ophthalmoskopische Schwellenläsionen plaziert, um diese bei der Beobachtung nach Exposition sofort wiederzufinden. Durch Variation der Laserleistung wurden bei konstanter Expositionszeit zahlreiche Läsionen oberhalb und unterhalb der ophthalmoskopischen Schwelle gesetzt. Alle Läsionen befanden sich in einem Fundusgebiet zwischen 1 und 4 Papillendurchmesser unterhalb des Streifens markhaltiger Nervenfasern.

Affen wurden durch intramuskuläre Gabe des Anästhetikums Ketamin-Hydrochlorid (Ketanest®, 15 mg/kg Körpergewicht) betäubt. Langanhaltende Vollnarkose wurde durch anschliessende intravenöse Gabe von Pentobarbitallösung (Nembutal, 10–15 mg/kg Körpergewicht, gegebenenfalls mit 1–2maliger Wiederholung der Gabe) erreicht. Pupillenerweiterung auf mindestens 7 mm Durchmesser erfolgte durch Cyclopentolate Hydrochlorid (Cyclogyl) und Phenylephrin Hydrochlorid (Neosynephrin) in 10%iger Lösung. Schwellennahe Läsionen wurden wie bei Kaninchen durch benachbarte intensive Läsionen markiert. Alle Läsionen befanden sich am hinteren Funduspol bis zu etwa 30° Entfernung von der Fovea centralis.

D. Klinische und histologische Auswertung

Die Fundusareale mit Laserexpositionen wurden zunächst während des Versuches weiter durch das Kontaktglas bei zirka 16facher Vergrösserung beobachtet. Bei Kaninchen wurden umschriebene Bezirke weisslicher Netzhautverfärbung, die innerhalb von 5 min nach Exposition sichtbar wurden, als positive ophthalmoskopische Schwellenläsionen gewertet. Bei Affen wurde der Beobachtungszeitraum über 5 min hinaus auf in der Regel 10–15 min ausgedehnt, jedoch wurde aus Gründen der Vergleichbarkeit der Definition die Beurteilung aufgrund der Beobachtung nach 5 min zunächst beibehalten. Diese ophthalmoskopisch definierte Schwelle wurde für die Erarbeitung von Mittelwerten derjenigen Laserleistung zugrunde gelegt, die zur Produktion von Schwellenläsionen notwendig war. Dazu wurden Gesamtzahlen eindeutig verwertbarer Expositionen, Laserintensitätsintervalle, mit denen die Expositionen erzeugt worden waren, sowie Anzahl der ophthalmoskopisch negativen und positiven Beobachtungsergebnisse in Form von Histogrammen zusammengestellt. Es ergaben sich daraus «ED₅₀-Werte», d.h. Mittelwerte derjenigen Laserstrahlenintensität an der Hornhaut, bei welcher in 50% der Expositionen ein ophthalmoskopisch sichtbarer Schaden zu erkennen war. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Exposition wurden zahlreiche Läsionen mittels Fundusfotografie zusätzlich dokumentiert, am häufigsten sofort oder 1–2 Tage nach dem Versuch, in einzelnen Fällen bis zu einem Vierteljahr später.

Die Augen wurden in der Regel 1–2 Tage nach der Exposition enukleiert, sofort koronar an der Pars plana eröffnet und in 4%igem gepuffertem Glutaraldehyd fixiert. Anschliessend erfolgte Nachfixierung in Daltons Chrom-Osmiumlösung und Gewebeeinbettung in Eponharz für die licht- und elektronenmikroskopische Bearbeitung. Von

repräsentativen Läsionen wurden serielle 1,5 μm dicke Schnitte erstellt, um Ausdehnung und Zentrum des Schadens in den Läsionen festzustellen. Die Schnitte wurden mit Toluidinblau gefärbt. Zwischen und nach den Serienschnitten wurden Ultradünnschnitte für die Elektronenmikroskopie auf einem Reichert OM U 2 Ultramikrotom angefertigt. Sie wurden mit Uranylazetat und Bleizitrat behandelt und in einem Zeiss EM 9-S 2 Elektronenmikroskop betrachtet und fotografiert.

IV. Ergebnisse

A. Die Bestimmung ophthalmoskopischer Schwellenwerte bei Kaninchen und Affen

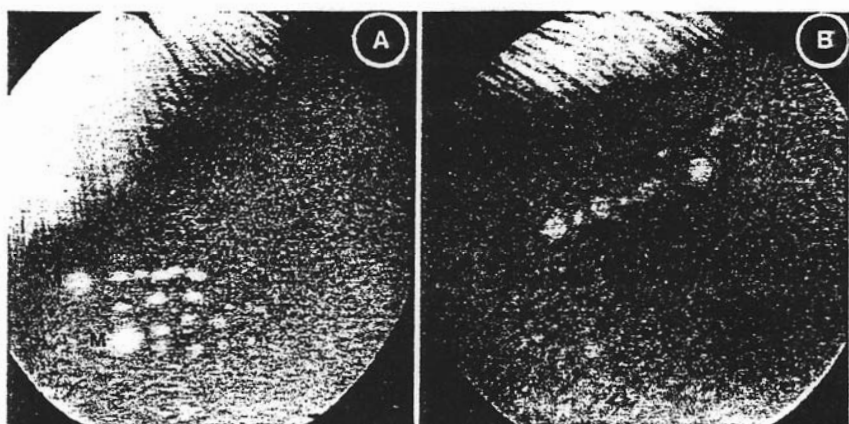
Wenn überschwellige Laserleistungen verwandt wurden, um Markierungs-läsionen zu schaffen, so kam es an der bestrahlten Netzhautstelle zu einem runden Bezirk von Grau- oder Weissfärbung, umgeben von 1 oder 2 schmalen Ringen einer grau-gelben Verfärbung. Wenn die Laserleistung stufenweise reduziert wurde, entstanden Läsionen des Schwellenbereiches. Sie stellten sich als eine sofort nach Exposition auftretende Dunkelverfärbung der Netzhaut dar, in deren Mitte sich dann eine scharf begrenzte grau-weissliche Verfärbung bei Kaninchen und eine mehr gräulich-gelbe Verfärbung bei Affen entwickelte. Diese Entwicklung war bei den verschiedenen Lasertypen und den verschiedenen Expositionszeiten (77, 125, 150, 175 und 270 msec) prinzipiell gleichartig. Die Läsionen blieben über mindestens 48 h als weissliche oder gräulich-gelbe Herde erkennbar. Das typische Bild der als weissliche bzw. gräulich-gelbe Flecke sichtbaren schwelennahen Läsionen zum Zeitpunkt sofort sowie 1–2 Tage nach der Exposition ist in den folgenden Fundusfotografien dargestellt (Abb. 9, 10).

Die Pigmentverteilung im Kaninchenfundus war unregelmässiger und grobkörniger als im Affenfundus. Bei Kaninchen waren sichtbare schwelennahe Läsionen oft schlechter gegenüber der umgebenden Netzhaut abgrenzbar als bei Affen. Besonders deutlich war dies im unteren Schwellenbereich in einer Übergangszone zwischen sichtbaren und unsichtbaren schwelennahen Läsionen. Bei beiden Versuchstiergruppen entwickelten sich Läsionen, in deren Mitte es während eines Beobachtungsintervalles von 5 bzw. 15 min nach Exposition nicht zu einer Weisslich- oder Gräulichverfärbung der Netzhaut kam, die mithin lediglich aus unscharf begrenzten, winzigen, dunklen Flecken bestanden. Im Affenfundus mit seiner feinkörnigen Pigmentverteilung konnten solche Läsionen nicht selten noch als Stellen von Lasereinwirkung erkannt werden, beim Kaninchen nicht mit Sicherheit.

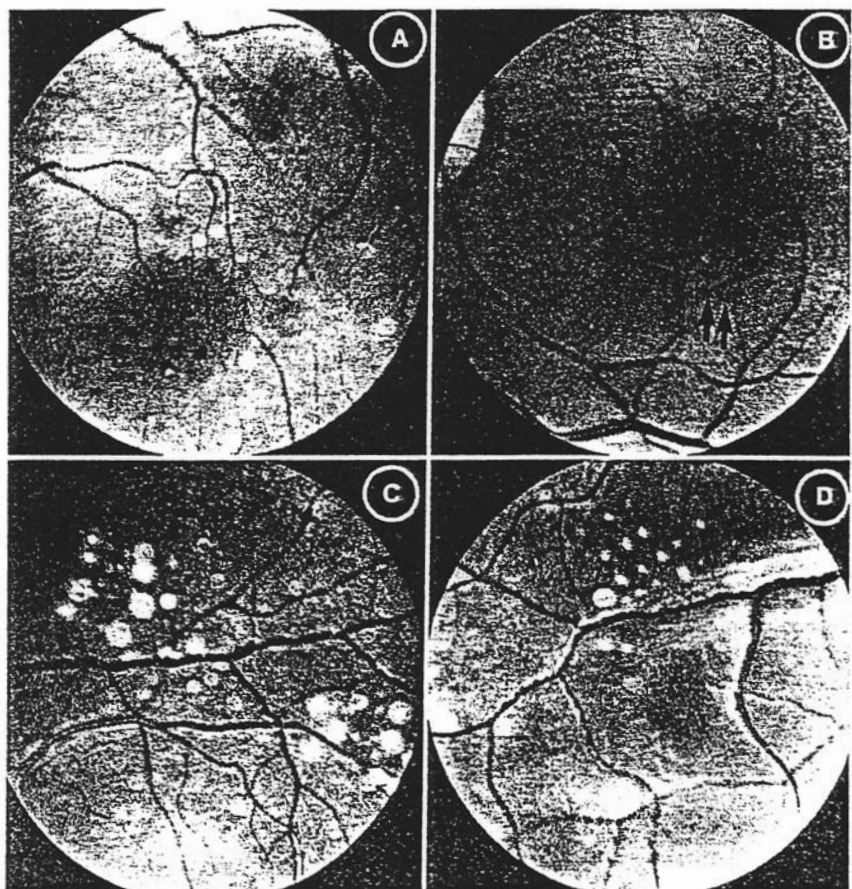
Abb. 9. Fundusfotos von schwellennahen Laserläsionen in der Netzhaut eines grauen Chinchillakaninchens. *A* Argonlaserläsionen (1 Tag alt). Neben distinkt weissen Markierungsläsionen (*M*), die von einem Hof gräulicher Netzhautverfärbung umgeben sind, kann man schwellennahe Läsionen beobachten. Sie bestehen aus mehr oder weniger grossen, runden Arealen einer grau-weisslichen Verfärbung der Netzhaut. Die 8 Läsionen der oberen Doppelreihe wurden mit Leistungen zwischen 13,5 und 19 mW bei einer Expositionszeit von 150 msec produziert, die untere Doppelreihe mit Leistungen zwischen 13 und 19 mW bei einer Expositionszeit von 77 msec. Die obere Markierungsläsion wurde mit einer Leistung von 40 mW bei 150 msec Expositionszeit gesetzt. *B* Helium-Neon-Laserläsionen (2 Tage alt) im selben Fundus produziert mit Leistungen zwischen 20 und 30 mW bei einer Expositionszeit von 150 msec. Die Läsionen zeigen das gleiche Erscheinungsbild wie die oben beschriebenen Argonlaserläsionen. Wegen der starken Pigmentdichtenvariation des Fundus wird die Läsion nahe dem Pfeil nur unsicher erkannt. Eine darüber gelegene Läsion bestand lediglich aus einem winzigen dunklen Fleck, der im Foto nicht mehr als Sitz einer Läsion erkannt wird. Die 4 Markierungsläsionen hatten eine Leistung von 30 mW und eine Expositionszeit von 1000 msec.

Abb. 10. Fundusfotos von schwellennahen Laserläsionen in der Netzhaut von Cynomolgusaffen. Innerhalb eines Fundusareals bestehen nur geringe Pigmentdichtenvariationen. *A, C* Argonlaserläsionen. *B, D* Helium-Neon-Laserläsionen. Die beiden oberen Fundusfotos wurden zirka 15 min nach Laserexposition gemacht, die beiden unteren 1 Tag nach Exposition. *A, B* Argonlaserläsionen und Helium-Neon-Laserläsionen stellen sich früh (ca. 15 min) nach der Exposition als runde Bezirke einer Dunkelverfärbung der Netzhaut dar, in deren Mitte jeweils eine scharf begrenzte, gräulich-gelbe Verfärbung sichtbar ist. *A* Acht sichtbare Argonlaserläsionen in einer Doppelreihe. Die oberen 4 Läsionen wurden mit 10 mW bei 270 msec gesetzt, die unteren 4 mit 15 mW bei 77 msec. Darunter befindet sich eine weitere Viererreihe von Läsionen, die ophthalmoskopisch nicht sichtbar wurden und mit 10 mW bei 77 msec produziert worden waren. *B* Fünf Helium-Neon-Laserläsionen der Makula, produziert mit 17,5 mW bei 270 msec sowie 3 untereinandergesetzte Reihen sichtbarer Läsionen. Obere Reihe, 15 mW bei 270 msec; mittlere Reihe, 20 mW bei 270 msec; untere Reihe, 17,5 mW bei 270 msec. Darunter befinden sich 3 weitere Läsionen, gesetzt mit 15 mW bei 270 msec. Zwei davon sind fraglich als winzige dunkle Flecken erkennbar (Pfeile). Sie waren im Sinne unserer Definition ophthalmoskopisch negativ. *C, D* Argonlaserläsionen und Helium-Neon-Laserläsionen stellen sich 1 Tag nach der Exposition als runde Bezirke einer gräulich-gelben Netzhautverfärbung dar; der dunkle Hof des frühen Erscheinungsbildes ist weniger deutlich oder verschwunden. *C* Links oben und rechts unten im Bild schwellennahe Argonlaserläsionen neben Markierungsläsionen. Die sichtbaren schwellennahen Läsionen wurden mit Leistungen zwischen 13 und 15 mW bei einer Expositionszeit von 150 msec gesetzt, die im unteren Feld sichtbaren bei einer Expositionszeit von 270 msec. Im oberen Feld befinden sich ferner rechts neben der untersten rechten Markierungsläsion drei ophthalmoskopisch nicht sichtbare Läsionen, produziert mit 8 mW. Die beiden oberen linken Markierungsläsionen des oberen Feldes wurden mit 50 mW bei 150 msec produziert, alle Markierungsläsionen des unteren Feldes mit einer Leistung von 50 mW bei einer Expositionszeit von 270 msec. *D* Helium-Neon-Laserschwellenläsionen. Von 3 Läsionen der obersten Reihe, produziert mit 15 mW bei 270 msec, sind zwei fraglich als helle Flecken sichtbar. In den beiden Reihen darunter befinden sich Läsionen, die mit 20 bzw. 25 mW bei 270 msec gesetzt wurden. In der untersten Reihe liegt eine Markierungsläsion von 25 mW bei 900 msec Expositionszeit zwischen 5 schwellennahen Läsionen von 15 mW bei 270 msec.

9



10



Läsionen an Rhesusaffen (*Macaca mulatta*), zunächst in begrenzter Zahl mit dem Argonlaser produziert, waren mit den Läsionen an Cynomolgusaffen (*Macaca iris*) vergleichbar (Abb. 11).

Zur Auswertung der Läsionen nach den unter «Material und Methodik» angegebenen Kriterien wurden Histogramme erstellt und daraus «ED₅₀-Werte» ermittelt. Zur Illustration ist das Beispiel eines Histogramms für Argonlaserschwellenwerte am Kaninchenauge ausgewählt (Abb. 12).

Die aus Histogrammen dieser Art für verschiedene Versuchstiergruppen, Lasertypen und Expositionszeiten ermittelten Schwellenwerte (ED₅₀, mW) sind in Tabelle II zusammengestellt. Die detaillierte Darstellung der Histogramme erfolgt an anderer Stelle durch Herrn Dipl.-Phys. R. BIRNGRUBER *et al.*

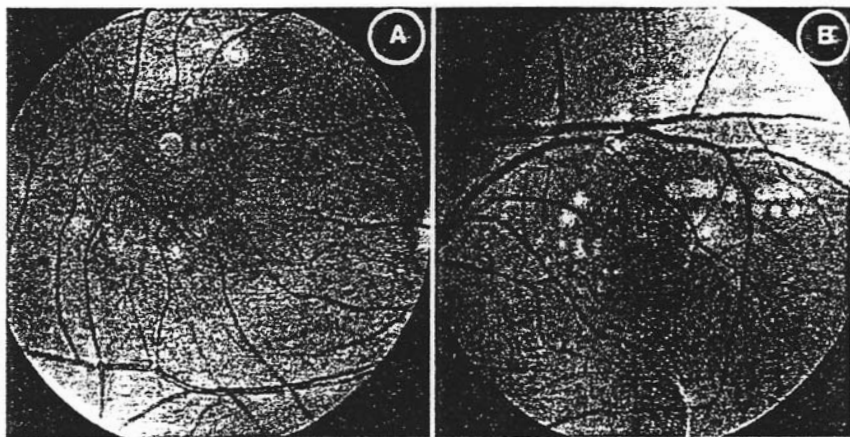


Abb. 11. Argonlaserschwellenläsionen des schwelennahen Bereiches in der Netzhaut eines Rhesusaffen (*Macaca mulatta*), 1 Tag alt. *A* Zwischen 2 Markierungsläsionen von 50 mW bei 150 msec ist eine Doppelreihe von Schwellenläsionen sichtbar, die mit 15 bzw. 10 mW bei 150 msec produziert wurde. Darunter sowie darüber befinden sich zwei weitere Reihen von Läsionen, die ophthalmoskopisch nicht sichtbar wurden. Die unteren Reihen waren mit 10 bzw. 8 mW gesetzt, die oberen mit 6 mW. *B* Weitere typische Argonlaserschwellenläsionen sowie Markierungsläsionen im Partnerauge desselben Versuchstieres (linke Bildhälfte, oberer Teil), die Schwellenläsionen waren mit Leistungen zwischen 10 und 15 mW bei 150 msec gesetzt, die beiden Markierungsläsionen mit 50 mW bei 150 msec. Bei den übrigen sichtbaren Läsionen handelt es sich um Kurzzeitkoagulationen mit Expositionszeiten von 10 msec.

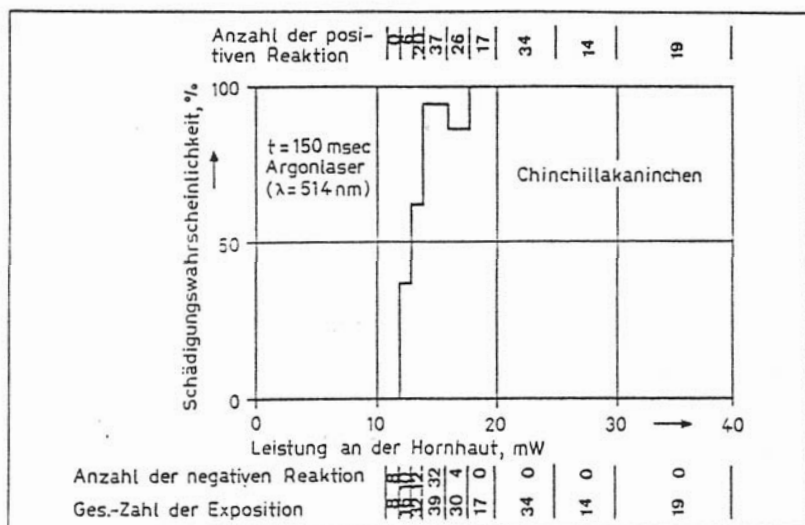


Abb. 12. Histogramm zur Bestimmung der Schädigungswahrscheinlichkeit der Netzhaut von grauen Chinchillakaninchen gegenüber Argonlaserbestrahlung einer Expositionszeit von 150 msec. Kriterium der positiven oder negativen Reaktion war die ophthalmoskopische Sichtbarkeit eines Netzhautschadens innerhalb von 5 min nach Exposition. Für eine 50%ige Wahrscheinlichkeit einer positiven Reaktion (ED_{50}) wurde der Wert 13 mW aus dieser Kurve entnommen.

Tabelle II. Schwellenwerte (ED_{50} , mW) für Argonlaser- und Helium-Neon-Laserexpositionen der Netzhaut von grauen Chinchillakaninchen, Cynomolgusaffen und Rhesusaffen.

	Expositionszeit, msec		
	77	150	270
Kaninchen (Chinchilla, grau)			
Argonlaser	14,0	13,0	11,5
He-Ne-Laser	-	16,5	15,0
Cynomolgusaffen (<i>Macaca iris</i>)			
Argonlaser	21,0	12,0	12,0
He-Ne-Laser	-	-	17,0
Rhesusaffen (<i>Macaca mulatta</i>)			
Argonlaser	-	15,0	-

B. Das histologische Bild ophthalmoskopischer Schwellenläsionen des akuten Stadiums bei Kaninchen

Für die morphologische Auswertung retinaler Laserläsionen werden im folgenden gelegentlich pathologische Gewebsveränderungen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Exposition beschrieben. Die in Arbeiten über klinische Läsionen gewählte Einteilung in akutes, intermediäres und chronisches Stadium [WALLOW und TSO, 1973 a] wurde hier auch für Schwellenläsionen verwandt. Das akute Stadium reicht von der Zeit unmittelbar bis 2 Tage nach der Exposition, das intermediäre Stadium von 3 Tagen bis etwa 2 Wochen nach Exposition, das chronische Stadium von 2 Wochen nach Exposition bis zum Ende der Beobachtungszeit (etwa $\frac{1}{4}$ Jahr). In dieser Arbeit werden vor allem Läsionen des akuten Stadiums beschrieben und mit einzelnen Läsionen des chronischen Stadiums verglichen. Der Klarheit der Beschreibung wegen wird die Netzhaut in retinales Pigmentepithel und neurale Netzhaut, d. h. alle übrigen Schichten zwischen Spitzen der Fotorezeptorzellen und innerer Grenzmembran unterteilt.

Bei lichtmikroskopischer Untersuchung bestanden morphologisch keine Unterschiede zwischen Argonlaserkoagulationen und Helium-Neon-Laserkoagulationen. Läsionen in der Nähe des ED₅₀-Bereiches zeigten immer eine Zerstörung der äusseren Netzhauthälfte. Es waren ausserdem die oberflächlichen Schichten der Aderhaut betroffen. Diese Veränderungen sind in Abbildung 13 am Beispiel der Mitte einer typischen Argonlaserschwellenläsion dargestellt.

Helium-Neon-Laserschwellenläsionen zeigten histologisch ein vergleichbares Schadenmuster (Abb. 14).

Die durch den Argonlaser oder durch den Helium-Neon-Laser gesetzten Schäden schienen unterschiedlich intensiv, wenn man Zentrum und Peripherie der Läsionen verglich. In der Aderhautkapillaris schienen die Blutgefässe in der Peripherie der Läsionen unauffällig, im Zentrum bestand thrombotischer Verschluss von Kapillaren. Die Bruchsche Membran blieb als kontinuierliche Struktur erhalten. Einzelne Zellen des Pigmentepithels waren peripher in den Läsionen geschwollen, ihre Kerne noch erkennbar; zentral waren die Zellen abgeflacht, ihre Kerne lichtmikroskopisch nicht mehr eindeutig sichtbar. Statt dessen wurden in der Zellmitte regelmässigerundliche etwas aufgehellte Bezirke beobachtet. In der neuralen Netzhaut bestanden peripher in den Läsionen Fragmentation und Desorganisation der Aussensegmente der Fotorezeptorzellen sowie Unregelmässigkeiten der Innensegmente. Vereinzelt fanden sich pyknotische Fotorezeptorzellkerne

nahe der äusseren Grenzmembran. Zentral waren die Aussensegmente auffällig gestreckt und regelmässig angeordnet, die Innensegmente abgerundet plump und vermehrt anfärbbar. Das Zellgefüge im Bereich der äusseren Körnerschicht war aufgelockert. Das perinukleäre Zytoplasma vieler Fotorezeptorzellen war hell und vakuolisiert, die Fotorezeptorzellkerne waren pyknotisch.

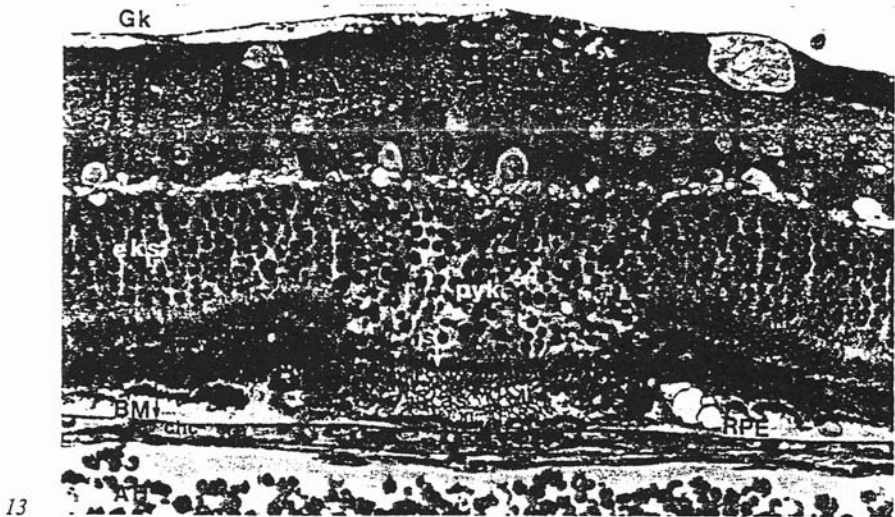
Die durch den Argonlaser oder durch den Helium-Neon-Laser gesetzten Schäden waren unterschiedlich gross, wenn man die Schadenausdehnung in verschiedenen Netzhautebenen miteinander verglich, z.B. die Schadenweite in der Ebene des retinalen Pigmentepithels mit der Schadenweite in der Ebene der externen Körnerschicht. Generell war der Schaden in der Ebene des Pigmentepithels weiter, und es bestand dadurch zu den Seiten der Läsionen eine gegenüber dem nichtverletzten Gewebe treppenförmig angeordnete Schadengrenze. Um eine präzise Vorstellung der Ausdehnung der Läsionen zu gewinnen, wurden im zentralen Schnitt die horizontalen Schadenausdehnungen in Ebene von Pigmentepithel und externer Körnerschicht mittels Mikroskop und kalibriertem Messokular bestimmt und für verschiedene Läsionsgruppen in Tabellen aufgeführt.

25 schwelennahe Argonlaserläsionen des akuten Stadiums wurden in seriellen zirka $1,5 \mu\text{m}$ dicken Schnitten durch das in Epon eingebettete Gewebe bis zum Zentrum dargestellt. Sie stammten von 6 Augen von 6 Kaninchen und waren mit Leistungen zwischen 10 und 16 mW bei einer Expositionszeit von 125 msec produziert worden (Tab. III). Der zugehörige ED_{50} -Wert war im Histogramm mit 13 mW bestimmt worden.

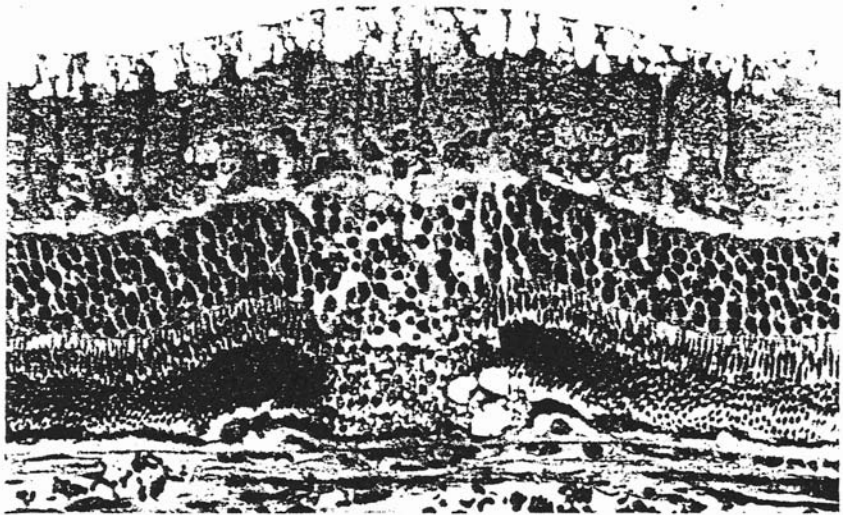
An insgesamt 30 Helium-Neon-Laserläsionen wurden gleiche Messungen vorgenommen. Sie sind in Tabelle IV für Läsionen angegeben, die mit einer Expositionszeit von 150 msec ($\text{ED}_{50} = 16,5 \text{ mW}$) produziert worden waren und in Tabelle V für Läsionen, die mit einer Expositionszeit von 270 msec ($\text{ED}_{50} = 15,0 \text{ mW}$) produziert worden waren. Alle diese Läsionen stammten von 2 Augen eines Kaninchens und waren 1 Tag alt.

C. Das histologische Bild ophthalmoskopischer Schwellenläsionen des akuten Stadiums bei Cynomolgusaffen

Bei lichtmikroskopischer Untersuchung bestanden morphologisch keine Unterschiede zwischen Argonlaserkoagulationen und Helium-Neon-Laserkoagulationen. Läsionen in der Nähe des ED_{50} -Bereiches zeigten immer eine Zerstörung der äusseren Netzhauthälfte. Wie bei Kaninchen wurde ein



13



14

Abb. 13. Mikrofoto einer schwellennahen Argonlaserläsion der Kaninchennetzhaut, 1 Tag nach Exposition, produziert mit 13 mW bei 125 msec. In der Aderhaut besteht thrombotischer Verschluss der Choriocapillaris (chc) in der Mitte der Läsion, peripher sind die Kapillaren offen. Die Bruchsche Membran (BM) ist intakt. Das retinale Pigmentepithel (RPE) ist in der Mitte der Läsion abgeflacht, peripher vakuolig geschwollen. Die Sehzellaussensegmente (as) sind gestreckt und auffällig deutlich in der Mitte der Läsion, peripher sind sie stärker fragmentiert. Es besteht Schrumpfung der Innensegmente (is) sowie Pyknose von Sehzellkernen (pyk) und Auflockerung des Gefüges der externen Körnerschicht (eks). Die innere Körnerschicht (iks) und die weiter innen (zum Glaskörperraum; Gk) gelegenen Netzhautschichten erscheinen unauffällig. $\times 365$.

horizontaler Schadenintensitätsgradient sowie ein vertikaler Schadenausdehnungsgradient gefunden. Läsionen, bei denen innerhalb kurzer Zeit (zirka 1 h) nach der Exposition die Gewebsfixierung für die histologische Bearbeitung durchgeführt wurde, zeigten eine Abhebung des Pigmentepithels von der Bruchschens Membran. Ferner war in Läsionen dieses Alters die seitliche Begrenzung des Schadens relativ steil. In der Aderhautkapillaris schienen die Blutgefäße in der Peripherie der Läsionen unauffällig. Sie waren auch im Zentrum offen. Manche Zellen des Pigmentepithels waren abgeflacht und von der Bruchschens Membran abgehoben, andere Zellen erschienen diffus vakuolisiert und fragmentiert. In der neuralen Netzhaut waren die Aussensegmente der Fotorezeptorzellen besonders im Zentrum gestreckt und relativ regelmässig angeordnet, die Innensegmente waren abgerundet plump und vermehrt anfärbbar. Das Zellgefüge im Bereich der äusseren Körnerschicht war aufgelockert, zahlreiche Fotorezeptorzellkerne waren pyknotisch, das Zytoplasma hell und vakuolisiert. Einzelne der in der äusseren plexiformen Schicht gelegenen Axone der Fotorezeptorzellen waren mitsamt ihren synaptischen Endigungen vermehrt anfärbbar. Diese Veränderungen sind in Abbildung 15 am Beispiel der Mitte einer typischen Argonlaserschwellenläsion und in Abbildung 16 am Beispiel der Mitte einer typischen Helium-Neon-Laserschwellenläsion zum Zeitpunkt von zirka 1 h nach Exposition dargestellt.

Elektronenmikroskopisch bestand der Pigmentepithelschaden in der Peripherie der Läsionen aus diffuser Vakuolisierung von Zellen, so dass diese nach lateral und oben hin aus ihrer normalen kubischen Gestalt herausragten. Darüber angeordnete Aussensegmente von Fotorezeptorzellen waren nicht beschädigt (Abb. 17).

In einer Intermediärzone zwischen Peripherie und Zentrum waren Pigmentepithel und Sehzellaussensegmente betroffen (Abb. 18). Auch viele Innensegmente in diesen Gebieten waren definitiv pathologisch verändert (Abb. 19).

Im Läsionszentrum waren die Schäden besonders intensiv und reichten über die ganze Fotorezeptorzellausdehnung bis zu den Synapsen. Wo das Pigmentepithel lichtmikroskopisch abgehoben schien, zeigte sich elektronenmikroskopisch, dass exzessive intrazelluläre Vakuolenbildung mit Konfluenz im basalen Zellbereich vorlag (Abb. 20).

Abb. 14. Mikrofoto einer schwelennahen Helium-Neon-Laserläsion der Kaninchen-netzhaut, 1 Tag nach Exposition, produziert mit 20 mW bei 150 msec. Das Schadenmuster ist mit dem für Argonlaserschwellenläsionen in Abbildung 13 dargestellten vergleichbar. $\times 365$.

Tabelle III. Histologisch messbare Ausdehnung von 25 schwelennahen Argonlaserläsionen der Kaninchennetzhaut und ihre Beziehung zur Laserleistung und zur ophthalmoskopischen Sichtbarkeit (6 Augen von 6 grauen Chinchillakaninchen, 125 msec Expositionszeit; ED₅₀ = 13,0 mW)

Läsion Nr.	Alter Tage	Schadenausdehnung in μm , gemessen in Ebene von		Leistung mW	Ophthal- moskopische Sichtbarkeit
		RPE	EKS		
1	1	120	40	10	+
2	1	80	40	10	+
3	1	80	55	10	(+)
4	1	70	40	10	+
5	1	70	50	10	+
6	1	95	60	10	+
7	2	?	100	10	(+)
8	2	?	65	10	-
9	2	?	90	10	+
10	2	?	80	10	+
11	1	120	60	13	+
12	1	?	60	13	+
13	1	?	60	13	+
14	1	130	80	13	+
15	1	65	35	13	+
16	1	150	85	13	+
17	1	150	95	13	+
18	1	120	100	13	+
19	1	140	80	13	+
20	1	80	45	16	+
21	1	70	40	16	+
22	1	80	55	16	+
23	1	160	80	16	+
24	1	?	110	16	+
25	2	?	100	16	+

RPE = Retinales Pigmentepithel; EKS = externe Körnerschicht der Netzhaut; ? = aus technischen Gründen konnte die Schadenausdehnung im Eponschnitt nicht genau gemessen werden.

Insgesamt bestanden am Pigmentepithel eine diffuse zytoplasmatische Vakuolisierung sowie Granulation und ein überdeutliches Heraustrreten anscheinend verdünnter Zytoplasmamembranen. Ähnliche Veränderungen wurden im Bereich der äusseren Körnerschicht beobachtet (Abb. 21).

Tabelle IV. Histologisch messbare Schadenausdehnung in 16 schwellennahen Helium-Neon-Laserläsionen der Kaninchenretzhaut und ihre Beziehung zur Laserleistung und zur ophthalmoskopischen Sichtbarkeit (2 Augen eines grauen Chinillakaninchens, 150 msec Expositionszeit; ED₅₀ = 16,5 mW)

Läsion Nr.	Alter Tage	Schadenausdehnung in μm , gemessen in Ebene von		Leistung mW	Ophthal- moskopische Sichtbarkeit
		RPE	EKS		
1	1	50	15	10	(+)
2	1	45	25	15	(+)
3	1	35	25	15	(+)
4	1	80	50	15	(+)
5	1	50	35	15	(+)
6	1	60	40	15	-
7	1	45	30	15	+
8	1	50	30	15	(+)
9	1	80	30	15	-
10	1	75	55	20	(-)
11	1	80	60	20	(-)
12	1	80	50	20	(-)
13	1	60	40	20	+
14	1	60	45	20	+
15	1	70	40	20	+
16	1	70	50	20	+

Über die Synapsen in die eigentliche äussere plexiforme Schicht hinausreichender Schaden wurde nicht gefunden (Abb. 22).

Die an frischen, zirka 1 h alten Läsionen gefundenen Gewebsschäden unterlagen gewissen Veränderungen während der folgenden 2 Tage, d.h. während des weiteren Ablaufes des akuten Stadiums. Bei 1-2 Tage alten Schwellenläsionen war der Raum zwischen abgehobenem Pigmentepithel und Bruchscher Membran mit fibrinösem Material und pigmenthaltigem Zellschutt gefüllt. Die Vakuolisierung der Pigmentepithelzellen peripher in den Läsionen war geringer, die Treppenform der seitlichen Schadenbegrenzung war deutlicher, d.h. die Schulter des horizontalen Schadenintensitätsgradienten war flacher als in den frischen Läsionen. Zellen mit grossen unregelmässigen Kernen und undeutlich begrenztem Zytoplasma wurden in verschiedenen Ebenen des Schadengebietes beobachtet (Abb. 23A). An überschwelligem als Markierungspunkte gesetzten Läsionen waren diese Veränderungen besonders klar sichtbar (Abb. 23B).

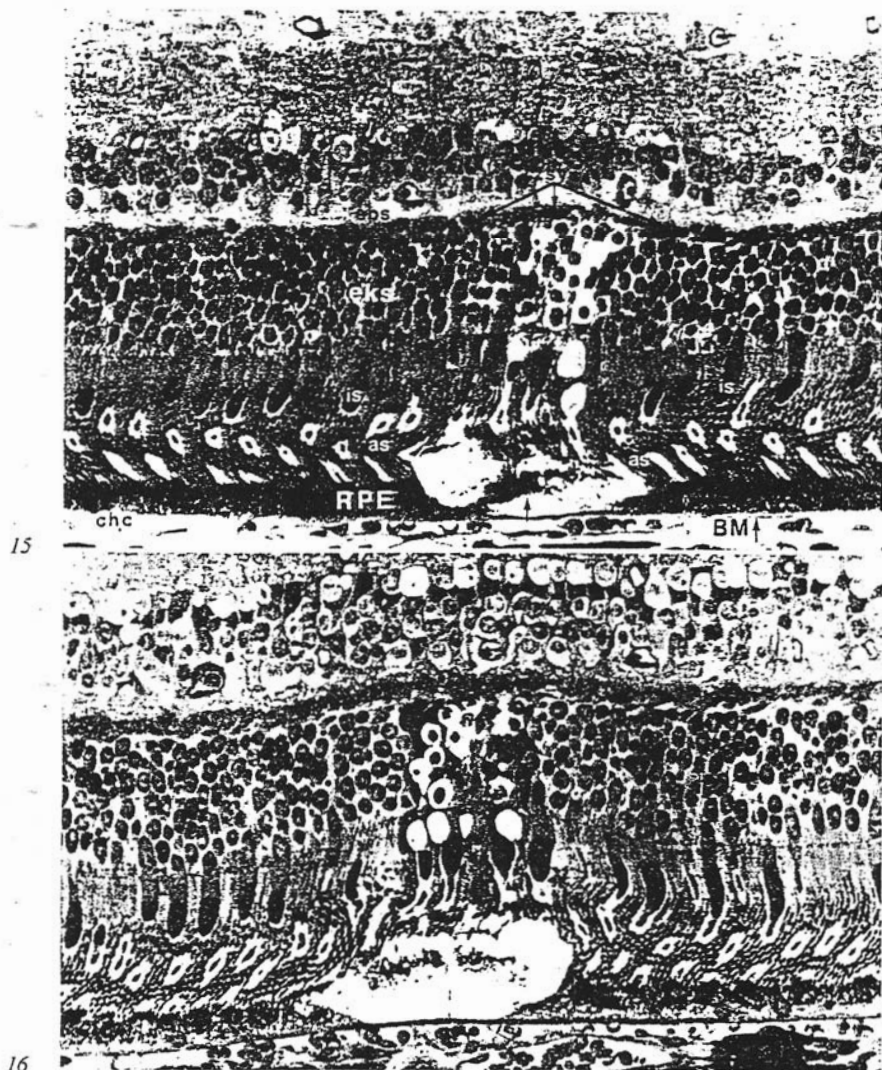


Abb. 15. Mikrofoto einer schwellennahen Argonlaserläsion der Cynomolgusaffen-netzhaut, zirka 1 h nach Exposition, produziert mit 10 mW bei 150 msec Expositionszeit. Das Schadenmuster entspricht im wesentlichen dem im vorigen Abschnitt an Kaninchenläsionen dargestellten Bild. Im Unterschied dazu sind die Aderhautkapillaren offen, und das retinale Pigmentepithel scheint stellenweise von der Bruchschens Membran abgehoben (Pfeil). eps = Externe plexiforme Schicht; in deren äusserem Aspekt die Synapsen von Stäbchen- und Zapfenzellen liegen. Die grossen Zapfensynapsen (zsyn) sind deutlich erkennbar und im Läsionsgebiet zum Teil verstärkt angefärbt. $\times 350$.

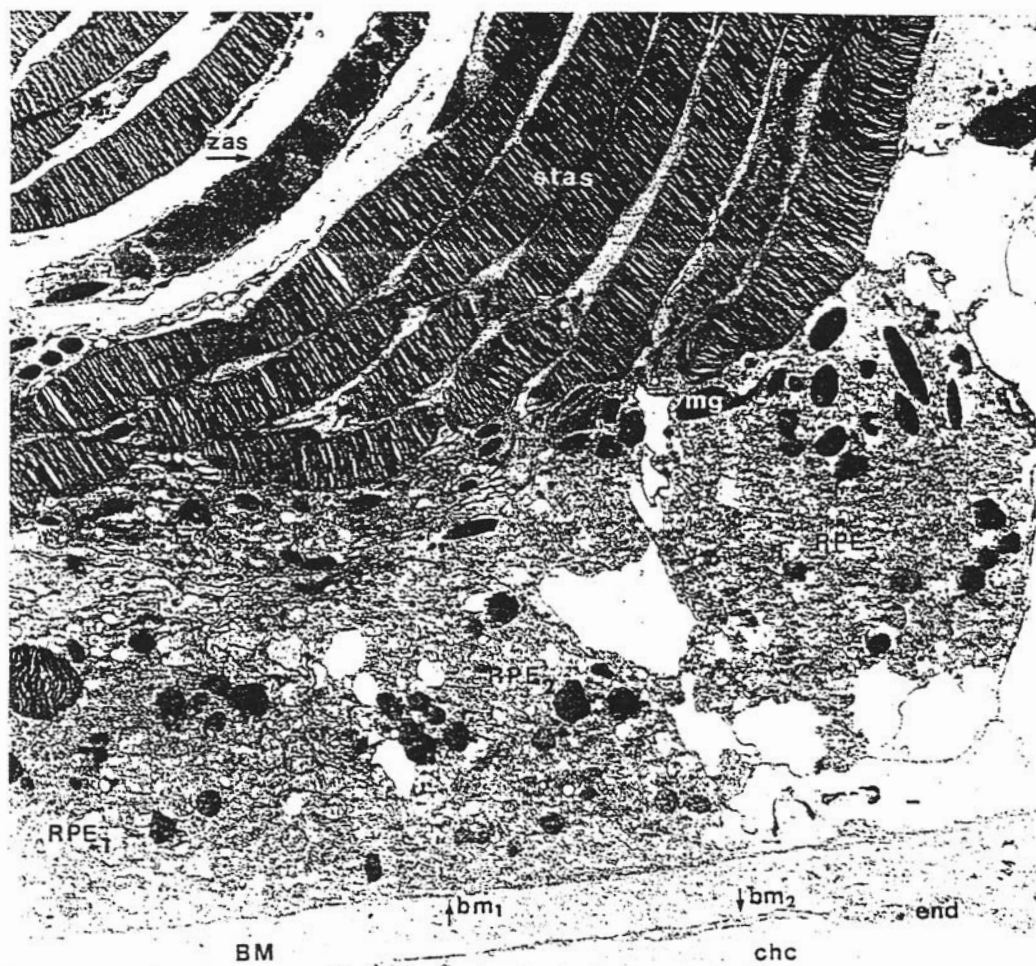


Abb. 17. Elektronenmikroskopische Aufnahme von der Peripherie einer Argonlaser-schwellenläsion in der Netzhaut eines Cynomolgusaffen. Die Läsion war lichtmikroskopisch der in Abbildung 15 gezeigten Läsion vergleichbar. Eine fast normal aussehende Pigmentepithelzelle (RPE₁) mit etwas unregelmässigen Zellumrissen grenzt an zwei verletzte Pigmentepithelzellen (RPE₂, ₃). Diese zeigen eine diffuse vakuolige Auftreibung ihres Zytoplasmas. Die Stäbchenaussensegmente (stas) und Zapfenaussensegmente (zas) über diesen Zellen erscheinen regelrecht. Die Bruchsche Membran (BM), bestehend aus der Basalmembran des retinalen Pigmentepithels (bm₁), einer Bindegewebsschicht sowie der Basalmembran (bm₂) der Endothelzellen (end) der Choriocapillaris (chc), ist intakt. $\times 4500$.

Abb. 16. Mikrofoto einer schwellennahen Helium-Neon-Laserläsion der Cynomolgusaffennetzhaut, zirka 1 h nach Exposition, produziert mit 12,5 mW bei 270 msec. Es besteht ebenfalls ein Schadenmuster, das nur die äussere Netzhauthälfte bis zu den synaptischen Endigungen der Sehzellen in der externen plexiformen Schicht betrifft. Das Pigmentepithel erscheint vakuolig verändert und flächig abgehoben. $\times 350$.

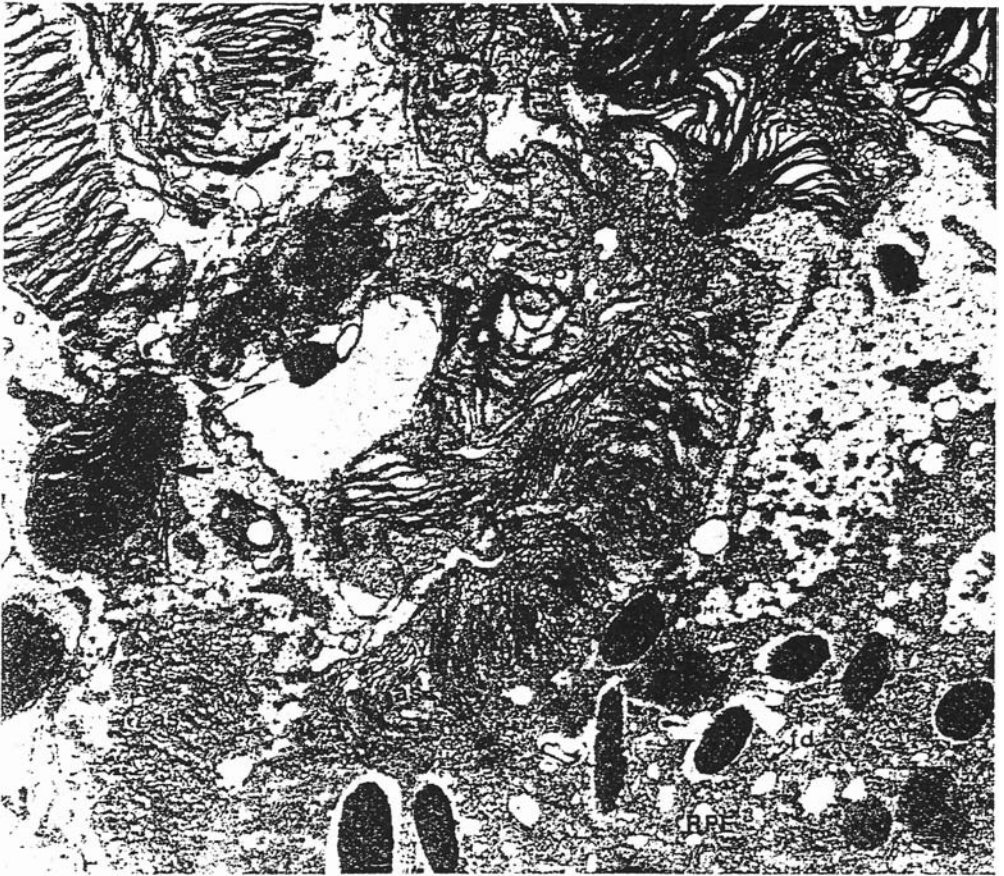


Abb. 18. Elektronenmikroskopische Aufnahme aus derselben Läsion wie in Abbildung 17 dargestellt. Intermediärzone zwischen Peripherie und Zentrum. Zahlreiche Vakuolen und fokale Zytoplasmaverdichtungen (fd) befinden sich im Pigmentepithel. Die Doppelmembranen der Sehzellaussensegmente (as) sind aufgespalten und stellen sich als tubulovesikuläre Profile dar, die in unregelmässiger Anordnung zueinander gelagert sind. Links im Bild Anschnitt eines unveränderten Aussensegmentes (Pfeil). $\times 12500$.

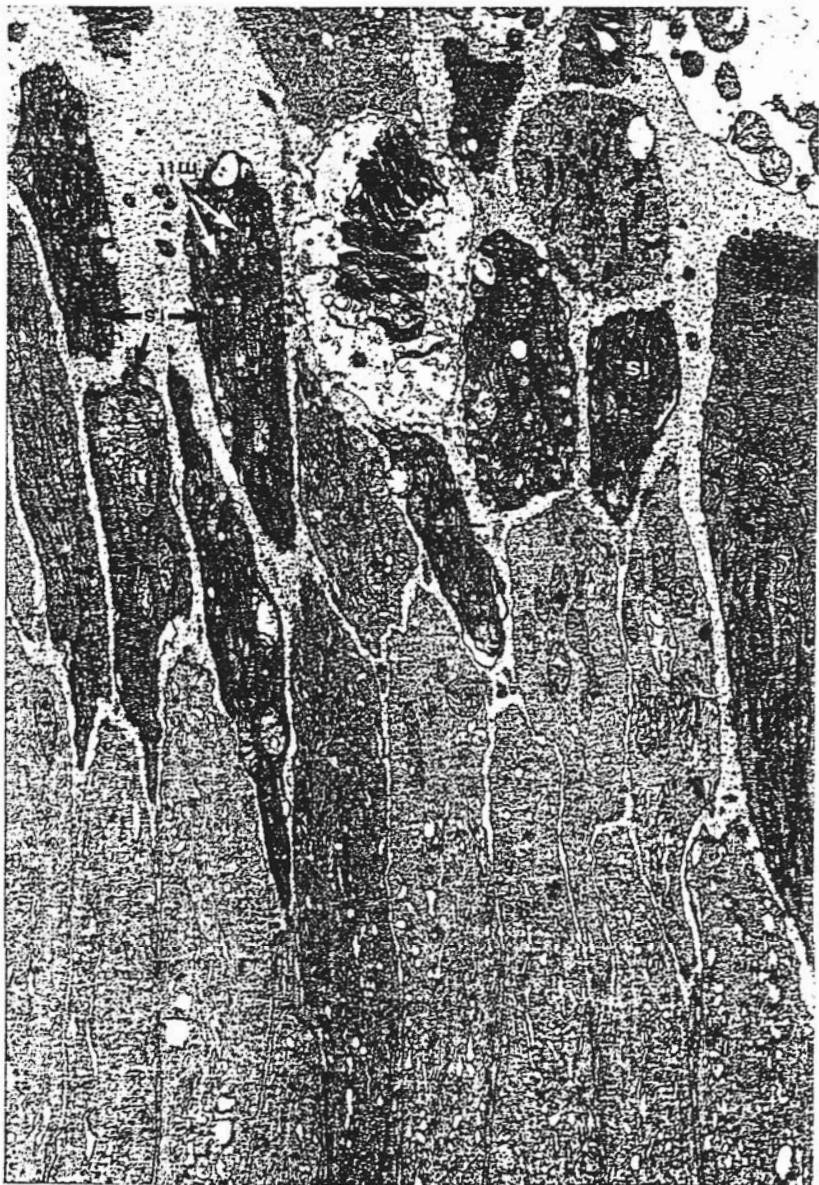


Abb. 19. Intermediärzone der in Abbildung 15 lichtmikroskopisch dargestellten Argonlaserschwellenläsion. Mehrere Innensegmente (is) sind kondensiert und abnorm elektronendicht. Strukturelle Details wie die Cristae der in den Innensegmenten sehr zahlreichen Mitochondrien (mit) erscheinen auffällig kontrastreich. Vergleiche diese Befunde mit normalem Innensegment am linken Bildrand. $\times 5400$.

Abb. 20. Zentrum der in Abbildung 15 lichtmikroskopisch dargestellten Argonilaser-schwellenlastion. Vakuolen durchsetzen diffus die geschädigten Pigmentepithelzellen und konfluieren im basalen Zellbereich. Begrenzende Zytoplasmamembranen erscheinen verdünnt, kupferstichartig deutlich und über weite Strecken unterbrochen. Die basale Zytoplasmamembran und geringe Zytoplasmareste (Pfeile) sind auf der Basalmembran des Pigmentepithels (bmi) zurückgeblieben. Zahlreiche fokale Verdichtungen (fd) durchsetzen diffus das Zytoplasma und Mitochondrien (mit) und geben der Zelle ein granuliertes Aussehen. Die Bruchstelle Membran ist intakt. $\times 6200$.





Abb. 21. Dieselbe, in Abbildung 15 lichtmikroskopisch dargestellte Argonlaser-schwellenläsion. Gezeigt ist der Rand des Zentrums in der Ebene der äusseren Körnerschicht. Die Kerne (n) einzelner Zellen sind homogenisiert und vermehrt elektronendicht. Geschädigte Axone (ax) von Fotorezeptorzellen zeigen die gleichen Veränderungen. Vergleiche normale Kerne in der linken Bildhälfte sowie normales Axon mit parallel orientierten Mikrotubuli links oben im Bild. Das perinukleäre Zytoplasma (zyt) ist teils vakuolisiert, teils feingranulär homogenisiert. Die Kernmembran (nm) sowie die Zellmembranabschnitte um geschädigtes Zytoplasma und Axone erscheinen überdeutlich. $\times 14000$.