

Aus der Augenklinik und Poliklinik  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. Franz Grehn

**Über den Einfluss der  
Kollagenquervernetzung der Cornea  
auf die  
Laser-in-situ-Keratomileusis (LASIK)**

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde  
der Medizinischen Fakultät  
der  
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von  
Bernhard Ralla  
aus Achern

Würzburg, Januar 2011

**Referent:** Prof. Dr. Gerd Geerling

**Korreferent:** Prof. Dr.rer.nat., Dipl.-Phys., AD Wolfgang Haigis

**Dekan:** Prof. Dr. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:** 18.05.2012

**Der Promovend ist Arzt.**

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>1</b>
1.1	Die Cornea	1
1.2	Keratektasien	5
1.2.1	Formen der Keratektasien	5
1.2.2	Keratokonus	7
1.2.2.1	Definition und Epidemiologie	7
1.2.2.2	Ätiologie	9
1.2.2.3	Klinik	12
1.2.2.4	Diagnostik	12
1.2.2.5	Klassifikation	13
1.2.2.6	Therapie	14
1.3	Kollagenquervernetzung mit Riboflavin und UV-A Licht	16
1.3.1	Verfahren	16
1.3.2	Klinische Anwendungen	19
1.3.3	Kontraindikationen und Risiken	21
1.4	Formen der Ametropie	22
1.4.1	Myopie	22
1.4.2	Hyperopie	22
1.4.3	Astigmatismus	23
1.5	Refraktiv-chirurgische Verfahren	23
1.5.1	Excimer-Laserverfahren	23
1.5.1.1	Excimer-Laserverfahren zur Oberflächenbehandlung	25
1.5.1.2	Lamelläre Excimer-Laserverfahren	25
1.5.2	Indikationen, Kontraindikationen und Komplikationen von Excimer-Laserverfahren	26

1.6	Ziele der Arbeit und Fragestellungen .....	27
<b>2</b>	<b>Material und Methoden .....</b>	<b>29</b>
2.1	Material .....	29
2.1.1	Schweineaugen.....	29
2.1.2	Riboflavin.....	30
2.1.3	UV-A-Lichtapplikationssystem .....	30
2.1.4	Mikrokeratom und Laserapplikationssystem .....	31
2.1.5	Messgeräte zur Flapdickenbestimmung .....	32
2.1.5.1	Optisches Kohärenzpachymeter .....	32
2.1.5.2	Manuelles Dickenmessgerät .....	33
2.1.6	Messgerät zur Bestimmung der Refraktion.....	34
2.2	Methoden .....	35
2.2.1	Versuchsaufbau .....	35
2.2.2	CXL-Behandlung .....	37
2.2.3	LASIK-Behandlung .....	37
2.2.4	Untersuchungsmethoden .....	39
2.2.4.1	Messung der Flapdicken.....	39
2.2.4.2	Messung der Refraktion mit dem Keratron-Scout.....	40
2.2.5	Statistische Berechnungen.....	42
<b>3</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>43</b>
3.1	Einfluss der Kollagenquervernetzung auf die Flapdicke.....	43
3.1.1	Untersuchung der erzeugten Flaps .....	43
3.1.2	Messung der Flapdicke mit optischer Kohärenzpachymetrie (OCP) bei 150µm Mikrokeratomschnitt .....	43
3.1.3	Messung der Flapdicke mit mechanischen Dickenmessgerät bei 150µm Mikrokeratomschnitt .....	43
3.1.4	Vergleich der Flapdicken in der CXL-Gruppe und der Kontrollgruppe bei 150µm Flapdicke .....	44



3.1.5	Messung der Flapdicke mit mechanischen Dickenmessgerät bei 130µm Mikrokeratomschnitt .....	44
3.1.6	Vergleich der Flapdicken in der CXL-Gruppe und der Kontrollgruppe bei 130µm Flapdicke .....	45
3.1.7	Vergleich der Messgeräte zur Flapdickenbestimmung .....	45
<b>3.2</b>	<b>Einfluss der Kollagenquervernetzung auf das refraktive Ergebnis nach LASIK.</b>	<b>46</b>
3.2.1	Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 150µm und intendierter Korrektur um -6dpt.....	46
3.2.2	Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 150µm und intendierter Korrektur um -4dpt.....	46
3.2.3	Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 150µm und intendierter Korrektur um -2dpt.....	47
3.2.4	Vergleich der refraktiven Ergebnisse bei einer intendierten Flapdicke von 150µm .....	47
3.2.5	Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 130µm und intendierter Korrektur um -6dpt.....	48
3.2.6	Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 130µm und intendierter Korrektur um -4dpt.....	48
3.2.7	Vergleich der refraktiven Ergebnisse bei einer intendierten Flapdicke von 130µm .....	48
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>50</b>
<b>4.1</b>	<b>Die Kombination von CXL-Behandlung und refraktiv-chirurgischen Verfahren</b>	<b>50</b>
<b>4.2</b>	<b>Einfluss der CXL-Behandlung auf einen Mikrokeratomschnitt.....</b>	<b>52</b>
4.2.1	Erhöhung der Flapdicke wegen geringerer Deformation der Corneakurvatur beim Schnittvorgang .....	52
4.2.2	Erhöhung der Flapdicke wegen erhöhtem Verformungswiderstand der Cornea während der Applanation durch den Schneidkopf .....	53
<b>4.3</b>	<b>Einfluss der CXL-Behandlung auf das refraktive Ergebnis einer LASIK- Behandlung.....</b>	<b>54</b>

4.3.1	Verringerung der refraktiven Korrektur durch das ungenügende Wiederanliegen des Flaps bei der Reposition.....	55
4.3.2	Verringerung der refraktiven Korrektur wegen Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften der Cornea nach Photoablation .....	56
<b>4.4</b>	<b>Beantwortung der Fragestellungen der Arbeit.....</b>	<b>58</b>
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>61</b>
<b>6</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>64</b>
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>66</b>
<b>8</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>78</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Die Cornea

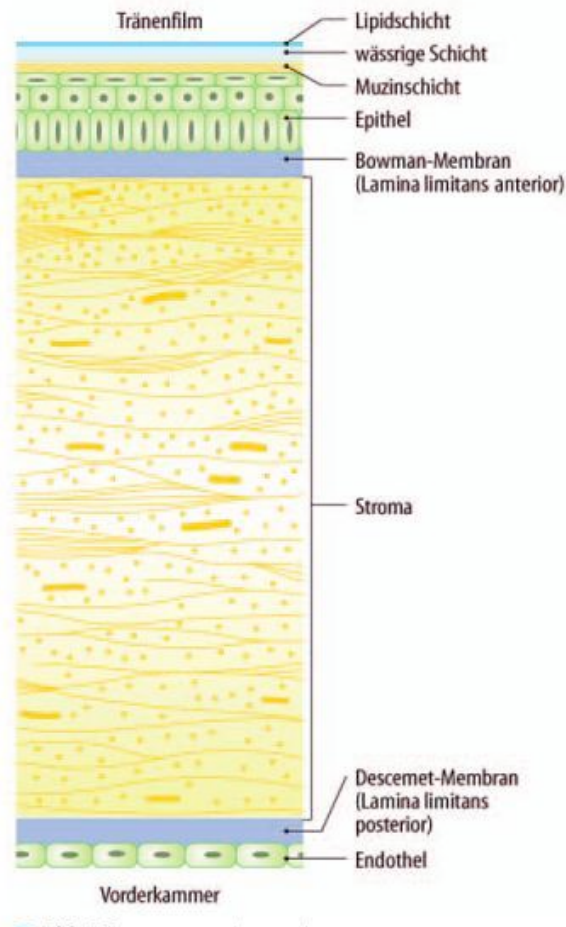
Die Cornea ist der glasklare, von Tränenflüssigkeit benetzte, gewölbte Teil der äußeren Augenhaut und ist für das Sehen von herausragender Bedeutung. Sie geht am Limbus corneae aus der Lederhaut (Sklera) hervor, ist stärker gewölbt als die Sklera und trägt mit ihrer hohen Brechkraft von 43 Dioptrien (dpt) mit zwei Dritteln zur Gesamtbrechkraft des Auges von 65dpt bei. Die Cornea eines Erwachsenen hat einen Durchmesser von 11,5mm horizontal und 10mm vertikal. Im Zentrum ist sie bis zu 550 $\mu$ m, in der Peripherie bis zu 700 $\mu$ m dick. Innerhalb der zentralen 3mm breiten optischen Zone, in der die Hornhaut beinahe sphärisch ist, liegt der Krümmungsradius zwischen 7,5 bis 8mm. Der Krümmungsradius ist nicht überall gleich, zur Peripherie hin nimmt er zu [1].

Für die scharfe Abbildung von Gegenständen auf der Netzhaut ist eine gleichmäßige Oberfläche und Transparenz der Hornhaut von größter Bedeutung.

Von außen nach innen besteht die Cornea aus 5 Schichten:

- Epithel
- Bowman-Lamelle
- Stroma
- Desçemet-Lamelle
- Endothel

Von vorne wird die Cornea vom Tränenfilm, von hinten vom Kammerwasser benetzt.



**Abbildung 1: Aufbau der Hornhaut** (aus Lehrbuch der Augenheilkunde, Grehn et al)

Der Tränenfilm schützt die Hornhaut vor Dehydration und ist mitverantwortlich für die Bildung einer glatten Oberfläche. Er besteht aus drei verschiedenen Phasen: einer oberflächlichen Lipidphase, einer wässrigen Phase und einer Muzinphase. Gebildet wird die Lipidphase von den Meibomdrüsen, die wässrige Phase von den Tränendrüsen und die Muzinphase vom Epithel der Konkunktiva. Die Tränenflüssigkeit besteht zu 98% aus Wasser. Weiterhin enthält sie Elektrolyte, Glukose, Immunglobuline, Laktoferrin, Lysozym, Albumin, Sauerstoff sowie wichtige biologisch aktive Stoffe wie Histamin, Prostaglandine, Wachstumsfaktoren und Zytokine. Aufgabe des Tränenfilms ist, die Gleitfähigkeit zwischen Augenlid und Bulbus zu gewährleisten, das Hornhautepithel mit Nährstoffen zu versorgen und die für den Erhalt und Reparatur der Cornea benötigten regulatorischen Wachstumsfaktoren bereitzustellen [1].

Das Epithel besteht aus fünf bis sechs Schichten unverhorntem Plattenepithel und ist aus drei verschiedenen Zelltypen aufgebaut:

Die Oberfläche des Epithels wird von zwei bis drei Schichten abgeflachter keratinhaltiger Schuppenzellen gebildet. Diese tragen zur Vergrößerung der Zelloberfläche Mikrovilli und stehen in direktem Kontakt zum Tränenfilm. Die Schuppenzellen sind über Desmosomen und hoch widerstandsfähige tight-junctions miteinander verbunden und bilden somit eine Schutzbarriere gegen biologische oder chemische Noxen [2]. Unterhalb der Schuppenzellen liegen 2 bis 3 Schichten Flügelzellen. Diese differenzieren sich und wandern in Richtung Schuppenzellen. Die innerste Schicht des Epithels, bestehend aus einer Einzellige säulenförmiger Basalzellen, ist über Hemidesmosomen mit der darunterliegenden Bowman-Lamelle verbunden und stellt durch Zellteilung neue Flügelzellen zur Verfügung.

Die für die Integrität und Funktionsfähigkeit der Cornea benötigte Selbstregenerationsfähigkeit beruht wahrscheinlich auf einer kleinen Population von Stammzellen in der Basalregion des Limbus. Diese sind weitestgehend undifferenziert und teilen sich einerseits, um sich selbst zu erhalten, andererseits um sogenannte „daughter transit amplifying cells (TAC)“ [3] [4] zu bilden. Die TACs besiedeln die Basalschicht des Hornhautepithels und wandern zur Oberfläche. Dabei differenzieren sie sich in Flügelzellen und Schuppenzellen. Diese werden von der Augenoberfläche durch Lidschlag und Tränen abgeschilfert, was wiederum den Zyklus aus Zellteilung, Zelldifferenzierung und Zellwanderung stimuliert [5].

Das Epithel hat folgende Funktionen:

- das Eindringen von Fremdkörpern wie Schmutzpartikeln, Wasser und Bakterien zu verhindern
- eine glatte Oberfläche zu bilden, auf der Sauerstoff und Zellnährstoffe aus dem Tränenfilm aufgenommen und an die restlichen Hornhautschichten verteilt werden

Die Bowman-Lamelle, auch Bowman-Schicht oder Lamina limitans anterior genannt, liegt zwischen dem Stroma und dem Epithel. Sie ist etwa 12µm dick und besteht vorwiegend aus Kollagenfibrillen und Proteoglykanen. Ihre Vorderfläche formt die Basalmembran des Epithels und dient als deren Leitschiene. Da die Bowman-Lamelle

keine Regenerationsfähigkeit besitzt, heilen Verletzungen nur unter Narbenbildung aus [1].

Das Stroma, auch substantia propria genannt, ist 400-500 µm dick und macht damit über 90% der Hornhautdicke aus. Es besteht aus extrazellulärer Matrix, Keratozyten und Nervenfasern. Durch die parallele Anordnung von Lamellen, die vorwiegend aus Typ I und Typ V Kollagenfasern aufgebaut sind, wird die hohe Transparenz der Hornhaut erzeugt [6]. Durch Proteoglykane werden die Kollagenfasern in einer gleichmäßigen Anordnung gehalten. Zwischen den Lamellen sitzen vereinzelt Keratozyten (Fibroblasten) [7], die über dendritische Fortsätze [8] miteinander verbunden sind. Sie produzieren die Proteoglykane und Kollagenmoleküle. Aus den Kollagenmolekülen entstehen Kollagenfibrillen, und aus diesen schließlich Kollagenfasern [9]. Die Kollagenfasern mit einem Durchmesser von 22,5 bis 35nm sind sehr gleichmäßig aufgebaut [10]. Der Abstand zwischen den Fasern ist ebenfalls sehr gleichmäßig und beträgt  $41,4 \pm 0,5$ nm. Erst dieser definierte Abstand zwischen den Kollagenfasern ermöglicht die Transparenz der Hornhaut. Die Kollagenfasern formen rund 300 Lamellen. Jede Lamelle zieht parallel zur Oberfläche von Limbus zu Limbus [1].

Die 8-10µm dicke Desçemet-Lamelle, die Basalmembran des Endothels, besteht aus einem feinen Gitterwerk aus Kollagenfibrillen, vorwiegend vom Typ IV.

Das Endothel, die innerste Schicht der Hornhaut, setzt sich aus einer einfachen Reihe polygonaler Zellen zusammen. Durch diese undichte Zellschicht gelangt kontinuierlich passiv Kammerwasser mit Nährstoffen in das Stroma. Hauptaufgabe des Endothels ist daher die Entquellung des Hornhautstromas. Über einen aktiven Transport von Natrium-, Kalium- und Hydrogenkarbonat-Ionen aus dem Endothel in die Vorderkammer wird dem Stroma Wasser entzogen. Da das Endothel – wie auch alle anderen Schichten der Hornhaut außer dem Epithel – nicht regenerationsfähig ist, kommt dem Erhalt der Endothelzellen eine zentrale Bedeutung zu [11].

Über die ziliaren Nervenfasern des ersten Astes des N. trigeminus (N. ophthalmicus) erfolgt die sensible Innervation der Cornea. Diese Fasern finden sich im tiefen peripheren Stroma sowie in einem Nervenplexus unterhalb des Epithels. Außerdem enthält die Cornea autonome sympathische Nervenfasern.

Die Hornhaut ist eines der wenigen avaskulären Gewebe des menschlichen Körpers. Versorgt wird sie zum einen durch Glukose aus dem Kammerwasser. Zum anderen bezieht sie den benötigten Sauerstoff zum größten Teil aus dem mit Luftsauerstoff gesättigten Tränenfilm sowie dem Kammerwasser.

Da die Hornhaut gefäßlos ist, ist sie nicht in der Lage eine eigene Immunantwort einzuleiten. Im Epithel in der Nähe des Limbus finden sich die Langerhans-Zellen. Diese werden bei Kontakt mit Fremdartigen aktiviert, wandern von der Limbusregion zu den nächstgelegenen Lymphknoten und lösen dort eine Immunreaktion gegen das Antigen aus [1].

## **1.2 Keratektasien**

### **1.2.1 Formen der Keratektasien**

Zu den Keratektasien, den Wölbungsanomalien der Hornhaut, zählen folgende Krankheitsbilder:

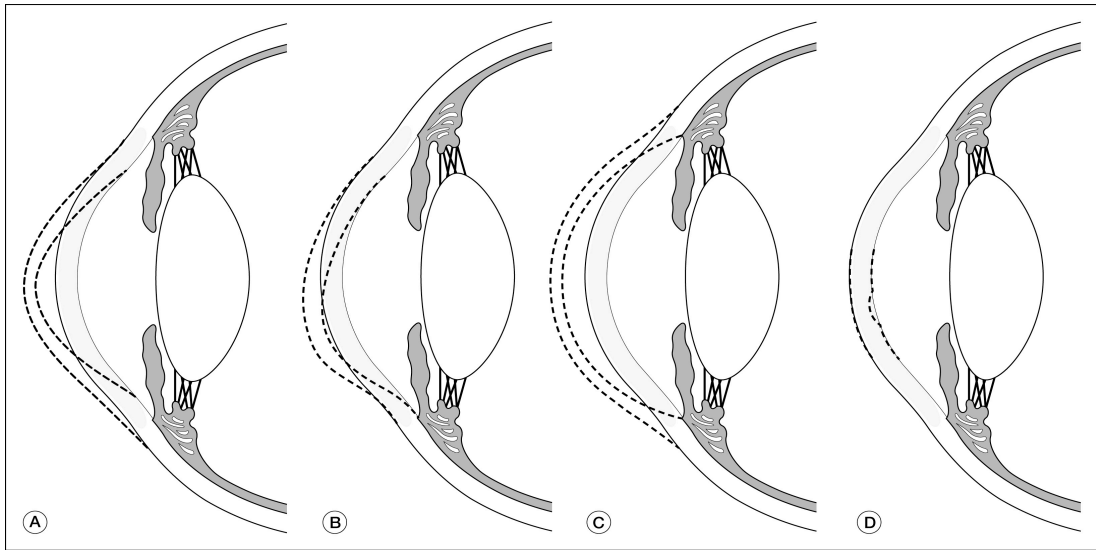
- Keratokonus
- pelluzidale marginale Degeneration (Keratotorus)
- Keratoglobus
- posteriorer Keratokonus

Diese vier Erkrankungen weisen ein ähnliches klinisches Bild auf. Allen gemeinsam ist eine Hornhautverdünnung, deren unterschiedliche Maxima und Lokalisationen wichtige Anhaltspunkte für die Diagnosestellung bieten. Es wird vermutet, dass die Entstehung der ersten drei Erkrankungen auf den gleichen Pathomechanismus zurückzuführen sind. Ihre Charakteristika zeigt die folgende Tabelle:

**Tabelle 1: Eigenschaften der Keratektasien**

	<b>Keratokonus</b>	<b>pelluzidale marginale Degeneration</b>	<b>Keratoglobus</b>	<b>posteriorer Keratokonus</b>
<i>Häufigkeit</i>	am häufigsten	weniger häufig	selten	sehr selten
<i>Auftreten</i>	meist bilateral	bilateral	bilateral	meist unilateral
<i>Krankheitsbeginn</i>	15.-30. Lebensjahr	20.-40. Lebensjahr	meist angeboren	angeboren
<i>Lokalisation</i>	inferior parazentral	inferiores halbmondförmiges Band, 1-2mm breit	am stärksten peripher	parazentral, posteriore Exkavation
<i>Protrusio</i>	apikal	oberhalb des Bandes	allseits	normalerweise keine
<i>Fleischer Ring</i>	sehr häufig	manchmal	keiner	manchmal
<i>Vernarbung</i>	häufig	nur nach Hydrops	wenig	häufig
<i>Striae</i>	häufig	manchmal	manchmal	keine





Mosby items and derived items © 2005 by Mosby, Inc.

**Abbildung 2: Keratektasien** Das Vorhandensein einer Hornhautverdünnung und der Typ der Konturänderung kann bei der Erkennung des Krankheitsbilds helfen. A, Keratokonus; B, pelluzidale marginale Degeneration; C, Keratoglobus; D, posteriorer Keratokonus. (aus Cornea; Krachmer et al)

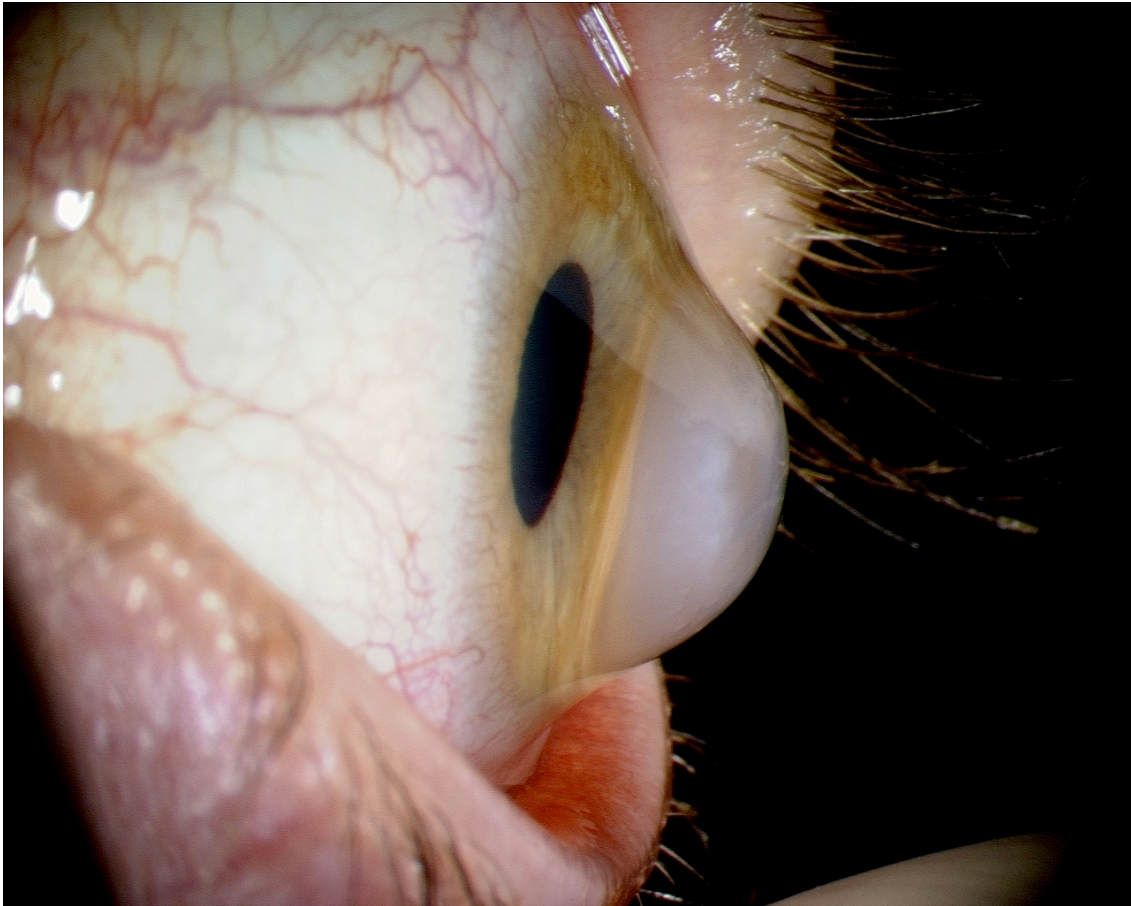
Genauer eingegangen wird in dieser Arbeit nur auf den Keratokonus, der mit einer berichteten Prävalenz von 50 bis 230 Erkrankungen pro 100 000 Menschen [12-14] von den genannten Krankheitsbildern am häufigsten auftritt.

## 1.2.2 Keratokonus

### 1.2.2.1 Definition und Epidemiologie

Der Keratokonus ist eine irreversible Erkrankung, bei der es durch eine meist bilaterale [12, 15] und asymmetrische [16, 17] Degeneration zu einer progredienten stromalen Verdünnung und somit zu einer kegelförmigen Vorwölbung (Ektasie) der Cornea kommt. Die Verdünnung tritt meistens im unteren temporalen, aber auch im zentralen [18] und im oberen [19, 20] Bereich der Cornea auf.

Diese Vorwölbung bedingt eine starke Kurzsichtigkeit (Myopie) und durch das asymmetrische Auftreten eine irreguläre Verkrümmung der Cornea (Astigmatismus). Beide Veränderungen können große Auswirkung auf das Sehvermögen haben.



**Abbildung 3: Fortgeschrittener Keratokonus in der Seitansicht (D.Kampik)**

Der Keratokonus manifestiert sich vorwiegend während des zweiten Lebensjahrzehnts, meistens in der Pubertät [12, 14]. Auch ein früherer [21] oder späterer [14] Krankheitsbeginn wurde beschrieben. Er schreitet typischerweise bis zum vierten Lebensjahrzehnt fort und kann sich dann stabilisieren [14]. In der Regel tritt der Keratokonus beidseitig auf. Topografische Untersuchungen bei Patienten mit einseitigem Keratokonus wiesen in den meisten Fällen auch am anderen Auge subklinische Keratokonus-Zeichen nach. Das Risiko einer Progredienz der Erkrankung nach Diagnosestellung an einem Auge ist innerhalb der ersten sechs Jahre am anderen Auge am größten [22-24].

Aufgrund unterschiedlicher Definitionen und Diagnosekriterien des Keratokonus variieren Angaben über Prävalenz und Inzidenz. Daher dürfte in den nächsten Jahren, aufgrund weitflächiger Verwendung von Hornhaut-Topographiegeräten, und somit verbesserter Diagnostik, ein Anstieg von Inzidenz und Prävalenz zu erwarten sein.

Verschiedene Studien zeigten, dass beide Geschlechter an Keratokonus erkranken können: Entweder gleichhäufig [12, 24] oder mit jeweils höherer Prävalenz für Frauen [13] oder Männern [25].

#### 1.2.2.2 Ätiologie

Die Ätiologie des Keratokonus ist bisher nicht geklärt. Es existieren Hypothesen über genetische, biochemische und biomechanische Pathomechanismen. Weiterhin fällt ein gehäuftes Auftreten im Rahmen anderer Erkrankungen auf.

##### *Genetische Faktoren*

Wang et al. untersuchten in einer genetisch-epidemiologischen Studie mithilfe computergestützter Videokeratographie 1226 Verwandte 1. Grades von 539 Patienten mit sporadisch auftretendem, klinisch manifestem Keratokonus. Sie fanden bei ihnen eine 15-68fach höhere Prävalenz für einen videokeratographisch messbaren Keratokonus im Vergleich zur Normalbevölkerung. Die höchste Prävalenz hatten hier Geschwister, gefolgt von Eltern und Kindern [26].

Mittels Kopplungsanalysen wurde versucht, bei Patienten mit Keratokonus eine für die Entstehung verantwortliche Genregion (locus) zu finden. Unterschiedliche mit Keratokonus im Zusammenhang stehende Loci wurden beschrieben [27-31].

##### *Biochemische Faktoren*

Verschiedene biochemische Theorien versuchen die Hypothese zu stützen, dass der Keratokonus aufgrund eines Verlusts von Strukturkomponenten der Cornea entsteht. Unterschiede im Aufbau von Kollagen Typ XIII [32], XV und XVIII [33] könnten eine Rolle spielen.

Die Verdünnung der Cornea könnte außerdem zurückzuführen sein auf eine erhöhte proteolytische Enzymaktivität, welche durch einen erhöhten Spiegel von Proteinasen und anderen katabolischen Enzymen [34], oder durch einen verringerten Spiegel von Proteinasen-Inhibitoren [35] wie beta-2-Makroglobulin und alpha-1-Antiprotease [36] entsteht.

Auffällig ist, dass Keratozyten in der an Keratokonus erkrankten Cornea im Vergleich zur gesunden Cornea viermal so viele Interleukin-1-Rezeptoren an ihrer Oberfläche tragen. Interleukin-1 regelt die Proliferation, Differenzierung und Apoptose von Keratinozyten. Mikrotraumata des Epithels führen zu einer vermehrten Freisetzung von Interleukin-1. Dies könnte den Zusammenhang der Keratokonusentstehung mit Augenreiben, Kontaktlinsen-Tragen oder dem gehäuften Auftreten bei Patienten mit atopischer Diathese erklären [37]. Proinflammatorische Marker wie Interleukin-6, ICAM-1 und VCAM-1 sind bei Kontaktlinsen tragenden Menschen 4-20fach erhöht, wohingegen anti-inflammatorische Marker wie Interleukin-10 8fach erniedrigt sind [38]. Dies legt den Schluss nahe, dass das Tragen von Kontaktlinsen ein möglicher Risikofaktor für eine Ektasieentwicklung ist.

#### *Biomechanische Faktoren*

Die unterschiedliche Verteilung und zahlenmäßige Verringerung von Kollagenlamellen, sowie eine Degradation von Fibroblasten [39] in an Keratokonus erkrankten Corneae, werden als Vorstufe der Keratokonusentwicklung angesehen [40, 41]. Mittels konfokaler Mikroskopie zeigt sich eine zahlenmäßige Reduktion von Keratinozyten: Je mehr die Krankheit fortschreitet, desto deutlicher ist die Abnahme [42].

Meek et al zeigte mittels Röntgenstrukturanalyse, dass es beim Keratokonus zur Verlagerung und zum Weggleiten im inter- und intralamellären Aufbau der Kollagenfasern kommt. Dies könnte begünstigt sein durch einen Verlust an Kohäsivkräften und somit vermindertem Zusammenhalt [40].

Morishige et al gelang es mittels „second harmonic imaging“ hochauflösende dreidimensionale Abbildungen von Kollagenlamellen zu erhalten. Dabei fiel auf, dass die Kollagenlamellen bei normalen Corneae im vorderen Stroma stark miteinander verflochten und in der Bowman-Lamelle verankert waren. In an Keratokonus erkrankten Corneae gab es weniger Verflechtungen und keine Verankerungen [43].

Oxidative Schädigung wird als weiterer Faktor für das Fortschreiten des Keratokonus beschrieben: Hornhäute mit Keratokonus weisen einen niedrigeren Spiegel der Enzyme Aldehyddehydrogenase 3 [44] und Superoxiddismutase [45] auf. Beide sind Schlüsselenzyme zur Bewältigung von oxidativem Stress. Die Anhäufung von freien Radikalen ist zytotoxisch und kann Corneagewebe schädigen [46]. Die Hauptfaktoren,

die oxidative Schädigung triggern, sind Atopie, UV-Strahlung und mechanische Traumata, letztere als Resultat von häufigem Augenreiben und Tragen von Kontaktlinsen [46].

Histopathologisch zeigt sich, dass die Basalzellendichte des Keratokonusepithels herabgesetzt ist [47]. Innerhalb der Bowman-Lamelle zeigen sich oft Bruchstellen, die mit Kollagen aus dem Stroma gefüllt sind. Diese stellen sich, durch die Auftrennung von Kollagenbündeln, als typische z-förmige Unterbrechungen der Bowman-Lamelle dar [39].

#### *Vermehrtes Auftreten von Keratokonus im Rahmen verschiedener Krankheiten*

Patienten mit Down-Syndrom haben ein 10-300fach höheres Risiko, an Keratokonus zu erkranken [13, 48]. Häufig leiden sie jedoch auch an einer atopischen Dermatitis und an einer Blepharitis [49], sodass nicht genau geklärt ist, wodurch sich ein Keratokonus entwickelt.

Bei etwa 30% der Patienten mit Leberscher kongenitaler Amaurose wurde ein Keratokonus festgestellt [50, 51].

Weiterhin wurde ein Zusammenhang zwischen Keratokonus und Bindegewebs-erkrankungen wie z.B. Ehlers-Danlos Syndrom [52], Osteogenesis imperfecta [53] und Gelenkshypermobilität [54] beschrieben.

Das Auftreten eines Mitralklappenprolaps bei einem Keratokonus in 44-58% der Fälle wurde in zwei voneinander unabhängigen Studien beschrieben. Sie legen die Verbindung eines Keratokonus mit einer Fehlexpression eines Kollagens nahe, ohne jedoch diesen Zusammenhang beweisen zu können [55, 56].

In einer Fall-Kontrollstudie, in der Keratokonus-Patienten mit Kontrollpatienten verglichen wurden, war die Inzidenz eines manifesten Diabetes mellitus bei Patienten mit Keratokonus signifikant geringer. Seiler et al folgerten daraus, dass Diabetes einen protektiven Effekt auf die Keratokonuserkrankung hat [57].

### 1.2.2.3 Klinik

Symptome und Zeichen des Keratokonus hängen vom Krankheitsstadium ab: In den Anfangsstadien wird er, sofern keine spezifischen Untersuchungen wie z.B. eine Hornhauttopografie durchgeführt wird [58], oft weder vom Patienten noch vom Arzt bemerkt. Beim Fortschreiten der Krankheit bemerken die Patienten häufig eine progrediente Verschlechterung der Sehschärfe, die sich kaum durch eine Brille ausgleichen lässt. Weiterhin können eine monokuläre Diplopie und eine zunehmende Lichtscheu und Lichtkränze, sogenannte Halos, als Symptome vorkommen.

Durch Risse in der Deszemet-Lamelle kann es zum akuten Keratokonus kommen, charakterisiert durch ein akutes Stromaödem, welches mit plötzlichem Sehverlust und starken Schmerzen einhergeht. Der akute Keratokonus ist in der Regel innerhalb von 3-4 Monaten rückläufig. Meist bleibt eine stromale Hornhautnarbe und eine verminderte Sehschärfe zurück.

Eine Bulbusperforation als „Endstadium“ eines Keratokonus wurde nur in Einzelfällen beschrieben und muss daher als sehr seltenes Ereigniss angesehen werden [59] [60] [61].

Die Früherkennung ist Voraussetzung dafür, die Entstehung von iatrogenen Keratektasien, die bei Patienten mit unerkanntem subklinischen Keratokonus nach einer refraktiven OP auftreten können, zu verhindern [62-64].

### 1.2.2.4 Diagnostik

Das Auftreten eines „Scherenschattens“ während der Skiaskopie ist ein sehr frühes Zeichen eines Keratokonus und sollte den Untersucher an einen irregulären Astigmatismus denken lassen. Während der Spaltlampenuntersuchung ist manchmal das „Charleux oil drop sign“ [14] auffällig, ein Öltropfen-ähnliches Bild innerhalb der Hornhaut bei weitgestellter Pupille und regredientem Licht.

In fortgeschrittenen Fällen sieht man häufig um den Konus herum den sogenannten „Fleischer Ring“, eine bogenförmige Hämosiderinlinie [65]. Man geht davon aus, dass sich dabei aufgrund der starken Hornhautkrümmung Eisenpartikel aus dem Tränenfilm auf

der Hornhaut ablagern [66]. Weiterhin ist das Vorhandensein von „Vogt-Linien“ typisch: feine vertikale Falten im tiefen Stroma und in der Descemet-Lamelle, die parallel zur steilen Achse des Konus verlaufen. Sie verschwinden bei Fingerdruck auf den Bulbus [24] oder während des Tragens von sauerstoff-permeablen Kontaktlinsen [67]. In fortgeschrittenen Krankheitsstadien können ferner Hornhautnerven verstärkt sichtbar werden und oberflächliche oder tiefe Trübungen der Cornea entstehen [24].

Das „Munson'sche Zeichen“, als indirektes Keratokonus-Zeichen, beschreibt die V-förmige Deformation des unteren Augenlids beim Herabschauen. Beim „Rizzutti'schen Zeichen“ kommt es bei seitlicher Beleuchtung der Cornea von temporal zur Ausbildung eines scharf begrenzten Lichtbalkens im Bereich des nasalen Limbus. Je fortgeschrittener der Keratokonus ist, desto weiter entfernt sich der Balken vom Limbus [24].

Goldstandard bei der Keratokonusdiagnostik ist die Hornhauttopographie. Meist werden computergestützte Placido-basierte Videokeratographen verwendet, mit denen das Erkennen von Frühstadien des Keratokonus lange vor dem Auftreten von Beschwerden oder den oben genannten klinischen Zeichen möglich ist. Das Spiegelbild der Placidoscheibe auf der Hornhautoberfläche wird über eine Kamera aufgenommen. Mithilfe dieses Bildes wird jedem Punkt der Hornhautoberfläche, in Relation zu einer idealen sphärischen Cornea als Referenzkörper, ein Höhenwert zugeordnet [68]. Die gemessenen Höhenwerte werden farbkodiert dargestellt. Dadurch kann die meist exzentrische Ausbildung eines Apex als Hinweis auf einen Keratokonus erkannt werden, der in den meisten Fällen im temporal-unteren Quadranten liegt.

Weiterhin kann ein Keratokonus erkannt werden durch Schnittbildverfahren wie z.B. die optische Kohärenz-Tomographie, oder die Scheimpflugtopographie, die die Hornhautdicke beurteilen [69] [70] sowie durch die Aberrometrie, die die Differenz der Hornhautaberration [71] misst. Zur Früherkennung und zur Verlaufskontrolle wird der Ocular Response Analyzer eingesetzt [72], der die Steifigkeit der Cornea misst.

#### 1.2.2.5 Klassifikation

Klassischerweise wird der Keratokonus anhand der Morphologie eingeteilt [14] [73] [74]:

- Nippelkonus: ca. 5 mm, steile Krümmung, zentral oder parazentral, inferonasal;
- ovaler Konus: 5 – 6 mm, ellipsoid, inferotemporal verlagert;
- Keratoglobus-artigen Konus: > 6 mm, > 75 % der Hornhautfläche.

Amsler [75, 76] klassifizierte den Keratokonus anhand der Krankheitsentwicklung in vier Schweregrade:

**Tabelle 2: Keratokonus-Klassifikation nach Amsler**

Stadium	Beschreibung
1	„Fruste“ oder subklinische Form, mit Hornhauttopographie erkannt; Visus von 1,0 mit Brille erreichbar
2	Frühform; leichte Verdünnung der Cornea; keine Vernarbungen
3	Moderate Form; keine Vernarbungen, keine Trübungen; Vogt Linien; Fleischer Ring; Visus <1,0 unter Brillenkorrektur, aber $\approx$ 1,0 unter Kontaktlinsenkorrektur, irregulärer Astigmatismus zwischen 2-8 dpt, deutliche Verdünnung der Cornea
4	Schwere Form, Hornhaut Steilheit > 55dpt; Vernarbungen, Visus <0,8 unter Kontaktlinsenkorrektur, starke Verdünnung der Cornea und Munson'sches Zeichen

Mit dem Aufkommen der computergesteuerten Videokeratographen, wurden unterschiedliche Indices entwickelt, mit denen die qualitativen farbcodierten Darstellungen durch quantitative Ergebnisse ergänzt werden können [77, 78] [79].

Rabinowitz et al entwickelten den KISA%-Index, einen Algorithmus, der die phänotypischen Erscheinungen des Keratokonus topographisch quantifiziert. In einer Studie konnten damit 99,6% aller Keratokonus-Augen identifiziert werden [80].

#### 1.2.2.6 Therapie

Die Behandlung des Keratokonus hängt vom Krankheitsstadium ab. In den Anfangsstadien versucht man durch eine Brille die Fehlsichtigkeit auszugleichen. Je weiter die Erkrankung fortschreitet, desto stärker bildet sich ein irregulärer Astigmatismus aus, so dass mit einer Brille keine adäquate Korrektur mehr erreicht werden kann [14].



Reicht die Brillenkorrektur nicht mehr aus, werden Kontaktlinsen zur Therapie verwendet. Sie maskieren einen irregulären Astigmatismus, indem sie eine neue, gleichmäßig refraktive Oberfläche bilden. Es werden vor allem Sauerstoff-hochdurchlässige, formstabile Kontaktlinsen benutzt [81] [82]. Ziel der Anpassung der Kontaktlinsen ist die sogenannte „Drei-Punkt-Auflage“: zur gleichmäßigen Druckverteilung, Linsenunterspülung und Verträglichkeit touchiert die Linse den Apex und liegt peripher auf [83]. Im Vergleich zu früheren Flach- oder Steilanpassungen reduziert sich damit das Risiko von Läsionen [84].

Alternativ werden intracorneale Ringsegmente und intraokulare Linsen eingesetzt. In schweren Stadien ist die lamelläre oder penetrierende Keratoplastik die letzte Therapiemöglichkeit.

Intracorneale Ringsegmente, die ursprünglich für die Therapie von extremer Kurzsichtigkeit entwickelt wurden, sind eine chirurgische Option für die Behandlung von milden bis moderaten Krankheitsstadien des Keratokonus [85] [86]. Das Verfahren beruht auf der Implantation von ein oder zwei Polymethyl-Methacrylat-Segmenten in das Hornhautstroma. Ziel ist es, die abnormale Form zu korrigieren, das Sehvermögen zu verbessern, eine bessere Akzeptanz von Kontaktlinsen [87] zu ermöglichen und die Hornhauttransplantation zu verhindern oder wenigstens hinauszuzögern [88].

Die Implantation von intraokularen Linsen in die vordere oder hintere Augenkammer hat keinen Einfluss auf die Corneaektasie und damit auf das Fortschreiten des Keratokonus. Sie werden deshalb meist in Verbindung mit anderen chirurgischen Verfahren, wie die Implantation von intracornealen Ringsegmenten oder Keratoplastik, angewandt. Verwendet werden sie hauptsächlich bei Patienten, bei denen eine Korrektur mittels Kontaktlinse nicht möglich ist [89] [90].

Die tiefe lamelläre Keratoplastik wurde in den letzten Jahren in der Behandlung des Keratokonus vermehrt durchgeführt. Bei dieser werden unter Schonung von Descemet-Lamelle und Endothel, die oberflächlichen Hornhautschichten entfernt und durch intaktes Spenderhornhautgewebe ersetzt [91] [92] [93].

Die penetrierende Keratoplastik, bei der die gesamte Cornea entfernt wird und durch eine Spendercornea ersetzt wird, ist eine chirurgische Behandlungsoption bei sehr fortgeschrittenem Keratokonus, der nicht mehr durch Kontaktlinsen suffizient

ausgeglichen werden kann. In einer Studie, die Patienten mit Keratokonus über 48 Jahre hinweg untersuchte, benötigten weniger als 20% eine penetrierende Keratoplastik [12]. Risikofaktoren für Patienten, im weiteren Verlauf ihrer Erkrankung eine Keratoplastik zu benötigen, sind: Narbenbildung beim Keratokonus, ein Sehvermögen schlechter als 0,5 unter Korrektur mit Kontaktlinsen, Keratometriewerte steiler als 55dpt, ein Astigmatismus über 10dpt, ein sehr früher Beginn der Keratokonusentwicklung und eine schlechte Toleranz von Kontaktlinsen [94-96].

Der Nachteil aller vorher genannten Therapieoptionen ist, dass keine davon das Fortschreiten des Keratokonus adäquat verhindert. Allein eine neue Behandlungsoption, die Kollagenquervernetzung, zielt darauf ab, die Progression eines Keratokonus zu verhindern.

### **1.3 Kollagenquervernetzung mit Riboflavin und UV-A Licht**

Die Kollagenquervernetzung der Cornea (collagen cross-linking, CXL) ist ein neues, an der Universitätsaugenklinik Dresden entwickeltes Verfahren, das darauf abzielt, durch Zunahme der biomechanischen Festigkeit, das Fortschreiten einer Keratektasie, wie z.B. den Keratokonus, zu verhindern.

Das Verfahren wurde zum ersten Mal 1997 von Spoerl et al beschrieben [97]. Erste klinische Resultate wurden im Jahr 1998 von Wollensak et al publiziert [98, 99].

#### **1.3.1 Verfahren**

Bei der CXL-Behandlung wird die Hornhaut mit ultraviolettem Licht (UV-A, 365nm) bestrahlt. Zusammen mit Riboflavin, einem nicht-toxischen, wasserlöslichen Vitamin (Vitamin B2), das in Tropfenform appliziert wird, führt dies durch eine photooxidative Reaktion zur Entstehung von reaktiven Sauerstoffspezies (freien Radikalen). Diese reagieren mit den Aminogruppen an den Seitenketten der Kollagenmoleküle, was zur oxidativen Desaminierung führt. Hierdurch kommt es zur Ausbildung von zusätzlichen inter- und intrafibrillären kovalenten Bindungen (Kollagenquervernetzung, „cross-

links“), die das Kollagengerüst stabilisieren [98] [100]. Riboflavin hat dabei zwei Funktionen: Als Photosensibilisator, um zusammen mit UV-Licht reaktive Sauerstoffspezies zu bilden, sowie als Schutzschild, um durch verstärkte Absorption der UV-Strahlung, tiefer gelegene Strukturen wie Endothel, Linse und Retina zu schützen.

Vor der Applikation von Riboflavin auf die Cornea muss eine Epithelabrasio durchgeführt werden, da aufgrund des Molekulargewichts von Riboflavin (376g/mol) das intakte Epithel eine relative Diffusionsbarriere darstellt. 30 Minuten nach Applikation ist Riboflavin mehr als 400µm tief eingedrungen und ist als gelbe Färbung bei der Spaltlampenuntersuchung zu sehen.

In-vitro-Untersuchungen zeigen, dass 30% der UV-A Strahlung von der Hornhaut absorbiert werden, weitere 50% von der Linse [98]. Riboflavin als Photosensitizer steigert signifikant die Aufnahme von UV-A-Licht, so dass bis zu 95% innerhalb der Hornhaut absorbiert werden. Daraus folgt eine 20fache Reduktion der ursprünglichen Strahlung von 3 mW/cm<sup>2</sup> [99] auf 0,15 mW/cm<sup>2</sup> auf der Höhe des Endothels. Somit liegt sie unterhalb der für das Endothel als zytotoxisch angesehenen Schwelle von 0.36mW/cm<sup>2</sup> [101-104]. Deutlich überschritten wird die Schwellendosis bis zu einer Tiefe von 300µm, was zur Apoptose von Keratinozyten im vorderen Stromaanteil und zur Ausbildung einer Abgrenzung zwischen behandelter und unbehandelter Cornea sowohl in-vitro als auch in-vivo führt [102, 103, 105].

Um lokale „hot spots“ zu verhindern ist ein Gerät mit uniformer Strahlungsquelle nötig, das ein gleichförmiges Bestrahlungsfeld mit einer Wellenlänge von 360-370nm und einer Gesamtstrahlung von 5.4 J/cm<sup>2</sup> erzeugt.

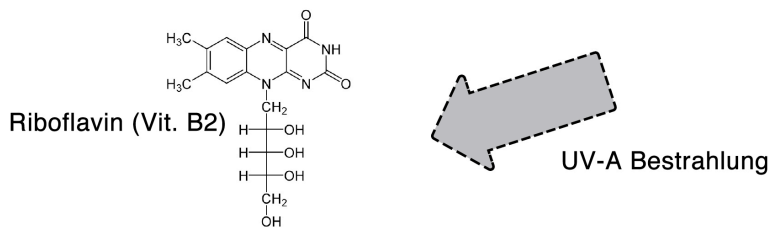
In verschiedenen Veröffentlichungen wurden die Auswirkungen der CXL-Behandlung untersucht.

Quervernetzte Corneae erzielten bei Messungen des Spannungs-Dehnungsverhaltens höhere Werte als unvernetzte [106]. Sie zeigten ein Schrumpfungsverhalten erst bei höheren Temperaturen [107] und eine höhere Resistenz gegenüber enzymatischem Abbau [108] des cornealen Stromas, jeweils verglichen mit nicht quervernetzten Corneae. Mittels morphometrischer Computeranalysen konnte gezeigt werden, dass der Durchmesser der Kollagenfasern im Vergleich zu unvernetzten Corneae um bis zu 12.2% vergrößert war. Innerhalb der CXL-behandelten Corneae wiederum war der

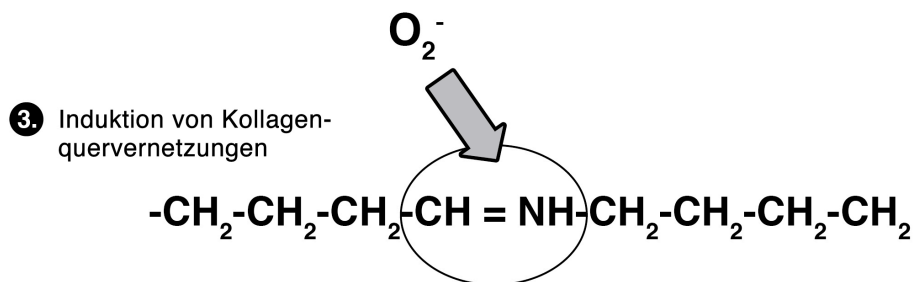
Durchmesser der Kollagenfasern in den vorderen 200µm um 9,3% größer als im hinteren Stroma, wo eine Abschwächung des UV-A-Lichts durch Riboflavin-Absorption erfolgt [109] [110]. Der biomechanische Effekt ist unmittelbar nach Bestrahlung vorhanden und führt zu einer Erhöhung der Festigkeit der Cornea von über 300% [106].

## Kollagenquervernetzung

1. Kombinierte Applikation von UV-A-Licht und Riboflavin

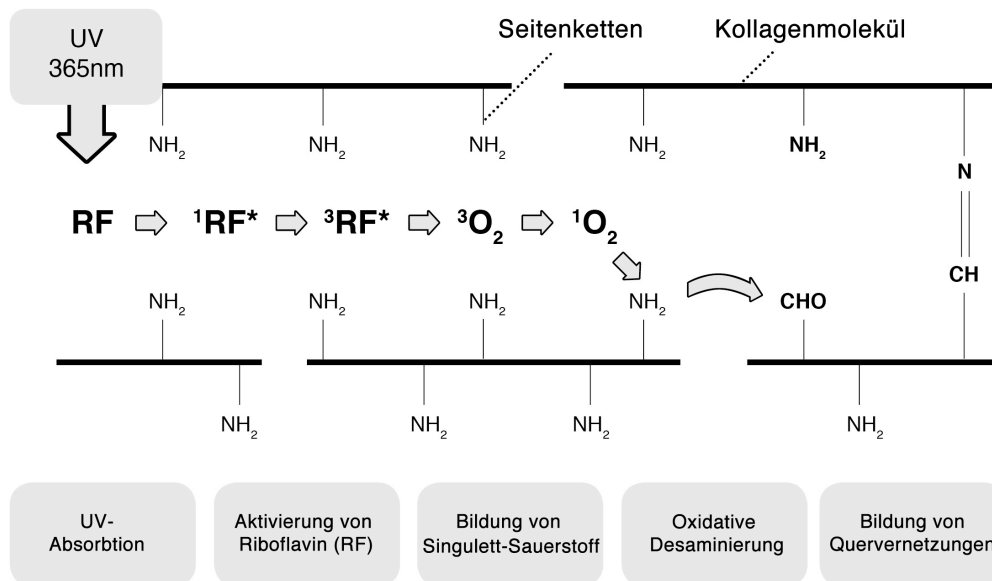


2. Produktion von Sauerstoffradikalen



**Abbildung 4: Prinzip der Kollagenquervernetzung:** Die kombinierte Applikation von Riboflavin und UV-A-Licht führt zur Bildung reaktiven Sauerstoffspezies. Diese reagieren mit den Aminogruppen an den Seitenketten der Kollagenmoleküle, was zur oxidativen Desaminierung führt. Hierdurch kommt es zur Ausbildung von zusätzlichen inter- und intrafibrillären kovalenten Bindungen (Kollagenquervernetzung, „cross-links“), die das Kollagengerüst stabilisieren.

## Kollagenquervernetzung



**Abbildung 5: Reaktionskaskade bei der Bildung von Kollagenquervernetzungen:** Das auf die deepithelialisierte Cornea applizierte Riboflavin wird durch UV-A-Licht aktiviert. Dies führt zur Bildung von Singulett-Sauerstoff, der durch oxidative Desaminierung zur Ausbildung von zusätzlichen Quervernetzungen zwischen den Kollagenfasern führt.

### 1.3.2 Klinische Anwendungen

Die CXL-Behandlung hat den großen Vorteil gegenüber anderen operativen Verfahren, dass sie ambulant durchführbar, kostengünstig und für die Betroffenen wenig belastend ist. Angewandt wird die CXL-Behandlung am häufigsten bei Keratokonus, wobei das Indikationsspektrum eine ständige Erweiterung erfährt. Im Rahmen von ersten klinischen Studien wird CXL auch in der Behandlung von LASIK-induzierten iatrogenen Keratektasien [111], bullösen Keratopathien [112] und infektiösen Keratitiden [113, 114] [115] eingesetzt.

Wollensak et al führten in einer klinischen Studie an 23 Augen mit moderat bis fortgeschrittenem Keratokonus eine CXL-Behandlung durch und fanden über einen Zeitraum von 4 Jahren postoperativ keine Progression des Keratokonus [99].

Raiskup-Wolf et al. veröffentlichten im Jahr 2008 die bisher größte klinische Studie mit 241 Augen, die über einen Zeitraum von bis zu 6 Jahren nach CXL-Behandlung den Verlauf untersuchte. Eine Krankheitsprogression konnte bis auf zwei Fälle verhindert werden. Zudem wurde als indirekter Effekt eine Abnahme der Corneakurvatur in 54% der Fälle beobachtet mit einer durchschnittlichen Änderung von -1,9dpt [116]. Kymionis et al. erklärten diesen Effekt durch die behandlungsbedingte Änderung der Hornhautdicke hin zu einer kompakteren Hornhaut. Es fand sich eine statistisch signifikante Abnahme der zentralen Hornhautdicke, gemessen am Anfang und am Ende der CXL-Behandlung [117].

Hafezi et al führten eine CXL-Behandlung bei 10 Augen mit vor LASIK nicht diagnostiziertem Keratokonus durch, die postoperativ eine Keratektasie entwickelt hatten. CXL konnte über einen Zeitraum von 12 bis 25 Monaten postoperativ in allen Fällen eine Progression verhindern und teilweise sogar einen Rückgang der Ektasie bewirken [111].

CXL wird auch bei der Behandlung der therapieresistenten infektiösen Keratitis oder von cornealen Ulcera angewandt. Grundlage ist, dass CXL die durch enzymatische Abbauvorgänge geschwächte Cornea festigt und UV-A-Licht die infektiösen Erreger eliminiert [118].

Wollensak et al beobachteten eine signifikante Änderung des Quellverhaltens von quervernetzten Corneae vor allem im vorderen Stroma und eine erhöhte Widerstandsfähigkeit gegen Hydratation [119]. Dieser anti-ödematöse Effekt könnte erfolgreich in der Therapie der bullösen Keratopathie, bei der es aufgrund einer endothelialen Dysfunktion zu einem chronischen Ödem der Cornea kommt, verwendet werden [112].

Kamburoglu et al berichteten über einen Patienten mit LASIK-induzierter Keratektasie, welcher zuerst mit intracornealen Ringsegmenten und anschließend mit CXL behandelt wurde. Es zeigte sich eine deutliche Verbesserung der Sehschärfe und ein leichter Rückgang der Ektasie [120].

Kanellopoulos et al führten in einer Studie an 325 Augen mit Keratokonus eine modifizierte photorefraktive Keratektomie (PRK) durch [121]. Ziel der Kombination

von CXL und topographiegesteuerter PRK ist, die mit Sehhilfe korrigierte Sehschärfe zu verbessern, indem die irreguläre Komponente des refraktiven Fehlers reduziert wird.

In unserer Arbeitsgruppe, Kampik et al, untersuchten wir den Einfluss von CXL auf die Ablationsrate eines Excimer Lasers: Während einer phototherapeutischen Keratektomie (PTK) an enukleierten Schweineaugen wurde nach intendierten 50µm Ablationsschritten an jeweils CXL-behandelten Augen und einer Kontrollgruppe die Hornhautdicke mittels optischer Kohärenzpachymetrie während des Laservorgangs gemessen. In der CXL-behandelten Gruppe führte jeder Ablationsschritt von intendierten 50µm zu einer durchschnittlichen Ablation von  $45,3\mu\text{m} \pm 12,5\mu\text{m}$ . In der Kontrollgruppe, die nur eine Epithelabrasio erhielt, führte jeder Schritt zu einer durchschnittlichen Ablation von  $45,2\mu\text{m} \pm 11,0\mu\text{m}$ . Damit zeigte kein Ablationsschritt einen signifikanten Unterschied zwischen CXL-behandelten und unbehandelten Corneae. In beiden Gruppen nahm die Ablationsrate bei Ablation im tieferen Stroma ab. Diese niedrigere Ablationsrate steht im Einklang mit einem vermehrten Wassergehalt im tieferen Stroma [122], was zu einer geringeren Ablation führt [123] [124]. CXL scheint also keinen Einfluss auf die Ablationsrate von Excimer Laser Pulsen zu haben, so dass die Laser-Parameter nicht angepasst werden müssen [125].

### **1.3.3 Kontraindikationen und Risiken**

Eine Kontraindikation für eine CXL-Behandlung ist eine Hornhautdicke kleiner als 400µm. In fortgeschrittenen Keratokonusstadien misst die Cornea oft weniger als 400µm. Hafezi et al. [126] konnte durch Applikation von 0.1% Riboflavin in hypoosmolarer Kochsalzlösung die Hornhaut durch Schwellung über die kritische Grenze von 400µm verdicken. In einer Studie mit 20 Patienten konnte anschließend bei allen eine CXL-Behandlung ohne Komplikation durchgeführt werden.

Obwohl die CXL-Behandlung als minimalinvasiv gilt, gibt es auch Berichte über Risiken und Komplikationen: In einer retrospektiven Untersuchung von 163 CXL-behandelten Augen mit Keratokonus im Stadium 1-3 nach Amsler zeigte sich nach einem Jahr bei 8,6 % der Augen eine klinisch signifikante Trübung der Cornea [127]. Die Trübung trat vorwiegend bei sehr fortgeschrittenen Krankheitsstadien auf, sodass eine niedrige Corneadicke und eine hohe Cornea-Kurvatur als Risikofaktor für die

Entwicklung von Trübungen nach CXL-Behandlung angesehen werden. Eine vorübergehende Minderung der mit Brille bestkorrigierten Sehschärfe kann nach CXL-Behandlung auftreten. Eine permanente Sehverschlechterung von 2 Zeilen auf der Snellen-Visustafel beschrieb Koller et al bei 2,9 % seiner mit CXL behandelten Patienten [128]. Während der Heilungsphase des Epithels ist die Cornea anfällig für Infektionen. Infektiöse Keratitiden im Zusammenhang mit CXL wurden beschrieben [129-131]. Es ist wahrscheinlich, dass die Infektion erst postoperativ entstanden ist, da während der CXL Behandlung durch das UV-A Licht infektiöse Krankheitserreger, wie Bakterien oder Pilze, eliminiert werden.

## **1.4 Formen der Ametropie**

Man teilt Fehlsichtigkeiten in achsensymmetrische und astigmatische Formen ein, wobei in den meisten Fällen eine gemischte Form vorliegt. Zu den achsensymmetrischen Fehlsichtigkeiten zählen die Kurzsichtigkeit (Myopie) und die Weitsichtigkeit (Hyperopie).

### **1.4.1 Myopie**

Eine Myopie besteht dann, wenn der Augendiskus im Verhältnis zur Brechkraft zu lang ist. Einfallende Lichtstrahlen vereinigen sich vor der Netzhaut, die danach divergierenden Strahlen ergeben dann ein unscharfes Bild auf der Netzhaut.

### **1.4.2 Hyperopie**

Eine Hyperopie besteht, wenn der Augendiskus in Relation zur Brechkraft zu kurz ist. Lichtstrahlen, die in das Auge eintreten, vereinigen sich erst hinter der Netzhaut, sodass sich ebenfalls ein unscharfes Bild auf der Netzhaut ergibt.



### **1.4.3 Astigmatismus**

Beide Fehlsichtigkeiten, die Myopie und die Hyperopie, können mit einer Stabsichtigkeit (Astigmatismus) kombiniert sein, wobei ein Astigmatismus auch alleine vorkommen kann. Dieser entsteht, wenn die Hornhaut nicht kugelförmig (sphärisch) gewölbt ist, sondern ein Meridian eine andere Brechkraft als der senkrecht daraufstehende Meridian hat, so dass Lichtstrahlen nicht zu einem Punkt, sondern zu einer Linie vereinigt werden.

Man unterscheidet den regelmäßigen Astigmatismus, bei dem die beiden verschieden brechenden Meridiane senkrecht aufeinander stehen, und den unregelmäßigen, bei dem verschiedene Bereiche der Cornea unterschiedliche Brechkraft haben, z.B. bei Narben oder Keratokonus.

## **1.5 Refraktiv-chirurgische Verfahren**

Unter refraktiver Chirurgie versteht man die chirurgische Korrektur von Fehlsichtigkeiten des menschlichen Auges. Zu den heute anerkannten chirurgischen Korrekturverfahren gehören die Hornhaut- und Linsen Chirurgie. Zur Hornhautchirurgie zählt man die Excimer-Laserverfahren und Inzisionen. Zur Linsen Chirurgie gehört die Implantation von phaken Intraokularlinsen (PIOL) und der refraktive Linsenaustausch (RLA). Im Weiteren wird nur auf die in dieser Arbeit verwendeten Excimer-Laserverfahren der Hornhautchirurgie eingegangen.

### **1.5.1 Excimer-Laserverfahren**

Der bei der refraktiven Hornhautchirurgie verwendete Excimer-Laser ist ein Argon-Fluorid-Laser. Excimer-Laser werden mit einer gepulsten elektrischen Entladung in einem Gemisch aus Edelgasen und Halogenen angeregt. Die Entladung hebt die Edelgas-Atome auf ein höheres Energieniveau, so dass sie mit den Halogen-Molekülen reagieren und eine Verbindung eingehen. Diese besonderen Moleküle, genannt

Excimer, sind nur sehr kurze Zeit stabil. Beim Zerfallen senden sie eine ultraviolette Strahlung mit einer Wellenlänge von 193nm aus. Wenn diese Reaktion in einem optischen Resonator mit zwei parallel angeordneten Spiegeln erfolgt, tritt der Lasereffekt ein und Lichtimpulse mit sehr hoher Spitzenleistung werden emittiert. Das ultraviolette Licht wird vom Hornhautgewebe absorbiert und es kommt zur Photoablation. Durch die Anzahl und die Anordnung der Laserimpulse kann der Gewebeabtrag präzise definiert und die Cornea so modelliert werden, dass sich die in das Auge einfallenden Lichtstrahlen im Punkt des schärfsten Sehens, der Macula lutea, vereinigen. Das umliegende Hornhautgewebe wird kaum erwärmt und somit geschont.

Das Ablationsprofil, die genaue Form und Größe des abzutragenden Gewebes, richtet sich primär nach der Art und Höhe der Korrektur sowie dem Durchmesser der zu behandelnden Fläche. Die Form des abzutragenden Gewebes gleicht der Form einer asphärischen Linse. Mit Hilfe der sogenannten Munnerlyn-Formel lässt sich die Dicke dieser Linse, also die Tiefe des maximalen Abtrags, grob bestimmen:

$$AT \text{ (in } \mu\text{m)} = d^2 \times D / 3$$

AT= Abtragungstiefe, d=Durchmesser, D=Korrektur in Dioptrien

Zur Korrektur einer Myopie wird im Zentrum der Cornea ein zirkulärer Lentikel mit dem Excimer-Laser ablatiert, die Cornea wird damit abgeflacht und somit die Brechkraft verringert. Zur Korrektur einer Hyperopie erfolgt eine Ablation in der Corneaperipherie, so dass die Krümmung der zentralen Cornea verstärkt und die Brechkraft vergrößert wird. Wellenfrontgeführte oder topografiegesteuerte Ablationsprofile vermeiden die Induktion von Abberationen höherer Ordnung (HOAs) oder können diese reduzieren, indem das Ablationsprofil an die vorher vermessene Patientencornea angepasst wird [132] [133].

Man gliedert die Verfahren, bei denen zur Fehlsichtigkeitskorrektur ein Excimer-Laser verwendet, wird in:

- Verfahren zur Oberflächenbehandlung
  - Photorefraktive Keratektomie (PRK)
  - Laser-subepitheliale Keratomileusis (LASEK)
  - Epitheliale-Laser-in-situ-Keratomileusis (Epi-LASIK)

- Lamelläre Behandlungsverfahren
  - Laser-in-situ-Keratomileusis (LASIK)
  - Femto-Laser-in-situ-Keratomileusis (Femto-LASIK)

#### 1.5.1.1 Excimer-Laserverfahren zur Oberflächenbehandlung

Bei den Oberflächenbehandlungen (PRK, LASEK, Epi-LASIK) erfolgt der Abtrag des Corneagewebes mit dem Excimer-Laser direkt unter dem Epithel. Bei der PRK wird vor der Behandlung das Epithel entweder mechanisch oder chemisch entfernt. Bei den beiden anderen Verfahren wird das Epithel mittels Alkohollösung (bei der LASEK) bzw. einem Mikrokeratom (bei der Epi-LASIK) von der Unterlage als ganzes Epithelblatt abgehoben und umgeschlagen. Nach dem Lasern wird das Epithelblatt wieder an den ursprünglichen Ort zurückgelegt. Da weder die Homogenität noch die exakte Dicke des Epithels messbar sind, können diese beiden Faktoren einen negativen Einfluss auf die Prognostizierbarkeit des gewünschten Ergebnisses ausüben [134].

#### 1.5.1.2 Lamelläre Excimer-Laserverfahren

Die lamellären Behandlungsverfahren bestehen aus zwei Schritten: erstens der Präparation eines „Flaps“, einer dünnen Hornhautlamelle, die für die Laserapplikation weggeklappt wird, und zweitens der anschließenden Korrektur der Fehlsichtigkeit durch den Excimer-Laser. Der Vorteil der lamellären Verfahren ist, dass das Epithel weitestgehend intakt bleibt. Es findet fast keine Narbenbildung statt, der Patient hat wenig Schmerzen und das Sehvermögen kehrt sehr schnell zurück. Nachteile sind mögliche Komplikationen bei der Durchführung des Lamellenschnitts, wie z.B. eine Perforation der Lamelle oder spätere Epitheleinwachsungen in den intrastromalen Wundspalt. LASIK und Femto-LASIK unterscheiden sich nur in der Technik, mit der die Hornhautlamelle präpariert wird.

Bei der LASIK wird mit einem Mikrokeratom mit einer oszillierenden Klinge eine Lamelle an der Vorderseite der Cornea geschnitten. Während des Mikrokeratomschnitts wird das Auge durch einen Saugring fixiert. Über einen Steg bleibt der Flap mit der Cornea verbunden. Der Flap wird zur Seite geklappt, wodurch das vordere Stroma

freiliegt. Nach erfolgter Ablation wieder auf seinen ursprünglichen Platz zurückgelegt, haftet er infolge von Adhäsionskräften und dem Pumpeffekt des Endothels selbstständig an der Cornea und wächst innerhalb weniger Stunden an.

Bei der Femto-LASIK wird der Flap mit einem Femtosekunden-Laser präpariert. Dieser erzeugt ultrakurze Lichtpulse mit einer Wellenlänge von 1043nm, die in einer genau definierten Tiefe und Strecke eine Aneinanderreihung von kleinen Hohlräumen (Kavitationsbläschen) entstehen lassen. Diese Bläschen entstehen im Fokus des Lasers, da dort die nötige Energiedichte erreicht wird. Unfokussiertes Laserlicht wird von der übrigen Hornhaut kaum absorbiert, so dass Schnitte durch Fokussierung in definierter Tiefe erzeugt werden können. Entlang der entstandenen Kavitationsbläschen kann die Lamelle gelöst und zur Seite geklappt werden [135]. Schnittfehler, wie sie bei der Benutzung des Mikrokeratoms als Komplikation entstehen können, sind bei der Femto-LASIK zu vernachlässigen.

Als Weiterentwicklung der Femto-LASIK gilt die Femto-Lentikel-Extraktion (FLEX), bei der sowohl der Flap als auch ein Lentikel in die Cornea mit dem Femto-Laser geschnitten werden.

### **1.5.2 Indikationen, Kontraindikationen und Komplikationen von Excimer-Laserverfahren**

Die Excimer-Laserverfahren (LASEK, PRK, LASIK, Epi-LASIK) werden zur Korrektur von Myopien bis -8 dpt (LASIK für Myopien bis maximal -10 dpt), Hyperopien bis +4 dpt und Astigmatismen bis 5 dpt angewendet. Als Kontraindikationen gelten Keratektasien, die symptomatische Katarakt, das Glaukom mit ausgeprägten Gesichtsfeldschäden und die exsudative Makuladegeneration. Für die lamellären Verfahren wird eine Corneadicke von mindestens 500µm gefordert.

Jeder refraktiv-chirurgische Eingriff stellt ein Risiko für Komplikationen dar. Durch Einhaltung von Indikationskriterien, hohen Anforderungen an technische Standards, sterilen OP-Bedingungen und mit einer großen Erfahrung des Operateurs kann die Komplikationsrate auf 0,5% gesenkt werden. Mögliche Komplikationen bei den Oberflächenbehandlungen (PRK, LASEK, Epi-LASIK) sind: Narbenbildung der Hornhaut (sog. Haze), längere Refraktionsschwankungen im Vergleich zur LASIK und

schwieriger durchführbare Nachbehandlungen. Bei der LASIK kommt es in 15-20% zu einer vorübergehenden Keratokonjunktivitis sicca. Vermutlich ist die Ursache dafür die Durchtrennung von Hornhautnerven beim Flapschnitt, die zu einer Reduktion der Tränensekretion führt.

Aufgrund der Gefahr der Entwicklung einer iatrogenen Keratektasie ist die Hornhautdicke oft limitierender Faktor für alle Ablationsverfahren [136] [137, 138], insbesondere bei den lamellären Verfahren. Die Gefahr einer iatrogenen Keratektasie durch Unterschreiten einer definierten Reststromadicke kann minimiert werden durch intraoperative Messung der Hornhautdicke mit dem im Lasersystem „Esiris“ integrierten Online-Optical-Kohärenzpachymetrie-System [139] [140].

## **1.6 Ziele der Arbeit und Fragestellungen**

Die CXL-Behandlung ist bisher die einzige Therapie, die die Stabilität der Cornea erhöht und dadurch eine Progression des Keratokonus verhindern kann. Die hierbei oft verzeichnete Rückbildung der Keratektasie reicht jedoch in der Regel nicht aus, um die damit verbundenen Brechungsfehler des Auges zu beheben. In einigen Fällen kann die Sehschärfe selbst mit Brille oder formstabilen Kontaktlinsen nicht wieder hergestellt werden und es müssen operative Methoden in Erwägung gezogen werden. Als sichere Therapieoptionen bei Keratokonus werden neben der Hornhauttransplantation noch intracorneale Ringsegmente und phake intraokulare Linsen angewandt. Als Alternative werden seit kurzem beim irregulären Astigmatismus in ausgewählten Fällen Excimer-Laser-Operationen diskutiert und in manchen Ländern trotz unzureichender experimenteller oder klinischer Erfahrung schon durchgeführt. Vor allem phototherapeutische und photorefraktive Keratektomien zeigen vielversprechende Resultate. Die Gefahr der Progression der Hornhautverdünnung bis hin zur Keratolyse bleibt jedoch bestehen.

Die Festigung der Cornea durch eine CXL-Behandlung vor einer Excimer-Laserbehandlung könnte diese Gefahr verringern und die Sehschärfe des Patienten entscheidend verbessern oder idealerweise gar vollständig restituieren.

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, in wie weit eine CXL-Behandlung einen Einfluss auf refraktiv-chirurgische Verfahren hat. Zunächst sollte ein ex-vivo Modell am Schweineauge entwickelt werden, anhand dessen sich Hornhautdicke und Hornhautkrümmung reproduzierbar vor und nach CXL- bzw. Laserbehandlung messen lassen.

Daran sollten in statistisch ausreichender Fallzahl folgende Fragen geklärt werden:

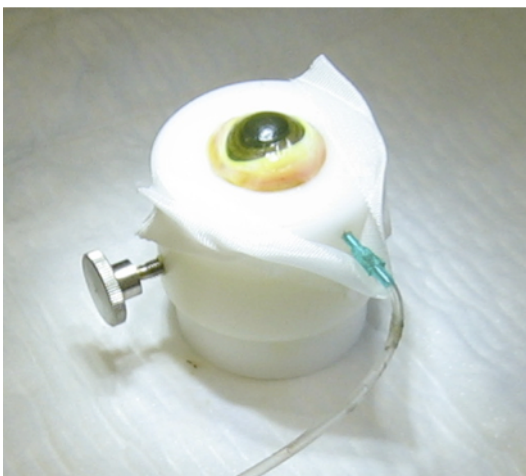
- Inwieweit hat eine CXL-Behandlung eine Auswirkung auf einen Mikrokeratomschnitt, insbesondere auf die Flapdicke bei der Präparation des Flaps?
- Inwieweit hat eine CXL-Behandlung eine Auswirkung auf das refraktive Ergebnis einer LASIK-Behandlung?
- Müssen Mikrokeratom- oder Excimer-Laserparameter modifiziert werden, wenn man eine CXL-Behandlung und LASIK-Behandlung direkt nacheinander durchführt?

## 2 Material und Methoden

### 2.1 Material

#### 2.1.1 Schweineaugen

Alle Untersuchungen wurden durchgeführt mit frisch enukleierten Schweineaugen von Schweinen einer Kreuzung aus „Deutsche Landrasse“ und „Pitt“, 6-8 Monate alt, vom Schlachthof Würzburg (Fa.Südfleisch, Würzburg, Deutschland). Bis zur Verwendung lagerten sie zwischen 1 und 7 Stunden post mortem in einer Feuchtkammer gekühlt bei 6°C. Während der Experimente wurde der intraokuläre Druck durch Höhenjustierung einer intravitrealen Infusion mit isotonischer Kochsalzlösung konstant auf 20 mmHg gehalten. Zu Beginn der Versuche wurde dies mit einem Perkins Tonometer überprüft (Fa. Perkins, Clement Clarke Ltd., Essex, UK). Während aller Arbeitsschritte wurden die Augen in einem eigens dafür entwickelten Haltegerät fixiert, so dass die natürliche Form des Bulbus ohne Verformung beibehalten wurde. Bei allen Augen wurde vor der Verwendung eine vollständige Epithelabrasio mit einer D15 Rundskalpellklinge durchgeführt.



**Abbildung 6:** enukleiertes Schweineauge in Haltevorrichtung unter intravitrealer Infusion

### 2.1.2 Riboflavin

Das als Photosensibilisator bei der Kollagenquervernetzung dienende Riboflavin (Vitamin B2) wurde nach der Abrasio als 0,1%ige Lösung auf die Cornea aufgetropft: Riboflavin-5-phosphat (5mg/ml, Fa. Streuli Pharma, Uznach, Schweiz) aufgelöst in 0,9%iger Kochsalzlösung mit 20% Dextran-Anteil (Molekulargewicht 500kDa, Fa. Carl Roth, Karlsruhe, Deutschland) [97] [99].

Eine Einzeldosis setzt sich zusammen aus:

- 0,7ml physiologische NaCl-Lösung
- 0,3ml Riboflavin-5-Phosphat
- 0,25g heißluftsterilisiertes Dextran T500

Die Lösung wurde anschließend in sterile 1ml-Spritzen portioniert und bis zur Verwendung gekühlt und lichtgeschützt aufbewahrt.

### 2.1.3 UV-A-Lichtapplikationssystem

Die photooxidative Reaktion bei der CXL-Behandlung wird ausgelöst durch UV-A-Licht. Als UV-A-Bestrahlungsgerät wurde ein auch klinisch eingesetztes Gerät (UV-X Corneal Crosslinking System, entwickelt von IROC, Institut für refraktive und Ophthalmochirurgie, Zürich, Schweiz) benutzt. Es ist darauf eingestellt, ein homogenes Bestrahlungsfeld mit einer Stärke von  $3 \text{ mW/cm}^2$  bei einer Wellenlänge von 365nm, dem Absorptionsmaximum von Riboflavin, zu erzeugen.



Abbildung 7: UV-X Corneal Crosslinking System (IROC, Zürich, Schweiz)



#### **2.1.4 Mikrokeratom und Laserapplikationssystem**

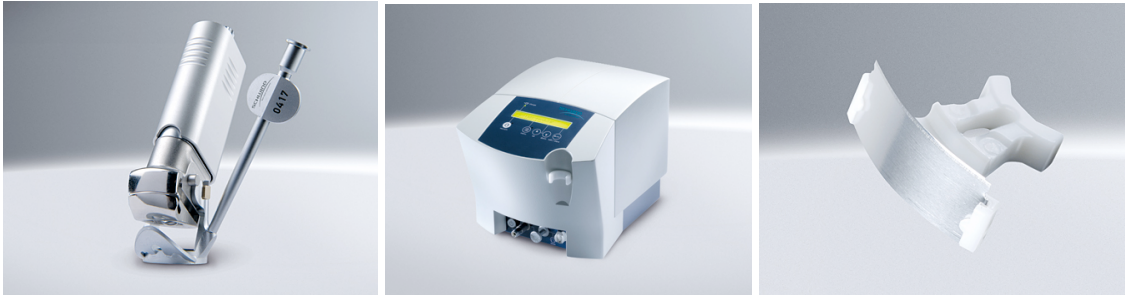
Für die Durchführung der LASIK Behandlung wurde für den ersten Behandlungsschritt, der Präparation einer Hornhautlamelle (Flap), das Schwind Carriazo-Pendular-Mikrokeratom (Fa.Schwind, Kleinostheim, Deutschland) verwendet. Für den zweiten Behandlungsschritt, der Photoablation, wurde das Excimer-Laserapplikationssystem „ESIRIS“ (Fa.Schwind, Kleinostheim, Deutschland) benutzt. Es handelt sich dabei um einen „flying spot laser“. Dieser ermöglicht die asymmetrische Verteilung des Laserstrahls über der zu behandelnden Oberfläche mit einem Para-Gauß'schem Strahlprofil von 0,8mm Durchmesser und einer Wiederholungsrate von 200Hz. Die emittierte Strahlung hat eine Wellenlänge von 193nm. Für physikalische Details siehe auch 1.5.1.

Neben dem Hochleistungslaser enthält der ESIRIS drei leistungsschwächere Diodenlaser als Positionier- und Fixierlaser.

Als Positionierlaser dienen zwei Diodenlaser niedrigerer Leistung, die punktförmig auf das Auge gerichtet werden, so dass sich die Punkte in der genauen Fokussierungsentfernung überschneiden. Sie dienen so zur Einstellung des genauen Arbeitsabstandes.

Das optische System zur Strahlführung und -formung ist an der Austrittsseite des Lasers über ein Schutzrohr verbunden, wobei der Strahl 4-mal um 90° abgewinkelt wird. Der Austritt des Operationsstrahles erfolgt senkrecht nach unten, axial in der optischen Achse des für die Zentrierung eingesetzten Video-Beobachtungssystems und des Fixierlasers.

Das Operationsfeld befindet sich etwa 280 mm unterhalb des Strahlaustritts, dessen Einstellung und Zentrierung auf das zu behandelnde Auge mit Hilfe der zwei o.g. Positionierlaser, einer Videokamera und eines Mikroskops vorgenommen werden kann. Durch genaue Positionierung des Patienten auf der Behandlungsliege kann mithilfe eines auf dem Behandlungsbildschirm eingeblendeten Fadenkreuzes das Gerät exakt auf die Pupillenmitte zentriert werden.



**Abbildung 8: Carriazzo-Pendular Mikrokeratom** mit Handstück, Konsole und Klinge (Fa.Schwind, Kleinostheim, Deutschland)



**Abbildung 9: ESIRIS Laserapplikationssystem** (Fa.Schwind, Kleinostheim, Deutschland)

## 2.1.5 Messgeräte zur Flapdickenbestimmung

Die Dicke des Flaps wurde mit zwei unterschiedlichen Methoden bestimmt.

### 2.1.5.1 Optisches Kohärenzpachymeter

Zum einen wurde die Messung mit dem im Lasersystem „ESIRIS“ integrierten online-optischen Kohärenzpachymeter (onlineOCP, Fa.Heidelberg engineering, Lübeck, Deutschland) durchgeführt. Das Gerät arbeitet mit Licht einer Wellenlänge von 1310nm und ermöglicht eine berührungslose Bestimmung der Hornhautdicke. Für die Messung wird das Auge mit niedrigkohärentem Licht einer Superlumineszenzdiode beleuchtet, das heißt, mit Licht, das nur über eine kurze Distanz kohärent ist und damit

interferenzfähig ist. Dieses Licht wird an der Vorderfläche und an der Hinterfläche der Cornea reflektiert und gestreut. Zusätzlich wird ein zweiter paralleler Lichtstrahl als Referenzstrahl erzeugt. In einem Interferometer überlagern sich reflektierter Strahl und Referenzstrahl. Die interferierenden Lichtstrahlen werden von einer Lichtdiode gemessen und in ein elektrisches Signal (Interferenzmuster) umgewandelt, ähnlich wie bei einem Sonografie A-Scan. Das elektronische Signal wird in Bezug zur Wegstrecke und zur dafür benötigten Zeit des Referenzstrahls ausgewertet. Unter Verwendung des refraktiven Index des Gewebes kann die Hornhautdicke berechnet werden.

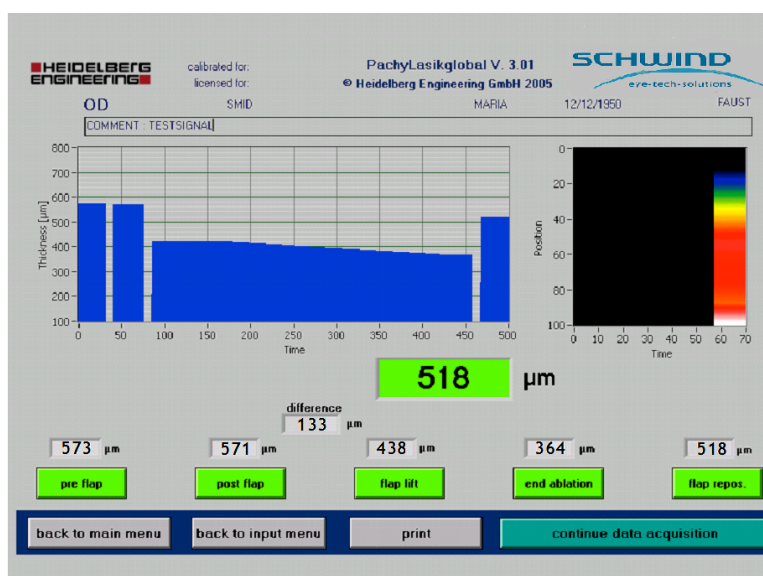


Abbildung 10: Benutzeroberfläche onlineOCP (Fa. Schwind, Kleinostheim, Deutschland)

### 2.1.5.2 Manuelles Dickenmessgerät

Zum anderen erfolgte die Messung manuell mit dem mechanischen Mikrometer-Dickenmessgerät J15 (Fa. Käfer, Villingen-Schwenningen, Deutschland). Das Gerät enthält zwei flache 6,5mm im Durchmesser große Messeinsätze, einen feststehenden sowie einen über einen Metallstab beweglichen, der über ein Abheberad geöffnet werden kann. Nach Einlegen des zu messenden Gegenstandes erfolgt eine Rückstellung des beweglichen Messeinsatzes über einen Federmechanismus. Die gemessene Dicke lässt sich über eine Strichskala in 10µm Schritten ablesen.



**Abbildung 11: Dickenmessgerät J15** (Fa. Käfer, Villingen-Schwenningen, Deutschland)

### **2.1.6 Messgerät zur Bestimmung der Refraktion**

Die Bestimmung der Cornearefraktion erfolgte mit dem Corneal Wavefront Analyzer (Fa. Schwind, Kleinostheim, Deutschland), der das topographische System Optikon Keratron Scout enthält (Fa. Optikon S.p.a., Rom, Italien). Dieser computerunterstützte Placido-basierte Videokeratograph vermisst die Form der Cornea und stellt sie entsprechend den lokalen Krümmungen oder Erhöhungen als farbkodierte Abbildung dar.

Während des Messvorgangs werden 28 Ringe einer Placidoscheibe auf die Hornhaut projiziert. Das Spiegelbild der Placidoscheibe auf der Hornhautoberfläche wird über eine Kamera aufgenommen. Mithilfe dieses Bildes wird jedem Punkt der Hornhautoberfläche, in Relation zu einer idealen sphärischen Cornea als Referenzkörper, ein Höhenwert zugeordnet [68] und farbkodiert dargestellt.



**Abbildung 12: Corneal Wavefront Analyzer** (Fa.Schwind, Kleinostheim, Deutschland)

## **2.2 Methoden**

### **2.2.1 Versuchsaufbau**

In der Behandlungsgruppe (Gruppe 1) wurde nach Abrasio eine CXL-Behandlung durchgeführt. In der Kontrollgruppe (Gruppe 2) wurde nur eine Abrasio durchgeführt. Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurden die Experimente an CXL-behandelten und an Kontrollaugen paarweise durchgeführt, in dem die Augen der Kontrollgruppe, um Dehydration zu verhindern, in einer Feuchtkammer bei Raumtemperatur über die Dauer der CXL-Behandlung aufbewahrt wurden. Sie wurden weder mit Riboflavin noch mit UV-A-Bestrahlung behandelt.

Im Anschluss wurde bei beiden Gruppen eine LASIK-Behandlung mit unterschiedlichen Mikrokeratom-Schneidköpfen und Laserparametern durchgeführt (siehe 2.2.3). Die Flapdicke wurde mit dem optischen Kohärenzpachymeter (onlineOCP) sowie mit dem mechanischen Dickenmessgerät J15 gemessen. Das refraktive Ergebnis nach LASIK wurde durch Messung der Refraktion vor und nach LASIK-Behandlung mit dem Placido-basierten Videokeratographen Keratron Scout bestimmt.

## Versuchsablauf

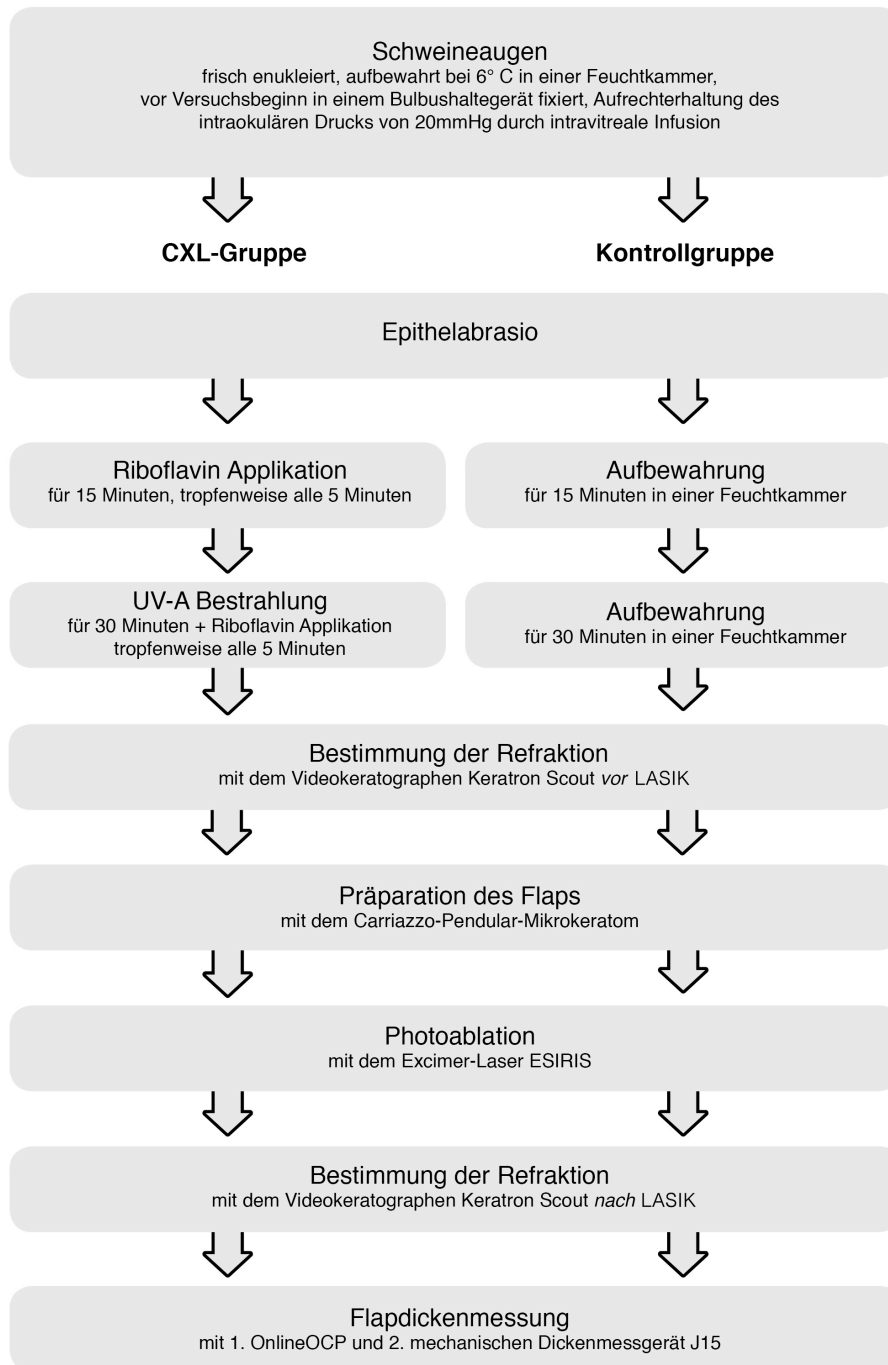


Abbildung 13: Versuchsablauf

### **2.2.2 CXL-Behandlung**

Wie von Wollensak et al in seiner ersten Publikation zum klinischen Gebrauch beschrieben, wurden die Augen der Behandlungsgruppe (Gruppe 1) einer Kollagenquervernetzungsbehandlung (CXL) unterzogen. Nach Abrasio wurde 15 Minuten lang ein Tropfen Riboflavin als 0.1%ige Lösung alle 5 Minuten auf die Cornea appliziert, wobei die Penetration des Riboflavins in das Corneastroma bei der Untersuchung mit der Spaltlampe als gelbe Aufhellung zu sehen war.

Während der anschließenden 30 Minuten dauernden Bestrahlung wurde diese Applikationsweise fortgesetzt. Die Cornea wurde mit einer Gesamtdosis von  $5.4 \text{ J/cm}^2$  bei einem Lichtkegeldurchmesser von 11,5 mm in einem Abstand von 50cm bestrahlt. Nach Beendigung der Bestrahlung wurde die Hornhaut für einige Sekunden mit 0,9%iger Natrium-Chlorid-Lösung gespült und der nächste Behandlungsschritt umgehend begonnen.

### **2.2.3 LASIK-Behandlung**

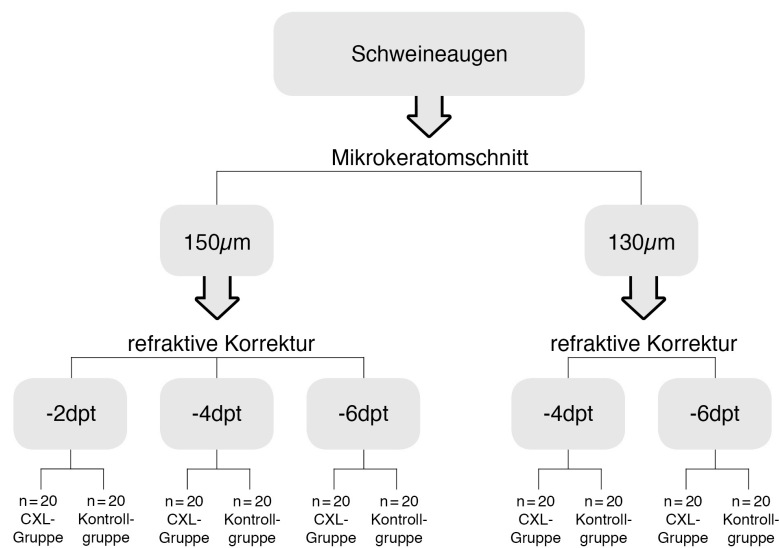
Als erster Behandlungsschritt wurde mit dem Cariazzo-Pendular Mikrokeratom eine Hornhautlamelle (Flap) präpariert. Das Prinzip des verwendeten Mikrokeratoms basiert auf der konvexen Applanation der Hornhaut zum Schutz des Hornhautzentrums während des Schnittes. Es besteht aus einem Handstück (Haltevorrichtung mit Saugring, in die das Schneidegerät bestehend aus Schneidkopf, Einwegklinge, Antriebsachse und Motor eingesetzt wird) und einer mit dem Handstück verbundenen Steuerkonsole, die den Schneidevorgang kontinuierlich überwacht.

Vor der Durchführung des Schnittes wird die Haltevorrichtung mit einem Saugring von 10 mm Durchmesser auf die Hornhautmitte zentriert positioniert und durch ein Vakuum fixiert, das Schneidegerät eingesetzt und der Schneidevorgang gestartet. Durch eine Pendelbewegung des Schneidgerätes wird mit oszillierender Klinge (15 000U/min) der Flap präpariert. Anschließend wird das Schneidegerät wieder in die Ausgangsposition gebracht und das Vakuum gelöst. Es wurden Schneidköpfe verwendet für 130µm und 150µm intendierter Flapdicke bei menschlichen Corneae. Um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wurde für jeden einzelnen Schnitt eine neue Klinge benutzt.

Nach der Präparation des Flaps wird dieser vorsichtig umgeschlagen und eine Photoablation mit dem „ESIRIS“ Excimer-Laser durchgeführt. Dabei wurde ein sphärisches Standard-Ablationsprofil für Myopie-Korrekturen verwendet. Als Laserparameter berechnete der „Esiris“ bei Vorgabe einer optischen Zone von 6 mm und intendierten Korrekturen um -2, -4 und -6dpt somit Ablationstiefen von 27 $\mu$ m, 53 $\mu$ m und 78 $\mu$ m.

Es wurden LASIK-Behandlungen bei einer Flapdicke von 150 $\mu$ m und intendierten Korrekturen um -2, -4 und -6dpt, sowie bei einer Flapdicke von 130 $\mu$ m und intendierten Korrekturen um -4 und -6dpt durchgeführt. Auf die intendierte Korrektur um -2dpt wurde verzichtet, da sich bereits bei -4dpt kein signifikanter Unterschied mehr zeigte. Die Gruppengröße betrug n=20 in jeder Gruppe pro verwendeter Einstellung. Insgesamt wurde somit an 200 Schweineaugen eine LASIK-Behandlung durchgeführt.

#### LASIK-Behandlungsparameter



**Abbildung 14: Mikrokeratom- und Excimer-Laser-Behandlungsparameter** Bei einer Flapdicke von 150 $\mu$ m wurden intendierte Korrekturen um -2, -4 und -6dpt durchgeführt. Bei einer Flapdicke von 130 $\mu$ m wurden intendierte Korrekturen um -4 und -6dpt durchgeführt. Die Gruppengröße betrug n=20 in jeder Gruppe pro verwendeter Einstellung. Insgesamt wurde somit an 200 Schweineaugen eine LASIK-Behandlung durchgeführt.





**Abbildung 15: Schweineauge während Photoablation mit dem ESIRIS Laserapplikationssystem**

## **2.2.4 Untersuchungsmethoden**

### **2.2.4.1 Messung der Flapdicken**

Die Flapdickenmessung erfolgte zum einem mit dem optischen Kohärenzpachymeter onlineOCP. Die Flapdicke wurde berechnet aus der Differenz der Hornhautdicke vor und nach Umschlagen des Flaps.

Zum anderen wurde die Flapdicke mit dem mechanischen Dickenmessgerät J15 bestimmt. Durch Öffnen der Messeinsätze über ein Abheberad wurde der Corneaflap eingelegt und die Flapdicke an einer Strichskala in 10 $\mu$ m Schritten abgelesen.

#### 2.2.4.2 Messung der Refraktion mit dem Keratron-Scout

Die zu vermessende Cornea wurde im Bulbushaltergerät vor dem Videokeratographen durch eine Halteklammer befestigt. Durch Strichmarkierungen auf dem Bulbushalter und auf der Halteklammer wurde eine exakte Repositionierung vor dem Videokeratographen nach durchgeführter Photoablation gewährleistet. Vor jedem Messvorgang wurde die Cornea mit Liquifilm Augentropfen (Fa. Pharm Allergan GmbH, Ettlingen, Deutschland) benetzt.

Für die Messung erfolgten zwischen 6-8 Aufnahmen von jeder Cornea.



**Abbildung 16: Messung der Refraktion mit dem Videokeratographen Keratron-Scout**

Die Messungen wurden zu folgenden Zeitpunkten durchgeführt:

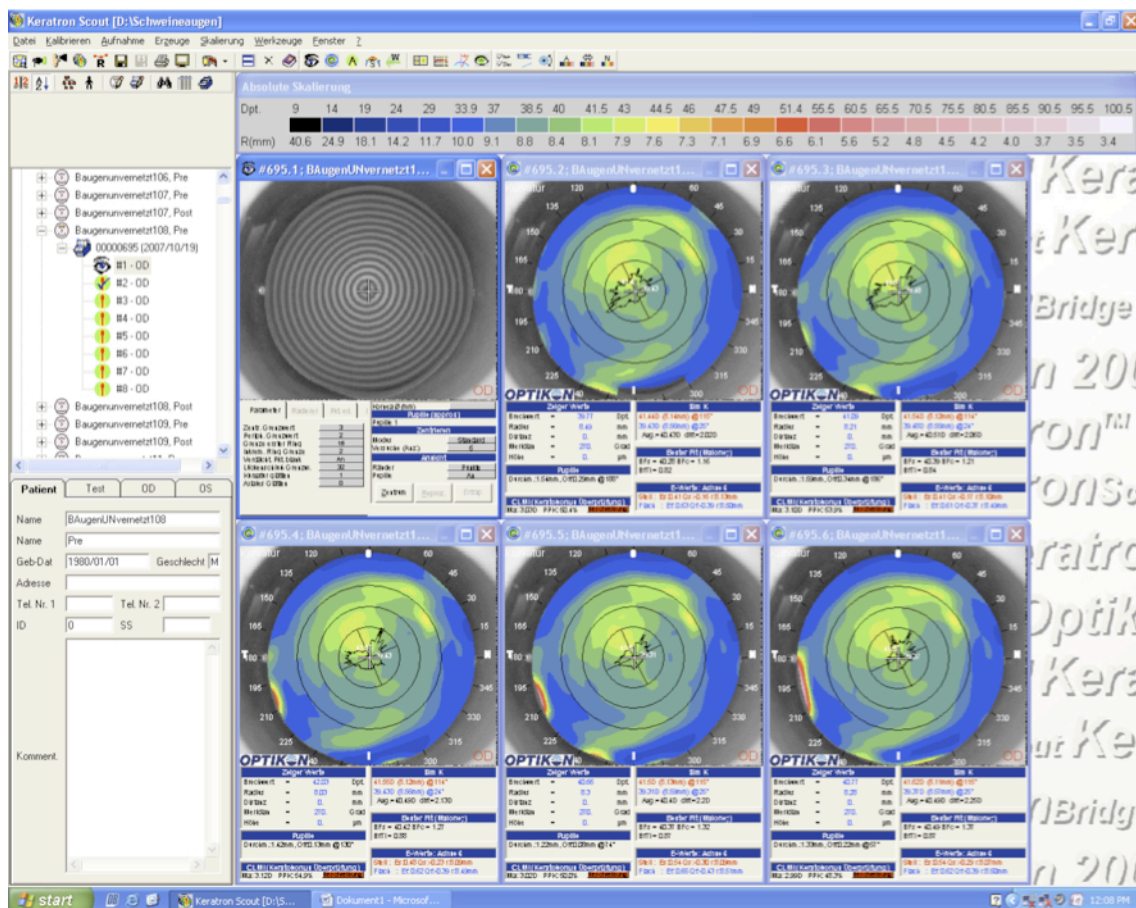
- vor durchgeführter LASIK-Behandlung
- nach durchgeführter LASIK-Behandlung.

Zur Brechkraftbestimmung sind in das Keratron-Scout die drei Maloney-Indices implementiert: „Best Fit Sphere“ (BFs), „Best Fit Cylinder“ (BFc) und „Topographic Irregularity“ (TI). Sie beruhen auf einer sphärozyklindrischen Linse, deren axiale Brechkräfte am besten den axialen Brechkräften des zentralen Teils der Cornea von 3mm Durchmesser entsprechen. Definitionsgemäß ist BFs die sphärische Brechkraft des Sphärozyklinders, BFc die Differenz der Brechkraft der Hauptmeridiane des

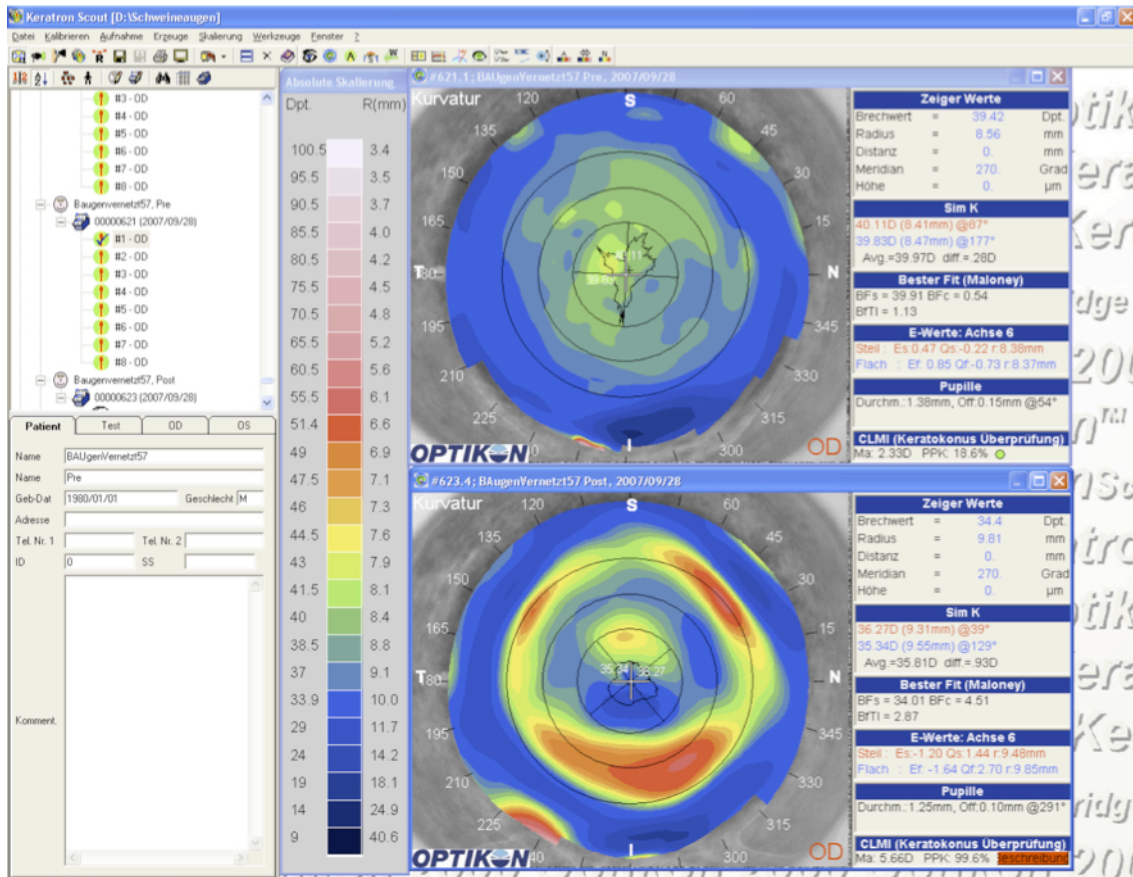
Sphärozyinders. BFc misst somit den regulären Hornhautastigmatismus. TI, die „topographic irregularity“ ist der quadratische Mittelwert der Differenz aus Best-Fit Sphärozyylinder und den eigentlichen topographischen Daten.

Zur Bestimmung der Brechkraft und somit der Refraktion wurden die Messergebnisse des BFs-Index (Best-Fit-Sphäre) verwendet. Dieser wurde berechnet aus dem arithmetischen Mittel der jeweiligen Mittelwerte der „steep-“ und „flat-“ Kurvaturradien (BFs\_S, BFs\_F).

Die Differenz der Brechkraft vor und nach LASIK-Behandlung zeigt das refraktive Gesamtergebnis der LASIK-Behandlung.



**Abbildung 17: Placido-basierte Videokeratographie** Das Bild oben links zeigt die auf die Cornea projizierten Placidoringe. Es werden zwischen 6-8 Aufnahmen pro Cornea aufgenommen. Diese werden intern einer Wiederholungsgenauigkeitsprüfung unterzogen. Anschließend wird aus den Ringaufnahmen die Hornhauttopographie als farbcodierte Karte ausgegeben.



**Abbildung 18: Topographie-Aufnahme vor und nach LASIK-Korrektur um -6dpt** Oberes Bild: Topographie vor LASIK-Ablation. Unteres Bild: Topographie nach LASIK-Ablation. Die Hornhautkurvatur wird entsprechend den Farbkodierungen dargestellt. Die Refraktionsänderung wurde berechnet aus der Differenz der Messwerte „Best-Fit-Sphäre“ vor und nach LASIK-Ablation. Der Flap lag für die Messungen am Stroma an.

## 2.2.5 Statistische Berechnungen

Zur statistischen Auswertung wurde das Statistikprogramm SPSS Version 16.1 (SPSS Inc., Chicago, USA) und der Shapiro-Wilks Test zur Überprüfung auf Normalverteilung verwendet. Der Student's T-Test wurde angewandt beim Vergleich der Messdaten. Signifikanz war als  $p < 0.05$  definiert.



## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Einfluss der Kollagenquervernetzung auf die Flapdicke**

#### **3.1.1 Untersuchung der erzeugten Flaps**

Nach Abrasio des Hornhautepithels und Mikrokeratomschnitt zeigten sich bei der Spaltlampenuntersuchung gleichförmige Hornhautlamellen (Flaps) mit glatten Schnittträgern und regulärer Steggröße ohne Unterschied in der Morphologie zwischen den CXL-behandelten und unbehandelten Corneae.

#### **3.1.2 Messung der Flapdicke mit optischer Kohärenzpachymetrie (OCP) bei 150µm Mikrokeratomschnitt**

Die mit dem optischen Kohärenzpachymeter (OCP) gemessene mittlere Flapdicke nach einem intendierten 150µm Mikrokeratomschnitt betrug  $135 \pm 25\mu\text{m}$  in der Gruppe mit CXL-Behandlung und  $105 \pm 25\mu\text{m}$  in der Kontrollgruppe ( $p < 0.0001$ ,  $n=60$  je Gruppe).

#### **3.1.3 Messung der Flapdicke mit mechanischen Dickenmessgerät bei 150µm Mikrokeratomschnitt**

Die mit dem mechanischen Dickenmessgerät J15 gemessene mittlere Flapdicke nach einem intendierten 150µm Mikrokeratomschnitt betrug  $164.7 \pm 16\mu\text{m}$  in der Gruppe mit CXL-Behandlung und  $132.6 \pm 19.6\mu\text{m}$  in der Kontrollgruppe ( $p < 0.0001$ ,  $n=60$  je Gruppe).

### 3.1.4 Vergleich der Flapdicken in der CXL-Gruppe und der Kontrollgruppe bei 150µm Flapdicke

Die Flaps in der Gruppe mit CXL-Behandlung waren sowohl mit dem mechanischen Dickenmessgerät als auch mit dem OCP-Messgerät im Mittel 30µm dicker als die der Kontrollgruppe. Dies entspricht einer Zunahme von 22%.

**Tabelle 3: Flapdicke nach Mikrokeratomschnitt** (intendierte Flapdicke von 150µm) nach CXL-Behandlung und bei Kontrollaugen

Messung mit	CXL-Gruppe * MW ± SD (min-max)	Kontroll-Gruppe * MW ± SD (min-max)	Differenz **	p ***
Mech. Dickenmessgerät	165 ± 15 (135-185)	135 ± 20 (95-165)	30 (+22,2%)	<0,0001
OCP	135 ± 25 (105-165)	105 ± 25 (70-135)	30 (+22,7%)	<0,0001

\* Messdaten in µm, n=60 pro Gruppe, MW ± SD Mittelwert ± Standardabweichung, (min-max)

Minimum-Maximumwerte, aufgerundet auf 5µm entsprechend der Messgenauigkeit

\*\* Differenz zwischen CXL-behandelten und Kontrollaugen ist in µm dargestellt (Prozent).

Kontrollaugen wurden als 100% gesetzt

\*\*\* Statistisch signifikante Differenz nach Student's t-Test

### 3.1.5 Messung der Flapdicke mit mechanischen Dickenmessgerät bei 130µm Mikrokeratomschnitt

Ein intenderter 130µm Mikrokeratomschnitt ergab eine mittlere Flapdicke von 115 ± 15µm bei CXL-behandelten Augen und 95 ± 10µm bei nicht behandelten Augen (gemessen mittels mechanischen Dickenmessgerät, n=40 je Gruppe, p<0.0001).

### 3.1.6 Vergleich der Flapdicken in der CXL-Gruppe und der Kontrollgruppe bei 130µm Flapdicke

Die Flaps in der Gruppe mit CXL-Behandlung waren mit dem mechanischen Dickenmessgerät im Mittel 20µm dicker als die der Kontrollgruppe. Dies entspricht ebenfalls einer Zunahme von 22%, wie bei der Gruppe der 150µm Flapdicke.

**Tabelle 4: Flapdicke nach Mikrokeratomschnitt** (intendierte Flapdicke von 130µm) nach CXL-Behandlung und bei Kontrollaugen

Messung mit	CXL-Gruppe *	Kontroll-Gruppe *	Differenz **	p***
Mech. Dickenmessgerät	115 ± 15 (95-135)	95 ± 20 (70-120)	20 (+22,2%)	<0,0001

\* Messdaten in µm, n=40 pro Gruppe, Mittelwert ± Standardabweichung, (min-max) Minimum-Maximum, aufgerundet auf 5µm entsprechend der Messgenauigkeit

\*\* Differenz zwischen CXL-behandelten und Kontrollaugen ist in µm dargestellt (Prozent).

Kontrollaugen wurden als 100% gesetzt

\*\*\* Statistisch signifikante Differenz nach Student's t-Test

### 3.1.7 Vergleich der Messgeräte zur Flapdickenbestimmung

Die Messungen mit dem optischen Kohärenzpachymeter (OCP) ergaben im Vergleich mit dem mechanischen Dickenmessgerät durchweg niedrigere Messwerte für die Flapdicke sowohl in der CXL-Gruppe als auch in der Kontrollgruppe. Daher wurde die Messung der Flapdicke bei 130µm Mikrokeratomschnitt mit dem onlineOCP aufgrund der durchweg niedrigeren Messwerte und der hohen Standardabweichung nicht mehr durchgeführt.

## **3.2 Einfluss der Kollagenquervernetzung auf das refraktive Ergebnis nach LASIK**

In einer vorbereitenden Arbeit unserer Arbeitsgruppe fand Kampik et al bei extremen Korrekturwerten eine signifikante Reduktion des refraktiven Ergebnisses in den CXL-behandelten Augen um 10-22% verglichen mit der Kontrollgruppe [125]. Unter Verwendung eines 150 $\mu$ m Mikrokeratom-Schneidkopfs wurden als Laserparameter eine fixe Ablationstiefe von 170 $\mu$ m und eine variable optische Zone von 4, 6 oder 8mm eingestellt, woraus eine theoretische Myopiekorrektur um -24.5, -10.4 und -8.0dpt berechnet wurde.

Um herauszufinden, bis zu welchem Korrekturwert eine myope LASIK-Behandlung durch die CXL-Behandlung beeinflusst wird, verringerten wir die vorgesehene Refraktionskorrektur in Schritten um 2dpt, bis kein signifikanter Unterschied im refraktiven Ergebnis zwischen CXL-behandelten und Kontrollaugen mehr messbar war.

### **3.2.1 Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 150 $\mu$ m und intendierter Korrektur um -6dpt**

Das refraktive Ergebnis bei einer intendierten Flapdicke von 150 $\mu$ m und intendierter Korrektur um -6dpt zeigte eine Änderung von  $-4,0 \pm 1,8$ dpt in der CXL-Gruppe und  $-5,5 \pm 1,6$ dpt in der Kontrollgruppe ( $p=0,005$ ,  $n=20$  je Gruppe).

### **3.2.2 Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 150 $\mu$ m und intendierter Korrektur um -4dpt**

Das refraktive Ergebnis bei einer intendierten Flapdicke von 150 $\mu$ m und intendierter Korrektur um -4dpt zeigte eine Änderung von  $-3,0 \pm 1,2$ dpt in der CXL-Gruppe und  $-4,1 \pm 2,0$ dpt in der Kontrollgruppe ( $p=0,038$ ,  $n=20$  je Gruppe).



### 3.2.3 Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 150µm und intendierter Korrektur um -2dpt

Das refraktive Ergebnis bei einer intendierten Flapdicke von 150µm und intendierter Korrektur um -2dpt zeigte eine Änderung von  $-1,7 \pm 1,1$ dpt in der CXL-Gruppe und  $-2,5 \pm 1,8$ dpt in der Kontrollgruppe ( $p=0,057$ ,  $n=20$  je Gruppe).

### 3.2.4 Vergleich der refraktiven Ergebnisse bei einer intendierten Flapdicke von 150µm

Bei Benutzung eines 150µm Mikrokeratom-Schneidkopfes war das refraktive Ergebnis in der CXL-behandelten Gruppe bis zu einer intendierten Korrektur um -4dpt signifikant verringert. Bei einer intendierten refraktiven Korrektur um -2dpt, zeigten CXL-behandelte Hornhäute ein verringertes refraktives Ergebnis, das jedoch nicht mehr signifikant war.

**Tabelle 5: Refraktive Änderung nach LASIK (intendierte Flapdicke 150µm)**

Intend. Flapdicke (µm)	Intend. refraktive Korrektur (dpt)	Erreichte refraktive Korrektur (dpt)	Erreichte refraktive Korrektur (dpt)	Differenz (dpt)	
		CXL- Gruppe *	Kontroll- Gruppe *	Differenz #	p##
150	-6	$-4,0 \pm 1,8$ (-2,1 – -5,9)	$-5,5 \pm 1,6$ (-3,7 – -7,2)	1,5 (27,3%)	0,005
150	-4	$-3,0 \pm 1,2$ (-1,7 – -4,3)	$-4,1 \pm 2,0$ (-2,0 – -6,3)	1,1 (26,8%)	0,038
150	-2	$-1,7 \pm 1,1$ (-0,3 – -3,1)	$-2,5 \pm 1,8$ (-0,3 – -4,7)	0,8 (32,0%)	0,057

\* Messdaten in dpt,  $n=20$  pro Gruppe, Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung, (min-max) Minimum-Maximum

# Differenz zwischen CXL-behandelten und Kontrollaugen ist in dpt dargestellt (Prozent), Kontrollaugen wurden als 100% gesetzt

## Statistisch signifikante Differenz nach Student's t-Test

### **3.2.5 Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 130 $\mu$ m und intendierter Korrektur um -6dpt**

Das refraktive Ergebnis bei einer intendierten Flapdicke von 130 $\mu$ m und intendierter Korrektur um -6dpt zeigte eine Änderung von  $-4,6 \pm 0,9$ dpt in der CXL-Gruppe und  $-5,5 \pm 1,4$ dpt in der Kontrollgruppe ( $p=0,016$ ,  $n=20$  je Gruppe).

### **3.2.6 Refraktives Ergebnis bei intendierter Flapdicke von 130 $\mu$ m und intendierter Korrektur um -4dpt**

Das refraktive Ergebnis bei einer intendierten Flapdicke von 150 $\mu$ m und intendierter Korrektur um -4dpt zeigte eine Änderung von  $-3,0 \pm 1,5$ dpt in der CXL-Gruppe und  $-3,5 \pm 1,3$ dpt in der Kontrollgruppe ( $p=0,324$ ,  $n=20$  je Gruppe).

### **3.2.7 Vergleich der refraktiven Ergebnisse bei einer intendierten Flapdicke von 130 $\mu$ m**

Bei Benutzung eines 130 $\mu$ m Mikrokeratom-Schneidkopfes war das refraktive Ergebnis einer intendierten Korrektur von -6dpt von CXL-behandelten Augen signifikant verringert. Eine intendierte Korrektur um -4dpt zeigte ein verringertes Ergebnis, das jedoch nicht mehr statistisch signifikant war.

**Tabelle 6: Refraktive Änderung nach LASIK (intendierte Flapdicke 130µm)**

<b>Intend. Flapdicke (µm)</b>	<b>Intend. refraktive Änderung (dpt)</b>	<b>Erreichte refraktive Änderung (dpt)</b>	<b>Erreichte refraktive Änderung (dpt)</b>	<b>Differenz (dpt)</b>	
		<b>CXL- Gruppe *</b>	<b>Kontroll- Gruppe *</b>	<b>Differenz #</b>	<b>p##</b>
130	-6	-4,6 ± 0,9 (-3,4 – -6,1)	-5,5 ± 1,4 (-3,9 – -7,1)	0,9 (16,4%)	0,016
130	-4	-3,0 ± 1,5 (-1,3 – -4,8)	-3,5 ± 1,3 (-1,8 – -5,1)	0,5 (14,3%)	0,324

\* Messdaten in dpt, n=20 pro Gruppe, Mittelwert ± Standardabweichung, (min-max) Minimum-Maximum

# Differenz zwischen CXL-behandelten und Kontrollaugen ist in dpt dargestellt (Prozent), Kontrollaugen wurden als 100% gesetzt

## Statistisch signifikante Differenz nach Student's t-Test

## 4 Diskussion

### 4.1 Die Kombination von CXL-Behandlung und refraktiv-chirurgischen Verfahren

Neuere Technologien in der refraktiven Laserchirurgie der Hornhaut erlauben eine präzise Korrektur brechungsbedingter Fehlsichtigkeiten. Sogar eine individuelle Anpassung des Laserablationsprofils an die Besonderheiten eines Auges ist durch videotopographische oder Wellenfront-basierte Vermessung des Auges möglich, was gerade bei irregulär gekrümmten Corneae wichtig ist.

Eine Ursache für einen irregulären Astigmatismus ist der Keratokonus, eine irreversible Erkrankung, bei der es durch eine Degeneration zu einer progredienten stromalen Verdünnung und somit zu einer kegelförmigen Vorwölbung (Ektasie) der Cornea kommt. Das corneale Gewebe verliert zunehmend an Stabilität. Aufgrund dieser Gewebeschwäche ist jedoch bisher eine ablativ (Gewebe-entfernende) Laserbehandlung der Hornhaut kontraindiziert.

Eine an Keratokonus erkrankte Hornhaut zuerst durch eine CXL-Behandlung zu stabilisieren und anschließend eine Mikrokeratom- und/oder Excimerlaserbehandlung zur visuellen Rehabilitation durchzuführen, kann ein vielversprechendes Behandlungskonzept sein. Die Genauigkeit des Lasers und des Mikrokeratoms könnten dafür genutzt werden, Unregelmäßigkeiten der Hornhautoberfläche zu verringern und Fehlsichtigkeiten zu korrigieren.

Durch die zunehmende Akzeptanz der CXL-Behandlung erweitert sich das Indikationsspektrum ständig. So wird die CXL-Behandlung auch schon in der Behandlung von LASIK-induzierten iatrogenen Keratektasien [111], bullösen Keratopathien [112] und infektiösen Keratitiden [113, 114] [115] eingesetzt.

Die CXL-Behandlung führt zu Änderungen der biochemischen und ultrastrukturellen Eigenschaften im Hornhautstroma. Das Prinzip der photooxidativen CXL-Behandlung der Cornea basiert auf der Produktion von reaktiven Sauerstoffradikalen durch UV-A Licht. Diese wiederum induzieren kovalente inter- und intrafibrilläre Bindungen in den Kollagenfasern. In der konfokalen Immunfluoreszenz-Mikroskopie konnte eine kompaktere Anordnung der Kollagenfibrillen in quervernetzten Hornhäuten beobachtet werden [141]. CXL-behandelte Corneae zeigen eine um 300% erhöhte Steifigkeit [98, 142], erhöhte Resistenz gegenüber enzymatischem Abbau [108, 143], ein Schrumpfungsverhalten erst bei höheren Temperaturen [107] sowie aufgrund der interfibrillären Crosslinks eine Verhinderung der Stromaschwellung [119].

Hypothese dieser Arbeit war, dass auf Grund dieser Veränderungen CXL-behandelte Corneae ein verändertes Antwortverhalten auf Mikrokeratomschnitt und/oder Excimer-Laseranwendungen zeigen.

Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, in wie weit eine CXL-Behandlung einen Einfluss auf refraktiv-chirurgische Verfahren hat: Es sollte die Auswirkung eines Mikrokeratomschnittes auf das Gewebeverhalten nach CXL-Behandlung, insbesondere auf die Flapdicke bei der Präparation des Flaps, sowie die Auswirkung einer CXL-Behandlung auf das refraktive Ergebnis einer LASIK-Behandlung analysiert werden.

Voruntersuchungen unserer Arbeitsgruppe zur Frage, in wie weit eine CXL-Behandlung einen Einfluss auf die Ablationsrate bei der PTK-Behandlung hat, zeigten keinen signifikanten Unterschied in der Ablationsrate zwischen CXL-behandelten und Kontrollaugen [125]. Beide Gruppen wiesen die gleiche Tendenz einer verringerten Ablationsrate im hinteren Stroma, verglichen mit dem vorderen, auf. Dieser Unterschied passt zu der vermehrten Schwellung des hinteren Stromas [122], die zu einer niedrigeren Ablationsrate führt [123, 124, 144].

## **4.2 Einfluss der CXL-Behandlung auf einen Mikrokeratom-schnitt**

Bei CXL-behandelten Corneae konnte nach Mikrokeratomschnitt mit einem 130 bzw. 150 $\mu\text{m}$  Schneidkopf eine signifikante Erhöhung der Flapdicke um durchschnittlich 20 $\mu\text{m}$  (+22%) bzw. 30 $\mu\text{m}$  (+22%) verglichen mit unbehandelten Corneae nachgewiesen werden.

Zwei Ursachen könnten dafür verantwortlich sein:

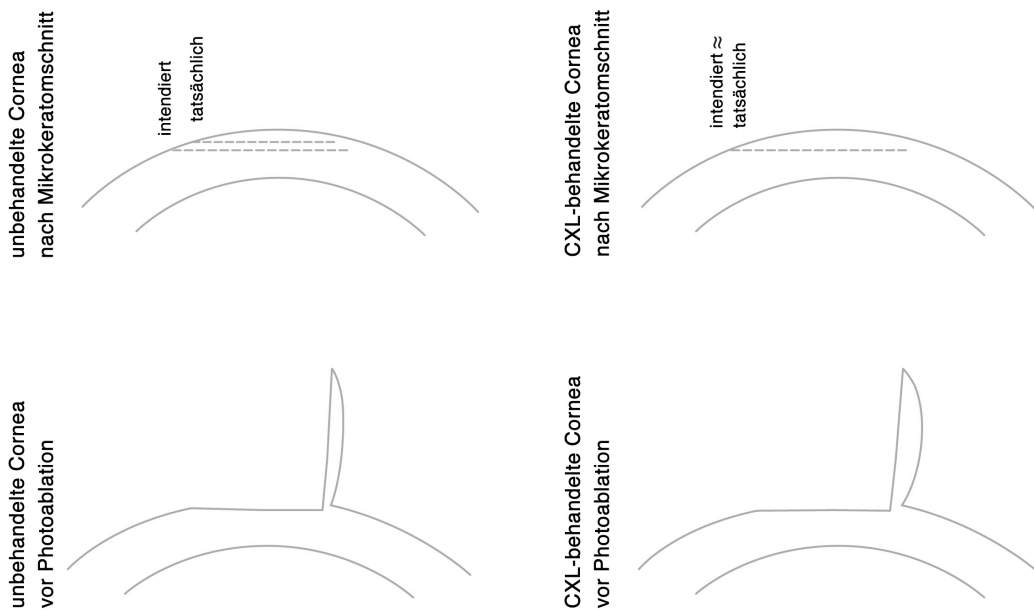
- eine geringere Deformation der Corneakurvatur beim Schnittvorgang
- ein erhöhter Verformungswiderstand der Cornea während der Schneidkopf-aplanation

### **4.2.1 Erhöhung der Flapdicke wegen geringerer Deformation der Corneakurvatur beim Schnittvorgang**

Wirbelauer et al zeigte, dass bei unbehandelten Corneae nach Mikrokeratomschnitt (Supratome, Fa. Schwindt, Kleinostheim, Deutschland) die Flapdicke, gemessen mit optischer Kohärenzpachymetrie, durchschnittlich 47 $\mu\text{m}$  geringer war als die ursprünglich intendierte Flapdicke von 160 $\mu\text{m}$  [145]. Andere Autoren fanden bei optischer Messung und Verwendung des gleichen Mikrokeratoms ebenfalls eine Verringerung der Flapdicke um 30 $\mu\text{m}$  gegenüber der intendierten Flapdicke [146]. Auch bei Ultraschall-Pachymetrie-Messungen wurden im Durchschnitt geringere Flapdicken als intendiert beobachtet [147-150]. Kasetsuwan et al führte bei unbehandelten Corneae die Verringerung der Flapdicke nach einem Mikrokeratomschnitt auf eine Deformation des Hornhautgewebes durch den Schnittvorgang zurück [151].

Bei einer CXL-Behandlung der Cornea kommt es nach Mikrokeratomschnitt zu einer signifikanten Erhöhung der Flapdicke verglichen mit unbehandelten Corneae. Dies könnte dem Festigungseffekt der CXL-Behandlung [110] selbst, sowie der signifikanten Änderung des Quellverhaltens nach CXL-Behandlung vor allem im vorderen Stroma

mit erhöhter Widerstandsfähigkeit gegen Hydratation [119] zuzuschreiben sein. Bei Beginn des Applanationsvorgangs durch den Schneidkopf, kommt es zu einer geringeren Deformation der Corneakurvatur. Dies führt zu einem früheren und damit tieferen Einschneiden der Klinge, woraus ein dickerer Flap resultiert.



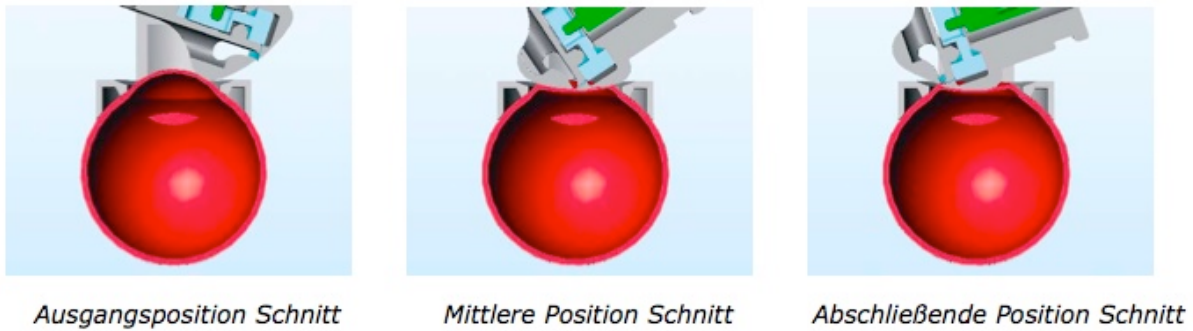
**Abbildung 19: Mikrokeratomschnitt bei unbehandelten und CXL-behandelten Corneae**

Linke Abbildungen: Durch Deformation des Hornhautkurvatur durch den Schnittvorgang resultiert eine geringere Flapdicke als intendiert.

Rechte Abbildungen: Ein Mikrokeratomschnitt an CXL-behandelten Corneae führt durch die signifikante Änderung des Quellverhaltens nach CXL-Behandlung mit erhöhter Widerstandsfähigkeit gegen Hydratation beim Ansaug- und Schnittvorgang zu einer geringeren Deformation des vorderen Corneagewebes und ermöglicht damit ein tieferes Eindringen der Klinge des Mikrokeratoms.

#### **4.2.2 Erhöhung der Flapdicke wegen erhöhtem Verformungswiderstand der Cornea während der Applanation durch den Schneidkopf**

Der Schneidkopf des für die Präparation des Flaps verwendeten Carriazzo-Pendular-Mikrokeratoms ist kugelförmig. Dadurch wird während der Pendel-Schnittbewegung das Hornhautzentrum nicht nur applaniert, wie bei flachen Schneidköpfen, sondern invers nach innen verformt, d.h. die Hornhaut wird kurzzeitig konkav gekrümmt.



**Abbildung 20: Schematische Darstellung der Pendelschnittbewegung** (Abbildung aus dem Benutzerhandbuch Carriazzo-Pendular Mikrokeratom, Fa.Schwindt, Kleinostheim, Deutschland)

CXL-behandelte Corneae zeigen eine um 300% erhöhte Steifigkeit [98, 142] und widerstehen somit während der Pendel-Schnittbewegung einer erhöhten Verformung der Cornea durch den kugelförmigen Schneidkopf. Die Cornea wird weniger nach innen verformt und damit stärker an den Schneidkopf gedrückt, sodass mehr Corneagewebe zwischen Klinge und Schneidkopf gepresst wird. Daraus resultieren dickere Flaps.

#### **4.3 Einfluss der CXL-Behandlung auf das refraktive Ergebnis einer LASIK-Behandlung**

Bei CXL-behandelten Hornhäuten zeigte sich nach einer myopischen LASIK-Behandlung eine signifikant geringere Änderung der Hornhautkurvatur und somit eine Verringerung der refraktiven Korrektur um ca. 20%, verglichen mit nicht behandelten Corneae. Dieser Effekt war nicht nur bei Ablationen mit extremen Korrekturwerten zu beobachten [125], sondern auch bei klinisch relevanten Korrekturen um bis zu -4dpt.

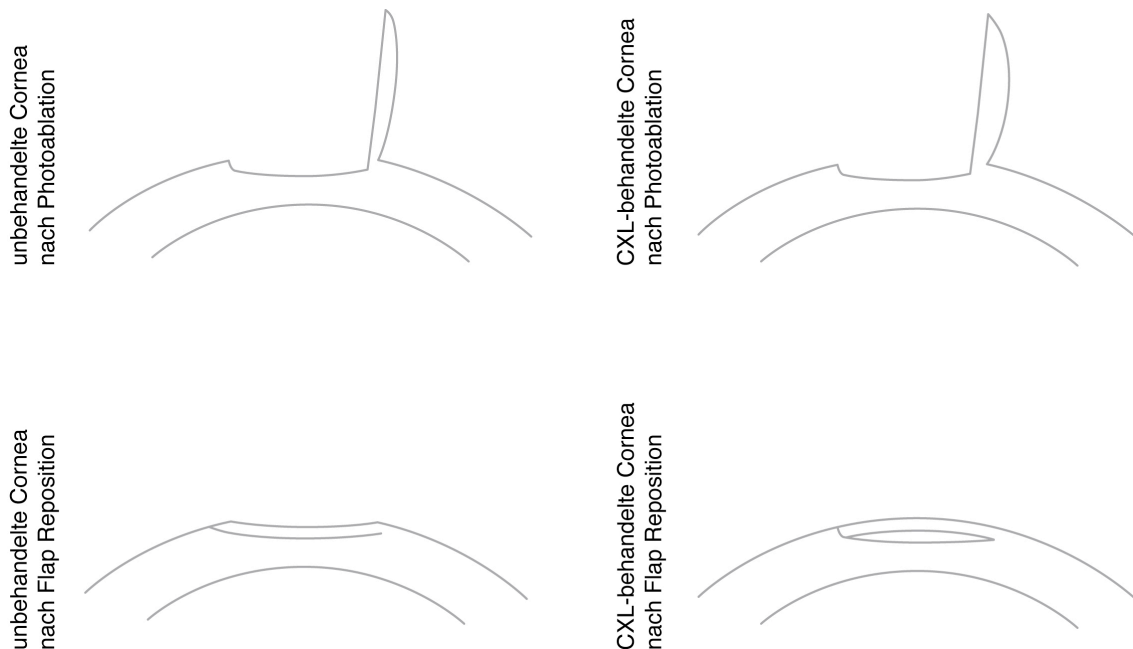
Zwei Ursachen könnten dafür verantwortlich sein:

- ungenügendes Wiederanliegen des Flaps bei der Reposition
- Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften der Cornea nach Photoablation



### 4.3.1 Verringerung der refraktiven Korrektur durch das ungenügende Wiederanliegen des Flaps bei der Reposition

Es zeigte sich, dass nach CXL-Behandlung dickere Flaps (bei Verwendung des 150µm Schneidkopfs) das refraktive Ergebnis einer LASIK-Behandlung stärker verringerten als dünnere Flaps (bei Verwendung des 130µm Schneidkopfs). Dies könnte bedingt sein durch das ungenügende Wiederanliegen des dickeren, steiferen Flaps an das Residualstromabett, was zu einer Maskierung der veränderten Krümmung des darunter liegenden Hornhautstromas führt. Diese Theorie wird unterstützt durch die Ergebnisse von Kohlhaas et al, die einen makroskopisch sichtbaren Versteifungseffekt in CXL-behandelten Flaps zeigten [110].



**Abbildung 21: Flap bei der Reposition**

Links: Kontrollgruppe

Rechts: CXL-Gruppe

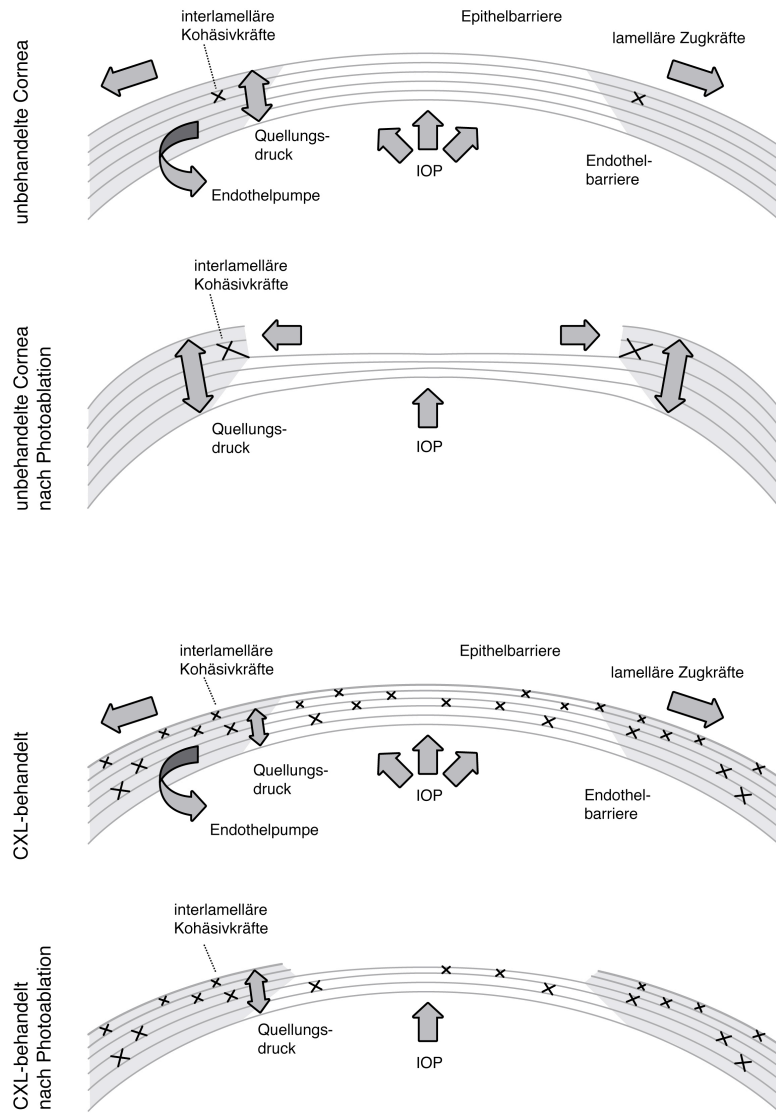
Nach CXL-Behandlung kommt es zu einem ungenügenden Wiederanliegen des dickeren, steiferen Flaps an das Residualstromabett, was zu einer Maskierung der veränderten Krümmung des darunter liegenden Hornhautstromas führt.

### **4.3.2 Verringerung der refraktiven Korrektur wegen Veränderungen der biomechanischen Eigenschaften der Cornea nach Photoablation**

Entsprechend dem von Dupps und Roberts beschriebenen Mechanismus resultiert durch eine myopische refraktive Photoablation eine Durchtrennung und Entfernung der zentral gelegenen Kollagenlamellen, die für die Zugfestigkeit der Cornea verantwortlich sind. Die peripheren Anteile der durchtrennten Fasern relaxieren. Dies führt zu einer Verringerung des Pressdrucks auf die extrazelluläre Matrix und somit zu einer Vergrößerung des Abstands zwischen den Lamellen. Aufgrund der Querverbindungen zwischen den Lamellen führt die Retraktion der oberen, durchtrennten Lamellen zu einem Zug nach lateral auch an den darunter gelegenen, intakten Lamellen. Dies bewirkt eine zentrale Abflachung sowie eine periphere Versteilung und es kommt somit zu einem „hyperopischen shift“ [152-154] (siehe Abbildung 22). Dieses Phänomen ist von Bedeutung bei allen zentralen Keratektomien, wie myopische PRK und LASIK.

Der gleiche biomechanische Mechanismus trifft auch auf einen Flapschnitt zu: ein isolierter Mikrokeratomschnitt ohne Laserablation führt bei unbehandelten Hornhäuten zu einer zentralen Abflachung und peripheren Versteilung [155, 156].

Die CXL-Behandlung erhöht durch eine vermehrte Verflechtung der Kollagenfasern die Festigkeit der Hornhaut und führt somit zu einer Abschwächung der o.g. biomechanischen Mechanismen: die peripheren, durchtrennten Kollagenfasern relaxieren weniger, somit kommt es zur Verminderung der Zugkräfte nach lateral und damit zu einer geringeren zentralen Abflachung. Durch die Verminderung der peripheren Verdickung ist die Versteilung geringer und der „hyperopische shift“ weniger ausgeprägt. Übereinstimmend mit dieser Theorie fanden wir, dass CXL-behandelte Corneae eine verringerte refraktive Änderung nach myopischer LASIK aufweisen (siehe Abbildung 22).



**Abbildung 22: Modell zur Veranschaulichung der biomechanischen Eigenschaften der Cornea und deren Änderung nach einer Photoablation**

Obere zwei Abbildungen: Die Cornea kann betrachtet werden wie viele übereinander gelagerte Gummibänder (Lamellen) mit dazwischen liegenden Schwämmen (interlamellärer Raum, der mit extrazellulärer Matrix ausgefüllt ist). „Die Gummibänder“, deren Enden fest am Limbus befestigt sind, werden durch den auf sie einwirkenden intraokulären Druck gespannt (IOP). Nach einer myopischen refraktiven Photoablation werden Lamellen zentral durchtrennt und abgetragen. Die peripheren Anteile der durchtrennten Lamellen relaxieren ähnlich einem gespannten Gummiband, nachdem es durchgeschnitten wurde. Mit der Verringerung der Spannung in den peripheren Lamellen erniedrigt sich der Pressdruck auf die extrazelluläre Matrix und der Abstand zwischen den Lamellen vergrößert sich, analog Schwämmen, die Wasser aufnehmen, nachdem die Gummibänder zerschnitten wurden. Somit kommt es zu einer peripheren Zunahme der Corneadicke. Aufgrund der Querverbindungen zwischen den Lamellen führt die Retraktion der oberen Lamellen auch zu einem Zug an den darunter gelegenen, intakten Lamellen. Diese nach lateral gerichtete Zugkraft zieht an den intakten Lamellen und bewirkt damit eine Abflachung des Zentrums.

Untere zwei Abbildungen: Eine CXL-Behandlung erhöht durch eine vermehrte Verflechtung der Kollagenfasern die Festigkeit der Hornhaut und führt somit zu einer Abschwächung der o.g. biomechanischen Mechanismen nach einer Excimer-Laserablation. Es kommt zu einer verringerten zentralen Abflachung und somit zu einer verringerten Korrektur nach myopischer LASIK. (Abbildung modifiziert nach Dupps and Wilson [154])

Über die Kombinierbarkeit und die mögliche Auswirkung der CXL-Behandlung auf eine PRK-Behandlung kann nur durch Übertragung der Ergebnisse der Auswirkung einer CXL-Behandlung auf eine LASIK-Behandlung unter der Anwendung des Modells von Dupps und Roberts eine Aussage gemacht werden: Der refraktive Effekt einer myopischen PRK-Behandlung ist wahrscheinlich verringert, da es aufgrund der Versteifung der Cornea zu einer verringerten biomechanischen Antwort nach unmittelbar vorhergehender CXL-Behandlung kommt.

Nach Veröffentlichung der Ergebnisse dieser Arbeit [125] publizierten Kannelopoulos et al. eine klinische Studie über die Kombination einer CXL-Behandlung mit einer Topographie-gesteuerten-PRK-Behandlung bei Keratokonus. Sie zeigten, dass eine simultan am gleichen Tag durchgeführte PRK- Behandlung mit anschließender CXL-Behandlung einer sequentiell durchgeführten Behandlung aus CXL-Behandlung und einer in einem Abstand von 6 Monaten folgenden PRK-Behandlung überlegen ist in Bezug auf die unkorrigierte und die mit Brille bestkorrigierte Sehkraft [121]. Daten bezüglich intendierter und tatsächlicher Korrektur gehen leider aus der Studie nicht hervor.

#### **4.4 Beantwortung der Fragestellungen der Arbeit**

In dieser Arbeit wurde in dem entwickelten *ex-vivo* Modell an enukleierten Schweineaugen der Einfluss einer CXL-Behandlung auf refraktiv-chirurgische Verfahren untersucht.

Es konnten in statistisch ausreichender Fallzahl folgende Fragen beantwortet werden:

- Inwieweit hat eine CXL-Behandlung eine Auswirkung auf einen Mikrokeratomschnitt, insbesondere auf die Flapdicke bei der Präparation des Flaps?
- Inwieweit hat eine CXL-Behandlung eine Auswirkung auf das refraktive Ergebnis einer LASIK-Behandlung?

- Müssen Mikrokeratom- oder Excimer-Laser-Parameter modifiziert werden, wenn man eine CXL-Behandlung und LASIK-Behandlung direkt nacheinander durchführt?

Untersuchungen an 200 frisch enukleierten Schweineaugen ergaben, dass bei Mikrokeratomschnitten mit einem 130 bzw. 150µm Schneidkopf an CXL-behandelten Corneae die Flaps um durchschnittlich 20µm (+22%) bzw. 30µm (+22%) signifikant dicker waren, als Flaps unbehauelter Corneae.

Für klinische Anwendungen ist dieses Wissen über das unterschiedliche Verhalten der Cornea bei Mikrokeratomschnitten in quervernetzten im Vergleich zu unbehauerten Hornhäuten außerordentlich wichtig, auch unter dem Gesichtspunkt das Mikrokeratome dazu verwendet werden, die Empfängerhornhaut für eine lamelläre Hornhauttransplantation vorzubereiten.

Bei CXL-behandelten Hornhäuten zeigte sich nach myopischer LASIK-Behandlung eine signifikant geringere Änderung der Hornhautkrümmung und somit eine Verringerung der refraktiven Korrektur, verglichen mit nicht behandelten Corneae. Dieser Effekt war nicht nur bei Ablationen mit extremen Korrekturwerten zu beobachten [125], sondern auch bei klinisch relevanten Korrekturen von mehr als -4dpt bei 150µm Flapdicke und mehr als -6dpt bei 130µm Flapdicke. Bei dickeren Flaps war dieser Effekt einer signifikant geringeren Änderung der Hornhautkrümmung deutlicher vorhanden.

Für klinische Anwendungen ist es wichtig, diese Verringerung der intendierten refraktiven Korrektur zu kennen, um sie in die Überlegung der Operationsplanung mit einzubeziehen und Laserparameter entsprechend anzupassen. Dadurch können Folgeeingriffe zur Nachkorrektur vermieden werden.

Wird eine myope LASIK-Behandlung direkt nach einer CXL-Behandlung durchgeführt, so kommt es, wie oben gezeigt, zu einer erhöhten Flapdicke und davon abhängig zu einer geringeren refraktiven Korrektur.

Bei Benutzung eines Mikrokeratoms für 150µm intendierter Flapdicke muss bei angestrebten refraktiven Korrekturen von mehr als -4dpt ein Ablationsprofil für höhere Korrekturen eingestellt werden. Bei Benutzung eines Mikrokeratoms für 130µm intendierte Flapdicke muss dementsprechend bei angestrebten refraktiven Korrekturen von mehr als -6dpt ein Ablationsprofil für höhere Korrekturen eingestellt werden. Bei

Korrekturen um -2dpt oder geringer bei 150µm intendierter Flapdicke bzw. -4dpt oder geringer bei 130µm intendierter Flapdicke ist eine Modifizierung des Ablationsprofils nicht notwendig.

Da *in-vivo* Untersuchungen an Schweineaugen in statistisch ausreichender Fallzahl (n=200 Augen, entsprechend 100 lebenden Schweinen) bei den gegebenen Verhältnissen nicht durchführbar waren, wurden sämtliche Untersuchungen an frisch enukleierten Schweineaugen im *ex-vivo* Modell durchgeführt. Um den Ausfall der physiologischen Eigenschaften wie z.B. der Endothelpumpfunktion gering zu halten, wurde darauf geachtet, die Untersuchungen sehr zeitnah postmortal durchzuführen. Weiterhin ist zu klären inwieweit Ergebnisse von *ex-vivo* Untersuchungen an Schweineaugen auf menschliche Augen übertragbar sind.

Zum jetzigen Zeitpunkt kann die Durchführung einer LASIK-Behandlung nach CXL-Behandlung eines Keratokonus noch nicht empfohlen werden. Es sind weitere klinische Ergebnisse von PRK in dieser Situation zu erwarten. Die Indikationen der CXL-Behandlung erfahren eine ständige Erweiterung, sodass die Ergebnisse dieser Arbeit ein erweitertes Grundverständnis der biomechanischen Eigenschaften der Cornea nach Kollagenquervernetzung mit Riboflavin und UV-A Licht geben.

Ob die CXL-vermittelte verringerte refraktive Korrektur auch für hyperopische Excimer-Laser-Anwendungen zutrifft, bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen.

## **5 Zusammenfassung**

### **Einleitung**

Die Kollagenquervernetzungs-Behandlung mit Riboflavin und UV-A-Licht (CXL) ist eine neue Behandlungsmethode, die als einziges Verfahren die Stabilität der Hornhaut erhöht und dadurch eine Progression eines Keratokonus verhindern kann. Die hierbei oft verzeichnete Rückbildung der Keratektasie reicht jedoch in der Regel nicht aus, um die damit verbundenen Brechungsfehler des Auges zu beheben. In einigen Fällen kann die Sehschärfe sogar mit Brille oder formstabilen Kontaktlinsen nicht wieder hergestellt werden und es müssen operative Methoden, wie Excimer-Laserbehandlungen, in Erwägung gezogen werden. Die Gefahr der Progression der Hornhautverdünnung bis hin zur Keratolyse bleibt jedoch bestehen. Die Festigung der Cornea durch eine CXL-Behandlung vor einer Excimer-Laserbehandlung könnte diese Gefahr verringern und die Sehschärfe des Patienten entscheidend verbessern oder vollständig restituieren. Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen, in wie weit eine CXL-Behandlung einen Einfluss auf refraktiv-chirurgische Verfahren hat: es sollte die Auswirkung einer CXL-Behandlung auf einen Mikrokeratomschnitt, insbesondere auf die Flapdicke bei der Präparation einer Hornhautlamelle (Flap), sowie die Auswirkung auf das refraktive Ergebnis einer LASIK-Behandlung untersucht werden.

### **Material und Methoden**

An frisch enukleierten Schweineaugen (n=100 je Gruppe) wurde nach Epithelabrasio 15 Minuten lang Riboflavin als 0.1%ige Lösung tropfenweise alle 5 Minuten auf die Cornea appliziert. Während der anschließenden 30 Minuten dauernden UV-A-Bestrahlung wurde diese Applikationsweise fortgesetzt. Die Augen der Kontrollgruppe wurden nach Epithelabrasio für die Zeitdauer der CXL-Behandlung in einer Feuchtkammer aufbewahrt. Die Präparation des Flaps erfolgte mit einem Cariazzo-Pendular Mikrokeratom, die Excimer-Laser-Photoablation mit dem ESIRIS Excimer-Laser (beides Fa. Schwindt, Deutschland). Die Flapdickenmessung wurde durchgeführt

mittels optischer Kohärenzpachymetrie und einem mechanischem Dickenmessgerät. Die Bestimmung der Refraktion erfolgte mittels Placido-basierter Videokeratographie.

### **Ergebnisse**

Die mit dem optischen Kohärenzpachymeter (OCP) gemessene mittlere Flapdicke nach einem intendierten 150µm Mikrokeratomschnitt betrug  $135 \pm 25\mu\text{m}$  in der Gruppe mit CXL-Behandlung und  $105 \pm 25\mu\text{m}$  in der Kontrollgruppe ( $p < 0.0001$ ,  $n=60$  je Gruppe). Gemessen mit dem mechanischem Dickenmessgerät betrug die mittlere Flapdicke  $164,7 \pm 16\mu\text{m}$  in der Gruppe mit CXL-Behandlung und  $132,6 \pm 19,6\mu\text{m}$  in der Kontrollgruppe ( $p < 0,0001$ ,  $n=60$  in jeder Gruppe). Dies entspricht einer Flapdickenzunahme von 22%. Die mit dem mechanischen Dickenmessgerät gemessene mittlere Flapdicke nach einem intendierten 130µm Mikrokeratomschnitt betrug  $115 \pm 15\mu\text{m}$  in der CXL-Gruppe und  $95 \pm 10\mu\text{m}$  in der Kontrollgruppe ( $p < 0.0001$ ,  $n=40$  je Gruppe). Dies entspricht ebenfalls einer Zunahme von 22%.

Um herauszufinden, bis zu welchem Korrekturwert eine myope LASIK-Behandlung durch die CXL-Behandlung beeinflusst wird, verringerten wir die vorgesehene Refraktionskorrektur in Schritten von 2dpt, bis kein signifikanter Unterschied im refraktiven Ergebnis zwischen CXL-behandelten und Kontrollaugen mehr messbar war. Das refraktive Ergebnis bei einer intendierten Flapdicke von 150µm und intendierten Korrekturen um -6dpt und -4dpt war in der CXL-behandelten Gruppe signifikant verringert: Bei intendierter Korrektur um -6dpt wurden  $-4,0 \pm 1,8\text{dpt}$  in der CXL-Gruppe und  $-5,5 \pm 1,6\text{dpt}$  in der Kontrollgruppe erreicht ( $p=0.005$ ), bei intendierter Korrektur um -4dpt wurden  $-3,0 \pm 1,2\text{dpt}$  in der CXL-Gruppe und  $-4,1 \pm 2,0\text{dpt}$  in der Kontrollgruppe erreicht ( $p=0.038$ ). Bei einer intendierten Korrektur um -2dpt zeigten CXL-behandelte Hornhäute ein verringertes refraktives Ergebnis, das jedoch nicht mehr signifikant war:  $-1,7 \pm 1,1\text{dpt}$  in der CXL-Gruppe und  $-2,5 \pm 1,8\text{dpt}$  in der Kontrollgruppe ( $p=0.057$ ). Bei Benutzung eines 130µm Mikrokeratomschneidkopfes war das refraktive Ergebnis einer intendierten Korrektur um -6dpt von CXL-behandelten Augen signifikant verringert:  $-4,6 \pm 0,9\text{dpt}$  in der CXL-Gruppe und  $-5,5 \pm 1,4\text{dpt}$  in der Kontrollgruppe ( $p=0.016$ ). Eine intendierte Korrektur um -4dpt zeigte ein verringertes Ergebnis, das jedoch nicht mehr statistisch signifikant war:  $-3,0 \pm 1,5\text{dpt}$  in der CXL-Gruppe und  $-3,5 \pm 1,3\text{dpt}$  in der Kontrollgruppe ( $p=0.324$ ).



## Diskussion

Eine an Keratokonus erkrankte Hornhaut zuerst durch eine CXL-Behandlung zu stabilisieren und anschließend eine Mikrokeratom- und/oder Excimer-Laserbehandlung zur visuellen Rehabilitation durchzuführen, kann ein vielversprechendes Behandlungskonzept sein.

In dieser Arbeit konnte an einem *ex-vivo* Modell bei statistisch genügender Fallzahl gezeigt werden:

- Eine CXL-Behandlung wirkt sich auf einen Mikrokeratomschnitt, insbesondere auf die Flapdicke aus: Die Flaps werden im Durchschnitt um 22% dicker. Zwei Ursachen könnten dafür verantwortlich sein: Eine geringere Deformation der Corneakurvatur beim Schnittvorgang und/oder ein erhöhter Verformungswiderstand der Cornea während der Schneidkopfapplanation.
- Eine CXL-Behandlung wirkt sich auf das refraktive Ergebnis einer LASIK-Behandlung aus: Bei Verwendung eines 150 $\mu$ m Schneidkopfs waren Korrekturwerte von mehr als -4dpt, bei Verwendung eines 130 $\mu$ m Schneidkopfs von mehr als -6dpt signifikant verringert. Dafür könnten zwei Ursachen verantwortlich sein: Ein ungenügendes Wiederanliegen des Flaps bei der Reposition und/oder eine Veränderung der biomechanischen Eigenschaften der Cornea nach Photoablation.
- Die Mikrokeratom- oder Excimer-Laserparameter müssen modifiziert werden, wenn man eine CXL-Behandlung und LASIK-Behandlung direkt nacheinander durchführt: Bei Benutzung eines Mikrokeratoms für 150 $\mu$ m intendierte Flapdicke muss bei angestrebten refraktiven Korrekturen von mehr als -4dpt ein Ablationsprofil für höhere Korrekturen eingestellt werden. Bei Benutzung eines Mikrokeratoms für 130 $\mu$ m intendierter Flapdicke muss dementsprechend bei angestrebten refraktiven Korrekturen von mehr als -6dpt ein Ablationsprofil für höhere Korrekturen eingestellt werden.

## 6 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CXL	collagen cross-linking, Kollagenquervernetzung
dpt	Dioptrie
et al.	et aliae, und Mitarbeiter
IOP	intraocular pressure, intraokulärer Druck
LASIK	Laser-in-situ-Keratomileusis
max.	maximal
mechan.	mechanisch
min.	minimal
ml	Milliliter
mg	Milligramm
nm	Nanometer
µm	Mikrometer
MW	Mittelwert
N.	Nervus, Nerv
o.g.	oben genannte
OCP	optical coherence pachymeter, optisches Kohärenz-pachymeter
PRK	Photorefraktive-Keratektomie

PTK	Phototherapeutische-Keratektomie
S.	Seite
SD	standard deviation, Standardabweichung
sog.	so genannt
Tab.	Tabelle
u.a.	unter anderem
z.B.	zum Beispiel

## 7 Literaturverzeichnis

1. **Krachmer, J.H.**, *Cornea, 2nd Edition*. 2005: Mosby. 2-24.
2. **Klyce, S.D.**, *Electrical profiles in the corneal epithelium*. J Physiol, 1972. 226(2): p. 407-29.
3. **Kinoshita, S., J. Friend, and R.A. Thoft**, *Sex chromatin of donor corneal epithelium in rabbits*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1981. 21(3): p. 434-41.
4. **Tseng, S.C.**, *Concept and application of limbal stem cells*. Eye (Lond), 1989. 3 ( Pt 2): p. 141-57.
5. **Beebe, D.C. and B.R. Masters**, *Cell lineage and the differentiation of corneal epithelial cells*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1996. 37(9): p. 1815-25.
6. **Fini, M.E. and B.M. Stramer**, *How the cornea heals: cornea-specific repair mechanisms affecting surgical outcomes*. Cornea, 2005. 24(8 Suppl): p. S2-S11.
7. **Hay, E.D., T.F. Linsenmayer, R.L. Trelstad, and K. von der Mark**, *Origin and distribution of collagens in the developing avian cornea*. Curr Top Eye Res, 1979. 1: p. 1-35.
8. **Muller, L.J., L. Pels, and G.F. Vrensen**, *Novel aspects of the ultrastructural organization of human corneal keratocytes*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1995. 36(13): p. 2557-67.
9. **Jester, J.V., T. Moller-Pedersen, et al.**, *The cellular basis of corneal transparency: evidence for 'corneal crystallins'*. J Cell Sci, 1999. 112 ( Pt 5): p. 613-22.
10. **Komai, Y. and T. Ushiki**, *The three-dimensional organization of collagen fibrils in the human cornea and sclera*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1991. 32(8): p. 2244-58.
11. **Joyce, N.C.**, *Proliferative capacity of the corneal endothelium*. Prog Retin Eye Res, 2003. 22(3): p. 359-89.
12. **Kennedy, R.H., W.M. Bourne, and J.A. Dyer**, *A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus*. Am J Ophthalmol, 1986. 101(3): p. 267-73.
13. **Krachmer, J.H., R.S. Feder, and M.W. Belin**, *Keratoconus and related noninflammatory corneal thinning disorders*. Surv Ophthalmol, 1984. 28(4): p. 293-322.

14. **Rabinowitz, Y.S.**, *Keratoconus*. *Surv Ophthalmol*, 1998. 42(4): p. 297-319.
15. **Zadnik, K., J.T. Barr, M.O. Gordon, and T.B. Edrington**, *Biomicroscopic signs and disease severity in keratoconus*. *Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study Group*. *Cornea*, 1996. 15(2): p. 139-46.
16. **Zadnik, K., K. Steger-May, et al.**, *Between-eye asymmetry in keratoconus*. *Cornea*, 2002. 21(7): p. 671-9.
17. **Chopra, I. and A.K. Jain**, *Between eye asymmetry in keratoconus in an Indian population*. *Clin Exp Optom*, 2005. 88(3): p. 146-52.
18. **Auffarth, G.U., L. Wang, and H.E. Volcker**, *Keratoconus evaluation using the Orbscan Topography System*. *J Cataract Refract Surg*, 2000. 26(2): p. 222-8.
19. **Prisant, O., J.M. Legeais, and G. Renard**, *Superior keratoconus*. *Cornea*, 1997. 16(6): p. 693-4.
20. **Weed, K.H., C.N. McGhee, and C.J. MacEwen**, *Atypical unilateral superior keratoconus in young males*. *Cont Lens Anterior Eye*, 2005. 28(4): p. 177-9.
21. **Rahman, W. and S. Anwar**, *An unusual case of keratoconus*. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus*, 2006. 43(6): p. 373-5.
22. **Holland, D.R., N. Maeda, et al.**, *Unilateral keratoconus. Incidence and quantitative topographic analysis*. *Ophthalmology*, 1997. 104(9): p. 1409-13.
23. **Sterker, I. and P. Wiedemann**, [*Corneal topography of the partner eye in unilateral keratoconus*]. *Ophthalmologe*, 1998. 95(5): p. 317-21.
24. **Li, X., Y.S. Rabinowitz, K. Rasheed, and H. Yang**, *Longitudinal study of the normal eyes in unilateral keratoconus patients*. *Ophthalmology*, 2004. 111(3): p. 440-6.
25. **Pearson, A.R., B. Soneji, N. Sarvananthan, and J.H. Sandford-Smith**, *Does ethnic origin influence the incidence or severity of keratoconus?* *Eye (Lond)*, 2000. 14 ( Pt 4): p. 625-8.
26. **Wang, Y., Y.S. Rabinowitz, J.I. Rotter, and H. Yang**, *Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination*. *Am J Med Genet*, 2000. 93(5): p. 403-9.
27. **Fullerton, J., P. Paprocki, et al.**, *Identity-by-descent approach to gene localisation in eight individuals affected by keratoconus from north-west Tasmania, Australia*. *Hum Genet*, 2002. 110(5): p. 462-70.
28. **Tyynismaa, H., P. Sistonen, et al.**, *A locus for autosomal dominant keratoconus: linkage to 16q22.3-q23.1 in Finnish families*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002. 43(10): p. 3160-4.

29. **Hutchings, H., H. Ginisty, et al.**, *Identification of a new locus for isolated familial keratoconus at 2p24*. J Med Genet, 2005. 42(1): p. 88-94.
30. **Tang, Y.G., Y.S. Rabinowitz, et al.**, *Genomewide linkage scan in a multigeneration Caucasian pedigree identifies a novel locus for keratoconus on chromosome 5q14.3-q21.1*. Genet Med, 2005. 7(6): p. 397-405.
31. **Li, X., Y.S. Rabinowitz, et al.**, *Two-stage genome-wide linkage scan in keratoconus sib pair families*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2006. 47(9): p. 3791-5.
32. **Maatta, M., T. Vaisanen, M.R. Vaisanen, T. Pihlajaniemi, and T. Tervo**, *Altered expression of type XIII collagen in keratoconus and scarred human cornea: Increased expression in scarred cornea is associated with myofibroblast transformation*. Cornea, 2006. 25(4): p. 448-53.
33. **Maatta, M., R. Heljasvaara, et al.**, *Differential expression of collagen types XVIII/endostatin and XV in normal, keratoconus, and scarred human corneas*. Cornea, 2006. 25(3): p. 341-9.
34. **Fukuchi, T., B.Y. Yue, J. Sugar, and S. Lam**, *Lysosomal enzyme activities in conjunctival tissues of patients with keratoconus*. Arch Ophthalmol, 1994. 112(10): p. 1368-74.
35. **Sawaguchi, S., B.Y. Yue, J. Sugar, and J.E. Gilboy**, *Lysosomal enzyme abnormalities in keratoconus*. Arch Ophthalmol, 1989. 107(10): p. 1507-10.
36. **Sawaguchi, S., S.S. Twining, et al.**, *Alpha 2-macroglobulin levels in normal human and keratoconus corneas*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1994. 35(12): p. 4008-14.
37. **Bron, A.J. and Y.S. Rabinowitz**, *Corneal dystrophies and keratoconus*. Curr Opin Ophthalmol, 1996. 7(4): p. 71-82.
38. **Lema, I., J.A. Duran, et al.**, *Inflammatory response to contact lenses in patients with keratoconus compared with myopic subjects*. Cornea, 2008. 27(7): p. 758-63.
39. **Sherwin, T. and N.H. Brookes**, *Morphological changes in keratoconus: pathology or pathogenesis*. Clin Experiment Ophthalmol, 2004. 32(2): p. 211-7.
40. **Meek, K.M., S.J. Tuft, et al.**, *Changes in collagen orientation and distribution in keratoconus corneas*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005. 46(6): p. 1948-56.
41. **Klintworth, G.K. and T. Damms**, *Corneal dystrophies and keratoconus*. Curr Opin Ophthalmol, 1995. 6(4): p. 44-56.
42. **Ku, J.Y., R.L. Niederer, D.V. Patel, T. Sherwin, and C.N. McGhee**, *Laser scanning in vivo confocal analysis of keratocyte density in keratoconus*. Ophthalmology, 2008. 115(5): p. 845-50.

43. **Morishige, N., A.J. Wahlert, et al.**, *Second-harmonic imaging microscopy of normal human and keratoconus cornea*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007. 48(3): p. 1087-94.
44. **Gondhowiardjo, T.D. and N.J. van Haeringen**, *Corneal aldehyde dehydrogenase, glutathione reductase, and glutathione S-transferase in pathologic corneas*. Cornea, 1993. 12(4): p. 310-4.
45. **Behndig, A., K. Karlsson, B.O. Johansson, T. Brannstrom, and S.L. Marklund**, *Superoxide dismutase isoenzymes in the normal and diseased human cornea*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001. 42(10): p. 2293-6.
46. **Cristina Kenney, M. and D.J. Brown**, *The cascade hypothesis of keratoconus*. Cont Lens Anterior Eye, 2003. 26(3): p. 139-46.
47. **Weed, K.H., C.J. MacEwen, A. Cox, and C.N. McGhee**, *Quantitative analysis of corneal microstructure in keratoconus utilising in vivo confocal microscopy*. Eye (Lond), 2007. 21(5): p. 614-23.
48. **Cullen, J.F. and H.G. Butler**, *Mongolism (Down's Syndrome) and Keratoconus*. Br J Ophthalmol, 1963. 47: p. 321-30.
49. **Shapiro, M.B. and T.D. France**, *The ocular features of Down's syndrome*. Am J Ophthalmol, 1985. 99(6): p. 659-63.
50. **Elder, M.J.**, *Leber congenital amaurosis and its association with keratoconus and keratoglobus*. J Pediatr Ophthalmol Strabismus, 1994. 31(1): p. 38-40.
51. **Damji, K.F., M.M. Sohocki, et al.**, *Leber's congenital amaurosis with anterior keratoconus in Pakistani families is caused by the Trp278X mutation in the AIPL1 gene on 17p*. Can J Ophthalmol, 2001. 36(5): p. 252-9.
52. **Cameron, J.A.**, *Corneal abnormalities in Ehlers-Danlos syndrome type VI*. Cornea, 1993. 12(1): p. 54-9.
53. **Beckh, U., U. Schonherr, and G.O. Naumann**, *[Autosomal dominant keratoconus as the chief ocular symptom in Lobstein osteogenesis imperfecta tarda]*. Klin Monbl Augenheilkd, 1995. 206(4): p. 268-72.
54. **Skoumal, M., G. Haberhauer, and H. Mayr**, *[Concomitant diseases in primary joint hypermobility syndrome]*. Med Klin (Munich), 2004. 99(10): p. 585-90.
55. **Lichter, H., N. Loya, et al.**, *Keratoconus and mitral valve prolapse*. Am J Ophthalmol, 2000. 129(5): p. 667-8.
56. **Sharif, K.W., T.A. Casey, and J. Coltart**, *Prevalence of mitral valve prolapse in keratoconus patients*. J R Soc Med, 1992. 85(8): p. 446-8.

57. **Seiler, T., S. Huhle, E. Spoerl, and H. Kunath**, *Manifest diabetes and keratoconus: a retrospective case-control study*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2000. 238(10): p. 822-5.
58. **Arntz, A., J.A. Duran, and J.I. Pijoan**, [*Subclinical keratoconus diagnosis by elevation topography*]. Arch Soc Esp Oftalmol, 2003. 78(12): p. 659-64.
59. **Aldave, A.J., M. Mabon, et al.**, *Spontaneous corneal hydrops and perforation in keratoconus and pellucid marginal degeneration*. Cornea, 2003. 22(2): p. 169-74.
60. **Dantas, P.E. and M.C. Nishiwaki-Dantas**, *Spontaneous bilateral corneal perforation of acute hydrops in keratoconus*. Eye Contact Lens, 2004. 30(1): p. 40-1.
61. **Stoiber, J., W. Muss, J. Ruckhofer, and G. Grabner**, *Acute keratoconus with perforation in a patient with Down's syndrome*. Br J Ophthalmol, 2003. 87(1): p. 120.
62. **Randleman, J.B., B. Russell, M.A. Ward, K.P. Thompson, and R.D. Stulting**, *Risk factors and prognosis for corneal ectasia after LASIK*. Ophthalmology, 2003. 110(2): p. 267-75.
63. **Chiang, R.K., A.J. Park, C.J. Rapuano, and E.J. Cohen**, *Bilateral keratoconus after LASIK in a keratoconus patient*. Eye Contact Lens, 2003. 29(2): p. 90-2.
64. **Binder, P.S., R.L. Lindstrom, et al.**, *Keratoconus and corneal ectasia after LASIK*. J Cataract Refract Surg, 2005. 31(11): p. 2035-8.
65. **Fleischer, B.**, *Über Keratokonus und eigenartige Pigmentbildung in der Kornea*. Münchener medizinische Wochenschrift, 1906. 53(53): p. 625-626.
66. **Barraquer-Somers, E., C.C. Chan, and W.R. Green**, *Corneal epithelial iron deposition*. Ophthalmology, 1983. 90(6): p. 729-34.
67. **Davis, L.J., J.T. Barr, and D. Vanotteren**, *Transient rigid lens-induced striae in keratoconus*. Optom Vis Sci, 1993. 70(3): p. 216-9.
68. **Kampik, A., Grehn F.**, *Augenärztliche Diagnostik*. 2003, Stuttgart, New York: Thieme Verlag.
69. **Li, Y., D.M. Meisler, et al.**, *Keratoconus diagnosis with optical coherence tomography pachymetry mapping*. Ophthalmology, 2008. 115(12): p. 2159-66.
70. **Gobbe, M. and M. Guillon**, *Corneal wavefront aberration measurements to detect keratoconus patients*. Cont Lens Anterior Eye, 2005. 28(2): p. 57-66.



71. **Emre, S., S. Doganay, and S. Yologlu**, *Evaluation of anterior segment parameters in keratoconic eyes measured with the Pentacam system*. J Cataract Refract Surg, 2007. 33(10): p. 1708-12.
72. **Ortiz, D., D. Pinero, M.H. Shabayek, F. Arnalich-Montiel, and J.L. Alio**, *Corneal biomechanical properties in normal, post-laser in situ keratomileusis, and keratoconic eyes*. J Cataract Refract Surg, 2007. 33(8): p. 1371-5.
73. **Perry, H.D., J.N. Buxton, and B.S. Fine**, *Round and oval cones in keratoconus*. Ophthalmology, 1980. 87(9): p. 905-9.
74. **McMahon, T.T., J.B. Robin, K.M. Scarpulla, and J.L. Putz**, *The spectrum of topography found in keratoconus*. CLAO J, 1991. 17(3): p. 198-204.
75. **Amsler, M.**, *Le keratocone fruste au javal*. Ophtalmologica, 1938. 96(96): p. 77-83.
76. **Amsler, M.**, *Keratocone classique et keratocone fruste, arguments unitaires*. Ophtalmologica, 1946. 111(111): p. 96-101.
77. **Rabinowitz, Y.S., K. Rasheed, H. Yang, and J. Elashoff**, *Accuracy of ultrasonic pachymetry and videokeratography in detecting keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 1998. 24(2): p. 196-201.
78. **Maeda, N., S.D. Klyce, M.K. Smolek, and H.W. Thompson**, *Automated keratoconus screening with corneal topography analysis*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1994. 35(6): p. 2749-57.
79. **Rabinowitz, Y.S., J. Garbus, and P.J. McDonnell**, *Computer-assisted corneal topography in family members of patients with keratoconus*. Arch Ophthalmol, 1990. 108(3): p. 365-71.
80. **Rabinowitz, Y.S. and K. Rasheed**, *KISA% index: a quantitative videokeratography algorithm embodying minimal topographic criteria for diagnosing keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 1999. 25(10): p. 1327-35.
81. **Lim, N. and U. Vogt**, *Characteristics and functional outcomes of 130 patients with keratoconus attending a specialist contact lens clinic*. Eye (Lond), 2002. 16(1): p. 54-9.
82. **Zadnik, K., J.T. Barr, et al.**, *Baseline findings in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1998. 39(13): p. 2537-46.
83. **Leung, K.K.**, *RGP fitting philosophies for keratoconus*. Clin Exp Optom, 1999. 82(6): p. 230-235.
84. **McMonnies, C.W.**, *The biomechanics of keratoconus and rigid contact lenses*. Eye Contact Lens, 2005. 31(2): p. 80-92.

85. **Nose, W., R.A. Neves, T.E. Burris, D.J. Schanzlin, and R. Belfort Junior,** *Intrastromal corneal ring: 12-month sighted myopic eyes.* J Refract Surg, 1996. 12(1): p. 20-8.
86. **Colin, J., B. Cochener, G. Savary, and F. Malet,** *Correcting keratoconus with intracorneal rings.* J Cataract Refract Surg, 2000. 26(8): p. 1117-22.
87. **Tomalla, M. and W. Cagnolati,** *Modern treatment options for the therapy of keratoconus.* Cont Lens Anterior Eye, 2007. 30(1): p. 61-6.
88. **Zare, M.A., H. Hashemi, and M.R. Salari,** *Intracorneal ring segment implantation for the management of keratoconus: safety and efficacy.* J Cataract Refract Surg, 2007. 33(11): p. 1886-91.
89. **Colin, J. and S. Velou,** *Implantation of Intacs and a refractive intraocular lens to correct keratoconus.* J Cataract Refract Surg, 2003. 29(4): p. 832-4.
90. **Coskunseven, E., M. Onder, et al.,** *Combined Intacs and posterior chamber toric implantable Collamer lens implantation for keratoconic patients with extreme myopia.* Am J Ophthalmol, 2007. 144(3): p. 387-389.
91. **Watson, S.L., A. Ramsay, J.K. Dart, C. Bunce, and E. Craig,** *Comparison of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty in patients with keratoconus.* Ophthalmology, 2004. 111(9): p. 1676-82.
92. **Funnell, C.L., J. Ball, and B.A. Noble,** *Comparative cohort study of the outcomes of deep lamellar keratoplasty and penetrating keratoplasty for keratoconus.* Eye (Lond), 2006. 20(5): p. 527-32.
93. **Vabres, B., M. Bosnjakowski, L. Bekri, M. Weber, and A. Pechereau,** *[Deep lamellar keratoplasty versus penetrating keratoplasty for keratoconus].* J Fr Ophtalmol, 2006. 29(4): p. 361-71.
94. **Sray, W.A., E.J. Cohen, C.J. Rapuano, and P.R. Laibson,** *Factors associated with the need for penetrating keratoplasty in keratoconus.* Cornea, 2002. 21(8): p. 784-6.
95. **Tuft, S.J., L.C. Moodaley, W.M. Gregory, C.R. Davison, and R.J. Buckley,** *Prognostic factors for the progression of keratoconus.* Ophthalmology, 1994. 101(3): p. 439-47.
96. **Reeves, S.W., S. Stinnett, R.A. Adelman, and N.A. Afshari,** *Risk factors for progression to penetrating keratoplasty in patients with keratoconus.* Am J Ophthalmol, 2005. 140(4): p. 607-11.
97. **Spörl, E.H., M.; Kasper, M.; Seiler, T.,** *Erhöhung der Festigkeit der Hornhaut durch Vernetzung.* Der Ophthalmologe, 1997. 94: p. 97-103.
98. **Spoerl, E., M. Huhle, and T. Seiler,** *Induction of cross-links in corneal tissue.* Exp Eye Res, 1998. 66(1): p. 97-103.

99. **Wollensak, G., E. Spoerl, and T. Seiler**, *Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus*. *Am J Ophthalmol*, 2003. 135(5): p. 620-7.
100. **Kato, Y., K. Uchida, and S. Kawakishi**, *Aggregation of collagen exposed to UVA in the presence of riboflavin: a plausible role of tyrosine modification*. *Photochem Photobiol*, 1994. 59(3): p. 343-9.
101. **Wollensak, G., E. Spoerl, F. Reber, and T. Seiler**, *Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro*. *Eye*, 2004. 18(7): p. 718-22.
102. **Wollensak, G., E. Spoerl, M. Wilsch, and T. Seiler**, *Keratocyte apoptosis after corneal collagen cross-linking using riboflavin/UVA treatment*. *Cornea*, 2004. 23(1): p. 43-9.
103. **Wollensak, G., E. Spoerl, M. Wilsch, and T. Seiler**, *Endothelial cell damage after riboflavin-ultraviolet-A treatment in the rabbit*. *J Cataract Refract Surg*, 2003. 29(9): p. 1786-90.
104. **Spoerl, E., M. Mrochen, D. Sliney, S. Trokel, and T. Seiler**, *Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea*. *Cornea*, 2007. 26(4): p. 385-9.
105. **Seiler, T. and F. Hafezi**, *Corneal cross-linking-induced stromal demarcation line*. *Cornea*, 2006. 25(9): p. 1057-9.
106. **Wollensak, G., E. Spoerl, and T. Seiler**, *Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking*. *J Cataract Refract Surg*, 2003. 29(9): p. 1780-5.
107. **Spoerl, E., G. Wollensak, D.D. Dittert, and T. Seiler**, *Thermomechanical behavior of collagen-cross-linked porcine cornea*. *Ophthalmologica*, 2004. 218(2): p. 136-40.
108. **Spoerl, E., G. Wollensak, and T. Seiler**, *Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion*. *Curr Eye Res*, 2004. 29(1): p. 35-40.
109. **Wollensak, G., M. Wilsch, E. Spoerl, and T. Seiler**, *Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA*. *Cornea*, 2004. 23(5): p. 503-7.
110. **Kohlhaas, M., E. Spoerl, et al.**, *Biomechanical evidence of the distribution of cross-links in corneas treated with riboflavin and ultraviolet A light*. *J Cataract Refract Surg*, 2006. 32(2): p. 279-83.
111. **Hafezi, F., J. Kanellopoulos, R. Wiltfang, and T. Seiler**, *Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet A to treat induced keratectasia after laser in situ keratomileusis*. *J Cataract Refract Surg*, 2007. 33(12): p. 2035-40.

112. **Wollensak, G., H. Aurich, C. Wirbelauer, and D.T. Pham**, *Potential use of riboflavin/UVA cross-linking in bullous keratopathy*. *Ophthalmic Res*, 2009. 41(2): p. 114-7.
113. **Moren, H., M. Malmso, J. Mortensen, and A. Ohrstrom**, *Riboflavin and ultraviolet a collagen crosslinking of the cornea for the treatment of keratitis*. *Cornea*, 2010. 29(1): p. 102-4.
114. **Sauer, A., V. Letscher-Bru, et al.**, *In vitro efficacy of antifungal treatment using riboflavin/UV-A (365 nm) combination and amphotericin B*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2010. 51(8): p. 3950-3.
115. **Micelli Ferrari, T., M. Leozappa, M. Lorusso, E. Epifani, and L. Micelli Ferrari**, *Escherichia coli keratitis treated with ultraviolet A/riboflavin corneal cross-linking: a case report*. *Eur J Ophthalmol*, 2009. 19(2): p. 295-7.
116. **Raiskup-Wolf, F., A. Hoyer, E. Spoerl, and L.E. Pillunat**, *Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: long-term results*. *J Cataract Refract Surg*, 2008. 34(5): p. 796-801.
117. **Kymionis, G.D., G.A. Kounis, et al.**, *Intraoperative pachymetric measurements during corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet A irradiation*. *Ophthalmology*, 2009. 116(12): p. 2336-9.
118. **Schnitzler, E., E. Sporl, and T. Seiler**, *[Irradiation of cornea with ultraviolet light and riboflavin administration as a new treatment for erosive corneal processes, preliminary results in four patients]*. *Klin Monbl Augenheilkd*, 2000. 217(3): p. 190-3.
119. **Wollensak, G., H. Aurich, D.T. Pham, and C. Wirbelauer**, *Hydration behavior of porcine cornea crosslinked with riboflavin and ultraviolet A*. *J Cataract Refract Surg*, 2007. 33(3): p. 516-21.
120. **Kamburoglu, G. and A. Ertan**, *Intacs implantation with sequential collagen cross-linking treatment in postoperative LASIK ectasia*. *J Refract Surg*, 2008. 24(7): p. S726-9.
121. **Kanellopoulos, A.J.**, *Comparison of sequential vs same-day simultaneous collagen cross-linking and topography-guided PRK for treatment of keratoconus*. *J Refract Surg*, 2009. 25(9): p. S812-8.
122. **Lee, D. and G. Wilson**, *Non-uniform swelling properties of the corneal stroma*. *Curr Eye Res*, 1981. 1(8): p. 457-61.
123. **Dougherty, P.J., K.L. Wellish, and R.K. Maloney**, *Excimer laser ablation rate and corneal hydration*. *Am J Ophthalmol*, 1994. 118(2): p. 169-76.
124. **Huebscher, H.J., U. Genth, and T. Seiler**, *Determination of excimer laser ablation rate of the human cornea using in vivo Scheimpflug videography*. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1996. 37(1): p. 42-6.

125. **Kampik, D., B. Ralla, et al.**, *Influence of corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-a irradiation on excimer laser surgery*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010. 51(8): p. 3929-34.
126. **Hafezi, F., M. Mrochen, H.P. Iseli, and T. Seiler**, *Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas*. J Cataract Refract Surg, 2009. 35(4): p. 621-4.
127. **Raiskup, F., A. Hoyer, and E. Spoerl**, *Permanent corneal haze after riboflavin-UVA-induced cross-linking in keratoconus*. J Refract Surg, 2009. 25(9): p. S824-8.
128. **Koller, T., M. Mrochen, and T. Seiler**, *Complication and failure rates after corneal crosslinking*. J Cataract Refract Surg, 2009. 35(8): p. 1358-62.
129. **Koppen, C., J.C. Vryghem, L. Gobin, and M.J. Tassignon**, *Keratitis and corneal scarring after UVA/riboflavin cross-linking for keratoconus*. J Refract Surg, 2009. 25(9): p. S819-23.
130. **Perez-Santonja, J.J., A. Artola, J. Javaloy, J.L. Alio, and J.L. Abad**, *Microbial keratitis after corneal collagen crosslinking*. J Cataract Refract Surg, 2009. 35(6): p. 1138-40.
131. **Pollhammer, M. and C. Cursiefen**, *Bacterial keratitis early after corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A*. J Cataract Refract Surg, 2009. 35(3): p. 588-9.
132. **Alio, J.L. and R. Montes-Mico**, *Wavefront-guided versus standard LASIK enhancement for residual refractive errors*. Ophthalmology, 2006. 113(2): p. 191-7.
133. **Kim, A. and R.S. Chuck**, *Wavefront-guided customized corneal ablation*. Curr Opin Ophthalmol, 2008. 19(4): p. 314-20.
134. **Gauthier, C.A., B.A. Holden, et al.**, *Factors affecting epithelial hyperplasia after photorefractive keratectomy*. J Cataract Refract Surg, 1997. 23(7): p. 1042-50.
135. **Slade, S.G.**, *The use of the femtosecond laser in the customization of corneal flaps in laser in situ keratomileusis*. Curr Opin Ophthalmol, 2007. 18(4): p. 314-7.
136. **Amoils, S.P., M.B. Deist, P. Gous, and P.M. Amoils**, *Iatrogenic keratectasia after laser in situ keratomileusis for less than -4.0 to -7.0 diopters of myopia*. J Cataract Refract Surg, 2000. 26(7): p. 967-77.
137. **Joo, C.K. and T.G. Kim**, *Corneal ectasia detected after laser in situ keratomileusis for correction of less than -12 diopters of myopia*. J Cataract Refract Surg, 2000. 26(2): p. 292-5.

138. **Seiler, T., K. Koufala, and G. Richter**, *Iatrogenic keratectasia after laser in situ keratomileusis*. J Refract Surg, 1998. 14(3): p. 312-7.
139. **Neuhann, I.M., B.A. Lege, et al.**, *Online optical coherence pachymetry as a safety measure for laser in situ keratomileusis treatment in 1859 cases*. J Cataract Refract Surg, 2008. 34(8): p. 1273-9.
140. **Wirbelauer, C., H. Aurich, and D.T. Pham**, *Online optical coherence pachymetry to evaluate intraoperative ablation parameters in LASIK*. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2007. 245(6): p. 775-81.
141. **Bottos, K.M., J.L. Dreyfuss, et al.**, *Immunofluorescence confocal microscopy of porcine corneas following collagen cross-linking treatment with riboflavin and ultraviolet A*. J Refract Surg, 2008. 24(7): p. S715-9.
142. **Sporl, E., M. Huhle, M. Kasper, and T. Seiler**, *[Increased rigidity of the cornea caused by intrastromal cross-linking]*. Ophthalmologe, 1997. 94(12): p. 902-6.
143. **Schilde, T., M. Kohlhaas, E. Spoerl, and L.E. Pillunat**, *[Enzymatic evidence of the depth dependence of stiffening on riboflavin/UVA treated corneas]*. Ophthalmologe, 2008. 105(2): p. 165-9.
144. **Kim, W.S. and J.M. Jo**, *Corneal hydration affects ablation during laser in situ keratomileusis surgery*. Cornea, 2001. 20(4): p. 394-7.
145. **Wirbelauer, C., H. Haberle, and D.T. Pham**, *[Online optical coherence pachymetry in laser in situ keratomileusis]*. Ophthalmologe, 2004. 101(2): p. 140-5.
146. **Genth, U., M. Mrochen, R. Walti, M.M. Salaheldine, and T. Seiler**, *Optical low coherence reflectometry for noncontact measurements of flap thickness during laser in situ keratomileusis*. Ophthalmology, 2002. 109(5): p. 973-8.
147. **Durairaj, V.D., J. Balentine, et al.**, *The predictability of corneal flap thickness and tissue laser ablation in laser in situ keratomileusis*. Ophthalmology, 2000. 107(12): p. 2140-3.
148. **Perez-Santonja, J.J., J. Bellot, P. Claramonte, M.M. Ismail, and J.L. Alio**, *Laser in situ keratomileusis to correct high myopia*. J Cataract Refract Surg, 1997. 23(3): p. 372-85.
149. **Yi, W.M. and C.K. Joo**, *Corneal flap thickness in laser in situ keratomileusis using an SCMD manual microkeratome*. J Cataract Refract Surg, 1999. 25(8): p. 1087-92.
150. **Yildirim, R., C. Aras, A. Ozdamar, H. Bahcecioglu, and S. Ozkan**, *Reproducibility of corneal flap thickness in laser in situ keratomileusis using the Hansatome microkeratome*. J Cataract Refract Surg, 2000. 26(12): p. 1729-32.

151. **Kasetsuwan, N., R.T. Pangilinan, et al.**, *Real time intraocular pressure and lamellar corneal flap thickness in keratomileusis*. *Cornea*, 2001. 20(1): p. 41-4.
152. **Roberts, C.**, *The cornea is not a piece of plastic*. *J Refract Surg*, 2000. 16(4): p. 407-13.
153. **Dupps, W.J., Jr. and C. Roberts**, *Effect of acute biomechanical changes on corneal curvature after photokeratectomy*. *J Refract Surg*, 2001. 17(6): p. 658-69.
154. **Dupps, W.J., Jr. and S.E. Wilson**, *Biomechanics and wound healing in the cornea*. *Exp Eye Res*, 2006. 83(4): p. 709-20.
155. **Porter, J., S. MacRae, et al.**, *Separate effects of the microkeratome incision and laser ablation on the eye's wave aberration*. *Am J Ophthalmol*, 2003. 136(2): p. 327-37.
156. **Potgieter, F.J., C. Roberts, et al.**, *Prediction of flap response*. *J Cataract Refract Surg*, 2005. 31(1): p. 106-14.

## 8 Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: Eigenschaften der Keratektasien .....	6
Tabelle 2: Keratokonus-Klassifikation nach Amsler.....	14
Tabelle 3: Flapdicke nach Mikrokeratomschnitt (intendierte Flapdicke von 150µm) ...	44
Tabelle 4: Flapdicke nach Mikrokeratomschnitt (intendierte Flapdicke von 130µm) ...	45
Tabelle 5: Refraktive Änderung nach LASIK (intendierte Flapdicke von 150µm) .....	47
Tabelle 6: Refraktive Änderungen nach LASIK (intendierte Flapdicke von 130µm) ...	49
Abbildung 1: Aufbau der Hornhaut (aus Lehrbuch der Augenheilkunde, Grehn et al) ...	2
Abbildung 2: Keratektasien (aus Cornea; Krachmer et al).....	7
Abbildung 3: Fortgeschrittener Keratokonus in der Seitansicht (D.Kampik).....	8
Abbildung 4: Prinzip der Kollagenquervernetzung.....	18
Abbildung 5: Reaktionskaskade bei der Bildung von Kollagenquervernetzungen.....	19
Abbildung 6: enukleiertes Schweineauge in Haltevorrichtung.....	29
Abbildung 7: UV-X Corneal Crosslinking System (IROC, Zürich, Schweiz).....	30
Abbildung 8: Carriazzo-Pendular Mikrokeratom (Fa.Schwind, Deutschland).....	32
Abbildung 9: ESIRIS Laserapplikationssystem (Fa.Schwind, Deutschland).....	32
Abbildung 10: Benutzeroberfläche onlineOCP (Fa. Schwind, Deutschland).....	33
Abbildung 11: Dickenmessgerät J15 (Fa. Käfer, Deutschland).....	34
Abbildung 12: Corneal Wavefront Analyzer (Fa.Schwind, Deutschland).....	35
Abbildung 13: Versuchsablauf.....	36
Abbildung 14: Mikrokeratom- und Excimer-Laser-Behandlungsparameter.....	38



Abbildung 15: Schweineauge während Photoablation mit dem ESIRIS .....	39
Abbildung 16: Messung der Refraktion mit dem Keratron-Scout .....	40
Abbildung 17: Placido-basierte Videokeratographie .....	41
Abbildung 18: Topographie-Aufnahme <i>vor</i> und <i>nach</i> LASIK-Korrektur .....	42
Abbildung 19: Mikrokeratomschnitt bei unbehandelten und CXL-behandelten Corneae .....	53
Abbildung 20: Schematische Darstellung der Pendelschnittbewegung (Fa.Schwindt, Deutschland).....	54
Abbildung 21: Flap bei der Reposition.....	55
Abbildung 22: Modell zur Veranschaulichung der biomechanischen Eigenschaften der Cornea und deren Änderung nach einer Photoablation .....	57

## Danksagung

Herrn Professor Dr. med. Franz Grehn, Direktor der Augenklinik und Poliklinik der Universität Würzburg danke ich für die Bereitstellung der technischen Mittel und die Möglichkeit der Durchführung der Experimente an seiner Klinik.

Mein größter Dank gebührt Herrn Professor Dr. med. Gerd Geerling für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit. Ich danke ihm für die stete Ansprechbarkeit, die konstruktive Kritik, die rasche Korrektur sowie die vielfältige Hilfestellung bei allen praktischen und theoretischen Fragen.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. med. Daniel Kampik, der mich engagiert mit seiner fachlichen Kompetenz betreute.

Ein großer Dank gilt Herrn Johann Schmidl, Mitarbeiter der Fa. Schwindt, für die Bereitstellung von technischem Material sowie seiner ausgesprochen hilfreichen und sehr netten Art bei der Lösung technischer Probleme.

Herrn Alois Spahn, Mitarbeiter am Rechenzentrum Würzburg danke ich für die Mithilfe bei der statistischen Auswertung.

Herrn Prof. Dr.rer.nat., Dipl.-Phys., AD Wolfgang Haigis danke ich für die Übernahme des Korreferats.

Besonderen Dank für ihre Unterstützung möchte ich meinen Eltern und meinen Freunden aussprechen.

## **Lebenslauf**

In dieser Version nicht sichtbar