

Therapeutische Quervernetzung der Hornhaut mittels UVA und Riboflavin

Journal:	<i>Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde</i>
Manuscript ID:	KliMo-2007-07-0323-REV
Manuscript Type:	Übersicht
Keyword:	Kornea, Pathologie, Refraktive Chirurgie
Keywords (in English):	Cornea, Pathology, Refractive Surgery
Abstract (if a 2nd language abstract is required, please don't forget to enter the abstract in both languages):	<p>Zusammenfassung Hintergrund: Die Quervernetzung der Hornhaut ist aus dem experimentellen Stadium in die Phase der klinischen Evaluierung getreten. In dieser Arbeit soll der gegenwärtige Stand des Wissens dargestellt werden. Methoden: Es wurde eine Literaturrecherche (medline) nach den Begriffen <input type="checkbox"/>cross-linking<input type="checkbox"/> und <input type="checkbox"/>cornea<input type="checkbox"/> durchgeführt. Aus den 99 Nennungen betrafen 34 das vorliegende Thema. Daneben wurden eigene Daten aus z.T. noch unveröffentlichten Studien verwendet. Ergebnisse: In der ersten Phase (bis 2003) wurden verschiedene Verfahren zur Quervernetzung auf Sicherheit und Wirksamkeit experimentell untersucht. Als bester Ansatz stellte sich die Vernetzung mittels UVA (370 nm) und dem Photomediator Riboflavin heraus, der dann in Pilotstudien klinisch untersucht wurde. Erst seit 2003 finden sich klinische Beobachtungen in der Literatur, die durchweg ein Sistieren der Progression von Keratektasien bis zu 2 Jahren nach der Quervernetzung belegen. In mehr als der Hälfte der beschriebenen Fälle findet sich sogar eine Umkehr der Progression. Auch werden bisher keine Komplikationen beschrieben. Keratozyten gehen in einer Tiefe bis zu 320 µm unter während das Hornhautendothel unbelastet erscheint. Zwei Berichte über den Einsatz bei einschmelzenden Hornhautprozessen zeigen auf, dass die biochemische Wirkung der Quervernetzung Einschmelzprozesse stoppen kann. Schlüsfolgerung: Die gegenwärtige Datenlage zeigt, dass die Quervernetzung der Hornhaut mittels UVA/Riboflavin komplikationsarm ist und ein Fortschreiten von progressiven Keratektasien in vielen Fällen verhindern kann. Für eine klinisch sinnvolle Indikations- und Kontraindikationsliste, aber auch für die Abschätzung der tatsächlichen Wirksamkeit, reichen die zurzeit vorliegenden Daten nicht aus. Multizentrische prospektive Studien sind dringend angeraten.</p> <p>Abstract Background: The method of cross-linking of the cornea using riboflavin and ultraviolet light (UV) has recently entered the phase</p>

of clinical evaluation. The purpose of this paper is to review the current knowledge about corneal cross-linking. **Methods:** A literature research (medline) using the key words "cross-linking" and "cornea" revealed 99 citations. Thirty-four of the 99 articles dealt with the topic and were used for this review. Some of our own as yet unpublished data were also included. **Results:** In a first phase (until 2003) different methods of cross-linking were experimentally compared regarding efficacy and safety. As the most promising compromise the use of UVA (365 nm) and riboflavin as a photomediator was tested in pilot studies on human eyes with progressive keratoconus. In 2003, the first results of such pilot studies were published. Surprisingly, not only a halt in progression was found but in more than half of the eyes treated a regression towards a more regular cornea took place. So far, no complications have been reported. Keratocytes are killed up to 320 microns deep in the stroma and the endothelium appears unaffected. Nine cases of therapy-refractory corneal melting were treated by means of UVA/riboflavin cross-linking and in 8 of the 9 cases the melting process was stopped. **Conclusions:** In the current situation, we can state only that UVA/riboflavin cross-linking of the keratoconus cornea leads in the majority of the cases to a halt of the progression and complications seem to be rare. There are not yet enough data available to establish a list of indications and contraindications. A potential clinical acceptance of the procedure requires the results of prospective controlled studies that are currently underway.



Review

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12 **Therapeutische Quervernetzung der Hornhaut mittels UVA und**
13
14 **Riboflavin**
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Peer Review

1
2
3
4
5
6
7 **Hintergrund:** Die Quervernetzung der Hornhaut ist aus dem experimentellen Stadium in
8 die Phase der klinischen Evaluierung getreten. In dieser Arbeit soll der gegenwärtige Stand
9 des Wissens dargestellt werden.
10
11
12

13
14
15
16 **Methoden:** Es wurde eine Literaturrecherche (medline) nach den Begriffen “cross linking”
17 und “cornea” durchgeführt. Aus den 99 Nennungen betrafen 34 das vorliegende Thema.
18 Daneben wurden eigene Daten aus z.T. noch unveröffentlichten Studien verwendet.
19
20
21
22

23
24
25 **Ergebnisse:** In der ersten Phase (bis 2003) wurden verschiedene Verfahren zur
26 Quervernetzung auf Sicherheit und Wirksamkeit experimentell untersucht. Als bester
27 Ansatz stellte sich die Vernetzung mittels UVA (370nm) und dem Photomediator
28 Riboflavin heraus, der dann in Pilotstudien klinisch untersucht wurde. Erst seit 2003 finden
29 sich klinische Beobachtungen in der Literatur, die durchweg ein Sistieren der Progression
30 von Keratektasien bis zu 2 Jahren nach der Quervernetzung belegen. In mehr als der Hälfte
31 der beschriebenen Fälle findet sich sogar eine Umkehr der Progression. Auch werden
32 bisher keine Komplikationen beschrieben. Keratozyten gehen in einer Tiefe bis zu 320 µm
33 unter während das Hornhautendothel unbelastet erscheint. Zwei Berichte über den Einsatz
34 bei einschmelzenden Hornhautprozessen zeigen auf, dass die biochemische Wirkung der
35 Quervernetzung Einschmelzprozesse stoppen kann.
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52

53 **Zusammenfassung:** Die gegenwärtige Datenlage zeigt, dass die Quervernetzung der
54 Hornhaut mittels UVA/Riboflavin komplikationsarm ist und ein Fortschreiten von
55 progressiven Keratektasien in vielen Fällen verhindern kann. Für eine klinisch sinnvolle
56 Indikations- und Kontraindikationsliste, aber auch für die Abschätzung der tatsächlichen
57
58
59
60

Wirksamkeit, reichen die zurzeit vorliegenden Daten nicht aus. Multizentrische prospektive Studien sind dringend angeraten.

For Peer Review

1
2
3
4
5
6 **Background:** The method of cross-linking of the cornea using riboflavin and ultraviolet
7
8 light (UV) has recently entered the phase of clinical evaluation. The purpose of this paper
9
10 is to review the current knowledge about corneal cross-linking.
11
12

13
14
15 **Methods:** The literature research (medline) using the key words “cross linking” and
16
17 “cornea” revealed 99 citations. Thirty-four of the 99 articles dealt with the topic and were
18
19 used for this review. Own not yet published data were also included.
20
21
22

23
24
25 **Results:** In a first phase (until 2003) different methods of cross-linking were
26
27 experimentally compared regarding efficacy and safety. As the most promising
28
29 compromise the use of UVA (365 nm) and riboflavin as a photomediator was tested in
30
31 pilot studies on human eyes with progressive keratoconus. In 2003, the first results of such
32
33 pilot studies were published. Surprisingly, not only a halt in progression was found but in
34
35 more than half of the eyes treated a regression towards a more regular cornea took place.
36
37 So far, no complications are reported. Keratocytes are killed up to 320 microns deep in the
38
39 stroma and the endothelium appears unaffected. Nine cases of therapy-refractory corneal
40
41 melting were treated by means of UVA/riboflavin cross-linking and in 8 of the 9 cases the
42
43 melting process was stopped.
44
45
46
47
48
49
50

51 **Conclusions:** In the current situation, we can state only that UVA/riboflavin cross-linking
52
53 of the keratoconus cornea leads in the majority of the cases to a halt of the progression and
54
55 complications seem to be rare. There is not enough data available to establish a list of
56
57 indications and contraindications. A potential clinical acceptance of the procedure requires
58
59 results of prospective controlled studies that are currently underway.
60

Einführung

Die Quervernetzung (engl. cross-linking, X-linking) ist Teil einer der ältesten Kulturtechniken der Menschheit, des Gerbens. Dabei werden neue chemische Bindungen innerhalb und zwischen den spannungstragenden Molekülketten eines Bindegewebes geschaffen und dadurch seine biomechanischen aber auch biochemischen Eigenschaften verändert. In den Materialwissenschaften werden Quervernetzungen seit langem zur Aushärtung von Polymerwerkstoffen erfolgreich eingesetzt [8]. In der Humanmedizin fand die Quervernetzung bisher nur vereinzelt Einsatz, zum Beispiel im HNO-Bereich [18, 38] oder an den Herzklappen [23].

Mit zunehmendem Alter nimmt im Bindegewebe, zum Beispiel in der Hornhaut, die natürliche Quervernetzung zu [5, 6, 14, 27] und auch beim Diabetes findet sich eine verstärkte Quervernetzung, die zum Teil für die diabetische Mikroangiopathie verantwortlich gemacht wird [4, 35].

Industriell findet eine Vielzahl von Verfahren zur Quervernetzung Einsatz, die von ionisierender Strahlung über nicht-enzymatischen chemische Reaktionen bis hin zur enzymatischen Vernetzung reichen. Aus diesem Spektrum bietet sich an der Hornhaut die Photopolymerisation an [41], da einerseits die Hornhaut optisch transparent und andererseits an der Oberfläche des Körpers mit Licht gut zugänglich ist.

Eine biomechanische Verfestigung der Hornhaut ist wünschenswert bei allen Formen der Keratektasie, sei es der Keratokonus, die pelluzidale marginale Hornhautdegeneration oder die iatrogene Keratektasie nach LASIK. Auch eine etwaige biochemische Verbesserung

1
2
3
4 der Resistenz gegen katalytische Enzyme durch Quervernetzung kann vorteilhaft sein, zum
5
6 Beispiel bei therapierefraktären Einschmelzungsvorgängen.
7
8
9

10
11 In dieser Arbeit soll ein Überblick über den bisherigen Kenntnisstand der Quervernetzung
12
13 der Hornhaut gegeben werden.
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Peer Review

Verwendete Verfahren

In umfangreichen in vitro- aber auch Tierversuchen hat sich der Ansatz mit UV-Licht unter Zuhilfenahme des Photomediators Riboflavin als sinnvoll herausgestellt [44, 45].

Riboflavin ist als Vitamin B2 von sich aus nichttoxisch und absorbiert Licht in 3 Banden (Abb. 1): im fernen UV (unter 300 nm), im UVA (bei 370 nm) und im optischen Bereich (blau, 440 nm). Bei der Absorption von Licht entstehen kurzlebige Sauerstoffradikale, die dann die neuen Quervernetzungsbindungen induzieren. Von den 3 Absorptionsbanden kommt das ferne UV weniger in Frage, da dessen Mutagenität nachteilig sein kann [15].

Vom blauen Licht haben wir Abstand genommen, da bei ungenügender Absorption im vorderen Augenabschnitt der Blaulichtschaden in der Makula zu befürchten ist [36].

Obwohl auch die die Wellenlänge um 370 nm nicht frei vom Risiko aktinischer Schäden ist [7], wurden im weiteren Behandlungsparameter für die Kombination Riboflavin/UVA in Tierexperimenten gesucht, die zum zurzeit üblichen Standardverfahren geführt haben.

Standardverfahren

Zuerst wird unter Tropfanästhesie in einem Areal mit dem Durchmesser 9 mm eine vollständige oder teilweise Abrasio corneae durchgeführt. Das intakte Hornhautepithel stellt nämlich eine Diffusionsbarriere für Riboflavin dar. Danach wird bei liegendem Patienten alle 3 Minuten für eine halbe Stunde 0,1%-ige Riboflavinlösung getropft (Lidsperrer !). Diese Lösung wurde durch Zumischung von 20% Dextran isoosmotisch zum cornealen Stroma gemacht um unkontrollierte Quellung zu vermeiden. Danach wird an der Spaltlampe mit Blaulicht sichergestellt, dass Riboflavin das Stroma durchdrungen hat und in der Vorderkammer sichtbar ist. Mittels Ultraschallpachymetrie muss nun eine

1
2
3
4 Mindestdicke von 400 μm gemessen werden um potentielle Endothelschäden
5
6 auszuschliessen. Sind dies Bedingungen erfüllt findet die UV-Bestrahlung mit einer
7
8 Leistungsdichte von 3 mW/cm^2 für weitere 30 Minuten statt. Während dieser Zeit wird die
9
10 Hornhaut mit Riboflavinlösung und Lokalanästhetikum feucht gehalten. Am Ende wird die
11
12 Erosio mit Antibiotikumsalbe (z.B. Floxal) und evtl. einer Verbandslinse bis zum
13
14 Epithelschluss versorgt. Nach der Epithelheilung kann mit einem milden Steroid (z.B.
15
16 Fluorometholon) bis zum Abklingen des Reizzustandes nachbehandelt werden.
17

22 23 Verfahren ohne Erosio (C3-R)

24
25
26
27 Um die Probleme der Erosio corneae zu umgehen wurden Alternativen der
28
29 Riboflavinapplikation ohne Eröffnung des Epithels vorgeschlagen [10]. Dabei konnte man
30
31 auf die Erfahrung mit der Fluorophotometrie zurückgreifen, da Riboflavin und Fluorescein
32
33 ein ähnliches Molekulargewicht haben (Riboflavin: 376 g/mol , Fluorescein: 332 g/mol)
34
35 und beides unpolare organische Moleküle sind. Die Diffusionsbarriere soll durch 5%iges
36
37 Benzalkoniumchlorid und Tetracain aufgebrochen werden (S. Herekar, Priavision, San
38
39 Francisco, persönliche Mitteilung) aber deren Einwirkzeit ist bisher nicht berichtet. Auch
40
41 eine höhere Riboflavinkonzentration der Tropflösung und veränderte
42
43 Bestrahlungsparameter bei diesem Ansatz müssen noch diskutiert werden, da bisher keine
44
45 experimentell gesicherten Daten über die optimale Konzentration, Tropfzeit und
46
47 Bestrahlungsparameter in der Literatur vorgelegt wurden. Es ist zu befürchten, dass mit
48
49 diesem Verfahren ein weitaus geringerer Vernetzungsgrad im Stroma erzielt wird (siehe
50
51 unten).
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Experimentelle Ergebnisse

Experimentelle Untersuchungen wurden bezüglich der Wirksamkeit der Quervernetzung, der Optimierung der Parameter und der Nebenwirkungen der Quervernetzung unternommen.

Wirkungen der Quervernetzung

Bereits 1997 zeigten Spoerl und Mitarbeiter an Schweinehornhäuten, dass mit der Kombination von Riboflavin und UV-Licht eine signifikante Erhöhung der Festigkeit der Hornhaut möglich ist [44]. Der Effekt war ebenso stark wie bei einer Vernetzung mittels einer 0,1%-igen Glutaraldehyd-Lösung. Ein Vergleich mit anderen Methoden der Quervernetzung zeigte, dass mit Glutaraldehyd- oder Karnovski-Lösung aber auch mit einfachen Zuckerlösungen ebensolche Verfestigungen erreicht werden können [45]. Um mit Zuckerlösungen einen klinisch erwünschten Effekt zu erzielen sind allerdings Inkubationszeiten von 14 Tagen nötig. Später legten Wollensak und Mitarbeiter genauere Daten vor, wonach bei Einsatz von 0.1%iger Riboflavinlösung und einer 30 minütigen UV-Bestrahlung ($I=3\text{mW}/\text{cm}^2$, $\lambda=370\text{ nm}$) bei Schweinehornhäuten eine Verfestigung um den Faktor 1,8, bei menschlichen Hornhäuten um den Faktor 4,5 bewirkt wird [49]. Allerdings sind auch diese Werte nicht direkt auf die Klinik zu übertragen, da bei den Experimenten in den verwendeten Hornhautstreifen eine Riboflavinsättigung vorlag, wie sie beim klinischen Verfahren nur in den obersten Schichten der Hornhaut erzielt wird.

1
2
3
4 Die Frage der molekularen Lokalisation der Quervernetzung wurde durch eine weitere
5
6 Arbeit der Dresdener Arbeitsgruppe bearbeitet. Der Durchmesser der cornealen
7
8 Kollagenfibrillen nimmt nach der Quervernetzung um etwa 10% zu [54], was zeigt, dass
9
10 mit Bestimmtheit intrafibrillär neue chemische Bindungen erzeugt werden. Ob zusätzlich
11
12 auch interfibrilläre Bindungen bei der klinischen Quervernetzung entstehen ist noch
13
14 unbekannt.
15
16

17
18
19
20 Die biochemische Stabilisierung der Hornhaut durch Quervernetzung war Gegenstand
21
22 einer Arbeit aus dem Jahre 2004 [47]. Dabei wurde Schweinehornhaut Enzymlösungen
23
24 (Pepsin, Trypsin, Kollagenase) ausgesetzt und die enzymatische Degradation des Gewebes
25
26 quantitativ festgehalten. Quervernetzte Hornhaut stellte sich hochsignifikant resistenter
27
28 gegenüber enzymatischer Digestion heraus als unbehandelte Hornhaut.
29
30
31
32
33
34
35
36

37 Optimierung von Parametern

38
39
40
41 Die Auswahl der Wellenlänge des verwendeten UV-Lichtes zur Photopolymerisation der
42
43 Hornhaut fiel leicht. Sowohl die experimentellen Vergleiche der 3 Absorptionsbanden
44
45 [44,45] als auch die klinischen Betrachtungen (siehe oben) deuteten klar auf das relative
46
47 Absorptionsmaximum von Riboflavin bei 365 nm hin. Darüber hinaus liegen in der
48
49 Literatur Daten vor, die zeigen, dass bei dieser Wellenlänge eine Bestrahlung mit 3
50
51 mW/cm² für das Hornhautendothel nicht schädlich ist [31,37]. Zusätzlich stehen
52
53 mittlerweile industrielle LEDs (Light Emitting Diode) zur Verfügung, die bei 370 nm
54
55 emittieren und damit wurde der apparative Aufwand geringer.
56
57
58
59
60

1
2
3
4 Eine Bestrahlungszeit von 45 Minuten hätte zwar einen stärkeren Effekt gezeitigt [45],
5
6 jedoch reichten auch 30 Minuten schon aus um eine hochsignifikante Verfestigung zu
7
8 erzielen. Sollte es sich in Zukunft herausstellen, dass der X-linking-Effekt in Einzelfällen
9
10 nicht ausreichend ist, sollte eine längere Bestrahlungszeit in Betracht gezogen werden.
11
12

13
14
15 Die Flächendichte wurde mit 3mW/cm^2 so gewählt, dass die Belastung des Endothels
16
17 durch die UV-Strahlung alleine mindestens einen Faktor 3 unter der zulässigen
18
19 Bestrahlungsstärke liegt [43,48].
20
21

22
23
24
25 Ursprünglich wurde eine Einwirkungszeit des Riboflavins von nur 5 Minuten für
26
27 ausreichend erachtet um das vordere Stroma zu sättigen [46]. Jedoch zeigten
28
29 Modellrechnungen zur Diffusion des Riboflavins im Hornhautstroma, dass sich erst nach
30
31 30 Minuten ein fast linearer Konzentrationsgradient über der Hornhautdicke einstellt (Abb.
32
33 2). Diese hohe Riboflavinkonzentration ist notwendig um einerseits eine tiefer reichende
34
35 Verfestigung zu ermöglichen und andererseits einen besseren Schutz für tiefere Schichten
36
37 (Endothel, Linse) zu erreichen, ein Nebeneffekt der den Namen „riboflavin-shielding“
38
39 erhielt [46].
40
41
42

43
44
45
46 Diese gesamte Parameteroptimierung geht allerdings von einem ungehinderten Eintritt des
47
48 Riboflavins in das Hornhautstroma aus, was bisher nur durch eine Abrasio corneae
49
50 bewerkstelligt werden kann. Für das Verfahren ohne Abrasio müssten die Parameter neu
51
52 evaluiert werden. Die Diffusion des Riboflavins im Stroma geschieht oberflächenparallel
53
54 doppelt so schnell wie senkrecht zur Oberfläche [3], weshalb auch eine partielle Erosio mit
55
56 intakten Epithelinseln zur gleichen Riboflavinsättigung führt (Abb 3). Der Epithelschluss
57
58 wird nach der partiellen Erosio in der Regel bereits am 2. postoperativen Tag erreicht.
59
60

Nebenwirkungen und Komplikationen

Bei den frühen Tierexperimenten (Kaninchen) wurden ausser einer passageren Hornhauttrübung keine Nebenwirkungen beobachtet [46]. Erst bei der histologischen Aufarbeitung zeigte es sich, dass eine wesentliche Beeinträchtigung der Keratozyten aber auch des Hornhautendothels bei der Quervernetzung entstehen kann. Als schädigender Parameter ist dabei primär die Radikalformationsrate anzusehen, die im wesentlichen aus dem Produkt „UV-Intensität x Riboflavinkonzentration“ besteht.

Sowohl in vitro- als auch in vivo-Experimente zeigten, dass Keratozyten durch die UV-Riboflavin Quervernetzung irreversibel geschädigt werden können. Bei der klinisch verwendeten Bestrahlungsstärke von 3 mW/cm² findet eine Keratozytenapoptosis etwa 300 µm tief statt [55]. Dies entspricht einer lokalen Bestrahlungsdichte von 0,35 mW/cm² was in guter Übereinstimmung ist mit der Schädigungsschwelle von 0,45 mW/cm² für Keratozyten in Zellkulturen [56]. Wir müssen also davon ausgehen, dass bei der klinischen Quervernetzung die Keratozyten in den äusseren 300 µm der Hornhaut untergehen. Dieser Zellverlust entsteht hauptsächlich durch die erzeugten Radikale, da die Schädigungsschwelle durch das UV-Licht alleine etwa 10 mal höher, bei 4,5 mW/cm², liegt.

Klinisch bedeutsamer als der Keratozytenverlust ist eine Schädigung des Hornhautendothels einzuschätzen. Auch zu diesem Komplex wurden von Wollensak et al. den Keratozytenexperimenten analoge Untersuchungen vorgelegt [50,51]. Unter

1
2
3
4 Verwendung einer 0,025%-igen Riboflavinlösung wurde in der Zellkultur die
5
6 Schädigungsschwelle zu $0,3 \text{ mW/cm}^2$ bestimmt. Wieder lag die Schädigungsschwelle des
7
8 UVA alleine etwa 10-mal höher. Unter Annahme der klinisch verwendeten Parameter und
9
10 eines linearen Konzentrationsgradienten von Riboflavin über der Hornhautdicke wird diese
11
12 schädigende Radikalformationsrate in einer Tiefe von $310 \mu\text{m}$ erreicht. Ein $400 \mu\text{m}$ von
13
14 der Hornhautoberfläche entferntes Endothel erfährt eine Radikalformationsrate, die etwa
15
16 einen Faktor 2 unter der Schädigungsschwelle liegt.
17
18
19
20
21

22 Auch das Quellungsverhalten der Hornhaut kann mit der Quervernetzung beeinflusst
23
24 werden. Wollensak und Mitarbeiter zeigten, dass quervernetzte Hornhaut deutlich weniger
25
26 quillt [57], was von J. Hjordal et al. bereits 2006 berichtet wurde (Vortrag gehalten bei der
27
28 NOK, Kopenhagen, Juni, 2006).
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Klinische Ergebnisse

Klinische Ergebnisse, die wissenschaftlich akzeptabel sind, wurden bisher nur von wenigen Arbeitsgruppen veröffentlicht. Leider sind die Langzeitbeobachtungen (> 5 Jahre) der Dresdener Arbeitsgruppe bisher nur in Form einer Dissertation verfügbar (E Spoerl, persönliche Mitteilung).

Die ersten klinisch verwertbaren Informationen wurden 2003 in Form einer Beobachtungsstudie an 22 Patienten mit einer mittleren Beobachtungszeit von 23 Monaten vorgestellt [52,54]. Bemerkenswert war hier die Tatsache, dass die Behandlung in allen Fällen zu einem Halt der vorher dokumentierten Progression führte und darüber hinaus in 12 von 20 Fällen (60%) eine Reduktion der maximalen Hornhautbrechkraft um mehr als eine Dioptrie erfolgte. Auch über eine mittlere Zunahme des Visus um mehr als eine Dezimalzeile wurde berichtet. Weder die Transparenz der Hornhaut oder der Linse noch die Endothelzellzahlen waren bei der letzten Kontrolle gegenüber präoperativ verändert.

Erst 2006 stellte die Arbeitsgruppe aus Siena Dreimonats-Daten vor [9], die mittels cornealer Topographie an 10 Augen zeigten, dass sich bereits frühpostoperativ ein Trend zur besseren Symmetrie der Hornhautoberfläche einstellt. Das nicht behandelte Partnerauge zeigte eine signifikante Progression in 37% der Fälle. Wieder wird über eine Besserung des Visus berichtet.

Von unserer Arbeitsgruppe in Zürich stammt eine Einjahres-Kontrolle mittels Scheimpflug-Photographie [21], die den Regularisierungsprozess an der Hornhaut im ersten postoperativen Jahr bestätigt (Abb. 4) und aufzeigt, dass dieser Prozess auch nach

1
2
3
4 einem Jahr noch nicht abgeschlossen ist. Auffällig ist, dass dieser Prozess auch zum Teil
5
6 deutliche Veränderungen der Refraktion in Richtung Myopie nach sich zieht. Eine
7
8 statistisch signifikante Visusverbesserung konnten wir im Gegensatz zu den Dresdener und
9
10 Siener Berichten nicht beobachten.
11

12
13
14
15 Ebenfalls aus Siena stammen die ersten Untersuchungen mittels konfokaler Mikroskopie
16
17 [28], die einerseits einen Verlust von Keratozyten nach einem Monat bis zu 320 μm tief
18
19 belegten und andererseits die Wiederbesiedelung mit eingewanderten Keratozyten
20
21 innerhalb von 6 Monaten zeigen konnten. In der konfokalen Mikroskopie werden
22
23 Keratozyten über die optische Reflektivität ihrer Zellkerne nachgewiesen und es ist zur
24
25 Zeit noch nicht gesichert, ob die Quervernetzung tatsächlich zum totalen Zelluntergang
26
27 führt oder nicht doch nur zur Veränderung der optischen Eigenschaften der Keratozyten
28
29 (R. Guthoff, persönliche Mitteilung, Halle, 2007). In der gleichen Arbeit wird berichtet,
30
31 dass in den konfokal- mikroskopischen Aufnahmen eine Veränderung des
32
33 Hornhautendothels nicht sichtbar war in Bezug auf Zelldichte und Zellmorphometrie.
34
35
36
37
38
39
40

41 Bei Patienten, bei denen die Quervernetzung ohne Epithelabrasio durchgeführt wurde,
42
43 zeigt die konfokale Mikroskopie ein gänzlich anderes Keratozytenverhalten (Abb. 5).
44
45 Bereits nach einem Monat findet sich unmittelbar unter der Bowmanschen Schicht ein
46
47 normales Muster, was belegt, dass die Keratozyten bei dieser Behandlungsform nicht
48
49 beschädigt werden. Da die Schädigung der Keratozyten über die erzeugten freien Radikale
50
51 geschieht, ist andererseits aber auch anzunehmen, dass bei dieser Behandlung auch
52
53 weniger cross-links entstehen.
54
55
56
57
58
59
60

1
2
3
4 Die erste Quervernetzung einer Hornhaut mit iatrogener Keratektasie nach LASIK wurde
5
6 von Kohlhaas in Dresden [25] durchgeführt. Während in diesem ersten Fall nur eine
7
8 Stabilisierung eintrat, finden sich in anderen Berichten zum Teil deutliche Regressionen
9
10 der Keratektasie [19] (Abb. 6).
11
12

13
14
15 In der Literatur zeichnen sich nun auch die ersten Berichte von Kombinationen der
16
17 Quervernetzung mit anderen Verfahren ab. Eine gleichzeitige Verwendung von
18
19 intrastromalen Ringen beim Keratokonus und Quervernetzung scheint bessere Ergebnisse
20
21 zu zeitigen als bei Verwendung von Ringen alleine [10].
22
23
24

25
26
27 Einschmelzende Hornhautprozesse sind eine gefürchtete Komplikation bei infektiösen
28
29 Keratitiden (z.B. Pseudomonas) [29], kommen aber auch isoliert bei rheumatischen
30
31 Erkrankungen in Folge von Mikrotraumata vor [32]. Schnitzler und Mitarbeiter konnten in
32
33 3 von 4 Fällen von nicht-infektiösen Hornhauteinschmelzungen mittels Quervernetzung
34
35 die weitere Progression verhindern [40]. Auch bei infektbedingten Einschmelzungen ist die
36
37 Quervernetzung wirksam, was Iseli und Mitarbeiter berichten [22].
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Diskussion

In einigen der Publikationen, insbesondere solchen, die an Kliniker gerichtet sind, wird die Quervernetzung als „safe and effective“ deklariert. Dies ist zum gegenwärtigen Zeitpunkt sicher noch eine Übertreibung, obwohl die vorliegenden Daten nahe legen, dass das Verfahren komplikationsarm und auch in vielen Fällen wirksam eine weitere Progression der Keratektasie zu verhindern vermag. Nach den FDA-Richtlinien ist ein Verfahren dann „safe“, wenn in prospektiven kontrollierten Studien die Komplikationsrate unter 5% bzw. 2% liegt. Um eine solche Feststellung zu treffen ist rein mathematisch eine Stichprobengröße von $n = 100$ bzw. $n = 250$ notwendig [39]. Die Gesamtzahl aller bisher publizierten Fälle liegt aber noch unter 100, ganz zu schweigen davon, dass ein nicht einheitliches Studienprotokoll diesen Studien zugrunde liegt. Es besteht daher ein Bedarf für eine oder mehrere prospektive Studien, einerseits um seltene Komplikationen zu erfassen, andererseits aber auch um Indikationslisten zu erstellen und zu bewerten. Zum Beispiel wissen wir bis heute nicht ob die Hornhaut jüngerer Patienten besser zu stabilisieren ist als die von älteren Patienten, die schon über eine altersentsprechend stärkere natürliche Quervernetzung verfügen. Oder: Ist die Reaktion einer pelluzidalen marginalen Hornhautdegeneration gleich der beim Keratokonus? Wie geht die Keratokonusstufe in das zu erwartende Ergebnis ein?

Gegenwärtig ist eine einheitliche Theorie zur Ätiologie der Keratektasie nicht bekannt. Eine Reihe von Erkenntnissen deuten jedoch darauf hin, dass einerseits biochemische Prozesse [34] (z.B. Metallproteinasen, Kollagenasen) am Geschehen ebenso beteiligt sind wie eine veränderte Struktur der extrazellulären Matrix [33] und der Zelluntergang bei Keratozyten [24]. Gesichert ist, dass die Keratokonushornhaut über eine etwa 50%

1
2
3
4 niedrigere Festigkeit verfügt als die normale Hornhaut [2,15]. Ob diese mangelnde
5
6 Festigkeit Folge oder Ursache der Keratektasieprozesse ist erscheint unklar. Bei der
7
8 Quervernetzung wird im vorderen Stroma beides, die Rigidität und die Resistenz des
9
10 Kollagens gegenüber katalytischen Enzymen, erhöht. Nicht bekannt ist, welche dieser
11
12 Wirkungen die Dominierende bei der Verhinderung weiterer Progression der Keratektasie
13
14 ist.
15
16

17
18
19
20 Die Progression der Keratektasie verläuft bei Patienten unter 20 Jahren oft fulminant und
21
22 verlangsamt sich mit zunehmendem Alter. Gleichzeitig nimmt die Quervernetzung in der
23
24 Hornhaut und ihre Festigkeit mit dem Alter zu [16] und so liegt es nahe den
25
26 Quervernetzungsgrad für die Verlangsamung der Progression mit zunehmendem Alter
27
28 verantwortlich zu machen. So gesehen nimmt die therapeutische Quervernetzung eine
29
30 natürliche Alterung der Hornhaut bezüglich ihrer Festigkeit vorweg. Auch vom Diabetes
31
32 scheint eine protektive Wirkung gegen Keratektasie auszugehen [26,42], wofür wiederum
33
34 eine erhöhte Quervernetzung des Bindegewebes beim Diabetiker verantwortlich gemacht
35
36 wird. Im arabischen Raum wird Honig topisch bei Hornhauterkrankungen eingesetzt (Al-
37
38 Rajhi A, King Khaled Eye Spezialist Hospital, Riad, Saudi Arabien, persönliche Mitteilung
39
40 2007), eine Therapie, die vor dem Hintergrund der experimentell nachgewiesenen
41
42 Quervernetzung der Hornhaut durch Zucker in einem neuen Licht erscheint.
43
44
45
46
47
48
49
50

51 Ursprünglich entwickelten wir die Quervernetzung mit dem Ziel die Progression der
52
53 Keratektasie „einzufrieren“. Umso überraschter waren wir festzustellen, dass darüber
54
55 hinaus es sowohl bei der natürlichen als auch bei der iatrogenen Keratektasie in mehr als
56
57 der Hälfte der Fälle zu einer „Regression“ kommt. Der Mechanismus dieser optischen
58
59 Homogenisierung der Hornhaut und seine Dauer sind unbekannt, jedoch kann er erhebliche
60

1
2
3
4 Refraktionsänderungen bei Sphäre ebenso wie beim Zylinder induzieren. In diesem
5
6 Zusammenhang muss auch die nachfolgende optische Rehabilitation diskutiert werden.
7
8 Bereits einen Monat nach der Quervernetzung können optische Hilfsmittel, Brille ebenso
9
10 wie Kontaktlinse, verschrieben werden, allerdings mit der Massgabe, dass sich die Werte
11
12 im Laufe der nächsten Monate noch verändern können. Eine verschiedentlich
13
14 vorgeschlagene topographie-geführte PRK zur optischen Homogenisierung der
15
16 Hornhautform nach der Quervernetzung (z.B. Kanellopoulos AJ, Kurs 498, American
17
18 Academy of Ophthalmology, Las Vegas, 2006) ist daher in doppelter Hinsicht als
19
20 problematisch einzuschätzen: einerseits ändert sich die Hornhautform noch mindestens ein
21
22 Jahr nach der Quervernetzung und andererseits wird der Teil der Hornhaut, der die grösste
23
24 Festigkeit aufweist, die Bowmansche Schicht und das quervernetzte vordere Stroma
25
26 teilweise entfernt und damit die wiedergewonnene biomechanische Stabilität riskiert. Der
27
28 Einsatz von intrastromalen Ringen zur Stabilisierung der Keratokonushornhaut erfreut sich
29
30 seit einigen Jahren zunehmender Beliebtheit [12]. Erst vor kurzem zeigten Alio und
31
32 Mitarbeiter jedoch, dass die Progression des Keratokonus durch intrastromale Ringe nicht
33
34 aufgehalten wird [1], wodurch dem intrastromalen Ring nur noch die Rolle eines Mittels
35
36 zur optischen Rehabilitation der Keratokonushornhaut bei Kontaktlinsenintoleranz
37
38 zukommt. In wieweit eine Kombination mit der cornealen Quervernetzung klinisch
39
40 sinnvoll ist müssen weitere Studien zeigen.
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50

51 Bei der Sicherheit der Quervernetzung stehen Keratozyten und das Hornhautendothel im
52
53 Blickpunkt. Die Belastung intraokularer Strukturen wie Iris, Linse und Retina durch noch
54
55 durchdringendes UV-Licht ist unkritisch, da die Restintensitäten zum Teil
56
57 Grössenordnungen unter den Schädigungsschwellen liegen [48]. Ein partieller
58
59 Keratozytenverlust ist auch nach anderen Eingriffen bekannt, z.B. nach PRK und LASIK
60

1
2
3
4 [20], und führte auch dort nicht zu klinischen Problemen. Die angeblich problemlose
5
6 Wiederbesiedelung mit Keratozyten steht allerdings im Gegensatz zu einer neuerdings
7
8 berichteten verminderten Keratozytendichte lange Zeit nach PRK [17]. Da die
9
10 Keratozytenapoptosis mit der Genese der Keratektasie in Verbindung gebracht wird [24]
11
12 sind weiterführende Kontrollen der Keratozytendichte über Jahre nach der Quervernetzung
13
14 angeraten. Die Mutagenität der UVA-Behandlung wurde über DNA-Schäden und
15
16 Chromosomenaberrationen mit und ohne Riboflavin in Mausfibrozytenkulturen belegt [7].
17
18 Dieser Nachweis ist allerdings so nicht auf die Hornhaut zu übertragen, da, im Gegensatz
19
20 zu Fibrozyten, sich auch schon bei normalen humanen Keratozyten in bis zu 30% der
21
22 Zellen Chromosomenaberrationen finden [30], und betroffene Keratozyten im Bereich der
23
24 Radikalformation der vorderen Hornhaut ohnehin untergehen. Die vorgeschlagene
25
26 Schutzwirkung von Vitamin C kommt in der Klinik nicht in Frage, da Vitamin C als
27
28 Radikalfänger in der Hornhaut wohl auch die Quervernetzung reduzieren würde.
29
30 Andererseits liegt im Kammerwasser schon eine hohe Konzentration von Ascorbat
31
32 physiologisch vor [11] und damit sind intraokulare Strukturen zusätzlich vor eventuell in
33
34 der Vorderkammer entstehenden Radikalen geschützt.
35
36
37
38
39
40
41
42
43

44 Ungleich kritischer ist der Schutz des Hornhautendothels zu betrachten, bedingt durch die
45
46 essentielle Rolle, die es bei der Transparenz der Kornea spielt, und das äusserst geringe
47
48 Reproduktionspotential, das humanes Hornhautendothel in situ hat. Bei der zurzeit klinisch
49
50 verwendeten Parameterkonstellation ($I = 3 \text{ mW/cm}^2$, $c_{\text{ribo}} = 0,1\%$) ist die
51
52 Schädigungsschwelle etwa $310 \mu\text{m}$ hinter der Hornhautoberfläche erreicht. Dieser Wert ist
53
54 abhängig von der Bestrahlungsstärke und der Riboflavinkonzentration und bereits eine
55
56 Erhöhung der Bestrahlungsstärke von 3 auf 4 mW/cm^2 verschiebt die Schädigungsschwelle
57
58 um etwa $50 \mu\text{m}$ nach hinten [55]. Dies stellt besondere Anforderungen an die Optik des
59
60

1
2
3
4 Bestrahlungssystem, bei dem es keine „hot spots“ geben und eine Variation des
5
6 Bestrahlungsabstandes nicht zur Erhöhung der Bestrahlungsstärke führen darf. Die
7
8 Riboflavinkonzentration ist ebenfalls kritisch bezüglich zu hoher und zu geringer Werte:
9
10 bei zu geringer Konzentration ist das „riboflavin shielding“ geringer, bei zu hoher
11
12 Konzentration nimmt die Radikalformationsrate zu. Es mag durchaus sein, dass nach
13
14 Vorliegen eines geeigneten theoretischen Modells die Parameter Bestrahlungsstärke und
15
16 Riboflavinkonzentration für eine vorher gemessene Hornhautdicke individuell angepasst
17
18 werden können. Bis zum Vorliegen eines solchen experimentell geprüften Modells jedoch
19
20 sollten die jetzt verwendeten Parameter nicht verändert werden um die grösstmögliche
21
22 Sicherheit für das Endothel zu gewährleisten. Vor diesem Hintergrund ist es auch dringend
23
24 geraten für das Verfahren ohne Epithelabrasio die Parameteroptimierung experimentell zu
25
26 erstellen und in sorgfältig geplanten vergleichenden Studien zu prüfen, ob die reduzierte
27
28 Quervernetzung ausreicht um die Hornhaut biomechanisch/biochemisch dauerhaft zu
29
30 stabilisieren.
31
32
33
34
35
36
37
38

39 Zusammenfassend stellt die Quervernetzung der Hornhaut ein Verfahren dar, bei dem es
40
41 zum ersten Mal gelungen ist die Progression von Keratektasien anzuhalten und bei etwa
42
43 der Hälfte der Fälle sogar umzukehren. Allerdings fehlen zurzeit noch wesentliche
44
45 Voraussetzungen für eine wissenschaftliche Anerkennung: Kontraindikationen und
46
47 Komplikationsraten sind noch nicht bekannt und Langzeiterfahrungen sind noch nicht
48
49 genügend dokumentiert.
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Literatur

1. Alio JL, Shabayek MH, Artola A

Intracorneal ring segments for keratoconus correction: long-term follow-up

J Cataract Refract Surg 2006;32:978-85

2. Andreassen TT, Simonsen AH, Oxlund H

Biomechanical properties of keratoconus and normal corneas

Exp Eye Res 1980;31:435-41

3. Araie M, Maurice D

The rate of diffusion of fluorophores through the corneal epithelium and stroma.

Exp Eye Res 1987;44:73-87

4. Avery NC, Bailey AJ

The effects of the Maillard reaction on the physical properties and cell interactions of collagen

Pathol Biol (Paris). 2006;54:387-95

5. Bailey AJ

Structure, function and ageing of the collagens of the eye

Eye 1987; 1: 175-83

6. Bailey AJ, Paul RG, Knott L

Mechanisms of maturation and ageing of collagen

Mech Ageing Dev 1998; 106: 1-56

7. Besaratinia A, Kim SI, Bates SE, Pfeifer GP

1
2
3
4 Riboflavin activated by ultraviolet A1 irradiation induces oxidative DNA damage-
5
6 mediated mutations inhibited by vitamin C
7
8 Proc Natl Acad Sci USA. 2007;104:5953-8
9

10
11
12
13 8. Billmeyer F
14

15
16 Textbook of Polymer Science. 2nd ed., John Wiley and Sons, Inc.: NY , 1971
17

18
19
20 9. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C, Traversi CI, Caporossi T
21

22
23 Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A induced cross-linking
24
25 of corneal collagen
26
27 J Cataract Refract Surg 2006;32:837-45
28

29
30
31
32 10. Chan CC, Sharma M, Wachler BS.
33

34
35 Effect of inferior-segment Intacs with and without C3-R on keratoconus.
36
37 J Cataract Refract Surg. 2007;33:75-80
38

39
40
41 11. Cole DF
42

43
44 Ocular fluids. In: The eye. Davson H, Hrsg. London: Academic Press; 1984. S. 352-54
45

46
47 12. Colin J, Cochener B, Savary G, Malet F
48

49
50 Correcting keratoconus with intracorneal rings
51
52 J Cataract Refract Surg 2000;26:1117-22
53

54
55 13. Colella CM, Bogani P, Agati G, Fusi F
56

57
58 Genetic effects of UV-B: mutagenicity of 308 nm light in Chinese hamster V79 cells.
59
60 Photochem Photobiol 1986; 43:437-42

1
2
3
4
5
6 14. Daxer A, Misof K, Grabner B, et al.

7
8 Collagen fibrils in the human corneal stroma: structure and aging

9
10 Invest Ophthalmol Vis Sci 1998; 39: 644-8

11
12
13
14
15 15. Edmund C

16
17 Corneal elasticity and ocular rigidity in normal and keratoconic eyes

18
19 Acta Ophthalmol 1988;66:134-40

20
21
22 16. Elsheikh A, Wang D, Brown M, Rama P, Campanelli M, Pye D.

23
24 Assessment of corneal biomechanical properties and their variation with age.

25
26 Curr Eye Res. 2007;32:11-9

27
28
29 17. Erie JC, Patel SV, McLaren JW, Hodge DO, Bourne WM.

30
31 Corneal keratocyte deficits after photorefractive keratectomy and laser in situ
32 keratomileusis.

33
34 Am J Ophthalmol 2006;141:799-809

35
36
37
38 18. Ersek RA, Derlerm AG

39
40 Processed irradiated bovine cartilage for nasal reconstruction

41
42 Annals Plastic Surgery 1988; 20: 540-6

43
44
45
46 19. Hafezi F, Kanellopoulos J, Wiltfang R, Seiler T

47
48 Corneal collagen cross-linking with riboflavin/UVA for the treatment of induced

49
50 keratectasia after laser in situ keratomileusis

51
52 J Cataract Refract Surg 2007 (zur Publikation angenommen)

53
54
55
56
57
58
59
60 20. Helena MC, Baerveldt F, Kim WJ, Wilson SE

1
2
3
4 Keratocyte apoptosis after corneal surgery

5
6 Invest Ophthalmol Vis Sci. 1998;39:276-83

7
8
9
10
11 21. Iseli HP, Koller T, Hafezi F, Seiler T

12
13 Corneal shape factors after crosslinking detected by Scheimpflug imaging

14
15 Cornea 2007 (zur Publikation angenommen)

16
17
18
19
20 22. Iseli HP, Thiel M, Hafezi F, Kampmeier J, Seiler T

21
22 UV Cross linking in cases of infectious keratitis associated with corneal melting

23
24 Cornea 2007 (zur Publikation eingereicht)

25
26
27
28 23. Jamieson WR

29
30 Advanced technologies for cardiac valvular replacement, transcatheter innovations and
31 reconstructive surgery

32
33 Surg Technol Int 2006; 15: 149-87

34
35
36
37 24. Kaldawy RM, Wagner J, Ching S, Seigel GM

38
39 Evidence of apoptotic cell death in keratoconus

40
41 Cornea 2002;21:206-9

42
43
44
45 25. Kohlhaas M, Spoerl E, Speck A, Schilde T, Sandner D, Pillunat LE.

46
47 Eine neue Behandlung der Keratektasie nach LASIK durch Kollagenvernetzung mit

48
49 Riboflavin/UVA-Licht

50
51
52
53 Klin Monatsbl Augenheilkd 2005;222:430-36

54
55
56
57 26. Kuo IC, Broman A, Pirouzmanesh A, Melia M.

58
59 Is there an association between diabetes and keratoconus?

60
Ophthalmology. 2006;113:184-90

1
2
3
4
5
6 27. Malik NS, Moss SJ, Ahmed N, Furth AJ, Wall RS, Meek KM

7
8 Aging of the human corneal stroma: structural and biochemical changes

9
10 Biophys Acta 1992, 1138: 222-8

11
12
13
14
15 28. Mazzotta C, Balestrazzi A, Traversi C, et al.

16
17 Treatment of progressive keratoconus by riboflavin-UVA-induced cross-linking of corneal

18
19 collagen: ultrastructural analysis by Heidelberg Retinal Tomograph II in vivo confocal

20
21
22 microscopy in humans.

23
24
25 Cornea. 2007;26:390-7

26
27
28
29 29. McElvanney AM

30
31 Doxycycline in the management of pseudomonas corneal melting: two case reports and a

32
33
34 review of the literature.

35
36
37 Eye Contact Lens 2003;29:258-61

38
39
40 30. Pettenati MJ, Sweatt AJ, Lantz P, et al.

41
42 The human cornea has a high incidence of acquired chromosome abnormalities.

43
44
45 Hum Genet. 1997;101:26-9

46
47
48 31. Pitts DG, Cullen AP, Hacker PD

49
50 Ocular effects of ultraviolet radiation from 295-365 nm

51
52
53 Invest Ophthalmol Vis Sci 1977;16 :932-39

54
55
56
57 32. Pleyer U, Bergmann L, Krause A, Hartmann C

1
2
3
4 Autoimmunerkrankungen der peripheren Hornhaut. Immunpathologie, Klinik und
5
6 Therapie

7
8 Klin Monatsbl Augenheilkd 1996; 208:73-81
9

10
11
12
13 33. Radner W, Zehetmayer M, Skorpik C, Mallinger R
14
15 Altered organization of collagen in the apex of keratoconus corneas
16
17 Ophthalmic Res 1997;30:327-32
18

19
20
21 34. Rehany U, Lahav M, Shoshan S
22
23 Collagenolytic activity in keratoconus
24
25 Ann Ophthalmol 1982;14:751-54
26

27
28 35. Reiser KM
29
30 Nonenzymatic glycation of collagen in aging and diabetes
31
32 Proc Soc Exp Biol Med 1991, 16: 17-26
33
34

35
36
37 36. Remé C, Reinboth J, Clausen M, Hafezi F
38
39 Light damage revisited: converging evidence, diverging views?
40
41 Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1996;234:2-11
42
43
44

45
46
47 37. Ringvold A, Davanger M, Olsen EG
48
49 Changes of the corneal endothelium after ultraviolet radiation
50
51 Acta Ophthalmol 1982;60:41-53
52
53

54
55
56 38. Rotter N, Aigner J, Naumann A, et al.
57
58
59
60

1
2
3
4 Cartilage reconstruction in head and neck surgery: comparison of resorbable polymer
5
6 scaffolds for tissue engineering of human septal cartilage.

7
8 J Biomed Mater Res 1998; 42: 347-56
9

10
11
12
13 39. Sachs L

14 Angewandte Statistik, 7. Aufl. Berlin: Springer-Verlag; 1992. S. 439
15
16
17

18
19 40. Schnitzler E, Spoerl E, Seiler T

20 Bestrahlung der Hornhaut mit UV-Licht und Riboflavingabe als neuer
21
22

23 Behandlungsversuch bei einschmelzenden Hornhautprozessen
24
25

26 Klin Monatsbl Augenheilkd. 2000;217:190-3
27
28
29

30
31 41. Scranton AB, Bowman CN, Peiffer RW.

32 Photopolymerization: fundamentals and applications.
33
34

35 ACS symposium series 673. Washington, DC: American Chemical Society, 1997
36
37
38
39

40 42. Seiler T, Huhle S, Spoerl E, Kunath H

41 Manifest Diabetes and keratoconus: a retrospective case.control study
42
43

44 Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 2000;238:822-5
45
46
47

48 43. Sliney DH

49 Dosimetry for ultraviolet radiation exposure of the eye. Ultraviolet radiation hazards
50
51
52

53 SPIE 1994; 2134B:2-11
54
55
56

57 44. Spoerl E, Huhle M, Kaspar M, Seiler T

58 Erhöhung der Festigkeit der Hornhaut durch Vernetzung
59
60

1
2
3
4 Ophthalmologe 1997;94:902-906
5
6
7

8
9 45. Spoerl E, Seiler T

10
11 Techniques for stiffening the cornea

12
13 J Refract Surg 1998; 15:711-13
14
15
16
17

18
19 46. Spoerl E, Schreiber J, Hellmund K, Seiler T, Knuschke P

20
21 Untersuchungen zur Verfestigung der Hornhaut am Kaninchen

22
23 Ophthalmologe 2000;97:203-6
24
25
26
27

28
29 47. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T

30
31 Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion

32
33 Current Eye Research 2004;29:35-40
34
35
36
37

38
39 48. Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, Trokel S, Seiler T

40
41 Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea

42
43 Cornea. 2007;26:385-9
44
45
46
47

48
49 49. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T

50
51 Stress-strain measurement of human and porcine corneas after riboflavin-UVA-induced
52 cross-linking

53
54 J Cataract Refract Surg 2003;29:1780-85
55
56
57

58
59 50. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Pillunat L, Funk R

60
Corneal endothelial cytotoxicity of riboflavin/UVA treatment in vitro

1
2
3
4 Ophthalmic Res 2003;35:324-28
5
6
7

8
9 51. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T

10 Endothelial cell damage after riboflavin-UVA treatment in the rabbit

11
12
13 J Cataract Refract Surg 2003;29:1786-90
14
15
16
17

18 52. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T

19 Behandlung von Keratokonus durch Kollagenvernetzung

20
21
22 Ophthalmologe 2003; 100:44-49
23
24
25
26
27

28 53. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T

29 Riboflavin/Ultraviolet-A-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus

30
31
32 Am J Ophthalmol 2003;135:620-27
33
34
35
36
37

38 54. Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T

39 Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA

40
41
42 Cornea 2004;23:503-507
43
44
45
46
47

48 55. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T

49 Keratocyte apoptosis after corneal collagen cross-linking using riboflavin/UVA treatment

50
51
52 Cornea 2004;23:43-49
53
54
55
56
57

58 56. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Seiler T

59 Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro

60
Eye 2004;18:718-22

1
2
3
4
5
6 57. Wollensak G, Aurich H, Pham DT, Wirbelauer C
7

8 Hydration behavior of porcine cornea crosslinked with riboflavin and ultraviolet A.
9

10 J Cataract Refract Surg. 2007;33:516-21
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

For Peer Review

1
2
3
4 Legenden
5
6
7
8
9

10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Abbildung 1

Absorptionsspektrum von Riboflavin. Neben dem relativen Absorptionsmaximum bei 370 nm liegen noch Absorptionsbanden bei 440 nm (blau) und unter 300 nm (fernes UV) vor.

Abbildung 2

Riboflavinkonzentration in der Hornhaut als Funktion der Einwirkzeit. Die stromale Riboflavinkonzentration fällt nach einer Einwirkzeit von 5 Minuten schon nach 100 µm stark ab, während sich nach 30 Minuten ein nahezu linearer Konzentrationsgradient ausgebildet hat (die Daten stammen von Prof. Dr. Spoerl, Dresden).

Abbildung 3

Hornhaut nach partieller Abrasio corneae und 30 minütiger Riboflavineinwirkung. Da die oberflächenparallele Diffusion des Riboflavins doppelt so schnell wie die Diffusion in die Tiefe ist bildet sich eine homogene Gelbfärbung aus.

Abbildung 4

Keratokoniusindex (Pentacam) im ersten Jahr nach Quervernetzung. Nach 6 und 12 Monaten ist die Reduktion des Keratokoniusindex statistisch signifikant kleiner als präoperativ (n=30, p<0.05). Eine Keratokoniusindex von 1,0 beschreibt eine normale Hornhaut.

Abbildung 5

1
2
3
4 Konfokale Mikroskopie 1 Monat nach X-linking. Abb. 5a zeigt eine typische Aufnahme
5
6 der Hornhautstromas nach Quervernetzung mit Erosio corneae etwa 25 µm tief unter der
7
8 Bowmanschicht: die Keratozytenkerne sind nicht mehr auffindbar was als Zelluntergang
9
10 interpretiert wird. Bei Quervernetzung mit intaktem Epithel finden sich 1 Monat danach in
11
12 25 µm Tiefe Keratozytenkerne in physiologischer Häufigkeit und Erscheinungsbild.
13
14
15
16
17

18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60

Abbildung 6

Regression der iatrogenen Keratektasie nach LASIK. Die Pentacam-Aufnahmen zeigen
rechtes und linkes Auge mit progressiver Keratektasie nach LASIK. Das nichtdominate
rechte Auge wurde am 21.4.2005 mit Quervernetzung behandelt. Fünf Monate später zeigt
sich eine deutliche Regression beim behandelten Auge, während beim unbehandelten
linken Auge die Keratektasie eher zunahm.

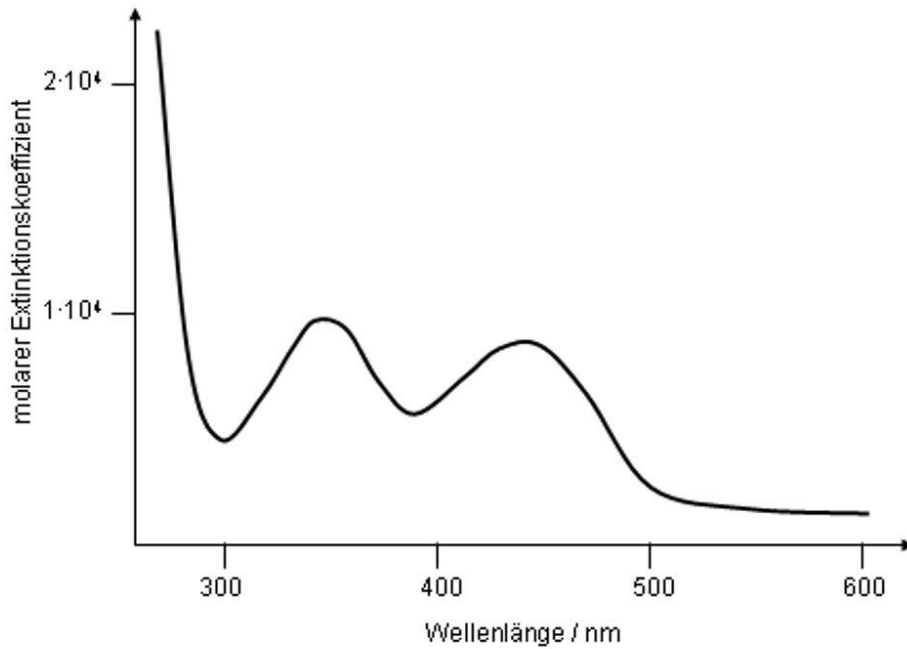


Abbildung 1 Absorptionsspektrum von Riboflavin. Neben dem relativen Absorptionsmaximum bei 370 nm liegen noch Absorptionsbanden bei 440 nm (blau) und unter 300 nm (fernes UV) vor.

270x203mm (96 x 96 DPI)

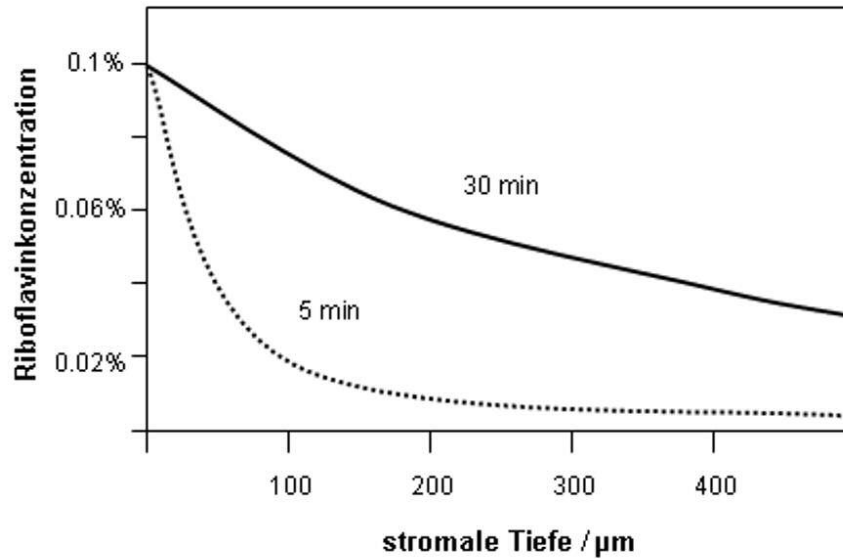
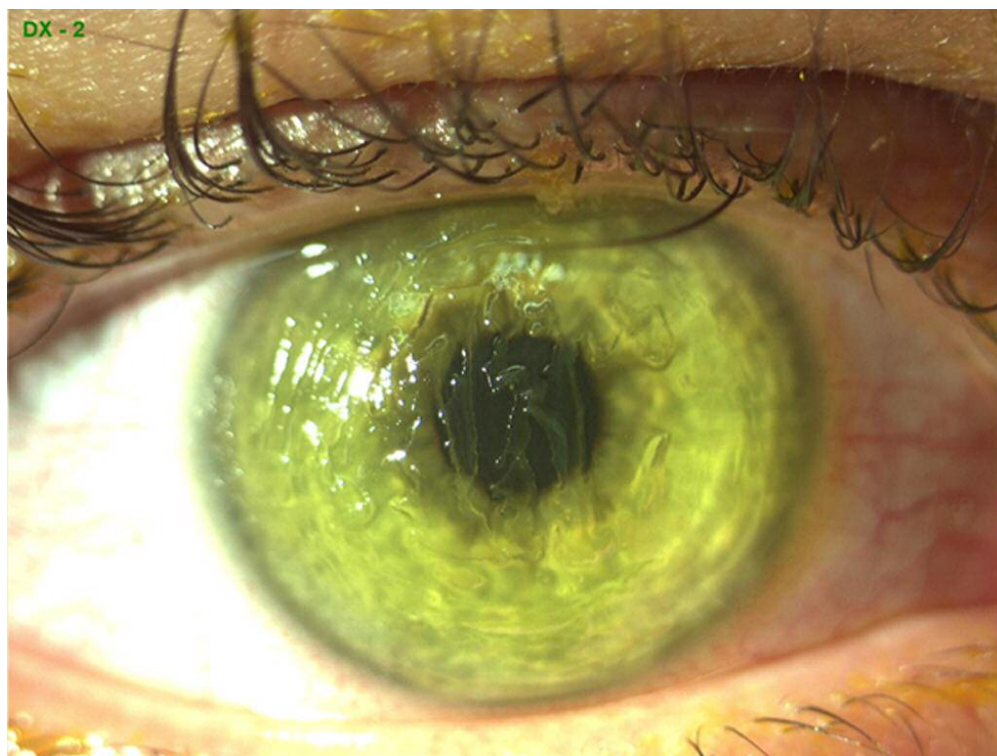


Abbildung 2 Riboflavinkonzentration in der Hornhaut als Funktion der Einwirkzeit. Die stromale Riboflavinkonzentration fällt nach einer Einwirkzeit von 5 Minuten schon nach 100 µm stark ab, während sich nach 30 Minuten ein nahezu linearer Konzentrationsgradient ausgebildet hat (die Daten stammen von Prof. Dr. Spoerl, Dresden).
270x203mm (96 x 96 DPI)



33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Abbildung 3 Hornhaut nach partieller Abrasio corneae und 30 minütiger Riboflavineinwirkung. Da die oberflächenparallele Diffusion des Riboflavins doppelt so schnell wie die Diffusion in die Tiefe ist bildet sich eine homogene Gelbfärbung aus.
270x203mm (96 x 96 DPI)

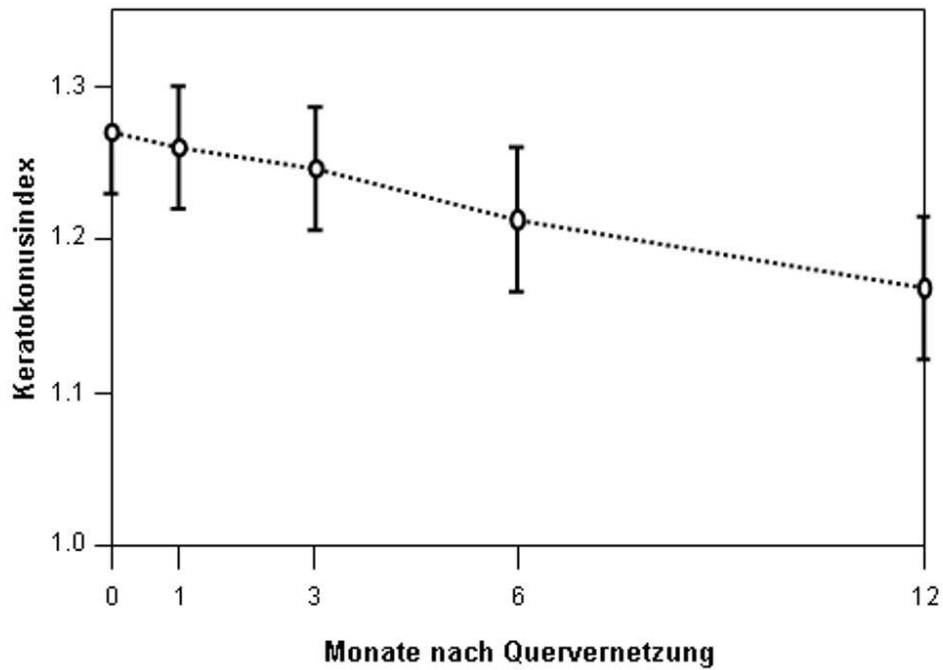
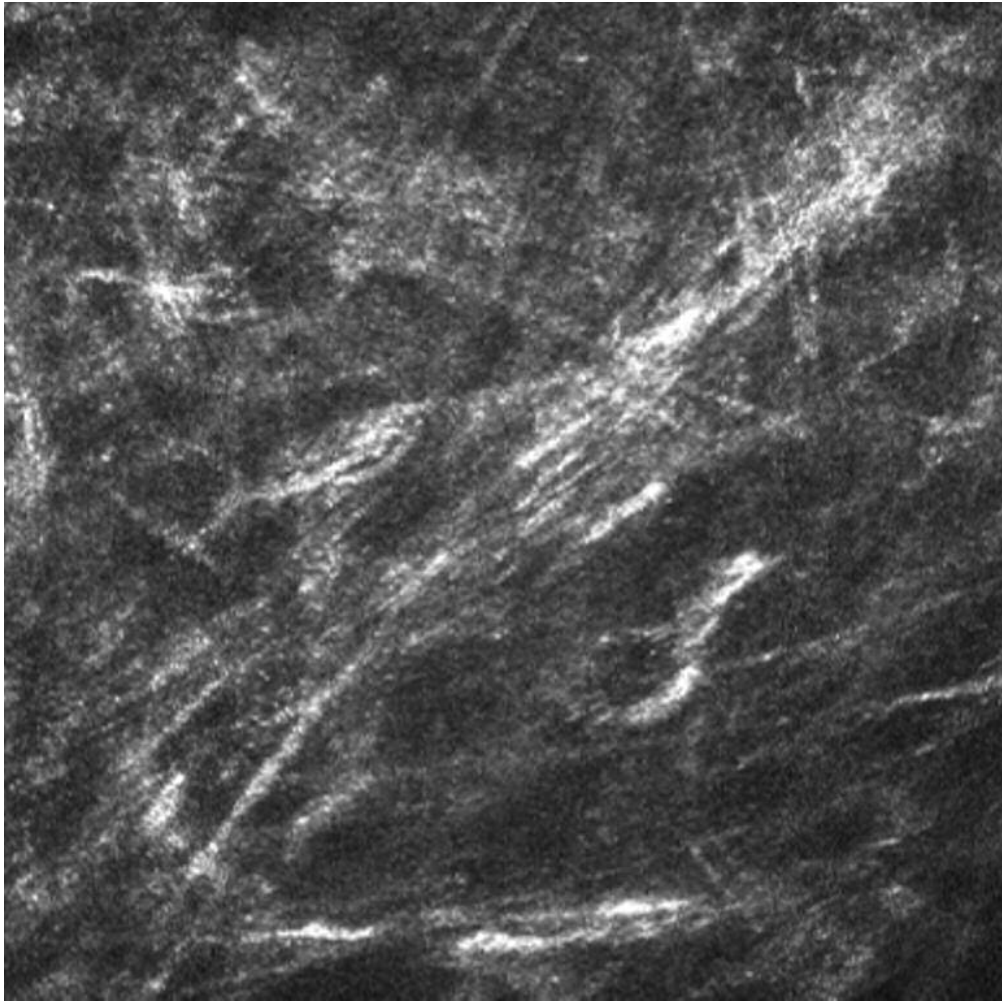


Abbildung 4 Keratokoniusindex (Pentacam) im ersten Jahr nach Quervernetzung. Nach 6 und 12 Monaten ist die Reduktion des Keratokoniusindex statistisch signifikant kleiner als präoperativ (n=30, p<0.05). Eine Keratokoniusindex von 1,0 beschreibt eine normale Hornhaut.

270x203mm (96 x 96 DPI)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60



203x203mm (96 x 96 DPI)

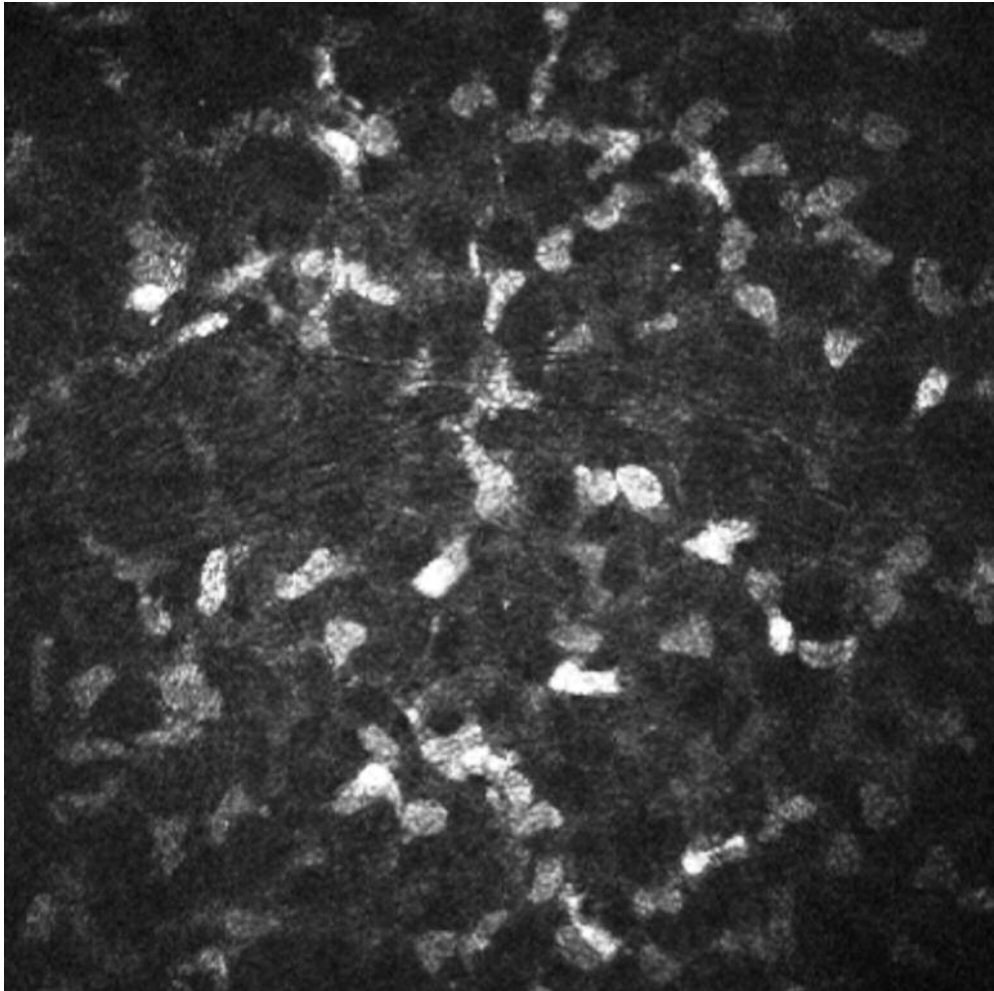


Abbildung 5 Konfokale Mikroskopie 1 Monat nach X-linking. Abb. 5a zeigt eine typische Aufnahme der Hornhautstromas nach Quervernetzung mit Erosio corneae etwa 25 μm tief unter der Bowmanschicht: die Keratozytenkerne sind nicht mehr auffindbar was als Zelluntergang interpretiert wird. Bei Quervernetzung mit intaktem Epithel finden sich 1 Monat danach in 25 μm Tiefe Keratozytenkerne in physiologischer Häufigkeit und Erscheinungsbild.

205x203mm (96 x 96 DPI)

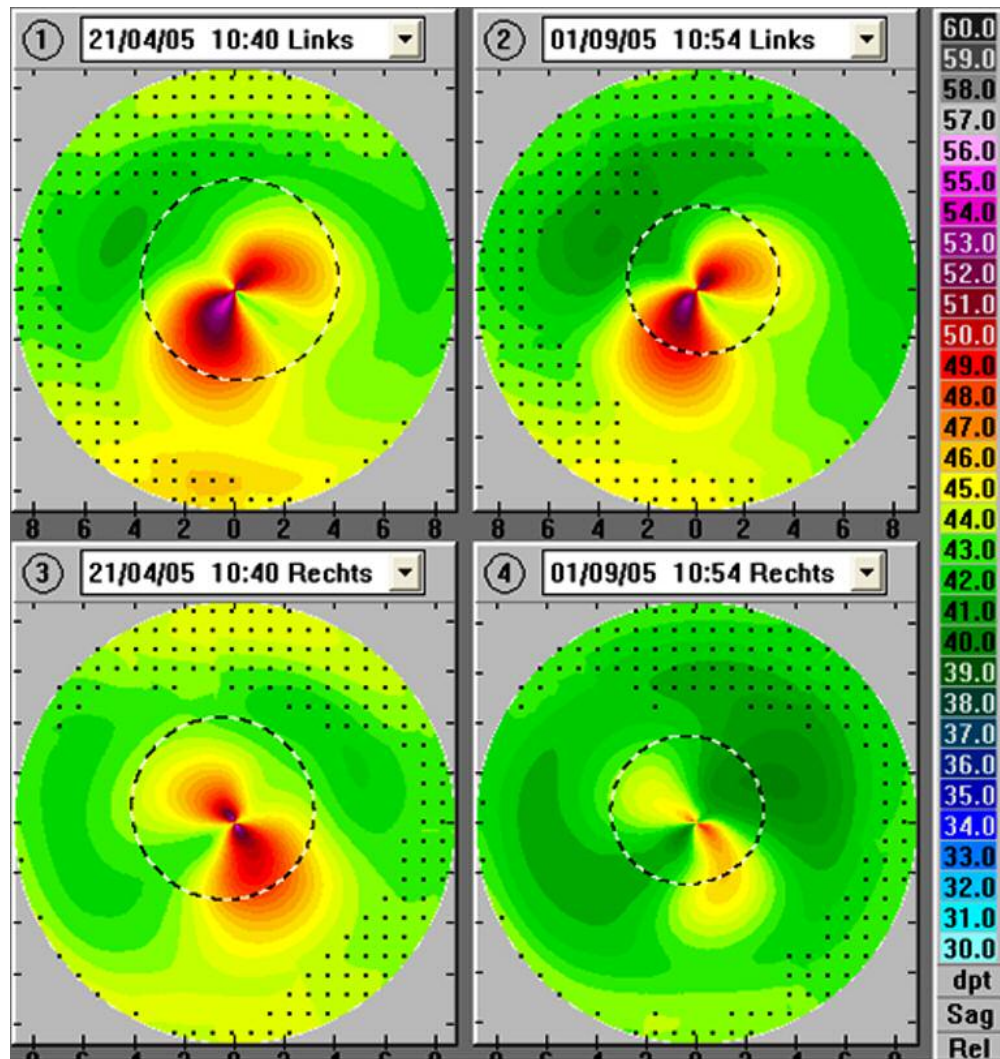


Abbildung 6 Regression der iatrogenen Keratektasie nach LASIK. Die Pentacam-Aufnahmen zeigen rechtes und linkes Auge mit progressiver Keratektasie nach LASIK. Das nichtdominante rechte Auge wurde am 21.4.2005 mit Quervernetzung behandelt. Fünf Monate später zeigt sich eine deutliche Regression beim behandelten Auge, während beim unbehandelten linken Auge die Keratektasie eher zunahm.