

Entwicklung eines resorbierbaren Vorderkammer - Glaukomimplantates

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

vorgelegt von

Philipp Sebastian Müther

aus

Eschweiler

Berichter: Herr Prof. Dr. med. Norbert F. Schrage
Herr Univ.-Prof. Dr. med. Dipl.-Ing. Thomas Schmitz-Rode
Herr Prof. Dr. med. Jürgen Kampmeier

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Mai 2006

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

In Gedenken an meinen Großvater

Johann Wilhelm Dulle

1	EINLEITUNG	3
1.1	Definition des Glaukoms	3
1.2	Epidemiologie	4
1.3	Glaukomformen	5
1.4	Grundlagen zur Therapie	6
1.5	Operative Glaukomtherapie	7
1.5.1	Einleitung	7
1.5.2	Laser-Sklerostomie	8
1.6	Implantologie	10
1.7	Materialien in der Implantat-Technik	15
1.8	Formgebung und Herstellungsverfahren	16
1.9	Ziel der Arbeit	17
2	MATERIAL UND METHODEN	19
2.1	Verwendete Kunststoffe, Verarbeitung, Analytik	19
2.1.1	Bayer Silopren® LSR 4060	19
2.1.2	Biodegradierbare Kunststoffe	20
2.1.2.1	Boehringer Resomere® (Poly-DL-Lactide und deren Copolymere)	20
2.1.2.2	Multiblockcopolymer aus Oligo(p-dioxanon)diol, Oligo(alkylenglykoladipat)diol und Diisocyanat (PDA)	21
2.2	Zellbiologische Untersuchungen mit PDA	23
2.2.1	Zellen und deren Kulturbedingungen	23
2.2.2	Degradierung von PDA-Stents in Zellkultur	23
2.2.3	Zytotoxizitätsprüfung von PDA	24
2.2.3.1	Extrakterstellung für die indirekten Tests	24
2.2.3.2	Zellmorphologische Untersuchungen	24
2.2.3.3	Zellproliferationstest über DNA-Synthese (BrdU)	25
2.2.3.4	Vitalitätstestung über EB und FDA	26
2.2.3.5	Zellproliferationstest über Mitochondrien-Aktivität (WST-1-Reagenz)	27
2.3	Herstellungstechnik des Glaukomstents	27
2.3.1	Grundlagen und Voraussetzungen zur Formgebung des Stents	27
2.3.1.1	Spezifikation der Form	28
2.3.1.2	Modifikationen der Form	28
2.3.2	Herstellungsprozess	31
2.3.2.1	Silikonimplantate	31
2.3.2.2	PDLLA-(co-Gly)-Implantate	31
2.3.2.3	PDA-Implantate	32
2.4	Tierversuch	32
2.4.1	Versuchstiere, Haltung, Vorbereitung	32
2.4.2	Operative Stentimplantation	33

2.4.2.1	Vorbereitung, Narkose	33
2.4.2.2	Operationsverfahren: Lasertechnik, , Sklerostomieanlage, Stentimplantation	34
2.4.3	Postoperative Nachsorge, Verlaufskontrolle	37
2.4.4	Explantationsoperation	37
2.4.5	Tötung, E nukleation und Histologie	37
3	ERGEBNISSE	39
3.1	Polymeranalytik	39
3.1.1	Degradation von PDLLA-(co-Gly)-Stents in PBS	39
3.1.2	Degradation von PDA-Stents in PBS	40
3.2	Zellbiologische Untersuchungen mit PDA	41
3.2.1	Degradierung in Zellkultur	41
3.2.2	Zytotoxizitätsstudien	44
3.2.2.1	Zellmorphologische Untersuchungen	44
3.2.2.2	Zellproliferationstest über DNA-Synthese (BrdU)	45
3.2.2.3	Vitalitätstestung über EB und FDA	47
3.2.2.4	Zellproliferationstest über Mitochondrien-Aktivität (WST-1-Reagenz)	48
3.3	Tierversuch	49
3.3.1	OP-Erfahrung	49
3.3.2	Postoperative Kontrollen	50
3.3.3	Stentexplantation	52
3.3.4	Tötung und E nukleation	53
3.3.5	Histologie	54
4	DISKUSSION	57
5	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	67
6	ANHANG	71
6.1	Tabelle 1: BrDU-Elisa nach indirektem Kontakt für L929	71
6.2	Tabelle 2: WST-1-Elisa nach indirektem Kontakt für L929	74
7	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	77
8	LITERATURVERZEICHNIS	79
9	DANKSAGUNG	91
10	LEBENS LAUF	93

1 Einleitung

1.1 Definition des Glaukoms

Die Glaukome stellen eine heterogene Gruppe von Augenerkrankungen dar, die zu einer progressiven Schädigung des Sehnerven führen. Aus der zunehmenden Sehnervenschädigung können Gesichtsfeldeinschränkungen und Visusverluste bis zur Erblindung resultieren (Pfeiffer¹ 2001). Besonders heimtückisch ist diese Erkrankung, weil sie häufig bis in die Spätstadien für den Patienten unbemerkt verläuft (Coleman² 2001; Pfeiffer³ 2002).

Früher wurde das Glaukom vorwiegend über den erhöhten Augeninnendruck definiert. Typische Glaukomschäden an Sehnerv und Gesichtsfeld finden sich allerdings auch bei Patienten mit einem intraokularen Druck (IOD) innerhalb der statistischen Norm (< 21 mmHg). Ein klarer Konsens bezüglich der sich fortlaufend ändernden Glaukomdefinitionen und prognostisch wichtiger Aspekte existiert nicht (Bathija⁴ 1998). Als alleiniges Diagnostikum reicht der Augeninnendruck sicher nicht mehr aus, er stellt lediglich einen Risikofaktor dar (Kroese⁵ 2003). Dennoch führen mehrere Studien zu dem Ergebnis, dass die therapeutische Senkung des Augeninnendruckes die Progression der Erkrankung aufhält (Vogel⁶ 1990; Jay⁷ 1993; AGIS⁸ 2000; Kass⁹ 2002). Die Senkung des Augeninnendruckes stellt weiterhin das einzige anerkannte Therapiekonzept beim Glaukom dar. Als Glaukomdefinition erscheint zurzeit akzeptabel, dass bei dieser Erkrankung der individuelle intraokulare Druck für den bleibenden Erhalt der normalen Funktionen des Sehnervenkopfes zu hoch ist. Diese Definition berücksichtigt neuere Aspekte der Pathogenese des Sehnervenschicksals. Zu diesen zählen vaskuläre Komponenten, Minderperfusion des Sehnervenkopfes, Durchblutungsregulation und -dysregulation wie Hypotonien und nächtliche hypotensive Episoden, Vasospasmen, Reperfusionsschaden, Apoptose, und veränderte Kollagenstruktur des Sehnervenkopfes. Weitere anerkannte Risikofaktoren sind zunehmendes Alter, positive Familienanamnese, schwarze Rasse und Myopie, Diabetes mellitus und Nikotinkonsum (Pfeiffer¹ 2001; Bathija¹⁰ 2000).

1.2 Epidemiologie

Für das Jahr 2000 wurde die Zahl der Glaukomkranken von Coleman¹¹ (1999) auf 66,8 Mio. Menschen weltweit geschätzt. Es wird angenommen, dass etwa 10% dieser Menschen beidseitig erblinden, weil bei Ihnen das Glaukom nicht rechtzeitig therapiert wird. Auch in den so genannten entwickelten Ländern ist nach den Ergebnissen der Baltimore Eye Survey (Sommer¹² 1991) die Erkrankung nur bei 50% der Erkrankten bekannt. Eine Erhebung für Deutschland aus dem Jahre 2002 ergab, dass nur rund 50% der Bevölkerung über aktives Wissen des Begriffes Glaukom verfügen (Pfeiffer³ 2002).

In Europa und den USA wird die Prävalenz der Glaukomerkrankungen jenseits des 40. Lebensjahr zwischen 0,5 und 2,0% geschätzt. Die große Schwankungsbreite der Prävalenz liegt begründet in der Vielfalt der Erkrankungsdefinition und der Befundinterpretation. Die Häufigkeit des Glaukoms nimmt im Alter steil zu, sie beträgt bei Patienten über 80 Jahren mehr als 10%. Die Anzahl der Patienten mit Druckwerten über 21 mmHg, aber ohne Papillen- und Gesichtsfeldschaden, beträgt etwa 6-8% jenseits des 45. Lebensjahres. Diese so genannte okuläre Hypertension kann zu einem gewissen Prozentsatz zu einem manifesten Glaukom konvertieren (Lee¹³ 2003).

Trotz erheblicher Behandlungsfortschritte stellt das Glaukom weltweit eine der führenden Erblindungsursachen dar. In den Industrienationen ist das Glaukom nach der altersbezogenen Makuladegeneration (AMD) und Retinopathia diabetica die dritthäufigste Erblindungsursache. Zahlen aus Deutschland belegen dies: in Hessen betrug die Anzahl der durch Glaukom erblindeten Patienten für das Jahr 1996 12,6%, an dritter Stelle hinter der altersabhängigen Makuladegeneration (35,3%) und der diabetischen Retinopathie (15,0%) (Graf¹⁴ 1999), 1994 gab es in Württemberg-Hohenzollern durchschnittlich 1,6/100.000 Glaukomblinde (Krumpatzky¹⁵ 1999). In Oberbayern stellt das Glaukom im Jahre 1992 mit 17% die zweithäufigste Erblindungsursache dar (Krumpatzky¹⁶ 1992). In Israel war es 2000 mit 13% der häufigste Grund für irreversiblen Visusverlust (Hod¹⁷ 2000).

1.3 Glaukomformen

Die unterschiedlichen Glaukomformen können nach verschiedenen Klassifikationen eingeteilt werden. In der Praxis werden die Sortierungen teilweise kombiniert und parallel verwendet. Häufig zu finden ist die Unterscheidung zwischen primären und sekundären Glaukomen. Unter therapeutischen Aspekten wird verständlich, dass sich die Klassifikation in der Praxis eher an der Kammerwinkelsituation orientiert.

Zu den primären Glaukomen zählt das primäre Offenwinkelglaukom (POWG), welches in Europa mit ca. 60-90% der Fälle die weitaus häufigste Glaukomform darstellt. Pathogenetisch liegt eine relative Obstruktion des Kammerwasserabflusses in Trabekelwerk und Schlemmschem Kanal zugrunde. Primäre Glaukome sind weiterhin das primäre Winkelblockglaukom, sowie die kongenitalen und juvenilen Glaukome.

Die sekundären Glaukomformen entstehen erst im Gefolge anderer Augenerkrankungen. Die Pseudoexfoliationsglaukome und Pigmentdispersionsglaukome zählen zu den sekundären Offenwinkelglaukomen, während das sekundäre Winkelblockglaukom in einer zu großen oder mit steigendem Alter größer werdenden Augenlinse begründet liegt. Im Rahmen arterieller und venöser Gefäßverschlüsse sowie der proliferativen diabetischen Retinopathie kann die retinale Ischämie zu Neovaskularisationsreizen führen, was über die Proliferation von Irisgefäßen (Rubeosis iridis) in einer Verlegung des Kammerwinkels mit konsekutiven, teils massiven Drucksteigerungen resultieren kann. In der Folge entstehen proliferative Sekundärglaukome, auch sekundär rubeotische Neovaskularisationsglaukome genannt (Collins¹⁸ 1996; Esser¹⁹ 2000).

1.4 Grundlagen zur Therapie

Das Behandlungsspektrum umfasst die lokale und systemische medikamentöse Therapie, sowie laserchirurgische und operativ chirurgische Verfahren (Kampik²⁰ 2002). Die medikamentöse Therapie leistet wirkstoffabhängig:

- Reduktion der Kammerwasserbildung
- Erleichterung des Kammerwasserabflusses
 - o durch Widerstandsminderung des Trabekelmaschenwerkes und des Schlemmschen Kanals
 - o durch Erweitern und Aufdehnen des Kammerwinkels mittels Miosis
 - o durch Verbesserung des uveoskleralen Abflusses
- Verbesserung der okulären Perfusion
- Verminderung des Glaskörpervolumens

Die chirurgischen und laserchirurgischen Maßnahmen beeinflussen diverse Pathomechanismen:

- Verbesserung der Kammerwasserzirkulation zwischen hinterer und vorderer Kammer
 - o Basale Iridektomie
 - o YAG-Laser Iridotomie
 - o Cataractextraktion
 - o Vitrektomie
- Verminderung des Abflußwiderstandes
 - o Trabekelaspilation, Goniokürettage
 - o Argonlasertrabekuloplastik (ALT), selektive ALT (SLT)
- Schaffung neuer Abflußmöglichkeiten, bzw. Erleichterung des Abflusses
 - o filtrierende Chirurgie mit Eröffnung der Vorderkammer
 - Trabekulektomie (Cairns²¹ 1968; Linner²² 1970)
 - Goniotrepanation (Fronimopoulos²³ 1971)

- Intrakanaläre Trabekulostomie (Kampmeier²⁴ 1998)
- Sklerostomie (siehe Kapitel 1.5)
- drucksenkende Implantate (siehe Kapitel 1.6)
- nicht filtrierende Chirurgie mit Belassen einer Filtrationsmembran
 - Viskokanalostomie nach Stegmann (Stegmann²⁵ 1999)
 - Tiefe Sklerektomie (Fyodorov²⁶ 1982; Zimmerman^{27,28} 1984)
- Sonstige
 - Retinektomie (Kirchhof^{29,30} 1994, 1999)
 - Reduktion der Kammerwasserproduktion durch Zyklphoto-koagulation

Wird die Indikation zur antiglaukomatösen Therapie gestellt, steht die medikamentöse Therapie als Primärtherapie deutlich im Vordergrund (Fechner³¹ 1982). Dies gilt zumindest für das prozentual am häufigsten vertretene POWG. Die Notfalltherapie und besonders auch die Therapie des Engwinkelglaukoms können hiervon abweichen. Ebenso ist verständlich, dass die Behandlungsstrategien der Neovaskularisationsglaukome neben der symptomatischen Therapie der schmerzlindernden Augendrucksenkung, auf eine Verminderung der Ischämie abzielen müssen. Jay³² und Migdal³³ zeigten allerdings, dass durch frühen chirurgischen Eingriff bei einem größeren Patientenanteil eine effiziente Drucksenkung zu erwarten ist, als dies bei einer medikamentös versorgten Kontrollgruppe der Fall war. Die primär chirurgische Therapie des POWG hat sich jedoch aus verschiedenen Gründen bis heute nur in Sonderfällen durchgesetzt (Jay³² 1989; Migdal³³ 1994).

1.5 Operative Glaukomtherapie

1.5.1 Einleitung

Bei den filtrierenden Verfahren gilt für die häufigen Glaukomformen, wie das POWG, die Trabekulektomie (Cairns²¹ 1968; Linner²² 1970) zurzeit als Therapie der Wahl. Nach Eröffnung der Bindehaut und Präparation eines limbusbasierten Skleradeckels von etwa 50% Skleradicke wird der tiefe Anteil der Sklera samt darunter liegendem

Trabekelmaschenwerk in Rechteckform exzidiert und anschließend meist eine basale Iridektomie durchgeführt. Danach wird der superfizielle Skleradeckel über der Trepanation vernäht. Aber auch in den Händen geübter Operateure erreicht dieser operative „Goldstandard“ für das POWG im Durchschnitt langfristige Therapieerfolge von nicht mehr als ungefähr 70% (Diestelhorst³⁴ 1998; Khaw³⁵ 1999; Kriegelstein³⁶ 1999; Lüke³⁷ 2002). Eine neuere, breite Strömung liegt in den so genannten nicht filtrierenden Verfahren, welche die Vorderkammer nicht eröffnen und somit frühe postoperative Komplikationen wie Hypotonien mit flacher Vorderkammer, Aderhautablösungen und Makulaödemen vermeiden sollen (siehe Kapitel 1.4 und 1.6).

Die einzelnen chirurgischen und laserchirurgischen Therapieoptionen sollen nur insofern vertieft werden, als sie im Zusammenhang mit den in Kapitel 1.6 beschriebenen Implantatentwicklungen, im Rahmen oder als Vorbereitung derer sie durchgeführt werden, für das Verständnis des jeweiligen Operationsablaufes sinnvoll sind. Genauere Erläuterungen finden sich bei den Beschreibungen der einzelnen Implantate (Kap. 1.6).

Andere aufgeführte Verfahren werden alternativ versucht und angewendet, bzw. eignen sich therapeutisch im Speziellen für Rezidive und sonstige komplizierte Glaukomformen. Eine Übersicht findet sich bei Kampik und Grehn (Kampik²⁰ 2002).

Auf ein laserchirurgisches Verfahren, die Erbium:YAG Laser Sklerostomie, soll hier näher eingegangen werden. Der beschriebene Eingriff bereitet die Implantation des in dieser Arbeit entwickelten Implantates vor.

1.5.2 Laser-Sklerostomie

Experimentelle Laser-Sklerostomien wurden schon in den 80er Jahren zur Schaffung drainierender Kanäle vorgestellt. Der zunächst vorgeschlagene ab interno Zugang über die Vorderkammer, welcher zuerst von Ticho³⁸ (1979), L'Esperance³⁹ (1982) und March^{40,41} et al. (1984 und 1985) erprobt wurde, führte dabei zu Problemen bei flacher Vorderkammer und engem Kammerwinkel. Sowohl bei diesem Verfahren als auch bei einer von Gherezghiher⁴² (1985) entwickelten, nicht invasiven Methode über eine Gonioskopielinse, lag die Wellenlänge von $\lambda=1053\text{nm}$ des verwendeten Neodymium:YAG-Lasers in einem ungünstigen Bereich in Bezug auf das Energieabsorptionsmaximum der wasserhaltigen Sklera. Zur Erhöhung der Wellenlängenabsorption musste die Sklera vorher mit einem Farbstoff gefärbt

werden. Dieses Verfahren erschwerte reproduzierbare Ergebnisse. In späteren Versuchsreihen stellte sich der kurzwellige XeCl-Excimer-Laser ($\lambda=308\text{nm}$) sowie der bei einer Wellenlänge von $\lambda=2940\text{nm}$ im Infrarotbereich arbeitende Erbium:YAG Laser gegenüber anderen Lasern als optimale Lösung im Hinblick auf eine minimale umgebende Gewebeirritation und Nekrosezone heraus. Sowohl ultraviolette Wellenlängen von unter $\lambda=400\text{nm}$ als auch die im Infrarotbereich liegende Wellenlänge von $\lambda=2940\text{nm}$ entsprechen einem Absorptionsmaximum für wasserhaltige Gewebe wie die Sklera (Ozler⁴³ 1991; Kampmeier^{44,45} 1993; Wetzel^{46,47} 1993). Allerdings stehen bei Verwendung des Excimer-Lasers eher UV-induzierte, zytotoxische und mutagene photochemische Effekte zu befürchten (Müller-Stolzenberg⁴⁸ 1991; Kampmeier⁴⁴ 1993). Es kann davon ausgegangen werden, dass diese negativen Effekte bei Verwendung des Erbium:YAG-Lasers vermieden werden können. Das von Kampmeier et al. im Jahre 1993 vorgestellte Konzept erlaubt das unkomplizierte Anlegen einer korneoskleralen Lasersklerostomie vom subkonjunktivalen Raum in die Vorderkammer.

Allerdings konnte diese neuere Entwicklung die Erwartung an eine langfristig effektive Therapie nicht erfüllen. Verstärkte postoperative Hypotonien im Vergleich zur Trabekulektomie, Aderhautamotio und Irisprolaps, wurden gefolgt von Therapieversagen durch die mittelfristige episklerale Vernarbung meist innerhalb weniger Monate (Wetzel⁴⁹ 1994; Kampmeier⁵⁰ 1996; Jacobi⁵¹ 1997; Spiegel⁵² 1998).

1.6 Implantologie

Bereits um 1900 wurde die Verwendung von Rosshaaren (Rollet⁵³ 1907), Seide (Zorab⁵⁴ 1912) und Metallen (Stephansson⁵⁵ 1925; Bick⁵⁶ 1949) als Platzhalter, auch Stents genannt, ohne eigenes Lumen beschrieben, welche die Vernarbung einer zuvor chirurgisch angelegten Skleraöffnung verzögern sollten. Um 1950 wurden die ersten Implantate mit eigenem Lumen zur subkonjunktivalen Drainage entwickelt (Übersicht bei Lim⁵⁷ 1998). Diese Ansätze konnten das Problem der Vernarbung des konjunktivalen Sickerkissens nicht lösen. Molteno^{58,59} stellte 1969 ein Konzept vor, welches einen translimbal in der Vorderkammer platzierten Silikonschlauch nutzt, über den das Kammerwasser in eine so genannte Diffusionsplatte abgeleitet wird. Diese Diffusionsplatte wird unter der Tenonkapsel im Bereich des Bulbusäquators zwischen den äußeren Augenmuskeln vernäht und soll während der subkonjunktivalen Fibrosierung in der postoperativ inflammatorischen Phase ein Filtrationsreservoir freihalten (Molteno Ophthalmic Limited, Dunedin, New Zealand; www.molteno.com) (Abb. 1).

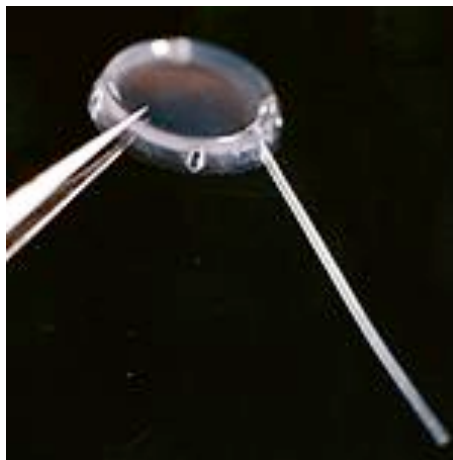


Abbildung 1 – Moltenoplatte mit Drainageschlauch

Das System wurde kontinuierlich weiter entwickelt, auch mit der Möglichkeit, mehrere miteinander verbundene Diffusionsplatten zu verwenden. Des Weiteren wurde ein Ventilmechanismus adaptiert, welcher postoperative Überfiltration und Hypotonien vermeiden soll. Verschiedene Glaukomdrainagesysteme wurden seitdem entwickelt, die fast alle nach einem ähnlichen Schlauch-und-Platten Prinzip funktionieren. Einige Konzepte verwirklichen dabei unterschiedlich aufwendige Ventilfunktionen. Dadurch sollen Hypotonien durch Überfiltration vermieden werden (Übersicht bei Hille⁶⁰ 2002).

Genannte Glaukomdrainagesysteme (glaucoma drainage devices - GDDs) haben insbesondere in den USA einen festen Platz in der Glaukomchirurgie. In Europa werden als Indikation für diese Systeme eher komplizierte, therapierefraktäre Glaukome gesehen. Dies scheint begründet in dem zeitintensiven operativen Implantationsaufwand, den hohen Implantatkosten und dem Risiko schwerwiegender Komplikationen. Abgesehen von den Drainageimplantaten im klassischen Sinne sind in den letzten Jahren vielfältige Designs mit unterschiedlichen Ansätzen vorgestellt worden, welche entweder bestehende Operationsverfahren modifizieren, oder aber eine neue Implantationstechnik vorsehen (Dietlein⁶¹ 2002).

Im Jahre 1998 wurde das Ex-PRESS Implantat (Optonol, Israel; www.optonol.com) vorgestellt, ein metallisches Implantat, welches aus einem Hohlrohr von 50 µm Innendurchmesser mit Widerhaken und einer angeformten Platte besteht (Nyska⁶² 2003). Das Hohlrohr wird von subkonjunktival in die Vorderkammer geschoben und mit dem Haken verankert, die Endplatte liegt der Sklera limbusnah auf (Abb. 2 – 3). Die ersten Kurzzeitergebnisse erschienen relativ viel versprechend mit einer durchschnittlich knapp 50-prozentigen Drucksenkung bei 98 Augen nach einem Beobachtungszeitraum von 12 Monaten. Als Komplikationen traten allerdings auch hypotonie-assoziierte Aderhautamotiones und flache Vorderkammern, sowie Hornhaut-Erosionen auf (Bron⁶³ 2001, Traverso⁶⁴ 2001).

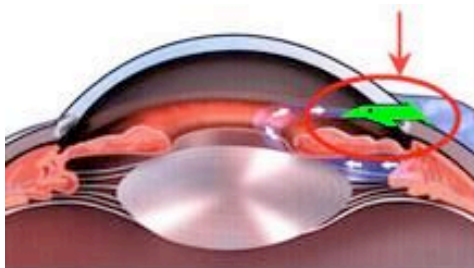


Abbildung 2 und Abbildung 3 – Optonol Ex-PRESS Implantat: Drainage aus der Vorderkammer in den Subkonjunktivalraum

Ein anderer Ansatz wird mit dem T-Flux Implantat (IOLTECH Laboratoires, La Rochelle, Frankreich; www.ioltech.com) verfolgt: zunächst wird eine tiefe Sklerektomie (Fyodorov²⁶ 1982; Zimmerman^{27,28} 1984) durchgeführt, wobei primär die Präparation eines oberflächlichen Skleralappens erfolgt, dessen Basis am Hornhautlimbus liegt. Schematisch ist dieses oberflächliche Skleraläppchen als aufgeklappte Struktur auf Abb. 5 zu erkennen. Anschließend wird ein tiefer Skleralappen exzidiert, welcher zuvor bis an das Dach des Schlemmschen Kanals

und weiter anterior bis an die Descemet-Membran der Hornhaut präpariert wird. Danach erfolgt die Entdachung des Schlemmschen Kanals an dessen Außenwand. Bei diesem Operationsverfahren wird nur die Außenwand des Schlemmschen Kanals entfernt. Das Gewebe, welches das Trabekelmaschenwerk bis zur Innenwand des Kanals darstellt, bleibt bestehen. Es liegt damit keine totale Perforation mit einer offenen Verbindung der Vorderkammer zum subkonjunktivalen Raum vor. Diese Operationsverfahren, zu denen sowohl die Viskokanalostomie nach Stegmann (Stegmann²⁵ 1999) als auch die tiefe Sklerektomie zählen, werden als nicht-filtrierend bezeichnet (vgl. Kapitel 1.4). Das Kammerwasser fließt nicht über ein offenes Filtrationsareal ab, sondern perkoliert über die verbliebene dünne Membran durch den Druckgradienten nach außen.

Letztendlich wird im Bereich der tiefen Skleraexzision das Implantat eingesetzt, das als Platzhalter für ein Flüssigkeitsreservoir fungiert (Abb. 4). Die beiden stiftartigen Füßchen werden in den Schlemmschen Kanal eingelegt, die Platte spannt den intraskleralen Raum.



Abbildung 4 – IOLTECH T-Flux Implantat: Die Pins werden in den Schlemmschen Kanal eingelegt, die Platte wird im Bereich der tiefen Skleraexzision platziert

Ates et. al. (Ates⁶⁵ 2003) verglichen das Verfahren an 23 Augen mit einer entsprechend vergleichbaren Patientengruppe, bei der eine Viskokanalostomie ohne Implantat durchgeführt worden war. Die Viskokanalostomie nach Stegmann sieht neben der Exzision der tiefen Skleralamelle außerdem die Injektion eines hochviskösen Viskoelastikums in die Ostien des zuvor eröffneten Schlemmschen Kanals vor, wodurch das Lumen auf ein Vielfaches erweitert wird. Darüber hinaus wird die Trabekulo-Descemet-Membran an der Innenseite des Kanals abpräpariert. Nach einem durchschnittlichem Beobachtungszeitraum von 16 Monaten war der Druck in der Implantatgruppe von präoperativ 26,26 (SD 4,3) mmHg auf 17,60 (SD 4,35) mmHg bei der letzten Nachkontrolle gesunken. Die absolute Erfolgsrate (IOD < 21 mmHg ohne Medikation) lag bei 86,9% nach einem Monat, 56,5% nach 12

Monaten und 39,1% bei der letzten Kontrolle. Relativer Erfolg (IOD < 21 mmHg mit oder ohne Medikation) konnte bei respektive 95,6%, 91,3% und 82,6% erzielt werden. Damit waren die Erfolgsraten vergleichbar mit denen der Viskokanalostomie ohne Einsatz eines Implantates, bei ähnlich geringen Komplikationsraten. Auch Ravinet et. al. (Ravinet⁶⁶ 2004) konnten in einer vergleichenden Untersuchung zwischen tiefer Sklerektomie und T-Flux-Implanation gegen tiefe Sklerektomie und Viskoelastikuminjektion (Healon GV; Advanced Medical Optics, Santa Ana, USA) an 20 Augen über einen Zeitraum von zwei Jahren keine signifikant besseren Ergebnisse für die T-Flux-Gruppe vorweisen.

Den permanenten Implantaten stehen solche gegenüber, welche biodegradierbar konzipiert sind. In einer größeren Studie verglichen Lücke et al. (Lücke⁶⁷ 2003) die Erfolgsraten von Viskokanalostomie mit oder ohne Implantation eines hochvernetzten Hyaluronsäureimplantates (SKGEL; Corneal Laboratoire, Paris, Frankreich; www.corneal.fr) (Abb. 5).

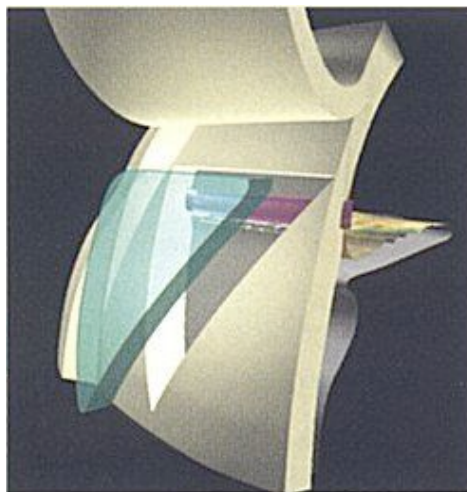


Abbildung 5 – Corneal Laboratoire SKGEL-Implantat: Platzierung im Bereich der tiefen Skleraexzision

Nach einer Verlaufskontrolle konnte in beiden Gruppen eine Erfolgsquote von 40% (IOD < 22 mmHg ohne Medikation) verzeichnet werden, bei insgesamt geringem Komplikationsprofil. Abgesehen davon, dass die Verwendung eines Implantates nicht zu einem günstigeren Verlauf führte, konnte in dieser Studie die Technik der Viskokanalostomie, mit oder ohne Implantat, welche als chirurgisch äußerst anspruchsvoll gilt (Dietlein⁶¹ 2002), nicht die Erfolgsraten der klassischen Trabekulektomie erreichen. Auch Schwenn et al. (Schwenn⁶⁸ 2004) stellten beim Vergleich zwischen klassischer Trabekulektomie und tiefer Sklerektomie mit

quervernetztem Hyaluronsäureimplantat, wobei die Augen jeweils mit Mitomycin C, einem Antimetaboliten zur Hemmung von Narbengewebeproliferationen, vorbehandelt wurden, eine 47-prozentige Drucksenkung in der Implantatgruppe, jedoch eine 57-prozentige Drucksenkung in der Trabekulektomiegruppe nach 12 Monaten, vor.

Ein weiteres, ähnliches Konzept beschreibt die tiefe Sklerektomie mit Kollagenimplantat (deep sclerectomy with collagen implant: DSCI), welches zuerst von Kozlov⁶⁹ (1990) beschrieben wurde. Mermoud et al. (Mermoud⁷⁰ 1999; Karlen⁷¹ 1999) haben in zahlreichen Publikationen Erfolgsraten und Verfeinerungen der Implantationstechnik vorgestellt. Die Implantation des Kollagenschwamms (Aquaflow; STAAR Surgical Company, Monrova, USA; www.staar.com) (Abb. 6), verbessert zwar die Ergebnisse der tiefen Sklerektomie, mit vermindertem Risikoprofil gegenüber der Trabekulektomie, das Verfahren erreicht aber die Erfolgsraten der Trabekulektomie bezüglich suffizienter Drucksenkung in den meisten Veröffentlichungen nur unter zur Hilfenahme postoperativer Trabekelpunktion mittels Laserverfahren sowie Antimetaboliten wie 5-Fluorouracil (Mermoud⁷² 1999; Chiou⁷³ 1998).

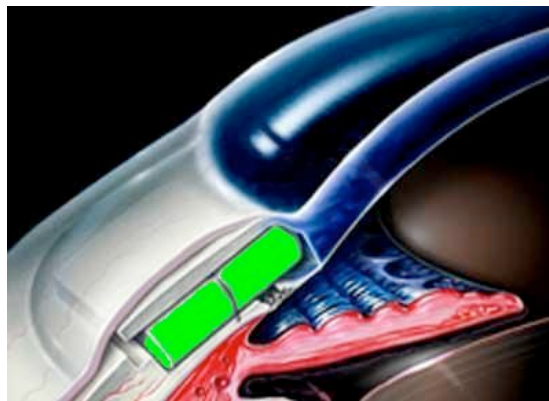


Abbildung 6 – STAAR Surgical Aquaflow-Implantat: Platzierung im Bereich der tiefen Skleraexzision

1.7 Materialien in der Implantat-Technik

Permanente Kunststoffe wie die Dimethanpolysiloxane (Silikon) wurden schon vor etwa 50 Jahren in medizinische Bereiche eingeführt (Habal⁷⁴ 1984). Sie werden in fast jedem medizinischen Fachgebiet verwendet. In der Augenheilkunde besteht eine mittlerweile fast 20 Jahre lange Erfahrung mit faltbaren Intraokularlinsen aus Silikon (Kampik²⁰ 2002). Dabei kommt der Oberflächenmodifizierung je nach Anwendungsbereich für die Verbesserung der Biokompatibilität eine entsprechende Bedeutung zu. Die Arbeitsgruppe um Schrage hat ausführliche Untersuchungen und Oberflächenmodifikationen verschiedener Bayer-Silikone durchgeführt, welche für die Herstellung der Aachener Keratoprothese verwendet werden (Schrage⁷⁵⁻⁷⁷ 1998,2001; von Fischern^{78,79} 1998,1999; Langefeld^{80,81} 1999,2000; Kompa^{82,83} 2000,2001; Krug⁸⁴ 2002).

Auch resorbierbare Implantate und Fadenmaterialien sind schon seit vielen Jahren verfügbar. Resorbierbare Nahtmaterialien werden aus Lactiden, Glycolid, Caprolacton, Polydioxanon und anderen Polymeren hergestellt (Ethicon Inc.⁸⁵). Die Herstellung von Copolymeren und deren variablen Mischungsverhältnisse erlauben Modifikationen bezüglich der erwünschten mechanischen und resorptiven Eigenschaften (Weiler⁸⁶ 2000). Die Schwierigkeit liegt darin, dass je nach Versuchsanordnung und Anwendung sich die Eigenschaften an sich ähnlicher Materialien in unzähligen Veröffentlichungen erheblich unterscheiden. Dabei tragen auch der Verarbeitungsprozess, die Größe des Implantates, das Molekulargewicht sowie die Sterilisationsmethode zu den stark variierenden Materialeigenschaften bei (Grizzi⁸⁷ 1995; Burg⁸⁸ 1997).

Die Materialanforderungen an ein Implantat im Bereich des Auges sind hoch. Die Minimierung implantatinduzierter Fremdkörperreaktionen ist nur durch maximale Biokompatibilität zu verwirklichen. Der Therapieerfolg ist in großem Maße von dieser Eigenschaft abhängig. In den letzten Jahren ist es zu einem großen Schub in der Entwicklung modernerer Materialien gekommen, da die Nachfrage an maßgeschneiderten Hochleistungspolymeren stetig steigt. Ermöglicht wurde dies unter anderem durch die Entwicklung synthetischer Polymersysteme (Langer⁸⁹ 2004). Eine aktuelle Zusammenfassung schreibt Anderson⁹⁰ (2004) unter dem Titel „Smart Biomaterials“. Vorgestellt werden zum Beispiel neu synthetisierte Peptide, welche in der Lage sind, in wässriger Lösung selbständig zu Aminosäuresequenzen

zu aggregieren und damit auf molekularer Ebene eine Leitschiene für aussprossende Neurone bilden, während sie die Produktion von Narben bildenden Astrozyten unterdrücken. Die vorgeschlagenen Anwendungsgebiete für Biomaterialien nehmen unter Betrachtung der Literatur in den letzten Jahren sprunghaft zu. Die außerordentliche Menge an Materialien, gepaart mit erheblich variierenden Analyseergebnissen und wechselnden Materialbezeichnungen verkomplizieren die Materialwahl zusätzlich. Im Verlauf der vorliegenden Arbeit sollte sich die Unbrauchbarkeit der sonst bewährten Poly-DL-Lactid-Polymere (PDLLA) und ihrer Copolymere für diesen speziellen Einsatz am Auge zeigen, weshalb für die Herstellung und Prüfung eines neuartigen, biodegradierbaren Vorderkammer-Glaukomimplantates ein erst kürzlich synthetisiertes und analysiertes Multiblockcopolymer aus Oligo(p-dioxanon)diol, Oligo(alkylenglykoladipat)diol und Diisocyanat (PDA) verwendet wurde. Die genaue Beschreibung des Materials findet sich in Kapitel 2.1.2.2.

1.8 Formgebung und Herstellungsverfahren

In dieser Arbeit werden unterschiedliche Materialien verwendet und untersucht. Die Formgebung des Implantates ergibt sich aus dem zugrunde liegenden laserchirurgischen Verfahren (Operative Therapie, siehe Kapitel 1.5; sowie Grundlagen und Voraussetzungen zur Formgebung des Stents, siehe Kapitel 2.3.1).

Zur Formgebung wurde eine verpressbare Form verwendet, welche die Verformung der verwendeten Materialien in der Schmelze erlaubt (Herstellungstechnik des Glaukomstents, siehe Kapitel 2.3). Dabei wird auch auf Modifikationen der Form im Hinblick auf die Erfordernisse bei der Verarbeitung verschiedener Materialien eingegangen, speziell die Verwendung einer möglichst dünn-schichtigen Antihafbeschichtung. Sowohl die PDLLA-Polymere als auch das PDA erfordern solch eine Oberflächenmodifikation aufgrund ihres stark adhäsiven Verhaltens in der Schmelze. Die häufig beschriebene Verformbarkeit von PDLLA und vielen anderen Polymeren durch Verwendung von Lösungsmitteln wie Aceton und Chloroform (Grizzi⁸⁷ 1995) scheidet dabei aufgrund der Platzierung im Bereich der sensiblen Strukturen des Auges aus. Trotz ausgiebiger Trocknung und Ausgasung des fertigen Implantates muss davon ausgegangen werden, dass die Lösungsmittelresiduen zu erheblichen Irritationen führen können.

1.9 Ziel der Arbeit

Diese Versuchsarbeit hat zum Ziel, ein neues Glaukomimplantat zu untersuchen, welches das ab externo Er:YAG Laser Sklerostomie Verfahren so modifiziert, dass günstigere Voraussetzungen für einen persistierenden Drainagekanal geschaffen werden. Dabei kann der Stent als reversibler, nicht drainierender Platzhalter in postoperativ entzündliches Gewebe platziert werden. Bei den heute gängigen Therapieoptionen des Glaukoms stellt die postoperative Inflammation mit konsekutiver Narbenbildung einen hohen prozentualen Anteil des Therapieversagens dar.

Das Implantat dient der „Schienung“ der angelegten Sklerostomie und soll durch sein Design einen präformierten subkonjunktivalen Hohlraum hinterlassen, der nach Entfernung bzw. Resorption des Implantates als Abflussreservoir dient. Dabei wird zunächst mit dem bewährten Material Silikon die Praktikabilität der Stentherstellung und Implantation erarbeitet, sowie die Gewebereaktion auf den Silikonstent am Tiermodell postoperativ und histologisch überprüft.

Im zweiten Teil der Arbeit wird neben den bewährten Milchsäure-Polymeren das neuartige, resorbierbare Copolymer PDA untersucht, welches zu einem späteren Zeitpunkt potentiell in vivo eingesetzt werden soll. Durch die resorptiven Eigenschaften des Implantates kann die Explantationschirurgie entfallen, womit eine erneute Manipulation mit lokalen Entzündungen und damit einhergehenden Vernarbungen vermieden werden soll. Die Analytik der resorbierbaren Materialien umfasst sowohl deren Verarbeitung, die Anpassung des Formwerkzeuges an die Erfordernisse durch genannte Materialien, das Abbauverhalten in Phosphatpuffer, die Implantatdegradation in L929-Fibroblastenkultur, als auch eine Biokompatibilitätstestung für das neue, verwendete Copolymer PDA, bestehend aus EB/FDA Vital-Färbung, BrDU- und WST-1-Elisa, sowie zellmorphologische Untersuchungen an L929-Fibroblasten.

2 Material und Methoden

2.1 Verwendete Kunststoffe, Verarbeitung, Analytik

2.1.1 Bayer Silopren® LSR 4060

Chemie, Daten, Lagerung

Bayer Silopren® 4060 ist ein vinylgruppenhaltiges Polydimethylsiloxan mit pyrogener Kieselsäure für medizintechnische Anwendungen, welches aus zwei Komponenten besteht. Die Komponenten A und B sollen kühl, trocken und dicht verschlossen gelagert werden. Vor Gebrauch werden die Komponenten im Verhältnis 1 : 1 gemischt, das Gemisch vulkanisiert unter Bildung von quervernetzenden Brücken aus. Dieser Vorgang wird durch Temperaturerhöhung auf 170-230°C beschleunigt. Empfohlene Verfahren zur Sterilisation sind Dampfsterilisation, Ethylenoxid-Sterilisation und Gamma-Sterilisation. Produktinformation und Sicherheitsdatenblätter von GE Bayer Silicones⁹¹⁻⁹⁴.

Verarbeitung, Sterilisation

Mit Hilfe einer Präzisionswaage wurden jeweils 20,0 g +/- 0,02 g der Komponenten A und B steril aus ihren Behältern entnommen. Die Komponenten wurden in einen sterilen Probenbecher gegeben und mindestens 5 min intensiv verrührt. In einer Vakuumblocke wurde abwechselnd so lange jeweils 5 min evakuiert und wieder atmosphärischer Druck eingeleitet bis am Boden des Bechers keine Luftblasen mehr in der Silikonmischung sichtbar waren. Der äußere Boden des Probenbehälters wurde mit Alkohol abgewischt und mit einem sterilen Skalpell flach aufgeschnitten, woraufhin blasenfreies Silikon zum Befüllen der Form entnommen werden konnte.

Zur Befüllung und Handhabung des Formwerkzeuges siehe Kapitel 2.3.2.1.

Die erkalteten Silikonimplantate konnten mittels feinen Pinzetten gut bearbeitet werden. Entstandene Schwimmhäute wurden stumpf abgezogen. Die Stabilität des Pinansatzes wurde bei jedem einzelnen Stent geprüft. Die Stents wurden einzeln verschweißt ethylenoxid-sterilisiert. Vor der Implantation im Tierversuch wurden die sterilisierten Stents vier Wochen in ihren Sterilisationstüten gelagert.

2.1.2 Biodegradierbare Kunststoffe

2.1.2.1 Boehringer Resomere® (Poly-DL-Lactide und deren Copolymere)

Chemie, Daten, Lagerung

Auf ihre Eignung für den Stent untersucht wurden das biodegradierbare synthetische Homopolymer Poly(D,L-Lactid) (PDLLA) R 208, sowie die Copolymere Poly(D,L-Lactid-co-Glycolid) (PDLLA-co-Gly) RG 505 und RG 503 H, die alle unter dem Handelsnamen RESOMER® von der Fa. Boehringer (Ingelheim, Deutschland) als Granulat bezogen wurden. Resomer wird durch Polykondensation von Hydroxycarbonsäuren oder durch ringöffnende Polymerisation von Lactonen erhalten. So werden PDLLA aus racemischem D,L-Lactid und die Copolymere aus einer Mischung von D,L-Lactid und Glycolid hergestellt. Unter physiologischen Bedingungen erfolgt der hydrolytische Abbau zu Milch- bzw. Glycolsäure. Diese Abbaubestandteile werden vom Organismus metabolisiert und ausgeschieden. Durch Enzyme soll laut Herstellerangaben der Abbau von Resomer nicht wesentlich beeinflusst werden.

Bezüglich der Resorptionszeit werden für die R-Resomere Monate angegeben, während die RG-Resomere binnen Wochen bis Monaten abgebaut werden sollen. Das Resomer RG 503 H verfügt über hydrophile Gruppen, welche den Abbau noch weiter beschleunigen sollen. Geformt werden können die Resomere durch Lösung in Chloroform oder Aceton bzw. durch Schmelzen bei Temperaturen zwischen 160 und 230°C. Je nach Art der Verformung, Einsatzbereich und Implantatgröße kann das Abbauverhalten variieren.

Die Resomere erfordern eine trockene, kühle Lagerung unter 10°C. Dies wurde in mit Silika-Gel gefüllten Vakuimglocken bewerkstelligt, welche im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt wurden. Produktinformation und Datenblätter von Boehringer, Ingelheim⁹⁵⁻⁹⁸.

Verarbeitung

Vor der Verarbeitung wurde das jeweilige Material auf Raumtemperatur und Normaldruck gebracht.

Das so vorbereitete Granulat wurde wie in Kapitel 2.3.2.2 beschrieben weiter verarbeitet.

Die erkalteten Implantate wurden mit einem Skalpell entgratet, auf Einschlüsse geprüft und einzeln gelagert. Die Pinstabilität wurde geprüft.

Es wurden Stents aus den drei Resomeren R208, RG 505 und RG 503 H gefertigt.

PDLLA- und PDLLA-co-Gly-Degradation in PBS

Die Degradationsversuche erfolgten mit Stents aus R 208 und RG 503 H.

Die Untersuchungen zum hydrolytischen Abbauverhalten der verwendeten Polymere erfolgten bei 37°C, um den physiologischen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen. Je ein Stent wurde in 5 ml 0,13 M isoosmolarem Phosphat-Puffer mit einem pH von 7,40 (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) an einem Faden in einem Reagenzglas suspendiert, mit Antibiotikazusatz von 100 µl Benzalkoniumchlorid 50% (Apotheke Universitätsklinikum RWTH Aachen). Auf einem Heiz-Schüttelgerät (Heidolph Inkubator 1000) wurden die luftdicht verschlossenen Gefäße bei 37°C kontinuierlich geschwenkt. Das PBS mit BAC-Zusatz wurde wöchentlich gewechselt, gleichzeitig wurde photodokumentiert. Daneben sollte im Verlauf gravimetrisch der Gewichtsverlust der Stents nach definierter Trocknungszeit durchgeführt werden. Endpunkt sollte die vollständige Resorption des Implantates sein.

In einer zweiten Versuchsreihe erfolgte der gleiche Ansatz, allerdings wurde der Puffer nicht wöchentlich gewechselt. Die pH-Wert-Änderung durch den Abbau des Resomers sollte geprüft werden. Der pH-Wert wurde wöchentlich gemessen.

2.1.2.2 Multiblockcopolymer aus Oligo(p-dioxanon)diol, Oligo(alkylenglykoladipat)diol und Diisocyanat (PDA)

Chemie, Daten, Lagerung

PDA ist ein abbaubares, thermoplastisches Multiblockcopolymersystem auf der Basis von Poly(p-dioxanon)diol (PPDO) als Hartsegment und Poly(alkylenglykoladipinat)diol (PADOH, Diorez®) als amorphem Segment im Gewichtsverhältnis 50/50. Das Hartsegment basiert auf einem teilkristallinen aliphatischen Polyetherester, dem Poly(p-dioxanon) (PPDO), das bereits in Form resorbierbarer Nahtmaterialien (PDS®; Ethicon Inc., USA) angewandt wird. Das amorphe Segment ist ein Polyetherester, bestehend aus Adipinsäure und den Diolen Ethylenglykol, Butylenglykol und Diethylenglykol. Die das amorphe Segment und das

Hartsegment bestimmenden Makrodiole werden über ein aliphatisches Diisocyanat, durch Ausbilden von Urethanbindungen gekuppelt. Lendlein⁹⁹ stellte 2002 das Konzept eines biodegradierbaren, thermoplastischen Elastomeren mit Formgedächtniseigenschaften für mögliche medizinische Anwendungen vor. Das Multiblockcopolymersystem PDA wurde im Rahmen der Dissertation von Ute Ridder synthetisiert und analysiert (Ridder¹⁰⁰ 2003; Kelch¹⁰¹ 2003). Das PDA für die Stentherstellung stand in Folienform mit etwa 150 µm Dicke zur Verfügung. Die Biokompatibilitätstestung wurde mit einzeln verschweißten, ethylenoxid-sterilisierten Folienkreisen von etwa 13 mm Durchmesser und 300 µm Dicke durchgeführt. Das Material wurde bei -20°C in den zuvor beschriebenen Vakuumglocken, die mit Silica-Gel befüllt waren, gelagert.

Verarbeitung, Sterilisation

Vor der Verwendung wurde das Material auf Raumtemperatur und Normaldruck gebracht. Die so vorbereiteten PDA-Folien wurden, wie in Kapitel 2.3.2.3 beschrieben, durch Aufschmelzen und in eine Form pressen weiterverarbeitet. Die erkalteten, fertigen Stents konnten mit Pinzetten gesäubert und entgratet werden. Die fertigen Stents wurden einzeln verpackt ethylenoxid-sterilisiert.

PDA-Degradation in PBS

Die Untersuchungen zum hydrolytischen Abbauverhalten des PDA erfolgten bei 37°C, um den physiologischen Verhältnissen möglichst nahe zu kommen. Je ein Stent wurde in 5 ml 0,13 M isoosmolarem Phosphat-Puffer mit einem pH-Wert von 7,40 (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) an einem nicht resorbierbaren Faden in einem Reagenzglas suspendiert, unter Zusatz eines Antibiotikums (100 µl Benzalkoniumchlorid 50%, Apotheke Universitätsklinikum RWTH Aachen). Auf einem Heiz-Schüttelgerät (Heidolph Inkubator 1000) wurden die luftdicht verschlossenen Gefäße bei 37°C kontinuierlich geschwenkt. Das PBS mit BAC-Zusatz wurde wöchentlich gewechselt, gleichzeitig wurde photodokumentiert.

Es wurde ein zweiter, identischer Versuch angesetzt, jedoch ohne wöchentlichen Wechsel des PBS, um die pH-Wert-Änderungen im Verlauf des hydrolytischen Abbaus zu untersuchen. Der pH-Wert wurde wöchentlich gemessen.

Endpunkt für die Abbauuntersuchungen war die vollständige Degradation der Implantate.

2.2 Zellbiologische Untersuchungen mit PDA

2.2.1 Zellen und deren Kulturbedingungen

Die in-vitro-Studien wurden mit L929-Fibroblasten durchgeführt. Die Kultivierung der L929-Zellen erfolgte in handelsüblichen Kulturflaschen mit dem Universalmedium RPMI-1640 (Bio Whittaker, Verviers, Belgien). Dem Medium wurden 10% fetales Kälberserum (FCS; PAA, Pasching, Österreich) und 1% Penicillin/Streptomycin (PAA, Pasching, Österreich) zugegeben. Die Zellen wurden bei 37°C und 5% CO₂ kultiviert. Für das Passagieren wurde Trypsin 0,25% (PAA, Pasching, Österreich) verwendet.

2.2.2 Degradierung von PDA-Stents in Zellkultur

Das Abbauverhalten von 20 gefertigten Stents in L929-Fibroblastenkultur wurde untersucht, um den physiologischen Degradationsverhältnissen noch näher zu kommen. Dafür wurden zehn Stents ethylenoxid-sterilisiert, die übrigen zehn Stents wurden lediglich unter sterilen Bedingungen aus der gerade erkalteten Form entnommen und nicht nochmals einzeln sterilisiert. So sollten eventuelle größere Unterschiede in Abbauverhalten und Biokompatibilität der Stents beider Gruppen, sowie sonstiges, makroskopisch abweichendes Wachstumsverhalten der jeweiligen L929-Zellen untersucht werden.

Die Kavitäten von 6-Well-Platten wurden mit je 5 ml einer vorbereiteten L929-Zellsuspension einer Konzentration von 5000 Z/ml befüllt. Je ein Implantat wurde unter sterilen Bedingungen in der Lösung suspendiert. Die Inkubation erfolgte unter in Kapitel 2.2.1 genannten Bedingungen. Das Medium wurde alle drei Tage gewechselt, wodurch ein physiologischer pH-Bereich eingehalten wurde. Der Verlauf wurde photographisch und Mikroskopie-photographisch dokumentiert. Endpunkt war die vollständige Resorption der Implantate.

Bei auftretenden Kontaminationen wurde das Medium gewechselt, sowie der entsprechende Stent bzw. die Reste in RPMI-1640 mit 10% FCS und Penicillin/Streptomycin 1% (siehe Kapitel 2.2.1) und Amphotericin B 0,25 mg/ml (PAA, Pasching, Österreich) gespült.

2.2.3 Zytotoxizitätsprüfung von PDA

Die Untersuchungen wurden im indirekten Kontakt durchgeführt. Zur Positiv- und Negativkontrolle wurden Extrakte toxischer Folie von Rehau (Rehau, Deutschland) respektive Biofilm von Heraeus (Hanau, Deutschland) mitgeführt, außerdem eine 5%-Ethanolkontrolle relativer Toxizität. Zur Biokompatibilitätstestung mittels BrDU- sowie WST-1-Elisa wurden jeweils drei Prüfzyklen durchgeführt, mit jeweils 24 Prüfungen für PDA, Negativ- und Ethanolkontrolle, sowie 16 Prüfungen für die Positivkontrolle.

2.2.3.1 Extraktherstellung für die indirekten Tests

Für die Extraktherstellung der PDA-Materialprobe standen ethylenoxid-sterilisierte kreisförmige Folien zur Verfügung. In drei Kulturflaschen wurden die Materialproben mit jeweils 24 cm² Oberfläche gegeben, diese wurden mit jeweils 7 ml des beschriebenen RPMI-Mediums befüllt und verschlossen. Danach wurde 72 h bei 37°C auf einem Heizschüttler (Heidolph Inkubator 1000) eluiert.

Analog dazu wurde die gleiche Oberfläche der beiden Kontrollfolien mit der gleichen Menge Medium ausgeschüttelt. Die Extrakte für die erste Testung wurden nach der Herstellung direkt weiterverarbeitet, die Extrakte für die Zyklen zwei und drei wurden bei -20°C eingefroren. Vor der Weiterverarbeitung wurden die (aufgetauten) Extrakte steril filtriert (0,22 µm; Millipore, Billerica, USA). Es wurde mit jeweils 6 ml Extrakt weitergearbeitet, wobei vor der Inkubation mit den jeweiligen L929-Zellen alle Proben mit 10% FCS und 1% Penicillin/Streptomycin versetzt wurden. Für alle Extrakte betrug die endgültige Konzentration der Prüfmedien 3 cm² Polymerprobe/ml Medium.

Für die 5%-Ethanolkontrolle wurde Ethanol absolut vergällt mit Medium gemischt. Auch hier erfolgte die entsprechende Zugabe von FCS und Antibiose.

2.2.3.2 Zellmorphologische Untersuchungen

Zur Beurteilung der Zellmorphologie nach indirektem Kontakt mit den Prüfmedien wurden 700 µl einer Zellsuspension der Dichte von 50000 Z/ml auf Chamber Slides (4 Wells; Greiner, Solingen, Deutschland) ausgesät und für 24 h bei 37°C und 5% CO₂ inkubiert. Das Medium wurde nun gegen das wie in Kapitel 2.2.3.1 beschrieben hergestellte Prüfmedium und die Kontrollen, je 700 µl, ausgetauscht. Nach wiederum

24 h wurden die Flüssigkeiten abgesaugt und die Zellen für 20 min mit Formalin 3,7% fixiert, danach mehrmals kurz mit entionisiertem Wasser gewaschen. Es folgte die 12-minütige Färbung mit Mayers Hämalaun-Fertiglösung (Merck, Darmstadt, Deutschland), danach die zwanzigminütige Spülung unter fließendem Wasser. Abschließend wurde der Objektträger feucht eingedeckelt. Die Bewertung erfolgte nach zellmorphologischen Kriterien unter dem Durchlichtmikroskop.

2.2.3.3 Zellproliferationstest über DNA-Synthese (BrdU)

Für die Versuche im indirekten Kontakt kam ein kolorimetrisches BrdU-Immunoassay zur Anwendung. L929-Zellen wurden in einer Dichte von 30000 Z/ml auf 96-Well-Mikrotiter-Platten (MTP, Greiner, Solingen, Deutschland) angesiedelt, die Menge des Kulturmediums betrug 100 µl pro Kavität. Diese Zellen wurden 24 h bei 37°C unter genannten Kulturbedingungen inkubiert. Nach 24 h wurde das Kulturmedium abgesaugt und gegen die ausgeschüttelten Prüfmedien der PDA-, Biofolie und toxischer Folie sowie 5%-Ethanollösung ausgetauscht. Pro Prüfzyklus wurden jeweils 24 Wells mit PDA-, Biofolieneluat und Ethanollösung sowie 16 Wells mit Eluat toxischer Folie befüllt. Die Zellen wurden mit jeweils 100 µl der beschriebenen Prüfmedien überschichtet.

Für die folgende Prüfung wurde ein Cell Proliferation ELISA, BrdU (colorimetric) Kit der Firma Roche (Mannheim, Deutschland) verwendet. Es wurde 1,0 ml BrdU-Lösung, bestehend aus 10 µl BrdU-Labeling-Reagent in 990 µl sterilem Kulturmedium (=100 µmol/l BrdU), hergestellt. Nach 24 h Inkubationszeit der Zellen mit den Prüfmedien wurde jedes Well mit 10 µl der BrdU-Lösung überschichtet. Während der zweistündigen Inkubation bei 37°C wird das BrdU anstelle von Thymidin in die DNA proliferierender Zellen eingebaut. Nach 2 h wurden die mit dem Labeling Reagenz versehenen Prüfmedien abgesaugt, und gegen 200 µl FixDenat-Lösung (Ethanol) ausgetauscht. Das FixDenat-Reagenz denaturiert die Zell-DNA und vereinfacht die Adhäsion des Anti-BrdU-Antikörpers an das BrdU, welches in neu synthetisierte, intrazelluläre DNA vitaler Zellen inkorporiert wurde. Nach 30 min Inkubation bei Raumtemperatur wurde die Fixierlösung abgesaugt und die MTP vorsichtig auf Zellstoff getrocknet. Die denaturierte DNA wurde mit 100 µl Anti-BrdU POD-Arbeitslösung pro Well überschichtet. Anti-BrdU-POD-Arbeitslösung enthält monoklonale Maus-Antikörper (Klon BMG 6H8, Fab-Fragmente, Peroxidase-

gekoppelt), welche einen primären Antikörper gegen BrdU darstellen. Nach 90 min Inkubationszeit bei Raumtemperatur wurden die freien Antikörper durch drei Waschschriffe mit je 200 μ l PBS entfernt (Elisa Washer, Tecan) und anschließend diese Waschlösung durch 100 μ l Substratlösung/Well ersetzt. Die gebrauchsfertige Substratlösung enthält Tetramethylbenzidin (TMB). Die an den BrdU-Anti-BrdUKomplex gekoppelte Peroxidase setzt das Substrat TMB zu einem Farbstoff um. Die Substratreaktion wurde nach 10 min Inkubationszeit bei Raumtemperatur durch Zugabe von 25 μ l 1 mmol/l H₂SO₄ gestoppt. Der gebildete Farbstoff und die dadurch auftretende Absorption korreliert direkt zu der Menge neu synthetisierter DNA und damit zur Anzahl proliferierender Zellen in der jeweiligen Kultur. Die Extinktionen wurden mit einem ELISA-Reader (Dynatech MR 5000) bei einer Wellenlänge von $\lambda=450$ nm (Referenzwellenlänge $\lambda=690$ nm) gemessen.

2.2.3.4 Vitalitätstestung über EB und FDA

Zur Vitalitätsprüfung im indirekten Kontakt wurden Chamber Slides mit 700 μ l der Zellsuspension mit einer Dichte von 50000 Z/ml besiedet. Es folgte eine Inkubation über 24 h unter den entsprechenden Kulturbedingungen. Danach wurde das Medium durch die Prüffextrakte ausgetauscht, und wiederum 24 h inkubiert. Nach 24 h wurden die Prüffmedien abgesaugt und die Chamber Slide Unterteilung entfernt, danach wurden 10 ml Standardmedium auf den Objektträger pipettiert. Anschließend wurden je 50 μ l FDA (Fluoreceindiacetat, 0,5%, w/v in Aceton) (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) und 50 μ l EB (Ethidiumbromid, 0,05% w/v in 0,9% NaCl) (Sigma-Aldrich, München, Deutschland) zugegeben und die Präparate nach vorsichtigem Mischen 2 min bei Raumtemperatur inkubiert. Nach viermaligem Spülen mit PBS wurden die Proben eingedeckt. Die Beurteilung der Zellen unter dem Durchlichtmikroskop mit Fluoreszenzfilter schloß die Untersuchung ab.

FDA wird intrazellulär enzymatisch zu Fluorescein umgesetzt und färbt das Zytoplasma vitaler Zellen grün. Die DNS toter Zellen reichert durch die herabgesetzte Membranintegrität EB an, so dass hier die Kerne rot gefärbt werden (Kvach¹⁰² 1982).

2.2.3.5 Zellproliferationstest über Mitochondrien-Aktivität (WST-1-Reagenz)

Die mitochondriale Aktivität der Zellen nach indirektem Kontakt mit dem zu prüfenden PDA-Polymer wurde mit dem WST-1-Test erfasst. Zur Anwendung kam das Cell Proliferation Reagent WST-1 der Firma Roche (Penzberg, Deutschland). Auf einer 96-Well-MTP wurden 100 µl einer Zellsuspension (Dichte 30000 Z/ml) pro Well ausgesät und 24 h unter Kulturbedingungen inkubiert. Anschließend wurde das Medium gegen die in Kapitel 2.2.3.1 beschriebenen Prüfmedien ausgetauscht und erneut 24 h inkubiert. Nach Hinzufügen von 10 µl WST-1-Reagenz (ready-to-use WST-1 and electron coupling reagent) pro Well wurde wiederum 2 h inkubiert, danach erfolgte die Auswertung am Elisa-Reader bei einer Wellenlänge von $\lambda=450$ nm (Referenzwellenlänge = 690 nm). Die optische Dichte der Proben wurde mit den Werten der Positiv- und Negativkontrolle sowie Ethanolkontrolle verglichen.

Das WST-1-Kit beruht auf der Umsetzung des Tetrazoliumsalzes WST-1 zu rotem Formazan durch mitochondriale Dehydrogenasen. Eine Proliferation vitaler Zellen resultiert in erhöhter Enzymaktivität, wodurch mehr WST-1 zu Formazan-Farbstoff umgesetzt wird. Die Extinktion eines Lichtes geeigneter Wellenlänge korreliert damit direkt mit der Anzahl metabolisch aktiver Zellen einer Kultur.

2.3 Herstellungstechnik des Glaukomstents

2.3.1 Grundlagen und Voraussetzungen zur Formgebung des Stents

Die Form des Stents wurde basierend auf den Vorgaben, die sich durch den an der Universitätsaugenklinik Ulm verfügbaren Erbium:YAG Laser MCL-29 der Firma Aesculap (Tuttlingen, Deutschland) mit einem entsprechenden Applikatorsystem definierten, konstruiert. Das laserchirurgische Verfahren (siehe Kapitel 1.5) produziert einen korneoskleralen Kanal von ca. 320 µm Durchmesser (Kampmeier⁴⁴ 1993).

Diese soll durch den Stent geschient werden. Ein 6 mm langer, 300 µm durchmessender Pin, läuft in eine 5x5 mm große, 400 µm dicke Platte aus, deren Ecken abgerundet sind. Diese Platte erleichtert die Handhabung und soll in situ durch Fibrosierung des umliegenden Gewebes einen subkonjunktivalen Hohlraum schaffen, welcher als Filterkissen fungiert. Etwa 1 mm hinter der Pinspitze sind zwei

halbmondförmige Stopper angeformt, die als Widerhaken dienen sollen (Kapitel 2.3.1.2, Abb. 7 und 8).

2.3.1.1 Spezifikation der Form

Zur Verarbeitung des Werkstoffes Silikon eignen sich präzisionsgefräste Messingformen, welche relativ unproblematisch zu bearbeiten sind.

Der erste Prototyp ließ die Herstellung eines Implantates pro Pressvorgang zu. Das Formwerkzeug bestand aus einem in der Mitte geschnittenen Messingblock mit 3x3x3 cm Kantenlänge. Eine zentrierte 300 µm-Bohrung in der Schnittebene formt den Pin. Eine, in 1 mm Abstand vom Pinende, 100 µm tiefe, konische 500 µm durchmessende Bohrung in beide Formteile formt die Stopper. Eine 200 µm tiefe Ausfräsung in jedes Formteil, von 5x5 mm Kantenlänge und gerundeten Ecken bildet die Platte, welche in einem weichen Radius an den Pin anschließt. Das erste Formwerkzeug sieht je nach Verwendung von Silikon bzw. resorbierbaren Materialien außerdem die Möglichkeit vor, einen permanenten respektive resorbierbaren Faden durch die Längsachse der Implantatkavität zu spannen, um diesen in den Stent einzugießen. Der in das Pinende eintretende Fadenstummel soll das Einfädeln in das äußere Sklerostomie-Ostium erleichtern.

Durch 4 Schrauben, 4 Hohlbohrungen in der oberen Formhälfte und 4 Gewindeläufe in der unteren Formhälfte wird die Form verschraubt und verpresst. Zusätzliche Führung ist durch 2 Stahlstifte gegeben, welche in entsprechenden Bohrungen der anderen Formhälfte gleiten.

Drei Kopien dieser ersten Form, gefertigt in den wissenschaftlichen Werkstätten des Universitätsklinikums der RWTH Aachen lassen die nicht benötigte Einspannvorrichtung für einen Faden aus. Durch Verwendung aller Formen konnte die Produktionskapazität erhöht werden.

2.3.1.2 Modifikationen der Form

Zur Evaluierung der mechanischen Eigenschaften der Silikonstents und zur Erlangung einer gewissen Routine in der Implantatherstellung reichten die oben beschriebenen Formen aus. Zur Herstellung der im Rahmen der Tierversuche verwendeten Silikonimplantate wurde jedoch eine CNC-präzisionsgefräste

Messingform hergestellt (WEFIS-Vision GmbH, Köln, Deutschland). Die Ausformung von „Schwimmhäuten“ konnte dadurch weiter reduziert werden, durch den besonders gratfreien, weichen Übergang vom Pin zur Platte wurde die Abrissstabilität weiter erhöht. Eine glatte Formoberfläche im Bereich der Platte sollte vermehrte Zelladhäsionen vermeiden.

Bei der Verarbeitung von PDLLA und PDA reichten die anti-adhäsiven Eigenschaften der glatt gefrästen Messingoberfläche nicht aus, da sowohl die Resomere als auch das PDA in der Schmelze erheblich haften. Die Implantate konnten mit den vorhandenen Formen nicht ohne Zerstörung entformt werden. Daher wurde eine antiadhäsive Beschichtung des Formwerkzeuges nötig. Da eine Politur mit Polierpaste nicht zum gewünschten Erfolg führte, wurde versucht, eine Form mit Teflonspray zu behandeln. Jedoch führte diese Behandlung zur Abscheidung von Teflonbestandteilen auf den Implantaten nach dem Pressvorgang und kam somit ebenfalls nicht in Frage. PTFE-Blöcke und -folien, welche in Vorversuchen getestet wurden, sind als Formwerkzeug nur bedingt geeignet, da sie sich beim Pressvorgang verformen und Hitze nur sehr schlecht leiten.

Die Anforderung für eine Beschichtung liegt in ihrer minimalen Dicke, um den erheblichen Aufwand der Fertigung von Übermaßformwerkzeugen unbedingt zu vermeiden, sowie in der Abrasionssicherheit der Beschichtung. Diese Anforderungen werden von der PTFE-Durni-Beschichtung¹⁰³ der Firma AHC-Oberflächentechnik hervorragend erfüllt (AHC-Oberflächentechnik – Friebe & Reininghaus GmbH, Kerpen, Deutschland). Eine Beschichtungsdicke von 7-10 μm , gepaart mit einer glatten Oberfläche und hoher Abrasionssicherheit, erlauben die Fertigung einwandfrei geformter, resorbierbarer Implantate sowohl aus PDLLA als auch von PDA.

Abb. 7 zeigt die letzte Modifikation der Form mit antiadhäsiver Beschichtung. Die Führungsstifte aus Edelstahl wurden entfernt. Abb. 8 zeigt einen bearbeiteten Silikonstent auf einer Skalpellschneide zum Größenvergleich. Rechts im Bild zu erkennen ist der Pin mit halbmondförmigen Widerhaken an beiden Seiten, daran angeschlossen die Platte, welche subkonjunktival zu liegen kommt.

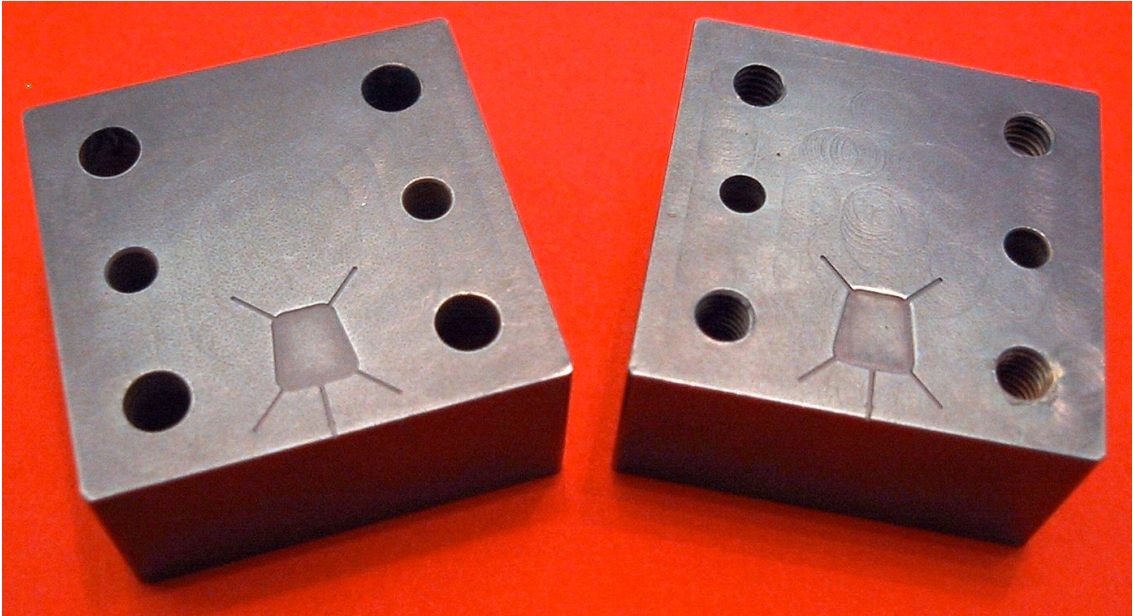


Abbildung 7 – Stentform mit PTFE-Beschichtung

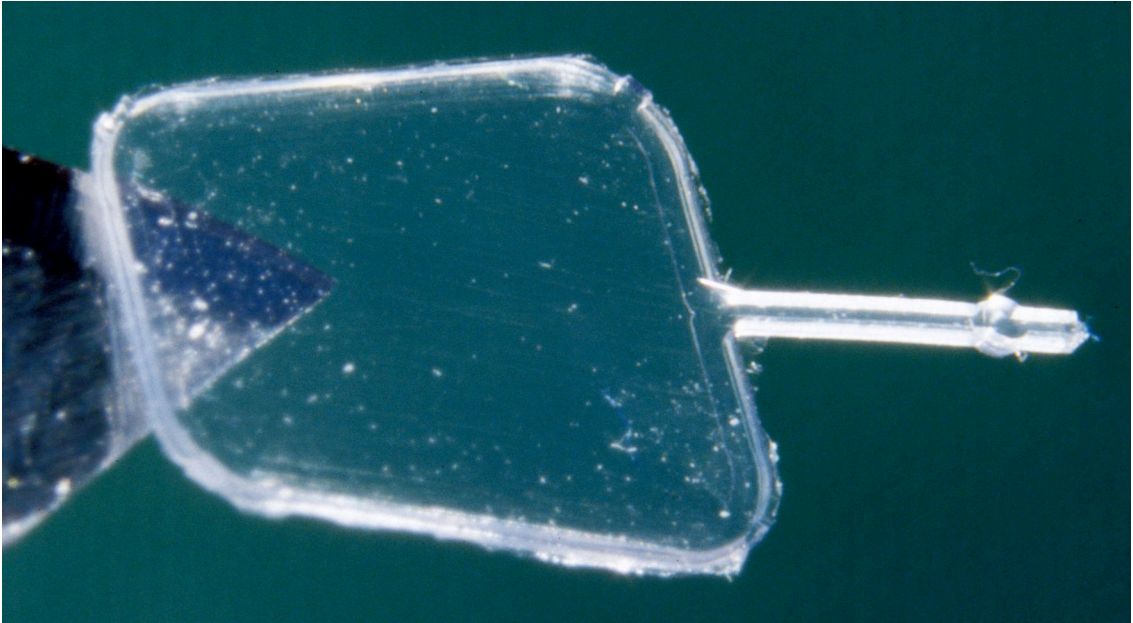


Abbildung 8 – Prototyp des Stents auf einer Skalpellspitze

2.3.2 Herstellungsprozess

2.3.2.1 *Silikonimplantate*

Die hitzeinduzierte Beschleunigung der Polymerisation von Silikon stellt ein bewährtes Verfahren dar, welches auch bei der Herstellung der Silikonstents zum Einsatz kommt (GE Bayer Silicones^{91,94}).

Das wie in Kapitel 2.1.1 beschriebene, fertig gemischte, evakuierte und blasenfreie Silikon wurde mit einem sterilisierten Spatel auf eine Seite des Formwerkzeuges gegeben, die Menge betrug etwa 0,2 ml. Die Form wurde vorsichtig verschlossen und dann fest verschraubt. Danach verblieb die Form für 20 min im vorgeheizten Ofen bei 160°C.

Nach Erkalten der Form wurden die Schrauben gelöst und die Form langsam geöffnet. Die Entnahme der Implantate erfolgte mit einer sterilisierten Pinzette. Unter einer Werkbank wurden Grate und Schwimmhäute steril mit Pinzette und Skalpell entfernt. Das fertig bearbeitete Implantat wurde einzeln in einer Zellkulturschale gelagert und später entsprechend verpackt Ethylenoxid-sterilisiert.

2.3.2.2 *PDLLA-(co-Gly)-Implantate*

Bezüglich der Verarbeitung von Boehringer Resomeren stehen mehrere Verfahren zur Verfügung. Die Verwendung eines Lösungsmittels wie Chloroform sollte aufgrund zu befürchtender inflammatorischer Eigenschaften vermieden werden. Darüber hinaus ist eine Verarbeitung durch Spritzgießen oder Pressen nach Erhitzen möglich (Boehringer Ingelheim⁹⁵).

Die, wie in Kapitel 2.1.2.1 beschrieben, vorbereiteten Polymerflocken wurden in einer Menge von etwa 20 mg auf eine Seite des Formwerkzeuges gelegt. Beide Formhälften wurden für 20 min in einen auf 170°C vorgeheizten Vakuumhitzeschrank gelegt. Während der Schmelze wurde der Vakuumschrank evakuiert um Blasenbildung im geschmolzenen Material zu vermeiden. Nach Ende der Einschmelzzeit wurde atmosphärischer Druck eingeleitet und der Schrank geöffnet. Die Form wurde zusammengefügt und durch Verschraubung verpresst, danach nochmals für weitere 5 min unter Vakuum erhitzt.

Nach Erkalten der Form wurden die Schrauben gelöst, die Formhälften vorsichtig auseinander gezogen, und das Implantat ggf. mit Pressluft entformt. Unter einer Lamina wurden Grate und Schwimmhäute mit entsprechenden Instrumenten steril entfernt. Die fertig bearbeiteten Implantate wurden in Zellkulturschalen bis zur weiteren Untersuchung trocken und kühl im Vakuum gelagert.

2.3.2.3 PDA-Implantate

Für dieses Material gelten im Prinzip die gleichen Herstellungsbedingungen wie für die Resomere.

Die wie in Kapitel 2.1.2.2 beschrieben vorbereitete Folie von 150 µm Dicke wurde in entsprechende Stücke geschnitten und in drei Lagen geschlagen. Die gefaltete Folie wurde zwischen beide Formhälften gelegt, die locker verschraubt wurden. Die Form wurde für 20 min im vorgeheizten Ofen bei 160°C erhitzt, dann verpresst und für weitere 5 min erhitzt. Die niedrige Viskosität des geschmolzenen PDA machte die Verwendung eines Vakuumofens unnötig, da es nur selten zu Lufteinschlüssen kam.

Nach Erkalten wurde die Form geöffnet und die Implantate mit einer Pinzette entformt. Es erfolgte die sterile Bearbeitung und Säuberung. Abschließend wurden die Implantate einzeln verpackt Ethylenoxid-sterilisiert.

2.4 Tierversuch

Die Tierversuche und die Instrumenten-Entwicklung (Kapitel 2.4.2.2) wurden unter freundlicher Mitarbeit des Tierforschungszentrums der Universität zu Ulm, Leitung Prof. Dr. Burghart Jilge, sowie des Institutes für Lasertechnologien in der Medizin und Messtechnik an der Universität Ulm, Leitung Prof. Dr. Rudolf Steiner, durchgeführt.

2.4.1 Versuchstiere, Haltung, Vorbereitung

Die experimentelle Erprobung des Stents am Tier ist für die endgültige Beurteilbarkeit in Hinsicht auf die für den Einsatz am Menschen erforderlichen Eigenschaften unerlässlich. Als geeignete Versuchstiere wurden Chinchilla-Kaninchen ausgewählt. Einerseits kommen die anatomischen Verhältnisse des Auges denen des Menschen relativ nahe, zum anderen besteht bei solchen

Standardversuchstieren eine große Erfahrung in der Handhabung und Betreuung. Die Größe des Kaninchenauges erlaubt die Implantation der gleichen Stentgröße wie beim Menschen. Die üblicherweise deutlich heftigere Entzündungsreaktion nach Manipulation am Kaninchenauge stellt einen empfindlichen Indikator bezüglich der Operationstechnik und generellen Eignung des Verfahrens dar.

Im Tierversuch wurden Silikonstents implantiert, um die Praktikabilität des Implantationsvorganges zu prüfen. Daneben sollten die histologischen Aspekte im Operationsgebiet und in der Umgebung des Implantates evaluiert werden.

Aus den oben genannten Gründen wurde der Tierversuch an vier Kaninchen durchgeführt. Bei den Tieren handelte es sich um männliche Chinchilla-Kaninchen, die mit einem Gewicht von etwa 2300 g von Charles River, Wilmington, USA, bezogen wurden. Um eine ausreichende Gewöhnung der jungen Tiere an ihre Umgebung zu erreichen, wurden sie innerhalb von 6 Wochen auf ca. 2800 g Gewicht aufgefüttert, bevor die Implantationsoperation durchgeführt wurde. Aufgrund des Geschlechts der Tiere war die Einzelhaltung in Käfigen der Dimension 60x50x40 cm aus rostfreiem Edelstahl notwendig. Die Haltung erfolgte im 12-stündigen Licht-Dunkelwechsel, Nahrung und Wasser standen ad libidum zur Verfügung. Die Raumtemperatur betrug 20°C +/- 1°C, die relative Feuchte 55% +/- 10%, der Luftwechsel erfolgte mit 100% Frischluft 20-fach pro Stunde.

2.4.2 Operative Stentimplantation

2.4.2.1 Vorbereitung, Narkose

Zur maximalen Straffung der Iris und damit Aufweitung des Kammerwinkels erfolgte die zweimalige Gabe des Miotikums Pilocarpin (Pilomann 1%; Dr. Mann Pharma, Berlin, Deutschland) im 10-Minuten Abstand eine Stunde vor dem Eingriff.

Sämtliche operativen Eingriffe wurden in Vollnarkose durchgeführt. Die Prämedikation erfolgte mit Atropin 1%, 0,2 mg/kg Körpergewicht (Atropinsulfat®; Braun, Melsungen, Deutschland) i.m., dann wurde ein venöser Zugang ins Ohr gelegt. Die Narkose wurde durch Ketamin 5%, 10 mg/kg KG (Ketanest®; Parke-Davis, Berlin, Deutschland) und Xylazin 2%, 2 mg/kg KG (Rompun®; Bayer, Leverkusen, Deutschland) i.v. fortgeführt. Ggf. wurde mit entsprechend geringeren Dosen nachdosiert. Eine Intubation oder Katheterisierung war nicht nötig.

2.4.2.2 Operationsverfahren: Lasertechnik, Instrumente, Sklerostomieanlage, Stentimplantation

Die sedierten, analgesi­erten Tiere wurden jeweils zur Operation am rechten Auge gelagert. Das Auge wurde mit einem Lidsperrer offen gehalten. Die Lider, Bindehautoberflächen und die Hornhaut wurden mit 5 ml PVJ-Lösung 1,25% (Braunol®; Braun, Melsungen, Deutschland) gespült und diese über 2 Minuten einwirken gelassen. Danach wurde der Operationssitus ausgiebig mit steriler NaCl-Lösung 0,9% gereinigt. Die Oberflächenanästhesie erfolgte mit Oxybuprocain 0.4% Augentropfen (Novesine®; Novartis, Nürnberg, Deutschland) und subkonjunktivaler Gabe von Mepivacain 1%-Lösung (0,5 ml) (Scandicain®; AstraZeneca, Deutschland) ca. 5-10 mm vom Hornhautlimbus entfernt. Die subkonjunktivale Anästhetikagabe erleichtert darüber hinaus die Bindehautpräparation. Nach Anlegen eines ca. 3 mm langen limbusparallelen Konjunktivaschnittes im Bereich der vorher durchgeführten Anästhesie und Präparieren von Konjunktivalamellen wurde die Laser-Sklerostomie durchgeführt.

Dazu wurde der Er:YAG-Sklerostomie-Laser „MCL 29“ der Fa. Aesculap-Meditec (Tuttlingen, Deutschland) verwendet. Dieser Festkörperlaser generiert eine gepulste Wellenlänge von 2943 nm bei einer Pulslänge von 180 µs. Die Pulsenergie beträgt dabei 11 mJ bei einer Repetitionsrate von 7 Hz. Bei genannter Wellenlänge ist die Dämpfung herkömmlicher Quarzfasern sehr hoch. Daher wird die Laserenergie über eine spezielle Zirkoniumfluoridfaser zum Applikatorstück übertragen. Die wasserfreie Zirkoniumfluoridfaser darf aufgrund ihrer hygroskopischen Eigenschaften und fraglicher Gewebstoxizität nicht direkt mit Gewebe in Verbindung kommen (Kampmeier⁴⁴ 1993). Daher wird diese im Applikatorstück auf eine 3 cm lange, herkömmliche Quarzfaser von 320 µm Durchmesser umgekoppelt. Diese wird an der Applikatorspitze von einer Stahlkanüle mit 800 µm Außendurchmesser ummantelt, welche vor Beschädigungen schützt und sich federnd zurückschieben lässt (Kampmeier⁵⁰ 1996) (Abb. 9).



Abbildung 9 – Handstück des Er:YAG Lasers: die lichtleitende Quarzfaser wird von einer Stahlkanüle bedeckt

Die Applikatorspitze wurde durch den Bindehautschnitt geführt und am Limbus angesetzt und der Laser durch einen Fußschalter aktiviert. Bei aktiviertem Laser und leichtem Druck gleitet die Quarzfaser aus der Kanüle hervor und ermöglicht eine Gewebeablation im permanenten Faserkontakt. Unter biomikroskopischer Kontrolle wurde der Applikator so lange vorgeschoben, bis die Quarzfaserspitze in der Vorderkammer sichtbar wurde. Der Durchmesser der so geschaffenen Sklerostomien beträgt etwa 300 μm (Kampmeier⁴⁴ 1993).

Nach Anlage der Sklerostomie wurde der Silikon-Stent mit einer speziell geformten, individuell angefertigten Pinzette (Abb. 10 und 11) gefasst und in das externe Ostium eingeführt. Mit einem weiterhin hergestellten, halbrund ausgeformten Pusher (Abb. 12) wurde der Pin vollständig versenkt und die Platte nach ausreichender Präparation einer subkonjunktivalen Tasche locker platziert. Eine zusätzliche Fixation des Stents erschien intraoperativ nicht notwendig. Die Bindehaut wurde mit 2 Vicryl® 8-0 Nähten (Ethicon Inc., USA) verschlossen. Abschließend wurde ein subkonjunktivales Dexamethason-Depot (0,4%, 0,5 ml) injiziert, der Lidsperrer entnommen und der venöse Zugang gezogen.

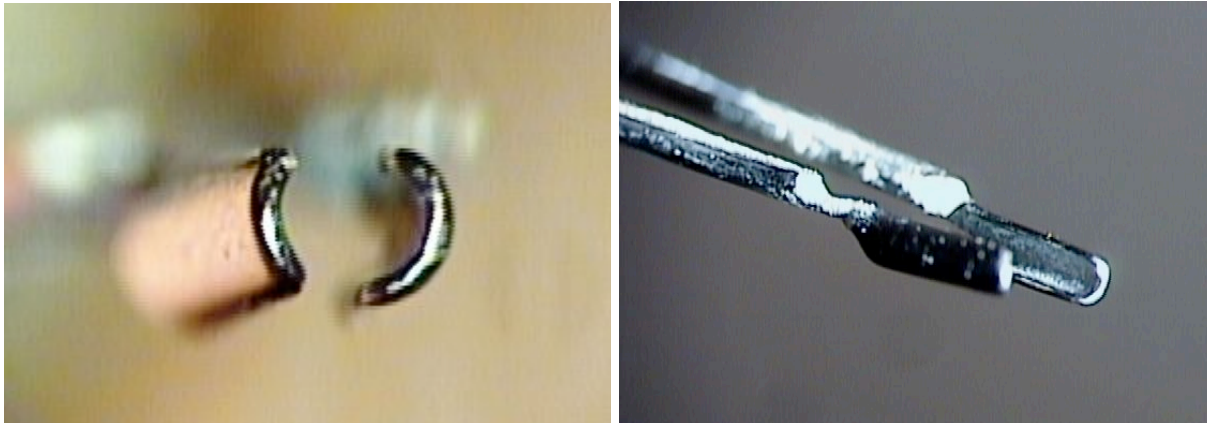


Abbildung 10 und Abbildung 11 – Spezialpinzette zum Greifen des Stent-Pins



Abbildung 12 – Pusher mit aufgerauter Oberfläche zum Versenken des Pins in der Sklerostomie

2.4.3 Postoperative Nachsorge, Verlaufskontrolle

Neben der Applikation von Pilocarpin 1% AT 3x/die zur Prophylaxe von Synechien wurde eine kortikosteroidale antibiotische Augentropfen-Kombination von Gentamycin und Prednisolon (Dexamytrex® AT; Dr. Mann Pharma, Berlin, Deutschland) 4x/die verabreicht, gleichnamige Augensalbe 1x zur Nacht. Zusätzlich wurden Diclofenac-AT (Voltaren®; Novartis Pharma GmbH, Nürnberg, Deutschland) 4x/die getropft. Die Medikation erfolgte über 4 Wochen.

Die Tiere wurden zunächst täglich, später bei regelrechter Wundheilung in mehrtägigen Abständen klinisch untersucht, inklusive Spaltlampenfotographie.

2.4.4 Explantationsoperation

6 Wochen nach Stentimplantation wurden zwei Kaninchen mit Stent in situ getötet, um die dem Stent anliegende Sklerostomie-Morphologie und subkonjunktivale Veränderungen zu beurteilen.

Bei den zwei anderen Kaninchen wurden in einer zweiten Operation die Implantate wieder gezogen. Das Narkose- und Operationsverfahren entsprach im Prinzip dem oben beschriebenen. Durch einen limbusparallelen Schnitt wurde der Stent nach vorsichtiger Bindehautpräparation entfernt. Die postoperative Medikation erfolgte wie in Kapitel 2.4.3 beschrieben. Die Tötung dieser zwei Kaninchen erfolgte 14 Wochen nach der Explantationsoperation.

2.4.5 Tötung, Eukleation und Histologie

Die Tiere wurden mit Atropin 1%, 0,2 mg/kg Körpergewicht (Atropinsulfat®; Braun, Melsungen, Deutschland) i.m. prämediziert und durch eine Überdosis Pentobarbital (Narcoren®; Merial, Hallbergmoos, Deutschland) eingeschläfert.

Nach der Eukleation wurden die Bulbi in Formalin 4% fixiert.

Nach entsprechender Aufarbeitung wurden radiäre Schnitte gefertigt und HE-gefärbt.

3 Ergebnisse

3.1 Polymeranalytik

3.1.1 Degradation von PDLLA-(co-Gly)-Stents in PBS

Bei der Herstellung der Resomer-Stents stellte sich heraus, dass diese Implantate sehr rigide und spröde sind. Bevor eine aufwendige, wöchentlich standardisierte Trocknung samt gravimetrischer Bestimmung durchgeführt werden sollte, wurden die Stents aus R208 in isotonem Phosphatpuffer pH 7,40 bei 37°C mit Benzalkoniumchlorid-Zusatz suspendiert. Dabei stellte sich heraus, dass auch durch die Absorption der Pufferlösung die Flexibilität nicht zunimmt. Die Versuche wurden ohne wöchentliche Gewichtsbestimmung, jedoch mit regelmäßigem Puffer- und Antibiosewechsel fortgeführt, um das Resorptionsverhalten zu prüfen. Nach etwa einem Jahr wurden die Versuche abgebrochen, zu diesem Zeitpunkt hatte sich die Form und Struktur der Implantate praktisch nicht verändert, jedoch zerbrachen sie schon bei leichter Biegebelastung. Der Pinansatz zeigte sich äußerst labil und spröde.

In der Versuchsreihe mit R208-Stents ohne Pufferwechsel sollte der pH-Wert wöchentlich gemessen werden. Nach einer Woche hatte der pH-Wert im Mittel um etwa 0,02 abgenommen, nach zwei Wochen um 0,10. Nachdem sich herausgestellt hatte, dass sich aufgrund der mangelnden Flexibilität der aus R208 produzierten Stents deren Verwendung als in vivo-Implantat ausschließt, wurden die pH-Wert-Messungen nur noch unregelmäßig durchgeführt, um Vergleichswerte zum danach untersuchten PDA zu erhalten. Nach 5 Wochen war der Ausgang-pH (7,40) um 0,35 auf pH 7,05 reduziert, nach insgesamt 3 Monaten lag er bei 6,70.

Obwohl die Resorptionszeit des zweiten getesteten Resomers RG 503 H erheblich verkürzt zu erwarten war, erschien auch dieses Material ungeeignet. Die außerordentlich spröde Struktur erschwerte die Entformung der Stents selbst aus der beschichteten Form. Die glasklaren Implantate zerbrachen schon bei leichter Berührung, auch sie zeigten keinerlei Flexibilitätszunahme nach Suspension in PBS. Die Versuche mit PDLLA und PDLLA-Glycolid Copolymeren wurden daraufhin abgebrochen.

pH-Wert Messreihen mit RG 503 H wurden nicht mehr durchgeführt.

3.1.2 Degradation von PDA-Stents in PBS

Die aus PDA hergestellten Stents zeigten vergleichbare Elastizität und Dehnbarkeit wie die aus dem Silikon hergestellten Stents. Die Degradation in isoosmolarem Phosphatpuffer mit Antibiotikazusatz erfolgte bei 37°C. Auf wöchentlich Gewichtsmessungen wurde dabei verzichtet, da in der Dissertation von Ute Ridder¹⁰⁰ (2003) entsprechende Untersuchungen zum Masseverlust beim in vitro Abbau unter identischen Degradationsbedingungen durchgeführt wurden. Dort wurde ein Gewichtsverlust von etwa 50% nach 450 Tagen beobachtet.

Besonderes Interesse bestand vielmehr an der Untersuchung der Änderung der mechanischen Eigenschaften während des Materialabbaus. Während der gesamten Zeit behielt das Material seine elastischen Eigenschaften, der Quellungsgrad des Materials nahm mit der Zeit zu. Nach einer Abbauphase von 12 Monaten wies das Material eine gelartige Konsistenz auf. Nach 14 Monaten war die physikalische Vernetzung des gelartigen Materials weitgehend aufgehoben, so dass die gequollenen und degradierten PDA Stents durch starkes Schütteln rückstandslos aufgelöst werden konnte. Abb. 13 zeigt ein Implantat aus einer Vorversuchsform nach einem PBS-Suspensionszeitraum von zwei Monaten. Es erscheint etwas trüb, zeigt sich aber bei mechanischer Belastung nicht spröde, sondern elastisch. Die Reißfestigkeit nahm dabei nach etwa 6 Monaten deutlich ab. Abb. 14 zeigt ein Implantat aus einer späteren Form nach 12 Monaten Suspensionszeit. Bei der Entnahme aus der Suspensionslösung rissen der Pin und der Haltefaden aufgrund der stark gelartigen Konsistenz aus. Das kreisförmig ausgestanzte Loch stammt von der Pipettenspitze, mit welcher das Implantat transportiert wurde.



Abbildung 13 – PDA-Implantat: 2 Monate Suspension in PBS



Abbildung 14 – PDA-Implantat: 12 Monate Suspension in PBS. Haltefaden ausgerissen, kreisrundes Loch durch Aufnahme mit einer Pipettenspitze

Im Ansatz ohne Pufferwechsel verlief der Abbau praktisch identisch. Der anfängliche pH-Wert nahm über den Messzeitraum von 14 Monaten von 7,40 auf durchschnittlich 6,39 ab, nachdem am Ende des Messzeitraums die Implantate durch Schütteln vollständig gelöst werden konnten.

3.2 Zellbiologische Untersuchungen mit PDA

3.2.1 Degradierung in Zellkultur

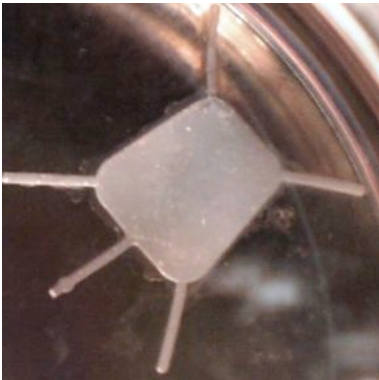
Das Resorptionsverhalten unter möglichst physiologischen Bedingungen in Zellkultur wurde durch Inkubation von Stents mit L929-Fibroblasten geprüft. Die Erfahrungen mit anderen Biomaterialien belegen ein in den meisten Fällen geändertes Degradationsverhalten in Gegenwart von Zellen. Daher sollte zusätzlich zum PBS-Ansatz dieser Versuch durchgeführt werden. Dabei spielte weniger der Gewichtsverlust des Material eine Rolle als vielmehr die Materialverträglichkeit als auch das tektonische Resorptionsverhalten. Darüber hinaus ist eine sinnvolle Gewichtbestimmung bei Zellbewuchs nicht möglich.

Während die getesteten PDLLA-Implantate sich durch zunehmende Spröde während der Suspension in PBS auszeichneten, wobei die Implantate leicht in Stücke auseinander brachen, verlief die Degradation der PDA-Stents anders. Die Implantate zeigten während der Resorptionszeit eine zunehmende Erweichung des Materials und Abrundungen an den Materialkanten. Während der Mediumswechsel wurden die Implantate nicht berührt, jedoch bewegt. Dadurch können Augenbewegungen und

Lidschlag nicht imitiert werden. Allerdings ist zu erkennen, dass die Implantate nicht unvermittelt auseinander brechen, sondern mit zunehmender Resorptionszeit dünner werden und auseinander reißen. Dieses Resorptionsverhalten kommt der Verwendung am Auge sehr entgegen.

Erste Veränderungen waren makroskopisch nach 3-4 Wochen zu erkennen, mikroskopisch bereits nach der zweiten Woche. Nach 6 Wochen zeigten sich makroskopisch bereits starke Abrundungen, und nach 12 Wochen begannen die ersten Implantate auseinander zu reißen. Nach etwa 2 Monaten kam es in einigen Ansätzen zu Kontaminationen, die durch Schwenken der Implantate bzw. der Implantatreste in RPMI-1640 mit 10% FCS und Penicillin/Streptomycin 1% (siehe Kapitel 2.2.1) und Amphotericin B 0,25 mg/ml (PAA, Pasching, Österreich) und anschließenden Mediumwechsel beherrscht werden konnten.

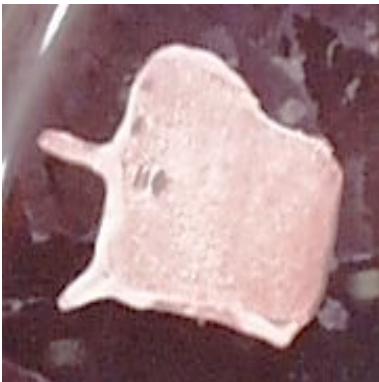
Nach 5 Monaten waren nur noch kleine Implantatreste vorhanden, aufgrund nun rezidivierender, persistierender Kontaminationen konnten die Versuche nicht bis zur vollständigen Auflösung fortgeführt werden. Es ist zu bemerken, dass aufgrund der Konstruktionsmerkmale handelsüblicher 6-Well-Platten, diese für eine Langzeitkultivierung nicht optimal geeignet sind. Allerdings waren diese Platten gut zu handhaben und erlaubten photographische Aufnahmen der Implantate ohne deren Entnahme aus der Zellkultur, was die Dokumentation und Kontrolle erheblich vereinfachte (Abb. 15 und 16). Die Untersuchungen zielten darauf ab, Unterschiede in der Resorptionszeit zwischen PBS-Puffer und Zellkultur herauszustellen. Dabei findet sich ein stark beschleunigter Abbau in Zellkultur. Unterschiede in der Abbauphase von ethylenoxid-sterilisierten und unsterilisierten Implantaten konnten nicht festgestellt werden. Auch betrafen die Kontaminationszwischenfälle nicht bevorzugt die unsterilisierte Probenkörpergruppe. In wie fern die Kontamination zu einer Beeinflussung der Degradationsgeschwindigkeit geführt hat, konnte nicht geprüft werden, da aufgrund der genannten Kontaminationsprobleme in dem gewählten Versuchsaufbau keine unkontaminierten Stents zur Verfügung standen.



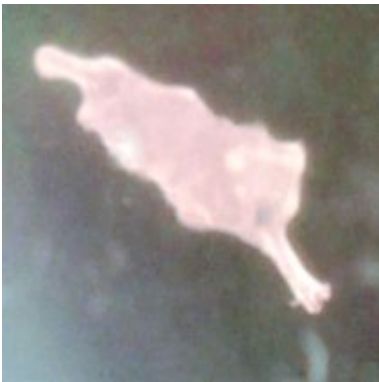
1 Woche



1 Monat



3 Monate



5 Monate

Abbildung 15 – Makroskopische Degradationsveränderungen von PDA-Stents in L929-Zellkultur

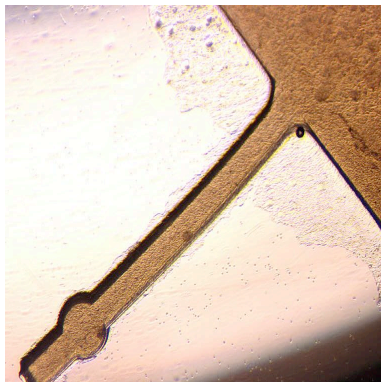
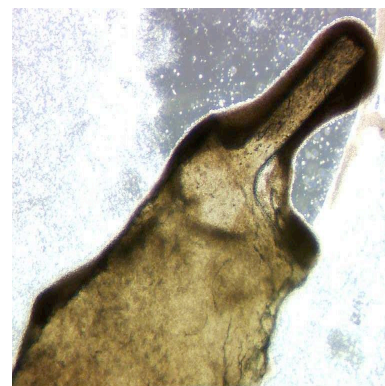
**1 Woche****1 Monat****3 Monate****5 Monate**

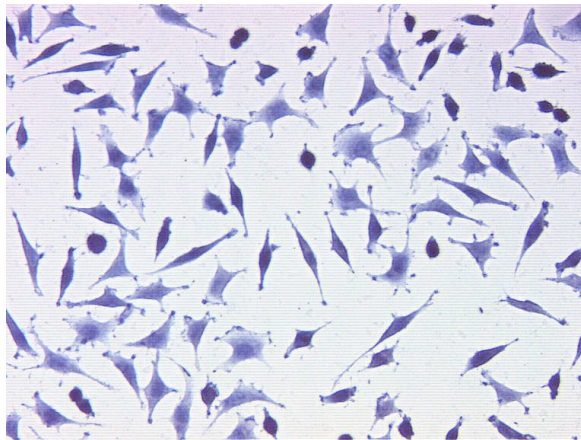
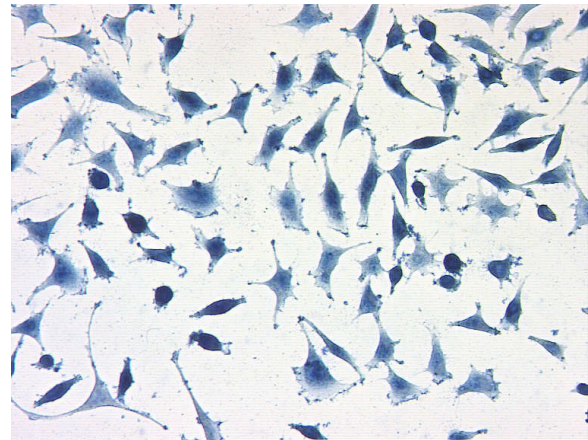
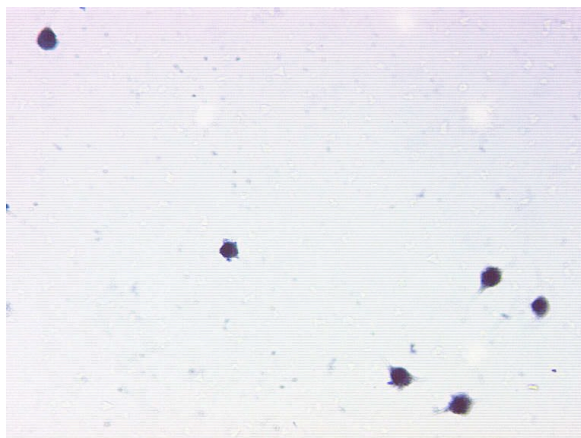
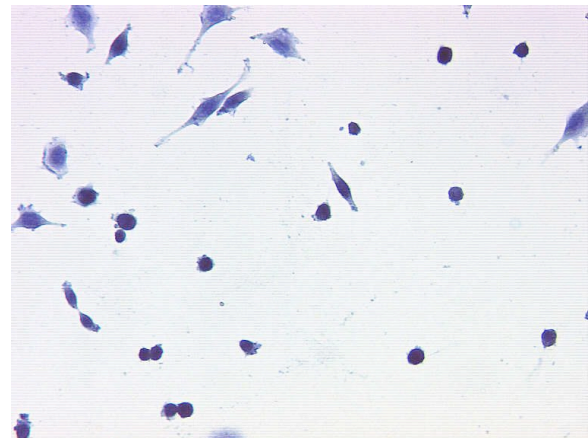
Abbildung 16 – Lichtmikroskopische Degradationsveränderungen von PDA-Stents in L929-Zellkultur (Vergrößerung 2,5x)

3.2.2 Zytotoxizitätsstudien

3.2.2.1 Zellmorphologische Untersuchungen

Die Morphologie wurde anhand Hämalaun-gefärbter Zellen beurteilt, welche vorher für 24 h mit den entsprechenden Eluaten beschickt wurden. Die Bewertung beinhaltete das äußere Erscheinungsbild der Zellen, Zellkernstruktur, Zytoplasma, Zellausbreitung und Zellmenge. Die Zellen, welche mit PDA-Eluat inkubiert wurden, zeigen keinen Anhalt für zytotoxische Veränderungen, die Gesamtzellmenge erschien gegenüber der Negativkontrolle gleich, bei nur unwesentlich mehr abgekugelten Zellen. Gute Konfluenz und Ausbreitung des Zytoplasmas ergaben keinen Hinweis auf Änderung der Zellmorphologie durch das getestete Material. Die

Untersuchung ergab in allen drei Testzyklen eine intakte, physiologische Zellmorphologie (Abb. 17).

**Biofilm****Testsubstanz PDA****Toxische Folie****Ethanol 5%**

**Abbildung 17 – Zellmorphologie von L929-Zellen nach indirektem Kontakt mit Eluaten
(Vergrößerung 20x, Hämalaun)**

3.2.2.2 Zellproliferationstest über DNA-Synthese (BrdU)

Die Testung der Proliferationsaktivität der L929-Zellen nach Inkubation mit Testsubstanz-Eluat mittels kolorimetrischem BrDU-Test beruht auf der Inkorporation des Pyrimidin-Analogons BrDU anstelle Thymidin während der DNA-Synthese. Der Detektionsantikörper anti-BrdU-Peroxidase bindet an die neu gebildete DNA mit inkorporiertem BrdU. Die gebildeten Immunkomplexe als Reaktionsprodukte werden mittels Absorptionsmenge bei entsprechender Wellenlänge quantifiziert. Die Ausprägung der Farbstoffentwicklung und dadurch Extinktion korreliert direkt mit der

Menge der synthetisierten DNA und damit der Menge proliferierender Zellen in der Kultur.

Pro Prüfzyklus wurden 24 Extinktionen für die PDA-Probe, Negativkontrolle und Ethanolkontrolle gemessen, 16 Extinktionen für Positivkontrolle. Es wurden drei Prüfzyklen durchgeführt. Aus den Messwerten und Standardabweichungen der drei Messreihen wurden die Mittelwerte gebildet. Der gemittelte Messwert der Negativkontrolle wurde gleich 100% gesetzt und mit den Ergebnissen der PDA-Probe und der anderen Kontrollen in Relation gesetzt (Abb. 18).

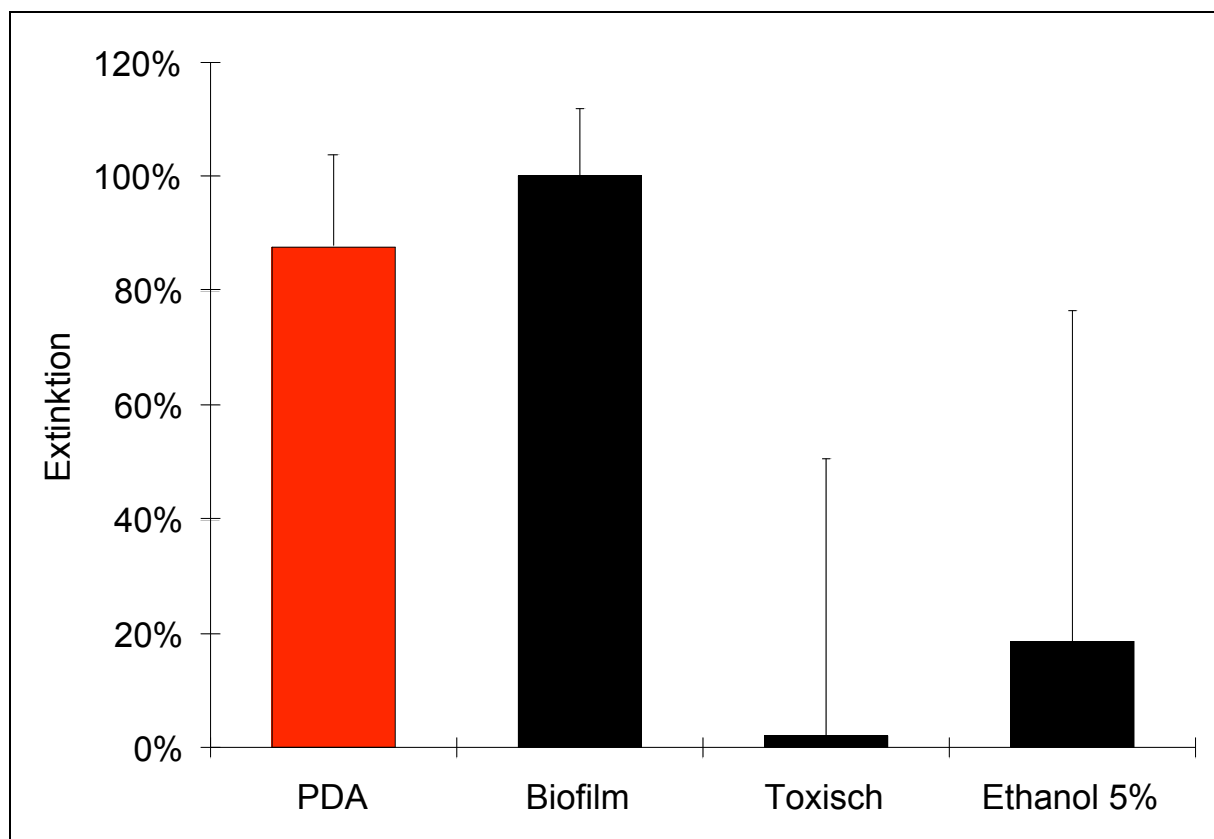


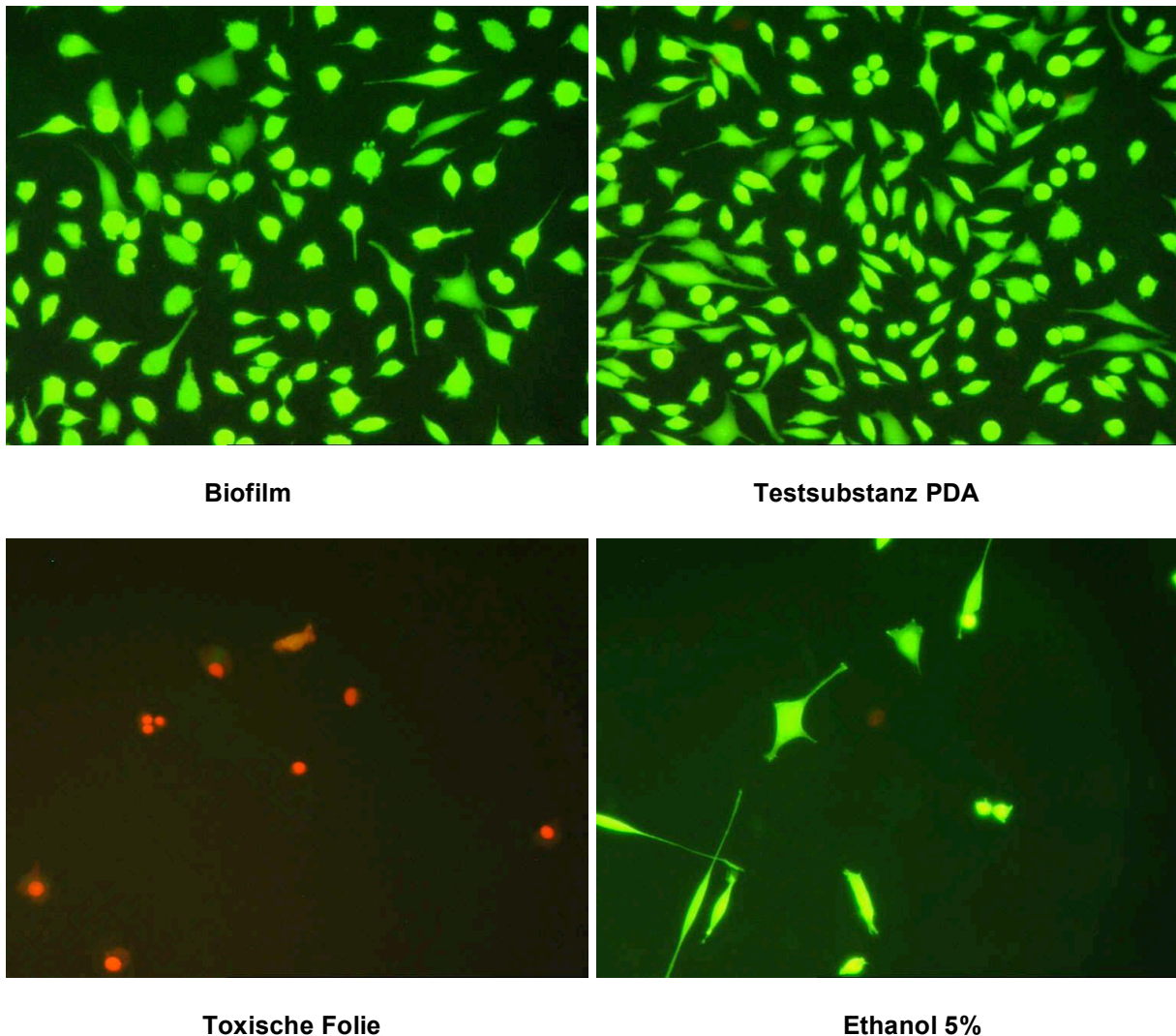
Abbildung 18: BrDU: indirekter Kontakt mit Eluaten 72 h, auf L929 30000 Z/ml, Inkubation 24 h

Es kann gesagt werden, dass die Proliferation der L929-Zellen durch PDA nur minimal gehemmt wird, in Relation zur Negativkontrolle mit 100% ($\pm 11,92\%$) ergibt sich ein Wert von 87,79% ($\pm 16,05\%$). Die Positivkontrolle hingegen erreicht einen Wert von 2,07% ($\pm 48,48\%$), während die Mittelreferenz von 5% Ethanol bei 18,64% ($\pm 57,89\%$) liegt (siehe auch Anhang, Tabelle 1).

3.2.2.3 Vitalitätstestung über EB und FDA

Die Vitalitätstestung erfasst die Membranintegrität der mit den Proben inkubierten Zellen. Der Fluoreszenzfarbstoff Fluoresceindiacetat (FDA) wird von intaktem Zytoplasma aufgenommen und fluoresziert bei entsprechender Anregung durch Beleuchtung mit einer Fluoreszenzlampe grün, während die Erhöhung der Zellpermeabilität geschädigter Zellen zu einer im Vergleich vitaler Zellen die Inkorporation des toxischen Ethidiumbromids in die DNA beschleunigt. Dies führt zu einer roten Fluoreszenz der Zellkerne.

Die L929-Zellen zeigen keinerlei toxische Einflüsse nach Inkubation mit PDA-Extrakt. Es sind keinerlei avitale Zellen zu finden. Auch die Zellausbreitung und Zellmenge ist im Vergleich zur Negativkontrolle nicht vermindert. Deutlich zu erkennen sind hingegen avitale Zellkerne bei der Positivkontrolle und der gemischte Aspekt bei der Ethanolkontrolle (Abb. 19). Die Ergebnisse korrelieren mit dem Erscheinungsbild der morphologischen Untersuchung.



**Abbildung 19 – Vitalitätstest mit EB und FDA an L929-Kultur im indirekten Kontakt
(Vergrößerung 20x)**

3.2.2.4 Zellproliferationstest über Mitochondrien-Aktivität (WST-1-Reagenz)

Die Evaluation der Zellproliferation anhand des WST-1-Tests beruht auf der Umsetzung von Tetrazoliumsalz zu Formazan durch mitochondriale Dehydrogenasen in vitalen Zellen. Die Bildung von Formazan korreliert direkt mit der mitochondrialen Enzymaktivität vitaler Zellen. Pro Prüfzyklus wurden 24 Extinktionen für PDA-Probe, Negativkontrolle und Ethanolkontrolle gemessen, 16 Extinktionen für Positivkontrolle. Es wurden drei Prüfzyklen durchgeführt. Aus den Messwerten und Standardabweichungen der drei Messreihen wurden die Mittelwerte gebildet. Der gemittelte Messwert der Negativkontrolle wurde gleich 100% gesetzt und mit den Ergebnissen der PDA-Probe und der anderen Kontrollen in Relation gesetzt (Abb. 20).

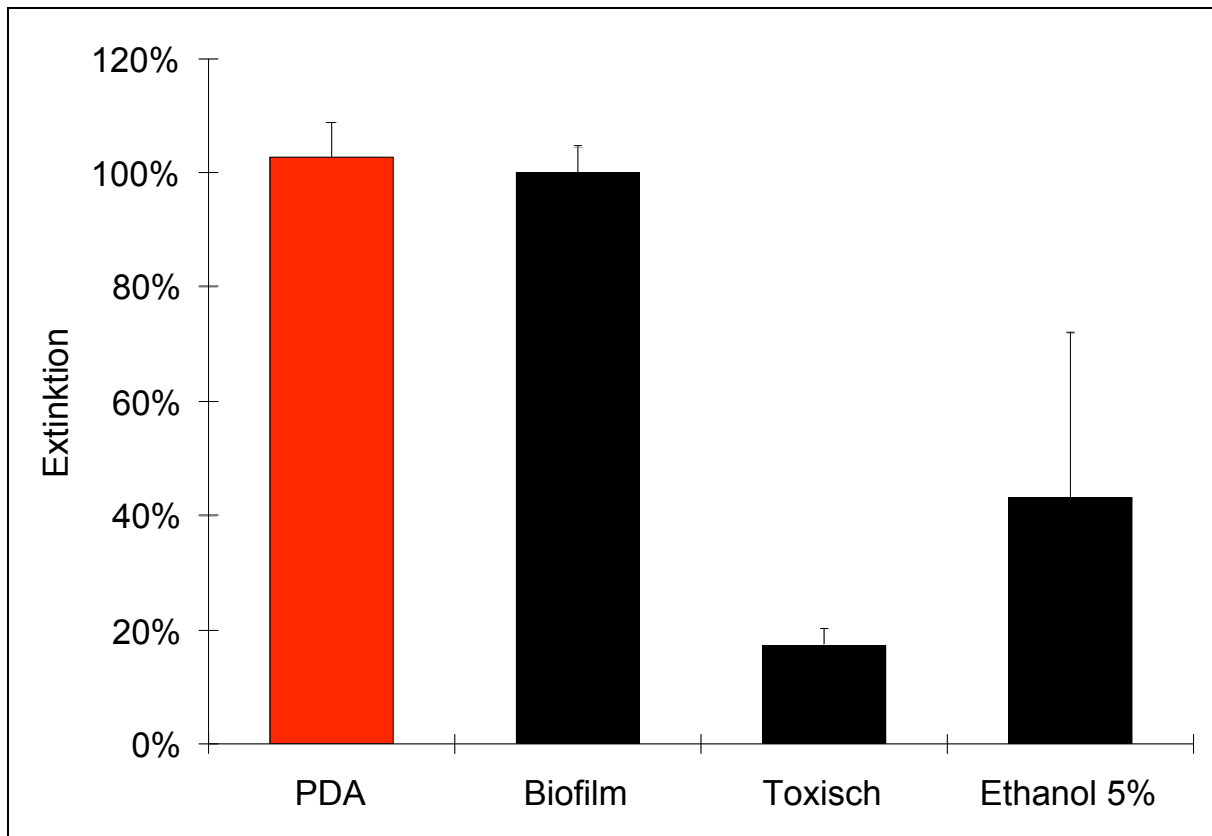


Abbildung 20: WST-1: indirekter Kontakt mit Eluaten 72 h, auf L929 30000 Z/ml, Inkubation 24 h

Die Ergebnisse zeigen eine Aktivität von 102,69% ($\pm 6,15\%$) für die PDA-Probe, das Material hat keinerlei hemmenden Einfluss auf die Mitochondrienaktivität im Vergleich zur Negativkontrolle 100% ($\pm 4,54\%$). Eine kritische Aktivitätsminderung lässt sich durch die Positivkontrolle mit 17,43% ($\pm 2,75\%$) sowie die Ethanolkontrolle bei 43,17% ($\pm 28,83\%$) belegen (siehe auch Anhang, Tabelle 2).

3.3 Tierversuch

3.3.1 OP-Erfahrung

Es wurden 4 Tiere operiert, jeweils am rechten Auge. Das Anlegen der Lasersklerostomie gestaltete sich generell unproblematisch. Allerdings wurde festgestellt, dass die Vorderkammer der Kaninchen erheblich flacher ist als die des Menschen. Beim ersten operierten Tier T1 wurde der sklerokorneale Kanal zu steil nach retroiridal ausgeführt. Durch die daraufhin flacher angesetzte Applikatorspitze am Limbus konnte danach ohne weitere Komplikationen eine korneosklerale

Sklerostomie in die Vorderkammer produziert werden, wobei es bei T3 nur zu einer leichten Berührung der Iris kam.

Aufgrund der Irismanipulationen bei den zwei Tieren T1, T3 kam es zu leichten Irisblutungen, welche sich im Verlauf komplikationslos resorbierten.

Mit den entwickelten Instrumenten konnte der Stent einwandfrei positioniert werden. Am praktikabelsten erwies sich das Einführen des Pins in das äußere Ostium mit der Fasspinzette, um den Rest des Pins unter Zuhilfenahme des Pushers zu versenken. Dann wurde die Platte subkonjunktival positioniert, bis sie glatt der Sklera anlag. Der Verschluss der Bindehaut erfolgte mit Vicryl®-Einzelknopfnähten 7/0 (Ethicon Inc., USA).

3.3.2 Postoperative Kontrollen

Postoperativ zeigten die zwei Tiere T2, T3 eine Fibrinreaktion der Vorderkammer, die sich aber unter Standardtherapie mit Dexamytrex®- 3x und Voltaren®-Augentropfen 4x täglich und Dexamytrex® Augensalbe zur Nacht während der ersten postoperativen Woche, zusätzlich Prednisolon-Augentropfen (Inflanefran forte® AT; Pharm-Allergan, Ettlingen, Deutschland) 2x täglich während der zweiten Woche, binnen 1-2 Wochen resorbierte. Alle Tiere schienen schmerzfrei, die postoperative Nachbeobachtung ergab keine Kratz- oder Reibespuren an den operierten Augen.

Bei T1 war der Pin postoperativ nicht in der Vorderkammer zu erkennen, auch die Platte war unter der Bindehaut nicht zu sehen. Das Auge war völlig reizfrei, zeigte jedoch ein Iristrauma infolge der retroiridal gesetzten Laserpulse (Abb. 21).

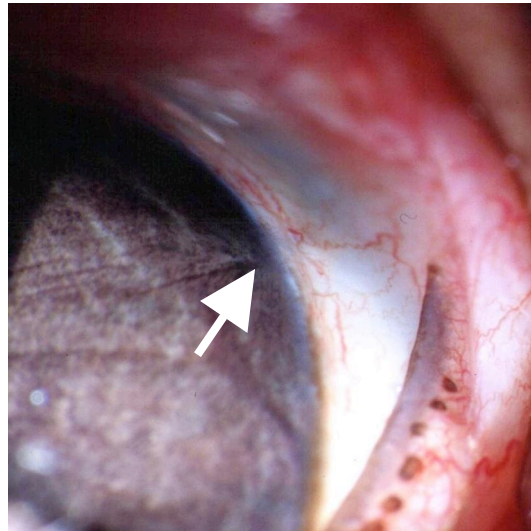


Abbildung 21 – T1: Stent nicht auffindbar, Iristrauma nach retroiridaler Sklerostomieanlage

T2 zeigte nach Resorption des Fibrins den Idealbefund, die Platte lag der Sklera flach an, der Pin war in der Vorderkammer gut zu erkennen (Abb. 22 und 23).

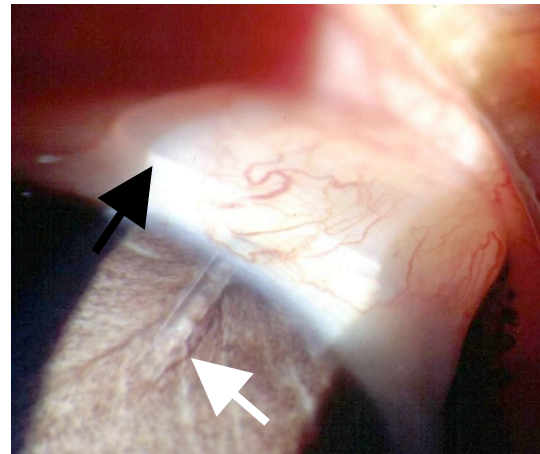
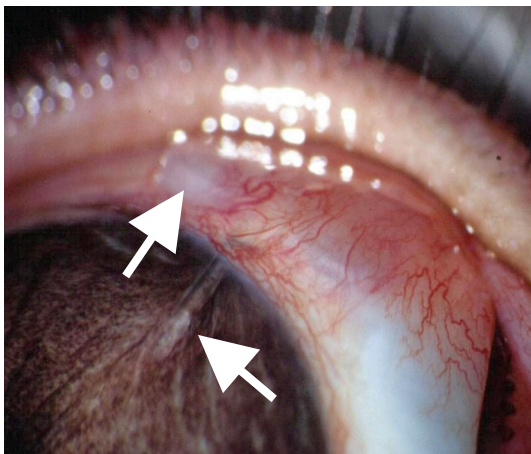


Abbildung 22 und Abbildung 23 – T2: Idealbefund, Pin in der Vorderkammer, Platte liegt subkonjunktival glatt an

Der Aspekt bei T3 war ähnlich, der Eintritt des Pins in das äußere Ostium war gut zu erkennen, allerdings war die Stentspitze in der Vorderkammer ohne Gonioskop nicht zu erkennen.

Bei T4 war die Platte postoperative im völlig entzündungsfreien Auge gut unter der Bindehaut zu erkennen, jedoch kein Pin in der Vorderkammer, binnen des ersten postoperativen Monats zeigte sich eine zunehmende Verdickung des subkonjunktivalen Raums, bei genauer Betrachtung war die Platte samt umgebogenem Pin subkonjunktival zu erkennen (Abb. 24).

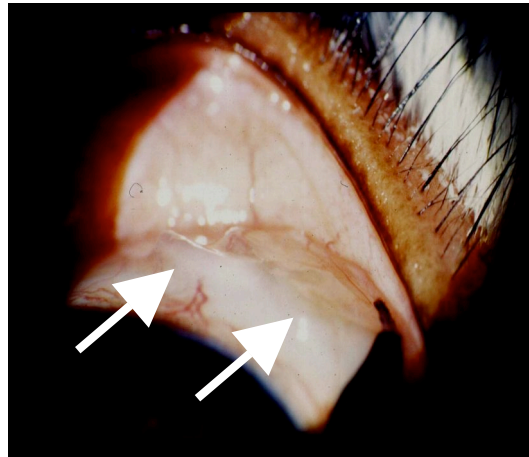


Abbildung 24 – T4: Stentplatte rechts im Bild, luxierter Pin liegt umgebogen unter der Bindehaut

3.3.3 Stentexplantation

Bei den Tieren T2 und T3 lag das Implantat am besten, daher wurde entschieden, an diesen beiden Tieren zu explantieren, um den Verlauf mit offener Sklerostomie und die histologischen Veränderungen nach Stentexplantation zu kontrollieren. Während nach 6 Wochen die Tiere T1 und T4 getötet und mit Stent in situ enukleiert wurden, erfolgte am gleichen OP-Tag nur die Explantation des Stents bei den Tieren T2 und T3. Die OP-Vorbereitung sowie die postoperative Medikation erfolgten analog zur Primär-OP.

Die Bindehaut wurde am dorsalen Ende der Stentplatte mit einer Vannas-Schere (AMANN ophthalmic instruments, Liptingen, Deutschland) eröffnet. Es zeigte sich eine derbe, entzündungsfreie Ummantelung der Stentplatte, welche nach vorsichtiger Freipräparation bis zur Plattenmitte mit einer Pinzette gut gefasst und gezogen werden konnte. Der Stent war in beiden Fällen flexibel und reißfest, der Pin war nicht abgerissen. Es erfolgte der Bindehautverschluß mit zwei Einzelknopfnähten Vicryl® 7/0. Zur Irisprolaps-Prophylaxe wurden postoperativ zusätzlich zur Standard-Therapie für 3 Tage 3x täglich Pilocarpin Augentropfen 1% gegeben.

Der postoperative Verlauf gestaltete sich bei beiden Tieren komplikationslos. Dennoch kam es trotz Gabe des Miotikums bei Tier T3 zu einer leichten Irisinkarzeration (Abb. 26), welcher jedoch nicht zur Infektion führte oder andere Komplikationen verursachte (Abb. 25 und 26).

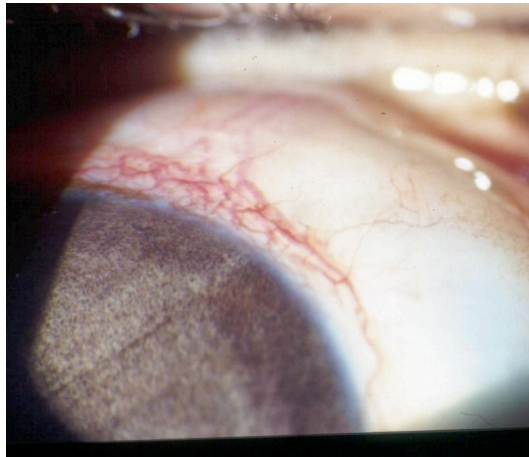


Abbildung 25 – T2: Idealbefund nach Stentimplantation

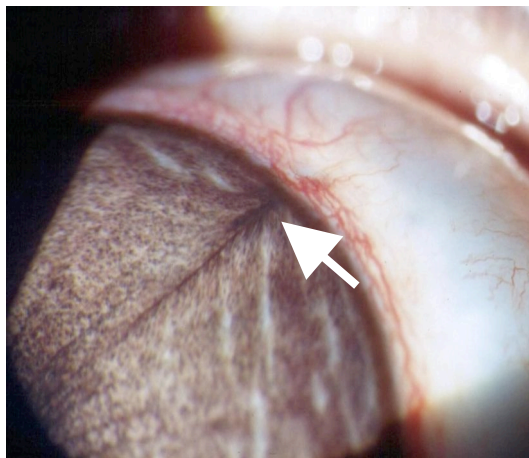


Abbildung 26 – T3: Irisinkarzeration nach Stentimplantation

3.3.4 Tötung und Eukleation

Nach Prämedikation mit Atropin und Tötung der Tiere durch Thiobarbital-Überdosierung erfolgte die Eukleation. Nach Einbringen des Lidsperrers und zirkulärer Bindehauteröffnung am Äquator unter Schonung des Implantat-Bereiches wurden die Muskeln auf gleicher Höhe durchtrennt. Der Bulbus wurde gefasst und nach Abtrennen dorsaler Strukturen mit einer gebogenen Schere enukleiert. Es folgte die Fixation in Formalin 4% und die histologische Aufarbeitung.

T1 und T4 wurden 6 Wochen nach Stentimplantation mit Implantat in situ getötet, T2 und T3 wurden 20 Wochen nach Erst-OP respektive 14 Wochen nach Explantations-OP getötet.

3.3.5 Histologie

Zunächst wurden die Bulbi in Formalin 4% fixiert, danach in Paraffin eingebettet. Es wurden radiäre Semidünnschnitte angefertigt, welche HE-gefärbt wurden.

Auch nach der Eukleation konnte der Stent bei T1 nirgends gefunden werden. Es zeigte sich jedoch schon makroskopisch ein deutliches externes Ostium. Histologisch war eine im Kanalverlauf zugewachsene Sklerostomie zu erkennen, welche sich völlig reizfrei darstellte (Abb. 27) Es zeigt sich eine leichte Irisadhäsion am inneren Ostium.

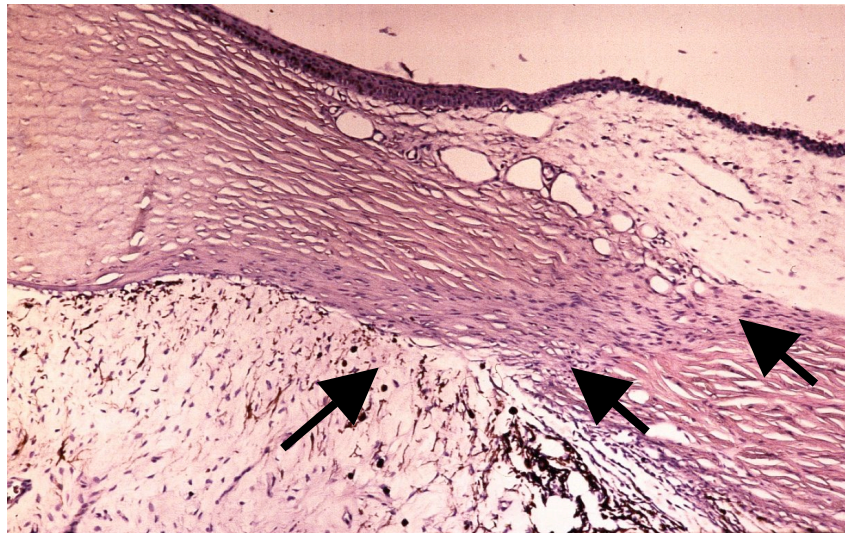


Abbildung 27 – T1: okkludierte Sklerostomie und Irisadhäsion nach postoperativem Stentverlust (Vergrößerung 10x)

Bei T4 war der Pin aus der Sklerostomie herausgewandert und befand sich makroskopisch unter der Konjunktiva. Somit konnte histologisch die episklerale Gewebereaktion in unmittelbarer Nachbarschaft zum Silikonimplantat geprüft werden. In der Übersichtsaufnahme ist die Platzhalter-Eigenschaft der Silikonaufnahme erkennbar (Abb. 28). Das Silikon selber konnte histologisch nicht konserviert werden, jedoch sind einige kleine Silikonfetzen auf dem Schnitt zu sehen. Die Nahaufnahmen (Abb. 29 und 30) zeigen, dass sowohl die Konjunktiva als auch die Episklera und Sklera sich praktisch völlig entzündungsfrei darstellen. Allerdings ist auch bei diesem Präparat kein offenes Lumen identifizierbar.

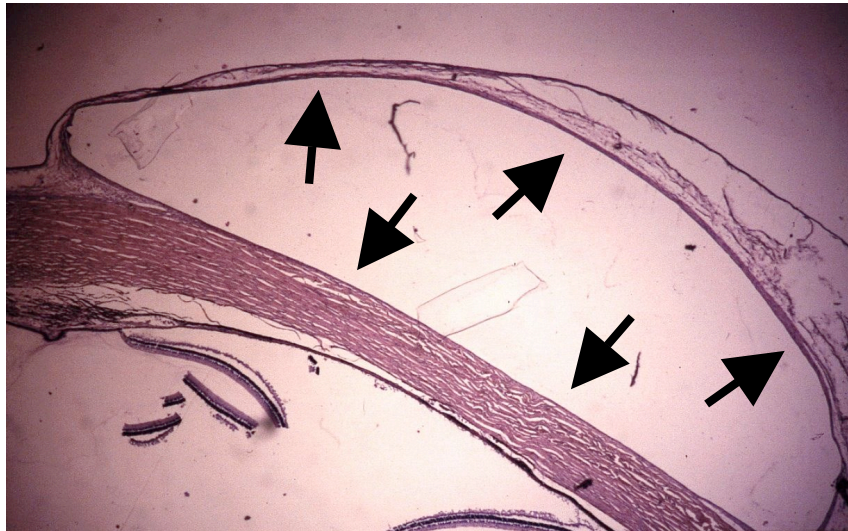


Abbildung 28 – T4: Histologie mit Stent in situ: Übersicht des subkonjunktivalen Hohlraums durch Stentplatte (Vergrößerung 2,5x)

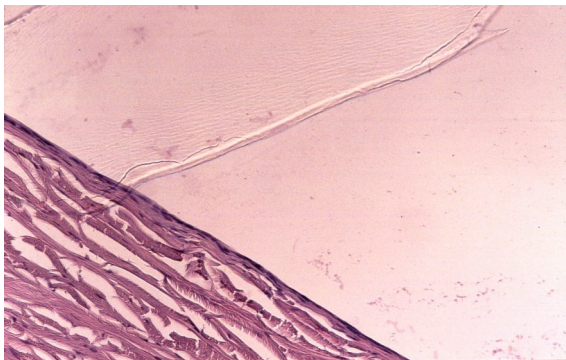


Abbildung 29 und Abbildung 30 – T4: skleraler und konjunktivaler Gewebekontakt zum Silikonstent (Vergrößerung 20x)

Die histologischen Schnitte der Tiere T2 und T3, welche 14 Wochen nach Explantation der Implantate getötet wurden, zeigten jeweils entzündungsfreie Areale, allerdings okkludierte Sklerostomien mit leichter Irisadhäsion, welche bei T3 (Abb. 31) ausgeprägter erscheint als bei T2 (Abb. 32), sowie ein aufgehobenes Filterkissen (Abb. 32).

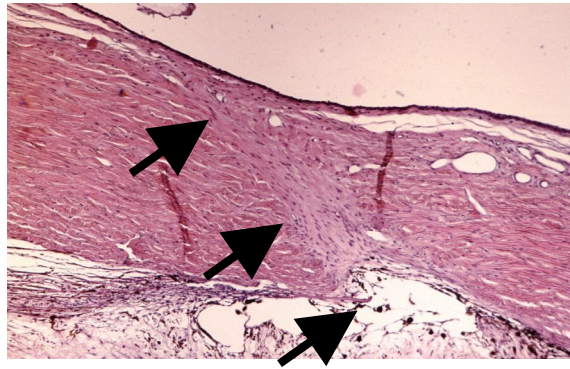


Abbildung 31 - T2: okkludierte Sklerostomie und Irisadhäsion 14 Wochen nach Stentexplantation (Vergrößerung 10x)

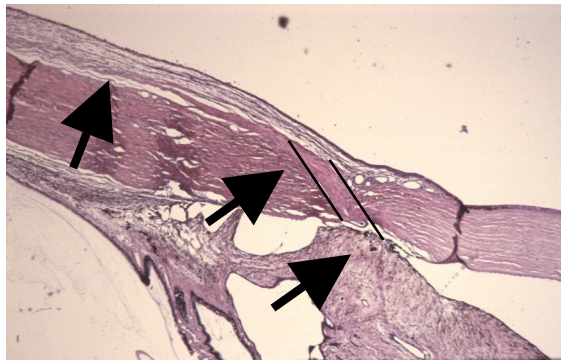


Abbildung 32 – T3: okkludierte Sklerostomie, Irisadhäsionen und ein aufgehobenes Filterkissen 14 Wochen nach Stentexplantation (Vergrößerung 5x)

4 Diskussion

Die Entwicklung von Glaukomdrainageimplantaten hat in den letzten Jahrzehnten entscheidend zur Erweiterung des therapeutischen Spektrums in der Behandlung der Glaukome beigetragen. Die klassischen Glaukomdrainageimplantate bleiben dabei, in Europa mehr als in Amerika, bis heute komplizierten Glaukomformen vorbehalten, welche durch Standardoperationen nicht beherrscht werden konnten oder aber schon präoperativ ein entsprechend hohes Versagerrisiko für eine Standardtherapie aufweisen (Molteno¹⁰⁴ 2001, Lai¹⁰⁵ 2000). Eine Übersicht über die Schlauch-und-Platten-basierten GDDs findet sich bei Lim⁵⁷ (1998) und Hille⁶⁰ (2002). Die enge Indikationsstellung für GDDs liegt begründet in einem gewissen Risiko für das Auftreten schwerwiegender Komplikationen, zu denen beispielsweise postoperative Hypotonien mit schwerer Aderhautabhebung und expulsiven Blutungen, Aufhebungen der Vorderkammer mit anschließender Hornhautdekomensation sowie hypotonieassoziierte Makulopathie zählen können. Dabei scheint die Adaptation verschiedener Ventilmechanismen die Komplikationsraten nicht entscheidend zu verändern (Coleman^{106,107} 1995, Mills¹⁰⁸ 1996, Siegner¹⁰⁹ 1995). So zeigten 28% einer mit Krupin-Ventil-Implantat versorgten Patientengruppe von 25 Personen eine schwere choroidale Effusion oder Hämorrhagie (Fellenbaum¹¹⁰ 1994), während Lloyd¹¹¹ (1992) in einer Untersuchung von Molteno-Implantaten ohne Ventilmechanismus hypotonieassoziierte Komplikationen nur mit rund 10% angab. Insgesamt werden die Vor- und Nachteile der verschiedenen Ventilsysteme sehr kontrovers diskutiert. Ein großes Problem liegt in den im Vergleich zum Bulbus immensen Ausmaßen genannter Implantate. In einer Veröffentlichung von Leen¹¹² (1996) reichten die implantierten Baerveldt-GDDs bei einem Abstand der vorderen Plattenkante von 10mm vom Limbus bis fast an den Nervus opticus heran. Durch die Implantation zwischen den äußeren Augenmuskeln kam es bei einer Studie mit Doppelplatten-Molteno-Implantat bei 46% von 24 Patienten zu temporären Motilitätseinschränkungen des M. rectus superior sowie zu Lähmungen des M. obliquus superior, wobei sich die Doppelbilder meist innerhalb eines Jahres zurückbildeten (Dobler-Dixon¹¹³ 1999). Bei Smith¹¹⁴ et al. (1993) führte die Baerveldt-Implantation sogar bei 65% des Patientenkollektivs zur Diplopie. Das kleinere Ahmed Glaucoma Valve zeigte in einer Untersuchung durch Huang¹¹⁵ (1999) Bewegungseinschränkungen in etwa 3% der Patienten. Davon abgesehen ist

davon auszugehen, dass die Implantate sich aufgrund ihrer großen Dimensionen bei Augenbewegungen permanent auf ihrer skleralen Unterlage und in ihrer Fibrosekapsel bewegen. Jacob¹¹⁶ et. al. (1998) postulierten, dass aufgrund dieser Mikromotilität ständige leichte Entzündungsvorgänge unterhalten werden, welche die Langzeitprognose verschlechtern. Dies steht im Einklang mit den von Mills¹⁰⁸ 1996 gezeigten Ergebnissen, welche in einem gemittelten Beobachtungszeitraum von etwa 4 Jahren über eine fast lineare jährliche Reduktion der Erfolgsrate um 10% berichteten. Bei Extrapolation dieser Ergebnisse muss davon ausgegangen werden, dass die meisten implantierten GDDs nach etwa 8-10 Jahren ihre drucksenkende Funktion verlieren (Mills¹⁰⁸ 1996). Jacob modifizierte Baerveldt-Implantate durch Adaptation einer mikroporösen Struktur der Diffusionsplatte, wodurch sich die Stabilität der umgebenden fibrösen Kapsel bei gleichzeitiger Verdünnung signifikant verbesserte (Jacob¹¹⁶ 1998). Als primär operative Therapieoption kommen die GDDs dennoch nur in den wenigsten Fällen in Frage. In einer einzigen Studie vergleicht Wilson^{117,118} (2000+2003) die Implantation eines Ahmed Glaucoma valve mit der Trabekulektomie. Die Erfolgsraten für beide Gruppen in einem Patientenkollektiv von 123 Personen liegen bei knapp unter 70%, mit einem signifikant niedrigeren Druck in der Trabekulektomie-Gruppe für das erste Jahr. Der hohe Implantationsaufwand mit Verbleiben eines permanenten Fremdkörpers am Auge sowie die zusätzlichen Implantatkosten bei identischen Erfolgsraten können die Primärimplantation eines GDD nicht rechtfertigen. Dabei liegt die Komplikationsrate für die Implantatgruppe in dieser Arbeit noch außergewöhnlich niedrig. Die ausgeführten Überlegungen verdeutlichen, dass die Größe und Persistenz genannter Implantate am Auge erheblich zu ihrem Risikoprofil beitragen.

Dem Gegenüber stehen die kleineren anterioren Implantate, von denen bereits einige derjenigen vorgestellt wurden, welche schon an größeren Patientengruppen in klinischen Studien untersucht wurden. Bei der genauen Betrachtung der Veröffentlichungen sowohl zu resorbierbaren als auch permanenten Implantate, die im Rahmen der nicht filtrierenden Chirurgie verwendet werden, konnten dabei weder signifikante Verbesserungen der Drucksenkung im Vergleich zur konventionellen Trabekulektomie, noch zu den nicht filtrierenden Verfahren wie Viskokanalostomie bzw. tiefe Sklerektomie ohne Implantat, aufgezeigt werden. Während eine frühe Studie von Sourdille¹¹⁹ (1999) an 52 von 72 Augen eine postoperative Drucksenkung auf 15,4 mmHg ohne zusätzliche Medikation nach einem Jahr benennt und bei den

restlichen Augen eine Druckregulierung mit topischer Medikation erreicht werden konnte, so bestätigen die Untersuchungen von Lücke⁶⁷ (siehe Kapitel 1.6) und Detry-Morel^{120,121} (2001,2003) diese Erfolgsraten nicht. Detry-Morel konnte an insgesamt 42 Patienten in drei verschiedenen Behandlungsgruppen, tiefe Sklerektomie + SKGEL, tiefe Sklerektomie + 5-Fluoruracil (5-FU), und tiefe Sklerektomie + SKGEL und 5-FU simultan, einen vollen Behandlungserfolg von 33,3% und qualifizierten Erfolg von 83,3% nach durchschnittlich 30 Monaten aufweisen, mit dem besten Trend zum Erfolg in der SKGEL-Gruppe, wobei in einer Vielzahl der operierten Patienten Nachbehandlungen mittels YAG-Laser Goniopunktur und antiglaukomatöser Therapie notwendig wurden, welche in der SKGEL-Gruppe am häufigsten durchgeführt werden mussten.

Allerdings geben die meisten Autoren ein verringertes Komplikationsprofil im Vergleich zur klassischen Trabekulektomie an, welches im Zusammenhang mit der nicht eröffneten Vorderkammer bei diesen Operationsmethoden gesehen wird. Weiterhin wird davon ausgegangen, dass der intraokulare Reizzustand durch Auslassen einer peripheren Iridektomie vermindert ist (Dietlein⁶¹ 2002).

Den Modifikationen der nicht filtrierenden Chirurgie durch filtrierende Implantate steht beispielsweise das schon erwähnte Konzept des Ex-PRESS Implantates entgegen, welches einen geschaffenen kamero-subkonjunktivalen Zugang offen halten und gleichzeitig drainieren soll. Das Hauptproblem des Konzepts stellte die metallische Auflageplatte dar, welche limbusnah subkonjunktival auf der Sklera aufliegt. Es wurde über Bindehautarrosionen berichtet, welche durch Nahtlegung versorgt werden mussten, und ein potentielles Risiko für Keimmigration in die Vorderkammer darstellen (Mermoud¹²² 2005). Darüber hinaus stellten in einigen Fällen prolongierte Hypotonien ein Risiko dar. Dahan¹²³ (2005) schlägt die Implantation unter einem Skleralappen vor, welcher ähnlich wie bei der Trabekulektomie präpariert wird, allerdings unter Verlust der zuvor bestehend einfachen Implantationsprozedur. Mittlerweile liegen mittelfristige Ergebnisse von 28 Augen mit Nachkontrollen bis zu 2 Jahren (n=8) vor, welche sehr vielversprechend aussehen. In der 1-Jahresgruppe (n=21) lag der Augendruck bei durchschnittlich 14,5 mmHg. Auch in der 2-Jahresgruppe konnte bei allen Patienten ein intraokularer Druck von 14,2 mmHg erreicht werden, wobei zwei Patienten zusätzlich medikamentös therapiert wurden, um unter 21 mmHg zu bleiben. Allerdings wurde bei alle Implantationen eine antiproliferative Therapie mit Mitomycin C durchgeführt. Die Inzidenz von Hypotonien

wird als vermindert im Gegensatz zur ursprünglichen Implantationsart beschrieben. Traverso¹²⁴ (2005) berichtet über ähnliche Zahlen bei Ex-PRESS Implantation in Verbindung mit Kataraktoperation, wobei anzumerken ist, dass der präoperative Durchschnittsdruck bei nur 21 mmHg lag.

Das Problem postoperativer Hypotonien muss differenziert betrachtet werden: zwar beschreibt Schwenn¹²⁵ (2001), dass sehr niedrige Drücke in der frühen postoperativen Phase einen günstigen Langzeiteffekt haben, allerdings stellen die mit filtrierenden Operationsverfahren in einer Anzahl der Fälle assoziierten Hypotonien einen Risikofaktor für Aderhautamotioes und sonstige visusbedrohende Komplikationen dar. Darüber hinaus kann es in Verbindung mit einem Schlauch-Implantat bei aufgehobener Vorderkammer und Implantat-Hornhaut-Berührung zu Hornhautschäden kommen. Davon abgesehen konnten Joseph^{126,127} et al (1989) zeigen, dass es durch einen Zusammenbruch der Blut-Kammerwasser-Schranke, welcher durch Hypotonien gefördert wird (Liebmann¹²⁸ 1996), zu einem Anstieg hochmolekularer Proteine kommt, welche Fibroblasten-stimulierend wirken. Dieser Entzündungsreiz addiert sich zum Operationstrauma, welches je nach Operationsmethode nicht unerheblich erscheint, und kann bei Verwendung drainierender Implantate zu Okklusionen des Lumens führen.

Allen Operationsverfahren ist gemeinsam, dass sie ein postoperativ mehr oder weniger traumatisiertes Gewebe hinterlassen. Einige Verfahren scheinen diese Problematik im besondern zu aggravieren. So führte Jacobi⁵¹ (1997) die ab externo Er:YAG Sklerostomie bei 26 Patienten in Kombination mit einer Nd:YAG Laser Iridotomie bzw. einer chirurgischen peripheren Iridektomie durch. Der beschriebene, ungünstigere Druckverlauf im Vergleich zu den Ergebnissen von Kampmeier⁵⁰ (1996) kann so gedeutet werden, besonders in so fern, als das Risiko des Irisprolapses, welches bei Kampmeier einen nicht unerheblichen Anteil der Therapieversager ausmacht, durch die Iridotomie/Iridektomie bei Jacobi weitgehend entfallen sollte. Sämtliche bis dato vorgeschlagenen drainierenden Implantatkonzepte sind mit der gleichen Problematik behaftet, dass sie in postoperativ inflammatorisches Gewebe platziert werden und von vorne herein dem Kammerwasserabfluß dienen sollen. Dazu zählen auch solche Konzepte, welche die Drainage nicht über einen Schlauch, sondern über eine PTFE-Membran bewerkstelligen (Helis¹²⁹ 1998; Jallet¹³⁰ 1999). Pitt¹³¹ (1986) konnte zeigen, dass hydrophobe Polymere wie Silikon eine hohe Bindungsaffinität für Plasmaproteine haben, welche binnen Minuten nach

Implantation adsorbiert werden. Dies stellt um so mehr ein Problem dar, als der implantierte Drainagetubus von meist wenigen Hundert μm Durchmesser kontinuierlich mit abfließendem Kammerwasser durchspült wird. Und obwohl die verwendeten Materialien, welche durch entsprechende Oberflächenmodifikationen bedarfsadaptiert angepasst werden können, in unzähligen Arbeiten als äußerst biokompatibel getestet wurden, scheint schon ein vergleichsweise milder Fremdkörperreiz mit persistenter Entzündung für ein Langzeitversagen der Therapie auszureichen, abgesehen von sonstigen Komplikationen, die durch ein permanentes Implantat im Auge entstehen können.

Ein außerordentlich wichtiger Aspekt der Implantatentwicklung, egal ob permanent oder biodegradierbar, liegt in der Auswahl des entsprechenden Materials. Dabei steht eine hochwertige Biokompatibilität im Vordergrund, aber auch die Möglichkeiten der Formgebung und Nachbearbeitung, Sterilisation, sowie mechanische Eigenschaften spielen eine entscheidende Rolle. Im Bereich der Intraokularlinsen wird Silikon schon seit mehr als 15 Jahren angewandt. Schrage et al. haben in zahlreichen Arbeiten die Anwendung von Silikonen am Auge dargestellt, speziell im Rahmen der Entwicklung der Aachener Keratoprothese (Schrage⁷⁵⁻⁷⁷ 1998,2001; von Fischern^{78,79} 1998,1999; Langefeld^{80,81} 1999,2000; Kompa^{82,83} 2000,2001; Krug⁸⁴ 2002). Die in dieser Arbeit hergestellten Silikonstents ließen sich im Tierversuch einwandfrei handhaben. Durch die ausreichende Eigenstabilität konnten sie problemlos in die vorbereitete Sklerostomie eingeführt werden, wobei die große Elastizität eine saubere Positionierung unter der Bindehaut zuließ. Die hohe Akzeptanz des subkonktivalen Gewebes für das Silikon zeigt sich in der geringen Entzündungsreaktion während der postoperativen Spaltlampenkontrollen sowie in der histologischen Aufarbeitung. Die Gewebemorphologie zeigte darüber hinaus eine dichte fibrovaskuläre Ummantelung des Implantates. Belanger¹³² (2001) evaluiert in einer Literaturübersicht eine große Anzahl von in vivo und in vitro Studien zu Polyethylenen (LDPE) und Polydimethylsiloxanen (PDMS – Silikon). Beide Materialien wurden vom National Heart, Lung, and Blood Institute (NHLBI) als Referenz für die Testung und Evaluierung anderer zu testenden Materialien festgesetzt. Belanger kommt zu dem Ergebnis, dass die Verwendung genannter Materialien als Referenz aufgrund ihrer hohen Biokompatibilität gut geeignet erscheinen.

Die Auswahl eines geeigneten resorbierbaren Materials ist für den möglichen Erfolg einer Anwendung von herausragender Bedeutung. Die Abbauprodukte werden in das umgebende Milieu abgegeben und sollten dort wenn möglich weder Fremdkörperreaktionen noch Entzündungen hervorrufen. Darin lag eines der Probleme bei der zunächst geplanten Verwendung der Resomere. Die Herstellung von PDLLA- und Copolymer-Folien mit Hilfe des Lösungsmittels Chloroform führt zu einer gewissen Flexibilität (Habibi-Naini¹³³ 2001). Die Verwendung eines Lösungsmittels sollte aber aufgrund der möglichen reizenden Eigenschaften auf jeden Fall vermieden werden, besonders im Hinblick auf die ungünstige Auswirkung auf einen längerfristigen Therapieerfolg. Im Rahmen des thermischen Pressvorgangs konnten jedoch nur sehr spröde Implantate produziert werden, die auch nach längerer Suspension in PBS nicht an Flexibilität gewannen. Bei nachträglicher kritischer Beurteilung der Auswahl Lactid-basierter Polymere muss jedoch noch von weiteren Einschränkungen für die Anwendung im Rahmen dieser Studie ausgegangen werden. In einer umfangreichen in vitro-Testung beschreibt Grizzi⁸⁷ (1995), dass anfänglich flexible PDLLA-Folien, welche hier durch Lösung in Aceton hergestellt wurden, nach einer Woche in PBS weißlich und rigide wurden. Im Gegensatz zur erhofften Flexibilitätszunahme wurde auch in den Versuchen dieser Arbeit die Stents mit zunehmender Suspensionsdauer äußerst spröde, auch die beschriebene weißliche Verfärbung konnte beobachtet werden. Ein sprödes, durch Augenmotilität, Lidschlag und iatrogenen Manipulation möglicherweise brechendes Implantat kann sich durch die nahe Lage zur durch eine Sklerostomie eröffneten Vorderkammer verheerend auswirken. Der abgebrochene, freie Pin könnte Schäden an Hornhautendothel, Kammerwinkel, Iris und Linse hervorrufen.

Die Lactid-Polymere sind mit einem weiteren Problem behaftet, welches zu möglicherweise ungünstigen Voraussetzungen für die Verwendung am Auge führen kann. In frühen in vitro Versuchen und in vivo Implantationen von PDLLA und PDLLA-co-Gly Proben wurde beobachtet, dass die Degradation größerer Implantate sehr heterogen verläuft, mit einem stark beschleunigten Abbau im Inneren des Implantates und einer länger haltbaren Schicht an der Oberfläche (Therin¹³⁴ 1992). Eine Erklärung hierfür wurde in den beim Abbau des Materials entstehenden Carboxylgruppen gesehen, welche autokatalytisch auf die Estherbindungen der Lactide wirken. Nach der Implantation bzw. Suspension in Prüfpuffer kommt es dabei zunächst zur Wasseraufnahme. Die Carboxylgruppen an der Implantatoberfläche

können frei abdiffundieren, während sie im Inneren des Implantates gefangen sind. Damit tragen sie ungehindert zur Autokatalyse bei. Mit diesem bekannten Phänomen erklärt auch Hölzl¹³⁵ (2001) das stark beschleunigte Abbauverhalten von PDLLA-co-TMC Uretherstents in humanem Urin im Vergleich zur Resorptionszeit von dünnen Folien in PBS. Dabei führt der nicht lineare Abbau der lactidbasierten Polyester zu einer plötzlichen Freisetzung von potentiell sauren Degradationsprodukten, welche eine starke Entzündungsantwort hervorrufen können. Fu¹³⁶ (2000) konnte zeigen, dass der pH im Inneren von Poly-L-Lactid-co-Gly auf Werte von bis zu pH 1,50 abfiel. Ein Aufbrechen eines episkleralen Implantates mit massiver Freisetzung saurer Valenzen würde voraussichtlich zu einem massiven Entzündungsreiz führen. Grizzi⁸⁷ beschreibt die kritische Dicke für die erörterten Vorgänge mit etwa 200-300µm. Das Konzept des in dieser Arbeit vorgestellten Stents erfordert eine gewisse Dicke der episkleral liegenden Platte in ihrer Funktion als Platzhalter, somit könnte das Problem auch trotz der geringen Größe des Implantatdesigns auftreten. Das stark saure Abbauverhalten des PDLLA im Vergleich zum PDA zeigte sich auch in den Degradationsversuchen in PBS. Trotz des erheblich protrahierten Degradationsvorganges von Resomer R208-Implantaten in Phosphatpuffer zeigte sich nach etwa drei Monaten ein pH-Wert Abfall des Puffers von anfangs 7,40 auf etwa 6,60, wobei der Abbau der suspendierten Implantate noch lange nicht abgeschlossen war. Dem entgegen steht ein pH-Wert Abfall von 7,40 auf 6,39 nach vollständiger Degradation der PDA-Implantate. Damit erfüllt das von Lendlein⁹⁹ (2002) vorgestellte und von Ridder¹⁰⁰ analysierte Multiblockcopolymer PDA allein durch seinen weniger aziden Abbau die günstigen Voraussetzungen für eine Verwendung als Implantat am Auge in ungleich besserer Weise. Auch der lineare Abbau und die Modifikationsmöglichkeiten der Abbaugeschwindigkeit durch Anpassung der Hart- und Weichsegmentanteile kommen dem entgegen. Darüber hinaus zeigt das Material in der in dieser Arbeit durchgeführten Biokompatibilitätstestung ähnlich gute Resultate wie die Lactid-Polymere. Zellmorphologie und Vitalität wurden im Vergleich zu Biofolie praktisch nicht beeinflusst, die Mitochondrienaktivität ist identisch und das Zellteilungsverhalten nimmt nur minimal ab.

Die hohe Flexibilität des PDA, die in unseren Versuchen mit denen des Silikons vergleichbar war, wird voraussichtlich eine ähnlich unkomplizierte

Implantationsprozedur erlauben, wie es im Tierversuch mit Silikonimplantaten der Fall war.

Generell gelten die glaukomchirurgischen Operationsverfahren als technisch anspruchsvoll. Insbesondere die nicht filtrierende Viskokanalostomie stellt hohe Anforderungen an den Operateur und zeigt eine lange Lernkurve (Netland¹³⁷ 2001; Dietlein⁶¹ 2002). Auch die Implantation der klassischen GDDs erfordert einen erfahrenen Operateur und gestaltet sich zuweilen sehr langwierig. Neben den bereits diskutierten Problemen der Operationsverfahren muss der Drainageschlauch fixiert und gegen Exposition im Bereich des Skleradurchtrittes in Limbusnähe gesichert werden, wobei Transplantate aus Perikard, Dura, Fascia lata oder Sklera notwendig sind. Auch Dislokationen des kameralen Schlauchendes oder Hornhautberührungen zählen zu den Nachteilen, welche die Operation und Nachsorge zusätzlich verkomplizieren (Hille⁶⁰ 2002). Spiegel¹³⁸ stellte 2002 ein Konzept zum Bypass des Trabekelmaschenwerkes durch einen Silikonschlauch vor, welcher über einen Trabekulektomie-Zugang in den Schlemmschen Kanal platziert wird. Auch hier war das Auffinden des Schlemmschen Kanals nicht in allen Fällen erfolgreich.

Die Operationstechnik der Lasersklerostomie ist technisch relativ einfach zu realisieren. Auch die Implantation des Stents gestaltete sich komplikationslos. Mit den angefertigten Instrumenten konnte der Pin in das äußere Ostium eingeführt werden, wobei sich durch die Flexibilität des Silikons die Platte problemlos auf die Sklera klappen ließ. Dabei lassen die anatomischen Gegebenheiten des Chinchilla-Auges vermuten, dass das operative Verfahren beim Menschen sich weiter vereinfachen könnte. Zum einen stellt die äußerst flache Vorderkammer beim Kaninchen ein gewisses Problem beim Anlegen der Laser-Sklerotomie dar, da weder die Iris verletzt werden soll noch die Hornhaut berührt werden darf. Im Tierversuch dieser Arbeit wurde bei einem Tier der erste sklerale Kanal retroiridal gesetzt. Nachdem der Applikator daraufhin etwas flacher angesetzt wurde, konnten die übrigen Tiere problemlos operiert werden. Wegen der anatomisch tieferen Vorderkammer beim Menschen ist die Applikation hier deutlich einfacher zu erwarten. Zum zweiten erscheint der subkonjunktivale Raum beim Kaninchen wesentlich stärker lamelliert als beim Menschen, was ein erheblich größeres Präparationstrauma nach sich zieht. Diese Tatsache gepaart mit der erheblich gesteigerten Entzündungsreaktion bei Chinchilla-Kaninchen schon bei Bagatelltraumen (Wetzel⁴⁶ 1993) kann erklären, warum sowohl das Tier, bei dem der

Stent verloren ging, als auch das Tier, dessen Stent luxiert war, okkludierte Sklerostomien in der Histologie zeigten. Allerdings waren in der histologischen Analyse auch die Sklerostomien der beiden anderen Tiere 14 Wochen nach Stentexplantation verschlossen. Auch dies kann teilweise als Folge der Inflammationsneigung gedeutet werden, darüber hinaus zeigte die Histologie bei beiden Tieren eine Irisadhäsion am inneren Ostium, welche durch die anatomisch flache Vorderkammer begünstigt wird.

Über das Problem von Implantatdislokationen wird bei fast allen Designs berichtet. Traverso¹²⁴ (2005) beobachtete Drehungen des Ex-PRESS Implantates, während Lücke¹³⁹ (2004) die Exposition eines SKGEL-Implantates beschreibt. Aufgrund einer Dislokation des Stentpins bei zwei Tieren mit Verlust des gesamten Stents bei einem der Tiere sollte daher gegebenenfalls die Größe des angeformten Widerhakens verändert werden. Auf eine zusätzliche Befestigung mit einem Haltefaden sollte bewusst verzichtet werden, um zusätzliches Trauma und Fremdmaterial zu vermeiden, jedoch wäre es prinzipiell möglich, beim Menschen das Implantat limbal durch einen Haltefaden zusätzlich zu fixieren. Allerdings kann auch vermutet werden, dass sich die Lamellierung der Konjunktiva beim Kaninchen bei Augenmotilität und Manipulation ungünstig auf einen sicheren Implantatsitz auswirkt. Darüber hinaus ist es möglich, dass durch Verkanten der Applikatorspitze des Lasers ein Kanal geschaffen wird, der im Durchmesser größer wird als die angestrebten 300 µm. Eine weitere Verbesserung in der Sklerostomie-Technik konnte mit einer von Kampmeier¹⁴⁰ (1996) vorgestellten, nochmals verbesserten Laserapplikatorspitze erzielt werden, welche ohne permanenten Gewebekontakt auskommt, womit die mechanische Gewebsirritation noch weiter minimiert werden kann. Wetzel¹⁴¹ (1995) stellte ein Konzept vor, welches den Laser direkt in das Applikatorhandstück integrierte, und somit die Verwendung der empfindlichen Zirkoniumfluoridfaser als Lichtleiter umgehen konnte. Eine Kombination beider Konzepte dürfte sich als vorteilhaft herausstellen.

Ein weiterer Aspekt in der Glaukomtherapie liegt in der Anwendung antiproliferativer Substanzen wie 5-FU oder Mitomycin C. Eine Vielzahl von Veröffentlichungen belegt die verbesserten Therapieerfolge nach Anwendung dieser Substanzen. Schmidbauer¹⁴² (1996) zeigt in einer Sklerostomie-Studie unter Anwendung von 5-FU verbesserte Kurzzeitergebnisse im Vergleich zu Veröffentlichungen ohne 5-FU-Anwendung. Auch Schmidt-Erfurt¹⁴³ (1995) beschreibt verbesserte Ergebnisse nach

Mitomycin-Behandlung bei reoperierten Patienten, deren erste Sklerostomie fibrosiert war. Ein Problem liegt in der Beurteilung der stark variierenden Behandlungsdauer und Medikamentenkonzentrationen, sowie der Aufrechterhaltung eines Wirkspiegels durch tägliche Injektionen. Hostyn¹⁴⁴ (1996) stellt in seiner Arbeit ein biodegradierbares Implantat vor, welches eine kontrollierte Freisetzung von 5-FU in den subkonjunktivalen Raum ermöglicht. Dieses soll nach einer Glaukomoperation zusätzlich frei in den Subkonjunktivalraum implantiert werden. Jacob¹⁴⁵ (2001) modifizierte ein Baerveldtimplantat durch Beladung des Drainageschlauches mit 5-FU-versetzten Kollagen-Plugs, wodurch die drainierende Funktion des Implantates für einen längeren Zeitraum aufrecht erhalten werden konnte. Die antiproliferative Medikation dient der Inhibition der Fibroblastenreaktion und Vernarbung, welche sich in vielen Fällen als okklusive Komplikation sowohl der traditionellen Glaukomchirurgie als auch der drainierenden Implantate darstellt. In einigen neueren Arbeiten wird die Medikamenteninkorporation in resorbierbare Polymere mittels des CESP (controlled expansion of saturated polymers)-Verfahrens beschrieben. Blindt¹⁴⁶ (1999) versah einen intravaskulären PDLLA-Stent mit verschiedenen bioaktiven Substanzen, Vogt¹⁴⁷ (2004) stellte Paclitaxel-beladene Koronarstents her. Bei diesem Verfahren wird das entsprechende Polymer durch hyperbare Begasung mit CO₂ gelöst, durch plötzliches Ablassen des Überdrucks kommt es zur Bildung einer Mikroschaumstruktur. Dabei wird die sonst notwendige thermische Formung, welche die Inkorporation temperatursensitiver Additiva nicht zulässt, umgangen. Auch der Einsatz von Lösungsmitteln kann so vermieden werden. Durch eine Herstellung des in dieser Arbeit vorgestellten Implantates mittels CESP-Verfahren könnte der Stent gleichzeitig als Medikamententräger antiglaukomatöser und/oder antiproliferativer Substanzen dienen.

Eventuelle Modifikationen des resorbierbaren Implantatdesigns und seiner Herstellung bezüglich der genannten Aspekte, sowie seine Anwendung im Tierversuch, sollten Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Das Glaukom stellt eine medikamentös und chirurgisch therapierbare Erkrankung dar. Jay³² (1989) und Migdal^{33,148} (1992,1994) konnten zeigen, dass sich eine frühe chirurgische Therapievariante vorteilhaft auf die langfristige Druckregulierung und damit visuelle Prognose des Patienten auswirkt. Selbst für aufwendige operative Standardverfahren wie die Trabekulektomie errechnete Ainsworth¹⁴⁹ (1991) ein günstiges Kosten/Nutzen Profil im Vergleich zur medikamentösen Therapie. Die Ab externo Er:YAG-laser Sklerostomie als alternative chirurgische Glaukomtherapie, produziert einen Kammerwasser-Drainagekanal aus der Vorderkammer in den Subkonjunktivalraum. Dieser Eingriff allein konnte sich gegenüber den Standard-Verfahren nicht durchsetzen, da die postoperative Vernarbung im Bereich des episkleralen Gewebes gehäuft zu Okklusionen des Drainagekanals führte. Das in dieser Arbeit vorgestellte Implantatkonzept modifiziert das Er:YAG-Lasersklerostomie-Verfahren. Ziel ist der Erhalt eines intakten korneoskleralen Kanals während der postoperativen Entzündungsphase durch die temporäre Implantation eines nicht drainierenden Stents in den Kanal als Platzhalter, um günstigere Voraussetzungen für einen langfristig drainierenden Kanal nach Entfernung des Stents zu schaffen. Um ein erneutes Operationstrauma durch die Explantation des Stents zu vermeiden, wurde im zweiten Schritt der Arbeit resorbierbare Kunststoffe auf ihre Eignung als Stentmaterial hin untersucht.

Das in einer Messingform hergestellte Silikonimplantat besteht aus einem 300µm durchmessenden Pin, der in eine Fahne ausläuft. Nach Anlage der Laser-Sklerostomie wurde der Stent bei vier männlichen Chinchilla-Kaninchen implantiert. Sechs Wochen nach Stentimplantation wurden die Augen von zwei Kaninchen mit Stent in situ enukleiert, um die dem Stent anliegende Sklerostomie-Morphologie und subkonjunktivale Veränderungen zu beurteilen. Bei den zwei weiteren Tieren wurden in einer zweiten Operation die Implantate wieder gezogen, die E nukleation erfolgte 14 Wochen nach der Explantationsopeation. Die Bulbi wurden histologisch aufgearbeitet und HE-gefärbt. Die Analytik der resorbierbaren Glycolid-Copolymere und des Multiblockcopolymeren aus Oligo(p-dioxanon)diol, Oligo(alkylen-glykoladipat)diol und Diisocyanat (PDA) umfasste sowohl deren Verarbeitung, die Anpassung des Formwerkzeuges an die Erfordernisse durch genannte Materialien, das Abbauverhalten in Phosphatpuffer, die Implantatdegradation in L929-

Fibroblastenkultur, als auch eine Biokompatibilitätstestung für das letztendlich verwendete Multiblockcopolymer PDA, bestehend aus EB/FDA Vital-Färbung, BrDU- und WST-1-Elisa, sowie zellmorphologischer Untersuchungen an L929-Fibroblasten.

Bei den Eingriffen zeigte sich eine gute chirurgische Praktikabilität bei der Stent-Implantation und eine hohe Akzeptanz des subkonjunktivalen Gewebes für das Silikon ohne größere Entzündungszeichen. Die Histologie der Gewebemorphologie zeigte ein fibrozelluläres Bindegewebe im Kanal bei disloziertem Stent und eine verdichtete fibrozelluläre Ummantelung der Stentplatte. Das Implantat war bei einem Tier unauffindbar. Auch 14 Wochen nach Explantation zeigte sich ein entzündungsarmes Areal mit fibrozellulärer Okklusion des Kanals. Bei einem Tier kam es nach Stentexplantation zum Irisprolaps ohne weitere Komplikationen.

Im Verlauf der Materialtestung stellten sich aufgrund der fehlenden Elastizität und des sauren Abbaus die Glycolid-Polymere für das vorgestellte Konzept als unbrauchbar heraus. Für das Multiblockcopolymer PDA wurden in allen Zytotoxizitätstudien vergleichbare Ergebnisse wie für die Biofilm-Kontrolle gefunden. In den Degradationsversuchen zeigte sich ein linearer Abbau ohne nennenswerten Elastizitätsverlust bei vermindertem pH-Wert-Abfall.

Die Modifikation des unkomplizierten Lasersklerostomie-Verfahrens durch Stentimplantation könnte das postoperative Ergebnis im Sinne einer verlängerten Drainagezeit verbessern. Die Operation ist technisch einfach zu bewerkstelligen und erfordert einen minimalen Operationsaufwand mit geringem Zeitbedarf. Das Operationstrauma wird durch optimale Auswahl des verwendeten Lasers so weit wie möglich reduziert. Zunächst wäre es möglich, die Implantation eines nicht resorbierbaren Silikonstents durchzuführen, der in einem zweiten kurzen Eingriff in Lokalanästhesie wieder entfernt wird, ggf. mit zusätzlicher Viskoelastikum-Injektion in die Vorderkammer zur Vermeidung von Hypotonien nach der Explantation. Durch die Zulassung des verwendeten Silikons dürfte sich die Anwendung im Humanversuch als unproblematisch darstellen. Die Verwendung und Evaluierung des resorbierbaren PDA-Stents im Tierversuch stellt einen weiteren sinnvollen Schritt dar, wodurch die traumatisierende Explantations-Operation eines permanenten Silikonstents entfällt. Zusätzlich könnte so das Problem möglicherweise auftretender Hypotonien gemildert werden. Sowohl unter Verwendung des Silikonstents als auch des resorbierbaren Stents wird dabei darauf abgezielt, dass langfristig kein immunogener Fremdkörper

in der sensiblen episkleralen Umgebung verbleibt. Falls das Problem der subkonjunktivalen Vernarbung langfristig keinen drainierenden Kanal in den Subkonjunktivalraum zulässt, wäre es weiterhin möglich das Implantat durch leichte Modifikationen unter einen Skleralappen zu implantieren. Die genannten Aspekte sollten Gegenstand weiterer Untersuchungen sein.

6 Anhang

6.1 Tabelle 1: BrDU-Elisa nach indirektem Kontakt für L929

Tag 1							
Probe Tag 1	%-Wert	Negativ	%-Wert	Positiv	%-Wert	Ethanol 5%	%-Wert
0,50975	91,48	0,53775	96,51	0,01275	2,29	0,20675	37,10
0,52075	93,46	0,59075	106,02	0,00775	1,39	0,17575	31,54
0,58675	105,30	0,59975	107,63	0,01575	2,83	0,16675	29,93
0,54275	97,41	0,53175	95,43	0,00375	0,67	0,12475	22,39
0,48875	87,71	0,55875	100,28	0,01075	1,93	0,16075	28,85
0,51375	92,20	0,57075	102,43	0,00075	0,13	0,14275	25,62
0,52775	94,71	0,51475	92,38	0,00875	1,57	0,15975	28,67
0,47675	85,56	0,52075	93,46	0,02175	3,90	0,24575	44,10
0,49675	89,15	0,56175	100,82	0,01375	2,47	0,12975	23,29
0,57175	102,61	0,59975	107,63	0,00875	1,57	0,03575	6,42
0,63875	114,63	0,55875	100,28	0,00775	1,39	0,01875	3,36
0,49775	89,33	0,54675	98,12	0,00775	1,39	0,01775	3,19
0,60375	108,35	0,52675	94,53	0,00775	1,39	0,02975	5,34
0,38175	68,51	0,57675	103,51	0,00225	0,40	0,03575	6,42
0,54375	97,58	0,52675	94,53	0,01375	2,47	0,03675	6,60
0,52275	93,82	0,54275	97,41	0,00975	1,75	0,12975	23,29
0,55975	100,46	0,53875	96,69			0,18575	33,34
0,50875	91,30	0,61875	111,04			0,06475	11,62
0,52675	94,53	0,62475	112,12			0,04275	7,67
0,44075	79,10	0,58975	105,84			0,02475	4,44
0,56475	101,35	0,54175	97,23			0,03175	5,70
0,48375	86,82	0,50675	90,94			0,03475	6,24
0,49775	89,33	0,57575	103,33			0,03275	5,88
0,30775	55,23	0,51175	91,84			0,10375	18,62
Mittelwerte							
0,51308	92,08	0,55721	100,00	0,00931	1,67	0,09742	17,48
Mittelwerte							
Tag 1	Probe Tag 1	Negativ	Positiv	Ethanol 5%			
Extinktion	0,51308	0,55721	0,00931	0,09742			
Standardabw	0,06862	0,03402	0,00576	0,07092			

Tag 2							
Probe Tag 2	%-Wert	Negativ	%-Wert	Positiv	%-Wert	Ethanol 5%	%-Wert
0,24713	101,71	0,21513	88,54	0,00713	2,93	0,04613	18,98
0,15313	63,03	0,21713	89,37	0,00513	2,11	0,03313	13,63
0,18113	74,55	0,18213	74,96	0,00313	1,29	0,01213	4,99
0,17513	72,08	0,25213	103,77	0,00112	0,46	0,03513	14,46
0,18013	74,14	0,23913	98,42	0,00213	0,87	0,03313	13,63
0,17713	72,90	0,29913	123,12	0,00413	1,70	0,03713	15,28
0,22213	91,43	0,36713	151,11	0,00713	2,93	0,04613	18,98
0,16113	66,32	0,17613	72,49	0,00213	0,87	0,07713	31,74
0,25113	103,36	0,15813	65,08	0,00513	2,11	0,04313	17,75
0,28213	116,12	0,28513	117,36	0,00613	2,52	0,02013	8,28
0,18013	74,14	0,22013	90,60	0,00112	0,46	0,01213	4,99
0,22213	91,43	0,21013	86,49	0,00112	0,46	0,01113	4,58
0,26313	108,30	0,26113	107,48	0,00112	0,46	0,01513	6,23
0,25013	102,95	0,23613	97,19	0,00313	1,29	0,01413	5,81
0,24913	102,54	0,24213	99,66	0,00513	2,11	0,02713	11,16
0,19313	79,49	0,23013	94,72	0,00513	2,11	0,06713	27,63
0,21913	90,19	0,34413	141,64			0,06013	24,75
0,23113	95,13	0,27613	113,65			0,03613	14,87
0,19013	78,25	0,27513	113,24			0,01913	7,87
0,19713	81,14	0,31513	129,70			0,01813	7,46
0,17213	70,85	0,22013	90,60			0,02313	9,52
0,28113	115,71	0,20413	84,02			0,02413	9,93
0,20313	83,60	0,18513	76,20			0,02913	11,99
0,15713	64,67	0,22013	90,60			0,03813	15,69
Mittelwerte							
0,20996	86,42	0,24296	100,00	0,00375	1,54	0,03242	13,34
Mittelwerte							
Tag 2	Probe Tag 2	Negativ	Positiv	Ethanol 5%			
Extinktion	0,20996	0,24296	0,00375	0,03242			
Standardabw	0,03944	0,05228	0,00216	0,01766			

Tag 3							
Probe Tag 3	%-Wert	Negativ	%-Wert	Positiv	%-Wert	Ethanol 5%	%-Wert
0,33638	66,98	0,46438	92,47	0,01638	3,26	0,22938	45,68
0,52538	104,62	0,53038	105,62	0,01638	3,26	0,16838	33,53
0,40538	80,73	0,50538	100,64	0,01538	3,06	0,16938	33,73
0,41138	81,92	0,46138	91,88	0,01338	2,66	0,12838	25,56
0,46038	91,68	0,49438	98,45	0,01638	3,26	0,15538	30,94
0,30738	61,21	0,49238	98,05	0,01438	2,86	0,19738	39,30
0,35738	71,17	0,47238	94,07	0,01938	3,86	0,16638	33,13
0,31838	63,40	0,37938	75,55	0,01238	2,46	0,18238	36,32
0,53038	105,62	0,50438	100,44	0,01338	2,66	0,18038	35,92
0,53438	106,41	0,51438	102,43	0,01238	2,46	0,07338	14,61
0,49338	98,25	0,53538	106,61	0,01138	2,27	0,04838	9,63
0,46638	92,87	0,51838	103,23	0,00438	0,87	0,03838	7,64
0,44038	87,69	0,51538	102,63	0,01838	3,66	0,04138	8,24
0,41338	82,32	0,49538	98,65	0,01938	3,86	0,03938	7,84
0,47038	93,67	0,47138	93,87	0,01938	3,86	0,05638	11,23
0,38638	76,94	0,48238	96,06	0,01838	3,66	0,12538	24,97
0,46538	92,67	0,55038	109,60			0,20038	39,90
0,46538	92,67	0,52338	104,22			0,13938	27,75
0,32938	65,59	0,55838	111,19			0,15638	31,14
0,41238	82,12	0,57338	114,18			0,09838	19,59
0,49938	99,44	0,53938	107,41			0,08638	17,20
0,41238	82,12	0,50738	101,04			0,07738	15,41
0,43738	87,10	0,51238	102,03			0,09338	18,59
0,35038	69,77	0,45038	89,69			0,17138	34,13
Mittelwerte							
0,42621	84,87	0,50217	100,00	0,01506	3,00	0,12596	25,08
Mittelwerte							
Tag 3	Probe Tag 3	Negativ	Positiv	Ethanol 5%			
Extinktion	0,42621	0,50217	0,01506	0,12596			
Standardabw	0,06816	0,04081	0,00393	0,05843			
Gemittelte Prozentwerte der 3 Ansätze							
Probe Tag1-3	87,79	Negativ	100,00	Positiv	2,07	Ethanol 5%	18,64
Gemittelte Standardabweichungen der 3 Ansätze in Prozent							
Probe Tag1-3	16,05	Negativ	11,92	Positiv	48,48	Ethanol 5%	57,89

6.2 Tabelle 2: WST-1-Elisa nach indirektem Kontakt für L929

Tag 1							
Probe Tag 1	%-Werte	Negativ	%-Werte	Positiv	%-Werte	Ethanol 5%	%-Werte
0,50763	92,37	0,47463	86,36	0,08963	16,31	0,35163	63,98
0,55663	101,28	0,47463	86,36	0,09163	16,67	0,32663	59,43
0,53163	96,73	0,49963	90,91	0,08963	16,31	0,33363	60,71
0,54263	98,73	0,53163	96,73	0,08963	16,31	0,27163	49,42
0,53863	98,01	0,56663	103,10	0,09163	16,67	0,30563	55,61
0,56063	102,01	0,55563	101,10	0,08663	15,76	0,25463	46,33
0,55263	100,55	0,58263	106,01	0,09263	16,85	0,33363	60,71
0,54563	99,28	0,52763	96,00	0,08963	16,31	0,32463	59,07
0,54563	99,28	0,55863	101,65	0,09163	16,67	0,28763	52,34
0,56763	103,28	0,56163	102,19	0,09463	17,22	0,15763	28,68
0,56963	103,65	0,57063	103,83	0,09463	17,22	0,14763	26,86
0,57263	104,19	0,54863	99,83	0,09363	17,04	0,13363	24,31
0,59963	109,11	0,64363	117,11	0,09363	17,04	0,14863	27,04
0,56963	103,65	0,57163	104,01	0,09263	16,85	0,14463	26,32
0,56663	103,10	0,55963	101,83	0,09163	16,67	0,15363	27,95
0,52963	96,37	0,53863	98,01	0,08363	15,22	0,22863	41,60
0,57263	104,19	0,53363	97,10			0,28363	51,61
0,57563	104,74	0,54063	98,37			0,14963	27,23
0,58663	106,74	0,54263	98,73			0,14663	26,68
0,57963	105,47	0,58463	106,38			0,13363	24,31
0,60063	109,29	0,57063	103,83			0,13663	24,86
0,61363	111,65	0,56963	103,65			0,13463	24,50
0,59163	107,65	0,55063	100,19			0,16463	29,95
0,50663	92,18	0,53163	96,73			0,24263	44,15
Mittelwerte							
0,56183	102,23	0,54958	100,00	0,09106	16,57	0,22067	40,15
Mittelwerte							
Tag 1	Probe Tag 1	Negativ	Positiv	Ethanol 5%			
Extinktion	0,56183	0,54958	0,09106	0,22067			
Standardabw	0,02760	0,03548	0,00292	0,08149			

Tag 2							
Probe Tag 2	%-Werte	Negativ	%-Werte	positiv	%-Werte	Ethanol 5%	%-Werte
0,52938	107,32	0,42638	86,44	0,08938	18,12	0,28038	56,84
0,49438	100,23	0,49838	101,04	0,09238	18,73	0,28138	57,05
0,52438	106,31	0,47538	96,38	0,09138	18,53	0,27438	55,63
0,52138	105,70	0,50138	101,65	0,08738	17,71	0,26438	53,60
0,53438	108,34	0,49338	100,03	0,09238	18,73	0,28338	57,45
0,53838	109,15	0,47338	95,97	0,08938	18,12	0,27638	56,03
0,52338	106,11	0,49638	100,63	0,09238	18,73	0,30238	61,30
0,53038	107,53	0,49038	99,42	0,08938	18,12	0,34738	70,43
0,50038	101,44	0,51238	103,88	0,08938	18,12	0,23538	47,72
0,51838	105,09	0,52538	106,51	0,09138	18,53	0,18038	36,57
0,53038	107,53	0,51238	103,88	0,09238	18,73	0,16138	32,72
0,53238	107,93	0,50338	102,05	0,09238	18,73	0,15138	30,69
0,53038	107,53	0,49338	100,03	0,09438	19,13	0,15838	32,11
0,50738	102,86	0,47238	95,77	0,09238	18,73	0,18738	37,99
0,41538	84,21	0,51238	103,88	0,09238	18,73	0,20138	40,83
0,39838	80,77	0,51638	104,69	0,08938	18,12	0,24738	50,15
0,52238	105,90	0,52838	107,12			0,24438	49,54
0,50638	102,66	0,50538	102,46			0,20438	41,43
0,51138	103,67	0,48838	99,01			0,17138	34,74
0,50438	102,26	0,47838	96,98			0,15438	31,30
0,50838	103,07	0,47338	95,97			0,16738	33,93
0,43138	87,46	0,46638	94,55			0,15938	32,31
0,36538	74,08	0,50438	102,26			0,19938	40,42
0,35138	71,24	0,49038	99,42			0,25138	50,96
Mittelwerte							
0,49292	99,93	0,49325	100,00	0,09113	18,47	0,22438	45,49
Mittelwerte							
Tag 2	Probe Tag 2	Negativ	Positiv	Ethanol 5%			
Extinktion	0,49292	0,49325	0,09113	0,22438			
Standardabw	0,05569	0,02224	0,00184	0,05648			

Tag 3							
Probe Tag 3	%-Werte	Negativ	%-Werte	Positiv	%-Werte	Ethanol 5%	%-Werte
0,56325	106,35	0,51125	96,53	0,08625	16,29	0,29225	55,18
0,53725	101,44	0,54325	102,57	0,09125	17,23	0,27725	52,35
0,54625	103,14	0,52825	99,74	0,09125	17,23	0,27525	51,97
0,53925	101,82	0,55225	104,27	0,09325	17,61	0,25625	48,38
0,55725	105,22	0,54025	102,01	0,09425	17,80	0,29325	55,37
0,58025	109,56	0,54925	103,71	0,09025	17,04	0,29425	55,56
0,54425	102,76	0,52925	99,93	0,09225	17,42	0,31625	59,71
0,57325	108,24	0,52625	99,36	0,08925	16,85	0,34725	65,57
0,56025	105,78	0,52725	99,55	0,08725	16,47	0,23125	43,66
0,55025	103,89	0,53825	101,63	0,09325	17,61	0,18025	34,03
0,57625	108,80	0,52725	99,55	0,09325	17,61	0,16225	30,63
0,57625	108,80	0,53125	100,31	0,09225	17,42	0,17525	33,09
0,58125	109,75	0,54925	103,71	0,09425	17,80	0,14025	26,48
0,56625	106,92	0,53725	101,44	0,09425	17,80	0,15925	30,07
0,55225	104,27	0,52525	99,17	0,09225	17,42	0,20825	39,32
0,57025	107,67	0,53125	100,31	0,08625	16,29	0,28225	53,29
0,56425	106,54	0,52025	98,23			0,26225	49,52
0,56025	105,78	0,53225	100,50			0,21025	39,70
0,55325	104,46	0,52825	99,74			0,18325	34,60
0,56925	107,48	0,52425	98,99			0,18325	34,60
0,57325	108,24	0,51225	96,72			0,19025	35,92
0,55525	104,84	0,52925	99,93			0,18925	35,73
0,55125	104,08	0,53225	100,50			0,21925	41,40
0,56025	105,78	0,48525	91,62			0,24925	47,06
Mittelwerte							
0,56088	105,90	0,52963	100,00	0,09131	17,24	0,23242	43,88
Mittelwerte							
Tag 3	Probe Tag 3	Negativ	Positiv	Ethanol 5%			
Extinktion	0,56088	0,52963	0,09131	0,23242			
Standardabw	0,01264	0,01399	0,00274	0,05667			
Gemittelte Prozentwerte der 3 Ansätze							
Probe	102,69	Negativ	100,00	Positiv	17,43	Ethanol 5%	43,17
Gemittelte Standardabweichungen der 3 Ansätze in Prozent							
Probe	6,15	Negativ	4,54	Positiv	2,75	Ethanol 5%	28,83

7 Abbildungsverzeichnis

1. Molteno Implantat: Molteno Ophthalmic Limited, Dunedin, New Zealand; www.molteno.com
2. Ex-PRESS Implantat: Optonol, Israel; www.optonol.com
3. Ex-PRESS Implantat; Prof. Dr. Jürgen Kampmeier, Augenklinik der medizinischen Fakultät der Universität Ulm
4. T-Flux Implantat: IOLTECH Laboratoires, La Rochelle, Frankreich; www.ioltech
5. SKGEL-Implantat: Corneal Laboratoire, Paris, Frankreich; www.corneal.fr
6. Aquaflo Implantat: STAAR Surgical Company, Monrovia, USA; www.staar.com
7. Oberflächenmodifiziertes Formwerkzeug
8. Silikonstent-Prototyp
9. Er:YAG Laserapplikatorspitze; Prof. Dr. Jürgen Kampmeier, Augenklinik der medizinischen Fakultät der Universität Ulm
10. Instrument – Stentpinzette
11. Instrument – Stentpinzette
12. Instrument – Stentpusher
13. PDA-Stent aus Vorversuchsform im PBS-Resorptionsversuch nach 2 Monaten
14. PDA-Stent aus Vorversuchsform im PBS-Resorptionsversuch nach 12 Monaten
15. Stent-Degradation in L929 Zellkultur, makroskopisch
16. Stent-Degradation in L929 Zellkultur, mikroskopisch
17. Zellmorphologie L929 Zellen nach indirektem Kontakt mit Eluaten; Hämalan
18. Ergebnisdiagramm des BrDU Elisa
19. Vitalitätstestung L929 Zellen nach indirektem Kontakt mit Eluaten; EB und FDA
20. Ergebnisdiagramm des WST-1 Elisa
21. Operationssitus Tier 1 – Irisprolaps ins innere Sklerostomie-Ostium, Stentverlust

22. Operationssitus Tier 2 – Idealbefund mit erkennbarem Stentpin in der Vorderkammer
23. Operationssitus Tier 2 – Idealbefund mit erkennbarem Stentpin in der Vorderkammer
24. Operationssitus Tier 4 – Pinluxation aus der Sklerostomie
25. Operationssitus Tier 2 – Zustand nach Stentexplantation, kein Irisprolaps, leichte Bindehauthyperämie
26. Operationssitus Tier 3 – Zustand nach Stentexplantation, Irisprolaps, Bindehauthyperämie
27. Histologie Tier 1 – Vergrößerung 10fach; Irisadhäsion, verschlossene Sklerostomie
28. Histologie Tier 4 – Vergrößerung 2,5fach; Übersicht subkonjunktivaler Hohlraum
29. Histologie Tier 4 – Vergrößerung 20fach; Sklerale Stentanlage
30. Histologie Tier 4 – Vergrößerung 20fach; Konjunktivale Stentanlage
31. Histologie Tier 3 – Vergrößerung 10fach; Sklerostomieokklusion und Irisadhäsion, aufgehobenes Filterkissen
32. Histologie Tier 2 – Vergrößerung 5fach; Sklerostomieokklusion und Irisadhäsion, aufgehobenes Filterkissen in der Übersicht

8 Literaturverzeichnis

1. Pfeiffer N: Glaukom. Georg Thieme Verlag (2001).
2. Coleman AL, Brigatti L: The glaucomas. *Minerva Med.* **92**, 365-379 (2001).
3. Pfeiffer N, Kriegelstein GK, Wellek S: Knowledge about glaucoma in the unselected population: a German survey. *J. Glaucoma.* **11**, 458-463 (2002).
4. Bathija R, Gupta N, Zangwill L, Weinreb RN: Changing definition of glaucoma. *J. Glaucoma.* **7**, 165-169 (1998).
5. Kroese M, Burton H: Primary open angle glaucoma. The need for a consensus case definition. *J. Epidemiol. Community Health* **57**, 752-754 (2003).
6. Vogel R, Crick RP, Newson RB, Shipley M, Blackmore H, Bulpitt CJ: Association between intraocular pressure and loss of visual field in chronic simple glaucoma. *Br. J. Ophthalmol.* **74**, 3-6 (1990).
7. Jay JL, Murdoch JR: The rate of visual field loss in untreated primary open angle glaucoma. *Br. J. Ophthalmol.* **77**, 176-178 (1993).
8. The Advanced Glaucoma Intervention Study (AGIS): 7. The relationship between control of intraocular pressure and visual field deterioration. The AGIS Investigators. *Am. J. Ophthalmol.* **130**, 429-440 (2000).
9. Kass MA, Heuer DK, Higginbotham EJ, Johnson CA, Keltner JL, Miller JP, Parrish RK, Wilson MR, Gordon MO: The Ocular Hypertension Treatment Study: a randomized trial determines that topical ocular hypotensive medication delays or prevents the onset of primary open-angle glaucoma. *Arch. Ophthalmol.* **120**, 701-713 (2002).
10. Bathija R: Optic nerve blood flow in glaucoma. *Clin. Exp. Optom.* **83**, 180-184 (2000).
11. Coleman AL: Glaucoma. *Lancet* **354**, 1803-1810 (1999).
12. Sommer A, Tielsch JM, Katz J, Quigley HA, Gottsch JD, Javitt J, Singh K: Relationship between intraocular pressure and primary open angle glaucoma among white and black Americans. The Baltimore Eye Survey. *Arch. Ophthalmol.* **109**, 1090-1095 (1991).
13. Lee BL, Wilson MR: Ocular Hypertension Treatment Study (OHTS) commentary. *Curr. Opin. Ophthalmol.* **14**, 74-77 (2003).
14. Graf M, Halbach E, Kaufmann H: Causes of blindness in Hessa in 1996. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* **215**, 50-55 (1999).
15. Krumpaszkzy HG, Ludtke R, Mickler A, Klauss V, Selbmann HK: Blindness incidence in Germany. A population-based study from Wurttemberg-Hohenzollern. *Ophthalmologica* **213**, 176-182 (1999).

16. Krumpaszky HG, Klauss V: Cause of blindness in Bavaria. Evaluation of a representative sample from blindness compensation records of Upper Bavaria. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* **200**, 142-146 (1992).
17. Hod Y, Corcia Y, Yassur Y, Geyer O: Causes of blindness in Israel. *Harefuah* **138**, 276-8, 342 (2000).
18. Collins JF, Augustin AJ: *Augenheilkunde*. Springer Verlag (1996).
19. Esser JM: Dissertationsschrift - Multidrug Resistenz in der Glaukomchirurgie. Medizinische Fakultät der Universität zu Köln, (2000).
20. Kampik A, Grehn F: *Augenärztliche Therapie*. Georg Thieme Verlag (2002).
21. Cairns JE: Trabeculectomy. Preliminary report of a new method. *Am. J. Ophthalmol.* **66**, 673-679 (1968).
22. Linner E: Some experiences of microsurgical trabeculotomy and trabeculectomy ab externo in chronic simple glaucoma. *Bibl. Ophthalmol.* **81**, 132-135 (1970).
23. Fronimopoulos J, Lambrou N, Christakis C: Goniotrepanation with scleral cover. Development of the surgical technic and postoperative results. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* **159**, 565-574 (1971).
24. Kampmeier J, Stock K, Hibst R, Lang GE, Steiner R, Lang GK: Intracanalicular trabeculostomy--a new approach to glaucoma surgery. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* **212**, 159-162 (1998).
25. Stegmann R, Pienaar A, Miller D: Visco canalostomy for open-angle glaucoma in black African patients. *J. Cataract Refract. Surg.* **25**, 316-322 (1999).
26. Fedorov SN, Ioffe DI, Ronkina TI: Glaucoma surgery--deep sclerectomy. *Vestn. Oftalmol.* 6-10 (1982).
27. Zimmerman TJ, Kooner KS, Ford VJ, Olander KW, Mandlekorn RM, Rawlings EF, Leader BJ, Koskan AJ: Trabeculectomy vs. nonpenetrating trabeculectomy: a retrospective study of two procedures in phakic patients with glaucoma. *Ophthalmic Surg.* **15**, 734-740 (1984).
28. Zimmerman TJ, Kooner KS, Ford VJ, Olander KW, Mandlekorn RM, Rawlings FE, Leader BJ, Koskan AJ: Effectiveness of nonpenetrating trabeculectomy in aphakic patients with glaucoma. *Ophthalmic Surg.* **15**, 44-50 (1984).
29. Kirchhof B: Retinectomy Lowers Intraocular-Pressure in Otherwise Intractable Glaucoma - Preliminary-Results. *Ophthalmic Surgery and Lasers* **25**, 262-267 (1994).
30. Kirchhof B: The contribution of vitreoretinal surgery to the management of refractory glaucomas. *Curr. Opin. Ophthalmol.* **10**, 117-120 (1999).
31. Fechner PU, Teichmann KD, Westhoff MR: *Eye drug therapy. Principles and practice*. *Buch. Augenarzt.* 1-270 (1982).

32. Jay JL, Allan D: The benefit of early trabeculectomy versus conventional management in primary open angle glaucoma relative to severity of disease. *Eye* **3 (Pt 5)**, 528-535 (1989).
33. Migdal C, Gregory W, Hitchings R: Long-term functional outcome after early surgery compared with laser and medicine in open-angle glaucoma. *Ophthalmology* **101**, 1651-1656 (1994).
34. Diestelhorst M, Khalili MA, Krieglstein GK: Trabeculectomy: a retrospective follow-up of 700 eyes. *Int. Ophthalmol.* **22**, 211-220 (1998).
35. Khaw PT, Siriwardena D: Glaucoma surgery in the United Kingdom: why, who and when. *Eye* **13 (Pt 4)**, 493-494 (1999).
36. Krieglstein GK: How new is new, and is it better? *J. Glaucoma.* **8**, 279-280 (1999).
37. Luke C, Dietlein TS, Jacobi PC, Konen W, Krieglstein GK: A prospective randomized trial of viscocanalostomy versus trabeculectomy in open-angle glaucoma: a 1-year follow-up study. *J Glaucoma.* **11**, 294-299 (2002).
38. Ticho U, Monselize M, Levene S, Kaye R: CO2 laser filtering surgery in hemorrhagic glaucoma. *Harefuah* **96**, 222-224 (1979).
39. L'Esperance FA, Jr., Mittl RN: Carbon dioxide laser trabeculostomy for the treatment of neovascular glaucoma. *Trans. Am. Ophthalmol. Soc.* **80**, 262-287 (1982).
40. March WF, Gherezghiher T, Koss MC, Nordquist RE: Experimental YAG laser sclerostomy. *Arch. Ophthalmol.* **102**, 1834-1836 (1984).
41. March WF, Gherezghiher T, Koss MC, Shaver RP, Heath WD, Nordquist RD: Histologic study of a neodymium-YAG laser sclerostomy. *Arch. Ophthalmol.* **103**, 860-863 (1985).
42. Gherezghiher T, March WF, Koss MC, Nordquist RE: Neodymium-YAG laser sclerostomy in primates. *Arch. Ophthalmol.* **103**, 1543-1545 (1985).
43. Ozler SA, Hill RA, Andrews JJ, Baerveldt G, Berns MW: Infrared laser sclerostomies. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* **32**, 2498-2503 (1991).
44. Kampmeier J, Burgass W, Schutte E, Schroder D, Hibst R, Steiner R: Comparative study of ab-externo sclerostomy with the excimer and Er:YAG laser. *Ophthalmologie* **90**, 594-598 (1993).
45. Kampmeier J, Schutte E, Schroder D, Meier T, Steiner R: Excimer laser sclerostomy of secondary glaucoma. *Ophthalmologie* **90**, 35-39 (1993).
46. Wetzel W, Scheu M: Laser sclerostomy ab externo using mid infrared lasers. *Ophthalmic Surg.* **24**, 6-12 (1993).
47. Wetzel W, Scheu M: Experimental laser sclerostomy ab externo with erbium:YAG laser. *Ophthalmologie* **90**, 40-44 (1993).

48. Muller-Stolzenburg N, von Haebler M, Buchwald HJ, Bergmann AJ, Kruse HA, Muller GJ: Ab-interno sclerostomy with the excimer laser via a quartz fiber in albino rabbits. *Fortschr. Ophthalmol.* **88**, 762-769 (1991).
49. Wetzel W, Haring G, Brinkmann R, Birngruber R: Laser sclerostomy ab externo using the erbium: YAG laser. First results of a clinical study. *Ger J. Ophthalmol.* **3**, 112-115 (1994).
50. Kampmeier J, Klafke M, Hibst R, Wierschin S, Schutte E, Steiner R: Ab externo sclerostomy with the Er:YAG laser: report of outcome after 2 years. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* **208**, 218-223 (1996).
51. Jacobi PC, Dietlein TS, Krieglstein GK: Prospective study of ab externo erbium:YAG laser sclerostomy in humans. *Am. J Ophthalmol.* **123**, 478-486 (1997).
52. Spiegel D, Wetzel W, Birngruber R: Ab externo erbium YAG laser sclerostomy versus conventional trabeculectomy. Treatment of glaucoma patients. *Ophthalmologe* **95**, 537-541 (1998).
53. Rollet M, Moreau M.: Le drainage au crin de la chambre anterieure contre l'hypertonie et la douleur. *Rev.Gen.Ophthalmol* 26, 289-292. 1907.
54. Zorab A.: The reduction of tension in chronic glaucoma. *Ophthalmoscope* 10, 258-261. 1912.
55. Stephansson J.: An operation for glaucoma. *Am.J.Ophthalmol.* 8, 681-693. 1925.
56. Bick M.: Use of tantalum for ocular drainage. *Arch.Ophthalmol.* 42, 373-388. 1949.
57. Lim KS, Allan BD, Lloyd AW, Muir A, Khaw PT: Glaucoma drainage devices; past, present, and future. *Br. J. Ophthalmol.* **82**, 1083-1089 (1998).
58. Molteno AC: New implant for drainage in glaucoma. Clinical trial. *Br. J. Ophthalmol.* **53**, 606-615 (1969).
59. Molteno AC: New implant for drainage in glaucoma. Animal trial. *Br. J. Ophthalmol.* **53**, 161-168 (1969).
60. Hille K, Hille A, Ruprecht KW: Drainage systems in glaucoma surgery. *Ophthalmologe* **99**, 902-916 (2002).
61. Dietlein TS: Perspectives in glaucoma surgery. *Ophthalmologe* **99**, 74-84 (2002).
62. Nyska A, Glovinsky Y, Belkin M, Epstein Y: Biocompatibility of the Ex-PRESS miniature glaucoma drainage implant. *J Glaucoma.* **12**, 275-280 (2003).
63. Bron A, Sellem E, Kaplan-Messas A, Gandolfi S, Zagorski Z, Epstein Y, Belkin M.: Short term results of the Ex-Press glaucoma miniature implant in combined surgery with phaco-emulsification. 3rd IGS Abstract book . 2001.

64. Traverso CE, Kaplan-Messas A, Belkin M, and The International Ex-PRESS Study Group.: The Ex-PRESS Glaucoma Implant: Intermediate Results of a Prospective Multicenter Study. 3rd IGS Abstract book . 2001.
65. Ates H, Uretmen O, Andac K, Azarsiz SS: Deep sclerectomy with a nonabsorbable implant (T-Flux): preliminary results. *Can. J. Ophthalmol.* **38**, 482-488 (2003).
66. Ravinet E, Bovey E, Mermoud A: T-Flux implant versus Healon GV in deep sclerectomy. *J. Glaucoma.* **13**, 46-50 (2004).
67. Luke C, Dietlein TS, Jacobi PC, Konen W, Krieglstein GK: A prospective randomised trial of viscocanalostomy with and without implantation of a reticulated hyaluronic acid implant (SKGEL) in open angle glaucoma. *Br. J. Ophthalmol.* **87**, 599-603 (2003).
68. Schwenn O, Springer C, Troost A, Yun SH, Pfeiffer N: Deep sclerectomy using a hyaluronate implant versus trabeculectomy. A comparison of two glaucoma operations using mitomycin C. *Ophthalmologe* **101**, 696-704 (2004).
69. Kozlov VI, Bagrov SN, Anisimova SY: Non-penetrating deep sclerectomy with collagen. *IRTC Eye Microsurgery, RSFSR Ministry of Public Health, Moscow* **3**, 44-46 (1990).
70. Mermoud A, Schnyder CC, Sickenberg M, Chiou AG, Hediguer SE, Faggioni R: Comparison of deep sclerectomy with collagen implant and trabeculectomy in open-angle glaucoma. *J. Cataract Refract. Surg.* **25**, 323-331 (1999).
71. Karlen ME, Sanchez E, Schnyder CC, Sickenberg M, Mermoud A: Deep sclerectomy with collagen implant: medium term results. *Br. J. Ophthalmol.* **83**, 6-11 (1999).
72. Mermoud A, Karlen ME, Schnyder CC, Sickenberg M, Chiou AG, Hediguer SE, Sanchez E: Nd:Yag goniotomy after deep sclerectomy with collagen implant. *Ophthalmic Surg. Lasers* **30**, 120-125 (1999).
73. Chiou AG, Mermoud A, Jewelewicz DA: Post-operative inflammation following deep sclerectomy with collagen implant versus standard trabeculectomy. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **236**, 593-596 (1998).
74. Habal MB: The biologic basis for the clinical application of the silicones. A correlate to their biocompatibility. *Arch. Surg.* **119**, 843-848 (1984).
75. Schrage N, Kompa S, Langefeld S, Klee D, Reim M, Kirchhof B.: The Aachen keratoprosthesis clinical and technical development. *Ophthalmic research* 31 Suppl. 1(99), 121. 1998.
76. Schrage NF, Langefeld S, von Fischern T, Numan CJ, Kompa S, Yuan L, Völcker N, Reim M, Kirchhof B.: Technische Realisierung der Aachener Keratoprothese, erste Anwendung am Menschen. *Ophthalmologe* 95 Suppl. 1, 36. 1998.

77. Schrage NF, Reim M, Redbrake-Adams C.: Hornhautprothese; Offenlegungsschrift DE 195 08 922 A1. 2001.
78. von Fischern T, Langefeld S, Yuan L, Volcker N, Reim M, Kirchhof B, Schrage NF: Development of a surface modified silicone-keratoprosthesis with scleral fixation. *Acta Chir Hung.* **37**, 219-225 (1998).
79. von Fischern T, Langefeld S, Yuan L, Volcker N, Reim M, Kirchhof B, Schrage NF: The "Aachen" keratoprosthesis: a new approach towards successful keratoprosthesis-surgery. *Int. J. Artif. Organs* **22**, 52-57 (1999).
80. Langefeld S, Volcker N, Kompa S, von Fischern T, Bienert H, Klee D, Hocker H, Reim M, Schrage NF: Functionally adapted surfaces on a silicone keratoprosthesis. *Int. J. Artif. Organs* **22**, 235-241 (1999).
81. Langefeld S, Kompa S, Redbrake C, Brenman K, Kirchhof B, Schrage NF: Aachen keratoprosthesis as temporary implant for combined vitreoretinal surgery and keratoplasty: report on 10 clinical applications. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* **238**, 722-726 (2000).
82. Kompa S, Langefeld S, Kirchhof B, Brenman K, Schrage N: Aachen-Keratoprosthesis as temporary implant. Case report on first clinical application. *Int. J. Artif. Organs* **23**, 345-348 (2000).
83. Kompa S, Redbrake C, Langefeld S, Brenman K, Schrage N: The Type II Aachen-Keratoprosthesis in humans: case report of the first prolonged application. *Int. J. Artif. Organs* **24**, 110-114 (2001).
84. Krug A, Kompa S, Schrage NF: The Aachen-keratoprosthesis--a flexible KPro that permits intraocular pressure measurement. *Int. J. Artif. Organs* **25**, 238-242 (2002).
85. Ethicon Inc.: www.ecatalog.ethicon.com - ETHICON Product Catalog. 2004.
86. Weiler A, Hoffmann RF, Stahelin AC, Helling HJ, Sudkamp NP: Biodegradable implants in sports medicine: the biological base. *Arthroscopy* **16**, 305-321 (2000).
87. Grizzi I, Garreau H, Li S, Vert M: Hydrolytic degradation of devices based on poly(DL-lactic acid) size-dependence. *Biomaterials* **16**, 305-311 (1995).
88. Burg KJ, Shalaby SW: Physicochemical changes in degrading polylactide films. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed* **9**, 15-29 (1997).
89. Langer R, Tirrell DA: Designing materials for biology and medicine. *Nature* **428**, 487-492 (2004).
90. Anderson DG, Burdick JA, Langer R: Materials science. Smart biomaterials. *Science* **305**, 1923-1924 (2004).
91. GE Bayer Silicones.: www.gesilicones.com - GE Bayer Silicones Product Description Silopren LSR 4060. 8-8-2002.

92. GE Bayer Silicones.: www.gesilicones.com - Sicherheitsdatenblatt LSR 4060 A-can. 8-8-2002.
93. GE Bayer Silicones.: www.gesilicones.com - Sicherheitsdatenblatt LSR 4060 B-can. 8-8-2002.
94. GE Bayer Silicones.: Produktsicherheit LSR 4060. 28-10-2004.
95. Boehringer Ingelheim D.: Produktprogramm RESOMER. 1-1-2000.
96. Boehringer Ingelheim D.: www.boehringer-ingelheim.com/finechem - Specification sheet RESOMER RG 505. 6-1-2003.
97. Boehringer Ingelheim D.: www.boehringer-ingelheim.com/finechem - Specification sheet RESOMER R 208. 6-1-2003.
98. Boehringer Ingelheim D.: www.boehringer-ingelheim.com/finechem - Specification sheet RESOMER RG 503 H. 6-1-2003.
99. Lendlein A, Langer R: Biodegradable, elastic shape-memory polymers for potential biomedical applications. *Science* **296**, 1673-1676 (2002).
100. Ridder U: Dissertationsschrift - Polymermischungen aus Multiblockcopolymeren mit Formgedächtniseigenschaften für mögliche medizinische Anwendungen. Fakultät für Mathematik, Informatik und Naturwissenschaften der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen, (2003).
101. Kelch S, Lendlein A, Müllen A, Ridder U: Textile Polymergerüste für das Tissue Engineering. *Technische Textilien* **46**, 271-272 (2003).
102. Kvach JT, Veras JR: A fluorescent staining procedure for determining the viability of mycobacterial cells. *Int. J. Lepr. Other Mycobact. Dis.* **50**, 183-192 (1982).
103. AHC Oberflächentechnik F&RGKD.: Produktbeschreibung PTFE-DURNI-DISP. 2000.
104. Molteno AC, Bevin TH, Herbison P, Houlston MJ: Otago glaucoma surgery outcome study: long-term follow-up of cases of primary glaucoma with additional risk factors drained by Molteno implants. *Ophthalmology* **108**, 2193-2200 (2001).
105. Lai JS, Poon AS, Chua JK, Tham CC, Leung AT, Lam DS: Efficacy and safety of the Ahmed glaucoma valve implant in Chinese eyes with complicated glaucoma. *Br. J. Ophthalmol.* **84**, 718-721 (2000).
106. Coleman AL, Wilson MR, Tam M, Hill R, Choplin N, Kotas-Neumann R, Bacharach J, Panek WC: Initial clinical experience with the Ahmed glaucoma valve implant--correction. *Am. J. Ophthalmol.* **120**, 684 (1995).

107. Coleman AL, Hill R, Wilson MR, Choplin N, Kotas-Neumann R, Tam M, Bacharach J, Panek WC: Initial clinical experience with the Ahmed Glaucoma Valve implant. *Am. J. Ophthalmol.* **120**, 23-31 (1995).
108. Mills RP, Reynolds A, Emond MJ, Barlow WE, Leen MM: Long-term survival of Molteno glaucoma drainage devices. *Ophthalmology* **103**, 299-305 (1996).
109. Siegner SW, Netland PA, Urban RC, Jr., Williams AS, Richards DW, Latina MA, Brandt JD: Clinical experience with the Baerveldt glaucoma drainage implant. *Ophthalmology* **102**, 1298-1307 (1995).
110. Fellenbaum PS, Almeida AR, Minckler DS, Sidoti PA, Baerveldt G, Heuer DK: Krupin disk implantation for complicated glaucomas. *Ophthalmology* **101**, 1178-1182 (1994).
111. Lloyd MA, Sedlak T, Heuer DK, Minckler DS, Baerveldt G, Lee MB, Martone JF: Clinical experience with the single-plate Molteno implant in complicated glaucomas. Update of a pilot study. *Ophthalmology* **99**, 679-687 (1992).
112. Leen MM, Witkop GS, George DP: Anatomic considerations in the implantation of the Ahmed glaucoma valve. *Arch. Ophthalmol.* **114**, 223-224 (1996).
113. Dobler-Dixon AA, Cantor LB, Sondhi N, Ku WS, Hoop J: Prospective evaluation of extraocular motility following double-plate molteno implantation. *Arch. Ophthalmol.* **117**, 1155-1160 (1999).
114. Smith SL, Starita RJ, Fellman RL, Lynn JR: Early clinical experience with the Baerveldt 350-mm² glaucoma implant and associated extraocular muscle imbalance. *Ophthalmology* **100**, 914-918 (1993).
115. Huang MC, Netland PA, Coleman AL, Siegner SW, Moster MR, Hill RA: Intermediate-term clinical experience with the Ahmed Glaucoma Valve implant. *Am. J. Ophthalmol.* **127**, 27-33 (1999).
116. Jacob JT, Burgoyne CF, McKinnon SJ, Tanji TM, LaFleur PK, Duzman E: Biocompatibility response to modified Baerveldt glaucoma drains. *J. Biomed. Mater. Res.* **43**, 99-107 (1998).
117. Wilson MR, Mendis U, Paliwal A, Haynatzka V: Long-term follow-up of primary glaucoma surgery with Ahmed glaucoma valve implant versus trabeculectomy. *Am. J. Ophthalmol.* **136**, 464-470 (2003).
118. Wilson MR, Mendis U, Smith SD, Paliwal A: Ahmed glaucoma valve implant vs trabeculectomy in the surgical treatment of glaucoma: a randomized clinical trial. *Am. J. Ophthalmol.* **130**, 267-273 (2000).
119. Sourdille P, Santiago PY, Villain F, Yamamichi M, Tahi H, Parel JM, Ducournau Y: Reticulated hyaluronic acid implant in nonperforating trabecular surgery. *J. Cataract Refract. Surg.* **25**, 332-339 (1999).

120. Detry-Morel M: Non penetrating deep sclerectomy (NPDS) with SKGEL implant and/or 5-fluorouracile (5-FU). *Bull. Soc. Belge Ophtalmol.* 23-32 (2001).
121. Detry-Morel M, De Temmerman S: Assessment of nonpenetrating deep sclerectomy with reticulated hyaluronic acid implant SKGEL and/or preoperative application of 5-fluorouracil: results of 2 and a half years. *Bull. Soc. Belge Ophtalmol.* 53-62 (2003).
122. Mermoud A: Ex-PRESS implant. *Br. J. Ophthalmol.* **89**, 396-397 (2005).
123. Dahan E, Carmichael TR: Implantation of a miniature glaucoma device under a scleral flap. *J. Glaucoma.* **14**, 98-102 (2005).
124. Traverso CE, De Feo F, Messas-Kaplan A, Denis P, Levartovsky S, Sellem E, Badala F, Zagorski Z, Bron A, Gandolfi S, Belkin M: Long term effect on IOP of a stainless steel glaucoma drainage implant (Ex-PRESS) in combined surgery with phacoemulsification. *Br. J. Ophthalmol.* **89**, 425-429 (2005).
125. Schwenn O, Kersten I, Dick HB, Muller H, Pfeiffer N: Effects of early postfiltration ocular hypotony on visual acuity, long-term intraocular pressure control, and posterior segment morphology. *J. Glaucoma.* **10**, 85-88 (2001).
126. Joseph JP, Grierson I, Hitchings RA: Chemotactic activity of aqueous humor. A cause of failure of trabeculectomies? *Arch. Ophthalmol.* **107**, 69-74 (1989).
127. Joseph JP, Grierson I, Hitchings RA: Partial characterization of the fibroblast chemotactic constituents of human aqueous humour. *Int. Ophthalmol.* **13**, 125-130 (1989).
128. Liebmann JM, Sokol J, Ritch R: Management of chronic hypotony after glaucoma filtration surgery. *J. Glaucoma.* **5**, 210-220 (1996).
129. Helies P, Legeais JM, Savoldelli M, Parel JM, Renard G: Artificial trabeculum (MESH). Clinical and histological study in the rabbit. *J. Fr. Ophtalmol.* **21**, 351-360 (1998).
130. Jallet V, Gautier SE, Parel JM, Matsui T, Haefliger I, Kondo H, Kato H, Savoldelli M, Pouliquen Y: Novel synthetic meshwork for glaucoma treatment. I. Design and preliminary in vitro and in vivo evaluation of various expanded poly(tetrafluoroethylene) materials. *J. Biomed. Mater. Res.* **47**, 260-269 (1999).
131. Pitt WG, Park K, Cooper SL.: Sequential protein adsorption and thrombus deposition on polymeric biomaterials. *J. Colloid Interface Sci.* **111**, 343-362. 1986.
132. Belanger MC, Marois Y: Hemocompatibility, biocompatibility, inflammatory and in vivo studies of primary reference materials low-density polyethylene and polydimethylsiloxane: a review. *J. Biomed. Mater. Res.* **58**, 467-477 (2001).
133. Habibi-Naini S.: IKV, RWTH Aachen. Mündliche Mitteilung 2001.

134. Therin M, Christel P, Li S, Garreau H, Vert M: In vivo degradation of massive poly(alpha-hydroxy acids): validation of in vitro findings. *Biomaterials* **13**, 594-600 (1992).
135. Hölzl F: Dissertationsschrift - Entwicklung einer biodegradierbaren Harnleiterschleife. Medizinische Fakultät der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen, (2001).
136. Fu K, Pack DW, Klibanov AM, Langer R: Visual evidence of acidic environment within degrading poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres. *Pharm. Res.* **17**, 100-106 (2000).
137. Netland PA: Nonpenetrating glaucoma surgery. *Ophthalmology* **108**, 416-421 (2001).
138. Spiegel D, Kobuch K: Trabecular meshwork bypass tube shunt: initial case series. *Br. J. Ophthalmol.* **86**, 1228-1231 (2002).
139. Luke C, Dietlein TS, Roters S, Jacobi PC, Konen W, Kriegelstein GK: Implant exposure after viscocanalostomy with reticulated hyaluronic acid (SK-GEL). *Ophthalmologie* **101**, 1220-1223 (2004).
140. Kampmeier J, Klafke M, Hibst R, Wierschin S, Schutte E, Steiner R: Modified radiation administration in Er:YAG laser ab externo sclerostomy. *Klin. Monatsbl. Augenheilkd.* **211**, 48-52 (1997).
141. Wetzel W, Otto R, Falkenstein W, Schmidt-Erfurth U, Birngruber R: Development of a new Er: YAG laser conception for laser sclerostomy ab externo: experimental and first clinical results. *Ger J Ophthalmol.* **4**, 283-288 (1995).
142. Schmidbauer JM, Hoh H, Jahnig T, Daberkow I: Antiproliferative therapy with 5-fluorouracil in erbium:YAG laser sclerostomy ab externo. *Ophthalmologie* **93**, 569-575 (1996).
143. Schmidt-Erfurth U, Wetzel W, Droge G, Haring G, Behrendt S, Birngruber R: Progress in laser sclerostomy ab externo] Enlarging the sclerostomy channel and local mitomycin administration. *Ophthalmologie* **92**, 536-541 (1995).
144. Hostyn P, Villain F, Malek-Chehine N, Kuhne F, Takesue Y, Parrish RK, II, Parel JM: Biodegradable controlled-release 5-FU implant in the surgery for glaucoma. Experimental study. *J. Fr. Ophthalmol.* **19**, 133-139 (1996).
145. Jacob JT, Lacour OJ, Burgoyne CF: Slow release of the antimetabolite 5-fluorouracil (5-FU) from modified Baerveldt glaucoma drains to prolong drain function. *Biomaterials* **22**, 3329-3335 (2001).
146. Blindt R, Hoffmeister KM, Bienert H, Pfannschmitt, Bartsch G, Thissen H, Klee D, vom DJ: Development of a new biodegradable intravascular polymer stent with simultaneous incorporation of bioactive substances. *Int. J. Artif. Organs* **22**, 843-853 (1999).

-
147. Vogt F, Stein A, Rettemeier G, Krott N, Hoffmann R, vom DJ, Bosserhoff AK, Michaeli W, Hanrath P, Weber C, Blindt R: Long-term assessment of a novel biodegradable paclitaxel-eluting coronary polylactide stent. *Eur. Heart J.* **25**, 1330-1340 (2004).
 148. Migdal C: Rational choice of therapy in established open angle glaucoma. *Eye* **6 (Pt 4)**, 346-347 (1992).
 149. Ainsworth JR, Jay JL: Cost analysis of early trabeculectomy versus conventional management in primary open angle glaucoma. *Eye* **5 (Pt 3)**, 322-328 (1991).

9 Danksagung

Ich bedanke mich herzlichst bei Herrn Professor Dr. med. Norbert Schrage für die Überlassung des interessanten Themas. Seine Ideen und sein Einfallsreichtum, speziell im Hinblick auf technische Probleme, haben diese Arbeit erst ermöglicht und mich in tiefem Maße beeindruckt. Auch das überaus freundliche Miteinander war für mich nie eine Selbstverständlichkeit.

Herrn Professor Dr. med. Jürgen Kampmeier gilt mein besonderer Dank für die freundliche Unterstützung bei den Tierversuchen in Ulm. Die angenehme Atmosphäre und sein Engagement für die Weiterentwicklung der Arbeit während meiner Besuche in Ulm waren immer etwas Besonderes.

Ich danke Frau Brigitte Kondring für ihre Anleitung und Mithilfe im Rahmen der Zytotoxizitätsuntersuchungen. Ohne sie wären viele Probleme ungelöst und viele Fragen offen geblieben. Darüber hinaus gilt mein Dank den weiteren Mitarbeitern des Aachener Labors.

Im Ulmer Labor bedanke ich mich herzlich bei Frau Andrea Böhmler für die große Hilfe bei den histologischen Untersuchungen, bei den Mitarbeitern des Tierforschungszentrums der Universität zu Ulm, Leitung Prof. Dr. Burghart Jilge, ebenso bei den Mitarbeitern des Institutes für Lasertechnologien in der Medizin und Messtechnik an der Universität Ulm, Leitung Prof. Dr. Rudolf Steiner.

Herrn Universitäts-Professor Dr. Andreas Lendlein danke ich für die zur Verfügung Stellung, sowie Frau Dr. Ute Ridder und Herrn Dr. Steffen Kelch für die Hilfe und die Erläuterungen im Umgang mit dem neuen resorbierbaren Material.

Meinen Geschwistern Eva und Martin, meiner Großmutter Frau Elisabeth Dulle und meinen Freunden danke ich für ihr Verständnis, wenn die Zeit für Gemeinsames knapp war.

Ein großer Dank gebührt meinen Eltern Magdalena und Dr. Heinrich Mütter, die mir durch mein Studium hindurch, und darüber hinaus zu jeder Zeit mit Rat und Liebe zur Seite gestanden haben. Ihre unermüdliche Unterstützung ist mir auf meinem Weg stets die größte Hilfe gewesen.

10 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Philipp Sebastian Mütter
Geburtsdatum	24.03.1978
Geburtsort	Eschweiler
Nationalität	deutsch
Familienstand	ledig
Konfession	katholisch
Vater	Dr. med. Heinrich C. Mütter (Augenarzt)
Mutter	Magdalena Mütter, geb. Dulle
Geschwister	Dipl. ing. Martin Mütter (Maschinenbauer) Eva Mütter (Germanistikstudentin)

Schulbildung

1984-1988	Katholische Grundschule Höfchensweg Aachen
1988-1997	Bischöfliches Pius-Gymnasium Aachen
1994-1995	Auslands-Schuljahr USA, Private High School Stipendium, St. Anne's Belfield School, Charlottesville, Virginia, USA
1997	Abitur, Latinum

Medizinstudium

1997 – 1999	Medizinische Universität zu Lübeck
1999 – 2003	RWTH Aachen
09/1999	Ärztliche Vorprüfung in Lübeck
08/2000	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung in Aachen
09/2002	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung in Aachen
11/2003	Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung in Aachen

Praktisches Jahr

10/2002 Universitäts-Augenklinik der RWTH Aachen
- 08/2003 (Kommissarische Leitung: Prof. Dr. med. N. Schrage)
Abteilung für Innere Medizin, Provincial Hospital Port Elizabeth,
Lehrkrankenhaus der Universität von Kapstadt, SA
(Prof. K. A. Newton)
Chirurgische Universitätsklinik und Poliklinik der RWTH Aachen
(Prof. Dr. med. Dr. h.c. V. Schumpelick)

Berufsausbildung

05/2004 Arzt im Praktikum am Zentrum Für Augenheilkunde,
-09/2004 Univ.-Prof. G.K. Krieglstein, Univ.-Prof. B. Kirchhof,
Univ.-Prof. W. Rüssmann, Universität zu Köln

10/2004 Forschungsrotation am ZMMK Köln
-12/2005 Wissenschaftlicher Mitarbeiter molekularbiologisches Gefäßlabor
Fr. PD Dr. med. A. Jousen/Univ.-Prof. B. Kirchhof

seit 01/2006 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Zentrum Für Augenheilkunde,
Univ.-Prof. G.K. Krieglstein, Univ.-Prof. B. Kirchhof,
Universität zu Köln