

# Hornhautkollagenvernetzung mit Riboflavin und UVA-Licht bei Patienten mit progressivem Keratokonus

## 10-Jahres-Ergebnisse

Beim Keratokonus handelt es sich um eine nichtentzündliche, degenerative Erkrankung des Auges, bei der die Hornhaut zunehmend ihre Stabilität verliert. Infolgedessen kommt es zu einer Vorwölbung derselben mit zunehmender Stromaausdünnung. Es resultieren ein irregulärer Hornhautastigmatismus sowie eine hohe Myopie [12], die zu einer progredienten Sehverschlechterung führen. Häufig sind beide Augen betroffen, allerdings in asymmetrischer Ausprägung [39].

Aufgrund des jungen Alters bei Erstmanifestation übt die Erkrankung einen erheblichen Einfluss auf die weitere Lebensqualität und -planung der Patienten aus [20]. Die Angaben zur Prävalenz schwanken aufgrund von ethnischen und regionalen Faktoren erheblich. Die Spanne reicht von 50 bis 600/100.000 Einwohner innerhalb der Normalbevölkerung [6, 18]. Die Inzidenzrate des Keratokonus liegt bei 1–2/100.000 Einwohner [18]. Damit ist allein für Deutschland mit etwas 1000 Neuerkrankungen pro Jahr zu rechnen.

Da es sich um eine progredient verlaufende Hornhauterkrankung handelt, sind regelmäßige Verlaufskontrollen beim Augenarzt unerlässlich. Neben auffälligen Refraktionswerten manifestiert sich das Krankheitsbild klinisch mit den typischen biomikroskopischen Befunden der Hornhaut wie Vogt-Linien, einem Fleischer-Ring und der bereits erwähnten Stromaverdünnung. Im Extremfall kann es zu einem akuten kornealen Hydrops

mit anschließender Hornhautnarbenbildung kommen.

Als einziger Risikofaktor in der Entstehung eines Keratokonus bei Patienten mit einer entsprechenden genetischen Prädisposition bestätigte sich bislang lediglich intensives Augenreiben [33]. Ein erhöhtes Progressionsrisiko für das Krankheitsbild Keratokonus liegt hingegen bei Patienten mit jungem Lebensalter, steilen Hornhauradien, hohem Hornhaut-Astigmatismus und einer dokumentierten Progression am Partneraugen vor [34].

Der Goldstandard zur Diagnostik des Keratokonus ist die Hornhauttopographie. Zusätzliche Informationen liefern eine regelmäßige Überprüfung der Refraktion, die Tomographie des vorderen Augenabschnitts und die Aberrometrie. Auch eine Messung in vivo der kornealen Biomechanik [10] trägt zu Früherkennung des Keratokonus bei.

### Therapie

Der Krankheitsverlauf beim Keratokonus ist sehr variabel und beeinflusst die Entscheidung in Bezug auf die richtige Behandlungsstrategie. Mit der stadiengerechten Therapie beschäftigte sich bereits die Arbeitsgruppe um Seitz ausführlich und veröffentlichte dazu im letzten Jahr einen Übersichtsartikel [11].

Ein international anerkanntes Therapieregime in der Behandlung des progressiv verlaufenden Keratokonus ist die Hornhautkollagenvernetzung, auch „corneal collagen cross-linking“ (CXL) ge-

nannt. Dieses Verfahren wird eingesetzt, um ein Fortschreiten des Keratokonus zu verzögern oder sogar zum Stillstand zu bringen. Die Notwendigkeit einer lamellären oder perforierenden Keratoplastik kann reduziert werden.

Spörl und Mitarbeiter untersuchten als erste Arbeitsgruppe die Auswirkungen des CXL auf das Hornhautgewebe [31, 37]. Das Wirkprinzip der Hornhautkollagenvernetzung beruht demnach auf zwei Prozessen, die innerhalb des Hornhautstromas angeregt werden. Zum einen kommt es zu einer photochemischen Reaktion von Riboflavin-Lösung (Vitamin B2) und UVA-Licht im Hornhautstroma, wodurch freie Sauerstoffradikale entstehen. Eine anschließende Untersuchung der vernetzten Hornhäute in tierexperimentellen Studien mit dem konfokalen Mikroskop konnte als Folge der photochemischen Reaktion deutlich mehr Quervernetzungen im Kollagengerüst, die Bildung besser strukturierter Kollagene und zusätzliche kovalente Bindungen zwischen den Kollagenfasern nachweisen [22, 23]. Das Ergebnis ist eine Verfestigung der stromalen Kollagenfasern. Des Weiteren werden enzymatische Aktivitäten in der extrazellulären Kollagenmatrix im Sinne einer erhöhten Widerstandskraft gegen enzymvermittelte Abbauprozesse beeinflusst [32], was zu einer Verbesserung der biomechanischen und biochemischen Eigen-

Manuskript zum Postervortrag, gehalten auf der Tagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft 2013.

schaften der Hornhaut führt. Der zweite Wirkungsprozess läuft auf zellulärer Ebene ab. Die Hornhautkollagenvernetzung verursacht einen Untergang der Keratozyten [38]. In der postoperativen Heilungsphase werden diese abgebaut. Neue Keratozyten mit einem gesunden Stoffwechsel von peripheren Hornhautanteilen können in den vernetzten Bereich migrieren. Ein Strahldurchmesser von 8 mm garantiert dabei, dass die Peripherie der Hornhaut und die dort lokalisierten limbalen Hornhautstammzellen nicht durch die Vernetzung beeinflusst werden [32].

Sowohl die photochemische als auch die zelluläre Reaktion laufen unter Verwendung der Standardparameter für das UVA-Licht von 370 nm Wellenlänge und einer Energie von  $3 \text{ mW/cm}^2$  sowie einem Strahldurchmesser von 8 mm ausschließlich im vorderen Teil der Hornhaut ab. Eine Erklärung dafür ist, dass in den ersten 300  $\mu\text{m}$  der Hornhaut bereits 70% der UVA-Strahlung durch das Riboflavin absorbiert werden [32]. Tiefere Zellschichten bleiben aufgrund einer abnehmenden Bestrahlungsenergie und deutlich geringeren Produktion freier Sauerstoffradikale von den toxischen Effekten der Behandlung unbeeinflusst. Ein wichtiges Einschlusskriterium ist demzufolge eine präoperative Hornhautdicke nach Deepithelialisierung von mindestens 400  $\mu\text{m}$ , auf das streng zu achten ist [30].

Seit dem Jahr 1998 wird das Verfahren der Hornhautkollagenvernetzung an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus Dresden an der Technischen Universität Dresden zur Behandlung des progressiven Keratokonus eingesetzt. Das therapeutische Potenzial der Methode wurde bereits in einer klinischen Pilotstudie [36], einer unkontrollierten retrospektiven Studie [29] und einer retrospektiv kontrollierten Studie publiziert [8]. Auch zwei randomisierte kontrollierte Studien dazu wurde von Wittig-Silva et al. [35] und O'Brart et al. [26] veröffentlicht und bestätigten die Effektivität der Behandlung.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, ob sich bei jungen, sonst gesunden Patienten mit progressivem Keratokonus mindestens 10 Jahre nach Riboflavin-UVA-Therapie eine

dauerhafte Stabilisierung der Erkrankung nachweisen lässt. Des Weiteren war von Interesse, ob das Verfahren sicher ist und ob es zu relevanten Spätkomplikationen kommt.

## Methode und Studiendesign

In allen Fällen erfolgte die Behandlung ambulant an der Klinik der Autoren. Das Standardprotokoll zum klassischen „corneal crosslinking“ gab folgenden Ablauf vor. Nach topischer Anästhesie (Proparacain-AT) und zentraler Epithelentfernung auf einer Fläche von 9 mm wurde das Hornhautstroma mit 0,1% Riboflavin-Lösung, die neben Riboflavin zusätzlich 20% Dextran enthielt, gesättigt. Dazu wurde diese über eine halbe Stunde jeweils zweiminütlich appliziert. Anschließend erfolgte unter weiterer Gabe von Riboflavin-Lösung eine 30-minütige Bestrahlung mit UVA-Licht (370 nm,  $3 \text{ mW/cm}^2$ , Strahldurchmesser 8 mm). Als Nachbehandlung hatte sich im Laufe der Studie eine Therapie mit weichen Verbandslinsen und antibiotischen Augentropfen sowie nach Epithelialisierung der Hornhaut eine Weiterbehandlung mit steroidhaltigen Augentropfen bewährt.

In die von der zuständigen Ethikkommission genehmigte, retrospektive, nicht-randomisierte Analyse wurden 30 Augen von 20 Patienten mit Keratokonus eingeschlossen. Die Indikation zur Hornhautvernetzung wurde bei allen Patienten aufgrund einer Progressionsrate der Erkrankung im Sinne einer Zunahme der maximalen Hornhautbrechkraft ( $K_{\text{MAX}}$ ) und der Hornhautbrechkraft am Apex des Keratokonus ( $K_{\text{Apex}}$ ) in der Hornhauttopographie um mindestens 1 dpt innerhalb der letzten 6–12 Monate vor Behandlung gestellt. Des Weiteren galt als Progressionskriterium eine hornhautabhängige Visusverschlechterung von mehr als einer Zeile innerhalb der letzten 6–12 Monate. Klinisch signifikant geänderte Brillen- oder Kontaktlinsenwerte bzw. eine Hornhautdickenabnahme innerhalb von 2 Jahren bewerteten die Autoren als Risikofaktor, nicht jedoch als Operationskriterium, für ein erhöhtes Progressionspotenzial der Erkrankung.

Alle Patienten wurden über die Studie aufgeklärt und gaben ihr Einverständnis.

Die Parameter Hornhautdicke (HHD: zuletzt Pentacam Oculus®), Hornhautbrechkraft ( $K_{\text{MAX}}$ ,  $K_{\text{MIN}}$ ,  $K_{\text{Apex}}$ ) und -astigmatismus aus der Topographie in der zentralen 3-mm-Zone (Keratometer TECHNO MED) sowie bestkorrigierter Visus in logMAR wurden präoperativ sowie mindestens 10 Jahre postoperativ im Rahmen einer klinischen Routineuntersuchung erhoben und statistisch ausgewertet.

Der Visus wurde bei allen Patienten brillenkorrigiert erfasst. Kontaktlinsen trugen 1/3 aller Teilnehmer. Bei diesen Patienten wurde neben dem brillenkorrigierten Visus zusätzlich der Visus kontaktlinsenkorrigiert dokumentiert. Zudem erfolgte eine Untersuchung mittels Spaltlampenmikroskop und – wenn möglich – die Messung der Endothelzellzahl (Konfokalmikroskopie EM-1200, später Laserscanning-Konfokalmikroskop der Firma NIDEK).

Die statistische Analyse erfolgte mittels eines gemischten Modells. Als Statistiksoftware wurde SPSS verwendet (Version 21, SPSS GmbH Software, München, Deutschland).

## Ergebnisse

Insgesamt wurden in einem Zeitraum von Juli 1998 bis Mai 2003 38 Patienten mit progressivem Keratokonus an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus Dresden an der Technischen Universität Dresden mittels eines Riboflavin-UVA-Crosslinking entsprechend dem Standardprotokoll behandelt. Davon kamen 8 Patienten aufgrund eines unvollständigen Datensatzes in der Baseline-Visite bzw. bei fehlender Einverständniserklärung zur Studienteilnahme von vornherein für die Studie nicht infrage. Zwei weitere Patienten erwiesen sich bei bekanntem Down-Syndrom und einer mangelnden Mitarbeit in den Untersuchungen als ungeeignet. Die verbliebenen 28 Probanden mit vollständigem Datensatz aus der Baseline-Visite wurden angeschrieben und zur 10-Jahres-Follow-up-Visite einbestellt. Insgesamt erschienen acht Teilnehmer nicht zum vereinbarten Termin (27%), 6 davon unentschuldig. Die Auswertung erfolgte somit an 30 Augen von

A. Theuring · E. Spoerl · L.E. Pillunat · F. Raiskup

**Hornhautkollagenvernetzung mit Riboflavin und UVA-Licht bei Patienten mit progressivem Keratokonus. 10-Jahres-Ergebnisse****Zusammenfassung**

**Hintergrund/Fragestellung.** Die Hornhautkollagenvernetzung mittels Riboflavin-Lösung und UVA-Licht (CXL) stellt eine vielversprechende Therapieoption in der Behandlung des Keratokonus dar, um ein Fortschreiten der Erkrankung zu verhindern. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, ob sich bei jungen, sonst gesunden Patienten mit progressivem Keratokonus und einer Hornhautdicke von mindestens 400 µm 10 Jahre nach Riboflavin-UVA-Therapie eine dauerhafte Stabilisierung der Erkrankung nachweisen lässt.

**Methode.** Die Hornhautvernetzung erfolgte nach zentraler Epithelentfernung mittels Applikation einer 0,1% Riboflavin-Lösung 30 min vor und während einer anschließenden 30-minütigen Bestrahlung mit UVA-Licht (370 nm, 3 mW/cm<sup>2</sup>). Es gingen 30 Augen von 20 Patienten mit progressivem Keratokonus in die retrospektive Analyse ein. Die Parameter bestkorrigierter Visus (BCVA), Hornhauttopographie (Keratometriewerte:  $K_{MAX}$ ,  $K_{MIN}$ ,  $K_{Apex}$ ), Hornhautdicke (HHD)

und – wenn verfügbar – die Endothelzellzahl wurden präoperativ sowie im Mittel 10 Jahre nach Operation erhoben und statistisch ausgewertet.

**Ergebnisse.** Das mittlere Lebensalter der Patienten betrug zum Operationszeitpunkt  $28 \pm 7$  Jahre (Spanne 14–41 Jahre). Es waren 4 weibliche (7 Augen) und 16 männliche Patienten (23 Augen). Der mittlere präoperative K-Wert am Apex des Keratokonus lag bei  $62 \pm 13,2$  dpt und verringerte sich nach 10 Jahren statistisch signifikant auf  $55 \pm 8,1$  dpt ( $p=0,001$ ). Die Mittelwerte für  $K_{MAX}$  ( $53 \pm 8,2$  vs.  $49 \pm 6,6$  dpt) und  $K_{MIN}$  ( $48 \pm 5,5$  vs.  $45 \pm 5,1$  dpt) nahmen auch signifikant ab ( $p=0,001$ ). Der Vergleich des prä- und postoperativen bestkorrigierten Visus ergab ebenfalls einen statistisch signifikanten Unterschied ( $p=0,005$ ). Der mittlere Visus verbesserte sich um  $-0,13 \pm 0,25$  logMAR. Die Differenz zwischen prä- und postoperativer Hornhautdicke nach 10-jährigem Follow-up betrug 46 µm ( $p=0,001$ ), wobei ein Bias durch den Wechsel des Messverfahrens von

ultraschallgestützter auf optische Pachymetrie mittels Oculus Pentacam® möglicherweise ursächlich ist. Die Endothelzellzahl als auch tiefere Strukturen blieben von der Behandlung mittels CXL unbeeinflusst. Lediglich zwei Patienten benötigten aufgrund einer weiteren Progression der Erkrankung eine erneute Vernetzung.

**Schlussfolgerung.** Die Hornhautkollagenvernetzung mit Riboflavin-Lösung und UVA-Licht ist ein vielversprechendes therapeutisches Verfahren in der Behandlung des progressiven Keratokonus, um eine langfristige Stabilisierung der Erkrankung zu erzielen. Die Patienten wiesen 10 Jahre nach Behandlung eine dauerhafte Verbesserung der K-Werte und des BCVA auf. CXL ist ein minimalinvasives, einfach zu handhabendes Verfahren mit einem guten Sicherheitsprofil.

**Schlüsselwörter**

Krankheitsfortschritt · Crosslinking · Minimalinvasives Verfahren · Hornhaut · Therapie

**Corneal collagen cross-linking with riboflavin and ultraviolet-A light in progressive keratoconus. Results after 10-year follow-up****Abstract**

**Purpose.** Riboflavin and ultraviolet-A induced cross-linking (CXL) is a promising therapeutic option to halt the progression of keratoconus. The aim of the study was to prove a long-term stabilizing effect of riboflavin and ultraviolet-A induced collagen CXL in young and otherwise healthy patients with progressive keratoconus and a corneal thickness of at least 400 µm on average 10 years after treatment.

**Methods.** Corneal CXL was performed after removing epithelial tissue by instilling riboflavin 0.1% solution for 30 min before and during 30 min of ultraviolet-A irradiation (370 nm, 3 mW/cm<sup>2</sup>). This long-term retrospective study included 30 eyes of 20 patients with progressive keratoconus. Preoperative and postoperative examinations on average 10 years after treatment included best corrected visual acuity (BCVA), corneal topography (keratometry values  $K_{MAX}$ ,  $K_{MIN}$  and

$K_{Apex}$ ), corneal thickness (CT) and if available endothelial cell density.

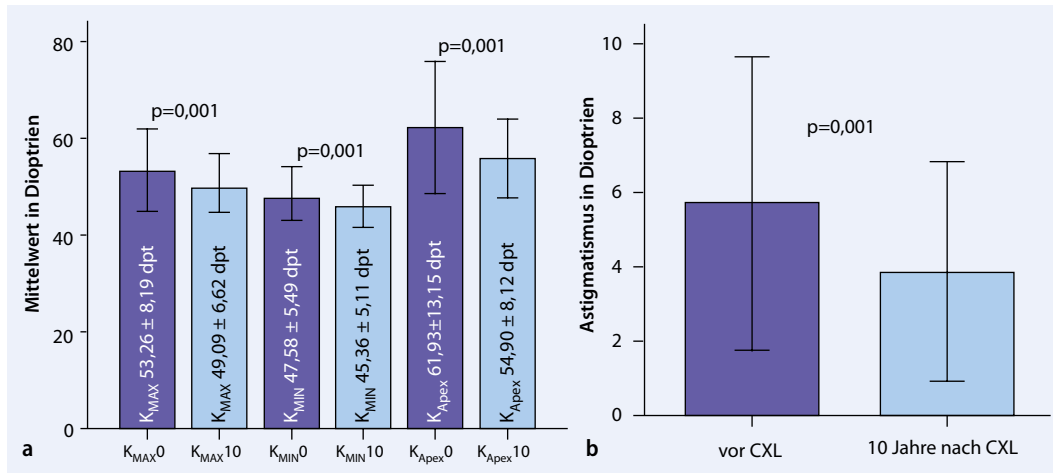
**Results.** The mean preoperative age was  $28 \pm 7$  years (range 14–42 years), 4 patients were female (7 eyes) and 16 patients (23 eyes) were male. Preoperatively, the mean K-value on the apex of keratoconus was  $62 \pm 13.2$  dpt which showed a statistically significant reduction after 10 years to  $55 \pm 8.1$  dpt ( $p=0.001$ ). The mean  $K_{MAX}$  ( $53 \pm 8.2$  versus  $49 \pm 6.6$  dpt) and  $K_{MIN}$  values ( $48 \pm 5.5$  vs.  $45 \pm 5.1$  dpt) also showed a statistically significant decrease ( $p=0.001$ ). In comparison BCVA also showed a statistically significant preoperative and postoperative difference ( $p=0.005$ ). There was a significant improvement of BCVA by a mean of  $-0.13 \pm 0.25$  logMAR. The mean change in corneal thickness at the 10-year follow up was 46 µm ( $p=0.001$ ). Bias possibly occurred because of a change of the measurement method from

ultrasound pachymetry to optical pachymetry with Oculus Pentacam®. Neither corneal endothelium nor deeper structures suffered any damage. Only two patients had continuous progression of keratoconus and needed a reapplication of CXL.

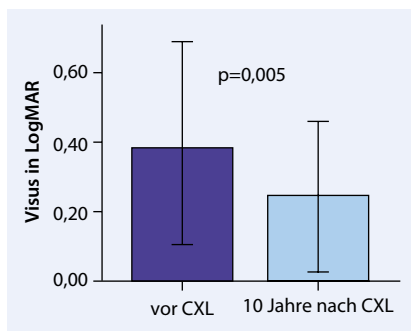
**Conclusion.** The results of this study indicate that riboflavin and ultraviolet-A induced corneal CXL is a promising therapeutic option for progressing keratoconus to obtain long-term stabilization. There was a sustained improvement of all K-values and BCVA 10 years after treatment and CXL is minimally invasive and easy to handle. Side effects, such as endothelial damage did not occur.

**Keywords**

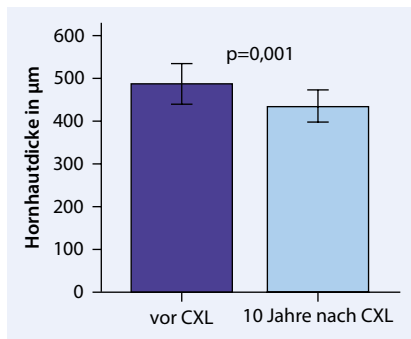
Disease progression · Cross-linking · Cornea · Minimally invasive procedure · Therapy



**Abb. 1** **a** Maximale und minimale K-Werte, K-Werte am Apex des Keratokonus präoperativ, >10 Jahre postoperativ nach CXL, **b** Hornhautastigmatismus präoperativ ( $5,68 \pm 3,83$  dpt), >10 Jahre postoperativ nach CXL ( $3,75 \pm 2,99$  dpt)



**Abb. 2** **a** Visus präoperativ ( $0,38 \pm 0,29$  logMAR), >10 Jahre postoperativ nach CXL ( $0,25 \pm 0,21$  logMAR)



**Abb. 3** **a** Hornhautdicke an der dünnsten Stelle präoperativ ( $482 \pm 46$   $\mu\text{m}$ ), >10 Jahre postoperativ nach CXL ( $436 \pm 39$   $\mu\text{m}$ )

20 Patienten und einer mittleren Nachbeobachtungszeit von 11 Jahren.

Bekannt ist, dass die Erkrankung häufig bereits in der Pubertät bzw. im frühen Erwachsenenalter beginnt. Dieser Fakt spiegelt sich auch im Patientenkollektiv wider. Das mittlere Lebensalter zum Operationszeitpunkt betrug 28 Jahre (14–41 Jahre). Männer sind zudem häufiger von einem Keratokonus betroffen als Frauen. Mit 80% überweg auch in der

vorliegenden Studie der Anteil an männlichen Teilnehmern deutlich gegenüber den weiblichen Teilnehmern. Zum Behandlungszeitpunkt hatten 13% der Patienten bereits ein fortgeschrittenes Stadium des Keratokonus mit einer Hornhautnarbenbildung. Der Visus dieser Patienten war allerdings noch gut.

Die maximale und minimale Hornhautbrechkraft sowie die Brechkraft am Apex des Keratokonus verringerte sich nach mindestens 10 Jahren Nachbeobachtungszeit statistisch signifikant (**Abb. 1a**). Der aus der Hornhautbrechkraft resultierende Hornhautastigmatismus wurde ebenfalls signifikant von 5,7 dpt auf 3,8 dpt reduziert (**Abb. 1b**).

Lediglich 2 Patienten benötigten 5 bzw. 10 Jahre postoperativ eine erneute Hornhautkollagenvernetzung. Im ersten Fall kam es sowohl zu einer Zunahme der K-Werte als auch zu einer weiteren Visusverschlechterung. Im zweiten Fall trat trotz initialer Visusverbesserung eine weitere Zunahme der K-Werte auf.

Auch der mittlere bestkorrigierte Visus verbesserte sich signifikant um 0,13 logMAR-Stufen ( $p=0,005$ ) (**Abb. 2**). Er lag präoperativ im Mittel bei  $0,38 \pm 0,29$  logMAR. Postoperativ betrug der bestkorrigierte Visus  $0,25 \pm 0,21$  logMAR. Postoperativ nutzten 30% der Studienteilnehmer weiterhin formstabile Kontaktlinsen. Bei zwei Dritteln dieser Kontaktlinsenträger ergab sich durch das Tragen der Kontaktlinsen tendenziell ein noch besserer Visus als bestkorrigiert mit Brillengläsern.

Die Differenz zwischen präoperativer und postoperativer Hornhautdicke nach 10-jährigem Follow-up betrug 46  $\mu\text{m}$

( $p=0,001$ ), wobei ein Bias durch den Wechsel des Messverfahrens von ultraschallgestützter auf optische Pachymetrie diesen Unterschied hervorgerufen haben kann. Im Mittel betrug die Hornhautdicke zum Operationszeitpunkt  $482 \pm 46$   $\mu\text{m}$ , was eine sichere Anwendung des epi-off-CXL nach dem Standardprotokoll ermöglichte (**Abb. 3**).

Relevante Komplikationen wie eine ausbleibende Reepithelialisierung, schwere Oberflächenbenetzungsstörungen, Limbusstammzellinsuffizienz bzw. Linsentrübungen waren im Rahmen der 10-Jahres-Verlaufskontrolle nicht zu beobachten. Bei einem von 30 Augen entwickelte sich postoperativ eine dauerhafte und damit visuslimitierende stromale Hornhautnarbe (3%). Prädisponierende Faktoren wie präoperativ hohe Keratometrie- oder eine niedrigere Hornhautdicke lagen bei diesem Patienten nicht vor. Ein persistierendes Haze im vorderen Stroma, bis auf eine Ausnahme ohne Einfluss auf den bestkorrigierten Visus, wurden in 33% der Fälle im Rahmen der 10-Jahres-Visite beobachtet.

Im Langzeitverlauf konnte kein Effekt des CXL auf die Hornhautendothelzellen festgestellt werden. Klinisch traten zu keinem Zeitpunkt Zeichen einer Endotheldekompensation auf. Im Mittel betrug die Endothelzellzahl vor der Behandlung 2214 Zellen/ $\text{mm}^2$ . Im Vergleich dazu ermittelten die Autoren postoperativ sogar eine höhere Endothelzellzahl von 2831 Zellen/ $\text{mm}^2$ . Da eine Zunahme der Endothelzellen im Verlauf unwahrscheinlich ist, lässt sich der ermittelte Bias am ehesten auf den Wechsel des Messgeräts

hin zu einem genaueren Laserscanning-Konfokalmikroskop zurückführen.

## Diskussion

Die genaue Pathogenese des Keratokonus ist noch ungeklärt. Nachgewiesen ist jedoch, dass es bei diesem Krankheitsbild zu Umbauprozessen des kornealen Stromas und einer nachfolgenden Veränderung der biomechanischen und biochemischen Eigenschaften kommt [1, 2, 14]. Bisherige Therapiekonzepte wie eine Brillenkorrektur, die Anpassung formstabiler Kontaktlinsen, intrakorneale Ringimplantate oder eine Epikeratophakie zielten jeweils nur auf eine symptomatische Therapie ab und dienten der vorübergehenden Visusverbesserung. Die Hornhauttransplantation stellte lange Zeit das einzig effektive Therapiekonzept bei Voranschreiten der Krankheit dar.

Mit dem Verfahren der Hornhautkollagenvernetzung wurde eine weniger invasive Behandlungsoption entwickelt, um ein Fortschreiten des Krankheitsprozesses zu verhindern. Seit über 10 Jahren wird das Verfahren der Hornhautkollagenvernetzung an der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Carl Gustav Carus Dresden zur Behandlung des progressiven Keratokonus eingesetzt [31].

Einen ersten Hinweis auf die Effektivität der Behandlung lieferte eine klinische Pilotstudie von Wollensak et al. im Jahr 2003 [36]. Die Autoren konnten bei 16 von 22 behandelten Augen und einer Nachbeobachtungszeit von 3 Monaten bis 4 Jahren nach Therapie eine Reduktion der maximalen Hornhautbrechkraft, angegeben als K-Wert, um durchschnittlich 2,01 dpt feststellen. Die Arbeitsgruppe um Caporossi [7] ermittelte bei 10 Patienten mit Zustand nach CXL und einem Zeitfenster von 6 Monaten eine ähnliche Regressionsrate des mittleren K-Werts in den zentralen 3 mm der Hornhaut von 2,1 dpt. Diese Daten wurden im Jahr 2006 veröffentlicht [7].

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit belegen auch im Langzeitverlauf nach über 10 Jahren, dass die Hornhautkollagenvernetzung in der Lage ist, eine dauerhafte Stabilisierung der Erkrankung bei Patienten mit progressivem Kerato-

konus zu erreichen. Die maximale und minimale Hornhautbrechkraft sowie die Hornhautbrechkraft am Apex des Keratokonus verringerten sich in der hier beschriebenen Studienpopulation statistisch signifikant. Damit bestätigten sich die Ergebnisse einer bereits im Jahr 2008 veröffentlichten größeren Fallserie unserer Klinik von Raiskup et al. [29] mit einer Nachbeobachtungszeit zwischen 3 bis 6 Jahren an insgesamt 241 Augen von Keratokonuspatienten. In dieser unkontrollierten, retrospektiv angelegten Studie konnte ebenfalls eine statistisch signifikante Verbesserung des Hornhautastigmatismus, bestkorrigierten Visus und der maximalen Keratometriewerte nachgewiesen werden. Der Visus steigerte sich in der vorliegenden Arbeit signifikant um 0,13-logMAR-Stufen. Der Visusanstieg nach Vernetzung lässt sich zum einen auf die Verringerung des Hornhautastigmatismus und der Hornhautverkrümmung und zum anderen auf einen besseren Sitz der formstabilen Kontaktlinsen durch die Regularisierung der Hornhautoberfläche zurückführen. Von den Studienteilnehmern mit formstabilen Kontaktlinsen erreichten 2/3 im Vergleich zum präoperativen und postoperativen bestkorrigierten Visus mit Brillenkorrektur unter Verwendung der formstabilen Kontaktlinsen einen weiteren Visusgewinn von 1–2 Stufen gemessen in logMAR.

Einer Vielzahl weiterer Fallserien, wie die Langzeitergebnisse der „Siena Eye Cross Study“, lieferten ebenfalls Hinweise für die Effektivität der Hornhautkollagenvernetzung bei einer vergleichbar niedrigen Komplikationsrate. Caporossi et al. [8] schlossen dafür in ihrer prospektiv angelegten, nichtrandomisierten Studie 44 Augen von 44 Patienten mit progressivem Keratokonus ein. Die mittlere Nachbeobachtungszeit betrug 52 Monate. Die Patienten absolvierten prä- und postoperativ neben der Visusprüfung, unkorrigiert und bestkorrigiert, Untersuchungen zur Endothelzellzahl, Hornhautdicke, Hornhautkeratometrie, -aberrometrie, Tomographie des vorderen und hinteren Augenabschnitts (OCT) sowie eine konfokale Mikroskopie (HRT). Im Gegensatz zum unbehandelten Partnerauge, das eine Progressionsrate der Hornhautbrechkraft von im Mittel 1,5 dpt innerhalb

von 24 Monaten aufwies, zeigte sich nach Hornhautkollagenvernetzung am behandelten Auge eine dauerhafte Stabilisierung des Keratokonus. Die mittlere Hornhautbrechkraft, angegeben als K-Wert, reduzierte sich statistisch signifikant um 2 dpt und der bestkorrigierte Visus verbesserte sich um 1,9 Zeilen nach Snellen [8].

Andere Autoren wie Koller et al. [19] wiesen hingegen darauf hin, dass die Hornhautkollagenvernetzung nicht für jeden Patienten das Mittel der Wahl zu sein scheint. In ihren Untersuchungen an 117 Augen mit progressiver Keratektasie kam es bei 7,6% der Patienten innerhalb eines Jahres trotz Behandlung zu einer Progression der Erkrankung. Als ein signifikanter Risikofaktor für das Versagen des CXL bei diesen Studienteilnehmern konnte ein präoperativ hoher maximaler Keratometriewert (K-Wert) in der Hornhauttopographie ausgemacht werden. Koller et al. [19] sprachen sich daher für strengere Einschlusskriterien aus und empfahlen, die Behandlung mittels Hornhautkollagenvernetzung auf Patienten mit einem maximalen Keratometriewert von <58 dpt zu beschränken.

Eine Arbeitsgruppe aus Freiburg machte in einer randomisierten, placebo-kontrollierten, doppelt verblindeten Multicenterstudie an 30 Augen von 30 Patienten mit einem frühen progressiven Keratokonus ebenfalls die Beobachtung, dass es bei einigen ihrer Patienten trotz der Behandlung mittels CXL zu einem Fortschreiten der Erkrankung kommt [21].

In der vorliegenden Arbeit wurde lediglich bei zwei Patienten eine wiederholte Anwendung des CXL bei einer weiteren Progression der Erkrankung nach 5 bzw. 10 Jahren erforderlich. Anschließend kam es zu einer Stabilisierung der hornhauttopographisch ermittelten K-Werte. In beiden Fällen lag zum Operationszeitpunkt als prädisponierender Faktor ein maximaler Keratometriewert >58 dpt sowie eine dünne zentrale Hornhaut mit einer Dicke von  $400 \pm 20 \mu\text{m}$  vor. Weitere Risikofaktoren wie eine systemische Erkrankung oder das Vorliegen einer Atopie bestanden nicht.

Zwei weitere randomisierte, kontrollierte Studien der Arbeitsgruppen um Wittig-Silva und O'Brart bescheinigten der Hornhautkollagenvernetzung ana-

log zu unseren Beobachtungen, dass das Progressionsrisiko eines Keratokonus signifikant reduziert werden kann [26, 35]. In der ersten Studie aus Australien wurden insgesamt 94 Augen mit progressivem Keratokonus eingeschlossen und entweder der Behandlungsgruppe oder der Kontrollgruppe randomisiert zugeordnet. Nach 36 Monaten resultierte eine Reduktion des maximalen K-Werts in der Behandlungsgruppe um  $-1,03 \pm 0,19$  dpt wohingegen sich in der Kontrollgruppe eine weitere Progression des K-Werts um  $1,75 \pm 0,38$  dpt abzeichnete [35]. An der zweiten randomisierten Studie von O'Brart et al. nahmen 22 Patienten mit beidäugigem Keratokonus teil, wobei ein Auge der Kontrollgruppe und das andere der Behandlungsgruppe zugeordnet wurde. Die Behandlungsgruppe wies 18 Monate nach Therapie eine Abnahme der mittleren K-Werte um 0,6 dpt und somit eine leichte Verbesserung des Befunds auf. In der Kontrollgruppe kam es bei stabilen K-Werten nicht zu einer Progression des Krankheitsbildes, was die Aussagekraft der Studie wieder einschränkt [26]. Ein Kritikpunkt an beiden Untersuchungen, auf den Maier et al. [21] in ihrem Übersichtsartikel aus dem Jahr 2013 hinwies, ist, dass in beiden randomisierten Arbeiten keine Scheinbehandlung stattfand und somit der Effekt der alleinigen Abrasio corneae auf die Progression des Keratokonus unberücksichtigt bleibt. Limitierungen der vorliegenden Arbeit liegen ebenfalls im gewählten Studiendesign mit einem nichtrandomisierten retrospektiven Aufbau ohne Kontrollgruppe sowie der geringen Fallzahl. Zudem wurden Augen und nicht Patienten eingeschlossen, sodass individuelle, patientenspezifische Aspekte als Fehlerquellen denkbar sind.

Hinsichtlich der Indikationsstellung zum CXL sollte berücksichtigt werden, dass das Verfahren Einschränkungen unterliegt. Als Voraussetzung für das klassische Behandlungsprotokoll gilt neben der bereits erwähnten Empfehlung von Koller et al. [19] zur maximalen Hornhautbrechkraft, dass die Hornhautdicke nach Epithelentfernung mindestens 400  $\mu\text{m}$  betragen muss. Andernfalls kann es zu einer schädigenden Wirkung für das Hornhautendothel kommen. Her-

vorgerufen wird der toxische Effekt durch eine unzureichende Absorption des energiereichen UVA-Lichts sowie eine zu hohe Konzentration an freien Sauerstoffradikalen in den tieferen Hornhautschichten [30]. In der vorliegenden Arbeit betrug die Hornhautdicke zum Operationszeitpunkt im Mittel  $482 \pm 46$   $\mu\text{m}$  und erfüllte dieses Kriterium. Erwartungsgemäß konnte nach dem 10-jährigen Follow-up kein Effekt des CXL auf die Endothelzellen festgestellt werden. Aufgrund des retrospektiven Studiendesigns stand eine Endothelzellzahlmessung zu Beginn der Datenerfassung allerdings nicht bei allen Studienteilnehmern zur Verfügung. Die statistische Analyse der Patienten, bei denen die Messung prä- als auch 10 Jahre postoperativ stattfand, ergab eine stabile bzw. statistisch signifikant höhere Endothelzellzahl im Vergleich zum Ausgangswert. Da eine Zunahme der Endothelzellen im Verlauf unwahrscheinlich ist, lässt sich der ermittelte Bias am ehesten auf den Wechsel des Messgeräts hin zu einem genaueren Laserscanning-Konfokalmikroskop sowie auf eine relativ hohe Messgenauigkeit beider Geräte zurückführen (Standardabweichung  $>10\%$ ). Nur bei einem Patienten kam es zu einem geringen Verlust der Endothelzellen von 2,2% innerhalb der 10 Jahre. Wittig-Silva et al. [35] ermittelten ebenfalls keinen statistisch signifikanten Unterschied in der Endothelzellzahl 3 Jahre nach Hornhautkollagenvernetzung in ihrer randomisiert, prospektiv angelegten Studie. Die Verlustrate betrug 1,4%/3 Jahre. In der Literatur wird der physiologische Rückgang an Endothelzellen pro Jahr bei gesunden Hornhäuten und Hornhäuten mit beginnender Fuchsscher Endotheldystrophie mit einer Rate von 0,44–0,6% angegeben [5, 13, 25]. Auf 10 Jahre hochgerechnet lagen sowohl die hier vorliegenden Ergebnisse als auch die Ergebnisse von Wittig-Silva und Mitarbeiter im Bereich eines physiologischen Endothelzellschwunds von  $\leq 6\%$ . Die Ergebnisse zur Endothelzellreduktion nach CXL sind ebenfalls mit Angaben zu einer Endothelzellabnahme nach Laser-in-situ-Keratomileusis (LASIK) bzw. photorefraktiver Keratektomie (PRK) vergleichbar [16, 17]. Im Anschluss an eine LASIK wird in der Literatur über eine Verlustrate von 1,2% der Endothelzellen nach 5 Jah-

ren, für die PRK von 1,6% nach 4-jährigem Follow-up berichtet.

Des Weiteren ist bekannt, dass die Progression des Keratokonus stark altersabhängig ist [24]. In einer Studie von Caporossi et al. [9] profitierten Teilnehmer mit einem Lebensalter  $<19$  Jahren am stärksten von der Hornhautkollagenvernetzung. Es kam 48 Monate postoperativ zu einer Abnahme der maximalen K-Werte um 0,9 dpt. Im Gegensatz dazu wiesen die über 26-Jährigen lediglich eine Reduktion des maximalen K-Werts um 0,5 dpt auf.

Da es nach einem CXL zu Komplikationen kommen kann, sollte lediglich bei sicherem Nachweis eines Fortschreitens der Erkrankung behandelt werden. Insgesamt wird allerdings in der Literatur nur über wenige Komplikationen berichtet. Treten sie auf, so handelt es sich entweder um temporäre Komplikationen wie Wundheilungsstörungen, infektiöse oder nichtinfektiöse Keratitiden [3], um dauerhafte Komplikationen wie eine Hornhautnarbenbildung mit irreversibler Visusverschlechterung oder um schwere Komplikationen wie eine Hornhauteinschmelzung. In der vorliegenden Arbeit kam es lediglich bei einem Patienten postoperativ zu einer visuslimitierenden stromalen Narbenbildung (3%). Analog dazu trat in einer Untersuchung von Koller et al. an einem Patientenkollektiv von 117 Teilnehmern 12 Monate nach CXL ebenfalls in 2,8% der Fälle eine dauerhafte Narbenbildung der Hornhaut auf. In einer vorausgegangen Studie unserer Klinik wurde an einem etwas größeren Patientenkollektiv von 163 mit CXL behandelten Augen und einem Follow-up von 12 Monaten ein etwas höherer prozentualer Anteil an Studienteilnehmern mit persistierenden, visusmindernden stromalen Narben (8,6%) beobachtet [27]. Ein erhöhtes Risiko für eine Narbenbildung bestand v. a. bei Patienten mit präoperativ sehr hohen Keratometriewerten am Apex der Keratokonus sowie dünneren Hornhäuten. Diese Kriterien treffen am ehesten auf Teilnehmer in einem fortgeschrittenen Stadium des Keratokonus zu. Gerade Patienten mit einem fortgeschrittenen Stadium weisen mit formstabilen Kontaktlinsen allerdings häufig noch einen guten Visus auf. Die Indikation zum CXL entsprechend des Standardprotokolls sollte somit streng gestellt

werden. In der vorliegenden Studie wurde bei 2 Patienten mit einem fortgeschrittenen Stadium des Keratokonus trotz der Behandlung eine Verschlechterung des bestkorrigierten Visus um 1–2 Zeilen bei hohem K-Werte und dünnen Hornhäuten präoperativ beobachtet. Eine Narbenbildung trat nicht auf.

Die Arbeitsgruppe um Koller fand des Weiteren heraus, dass ein Patientenalter >35 Jahre sowie ein präoperativer bestkorrigierter Visus >20/25 mit einem signifikant erhöhten Risiko für Komplikationen assoziiert war [19]. Bei unserem Studienteilnehmer lag präoperativ keiner der oben aufgeführten Risikofaktoren vor.

Neben der einmaligen visuslimitierenden Narbenbildung wurden in der vorliegenden Arbeit zusätzlich bei weiteren 33% der Studienteilnehmern persistierende zarte subepitheliale Trübungen im Sinne eines Haze im vorderen Stroma beobachtet, ohne dass bis auf eine Ausnahme daraus eine signifikante Visusreduktion resultierte. Andere relevante temporäre bzw. schwere Komplikationen traten nicht auf. Insgesamt verbesserte sich bei 50% der Probanden nach Therapie der bestkorrigierte Visus, bei 37% der Teilnehmer blieb er stabil.

Bei der Wahl der richtigen Therapiestrategie muss zusätzlich berücksichtigt werden, dass Patienten mit Keratokonus die beste Prognose nach Hornhauttransplantationen haben [4]. Auf der anderen Seite sind Patienten mit diesem Krankheitsbild häufig noch jung und in Beruf und Freizeit sehr aktiv [20]. Zudem ist die Lebensplanung, gerade was die Berufswahl betrifft, häufig noch nicht abgeschlossen. Eine operative Therapie, speziell die Hornhauttransplantation, ist ein aufwendiges, zeit- und kostenintensives Verfahren und stellt für die Betroffenen eine hohe Belastung dar. Die Patienten sind z. B. aufgrund der langen Heilungszeit nach einer Keratoplastik häufig Monate bis Jahre auf eine medikamentöse Nachbehandlung und eine engmaschige augenärztliche Kontrolluntersuchung angewiesen. Hinzu kommt die hornhautfadenbedingte anhaltende Sehbehinderung im ersten postoperativen Jahr, was beruflich und privat deutliche Einschränkungen mit sich bringt. Berücksichtigt man zudem die eingeschränkte Lebensdauer

er des Transplantats und mögliche Komplikationen wie eine Abstoßungsreaktion oder ein Transplantatversagen, so scheint die komplikationsärmere Behandlung mittels CXL eine viel versprechende Alternative darzustellen. Außerdem ist die Hornhautkollagenvernetzung ambulant durchführbar, minimalinvasiv und kostengünstig und bietet somit neben den klinischen auch ökonomische und psychosoziale Vorteile [15].

Durch die Anwendung hypoosmolarer Riboflavin-Lösung ist es sogar möglich, die Hornhaut während der Behandlung auf eine Dicke >400 µm ansteigen zu lassen und das CXL auch für Patienten mit einem fortgeschrittenen Stadium des Keratokonus zugänglich zu machen. In einer vorangegangenen Studie unserer Klinik mit hypoosmolarer Riboflavin-Lösung konnten Kissner et al. [28] an 32 Augen zeigen, dass 12 Monate postoperativ sowohl die K-Werte am Apex des Keratokonus als auch der bestkorrigierte Visus stabil blieben. Der Effekt des CXL an intraoperativ künstlich gequollenen Hornhäuten fiel allerdings deutlich schwächer als bei nichtgequollenen, dickeren Hornhäuten aus.

Weitere Modifikationen des ursprünglichen Standardprotokolls, die hauptsächlich auf eine Vereinfachung des Behandlungsablaufs abzielen (höhere Bestrahlungsintensität mit verkürzter Behandlungszeit, transepitheliale Penetration des Riboflavins) befinden sich zurzeit in Erprobung. Ihre Effektivität im Vergleich zum Standardprotokoll muss allerdings noch in randomisierten, kontrollierten Studien geprüft werden.

### Fazit für die Praxis

**In zahlreichen Fallserien konnte die Wirksamkeit des Standardverfahrens der Hornhautkollagenvernetzung mit vorheriger Epithelentfernung auf die Progression eines Keratokonus bereits nachgewiesen werden. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bestätigen erneut die Daten der bisher veröffentlichten Studien im Hinblick auf die Visusverbesserung und Abnahme der zentralen Hornhautkrümmung. Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Hornhautvernetzung mit Riboflavin-Lösung und UVA-Be-**

**strahlung ein vielversprechendes therapeutisches Verfahren in der Behandlung des Keratokonus ist, um langfristig eine Stabilisierung der Erkrankung zu erzielen. Das Verfahren ist einfach in der Handhabung und gegebenenfalls wiederholbar. Des Weiteren weist es ein gutes Sicherheitsprofil auf. Nur vereinzelt traten in dieser Studie postoperativ Spätfolgen im Sinne einer Hornhautnarbenbildung auf.**

### Korrespondenzadresse

#### A. Theuring

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Dresden  
Fetscherstr. 74, 01307 Dresden  
anja.theuring@uniklinikum-dresden.de

### Einhaltung ethischer Richtlinien

**Interessenkonflikt.** A. Theuring, E. Spoerl, L.E. Pillunat und F. Raiskup geben an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Alle im vorliegenden Manuskript beschriebenen Untersuchungen am Menschen wurden mit Zustimmung der zuständigen Ethik-Kommission, im Einklang mit nationalem Recht sowie gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975 (in der aktuellen, überarbeiteten Fassung) durchgeführt. Von allen beteiligten Patienten liegt eine Einverständniserklärung vor.

### Literatur

1. Akhtar S, Bron AJ, Salvi SM et al (2008) Ultrastructural analysis of collagen fibrils and proteoglycans in keratoconus. *Acta Ophthalmol* 86(7):764–772
2. Ambekar R, Toussaint KC Jr, Wagoner JA (2011) The effect of keratoconus on the structural, mechanical, and optical properties of the cornea. *J Mech Behav Biomed Mater* 4(3):223–236
3. Bodemann M, Kohnen T (2012) Ulcus corneae durch MRSA nach UV/Riboflavin-Crosslinking bei Keratokonus (Corneal ulcer caused by MRSA after UV/riboflavin cross-linking in a patient with bilateral keratoconus). *Ophthalmologe* 109(11):1112–1114
4. Bohringer D, Bohringer S, Poxleitner K et al (2010) Long-term graft survival in penetrating keratoplasty: the biexponential model of chronic endothelial cell loss revisited. *Cornea* 29(10):1113–1117
5. Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO (1997) Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38(3):779–782
6. Buhren J, Bischoff G, Kohnen T (2011) Keratokonus: Klinik, Diagnostik, Therapiemöglichkeiten (Keratokonus: clinical aspects, diagnosis, therapeutic possibilities). *Klin Monbl Augenheilkd* 228(10):923–940
7. Caporossi A, Baiocchi S, Mazzotta C et al (2006) Parasurgical therapy for keratoconus by riboflavin-ultraviolet type A rays induced cross-linking of corneal collagen: preliminary refractive results in an Italian study. *J Cataract Refract Surg* 32(5):837–845

8. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S, Caporossi T (2010) Long-term results of riboflavin ultraviolet a corneal collagen cross-linking for keratoconus in Italy: the Siena eye cross study. *Am J Ophthalmol* 149(4):585–593
9. Caporossi A, Mazzotta C, Baiocchi S et al (2011) Age-related long-term functional results after riboflavin UV A corneal cross-linking. *J Ophthalmol* 2011:608041
10. Gatziofuz Z, Seitz B (2013) Neues zur Biomechanik der Kornea beim Keratokonus (New aspects on biomechanics of the cornea in keratoconus). *Ophthalmologie* 110(9):810, 812–810, 817
11. Goebels S, Seitz B, Langenbucher A (2013) Diagnostik und stadiengerechte Therapie des Keratokonus (Diagnostics and stage-oriented therapy of keratoconus: introduction to the Homburg keratoconus center (HKC)). *Ophthalmologie* 110(9):808–809
12. Grunauer-Kloevekon C, Duncker GI (2006) Keratokonus: Epidemiologie, Risikofaktoren und Diagnostik (Keratoconus: epidemiology, risk factors and diagnosis). *Klin Monbl Augenheilkd* 223(6):493–502
13. Hatou S, Shimmura S, Shimazaki J et al (2011) Mathematical projection model of visual loss due to fuchs corneal dystrophy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 52(11):7888–7893
14. Hayes S, Khan S, Boote C et al (2012) Depth profile study of abnormal collagen orientation in keratoconus corneas. *Arch Ophthalmol* 130(2):251–252
15. Hoyer A, Raiskup-Wolf F, Spoerl E, Pillunat LE (2009) Kollagenvernetzung mit Riboflavin und UVA-Licht bei Keratokonus – Dresdner Ergebnisse (Collagen cross-linking with riboflavin and UVA light in keratoconus. Results from Dresden). *Ophthalmologie* 106(2):133–140
16. Isager P, Guo S, Hjortdal JO, Ehlers N (1998) Endothelial cell loss after photorefractive keratectomy for myopia. *Acta Ophthalmol Scand* 76(3):304–307
17. Kato N, Toda I, Hori-Komai Y et al (2008) Five-year outcome of LASIK for myopia. *Ophthalmology* 115(5):839–844
18. Kennedy RH, Bourne WM, Dyer JA (1986) A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 101(3):267–273
19. Koller T, Mrochen M, Seiler T (2009) Complication and failure rates after corneal crosslinking. *J Cataract Refract Surg* 35(8):1358–1362
20. Kymes SM, Walline JJ, Zadnik K, Gordon MO (2004) Quality of life in keratoconus. *Am J Ophthalmol* 138(4):527–535
21. Maier P, Reinhard T (2013) Riboflavin-UVA-Crosslinking beim Keratokonus (Riboflavin UVA cross-linking for keratoconus). *Ophthalmologie* 110(9):818–822
22. Mazzotta C, Balestrazzi A, Baiocchi S et al (2007) Stromal haze after combined riboflavin-UVA corneal collagen cross-linking in keratoconus: in vivo confocal microscopic evaluation. *Clin Experiment Ophthalmol* 35(6):580–582
23. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S et al (2008) Corneal healing after riboflavin ultraviolet-A collagen cross-linking determined by confocal laser scanning microscopy in vivo: early and late modifications. *Am J Ophthalmol* 146(4):527–533
24. McMahon TT, Edrington TB, Szczotka-Flynn L et al (2006) Longitudinal changes in corneal curvature in keratoconus. *Cornea* 25(3):296–305
25. Murphy C, Alvarado J, Juster R, Maglio M (1984) Prenatal and postnatal cellularity of the human corneal endothelium. A quantitative histologic study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 25(3):312–322
26. O’Brart DP, Chan E, Samaras K et al (2011) A randomized, prospective study to investigate the efficacy of riboflavin/ultraviolet A (370 nm) corneal collagen cross-linkage to halt the progression of keratoconus. *Br J Ophthalmol* 95(11):1519–1524
27. Raiskup F, Kissner A, Hoyer A et al (2010) Narbenbildung nach Hornhautvernetzung beim Keratokonus (Corneal scar development after cross-linking in keratoconus). *Ophthalmologie* 107(9):837–842
28. Raiskup F, Kissner A, Spoerl E, Pillunat LE (2011) Hornhautvernetzung mit hypoosmolarer Riboflavin-Lösung beim Keratokonus mit dünner Hornhaut (Corneal cross-linking with hypo-osmolar riboflavin solution for keratoconus with thin corneas). *Ophthalmologie* 108(9):846–851
29. Raiskup-Wolf F, Hoyer A, Spoerl E, Pillunat LE (2008) Collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in keratoconus: long-term results. *J Cataract Refract Surg* 34(5):796–801
30. Spoerl E, Hoyer A, Pillunat LE, Raiskup F (2011) Corneal cross-linking and safety issues. *Open Ophthalmol J* 5:14–16
31. Spoerl E, Huhle M, Seiler T (1998) Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res* 66(1):97–103
32. Spoerl E, Raiskup-Wolf F, Pillunat LE (2008) Biophysikalische Grundlagen der Kollagenvernetzung (Biophysical principles of collagen cross-linking). *Klin Monbl Augenheilkd* 225(2):131–137
33. Sugar J, Macsai MS (2012) What causes keratoconus? *Cornea* 31(6):716–719
34. Tuft SJ, Moodaley LC, Gregory WM et al (1994) Prognostic factors for the progression of keratoconus. *Ophthalmology* 101(3):439–447
35. Wittig-Silva C, Chan E, Islam FM et al (2014) A randomized, controlled trial of corneal collagen cross-linking in progressive keratoconus: three-year results. *Ophthalmology* 121(4):812–821
36. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T (2003) Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol* 135(5):620–627
37. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T (2003) Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg* 29(9):1780–1785
38. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T (2004) Keratocyte apoptosis after corneal collagen cross-linking using riboflavin/UVA treatment. *Cornea* 23(1):43–49
39. Zadnik K, Barr JT, Edrington TB et al (1998) Baseline findings in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39(13):2537–2546

## Arbeitsweise des Ionenkanals Channelrhodopsin-2 entschlüsselt

Das in Grünalgen entdeckte Channelrhodopsin-2 ist das zentrale lichtaktivierbare Kanalprotein in der Optogenetik. Stattet man zum Beispiel Nervenzellen damit aus, kann man die Ionenkanäle durch Lichteinstrahlung öffnen und die Zellen so aktivieren. Nun gelang es einem Forscherteam der Universitäten Bochum und Berlin mit zeitaufgelöster Vibrationspektroskopie und biomolekularen Simulationen die Vorgänge auch auf molekularer Ebene aufzuklären und ein Modell (E90-Helix-2-tilt, EHT) der Arbeitsweise von Channelrhodopsin-2 zu entwickeln.

Die lichtempfindliche Gruppe des Proteins, das Retinal, wird bei Lichteinfall verdrillt. Diese Verdrillung setzt sich dann im Protein fort und öffnet extrem schnell eine Pore, die im Dunkeln von der Aminosäure E90 verschlossen wird. E90 markiert die engste Stelle der Pore und öffnet diese durch Herausklappen, ähnlich der Bewegung einer Schwingtür, so dass Wasser in ein leeres Vestibül oberhalb der engsten Stelle der Pore eindringen kann. Das eindringende Wasser kippt dann die Proteinhelix H2. Das führt dazu, dass sich ein Protein durchspannender, offener Ionenkanal ausbildet.

Mit diesem Strukturmodell ist jetzt der nächste Schritt, das protein engineering möglich. Durch Mutation der Aminosäure E90 lassen sich die Eigenschaften des Proteins gezielt beeinflussen. Leitfähigkeit oder Selektivität für gewisse Ionen können so auf bestimmte Anwendungen maßgeschneidert und das Protein gezielt mit verschiedenen Wellenlängen aktiviert werden.

Quelle: Ruhr-Universität Bochum, [www.ruhr-uni-bochum.de](http://www.ruhr-uni-bochum.de)