

Aus der Klinik für Augenheilkunde  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg (Saar)  
(Direktor: Prof. Dr. K.W. Ruprecht)

**EINFLUSS VON FIBRONEKTIN  
AUF DIE BAKTERIELLE ADHÄSION  
AN BESCHICHTETEN UND UNBESCHICHTETEN  
INTRAOKULARLINSEN**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin**  
der  
medizinischen Fakultät  
der  
Universität des Saarlandes

**2 0 0 5**

vorgelegt von  
Andreas Christian Schröder,  
geboren am 18.03.1972 in Bonn

meiner Frau Ute  
und unserer Tochter Franziska  
gewidmet

TAG DER PROMOTION: 06 . 03 . 2005

DEKAN: PROF. DR. M. MONTENARH

BERICHTERSTATTER: PROF. DR. K.W. RUPRECHT  
PROF. DR. M. HERRMANN

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>INHALTSVERZEICHNIS</b> .....	<b>3</b>
<b>1. ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>5</b>
1.1. ZUSAMMENFASSUNG .....	5
1.2. SUMMARY .....	6
<b>2. EINLEITUNG</b> .....	<b>7</b>
2.1. ENTWICKLUNG DER INTRAOKULARLINSE .....	7
2.2. ENTWICKLUNG DER LINSENATERIALIEN.....	9
2.3. MODIFIKATIONEN DER LINSEN OBERFLÄCHE - HEPARIN.....	13
2.4. FIBRONEKTIN UND DIE FREMDKÖRPERREAKTION.....	14
2.5. BAKTERIELLE ADHÄSION AN INTRAOKULARLINSEN .....	16
2.6. ENDOPHTHALMITIS NACH KATARAKT-OPERATION .....	17
2.7. ZIELSETZUNG .....	19
<b>3. MATERIAL UND METHODIK</b> .....	<b>20</b>
3.1. FIBRONEKTIN - ALBUMIN.....	20
3.2. FIBRONEKTIN-KONZENTRATION - GELATIN .....	20
Gelatin Precoating .....	21
Fibronektin Coating.....	21
Bakterien-Stämme .....	22
Bakterien-Adhäsion.....	23
Messung .....	23
Zwischen-Ergebnisse .....	24
Gelatin .....	24
FN-Reihen .....	24
3.3. BAKTERIELLE ADHÄSION AN INTRAOKULARLINSEN .....	24
Intraokularlinsen.....	24
Versuchsaufbau .....	25
Fibronektin-Beschichtung .....	26
Bakterien .....	27
Bakterien-Adhäsion.....	27
Messung .....	28
Statistik.....	29
<b>4. ERGEBNISSE</b> .....	<b>30</b>
4.1. FIBRONEKTIN - ALBUMIN .....	30
4.2. FIBRONEKTIN-KONZENTRATION - GELATIN .....	31
Gelatin .....	31
FN-Reihen .....	31
4.3. BAKTERIELLE ADHÄSION AN INTRAOKULARLINSEN .....	34
Oberflächenmodifikationen.....	37
PMMA vs. HSM-PMMA .....	37
Acrylat vs. HSM-Acrylat .....	38
Silikon vs. PSM-Silikon.....	39

---

<b>5. DISKUSSION .....</b>	<b>40</b>
5.1. ZUSAMMENFASSUNG .....	40
5.2. LITERATUR .....	40
5.3. BEZUG ZU DEN ERGEBNISSEN DIESER STUDIE .....	43
5.4. HEPARIN-BESCHICHTUNGEN .....	44
5.5. POLYSACCHARID-BESCHICHTUNGEN .....	45
<b>6. PRAKTISCHE SCHLUSSFOLGERUNGEN .....</b>	<b>46</b>
<b>7. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>47</b>
<b>8. VERÖFFENTLICHUNGEN.....</b>	<b>54</b>
Artikel.....	54
Vorträge.....	54
<b>9. DANK .....</b>	<b>56</b>
<b>10. LEBENSLAUF .....</b>	<b>57</b>

# 1. ZUSAMMENFASSUNG

## 1.1. Zusammenfassung

**Hintergrund:** Die Endophthalmitis nach Linsenimplantation stellt immer noch eine der gefürchtetsten Komplikationen nach Katarakt-Operationen dar. Neue Linsenmaterialien sowie Modifikationen der Oberflächenstrukturen haben zu einem Rückgang dieser Katastrophe geführt. In dieser Studie wird die Adhärenz von Bakterien an verschiedenen Intraokularlinsen verglichen.

**Material und Methode:** Elf verschiedene Intraokularlinsen von drei Herstellern wurden mit Tritium-markierten Bakterien inkubiert. Um den Einfluss von Fibronectin auf die Adhäsion zu untersuchen wurde in parallelen Ansätzen die Hälfte der Linsen zuvor mit Fibronectin beschichtet, die andere Hälfte nicht. In einem Detektor wurde die Strahlung der adhärennten Bakterien gemessen und danach die relative Adhäsion berechnet. Es kamen Linsen aus Acryl, PMMA und Silikon zur Verwendung. Zwei Modelle waren heparinbeschichtet, eine Silikonlinse war mit Polysacchariden beschichtet.

**Ergebnisse:** Die bakterielle Adhäsion hängt nicht direkt von der Hydrophobizität des Materials ab. In den meisten Fällen steigert Fibronectin die relative Adhäsion der Bakterien. Entgegen den Ergebnissen der meisten Studien zu diesem Thema haben die Heparinbeschichtungen in dieser Studie weniger Einfluss auf die Adhäsion als erwartet. Gerade unter dem Einfluss von Fibronectin erweist sich Heparin weniger adhäsionshemmend als angenommen. Die Polysaccharid-beschichtete Silikonlinse hingegen wies eine signifikant geringere Bakterien-Adhäsion auf als das unbeschichtete Modell.

**Schlussfolgerungen:** Im Bereich der Intraokularlinsen senken neue Entwicklungen das Risiko der postoperativen Endophthalmitis. Gerade im Bereich der Oberflächenmodifikationen liegt ein großes Potential, das bis heute noch nicht ausgeschöpft ist.

## 1.2. Summary

### Influence of fibronectin on the bacterial adherence to coated and uncoated intraocular lenses

**Purpose:** Postoperative endophthalmitis is still the most feared complication in cataract surgery. New materials and modifications of the lens surface have diminished the incidence of this disastrous course. This study compared the adherence of bacteria to several types of intraocular lenses commonly used throughout Europe.

**Methods:** Eleven types of intraocular lenses were supplied by three different manufacturing companies. To examine the influence of fibronectin on the adhesiveness of the lens surface two settings were performed: in the first setting the lenses were coated with fibronectin and then incubated with <sup>3</sup>H-labelled bacteria. In the second setting the lenses came into incubation directly from their original packing. Relative Bacterial Adhesion was determined by scintillation-counting. The lenses examined were made of PMMA, acrylate and silicone. Two types were surface-modified by heparin-coating, one silicone lens was coated with polysaccharides.

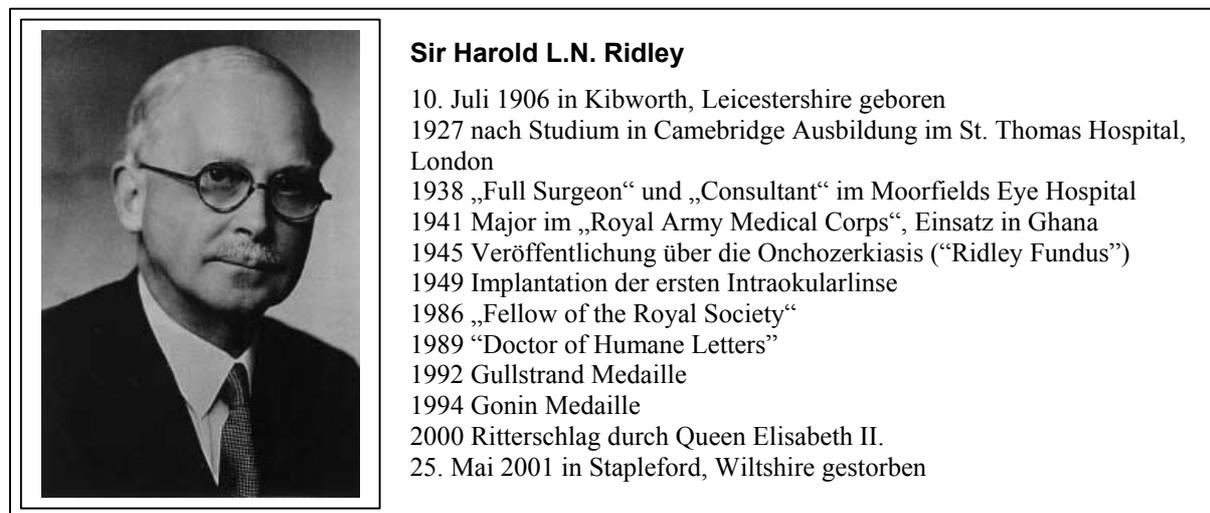
**Results:** No direct correlation was found between the adherence of bacteria and the hydrophobicity of the lens surface. As expected fibronectin increases the adherence in most cases. There was a tendency for heparin to decrease bacterial adhesion, but this effect was minor and not significant in most cases, especially when influenced by fibronectin. In contrast the silicone lens coated with polysaccharides showed a highly significant reduction of bacterial adhesion.

**Conclusions:** In the field of cataract surgery new developments lower the risk of post-surgical endophthalmitis. Especially new modifications of the lens surface provide an enormous opportunity not sufficiently explored to date.

## 2. EINLEITUNG

### 2.1. Entwicklung der Intraokularlinse

Die weltweit erste funktionierende Intraokularlinse [IOL] wurde 1949 durch Sir Harold Lloyd Nicholas Ridley implantiert<sup>46</sup>. Ridley kam auf die Idee durch die Beobachtung, dass intraokulare Plexiglassplitter aus der Pilotenkanzel in den Augen abgestürzter Kampfpiloten des zweiten Weltkrieges reizlos blieben<sup>3,5</sup>. Diese Erfindung wurde eine der wichtigsten Neuerungen der Augenheilkunde im 20. Jahrhundert. Die erste Operation, durchgeführt im St. Thomas Hospital, London, wurde an einer 45-jährigen Frau am 29. November 1949 vollzogen. Lange Zeit wurde davon ausgegangen, dass diese Operation zweizeitig geplant wurde, also bei der ersten Operation nur die natürlich Linse entfernt und erst bei der zweiten (8. Februar 1950) die Kunstlinse implantiert wurde. Wie jedoch erst kürzlich durch eine OP-Schwester, die damals anwesend war, bekannt wurde, soll diese erste Operation doch einzeitig von statten gegangen sein (mündl. JM Schmidbauer). Diese erste Intraokularlinse wurde von der Firma Rayner Ltd. in London hergestellt.



**Abb. 2.1: Sir Harold L.N. Ridley**

Die Idee, die getrübte natürliche Linse durch eine künstliche zu ersetzen, gab es schon früher<sup>2</sup>. Versuche mit Intraokularlinsen aus Glas führten jedoch in den frühen 40er Jahren zu entzündlichen Reaktionen, die die Entfernung der betroffenen Augen zur Folge hatten. Ridley stellte sein neues Verfahren erstmals auf einem Kongress in Oxford am 9. Juli 1951 vor. Die Präsentation von zwei erfolgreich operierten Patienten wurde einerseits mit Interesse, andererseits mit Ablehnung betrachtet. Führende Ophthalmologen der damaligen Zeit, wie Sir Stewart Duke-Elder weigerten sich sogar, diese Patienten zu untersuchen. In den Vereinigten Staaten wurde die

Implantation von Kunstlinsen zunächst völlig abgelehnt. Erst Walter Reese führte dieses Verfahren 1953 hier ein<sup>45</sup>. Sicher waren die vorrangegangenen Fehlschläge mit Glas-Linsen Grund für die Skepsis. Aber auch die fehlenden Daten, wie z.B. aus Tierexperimenten oder aus Materialanalysen, ließen zunächst kein Vertrauen in das neue Verfahren aufkommen. Einige Kollegen bezeichneten Ridleys Linsen als „Zeitbomben“. So war Ridley gezwungen, jahrelang um Anerkennung zu kämpfen. Erst spät wurden ihm die verdienten Ehren zuteil, die 2000 mit der Nobilitierung per Ritterschlag durch die englische Königin gipfelte.

Die erfolgreiche Implantation der ersten Intraokularlinse stellte den Anfang einer neuen Ära der operativen Augenheilkunde dar. Die durch Sir Ridley begonnene Entwicklung kann von 1949 bis jetzt in sechs Generationen eingeteilt werden (Tabelle 2.1 und Abb. 2.2):

Generation	Zeitraum	Linsentyp
1.	1949 – 1954	Die Ridley-Linse
2.	1952 – 1962	Frühe Vorderkammerlinsen
3.	1953 – 1973	Irisgestützte Linsen
4.	1963 – 1992	Moderne Vorderkammerlinsen
5.	1977 – 1992	Frühe Hinterkammerlinsen (starr)
6.	1992 – jetzt	Moderne Hinterkammerlinsen (Faltlinsen)

Tabelle 2.1: die sechs IOL-Generationen

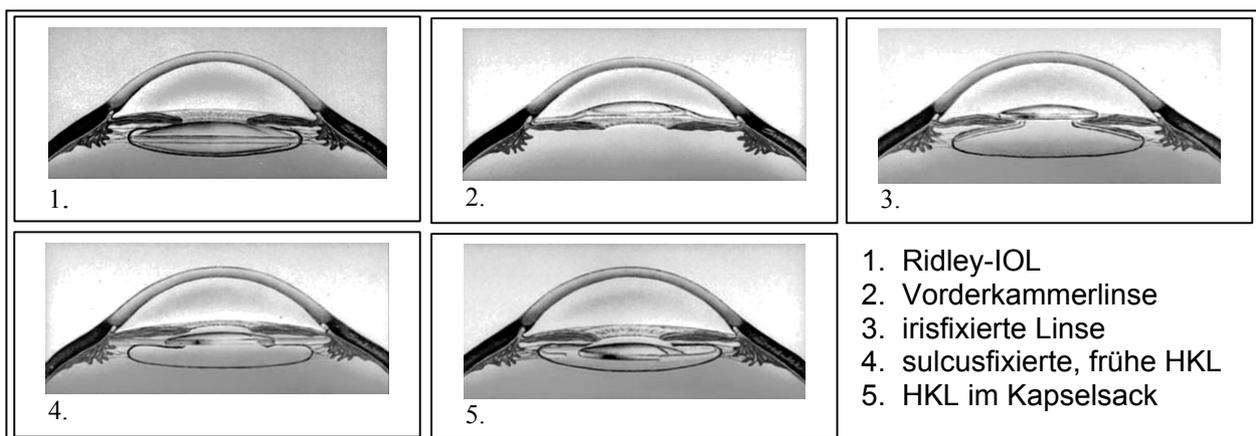
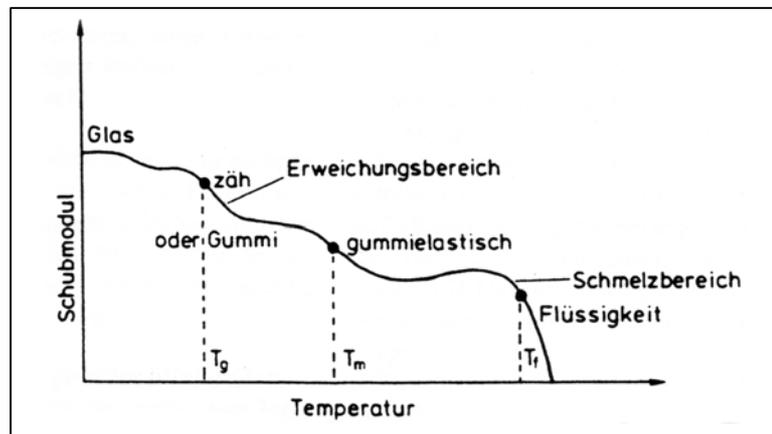


Abb. 2.2: Darstellungen der Implantationsorte

## 2.2. Entwicklung der Linsenmaterialien

Alle Intraokularlinsen bestehen aus Polymeren. Für die Transparenz der Linse ist es wichtig, dass die Polymerketten in kristalliner Form vorliegen, denn nur parallel angeordnete Strukturen sind durchsichtig. Infolge der Länge der Polymerketten ist es jedoch kaum möglich, über die gesamte Länge hinweg Kristalle zu bilden. Polymere liegen daher, abgesehen von wenigen Ausnahmen, immer nur in teilkristalliner Form vor. Diese teilkristalline Struktur polymerer Werkstoffe ist von entscheidender Bedeutung, da alle Eigenschaften, wie Transparenz, Elastizität und mechanisches Verhalten hierdurch bestimmt werden<sup>31</sup>. Eine typische Eigenschaft von Polymeren ist auch, dass der feste Aggregatzustand temperaturabhängig vom sog. Glaszustand

über mehr oder weniger plastische Formen bis hin zur Gummielastizität reicht (Abb. 2.3). So sind alle Polymere bei genügend niedriger Temperatur harte Festkörper im Glaszustand. Mit steigender Temperatur nimmt das Polymer so viel Energie auf, dass sich die Ketten



**Abb. 2.3: Thermomechanische Kurve eines teilkristallinen Polymers:  $T_g$  = Glasübergangstemperatur,  $T_m$  = Schmelzpunkt,  $T_f$  = Fließtemperatur**

immer freier bewegen können. Bei den amorph angeordneten Ketten treten diese Molekülbewegungen bereits bei Temperaturen auf, die unterhalb des Schmelzpunktes der kristallinen Strukturen liegt. Bei steigenden Temperaturen geht das Polymer deshalb zunächst vom Glaszustand in einen gummielastischen Zustand über. Schließlich brechen auch die kristallinen Strukturen auf und das gesamte Polymer liegt oberhalb der Fließtemperatur in Form einer viskösen Flüssigkeit vor. Der Übergang vom Glas- in den gummielastischen Zustand ist ein wichtiges Merkmal des Polymerverhaltens. In diesem Bereich ändern sich physikalische Eigenschaften, wie Härte und Elastizität drastisch. Diese Änderungen sind eine Funktion der Molekularbewegung, nicht der Polymerstruktur, und damit vollständig reversibel. Im Glaszustand ist der polymere Werkstoff spröde und brüchig sowie optisch transparent. Gegenüber leichten Zugkräften besitzt „polymeres Glas“ zwar eine schnelle, elastische Rückstellkraft, hohe Kräfte können dagegen nur durch

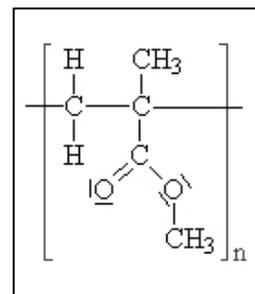
Kettenbrüche ausgeglichen werden. Obwohl der Glas-Kautschuk-Übergang selbst nicht von der Polymerstruktur abhängig ist, ist die Glasübergangstemperatur  $T_g$  stark von der chemischen Natur des Polymeren abhängig und liegt für die gängigsten synthetischen Polymere zwischen  $-100^\circ\text{C}$  und  $+250^\circ\text{C}$ .

Sir Harold Ridley war für die Konstruktion seiner Intraokularlinse auf PMMA oder Plexiglas aufmerksam geworden, nachdem er als Militärarzt während des zweiten Weltkrieges abgeschossene Bomberpiloten der britischen „Hawker Hurricane“ behandelt hatte (Abb. 2.4). Er hatte beobachtet, dass Splitter der Pilotenkapsel, wenn sie in den Bulbus versprengt wurden, hier



**Abb. 2.4: Hawker Hurricane**

über Jahre reaktionsfrei verharren konnten. Dieses Material, welches in gereinigter Form „Perspex (CQ)“ (CQ = clinical quality) genannt wird, sollte als Standard für die IOL noch bis in die 90er Jahre gelten. Poly-Methyl-Meth-Acrylat [PMMA], wie Perspex oder Plexiglas chemisch genannt wird, ist ein lineares Homopolymer (Abb. 2.5). Auch wenn PMMA biologisch inaktiv und damit sehr gut verträglich ist, so ist dieses Material fast so spröde wie Glas. Seine Glasübergangstemperatur liegt bei  $+160^\circ\text{C}$ , sein Wassergehalt liegt zwischen 0,2% und 0,5%. Das macht es für den Operations-Alltag sehr empfindlich. Da man Linsen aus diesem Material nicht falten kann, verlangt es bei der



**Abb. 2.5: PMMA**

Operation einen sehr großen Schnitt, was neben der großen Eintrittspforte für Keime und der entsprechend langen Wundheilung postoperativ einen hohen Astigmatismus induziert.

Moderne IOL lassen sich in gefaltetem Zustand in das Auge bringen, und entfalten sich erst im Kapselsack in ihre entgültige Form. Hierfür müssen sie erstens aus weicherem Material bestehen als PMMA. Zweitens muss dieses Material einen höheren Brechungsindex aufweisen, damit die Kunstlinse dünner konstruiert werden kann. Hier teilt sich die Entwicklung der Acrylat-IOL in zwei Wege. Auf der einen Seite finden sich hier die dem PMMA noch eng verwandten „hydrophoben“ Acrylate, die einen geringe Wassergehalt von max. 2% aufweisen. Auf der Anderen Seite die

sogenannten „hydrophilen“ Acrylate oder Hydrogele, die einen hohen Wassergehalt von 18% – 28% aufweisen. Bei den „hydrophoben“ Acrylaten wichen die Methyl-Verbindungen den weicheren Äthyl-Verbindungen. Eine sehr häufig verwendete

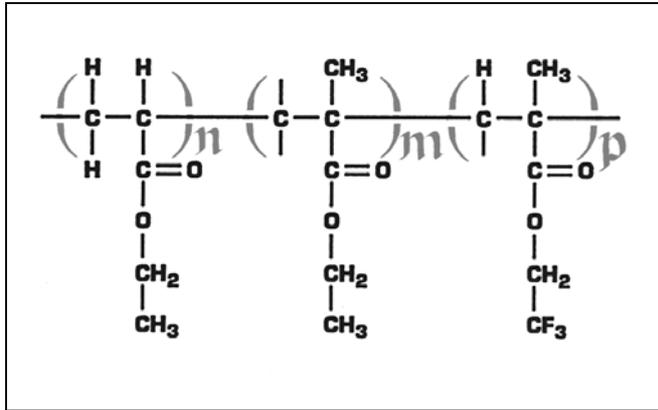


Abb. 2.6: Acrylat der AMO Sensor AR40e

Linse ist beispielsweise die AMO Sensor AR40e (Abb. 2.6), die aus drei verschiedenen Gruppen besteht: Poly-Äthyl-Acrylat (n), Poly-Äthyl-Meth-Acrylat (m) und Poly-Tri-Fluor-Äthyl-Meth-Acrylat (p).

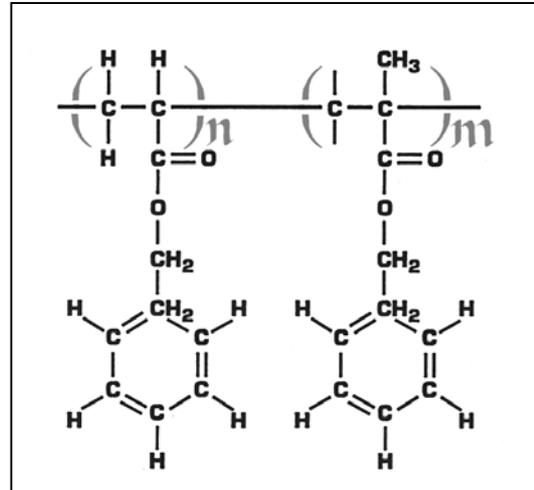


Abb. 2.7: Acrylat der Alcon Acrysof

Eine andere Möglichkeit, dasselbe Ziel zu erreichen, zeigt das inzwischen 15 Jahre alte Material der immer noch sehr häufig verwendeten Alcon Acrysof SA60 (Abb. 2.7). Hier wurden Vinylgruppen eingebaut: Poly-Phenyl-Äthyl-Acrylat [PEA] (n) und Poly-Phenyl-Äthyl-Meth-Acrylat [PEMA] (m). PEA besitzt eine sehr niedrige Glasübergangstemperatur von  $-3^{\circ}\text{C}$ , PEMA eine sehr hohe von  $+26^{\circ}\text{C}$ . Allein durch das Mischungsverhältnis der beiden Polymere lassen sich die Eigenschaften der Linse stufenlos modulieren.

Die „hydrophilen“ Acrylate oder Hydrogele nutzen Wasser als Weichmacher. Die gebräuchlichsten Formen bestehen aus einem Polymer, welches Wasser aufnehmen kann, und einem, welches dies nicht kann, z.B. Hydroxyethylmethacrylat [HEMA] (Abb. 2.8) und Methylmethacrylat [(P)MMA] (Abb. 2.5). Die hohe Wasseraufnahmefähigkeit des HEMA

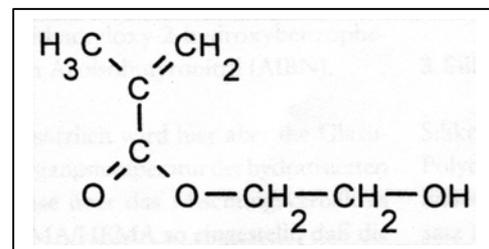
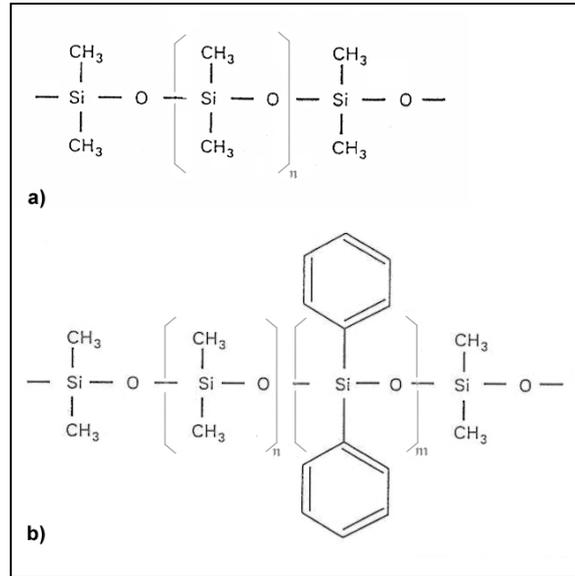


Abb. 2.8: Hydroxy-Ethyl-Meth-Acrylat

beruht auf der durch die Hydroxyethylgruppe gebildeten Schleifen des Moleküls. Die Höhe der Wasseraufnahme hängt somit von der Anzahl dieser Gruppen und damit vom Vernetzungsgrad ab. Bei ca. 1% Quervernetzung nimmt HEMA etwa 38% Wasser auf, bei ca. 0,1% Quervernetzung etwa 45%. Die Verringerung der

Quervernetzung bewirkt allerdings die Abnahme der Stabilität. Außerdem bewirkt eine Steigerung des Wassergehaltes eine Abnahme des Brechungsindex und der Transparenz. Um dem entgegenzuwirken wird PMMA beigemischt, welches wie bereits geschildert, kaum Wasser aufnehmen kann. Bei den klinisch eingesetzten Intraokularlinsen wird ein Wassergehalt von 28% nicht mehr überschritten.

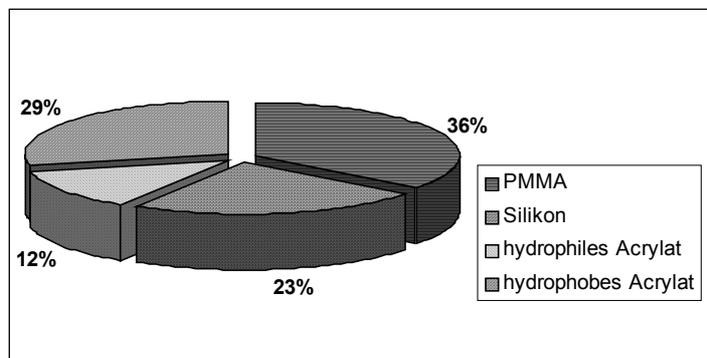
1984 implantierte Thomas Mazzocco die erste Silikon-Intraokularlinse<sup>29</sup>. Sie bestand aus Poly-Di-Methyl-Siloxan (Abb. 2.9), sog. Silikonkautschuk. Dieses Material ist im Gegensatz zu den flexiblen Acrylaten ein echtes Elastomer. Es besitzt eine hohe Elastizität und verliert diese Eigenschaft auch nicht über die Anwendungszeit. Da die klassischen Silikone einen relativ niedrigen Brechungsindex aufwiesen wurden auch hier Vinylgruppen eingebaut: Poly-Di-Methyl-Di-Phenyl-Siloxan. Da hierunter jedoch die mechanische Stabilität litt, wurde pyrogen gewonnene Kieselsäure als Stabilisator beigemischt.



**Abb. 2.9: Poly-Di-Methyl-Siloxan (a), Poly-Di-Methyl-Di-Phenyl-Siloxan (b)**

Alle beschriebenen Materialien spielen auch aktuell noch eine große Rolle. Im Jahr 2000 wurden in Deutschland 584.600 IOL implantiert. Davon waren 208.600 aus PMMA, 136.000 aus Silikon und 240.000 aus Acrylat. Von den Acrylat-Linsen waren 70% aus hydrophoben und 30% aus hydrophilem Acrylat (Abb. 2.10)<sup>30</sup>.

**Abb. 2.10: Material-Anteile bei IOL-Implantationen in Deutschland 2000**



### 2.3. Modifikationen der Linsenoberfläche - Heparin

Außer bei den hydrophilen Acrylatlinsen, die in einem ständigen Austausch von Kammerwasser mit Ihrer Umgebung stehen, findet eine Interaktion zwischen Auge und IOL ausschließlich an der Oberfläche der IOL statt. Um die Eigenschaften dieser Oberflächen zu beeinflussen, ohne die Materialeigenschaften der gesamten Linse ändern zu müssen, wurde mit vielen Modifikationen experimentiert.

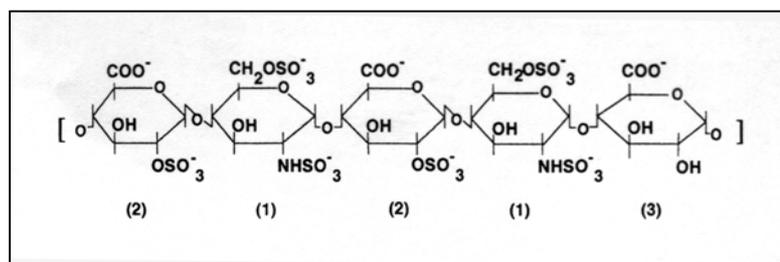
Die einfachste Art, die Oberfläche zu verbessern, war sie zu polieren. Erst in der Mitte der 90er Jahre wurde der Beweis angetreten, dass diese Modifikation die Biokompatibilität erhöht<sup>1,37,52</sup>. Nach westlichem Standard sind heute alle erhältlichen IOL in dieser Art behandelt. Hettlich hydrophilisierte Silikonlinsen mit Hilfe eines Plasmas, welche alle freien OH-Gruppen verätzen sollte<sup>20-22</sup>. Beschichtungen durch Antibiotika und Antimetaboliten kamen nicht über das Stadium der Zellkultur hinaus<sup>4</sup>. Fluorine Beschichtungen zeigten in-vitro eine Reduktion der bakteriellen Adhäsion<sup>15,26</sup> und wurden bis in die klinische Anwendung gebracht.

Eine neue Beschichtung entwickelte der Hersteller \*Acri.Tec. Silikonlinsen wurden durch eine Polysaccharid-Beschichtung hydrophilisiert. Diese IOL werden in dieser Studie neben anderen getestet. Da sich diese Beschichtung zum Zeitpunkt der Experimente im Patentierungsverfahren befand, waren keine weiteren technischen Details zu erfahren.

Die Beschichtung, die sich am breitesten durchgesetzt hat, ist die durch Heparin.

Wenn man die primäre Wirkung dieses Medikamentes bedenkt, nämlich die Antikoagulation durch Thrombin-Inaktivierung, erscheint es logisch, dass die Idee, Polymere mit diesem Medikament zu beschichten nicht die Idee eines Ophthalmologen war. Vielmehr waren es intravasale Katheter, bei denen eine solche Beschichtung

mögliche Thrombosen verhindern sollte. Dass Heparin weitere Effekte hat, die auch für andere Implantate interessant sind, wurde erst später nachgewiesen<sup>50</sup>. Heparin ist



**Abb. 2.11: Heparin: Glukosamin (1), Uronsäure (2) und  $\beta$ -D-Glukuronsäure (3)**

ein anionisches Polyelektrolyt aus sulfatiertem Glukosamin, Uronsäuren und  $\beta$ -D-Glukuronsäure<sup>10</sup> (Abb. 2.11). Bei der Wundheilung ist seine Wirkung biphasisch<sup>25</sup>: Zunächst inhibiert Heparin das Komplement<sup>39</sup> und eine Reihe von Enzymen der

Koagulationskaskade, und unterdrückt so die Bildung von Fibrin. Ohne Fibrin unterbleiben Zellmigration und Kontraktionen, die eine entscheidende Rolle bei der Ausbildung von Narbengewebe spielen. In einem zweiten Schritt reduziert Heparin die Aktivierung von Granulozyten und Thrombozyten, hemmt die Ausreifung von Macrophagen und unterdrückt die Proliferation von Fibroblasten<sup>32</sup>.

Im Fall der IOL-Ummantelung ist die monomolekulare Heparinschicht kovalent über die primären Aminogruppen des Phenylimins an der Oberfläche gebunden. Die Heparinbeschichtung bewirkt auf der Linse eine Oberflächenhydrophilie, die einen dünnen Wasserfilm rund um das Implantat formt. Auf diese Weise werden die für die Adsorption von Proteinen wichtigen elektrostatischen Kräfte neutralisiert<sup>27,50</sup>. Beim in-vitro Vergleich von heparin-beschichteten und unbeschichteten IOL fand sich eine Reduktion der Aktivierung bzw. Adsorption aller oben geschilderten Zellen und Proteine<sup>32,37</sup>. Amon zeigte spaltlampenmikroskopisch eine Reduktion der Adsorption verschiedener Zellen an heparin-beschichteten IOL am Patienten<sup>1</sup>. Auch die heparin-bedingte Verminderung der bakteriellen Adhäsion wurde an PMMA-Linsen dargestellt<sup>36,41,51,52</sup>. Die Langzeitstabilität der Heparin-Beschichtung wurde von Dick et al. belegt. Auch nach vier Jahren ließ sich die Beschichtung an der IOL einwandfrei nachweisen<sup>10</sup>.

## **2.4. Fibronektin und die Fremdkörperreaktion**

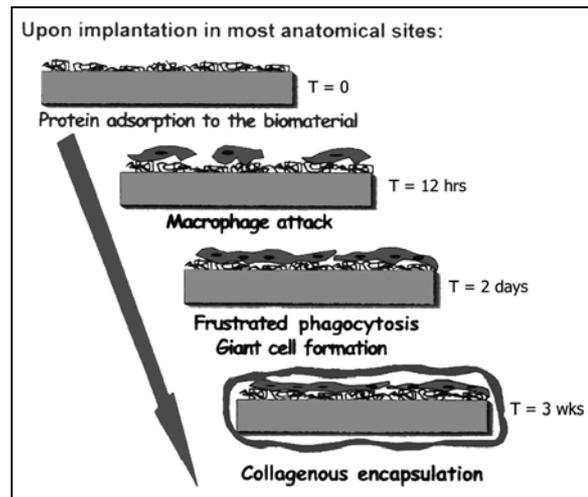
Dass sich die Plexiglas-Splitter in den Augen der Bomberpiloten nicht ganz so reizfrei Verhielten, wie Ridley es beobachtet hatte<sup>5,47</sup>, ist aus heutiger Sicht nicht überraschend. Immerhin hat Ridley eine klares Material eingeführt, dass vom Auge akzeptiert und über einen langen Zeitraum toleriert wird. Jede Implantation löst eine Fremdkörperreaktion aus. Nach Vaudaux gibt es in diesem Zusammenhang vier Formen der Interaktion zwischen Implantat und umgebendem Gewebe<sup>55</sup>:

1. Das Material gibt toxische Substanzen ab, die das umgebende Gewebe zerstören.
2. Das Material ist ungiftig, wird aber kontinuierlich vom Gewebe resorbiert und ersetzt.
3. Das Material ungiftig und biologisch inaktiv; es kann nicht resorbiert werden, was zur Verkapselung führt.

4. Das Material ungiftig, biologisch sehr aktiv, bildet stabile Verbindungen mit Gewebe.

Im Fall der Intraokularlinsen [IOL] trifft die dritte Form zu, wobei bei der Verkapselung Abstriche gemacht werden müssen. Einerseits fehlt aufgrund der vorderen Kapsulorhexis eine Leitschiene zur kompletten Verkapselung. Andererseits bietet sich durch die Linsenepithelzellen eine besondere Form der Verkapselung, die den Nachstar bildet. Sobald die IOL zur Implantation in das Kammerwasser gegeben wird adsorbiert sie eine Schicht aus Proteinen<sup>44</sup>, die sogenannten „host factors“.

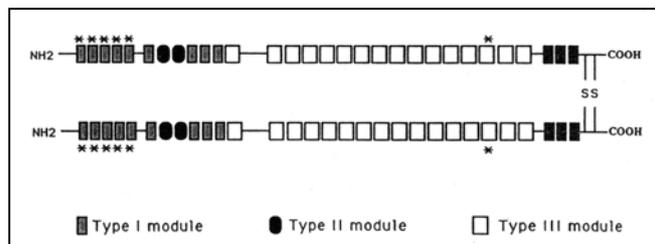
Hier findet eine echte Modifikation der Linsenoberfläche durch das Auge statt (Abb. 2.12). Kurz nach der Proteinadsorption untersuchen Neutrophile die Linsenoberfläche, bzw. die adsorbierten Proteine darauf. Falls keine Bakterien oder deren Endotoxine



**Abb. 2.12: Fremdkörperreaktion modifiziert nach BD Ratner**

detektiert werden, fällt die Zahl der Neutrophilen rasch wieder ab. Nach einem Tag finden sich Makrophagen auf dem Implantat, die versuchen, dieses zu phagozytieren und zu verdauen, was natürlich nicht praktikabel ist. Aufgrund dieser frustranen Phagozytose bilden die Makrophagen Riesenzellen, die nach zwei Tagen auf der IOL spaltlampenmikroskopisch gut nachweisbar sind. Die Kollagen-Kapsel, die bei anderen Implantaten nach drei Wochen nachweisbar ist, zeigt sich bei der IOL in Form der beginnenden Kapselbildung, die zum Nachstar führt.

Fibronektin ist der wichtigste „host factor“, also eines der Proteine, die beim Eintauchen der IOL in das Kammerwasser auf ihrer Oberfläche adsorbiert werden. Innerhalb von Minuten ist die gesamte IOL von Fibronektin beschichtet, was Ihre



**Abb. 2.13: Fibronektin, \* Bindungsstellen für S. aureus**

Oberflächeneigenschaften, z.B. die Hydrophobizität, entscheidend ändern kann.

Fibronectin ist ein Ankerprotein der extrazellulären Matrix, kommt aber in löslicher Form auch in jeder Körperflüssigkeit vor. Es ist ein dimeres Glycopeptid, das aus repetitiven Peptid-Modul-Ketten aufgebaut ist (Abb. 2.13). Domänen dieser Module bilden quasi Rezeptoren zur Adhäsion von Fibrin, Collagen, Integrinen oder auch Bakterien. In Abb. 2.13 sind beispielhaft die Bindungsstellen (\*) für *S. aureus* dargestellt. Linnola, Saika und Kanagawa stellten unabhängig voneinander Fibronectin auf IOL dar<sup>24,34,35,49</sup>. Vaudaux, Foster und Christensen wiesen Fibronectin eine Schlüsselrolle bei der bakteriellen Adhäsion an Implantaten zu<sup>8,13,55-58</sup>. Fibronectin wirkt hierbei aufgrund seiner Pseudo-Rezeptoren als Mediator zwischen Implantat-Oberfläche und Bakterium, und erhöht damit die bakterielle Adhäsions-Rate<sup>18</sup>.

### 2.5. Bakterielle Adhäsion an Intraokularlinsen

Jede bakterielle Kolonisation beginnt mit der Exposition eines Implantats gegenüber dem Bakterium<sup>8</sup>. Aufgrund von Massengesetzen gelangt immer ein kleiner Teil der Bakterien auf die Oberfläche, um hier anzuhafte (Abb. 2.14(A)). Diese erste Adhäsion wird durch sog. „unique sites“ begünstigt : kleine Unebenheiten oder lokale Änderungen der Hydrophobizität (in Abb. 2.14 als Krater dargestellt). Bei IOL könnte dies z.B. die Verankerungsstelle der Haptik in der Optik sein. Außerdem erleichtern

auf der Oberfläche adsorbiert Proteine wie Fibronectin die

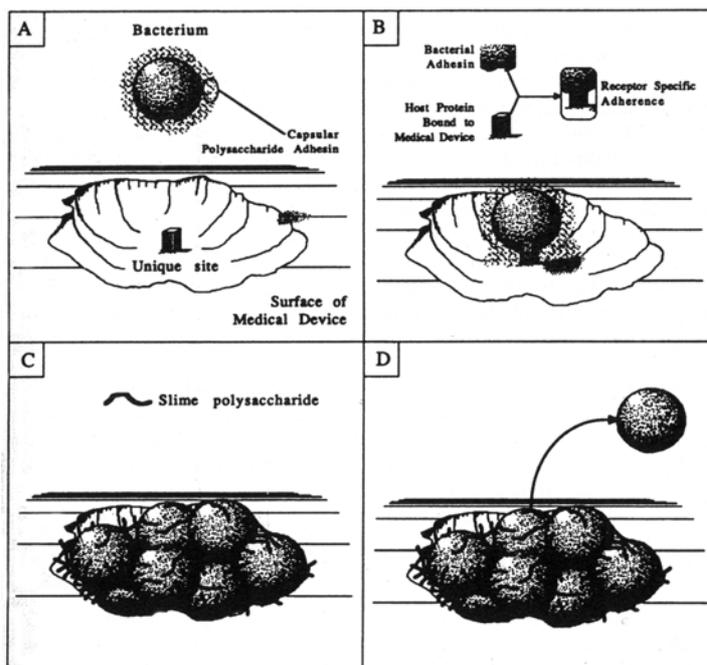


Abb. 2.14: bakterielle Adhäsion, siehe Text modifiziert nach Christensen

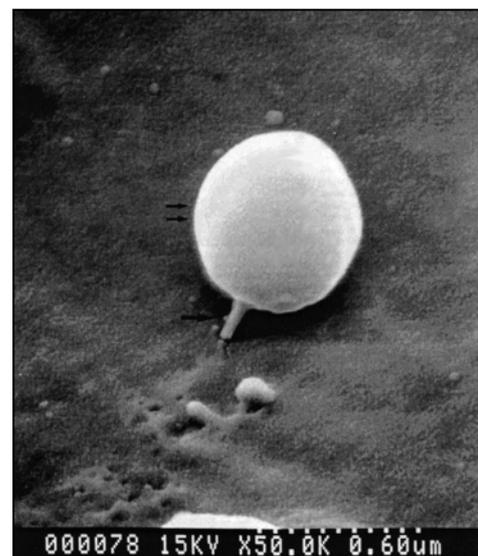


Abb. 2.15: „leg-like Appendage“ bei *S. epidermidis* nach Kodjikian

Adhäsion (Abb. 2.14(B)). Kodjikian beobachtete in dieser Situation bei *S. epidermidis* kleine Füßchen, sog „leg-like Appendages“, die er elektronenmikroskopisch nachweisen konnte (Abb. 2.15)<sup>27</sup>. Die adhärenen Bakterien beginnen sofort mit der Kolonisierung, indem sie sich teilen und Polysaccharid-Schleim produzieren. Dieser Schleim stabilisiert sowohl die Zell-Zell-Bindung, wie auch die Bindung zur IOL-Oberfläche (Abb. 2.14(C)). Aufgrund von phänotypischer Modulation werden schließlich Tochter-Zellen gebildet, die nicht mehr mit der Oberfläche verbunden sind. Diese driften an neue Stellen, um hier den ganzen Zyklus zu wiederholen (Abb. 2.14(D)). Implantate stellen hierbei für Bakterien eine besonders günstige Situation her, da in ihrem Umfeld ein lokaler Immundefekt besteht: Wie Vaudaux<sup>55</sup> beschrieb besteht in den ersten sechs Stunden nach Implantation eine Dysfunktion der Neutrophilen, sowie eine Verminderung des TNF-Levels. Danach folgt eine Reduktion der komplement-vermittelten Phagozytose, die bis zu 48 Stunden andauern kann.

## 2.6. Endophthalmitis nach Katarakt-Operation

Die Endophthalmitis stellt den katastrophalen Totalschaden nach Augenoperationen dar. Auftreten, Ausprägung und klinischer Verlauf hängen vom Infektionsweg, der Virulenz und Menge inokulierter Erreger, der Abwehrlage des Patienten und des Zeitpunktes der Untersuchung ab. Bei 29% bis 43% der Kataraktoperationen tritt intraokular eine Kontamination mit fakultativ pathogenen Bakterien der okulären Oberfläche ein, ohne dass sich daraus eine Endophthalmitis entwickelt<sup>11</sup>. Protektive Mechanismen, die als „Immunprivileg des Auges“ zusammengefasst wurden, sind insbesondere im vorderen Augenabschnitt effektiv, wirken als schützende Barriere und können Entzündungsreaktionen begrenzen. Wird dieses Privileg kompromittiert, z.B. durch infraoperativen Kapseldefekt mit Glaskörperverlust, erhöht sich das Endophthalmitisrisiko um das 14-fache<sup>7</sup>. Das Vollbild der Endophthalmitis ist definiert durch Schmerzen, Photophobie, Lidödem,

<b>Endophthalmitis Vitrectomy Study:</b>	
420 Patienten (1990 – 94)	
Alter (Ø)	75 Jahre
m:w	43:57
Diabetes	14%
Zeit post-OP	6 Tage
Schmerzen	75%
verschw. Sehen	> 90%
Visus < 1/40	86%
Visus LSP	26%

**Tab. 2.2: Patientenkollektiv der EVS**

Bindehautchemosis und –hyperämie, Hornhautödem und –präzipitate, Hypopyon, Vorderkammerreizzustand (Zellen, Tyndall) und zellige Glaskörperreaktionen.

Die bereits beschriebenen Verbesserungen an den IOL selbst, wie auch die Verbesserungen der chirurgischen Prozeduren haben die Inzidenz der postoperativen Endophthalmitis auf 0,05% bis 0,5%<sup>12,17</sup> gesenkt. Das klingt im ersten Moment niedrig, doch hat die Endophthalmitis Vitrectomy Study [EVS] gezeigt, dass 47% der betroffenen Patienten auch 12 Monate nach der Operation nicht über einen Visus von 0,5 kamen<sup>12</sup>. Die EVS war die größte Studie zur Erhebung der postoperativen Endophthalmitis. Sie wurde 1990 bis 1994 multizentrisch in den USA durchgeführt, und sollte die Indikation zur Vitrektomie und i.v.-Antibiose bei diesem Krankheitsbild klären. 420 Patienten wurden eingeschlossen, die Symptome einer Endophthalmitis innerhalb von 6 Wochen nach Linsenimplantation zeigten. In Tabelle 2.2 ist das Patientenkollektiv mit den registrierten Symptomen aufgestellt. Interessanterweise zeigte die EVS, dass der entscheidende Indikationsgeber der Ausgangsvisus des Patienten ist. Liegt er bei Lichtscheinprojektion (LSP) oder darunter ist eine sofortige Vitrektomie indiziert, sonst nicht. Die i.v.-Antibiose soll erstaunlicherweise keinen Einfluss auf den Verlauf haben; eine Lokalthherapie, bzw. die intravitreale Gabe von Steroiden und Antibiotika, soll ausreichen. Nach den Richtlinien der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft [DOG]<sup>7</sup> wird dieser Erkenntnis jedoch nicht Folge geleistet. Bei Verdacht auf eine Endophthalmitis soll sofort eine maximale i.v.-Antibiose gegeben werden, z.B. die Kombination von Vancomycin und Ceftazidim (Stufe III des Magdeburger Dreistufenplan<sup>6</sup>).

Tabelle 2.3 zeigt das Erregerspektrum verschiedener Studien<sup>12,17,19,53</sup>. Hier zeigt sich, dass *S. epidermidis* mit Abstand der häufigste Erreger der Endophthalmitis ist. Rechnet man die nicht identifizierten Erreger ab, liegt sein Anteil in der Studie von Heaven et al. sogar bei 55%, bei Shah et al bei 51%. Gründe für diese enorme Vorherrschaft sind die Kapsel-Adhäsine, sowie die Bildung der Polysaccharid-Kapsel, die *S. epidermidis* für die körpereigene Abwehr, wie auch für Antibiotika, schwer zugänglich macht (siehe 2.5).

Erreger	EVS	Heaven et al.	Hesse et al.	Shah et al.
<i>S. epidermidis</i> / CNS	47%	34%	50%	30%
<i>S. aureus</i>	16%	6,25%	7,1%	17%
<i>S. pneumoniae</i>		6,25%	10,7%	3,5%
<i>S. fecalis</i>				3,5%
<i>Propionibacterium sp.</i>	3%		3,1%	
<i>Pseudomonas aerug.</i>			10,7%	
<i>Proteus mirabilis</i>		12,5%		
<i>Enterococcus faecalis</i>			14,3%	5,3%
<i>Serratia sp.</i>				1,8%
<i>Chryseomonas luteola</i>			3,6%	
Kultur negativ / andere	3%	41%	0,5%	35%

**Tab. 2.3: Erregerspektrum verschiedener Studien**

## 2.7. Zielsetzung

Zielsetzung der vorgelegten Studie war es, den Einfluss des Milieus innerhalb des Auges auf die bakterielle Adhäsion von *S. epidermidis* an IOL zu untersuchen. Als Schlüsselfaktor wurde hierfür Fibronectin als wichtigster „host factor“ gewählt. Einige Linsenhersteller betreiben einen großen Aufwand bezüglich der Modifikation der Linsenoberflächen, wie z.B. die Beschichtung mit Heparin. Hierzu gibt es Studien, die die Vorteile dieser Modifikationen belegen sollen. Jedoch wird in keiner dieser Studien bedacht, dass auch das Auge im Rahmen der Fremdkörperreaktion selbst eine Modifikation der Linsen-Oberfläche vornimmt (s. 2.4). In der vorgelegten Studie werden deswegen zwei Ansätze parallel durchgeführt. Im ersten werden Intraokularlinsen [IOL] in einem Phosphat-Puffer mit radioaktiv markierten Bakterien inkubiert. Im zweiten werden die IOL vorher mit Fibronectin beschichtet, und dem Puffer werden 0,5 % Albumin zugesetzt, um das Kammerwasser zu simulieren. Schließlich werden nach mehrfacher Waschung über eine Strahlenmessung die relative bakterielle Adhäsion berechnet. Folgende Punkte sollen untersucht werden:

1. Einfluss der Linsenmaterialien auf die bakterielle Adhäsion
2. Einfluss von Fibronectin auf die bakterielle Adhäsion
3. Einfluss von Oberflächenmodifikationen auf die bakterielle Adhäsion

### 3. MATERIAL UND METHODIK

#### 3.1. Fibronektin - Albumin

Die beiden Ansätze des geplanten Versuches unterschieden sich in zwei Punkten:

1. Fibronektin-Beschichtung
2. Zusatz von 0,5% Albumin zum Adhäsions-Medium

Um zunächst den Effekt der einzelnen Faktoren auf die bakterielle Adhäsion festzustellen, wurden Versuchsreihen nach folgendem Schema an PMMA-Slides durchgeführt:

Ansatz	Bakterien	Inkubations-Medium
1	<i>S. aureus Newman</i>	PBS
2	<i>S. epidermidis Rp 62a</i>	PBS
3	<i>S. aureus Newman</i>	PBS + 0,5% Albumin
4	<i>S. epidermidis Rp 62a</i>	PBS + 0,5% Albumin
5	<i>S. aureus Newman</i>	PBS + 10 µg/ml Fibronektin
6	<i>S. epidermidis Rp 62a</i>	PBS + 10 µg/ml Fibronektin

Das Protokoll dieser Ansätze unterschied sich in der Vorbereitung der Bakterien, der Adhäsion und der Messung nicht von den Arbeitsschritten, die in Abschnitt 3.2. und 3.4. beschrieben sind, weswegen an dieser Stelle darauf verzichtet wird.

#### 3.2. Fibronektin-Konzentration - Gelatin

Um festzulegen welche Beschichtungen zur Simulation der intraokularen Situation sinnvoll sein würden, und welche Konzentrationen hier ideal seien, wurden vier Versuchsreihen durchgeführt. Fibronektin [FN] ist nicht das erste Molekül, das im Auge die IOL beschichtet. So erschien es sinnvoll, diese Vor-Beschichtungen durch ein Precoating mit Gelatin zu simulieren. Ebenfalls sollte die Fibronektin-

Konzentration bestimmt werden, die den größten Effekt auf die relative bakterielle Adhäsion haben würde. Im Wesentlichen kam eine Methode zur Anwendung die Vaudaux et al. 1984 bereits vorgestellt haben<sup>58</sup>. In einer späteren Arbeit von Vaudaux et al. berichtet er: „... quantity of surface-bound [FN] ... increases linearly in the range of protein concentration from 0,125 to 1,0 µg/ml“<sup>57</sup>. Da bei früheren Proben eine Konzentration von 10 mg/ml Fibronectin verwendet wurde, wurde eine Verdünnungsreihe von 0,25 bis 8,0 mg/ml Fibronectin getestet. Hierzu wurden quadratische PMMA-Plättchen [Coverslips] mit 7 mm Kantenlänge unterschiedlich beschichtet, jeweils mit *S. aureus* oder *S. epidermidis* inkubiert und die relative Adhärenz bestimmt.

Die vier Ansätze sahen folgendermaßen aus:

1. *S. aureus* / Coverslip mit Gelatin und Verdünnungsreihe Fibronectin
2. *S. aureus* / Coverslip mit Verdünnungsreihe Fibronectin
3. *S. epidermidis* / Coverslip mit Gelatin und Verdünnungsreihe Fibronectin
4. *S. epidermidis* / Coverslip mit Verdünnungsreihe Fibronectin

Die Coverslips wurden vorbereitet, indem sie für 10 Minuten in 1 ml vergälltem Alkohol bei 37°C desinfiziert wurden. Anschließend wurde der Alkohol abgesogen, und die Coverslips im Sterilisator bei 50°C ca. 30 Minuten getrocknet.

### **Gelatin Precoating**

Eine Gelatin-Konzentration von 1 mg/ml PBS-Puffer (Phosphate Balanced Saline) sollte eine gesättigte Lösung zur Gelatine Beschichtung darstellen. Da die im Labor vorhandene Stock-Lösung eine Konzentration von 20 mg/ml aufwies, wurden 2 ml dieser Lösung auf 40 ml PBS verdünnt. Die Coverslips wurden hierin jeweils für eine Stunde bei 20°C inkubiert, und danach kurz in PBS vorsichtig gewaschen.

### **Fibronectin Coating**

Um die wirkungsvollste Fibronectin-Konzentration zu erarbeiten wurden folgende Ansätze getestet: 0,25 µg/ml; 0,5 µg/ml; 1,0 µg/ml; 2,0 µg/ml; 4,0 µg/ml; 8,0 µg/ml. Coverslips ohne jede Beschichtung und Coverslips nur Gelatin-beschichtet sollten ebenfalls getestet werden.

Für eine Testreihe wurde insgesamt eine Summe von 15,75 µg benötigt. Die FN-Stock-Lösung hatte eine Konzentration von 4,41 mg/ml. 1µg FN entsprach somit 0,227 µl der Lösung. 20 µg entsprachen 4.54 µl. Da jeder Ansatz doppelt ausgeführt werden sollte wurden pro Vor-Versuch 9,08 µl der FN-Stock-Lösung benötigt. Diese wurden auf 400 µl PBS aufgefüllt, wodurch 40 µg FN 400 µl der Lösung entsprachen.

Folgende Ansätze wurden pipettiert:

2x	8,00 µg	:	80 µl FN	(+ 920,0 µl = 1000 µl)
2x	4,00 µg	:	40 µl FN	(+ 960,0 µl = 1000 µl)
2x	2,00 µg	:	20 µl FN	(+ 980,0 µl = 1000 µl)
2x	1,00 µg	:	10 µl FN	(+ 990,0 µl = 1000 µl)
2x	0,50 µg	:	5 µl FN	(+ 995,0 µl = 1000 µl)
2x	0,25 µg	:	2,5 µl FN	(+ 997,5 µl = 1000 µl)
2x	0,00 µg	:	0 µl FN	(+ 1000 µl = 1000 µl)

In jedem Ansatz wurde ein vorbereitetes Coverslip für eine Stunde bei 37°C inkubiert, danach der Überstand abgesogen. Die beschichteten Coverslips konnten bei Bedarf über Nacht im Kühlschrank gelagert werden.

### **Bakterien-Stämme**

Für die Versuche wurde der *S. aureus* – Labor-Stamm Cow 1 benutzt, da seine Adhäsionseigenschaften bereits sehr gut beschrieben sind. Der *S. epidermidis* – Labor-Stamm Rp 62a wurde benutzt, da von diesem bekannt ist, dass er eine starke Glycocalix-Kapsel ausbildet, was für die Pathogenese der Endophthalmitis von großer Bedeutung ist<sup>16,28</sup>.

Zunächst wurde eine Übernachtkultur der zu testenden Bakterien in 5 ml BHI-Bouillon bei 37°C angelegt. 10µl von Cow1, bzw. 40µl von Rp 62a wurden in einer 3h-Kultur mit 50 µl <sup>3</sup>H-Thymidin und 1 ml Müller-Hinton-Bouillon bei 27°C im Schüttel-Wasserbad bebrütet. Jeweils 1 ml dieser Kultur wurde in ein Eppendorf-Cap transferiert und bei 10.000 UpM für 2 Minuten zentrifugiert. Das so entstandene Pellet wurde in 1 ml PBS gewaschen, erneut zentrifugiert und in 1 ml PBS wieder resuspendiert.

Je 10 µl der gewaschenen und resuspendierten Kultur wurden in je 3 Szinti-Vials gegeben und 2 ml Szintilationsflüssigkeit zugefügt, um die cpm im β-Counter zu bestimmen.

Zur Bestimmung der Keimzahl wurde die Kultur außerdem in PBS verdünnt ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ) und jeweils 100 µl dieser Verdünnungen auf Müller-Hinton-Platten ausgestrichen. Nach 24h bei 37°C wurden die cfu gezählt, und auf diese Weise die Keimzahl bestimmt.

Im Folgenden sind noch einmal die vier Ansätze detailliert dargestellt:

Ansatz	Bakterien	Gelatin	Fibronektin [µg/ml]						
			0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
1	<i>Cow 1</i>	Ja	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
2	<i>Cow 1</i>	Nein	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
3	<i>Rp 62a</i>	Ja	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00
4	<i>Rp 62a</i>	Nein	0,00	0,25	0,50	1,00	2,00	4,00	8,00

### Bakterien-Adhäsion

In 960 µl PBS (+Ca/+Mg) wurden 40 µl Bakterien Resuspension gemischt. In diese Lösung wurde jeweils ein vorbereitetes Coverslip gegeben und das Ganze bei 37°C eine Stunde im Schüttel-Wasserbad inkubiert. Danach wurde der Überstand abgesaugt. Nach zweimaligem vorsichtigem Waschen wurden die Coverslips zur Messung in Szinti-Vials transferiert und 2 ml Szintilationsflüssigkeit (Rotiszint<sup>R</sup> eco plus, Roth GmbH, Karlsruhe) hinzugegeben.

### Messung

Die Messung der bakteriellen Adhäsion fand in einem Szintilations-Zähler statt. Hier wurden von jeder Probe 5 Minuten lang die radioaktiven Zerfälle pro Minute (cpm = counts per minute) gezählt. Neben den oben genannten Proben der Bakterien suspension wurde jedes mal auch eine Leerprobe gemessen. Außerdem wurde eine definierte Anzahl von Wischproben gemessen, um zu gewährleisten,

dass das Arbeitsumfeld frei von radioaktiver Kontamination blieb. Die relative bakterielle Adhäsion wurde nach folgendem Vorgehen berechnet:

Zunächst wurde der Mittelwert der drei Bakterienproben abzüglich der Hintergrundstrahlung (Leerprobe) berechnet. Da sich in den genannten Bakterienproben 10µl, in den Adhäsions-Ansätzen jedoch 40µl der Suspension befanden wurde folgende Formel aufgestellt:

$$\text{Relative Adhäsion} = 0,25 * \text{Adhäsionsprobe} / \text{Bakterienprobe},$$

wobei Adhäsionsprobe und Bakterienprobe jeweils zuvor die Hintergrundstrahlung abgezogen worden ist. Die Relative Adhäsion wurde für jedes Coverslip berechnet und dann Mittelwerte für jeden Ansatz berechnet.

## **Zwischen-Ergebnisse**

### ***Gelatin***

Die Vorversuche zeigten, dass eine Vorbeschichtung mit Gelatin die bakterielle Adhäsion zu stark mindert. Eine Abfolge verschiedener Beschichtungen, wie sie im Körper stattfindet, scheint im Reagenzglas schwer zu simulieren sein. Deswegen wurde in weiteren Versuchen auf diesen Schritt verzichtet.

### ***FN-Reihen***

Bei *S. epidermidis* Rp 62a wird eine maximale relative bakterielle Adhäsion bereits bei 2 µg/ml FN-Lösung erreicht. Dieser Wert wurde für die Fibronectin-Beschichtung der IOL festgelegt.

## **3.3. Bakterielle Adhäsion an Intraokularlinsen**

### **Intraokularlinsen**

Elf verschiedene Intraokularlinsen [IOL] wurden von drei Herstellern zur Verfügung gestellt, wofür ein Kooperationsvertrag zwischen den Firmen und der Universität geschlossen wurde. Es kamen Linsen aus Acryl, PMMA und Silikon zur Verwendung. Zwei Modelle waren heparinbeschichtet, eine Silikonlinse war mit Polysacchariden beschichtet. Im einzelnen waren es folgende Typen:

Material	Hersteller	IOL	Haptik	∅ Optik	∅ gesamt	Polymer[Oberfl. Mod.]
Acrylat	*Acri.Tec	49S	Platte	5,0 mm	11,00 mm	HEMA / MMA
Acrylat	*Acri.Tec	43C-5	1-stückig	6,0 mm	10,50 mm	HEMA / MMA
Acrylat	AMO	AR-40e	3-stückig	6,0 mm	13,00 mm	EA / EMA / TFEMA
Acrylat	Corneal	600 SE	3-stückig	6,0 mm	13,00 mm	HEMA / MMA
Acrylat	Corneal	ACR 6D SE prima	1-stückig	6,0 mm	12,00 mm	HEMA / MMA - [HSM]
PMMA	*Acri.Tec	14C	3-stückig	7,0 mm	10,50 mm	PMMA
PMMA	Corneal	Phac 57 T	3-stückig	5,7 mm	12,50 mm	PMMA
PMMA	Corneal	New Six prima	3-stückig	6,0 mm	12,75 mm	PMMA - [HSM]
Silikon	*Acri.Tec	73N-AL	3-stückig	6,0 mm	12,50 mm	PDMS
Silikon	*Acri.Tec	73N-AL/B	3-stückig	6,0 mm	12,50 mm	PDMS - [PSM]
Silikon	AMO	Clariflex B	3-stückig	6,0 mm	13,00 mm	PDMDPS

Alle Linsen wurden steril in ihren Original-Verpackungen geliefert. Die einzige Ausnahme bildete hier die Corneal ACR 6D SE prima. Sie wurde als „Reject“ steril verpackt geliefert. Von jedem Linsen-Typ wurden pro Ansatz 8 Linsen getestet. Hier bildete die \*Acri.Tec 14C die Ausnahme. Von dieser Linse wurden pro Ansatz nur 7 Linsen getestet, da anfangs nur 15 Stück zur Verfügung standen.

Von besonderem Interesse waren drei Paarungen innerhalb des Kollektivs:

Die Corneal 600 SE ist eine 3-stückige 6 mm-Linse aus hydrophilem Acrylat. Ihre Nachfolgerin, die aus dem selben Material besteht, trägt die Bezeichnung ACR 6D SE. Die ACR 6D SE prima unterscheidet sich von dieser Linse durch eine Oberflächenbeschichtung aus Heparin.

Eine ähnliche Paarung findet sich unter den PMMA Linsen noch einmal: Die Corneal New Six prima ist die heparinbeschichtete Nachfolgerin der Corneal Phac 57 T. Vom verwendeten Material her unterscheiden sich diese beiden Linsen nur durch das Heparin.

Die dritte Paarung findet sich unter den Silikon-Linsen: \*Acri.Tec hat mit der 73N-AL/B einen Prototypen zur Verfügung gestellt. Hier wurde die Oberfläche der 73N-AL durch eine Beschichtung mit Polysacchariden modifiziert.

### Versuchsaufbau

Jeweils acht (bzw. sieben) Intraokularlinsen pro Linsen-Typ wurden in zwei verschiedenen Ansätzen untersucht. Aufgrund der Menge der zu untersuchenden

IOL wurde der Versuch auf vier Durchgänge aufgeteilt. Dementsprechend wurden pro Versuchstag 2 IOL im ersten Ansatz und 2 IOL im zweiten Ansatz getestet:

### **1. Ansatz**

Um die Bakterien-Adhäsion auf dem Weg von der Verpackung bis zum Auge zu untersuchen, wurden die IOL im ersten Ansatz direkt aus der Verpackung in die Inkubation mit den  $^3\text{H}$ -markierten Bakterien ohne Albumin gegeben. Nach einer Waschung wurde die relative bakterielle Adhäsion im Szintillationszähler bestimmt.

### **2. Ansatz**

Um die Bakterien-Adhäsion im Auge zu simulieren, wurden die IOL zunächst mit Fibronectin beschichtet. So behandelt wurden sie in die Inkubation mit den  $^3\text{H}$ -markierten Bakterien gegeben. Um das Kammerwasser zu simulieren wurde der Inkubationslösung in diesem Ansatz 5% Albumin zugesetzt. Nach einer Waschung wurde auch in diesem Ansatz die relative bakterielle Adhäsion im Szintillationszähler bestimmt.

### **Fibronectin-Beschichtung**

Wie sich in den Vorversuchen gezeigt hatte, lag die ideale Fibronectin-Konzentration für die Beschichtung bei 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  PBS. Bei 11 IOL-Typen und 2 IOL pro Ansatz wurden  $2 * 11 * 2 = 44$   $\mu\text{g}$  Fibronectin benötigt. Sicherheitshalber wurde von 50  $\mu\text{g}$  ausgegangen.

Wie schon im Vorversuch berichtet, enthielt die vorhandene Fibronectin-Stocklösung eine Konzentration von 4,41  $\text{mg}/\text{ml}$ .

$$\begin{aligned} 4410 \mu\text{g} &= 1000 \mu\text{l} \\ 1 \mu\text{g} &= 0,227 \mu\text{l} \\ 50 \mu\text{g} &= 11,35 \mu\text{l} \end{aligned}$$

11,5  $\mu\text{l}$  wurden der FN-Stocklösung entnommen, mit 488,5  $\mu\text{l}$  PBS auf 500  $\mu\text{l}$  aufgefüllt, sodass 50  $\mu\text{g}$  FN in etwa 500  $\mu\text{l}$  der Lösung entsprachen.

In 22 sterilen Glas-Röhrchen jeweils 20 µl dieser Lösung 980 µl PBS zugegeben. In jeden Ansatz wurde eine sterile IOL gegeben, und das Ganze für 1 Stunde bei 37°C inkubiert.

Anschließend wurde der Überstand abgezogen.

## **Bakterien**

Bereits am Vortag wurde eine Übernachtskultur von *S. epidermidis Rp 62a* in 3 ml BHI-Bouillon bei 37°C angelegt. 40µl dieser Kultur wurden in einer 3h-Kultur mit 50 µl <sup>3</sup>H-Thymidin und 1 ml Müller-Hinton-Bouillon bei 27°C im Schüttel-Wasserbad bebrütet. Hiervon wurde 1 ml dieser in ein Eppendorf-Cap transferiert und bei 10.000 UpM für 2 Minuten zentrifugiert. Das so entstandene Pellet wurde in 1 ml PBS gewaschen, erneut zentrifugiert und in 1 ml PBS wieder resuspendiert.

Wieder wurden je 10 µl der gewaschenen und resuspendierten Kultur in je 3 Szintivials gegeben und 2 ml Szintillationsflüssigkeit zugefügt, um die cpm im β-Counter zu bestimmen.

Zur Bestimmung der Keimzahl wurde die Kultur in PBS verdünnt ( $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ) und jeweils 100 µl dieser Verdünnungen auf Müller-Hinton-Platten ausgestrichen. Nach 24h bei 37°C wurden die cfu gezählt, und auf diese Weise die Keimzahl bestimmt.

## **Bakterien-Adhäsion**

### **1. Ansatz**

In 960 µl PBS (+Ca/+Mg) wurden 40 µl Bakterien Resuspension gemischt. In diese Lösung wurde jeweils eine sterile IOL gegeben und das Ganze bei 37°C eine Stunde im Schüttel-Wasserbad inkubiert. Danach wurde der Überstand abgesaugt. Nach zweimaligem vorsichtigem Waschen wurden die Coverslips zur Messung in Szintivials transferiert und 2 ml Szintillationsflüssigkeit (Rotiszint<sup>R</sup> eco plus, Roth GmbH, Karlsruhe) hinzugegeben.

## 2. Ansatz

In 960 µl PBS (+Ca/+Mg) plus 5% BSA (bovines Serum-Albumin) wurden 40 µl Bakterien Resuspension gemischt. In diese Lösung wurde jeweils eine FN-beschichtete IOL gegeben und das Ganze bei 37°C eine Stunde im Schüttel-Wasserbad inkubiert. Danach wurde der Überstand abgesaugt. Nach zweimaligem vorsichtigem Waschen wurden die Coverslips zur Messung in Szinti-Vials transferiert und 2 ml Szintillationsflüssigkeit hinzugegeben.

## Messung

Die Messung der bakteriellen Adhäsion fand in einem Szintillations-Zähler (Wallac 1410, liquid scintillation counter) statt. Hier wurden von jeder Probe 5 Minuten lang die radioaktiven Zerfälle pro Minute (cpm = counts per minute) gezählt. Neben den oben genannten Proben der Bakteriensuspension wurde jedes mal auch eine Leerprobe gemessen. Außerdem wurde eine definierte Anzahl von Wischproben gemessen, um zu gewährleisten, dass das Arbeitsumfeld frei von radioaktiver Kontamination blieb. Die relative bakterielle Adhäsion wurde nach folgendem Vorgehen berechnet:

Zunächst wurde der Mittelwert der drei Bakterienproben abzüglich der Hintergrundstrahlung (Leerprobe) berechnet. Da sich in den genannten Bakterienproben 10µl, in den Adhäsions-Ansätzen jedoch 40µl der Suspension befanden wurde folgende Formel aufgestellt:

$$\text{Relative Adhäsion} = 0,25 * \text{Adhäsionsprobe} / \text{Bakterienprobe},$$

wobei Adhäsionsprobe und Bakterienprobe jeweils zuvor die Hintergrundstrahlung abgezogen worden ist. Die Relative Adhäsion wurde für jede IOL berechnet und dann Mittelwerte für jeden Ansatz berechnet.

## **Statistik**

Um die Signifikanz der Ergebnisse zu prüfen, wurde zunächst eine Varianzanalyse innerhalb der beiden Ansätze durchgeführt. Für die Acrylat-Linsen wurde die AMO AR40e als Standard gewählt, da diese in der Homburger Univ.-Augenklinik zu der Zeit der Versuche am häufigsten eingesetzt wurde. T-Tests wurden genutzt um Ergebnisse dieser Linse mit denen der anderen Acrylat-Linsen zu vergleichen, wie auch um die anderen IOL innerhalb ihrer Gruppen miteinander zu vergleichen. Weiterhin wurden T-Tests durchgeführt um den Effekt von FN/Albumin für jeden Linsentyp zu prüfen. Schließlich wurde dieser Test angewendet, um den Einfluss der vorbeschichteten Linsenpaare (Heparin/Polysaccharide) zu bewerten.

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1. Fibronektin - Albumin

In diesem ersten Versuch sollten die einzelnen Effekte von Fibronektin [FN] und Albumin auf die bakterielle Adhäsion untersucht werden. Tabelle 4.1. zeigt die Ergebnisse.

Ansatz	Bakterien	Medium	Rel. Bakt. Adh.	SEM
1	<i>S. aureus Newman</i>	PBS	2,84%	0,46%
2	<i>S. epidermidis Rp 62a</i>	PBS	2,87%	0,33%
3	<i>S. aureus Newman</i>	PBS / Albumin	0,09%	0,02%
4	<i>S. epidermidis Rp 62a</i>	PBS / Albumin	0,13%	0,03%
5	<i>S. aureus Newman</i>	PBS / Fibronektin	3,14%	0,35%
6	<i>S. epidermidis Rp 62a</i>	PBS / Fibronektin	4,39%	0,29%

Tabelle 4.1.

Wie Abb. 4.1. zeigt bewirkt Albumin bei *S. aureus Newman* eine hoch signifikante Reduktion der bakteriellen Adhäsion an den PMMA-Slides (\*\*\*,  $p = 0,004$ ). FN dagegen steigert die Adhäsion nicht signifikant (n.s.,  $p = 0,66$ ).

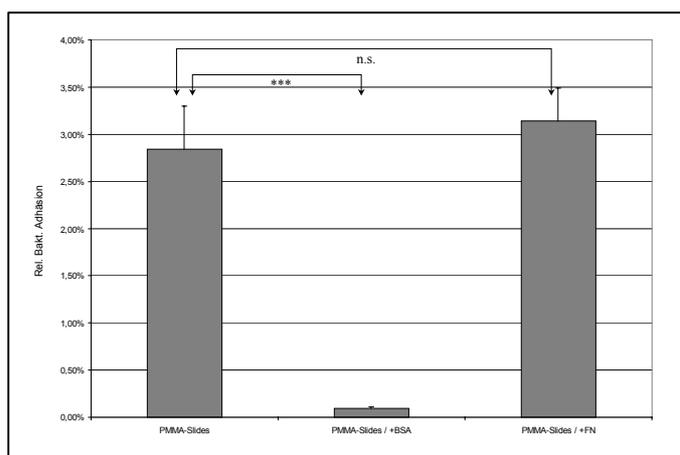


Abb. 4.1.: Einfluss von FN und Albumin auf bakt. Adhäsion bei *S. aureus Newman*

Auch bei *S. epidermidis Rp62a* senkt Albumin, wie Abb. 4.2. zeigt, die Adhäsion hoch signifikant (\*\*\*,  $p = 0,001$ ). FN steigert die Adhäsion dagegen signifikant (\*\*,  $p = 0,026$ ).

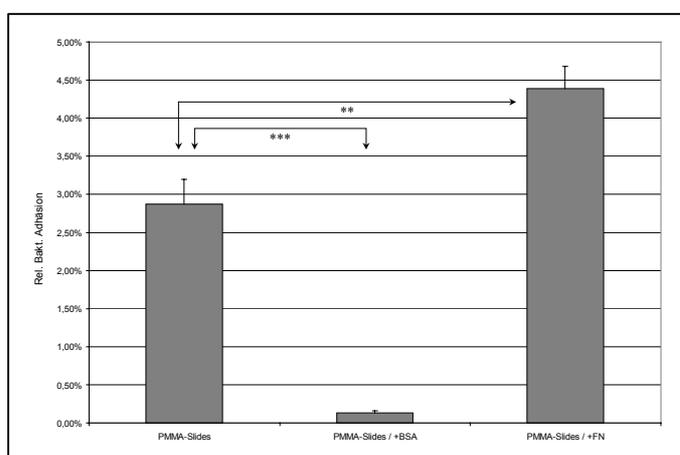


Abb. 4.2.: Einfluss von FN und Albumin auf bakt. Adhäsion bei *S. epidermidis Rp62a*

## 4.2. Fibronektin-Konzentration - Gelatin

### Gelatin

Die Versuche zeigten, dass eine Vorbeschichtung mit Gelatin die bakterielle Adhäsion zu stark mindert. Eine Abfolge verschiedener Beschichtungen, wie sie im Körper stattfindet, scheint im Reagenzglas schwer zu simulieren sein. Deswegen wurde im Hauptversuch auf diesen Schritt verzichtet.

### FN-Reihen

Für *S. aureus* Cow1 bestätigt sich die Aussage von Vaudaux, dass die bakterielle Adhäsion bis zu einer Konzentration von 10 µg/ml linear ansteigt (Abb. 4,4). Bei *S. epidermidis* Rp 62a wird eine maximale relative bakterielle Adhäsion bereits bei 2 µg/ml FN-Lösung erreicht. Dieser Wert wurde für die Fibronektin-Beschichtung der IOL festgelegt (Abb. 4.6).

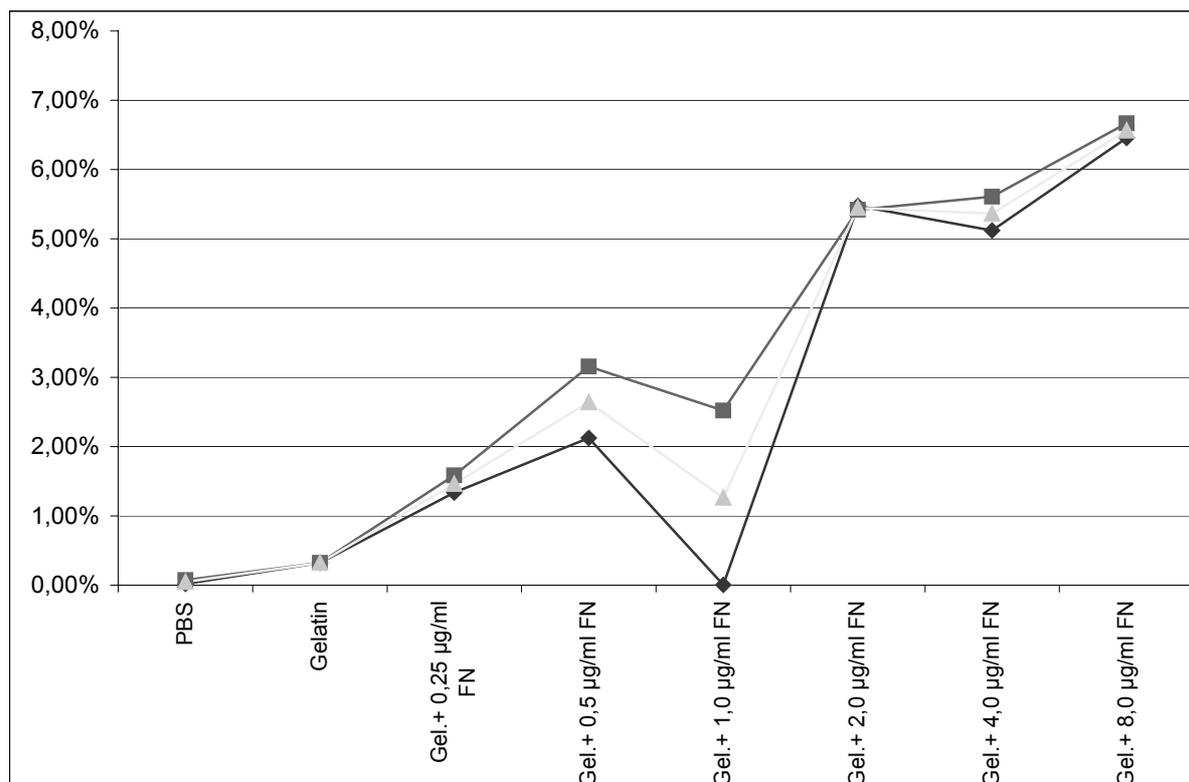


Abb. 4.3: Rel. bakt. Adhäsion bei Cow 1 abhängig von FN- Konzentration mit Gelatin

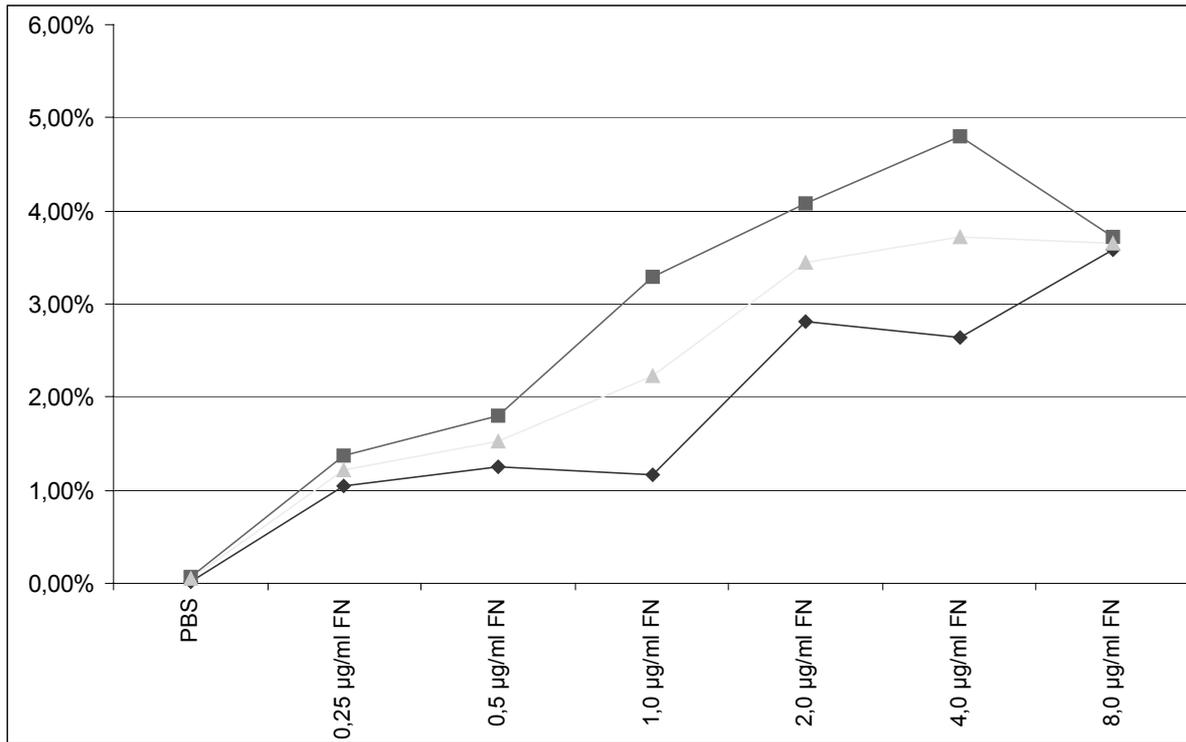


Abb. 4.4: Rel. bakt. Adhäsion bei Cow 1 abhängig von FN- Konzentration ohne Gelatin

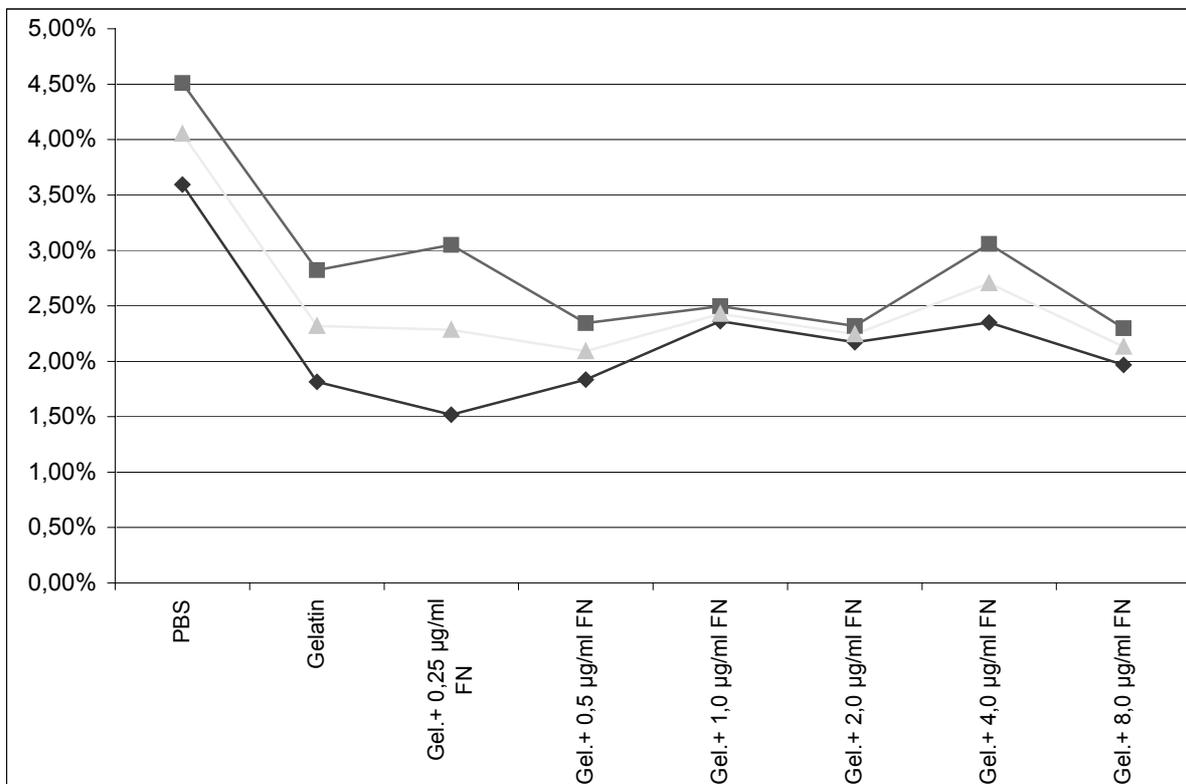


Abb. 4.5: Rel. bakt. Adhäsion bei Rp 62a abhängig von FN- Konzentration mit Gelatin

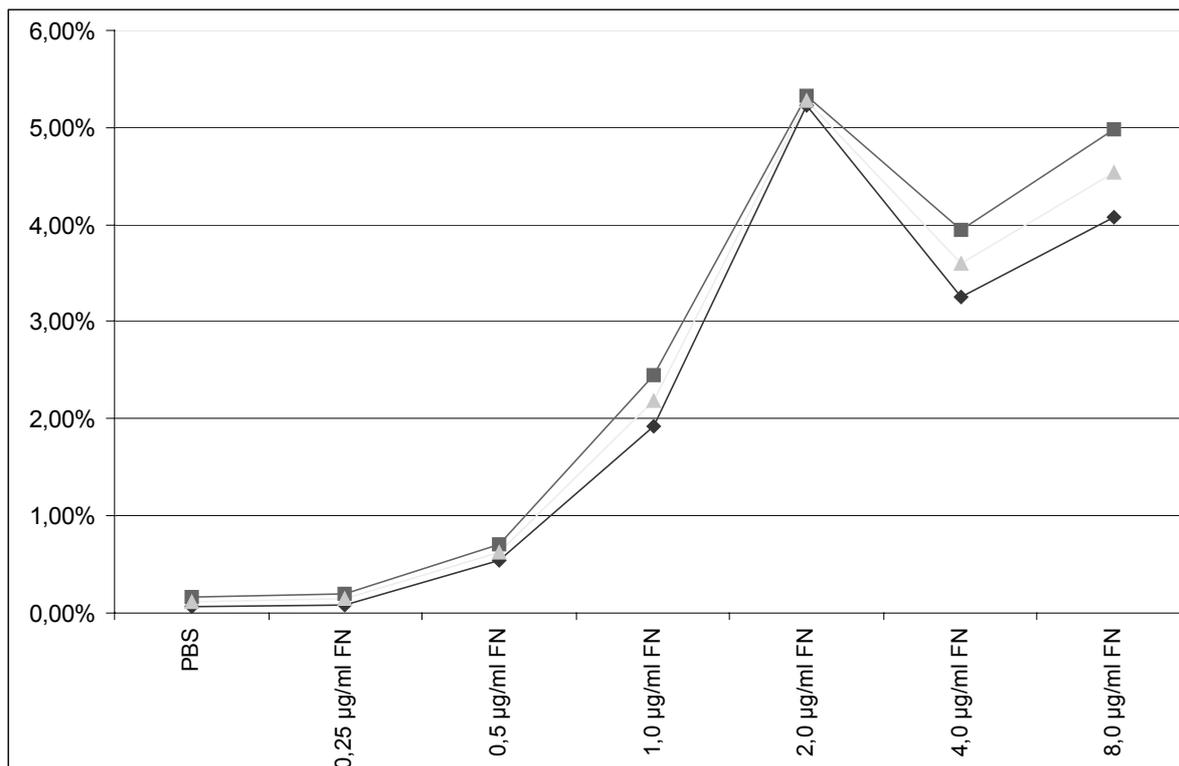


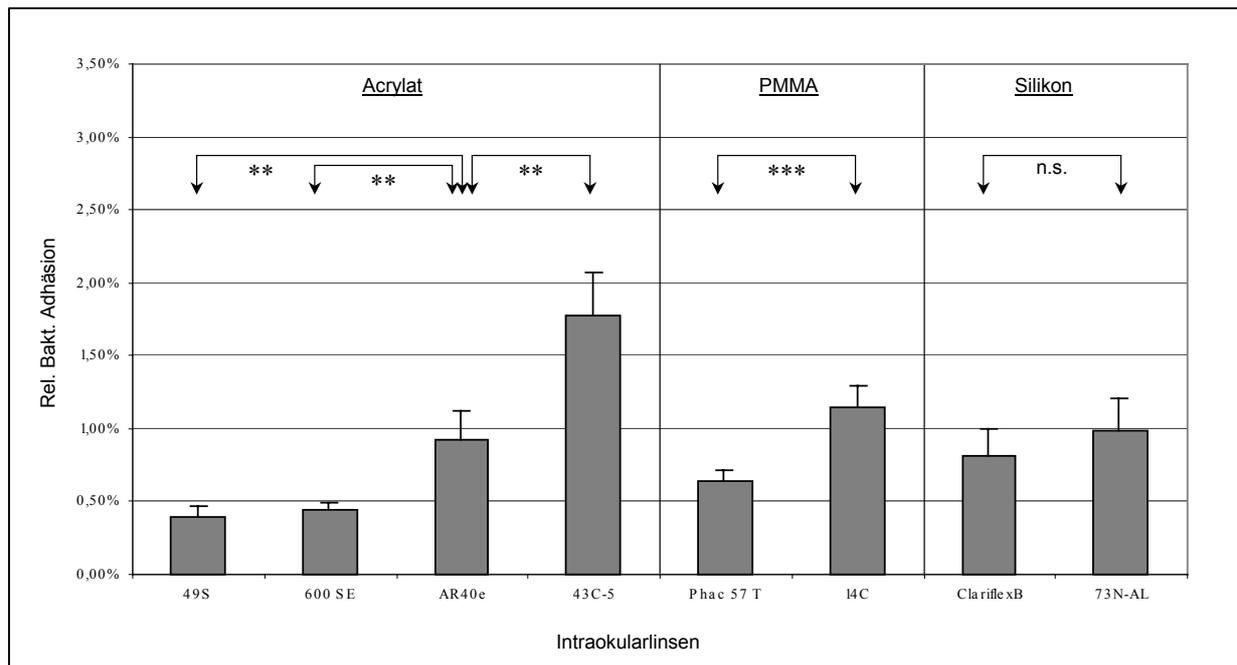
Abb. 4.6: Rel. bakt. Adhäsion bei *Rp 62a* abhängig von FN- Konzentration ohne Gelatin

### 4.3. Bakterielle Adhäsion an Intraokularlinsen

Material	Hersteller	IOL	Rel. bakt. Adhäsion (+ SEM)	
			Ansatz I: original IOL	Ansatz II: FN-beschichtet
Acrylat	*Acri.Tec	49S	0,40 % (0,07 %)	1,26 % (0,21 %) (***)
Acrylat	*Acri.Tec	43C-5	1,77 % (0,30 %)	3,27 % (0,48 %) (**)
Acrylat	AMO	AR 40e	0,92 % (0,20 %)	1,98 % (0,24 %) (***)
Acrylat	Corneal	600 SE	0,44 % (0,05 %)	0,87 % (0,10 %) (***)
Acrylat	Corneal	ACR 6D SE prima	0,29 % (0,02 %)	1,05 % (0,08 %) (***)
PMMA	*Acri.Tec	14C	1,15 % (0,14 %)	1,81 % (0,20 %) (**)
PMMA	Corneal	Phac 57 T	0,64 % (0,08 %)	1,36 % (0,15 %) (***)
PMMA	Corneal	New Six prima	0,48 % (0,08 %)	1,09 % (0,12 %) (***)
Silikon	*Acri.Tec	73N-AL	0,98 % (0,23 %)	1,62 % (0,22 %) (n.s.)
Silikon	*Acri.Tec	73N-AL/B	0,18 % (0,02 %)	0,54 % (0,06 %) (***)
Silikon	AMO	Clariflex B	0,81 % (0,19 %)	1,96 % (0,15 %) (n.s.)

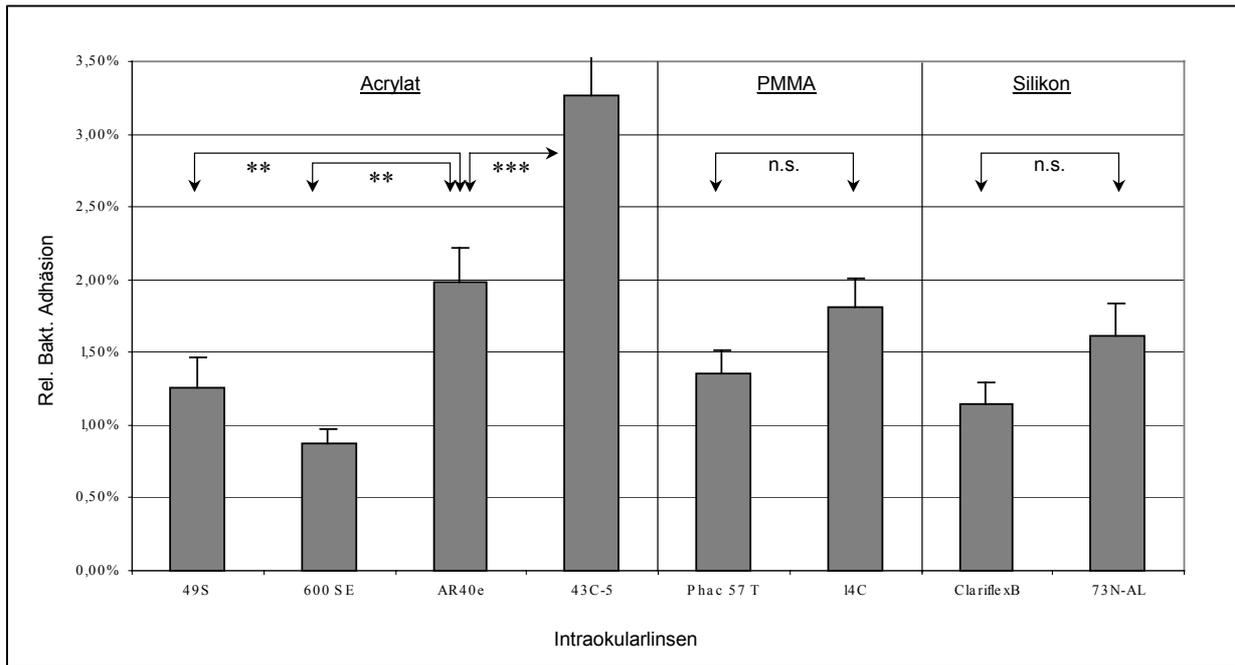
**Tabelle 4.2: Relative bakterielle Adhäsion (+ SEM) aller getesteten IOL. Die Ergebnisse aller IOL wurden durch die Fibronektin (FN) - Beschichtung erhöht. (n.s. = nicht signifikant; \*\* = signifikant; \*\*\* = hoch signifikant)**

In Tabelle 4.2 sind die Ergebnisse aller getesteten IOL in beiden Ansätzen zusammengefasst. In Abb. 4.8 und 4.9 werden die Ergebnisse der Ansätze verbildlicht. Die Varianzanalyse des ersten Ansatzes ergab  $F = 8,88$ ;  $p < 0,001$ . Die des zweiten Ansatzes ergab  $F = 11,92$ ;  $p < 0,001$ . Damit war die Voraussetzung erfüllt, weitere statistische Analysen vorzunehmen.



**Abb. 4.7: Bakterielle Adhäsion an original IOL, Ansatz I (\*\* = signifikant, \*\*\* = hoch signifikant, n.s. = nicht signifikant)**

Innerhalb der Acrylat-Linsen wurde die AMO AR40e als Standard gewählt, da diese in der Homburger Univ.-Augenklinik zu der Zeit der Versuche am häufigsten eingesetzt wurde. Im Vergleich zu dieser Linse erzielten alle Acrylat-Linsen signifikant unterschiedliche Ergebnisse. An der \*Acri.Tec 49S und der Corneal 600SE adhärten signifikant weniger Bakterien, an der \*Acri.Tec 43C-5 signifikant mehr. Unter den PMMA-Linsen blieben an der \*Acri.Tec14C hoch signifikant mehr Bakterien haften als an der Corneal Phac57T. Unter den beiden Silikon-Linsen ergab sich kein signifikanter Unterschied. Nach den Materialien zusammengefasst zeigten sich keine Signifikanzen. Acrylat erzielte mit 0,88% das niedrigste Ergebnis, gefolgt von PMMA mit 0,89% und Silikon mit 0,895%.

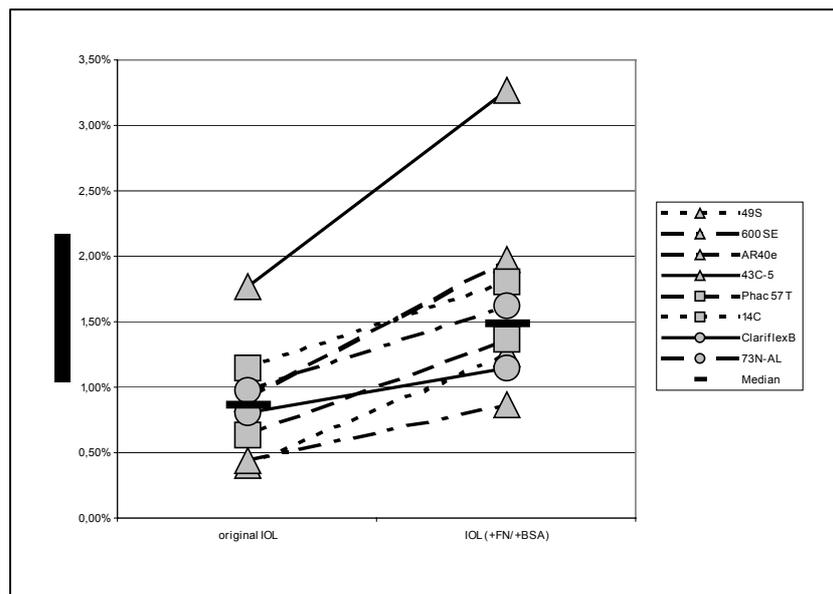


**Abb. 4.8: Bakterielle Adhäsion an FN-beschichteten IOL, Ansatz II (\*\* = signifikant, \*\*\* = hoch signifikant, n.s. = nicht signifikant)**

Nach der FN-Beschichtung liegt das gesamte Adhäsions-Niveau in Ansatz II deutlich höher als in Ansatz I. Während die \*Acri.Tec 49S und die Corneal 600SE wieder signifikant niedrigere Ergebnisse zeigen als die AMO AR40e, erzielt die \*Acri.Tec 43C-5 diesmal sogar ein hoch signifikant höheres Ergebnis. Innerhalb der PMMA-Linsen, wie auch unter den Silikon-Linsen, ergab sich in diesem Ansatz kein signifikanter

Unterschied. Wenn auch nicht signifikant, zeigte jetzt Silikon mit 1,385% die geringste bakterielle Adhäsion, gefolgt von PMMA mit 1,585% und Acrylat mit 1,845%.

Bei allen IOL-Typen bewirkte die FN-Beschichtung eine Steigerung der



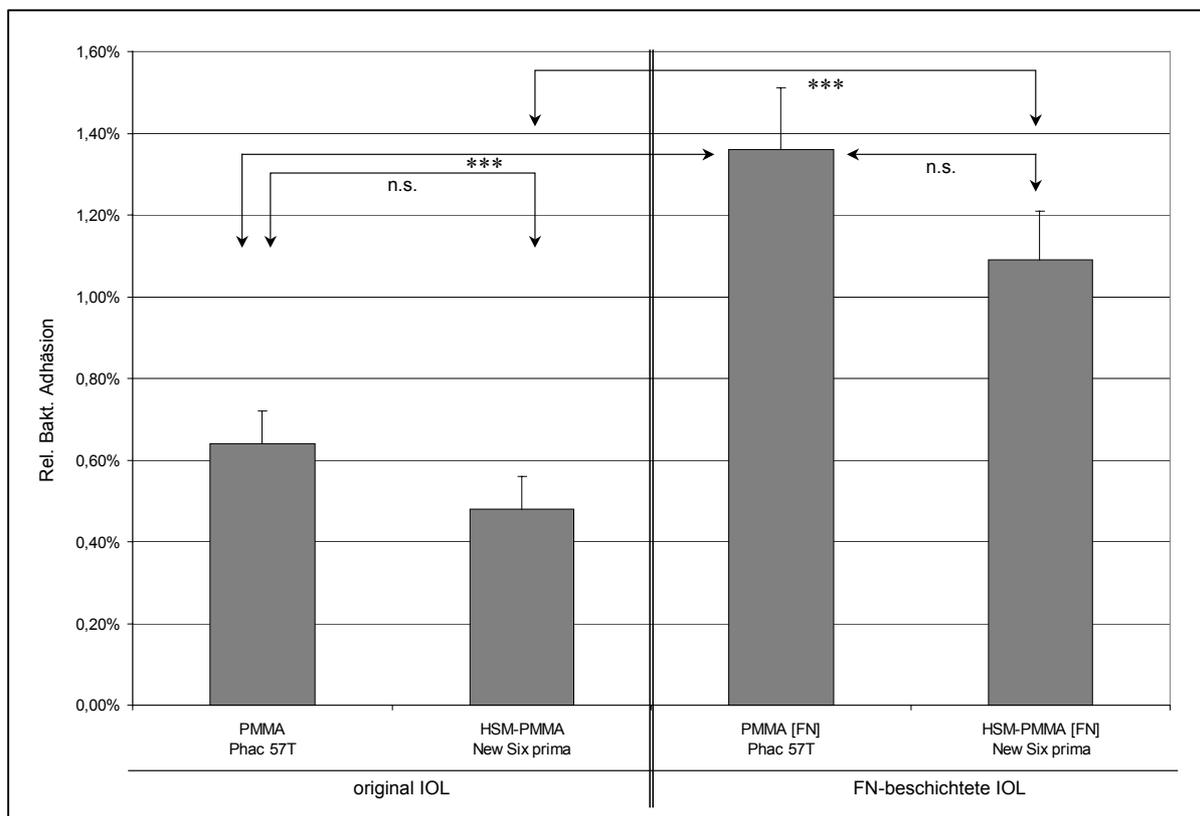
**Abb. 4.9: Vergleich der beiden Ansätze: Acrylat (Δ) und PMMA (□) IOL zeigen eine signifikante Steigerung der bakteriellen Adhäsion durch Fibronectin. An Silikon-IOL (O) ist diese Steigerung nicht signifikant.**

bakteriellen Adhäsion (Abb. 4.9). Nur bei den Silikon-Linsen war diese nicht signifikant.

## Oberflächenmodifikationen

### PMMA vs. HSM-PMMA

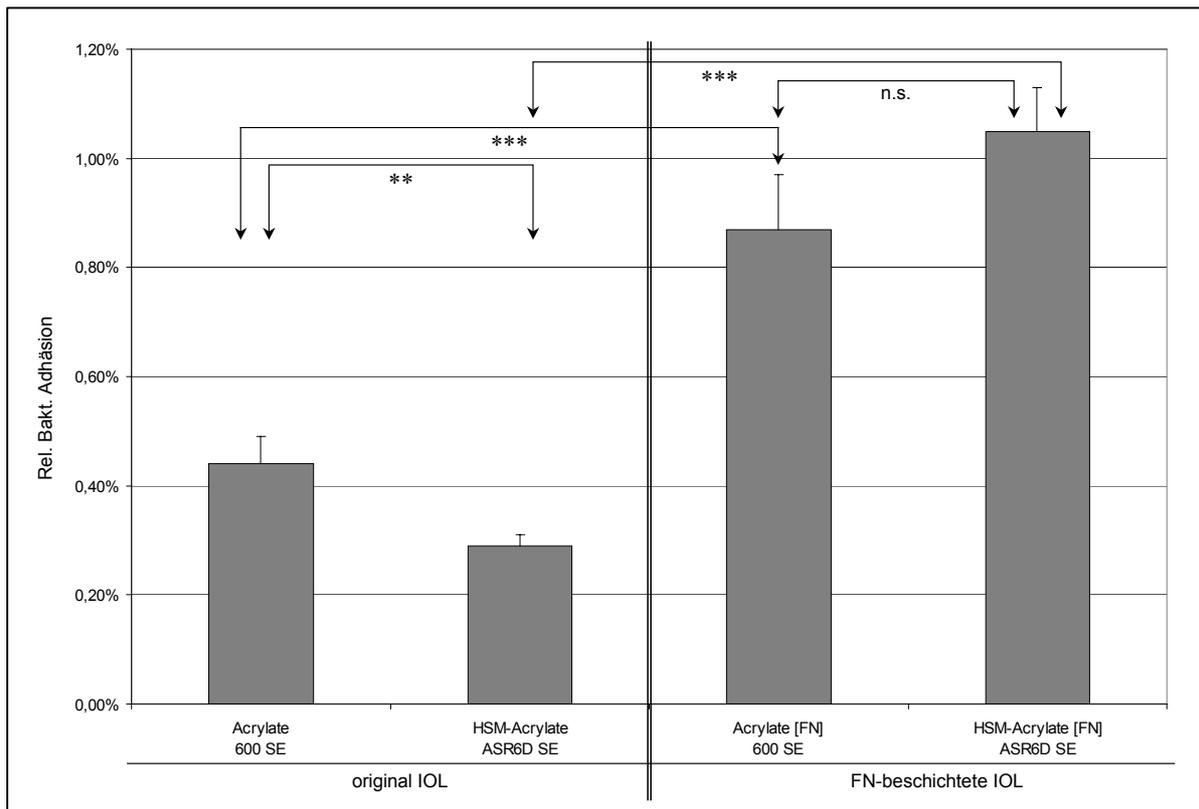
In beiden Ansätzen zeigte die Heparin-Beschichtung der IOL (HSM = heparin surface modification) eine Tendenz zur Reduktion der Relativen Bakteriellen Adhärenz, welche jedoch nicht signifikant war (Ansatz I:  $p=0,186$ ; Ansatz II:  $p=0,169$ ). An beiden Linsen (Corneal Phac 57T, New Six prima) steigerte sich die Relative Bakterielle Adhäsion durch die FN-Beschichtung hochsignifikant (Abb. 4.10).



**Abb. 4.10: PMMA vs. HSM-PMMA: die Heparin-Beschichtung (HSM) reduzierte die Relative Bakterielle Adhäsion in beiden Ansätzen nicht signifikant. Die FN-Beschichtung erhöhte sie jedoch an beiden IOL hochsignifikant (\*\*\*) = hoch signifikant, n.s. = nicht signifikant).**

### Acrylat vs. HSM-Acrylat

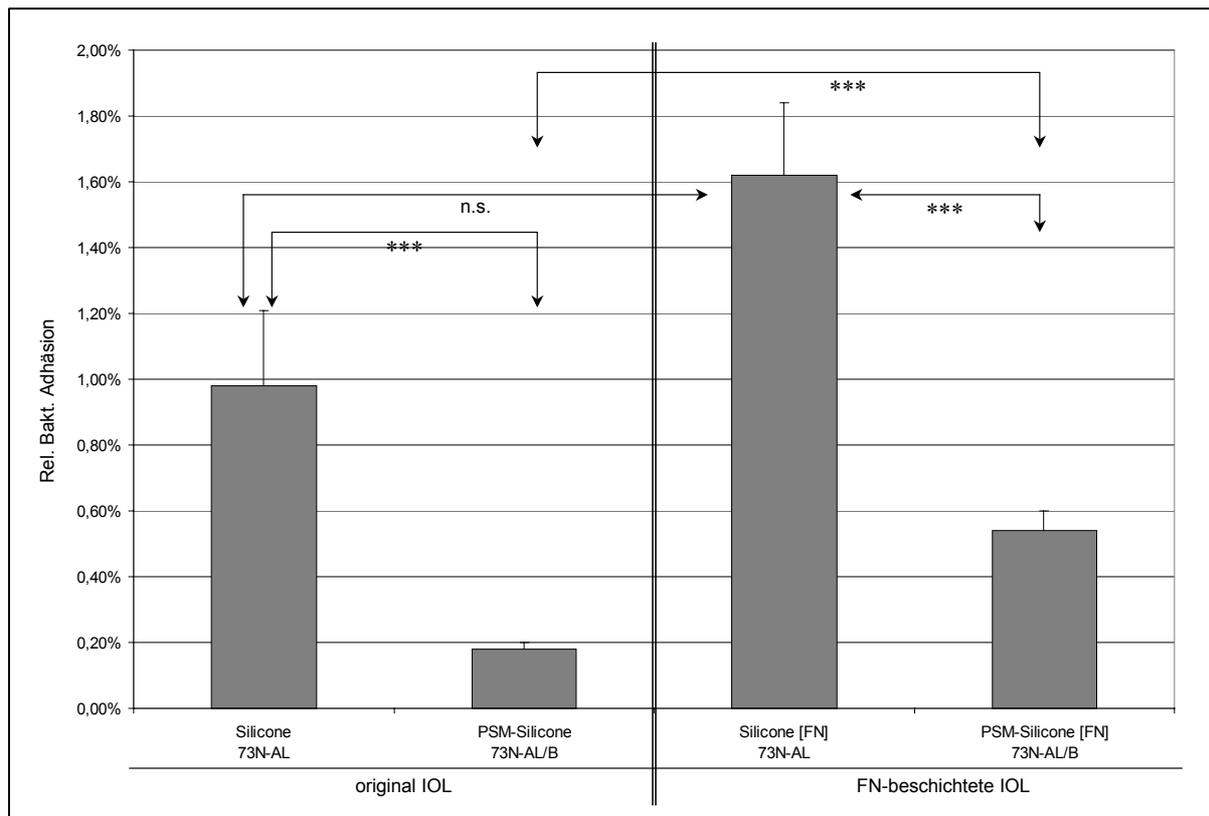
In Ansatz I reduzierte die Heparin-Beschichtung die Relative Bakterielle Adhäsion hochsignifikant (Corneal 600 SE vs. ACR6D SE prima,  $p=0,015$ ). Überraschenderweise erfuhr diese eine nicht-signifikante Steigerung durch die Heparin-Beschichtung in Ansatz II (FN) ( $p=0,182$ ). Erneut bewirkte die FN-Beschichtung eine hochsignifikante Steigerung der Relativen Bakteriellen Adhäsion (Abb. 4.11).



**Abb. 4.11: Acrylat vs. HSM-Acrylat: die Heparin-Beschichtung (HSM) verringerte die Relative Bakterielle Adhäsion in Ansatz I hochsignifikant, in Ansatz II vermehrte sie diese dagegen. Die FN-Beschichtung steigerte sie an beiden IOL hochsignifikant (\*\* = signifikant, \*\*\* = hoch signifikant, n.s. = nicht signifikant).**

### Silikon vs. PSM-Silikon

Beeindruckenderweise reduzierte die Polysaccharid-Beschichtung (PSM) die Relative Bakterielle Adhäsion in beiden Ansätzen hochsignifikant (\*Acri.Tec 73N-AL vs. 73N-AL/B; Ansatz I:  $p=0,004$ ; Ansatz II:  $p<0,001$ ). Bei der einfachen Silikonlinse (73N-AL) steigerte die FN-Beschichtung die Relative Bakterielle Adhäsion nicht signifikant, während die PSM-Silikon-Linse hierdurch eine hochsignifikante Steigerung erfuhr (Abb. 4.12). Die PSM-Silikon-Linse zeigte die niedrigsten Adhäsionsraten im gesamten Testfeld.



**Abb. 4.12: Silikon vs. PSM-Silikon: die Polysaccharid-Beschichtung (PSM) reduzierte die Relative Bakterielle Adhäsion in beiden Ansätzen hochsignifikant. Die FN-Beschichtung steigerte sie an der einfachen IOL nicht signifikant, an der PSM-Silikon-Linse dagegen hochsignifikant (\*\*\*) = hoch signifikant, n.s. = nicht signifikant).**

## 5. DISKUSSION

### 5.1. Zusammenfassung

In der vorgelegten Studie wurden elf verschiedene Intraokularlinsen [IOL] aus Acrylat, PMMA und Silikon, z.T. oberflächenmodifiziert, auf ihre relative bakterielle Adhäsion für *S. epidermidis* untersucht, dem Keim, der sich als häufigstes Isolat post-operativer Endophthalmitiden herauskristallisiert hat. Die IOL wurden mit radioaktiv markierten *S. epidermidis* inkubiert, gespült und die verbleibende Radioaktivität im Szintillationszähler gemessen. Unter der Annahme, dass die Kontamination der IOL sowohl außerhalb, wie auch innerhalb des Auges stattfinden kann, wurden zwei Ansätze durchgeführt. Im ersten Ansatz, welcher die Situation außerhalb des Auges darstellte, wurden die IOL in PBS [Phosphate Buffered Saline] mit den Bakterien inkubiert. Im Zweiten Ansatz, der das Augeninnere simulierte, wurden die IOL zuerst mit Fibronectin [FN] beschichtet und dann mit den Bakterien in PBS inkubiert, dem 0,5% bovines Serumalbumin zugesetzt wurde.

### 5.2. Literatur

Die Ergebnisse zeigen ein enormes Potential zur Reduktion der post-operativen Endophthalmitis auf, welches in der Modifikation der Linsenoberfläche liegt.

Im wesentlichen entsprechen die Ergebnisse des ersten Ansatzes, also der unbeschichteten IOL, den Ergebnissen der späteren Studien, die zu diesem Thema durchgeführt wurden. Tabelle 5.1 zeigt die wichtigsten.

Autor [et al.]	Jahr	Methode	Wichtung der Bakt. Rel. Adhäsion
Portoles, M. <sup>41</sup>	1993	SEM	HSM-PMMA < PMMA
Cusumano, A. <sup>9</sup>	1994	SEM	PMMA < Hydrogel < Silikon
Ng, E.W. <sup>38</sup>	1996	Quant. Kultivierung	Hydrogel < PMMA
Prosdocimo, G. <sup>42</sup>	1997	Quant. Kultivierung	PMMA < HSM(wet) < Silikon < Acryl < HSM(dry)
Schloricke, E. <sup>52</sup>	1997	<sup>3</sup> H	HSM < SM-PMMA < SM-Silikon < PMMA < Silikon
Gabriel, M.M. <sup>14</sup>	1998	<sup>3</sup> H	Acryl < PMMA < Silikon
Lundberg, F. <sup>36</sup>	1998	Biolumineszenz	HSM-PMMA < PMMA
Garcia-Saenz, M.C. <sup>15</sup>	2000	Quant. Kultivierung	FSM < PMMA < Hydrogel < Silikon < HSM < Acryl
Pinna, A. <sup>40</sup>	2000	Quant. Kultivierung, SEM	PMMA < Acryl
Kodjikian, L. <sup>26</sup>	2002	Quant. Kultivierung	Hydrogel < FSM-PMMA < Acryl < HSM-PMMA < Silikon
Kodjikian, L. <sup>28</sup>	2003	Biolumineszenz; SEM	Hydrogel < Acryl < PMMA < HSM-PMMA < Silikon
Schauersberger, J. <sup>51</sup>	2003	Quantitative Kultivierung	Hydrogel < HSM < Silikon < PMMA < Acryl

**Tabelle 5.1: Übersicht der wichtigsten Studien zur bakteriellen Adhäsion an IOL**

Wie aus Tabelle 5.1 hervorgeht, kann aus den vorgelegten Studien kein einheitliches Bild gezogen werden. Dies liegt zum einen daran, dass unterschiedliche Methoden zum Einsatz kamen, zum anderen daran, dass eine große Vielzahl unterschiedlicher IOL getestet wurde, die sich über zehn Jahre (1993 – 2003) ständig weiterentwickelt haben. In den meisten Studien folgte die bakterielle Adhäsion der Hydrophobizität des Linsenmaterials. An Hydrogel, also hydrophilem Acrylat, adhärten weniger Bakterien, während an hydrophoben Materialien wie hydrophobem Acrylat, PMMA und Silikon. Innerhalb dieser drei Werkstoffe waren die Abstufungen sehr unterschiedlich. Erste Modifikationen der Oberfläche wurden in den 90er Jahren untersucht. Amon und Majima zeigten, dass an polierten Oberflächen weniger Bakterien adhärten als an unpolierten<sup>1,37</sup>. Die Wirkung von Heparinbeschichtungen wurde sehr unterschiedlich bewertet, wobei hier nur beschichtetes PMMA getestet wurde. Die früheren Studien bewerteten HSM-PMMA günstiger als die späteren. Für heparinbeschichtetes Acrylat liegen bisher keine Studien vor.

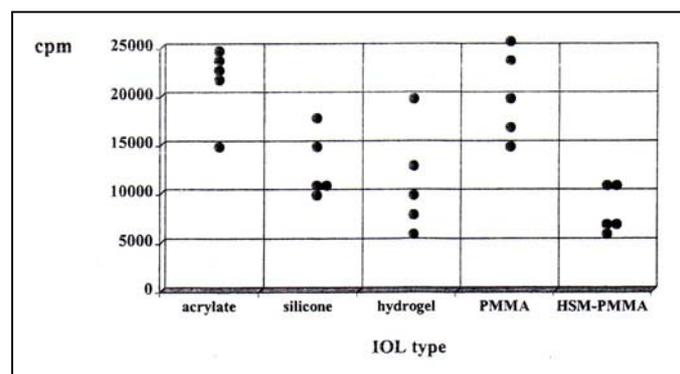
Soweit dem Autor bekannt ist, testete Kodjikian 2002<sup>26</sup> als einziger die bakterielle Adhäsion an IOL in vivo, indem er IOL inkubierte, die er eine Woche lang Schweinen implantiert hatte. Kodjikian's Studie ist somit die einzige, die die Fremdkörperreaktion des Auges einbezieht. Eine weitere Studie von Lundberg<sup>36</sup> kommt der Simulation des Augeninneren relativ nahe, da hier als Inkubationsmedium cerebro-spinale Flüssigkeit genutzt wurde, welche selbstverständlich „host factors“ wie FN und Albumin enthielt. Beide Studien umfassten jedoch nur den geschilderten Ansatz, keinen an unbehandelten IOL. Ein direkter Nachweis des Einflusses von körpereigenen Faktoren auf die bakterielle Adhäsion konnte also durch diese Studien nicht erbracht werden.

Mikrobiologen wie Vaudaux und Herrmann fanden heraus, dass FN die bakterielle Adhäsion an Fremdkörpern fördert, indem es als Mediator zwischen beiden fungiert<sup>18,56-58</sup>. An intravasalen Kathetern aus PVC, PU und PMMA demonstrierten sie, dass FN die bakterielle Adhäsion bei *S. epidermidis* um das 2,2-fache, bei *S. aureus* sogar um das 10- bis 50-fache steigern kann.

Kodjikian befasste sich genauer mit der Interaktion zwischen Bakterium und Linsenoberfläche<sup>27</sup>. Er beschrieb kleine Füßchen, die *S. epidermidis* bei der Adhäsion ausbildet, sog. „leg-like appendages“, die er elektronenmikroskopisch dokumentierte (Abb. 2.15). Er betonte, wie wichtig das Gleichgewicht zwischen

physiko-chemischen Kräften, den bakteriellen Kapselproteinen und der Präsenz von Oberflächen-Proteinen für die bakterielle Adhäsion ist. Die Ausbildung der Glycocalix untersuchte auch Garcia-Saenz<sup>15</sup> bei *S. epidermidis*. Stämme, die die Fähigkeit hatten eine Glycocalix zu bilden, adhärten an verschiedenen IOL signifikant besser als Stämme, die diese Fähigkeit nicht hatten.

Johnston, Linnola und Saika erkundeten die Affinität körpereigener Faktoren zu den unterschiedlichen Linsenmaterialien, womit sie bewiesen, dass überhaupt eine Fremdkörperreaktion im Kammerwasser stattfindet. Ridley und viele andere nach ihm waren noch davon ausgegangen, dass sich die IOL reaktionsfrei im Auge verhält<sup>46</sup>. Saika wies immunhistochemisch und elektronenmikroskopisch Proteine der extrazellulären Matrix – Kollagen Typ I,II und IV sowie Fibronectin – auf explantierten IOL nach<sup>48,49</sup>. Johnston verglich in vitro die Adsorption von FN an einer PMMA-IOL und einer Acrylat-IOL. Nach ähnlichen Adsorptionsraten zu Beginn der Inkubation nimmt die Acrylat-IOL nach einem Tag signifikant mehr FN auf als die aus PMMA<sup>23</sup>. Linnola untersuchte ebenfalls immunhistochemisch die Adhäsion verschiedener Proteine, nämlich FN, Vitronectin, Laminin und Kollagen Typ IV, auf verschiedenen explantierten IOL<sup>35</sup>. Hydrophobes Acrylat adsorbierte signifikant mehr Fibronectin und Vitronectin als PMMA und Silikon. Silikon hingegen adsorbierte mehr Kollagen Typ IV als die anderen Werkstoffe. Insgesamt lagerte sich auf Acrylat signifikant weniger Protein ab als auf PMMA und Silikon. In vitro stellte Linnola die Situation nach, indem er IOL für eine Woche mit löslichem FN, Vitronectin, Laminin und Kollagen Typ IV inkubierte<sup>33</sup>. FN fand sich signifikant vermehrt auf hydrophobem und hydrophilem Acrylat. Vitronectin band am meisten an den Silikonlinsen. Kollagen Typ IV adsorbierte am höchsten an hydrophilem Acrylat (Hydrogel). Die Tabelle für FN ist in Abb. 5.1 dargestellt.



**Abb. 5.1: Adhäsion von FN an verschiedenen Linsenmaterialien nach Linnola**

Die Rolle des FN gewann für Linnola noch einmal an Bedeutung, nachdem er explantierte IOL histologisch untersucht hatte<sup>34</sup>. Er fand eine Sandwich-Struktur zwischen Linsenkapsel und IOL, die folgenden Aufbau hatte: Kapsel – FN – einlagige Zellschicht – FN – IOL-Oberfläche. Diese Struktur fand er bei 12 von 14 hydrophoben

Acrylat-IOL, 3 von 10 PMMA-IOL, 1 von 10 Silikon-IOL und 0 von 4 hydrophilen Acrylat-IOL.

### **5.3. Bezug zu den Ergebnissen dieser Studie**

Mit den Studien der Literaturrecherche lässt sich die hier vorgelegte Studie aus mehreren Gründen nur eingeschränkt vergleichen. In diesen Studien steht oft ein Linsentyp eines Herstellers für eine ganze Materialklasse. Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen jedoch unter Umständen größere Unterschiede zwischen zwei Linsen desselben Materials als zu einer Linse eines anderen Materials.

Der direkte Vergleich der bakteriellen Adhäsion mit und ohne Einfluss von Fibronectin und Albumin macht die vorgelegte Untersuchung einzigartig. Soweit die Recherche ergeben hat, wurde dieser Frage im Zusammenhang mit IOL zuvor nicht nachgegangen. Auch die vorgestellten Beschichtungen wurden in diesem Zusammenhang zuvor nicht untersucht. Zu HSM-Acrylat existierten zuvor keine Studien. PSM-Silikon wurde als Prototyp mit dieser Studie erstmals auf bakterielle Adhäsion getestet.

Betrachtet man die Ergebnisse innerhalb der beiden Ansätze fällt eine große Variabilität innerhalb der Acrylat-IOL auf. Besonders das katastrophale Ergebnis der \*Acri.Tec 43C-5 fällt aus dem Rahmen. Beruhigend mag hier die Tatsache sein, dass es sich bei dieser IOL um ein veraltetes Modell handelt, welches inzwischen aus dem Handel genommen wurde. Aber gerade diese 43C-5 macht auch den Fortschritt in der Linsenproduktion deutlich. Die beiden IOL des Herstellers \*Acri.Tec 43C-5 und 49S bestehen aus demselben Material, einem Copolymer aus HEMA und MMA (s. Kap. 2.2). Zwischen ihnen wurde jedoch die Produktion umgestellt. Wie diese Umstellung aussieht ist leider ein Firmengeheimnis, welches nicht verraten wurde. Das neue Acrylat, welches unter dem Namen \*Acri.Lyc vermarktet wird und aus dem die 49S bereits besteht, zeigt jedenfalls eine hochsignifikant niedrigere bakterielle Adhäsion. Für eine Folgestudie wurden durch Kontaktwinkelmessungen die Hydrophobizitäten der Linsenoberflächen bestimmt (s. Kap. 7.). Hierdurch ließ sich die unterschiedliche Bakterienadhäsion jedoch nicht erklären. Elektronenmikroskopische Aufnahmen könnten hier vielleicht weitere Aufschlüsse geben.

Innerhalb der PMMA-Linsen überraschten die unterschiedlichen Ergebnisse im ersten Ansatz. Nach der FN-Beschichtung im zweiten Ansatz war dieser Unterschied wieder verflogen. PMMA lässt als Monomer auch nicht die Vielfalt an Variationsmöglichkeiten zu, wie es in der Gruppe der übrigen Acrylate möglich ist.

Überraschend war wiederum, wie wenig unterschiedlich die beiden Silikonlinsen abschnitten. Immerhin bestanden sie aus sehr unterschiedlichen Silikonen, PDMS und PDMDPS (s. Kap. 2.2), die sich in mehr als einem Punkt unterscheiden. Auf die Eigenschaften der Oberfläche scheinen sich diese Unterschiede offenbar wenig auszuwirken.

Vergleicht man die Ergebnisse der beiden Ansätze wird die Rolle von FN in der Biokompatibilität der IOL deutlich. Mit Ausnahme der Silikonlinsen zeigten alle IOL einen signifikanten Anstieg der relativen bakteriellen Adhäsion. Gerade die Ausnahmen sind es aber, die hier ins Gewicht fallen.

#### **5.4. Heparin-Beschichtungen**

Während die Silikonlinsen hier überraschten, hätte man dieses Verhalten von den heparin-beschichteten Linsen erwartet. Vaudaux hatte bereits 1992 die Reduktion der bakteriellen Adhäsion durch heparin-verwandte Dextrane an PMMA-Slides beschrieben<sup>54</sup>. Portoles, Schloricke und Lundberg konnten diesen Effekt an PMMA-IOL bestätigen<sup>36,41,52</sup>, während Amon und Majima beobachten konnten, dass sich an heparin-beschichteten IOL weniger Zellen ablagerten<sup>1,37</sup>.

Bei den PMMA-IOL in der hier vorgelegten Studie bewirkt FN mit und ohne Heparin-Beschichtung eine hoch-signifikante Steigerung der relativen bakteriellen Adhäsion. Innerhalb der Ansätze reduziert das Heparin die relative bakterielle Adhäsion nicht signifikant, zeigt also keine nennenswerte Wirkung.

Auch die Acrylat-IOL erfahren mit und ohne Heparin eine hochsignifikante Erhöhung der relativen bakteriellen Adhäsion. Im ersten Ansatz (ohne FN) reduziert die Heparin-Beschichtung die Bakterienadhäsion signifikant. Umso überraschender ist die steigernde Wirkung des Heparins im FN-Ansatz. Diese ist zwar nicht signifikant, aber die Tendenz ist deutlich. Eine hydrophile Acrylat-Linse mit Heparin zu beschichten, bedeutet einen Mechanismus doppelt zu nutzen. Wie in Kap. 2.2 beschrieben, bildet die Hydroxy-Gruppe des HEMA eine Schleife, die Wasser-Moleküle einfängt. Auch der Heparin-Effekt beruht im Wesentlichen darauf, dass sich

um die Oberfläche der Linse ein Wasserfilm bildet, der physiko-chemische Kräfte mildert. Eine Theorie ist, dass diese Verdoppelung der Hydrophilisierung sich auf das polare FN-Molekül so auswirkt, dass es sich aufstellt, einen Bürstensaum bildet, und damit die Oberfläche für die bakterielle Adhäsion vergrößert. Daher die Steigerung der bakteriellen Adhäsion.

### **5.5. Polysaccharid-Beschichtungen**

Insgesamt war der Effekt des Heparins eher enttäuschend. Umso beeindruckender war die Wirkung der Polysaccharid-Beschichtung auf Silikon. Wie schon beschrieben gab es keine signifikante Vermehrung der relativen bakteriellen Adhäsion durch FN an der unbehandelten Silikon-IOL, wohl aber an der Polysaccharid-beschichteten Schwester. Hier zeigte sich sogar eine hoch-signifikante Steigerung. Relativiert wird diese jedoch, wenn man bedenkt dass die Modifikation der Oberfläche in beiden Ansätzen eine hoch-signifikante Reduktion der relativen bakteriellen Adhäsion bewirkt. In beiden Ansätzen haben die PSM-Silikon-IOL den jeweils niedrigsten Wert im gesamten Testfeld.

## **6. PRAKTISCHE SCHLUSSFOLGERUNGEN**

Linsenhersteller verwenden sehr große Sorgfalt und Ideenreichtum auf die Gestaltung der Oberfläche moderner Intraokularlinsen. Wie jedoch Buddy D. Ratner schon 1998 schrieb, wird das Auge auf jede noch so kompatible Linse mit einer milden Fremdkörperreaktion antworten<sup>43</sup>. Es sei nicht das Ziel bessere Materialien zu entwickeln, sondern diese Reaktion des Körpers zu modulieren. Diese Forderung erscheint im ersten Moment zu hart. Jedoch muss die Fremdkörperreaktion immer bedacht werden, wenn man sich mit der Verträglichkeit von Implantaten beschäftigt. Die vorgelegte Studie hat gezeigt, dass nach der Gestaltung bzw. Modifikation einer Linsenoberfläche durch den Hersteller im Augenblick der Implantation eine zweite Modifikation durch das Auge folgt. Unter Umständen kann mit dieser zweiten Modifikation die erste hinfällig werden, wie die enttäuschenden Ergebnisse der Heparin-Beschichtungen gezeigt haben. Hier zeigt die Polysaccharid-Beschichtung, aber auch die neueren hydrophilen Acrylate, eine sehr vielversprechende Richtung an. Weitere Verbesserungen werden folgen. Beschichtungen antimikrobieller und antiproliferativer Art wären denkbar. Der Weg dahin ist lang, aber die Neugier groß !

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

1. Amon M., Menapace R., Radax U., and Freyler H. (1995) Der Einfluß unterschiedlicher Oberflächeneigenschaften intraokularer Implantate aus PMMA auf deren Biokompatibilität. *Spektrum der Augenheilkunde* 9/1, 30-35.
2. Apple D.J. and Sims J.C. (1995) Harold Ridley and the Invention of the Intraocular Lens. *Surv. Ophthalmol.* 40, 279-292.
3. Auffarth G.U. and Apple D.J. (2001) [History of the development of intraocular lenses]. *Ophthalmologe* 98, 1017-1028.
4. Auffarth G.U., Rabsilber T.M., and Reuland A.J. (2005) [New methods for the prevention of posterior capsule opacification]. *Ophthalmologe* 102, 579-586.
5. Auffarth G.U., Schmidbauer J., and Apple D.J. (2001) [The life work of Sir Nicholas Harold Lloyd Ridley]. *Ophthalmologe* 98, 1012-1016.
6. Behrens-Baumann W. Magdeburger Dreistufenplan für systemische Antibiotikatherapie. <http://www.med.uni-magdeburg.de/augenklinik> . 2004.
7. Behrens-Baumann W. and DOG. DOG-Leitlinie zur Prophylaxe und Therapie von Endophthalmitiden. <http://www.dog.org> . 2005.
8. Christensen G.D., Baldassarri L., and Simpson W.A. (1994) Colonization of Medical Devices by Coagulase-Negative Staphylococci. In *Infections Associated with Indwelling Medical Devices* (ed. Bisno A.I. and Waldvogel F.A.), pp. 45-78.
9. Cusumano A., Busin M., and Spitznas M. (1994) Bacterial growth is significantly enhanced on foldable intraocular lenses. *Arch. Ophthalmol.* 112, 1015-1016.
10. Dick B., Greiner K., Magdowski G., and Pfeiffer N. (1997) [Long-term stability of heparin-coated PMMA intraocular lenses. Results of an in vitro study]. *Ophthalmologe* 94, 920-924.

11. Dickey J.B., Thompson K.D., and Jay W.M. (1991) Anterior chamber aspirate cultures after uncomplicated cataract surgery. *Am. J. Ophthalmol.* 112, 278-282.
12. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group (1995) Results of the Endophthalmitis Vitrectomy Study. A randomized trial of immediate vitrectomy and of intravenous antibiotics for the treatment of postoperative bacterial endophthalmitis. Endophthalmitis Vitrectomy Study Group. *Arch. Ophthalmol.* 113, 1479-1496.
13. Foster T.J. and McDevitt D. (1994) Molecular Basis of Adherence of Staphylococci to Biomaterials. In *Infections Associated with Indwelling Medical Devices* (ed. Bisno A.I. and Waldvogel F.A.), pp. 31-44.
14. Gabriel M.M., Ahearn D.G., Chan K.Y., and Patel A.S. (1998) In vitro adherence of *Pseudomonas aeruginosa* to four intraocular lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* 24, 124-129.
15. Garcia-Saenz M.C., Arias-Puente A., Fresnadillo-Martinez M.J., and Matilla-Rodriguez A. (2000) In vitro adhesion of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* 26, 1673-1679.
16. Griffiths P.G., Elliot T.S., and McTaggart L. (1989) Adherence of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses. *Br. J. Ophthalmol.* 73, 402-406.
17. Heaven C.J., Mann P.J., and Boase D.L. (1992) Endophthalmitis following extracapsular cataract surgery: a review of 32 cases. *Br. J. Ophthalmol.* 76, 419-423.
18. Herrmann M., Vaudaux P.E., Pittet D., Auckenthaler R., Lew P.D., Schumacher-Perdreau F., Peters G., and Waldvogel F.A. (1988) Fibronectin, fibrinogen, and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcal isolates to foreign material. *J. Infect. Dis.* 158, 693-701.
19. Hesse Y., Spraul C.W., and Lang G.K. (2002) [Endophthalmitis following cataract surgery]. *Ophthalmologe* 99, 922-926.

20. Hettlich H.J., Kaufmann R., Harmeyer H., Imkamp E., Kirkpatrick C.J., and Mittermayer C. (1992) In vitro and in vivo evaluation of a hydrophilized silicone intraocular lens. *J. Cataract Refract. Surg.* 18, 140-146.
21. Hettlich H.J., Kaufmann R., Hunold W., Harmeyer H., Janssen B., and Mittermayer C. (1991) [Experience with hydrophilic silicone disc intraocular lenses]. *Fortschr. Ophthalmol.* 88, 274-278.
22. Hettlich H.J., Otterbach F., Mittermayer C., Kaufmann R., and Klee D. (1991) Plasma-induced surface modifications on silicone intraocular lenses: chemical analysis and in vitro characterization. *Biomaterials* 12, 521-524.
23. Johnston R.L., Spalton D.J., Hussain A., and Marshall J. (1999) In vitro protein adsorption to 2 intraocular lens materials. *J. Cataract Refract. Surg.* 25, 1109-1115.
24. Kanagawa R., Saika S., Ohmi S., Tamura M., and Nakao T. (1990) Presence and distribution of fibronectin on the surface of implanted intraocular lenses in rabbits. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 228, 398-400.
25. Kivalo M. (1997) The effect of heparin-surface-modification on scar-tissue formation around a subconjunctival polymethylmethacrylate implant in the rabbit. *Acta Ophthalmol. Scand.* 75, 189-193.
26. Kodjikian L., Burillon C., Chanloy C., Bostvironnois V., Pellon G., Mari E., Freney J., and Roger T. (2002) In vivo study of bacterial adhesion to five types of intraocular lenses. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 43, 3717-3721.
27. Kodjikian L., Burillon C., Lina G., Roques C., Pellon G., Freney J., and Renaud F.N. (2003) Biofilm formation on intraocular lenses by a clinical strain encoding the ica locus: a scanning electron microscopy study. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 44, 4382-4387.
28. Kodjikian L., Burillon C., Roques C., Pellon G., Freney J., and Renaud F.N. (2003) Bacterial adherence of *Staphylococcus epidermidis* to intraocular lenses: a bioluminescence and scanning electron microscopy study. *Invest Ophthalmol. Vis. Sci.* 44, 4388-4394.

29. Kohnen T. (1996) The variety of foldable intraocular lens materials. *J. Cataract Refract. Surg.* 22 Suppl 2, 1255-1258.
30. Kreiner C.F. (2001) Intraokularlinsen - Aktueller Stand. *Der Augenspiegel* 7-8/2001.
31. Kreiner C.F. and Huttenlochner M. (1999) Intraokularlinsen - Materialien und Eigenschaften. *Der Augenspiegel* 7-8/99.
32. Larsson R., Selen G., Bjordklund H., and Fagerholm P. (1989) Intraocular PMMA lenses modified with surface-immobilized heparin: evaluation of biocompatibility in vitro and in vivo. *Biomaterials* 10, 511-516.
33. Linnola R.J., Sund M., Ylonen R., and Pihlajaniemi T. (2003) Adhesion of soluble fibronectin, vitronectin, and collagen type IV to intraocular lens materials. *J. Cataract Refract. Surg.* 29, 146-152.
34. Linnola R.J., Werner L., Pandey S.K., Escobar-Gomez M., Znoiko S.L., and Apple D.J. (2000) Adhesion of fibronectin, vitronectin, laminin, and collagen type IV to intraocular lens materials in pseudophakic human autopsy eyes. Part 1: histological sections. *J. Cataract Refract. Surg.* 26, 1792-1806.
35. Linnola R.J., Werner L., Pandey S.K., Escobar-Gomez M., Znoiko S.L., and Apple D.J. (2000) Adhesion of fibronectin, vitronectin, laminin, and collagen type IV to intraocular lens materials in pseudophakic human autopsy eyes. Part 2: explanted intraocular lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* 26, 1807-1818.
36. Lundberg F., Gouda I., Larm O., Galin M.A., and Ljungh A. (1998) A new model to assess staphylococcal adhesion to intraocular lenses under in vitro flow conditions. *Biomaterials* 19, 1727-1733.
37. Majima K. (1996) An evaluation of the biocompatibility of intraocular lenses. *Ophthalmic Surg. Lasers* 27, 946-951.
38. Ng E.W., Barrett G.D., and Bowman R. (1996) In vitro bacterial adherence to hydrogel and poly(methyl methacrylate) intraocular lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* 22 Suppl 2, 1331-1335.

39. Pekna M., Larsson R., Formgren B., Nilsson U.R., and Nilsson B. (1993) Complement activation by polymethyl methacrylate minimized by end-point heparin attachment. *Biomaterials* 14, 189-192.
40. Pinna A., Zanetti S., Sechi L.A., Usai D., Falchi M.P., and Carta F. (2000) In vitro adherence of Staphylococcus epidermidis to polymethyl methacrylate and acrysof intraocular lenses. *Ophthalmology* 107, 1042-1046.
41. Portoles M., Refojo M.F., and Leong F.L. (1993) Reduced bacterial adhesion to heparin-surface-modified intraocular lenses. *J. Cataract Refract. Surg.* 19, 755-759.
42. Prosdocimo G., Grandesso S., and Amici G. (1997) Influence of optic and haptic materials on the adherence of Staphylococcus epidermidis to intraocular lenses: a pilot study. *Eur. J. Ophthalmol.* 7, 241-244.
43. Ratner B.D. (1998) Ophthalmologic biocompatibility: anachronism or oxymoron? *J. Cataract Refract. Surg.* 24, 288-290.
44. Ratner B.D. (2001) Replacing and renewing: synthetic materials, biomimetics, and tissue engineering in implant dentistry. *J. Dent. Educ.* 65, 1340-1347.
45. REESE W.S. (1960) Results in 39 bilateral Ridley intra-ocular implants. *Br. J. Ophthalmol.* 44, 713-717.
46. Ridley H. (1951) Intra-Ocular Acrylic Lenses - A Recent Development in the Surgery of Cataract. *Br. J. Ophthalmol.* 36, 113.
47. Ridley H. (1954) Further experiences of intra-ocular acrylic lens surgery; with a report of more than 100 cases. *Br. J. Ophthalmol.* 38, 156-162.
48. Saika S., Miyamoto T., Yamanaka A., Kawashima Y., Okada Y., Tanaka S., Yamanaka O., Ohmi S., Ohnishi Y., and Ooshima A. (1998) Immunohistochemical evaluation of cellular deposits on posterior chamber intraocular lenses. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 236, 758-765.
49. Saika S., Tanaka S., Ohmi S., Minamide A., Ohnishi Y., Yamanaka A., Ooshima A., and Kimura M. (1997) Deposition of extracellular matrix on intraocular lenses in rabbits: an immunohistochemical and transmission

- electron microscopic study. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 235, 241-247.
50. Sandhu S. and Luthra A. (2002) New biointeracting materials. *Med. Device Technol.* 13, 10-16.
51. Schauersberger J., Amon M., Aichinger D., and Georgopoulos A. (2003) Bacterial adhesion to rigid and foldable posterior chamber intraocular lenses: in vitro study. *J. Cataract Refract. Surg.* 29, 361-366.
52. Schloricke E., Schmidt H., Schulze H.A., Beck R., Guthoff R., and Falkenhagen U. (1997) [Adherence of staphylococci of different hydrophobicity. Study of various intraocular lenses]. *Ophthalmologe* 94, 785-790.
53. Shah G.K., Stein J.D., Sharma S., Sivalingam A., Benson W.E., Regillo C.D., Brown G.C., and Tasman W. (2000) Visual outcomes following the use of intravitreal steroids in the treatment of postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology* 107, 486-489.
54. Vaudaux P., Avramoglou T., Letourneur D., Lew D.P., and Jozefonvicz J. (1992) Inhibition by heparin and derivatized dextrans of *Staphylococcus aureus* adhesion to fibronectin-coated biomaterials. *J. Biomater. Sci. Polym. Ed* 4, 89-97.
55. Vaudaux P., Lew D.P., and Waldvogel F.A. (1994) Host Factors Predisposing to and Influencing Therapy of Foreign Body Infections. In *Infections Associated with Indwelling Devices* (ed. Bisno A.I. and Waldvogel F.A.), pp. 1-29.
56. Vaudaux P., Pittet D., Haeberli A., Huggler E., Nydegger U.E., Lew D.P., and Waldvogel F.A. (1989) Host factors selectively increase staphylococcal adherence on inserted catheters: a role for fibronectin and fibrinogen or fibrin. *J. Infect. Dis.* 160, 865-875.
57. Vaudaux P., Pittet D., Haeberli A., Lerch P.G., Morgenthaler J.J., Proctor R.A., Waldvogel F.A., and Lew D.P. (1993) Fibronectin is more active than fibrin or

fibrinogen in promoting *Staphylococcus aureus* adherence to inserted intravascular catheters. *J. Infect. Dis.* 167, 633-641.

58. Vaudaux P.E., Waldvogel F.A., Morgenthaler J.J., and Nydegger U.E. (1984) Adsorption of fibronectin onto polymethylmethacrylate and promotion of *Staphylococcus aureus* adherence. *Infect. Immun.* 45, 768-774.

## 8. VERÖFFENTLICHUNGEN

### Artikel

#### **Influence of fibronectin on the bacterial adherence to coated and uncoated intraocular lenses**

*Schröder AC<sup>1</sup>, Sobke A<sup>2</sup>, Schmidbauer J<sup>1</sup>, Herrmann M<sup>2</sup>, Ruprecht KW<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universitäts-Augenklinik Homburg (Saar)

<sup>2</sup>Institut für Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikum Homburg (Saar)

- eingereicht bei **Investigative Ophthalmology and Visual Science**

### Vorträge

18. Kongress der Deutschsprachigen Gesellschaft für Intraokularlinsen-Implantation und refraktive Chirurgie (DGII),  
Heidelberg, 27.2. - 28.2.2004

Kurz-Vortrag:

*Schröder AC<sup>1</sup>, Herrmann M<sup>2</sup>, Schmidbauer J<sup>1</sup>, Ruprecht KW<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universitäts-Augenklinik Homburg (Saar)

<sup>2</sup>Institut für Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikum Homburg (Saar)

#### **Vergleich der bakteriellen Adhärenz an bekannten Intraokularlinsen aus verschiedenen Materialien mit und ohne Beschichtung unter Einfluss von Fibronectin**

- publiziert als Beitrag im Kongressband der DGII 2004
- zitiert in Ophta, Schweizerische Fachzeitschrift für Augenärztliche Medizin und Technologie, 02/2004, Seite 30-32

22. Congress of the European Society for Cataract and Refractive Surgery (ESCRS):  
Paris, 18.09. - 22.09.2004

Kurz-Vortrag:

*Schröder AC<sup>1</sup>, Herrmann M<sup>2</sup>, Schmidbauer J<sup>1</sup>, Ruprecht KW<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universitäts-Augenklinik Homburg (Saar)

<sup>2</sup>Institut für Mikrobiologie und Hygiene des Universitätsklinikum Homburg (Saar)

#### **Influence of fibronectin on the bacterial adherence to coated and uncoated intraocular lenses**

- publiziert als Abstract im Abstract-Band des Kongresses

Kongress der Rhein-Mainischen Augenärzte:  
Homburg, 6.11.2004

Kurz-Vortrag:

Schröder AC<sup>1</sup>, Lingenfelder C<sup>2</sup>, Ruprecht KW<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitäts-Augenklinik Homburg (Saar)

<sup>2</sup>Universitäts-Augenklinik Ulm

**Einfluss von Fibronectin auf die Hydrophobizität verschiedener Intraokularlinsen**

- publiziert als Abstract im Abstract-Band des Kongresses

18. Kongress der Deutschen Ophthalmochirurgen (DOC)

Nürnberg, 23. - 26.06.2005

Kurz-Vortrag:

Schröder AC<sup>1</sup>, Lingenfelder C<sup>2</sup>, Ruprecht KW<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universitäts-Augenklinik Homburg (Saar)

<sup>2</sup>Universitäts-Augenklinik Ulm

**Einfluss von Fibronectin auf die Silikonöladhäsion verschiedener Intraokularlinsen**

- publiziert als Abstract im Abstract-Band des Kongresses

23. Congress of the European Society for Cataract and Refractive Surgery (ESCRS):

Lissabon, 10.09. - 14.09.2005

Kurz-Vortrag:

*Lingenfelder C<sup>1</sup>, Schröder AC<sup>2</sup>, Grabowi U<sup>3</sup>, Kleinen L<sup>4</sup>, Ruprecht KW<sup>2</sup>, Spraul CW<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universitäts-Augenklinik Ulm

<sup>2</sup>Universitäts-Augenklinik Homburg (Saar)

<sup>3</sup>NTTF GmbH, Rheinbreitbach

<sup>4</sup>Universität Kaiserslautern

**Application of nanotechnology to influence the surface properties of silicone IOL**

- publiziert als Abstract im Abstract-Band des Kongresses

15. Congress of Societas Ophthalmologica Europae (SOE) &

103. Kongress der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG)

Berlin, 25. - 29.09.2005

Kurz-Vortrag:

*Schröder AC<sup>1</sup>, Lingenfelder C<sup>2</sup>, Ruprecht KW<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Universitäts-Augenklinik Homburg (Saar)

<sup>2</sup>Universitäts-Augenklinik Ulm

**Influence of fibronectin on the adherence of silicone oil to various intraocular lenses by altering their hydrophobicity**

- publiziert als Abstract im Abstract-Band des Kongresses

## 9. DANK

Für die großzügige und uneingeschränkte Unterstützung, nicht nur für die Überlassung des Themas, sondern auch die besondere Hilfe durch Heraussuchen aktueller Literatur mit themenbezogenen Publikationen, die sehr gute Anregungen für die Arbeit darstellten, bedanke ich mich bei dem Direktor der Klinik, Herrn PROF. DR. K.W. RUPRECHT. Im Besonderen möchte ich mich für die immer aufmunternden und motivierenden Worte gerade in schwierigen Situationen bedanken.

Bei Herrn PROF. DR. M. HERRMANN, Direktor des Institutes für medizinische Mikrobiologie und Hygiene, bedanke ich mich besonders für die Möglichkeit, die Forschungseinrichtungen seines Institutes nutzen zu dürfen. Doch seine Hilfe ging über die Gastfreundschaft hinaus. Es war seine Idee, Intraokularlinsen nicht nur auf ihre bakterielle Adhäsion zu testen, sondern diese zuvor mit Fibronektin zu beschichten. Die daraus gewonnenen Ergebnisse machen die Kernaussage dieser Arbeit aus. Als „menschgewordenes Fragezeichen“ bewog er mich in sehr freundlicher Art zum Durchhalten auch in demotivierenden Phasen.

Herr PD DR. J. SCHMIDBAUER hat mich für diese Arbeit begeistert. Besonders danke ich ihm dafür, dass er mir den Kontakt zum mikrobiologischen Institut und zu den Herstellerfirmen der Intraokularlinsen vermittelt hat.

Frau KARIN HILGERT und FRAU DR. SOBKE haben mich freundschaftlich im mikrobiologischen Institut aufgenommen. Während mir Frau Hilgert jeden Handgriff beibrachte, der für die Durchführung der Experimente nötig war, stand mir Frau Dr. Sobke bei jedem auftauchenden Problem sofort hilfreich zur Seite. Dem gesamten Team des mikrobiologischen Forschungslabors danke ich für die gute Atmosphäre, und ich hoffe auf weitere gemeinsame Projekte.

Herrn DR. PHILIPP STRÖBEL, Pathologisches Institut der Univ.-Klinik Würzburg, danke ich für die Einführung in das wissenschaftliche Arbeiten. In meinem ersten Versuch einer Promotion führte er mich freundschaftlich in die Welt der Laboratorien ein. Aus methodischen Gründen wurde dieses Projekt leider abgebrochen.

MEINEN ELTERN danke ich dafür, dass sie mir immer die Möglichkeit gaben, eigenen Ideen nachzugehen. So gaben sie mir die Möglichkeit, das Studium der Medizin zu ergreifen, was mich über einige Umwege zu dieser Promotion führen sollte. Immer haben sie mich dabei in vollen Zügen unterstützt.

Meiner Frau UTE und meiner Tochter FRANZISKA danke ich für das Zuhause, das sie mir geben; auch wenn ich dieses in der Schreibphase dieser Arbeit kräftig strapaziert habe.

## 10. LEBENS LAUF

### Persönliche Daten

Name: Andreas Christian Schröder  
Geburtsdatum: 18. März 1972  
Geburtsort: Bonn  
Konfession: evangelisch  
Familienstand: verheiratet

Eltern: Dr. Friedrich-Karl Schröder, Anästhesist im Ruhestand  
Hannegret Schröder, geb. Riemann, Lehrerin im Ruhestand

Geschwister: Katrin Albrecht, geb. Schröder, (geb. 1967), Juristin  
Anke Schröder, (geb. 1969), Japanologin

Ehefrau: Ute Schröder, geb. Hoggenmüller, Assistenzärztin Neurologie

Tochter: Franziska Ruth Schröder, (geb. 2003)

### Schul Ausbildung

08.1978 - 06.1982 Mühlenberg-Grundschule, Arnsberg  
08.1982 - 06.1991 Graf-Gottfried-Gymnasium, Arnsberg  
Abschluß: Abitur, Note 1,8  
08.1988 - 01.1989 HighSchool, Chetek, Wisconsin, USA

### Zivildienst

07.1991 - 09.1992 Friedensdorf International, Oberhausen  
Pflege und Betreuung von verletzten Kindern aus Kriegs- und Krisengebieten

### Hochschulausbildung

09.1992 - 03.1994 Studium der Biologie an der Universität Bayreuth  
04.1994 - 09.1996 Vorklinisches Studium der Medizin an der Universität Würzburg  
10.1996 - 04.2000 Klinisches Studium der Medizin an der Universität Würzburg  
04.2000 - 03.2001 Praktisches Jahr, Universitätsklinik Würzburg  
05.2001 Abschluß des Studiums

### Ärztliche Tätigkeit

05.2001 – 10.2002 AiP  
Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums des Saarlandes,  
Homburg (Saar)

seit 11.2002 Assistenzarzt,  
Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums des Saarlandes,  
Homburg (Saar)