Aus der Klinik für Augenheilkunde

der Heinrich-Heine-Universität

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Gerd Geerling

Dosimetrie für eine Laser-Kanthoplastik zur Therapie der Meibomdrüsendysfunktion

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Alexandra Schilcher

2023

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Gerd Geerling

Zweitgutachterin: Prof. Dr. med. Charlotte von Gall

In Liebe und Dankbarkeit meiner Familie gewidmet.

Vorwort

Mit einem Verweis auf den methodischen Abschnitt teile ich mit, dass die Laserversuchsdurchführung (2.2) im Laser Zentrum Lübeck durch Herrn Amar Avdakovic durchgeführt wurden. Die Ergebnisse der Bestimmung der Unterlidspannung, der Unterlidverkürzung und des makroskopischen Koagulationsdurchmessers wurden in einer Bachelorarbeit verschriftlicht.

Aus der gesamten Arbeit ist eine Publikation entstanden ist, bei der ich Ko-Autorin war [7].

I. Zusammenfassung

Die Erkrankung des Trockenen Auges (Keratokonjunktivitis sicca) ist eine der häufigsten Diagnosen in der Augenheilkunde. Klinische Daten haben bereits einen Zusammenhang zwischen reduzierter Unterlidspannung und der Entstehung einer Meibomdrüsendysfunktion nachgewiesen. In diesem Projekt werden Parameter für eine minimal-invasive Laserbestrahlung zur Erhöhung der Lidspannung als Alternative zur Operation (laterale Zügelplastik, Keilexzision) entwickelt.

Die Einstellungen eines Lasersystems wurden ex vivo auf porzinen Unterlidern (n=6) in drei verschiedenen Behandlungsgruppen (Gruppe 1 1940 nm/2,5 W/2 s/5 J; Gruppe 2 1940 nm/ 1 W/5 s/ 5 J; Gruppe 3 1470 nm/2,5 W/ 2 s/5 J) verglichen. Die Verkürzung des Unterlides und die Unterlidspannung zu definierten Zeitpunkten wurden mithilfe eines Kraftsensors untersucht. Die Koagulationsherde wurden histologisch (Hämatoxylin- und Pikrosirius-Rot-Färbung) anhand ihrer Größenausdehnung und Koagulationszonen beurteilt und mit dem Programm ImageJ ausgewertet. Die Schädigung des Epithels sowie die Destruktion des konjunktivalen Gewebes wurde mit einem Grading-System (Grade 0 bis 3) bewertet.

Nach der Bestrahlung resultierte die stärkste longitudinale Verkürzung in der Gruppe mit 1470 nm (15,1 ± 3,7 % \triangleq 2,5 ± 0,6 mm; p < 0,0001). Die größte signifikante Erhöhung der Unterlidspannung stellte sich nach der 3. Koagulation (1: p=0,01; 2: p=0,04; 3: p=0,004) dar. Für die Gruppe 3 zeigte sich in der Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) mit 1071,8 ± 70,8µm eine signifikant tiefere Koagulation als für Gruppe 1 und 2 (p < 0,0001). Mit einer Länge von 2910,8 ± 220,6µm epithelseitig waren die Laserherde der Gruppe 3 in der HE-Färbung den anderen beiden Gruppen überlegen (2 vs. 3 p = 0,007). Der prozentual größte signifikante Anteil der Koagulation am Gesamtdurchmesser bzw. Tarsus des Unterlids lag in der Gruppe 3 bei 25,6 ± 3,8 % bzw. 59,1 ± 8,3 %. Im Grading des Laserschadens wies die Gruppe 3 weniger Destruktion auf (Grad 0,8 ± 1,2). In der Pikrosirius-Rot-Färbung (PS) wurden zwei thermisch veränderte Zonen differenziert: eine Koagulations- und eine Übergangszone ("Halo"). Das koagulierte Gewebe der Gruppe mit 1470 nm war signifikant größer als das der anderen beiden Koagulationszonen (4.86 ± 0.99 mm³).

Die Laserkoagulation der hinteren Lamelle führt zu einer Unterlidverkürzung und Erhöhung der Unterlidspannung. Das stärkste und schonendste Ergebnis wiesen die Laserparameter 1470 nm/2,5 W/2 s auf. Ein längerfristiger Effekt der Erhöhung der Unterlidspannung sowie potentielle unerwünschte Effekte müssen *in vivo* geprüft werden.

II. Summary

Preliminary clinical work in patients with eyelid laxity indicates that increasing eyelid tension with a surgical procedure does improve the function of the Meibomian glands and symptoms of dry eye disease. The aim of this study was to develop a minimally invasive laser irradiation to increase eyelid tension of the lateral tarsal plate and canthus.

Ex vivo experiments were performed on a total of 24 porcine lower eyelids post mortem. Groups were irradiated with different laser settings (group 1 1940 nm/2.5 W/2 s/5 J; group 2 1940 nm/ 1 W/5 s/ 5 J; group 3 1470 nm/2.5 W/ 2 s/5 J) using an infrared B radiation laser. Three laser coagulation spots were applied to the conjunctival side of each eyelid. Laser-induced lower eyelid shortening was measured and the increase in eyelid tension was quantified with a force sensor. Histology was performed to assess the coagulation size. Damage to the epithelium and destruction of the conjunctival tissue was assessed using a grading system (grades 0 to 3). Picro-Sirius Red Stain (PS) was used to distinguish the irradiated area in different birefringent zones and to calculate the volume of the zones.

After irradiation, the strongest longitudinal shortening resulted in group 3 (-15.1 \pm 3.7 % \triangleq - 2.5 \pm 0.6 mm; p < 0.0001). The largest significant increase in eyelid tension was seen after the 3rd coagulation in all groups (1: p = 0.01; 2: p = 0.04; 3: p = 0.004). Group 3 showed significantly the deepest (1071.8 \pm 70.8 µm) and largest coagulation (2910.8 \pm 220.6 µm). The grading of laser damage showed least destruction in group 3 (grade 0.8 \pm 1.2, group 1 vs. 3 p = 0.03) with minor to minimal epithelial detachment. In PS-staining two different zones were distinguished: a coagulation and a transition zone ("halo"). The approximated coagulated tissue volume of group 1470 nm was significantly larger compared to other coagulation zones (4.86 \pm 0.99 mm³, p < 0.0001).

Laser coagulation of the posterior lamella leads to eyelid shortening and increase of lower eyelid tension. The laser parameters with 1470 nm showed the strongest and least destructive effect. A longer-term effect of laser tarso-canthoplasty must be tested *in vivo*.

III. Abkürzungsverzeichnis

- DEWS = Dry Eye Workshop
- EDE = evaporative dry eye
- FES = Floppy-Eyelid-Syndrom
- Gl. = Glandula
- Gll. = Glandulae
- DED = Dry Eye Disease
- KM = Konservierungsmittel
- M. = Musculus
- MDD = Meibomdrüsendysfunktion
- N. = Nervus
- SS = Sjörgen-Syndrom
- TFOS = Tear Film and Ocular Surface Society
- HE = Hämatoxylin-Eosin-Färbung
- PS = Pikro-Siriusrot-Färbung
- LTK = Laserkanthoplastik
- NIBUT = nicht-invasive Tränenfilmaufrisszeit
- cw = continous wave Laserbestrahlung
- pw = gepulste Laserbestrahlung
- UV-Strahlung = ultraviolette Strahlung

IV. Inhaltsverzeichnis

1	Ein	leitu	ng	1
	1.1	Auf	bau und Funktion des Tränenfilms	1
	1.2	Ana	atomie und Funktion der Augenlider	2
	1.3	Das	s "Trockene Auge" (Keratokonjunctivitis sicca)	5
	1.3.	.1	Definition und Epidemiologie	5
	1.3.	.2	Subtypen	6
	1.3.	.3	Klinik und Diagnostik	8
	1.3.	.4	Gegenwärtige Therapieansätze	9
	1.4	Koı	rrelation Lidlaxizität und Keratokonjunctivitis sicca10	0
	1.4.	.1	Aktueller Wissensstand	0
	1.4.	.2	Eigene Vorarbeiten	2
	1.5	Ein	führung in die Laserphysik1	3
	1.5.	.1	Etablierte Laserbehandlungen in der Ophthalmologie1	3
	1.5.	.2	Lasereigenschaften 14	4
	1.5.	.3	Einfluss von Lasereigenschaften auf Gewebe1	5
	1.6	Zie	le der Arbeit1	7
2	Ma	terial	und Methoden1	8
	2.1	Unt	ersuchungsmaterial	8
	2.2	Las	erversuchsdurchführung1	8
	2.2.	.1	Laser und Laserparameter	8
	2.2.	.2	Laserbestrahlung	0
	2.2.	.3	Bestimmung der laserinduzierten Unterlidverkürzung2	1
	2.2.	.4	Messung der Unterlidspannung2	1
	2.2.	.5	Detektion des makroskopischen Koagulationsdurchmessers2	1
	2.2.	.6	Statistische Auswertungen	1
	2.3	His	tologische Untersuchungen des porzinen Unterlides	2

	2.3.1	Fixierung und Färbungen	24
	2.3.2	Mikroskopische Aufnahmen, Auswertung und Statistik	
	2.3.3	Vermessung der Koagulationsgröße	
	2.3.4	Evaluation der Epithel- und Gewebeveränderungen	27
	2.3.5	Beurteilung thermisch veränderter Zonen in der PS-Färbung	29
	2.3.6	Bestimmung des Volumens der Koagulation	29
3	Ergeb	nisse	
	3.1 E	Ergebnisse der Laserversuchsdurchführung	
	3.1.1	Längenänderung der Unterlider	
	3.1.2	Ausdehnung des makroskopischen Koagulationsdurchmessers	
	3.1.3	Veränderungen der Unterlidspannung	
	3.2 E	Ergebnisse der Histologie	
	3.2.1	Koagulationsgrößen	
	3.2.2	Epithel- und Gewebeveränderungen	
	3.2.3	Beurteilung thermisch veränderter Zonen in der PS-Färbung	
	3.2.4	Volumenbestimmung	41
4	Disku	ssion	
	4.1 E	ffekte nach lidstraffenden Techniken	
	4.2 V	Vahl der Laserparameter	
	4.3 7	hermische Effekte von Laser auf Kollagen	
	4.3.1	Korneale biomechanische Steifheit durch Crosslinking	
	4.3.2	Crosslinkingverfahren an der Tarsalplatte	44
	4.3.3	Thermische Effekt der Laserbestrahlung	45
	4.3.4	Biomorphometrische Analyse der Koagulationen	45
	4.3.5	Laser-induzierte Gewebeschäden	
	4.3.6	Regressionsneigung der Unterlidspannung	
	4.3.7	Gewebeschrumpfung	
	4.3.8	Weitere Lasertherapien bei MDD	

4.4	Vor- und Nachteile der Laserkanthoplastik	50
4.5	Limitationen	51
4.6	Schlussfolgerung	51
4.7	Ausblick	52

V. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Zusammensetzung des präkornealen Tränenfilms	2
Abbildung 2: Schematischer Querschnitt durch die vorderen Augenabschnitte	3
Abbildung 3: Struktur der Augenlider mit Lidbändchen, Tarsi und Meibomdrüsen	4
Abbildung 4: Klassifikation des trockenen Auges nach dem 2007 DEWS Report	6
Abbildung 5: Stufenschema der Behandlung des Trockenen Auges nach dem DEWS II Rep	ort
(TFOS)	9
Abbildung 6: Möglichkeiten der operativen Unterlidstraffung	. 11
Abbildung 7: Klinische Parameter vor und 3 Monate nach laterale Zügelplastik bei	Pa-
tienten	.13
Abbildung 8: Elektromagnetisches Spektrum und sichtbares Licht, Übersicht der Las	ser-
Gewebe-Wechselwirkung und reversible und irreversible Gewebeveränderungen	. 14
Tabelle 1: Wechselwirkungsarten von Laserlicht mit Gewebe	. 15
Tabelle 2: Thermische Effekte der Laserstrahlung	. 16
Abbildung 9: Eindringtiefe der Wellenlänge von Laserstrahlung in mm in Gewebe	. 17
Tabelle 3: Übersicht der Materialien für die Laserversuchsdurchführung	. 18
Abbildung 10: Schemazeichnung des Applikationssystems	. 19
Tabelle 4: Übersicht der Behandlungsgruppen mit den verschiedenen Laserparameterkom	ıbi-
nationen	. 19
Abbildung 11: Darstellung des porzinen Unterlidgewebes in der Laserversuchsdurchführur	ng
	. 20
Tabelle 5: Übersicht des Materials für die histologischen Arbeiten	. 22
Tabelle 6: Färbeprotokoll für die HE-Färbung	. 24
Tabelle 7: Färbeprotokoll für die PS-Färbung	. 24
Abbildung 12: Beispielmessungen der Koagulationsgröße in der HE-Färbung	. 26
Abbildung 13:Beispielmessungen der Anteile für die Bestimmung der Relation der Koagulat	ion
in der HE-Färbung	. 27
Tabelle 8: Schweregrade der morphologischen Veränderungen der porzinen Konjunktiva	des
Unterlids nach Laserbestrahlung	. 28
Abbildung 14: Bestimmung der zwei unterschiedlichen Zonen der Koagulation und Darstellu	ung
der Volumenbestimmung	. 29
Abbildung 15: Diagramme der Ergebnisse der Laserversuchsdurchführung	. 33
Abbildung 16: Übersicht histologischer Aufnahmen der Laserherde	. 34

Abbildung 17: Übersichtsaufnahme eines behandelten und eines unbehandelten porzinen
Unterlids in der HE-Färbung unter dem Lichtmikroskop im Querschnitt
Abbildung 18: Histologische Ergebnisse der Laserkoagulationen porziner Unterlider im
histologischen Querschnitt
Abbildung 19: Verdeutlichung der Epithelveränderungen der Konjunktiva des porzinen
Unterlids mit und ohne Laserapplikation
Abbildung 20: Zwei thermisch veränderte Zonen konjunktivaler Laserschädigung von
porzinen Unterlidern im histologischen Querschnitt
Abbildung 21: Auswertung der verschiedenen Volumina für die Koagulations- und
Übergangszone ("Halo") von porzinen Unterlidern im histologischen Querschnitt
Abbildung 22: Demonstration des Er: YAG Lasers auf dem oberen und unteren tarsalen Augen-
lid

1 Einleitung

1.1 Aufbau und Funktion des Tränenfilms

Der Tränenfilm wird während des Lidschlages in eine dünne Schicht über der Augenoberfläche verteilt. Beim Menschen reißt der Tränenfilm nach ca. einer halben Minute auf und kann durch Blinzeln wieder hergestellt werden. Die Dicke des Tränenfilms wird im Bereich von 2 bis 5,5 µm angegeben [9-11]. Er ist eine komplexe Struktur aus vielen Substanzen, darunter Lipide, Proteine, Muzine und Elektrolyte[12].

Wesentliche Funktionen sind der Schutz und die Befeuchtung der Hornhaut. Als primäre Brechungsfläche für das in das visuelle System einfallende Licht, sorgt er für die Transparenz der Hornhaut, glättet die Oberfläche und sorgt so für eine optimale Sehleistung. Ein stabiler präokularer Tränenfilm ist essentiell für die Integrität der Augenoberfläche [12].

Ein vereinfachtes Drei-Schichten-Modell des präokularen Tränenfilms wurde von Wolff [13, 14] ausgeführt: Eine Lipidschicht, die eine entscheidende Rolle für die Stabilisierung der Grenzschicht zwischen Luft- und Tränenoberfläche der Augenoberfläche einnimmt, eine wässrige Schicht, um das exponierte Augenepithel zu schützen, indem sie Gleitfähigkeit, Nährstoffe, antimikrobielle Proteine und eine geeignete Osmolarität bereitstellt und eine Muzinschicht, die die Hydrophobie der Epithelzellen verringert, die Viskosität des Tränenfilms erhöht (z.B. Muc5Ac) und so eine bessere Adhäsion der wässrigen Schicht auf der Epitheloberfläche bewirkt.

Heute werden die Anteile des Tränenfilms jedoch als zwei- statt dreischichtig beschrieben: Es gibt zunehmende Evidenz, dass die Muzinschicht einen abnehmenden Konzentrationsgradienten vom Epithel der Hornhaut zur wässrigen Schicht (auch muzinöswässrige Schicht) neben der Lipidschicht aufweist [15, 16].

Die Lipidschicht des Tränenfilms wird aus dem Meibumsekret der Meibomdrüsen in der Tarsalplatte des Ober- und Unterlides gebildet und ist etwa 42 nm dick [17, 18]. Die Lipidschicht beeinflusst die Evaporationsrate der muzinös-wässrigen Phase des präokularen Tränenfilms[19, 20]. Die polaren Meibom-Lipide interagieren mit lipidbindenden Proteinen der wässrigen Phase des Tränenfilms wie z.B. Tränenlipocalin [21] und fügen der Oberfläche des Tränenfilms eine hydrophobe Schicht hinzu. Die freie Oberflächenspannung wird herabgesetzt und der Tränenfilm stabilisiert [19, 21-23]. Das Sekret der Meibomdrüsen spielt eine unverzichtbare Schlüsselrolle für die Beständigkeit und Rheologie des Tränenfilms [24, 25].

Die Produktion der wässrigen Schicht erfolgt durch die Sekretion von azinösen und tubulären Zellen der Tränendrüse. Die Haupt-Tränendrüse ist neben den akzessorischen Tränendrüsen ein unverzichtbares Element des Tränensystems [26]. Die mukös-wässrige Schicht macht mit einem Anteil von 2-6 µm den größten Anteil des präkornealen Tränenfilms aus.

Die Augenoberfläche, der Tränenfilm, die Tränendrüsen und die Augenlider wirken als funktionelle Einheit, um die Qualität der refraktiven Oberfläche des Auges zu bewahren, Verletzungen zu widerstehen und das Auge vor sich ändernden Körper- und Umweltbedingungen zu schützen. Beim Verlust der Tränenfilm-Homöostase entwickelt sich das Krankheitsbild des Trockenen Auges [19, 27].



Abbildung 1: Zusammensetzung des präkornealen Tränenfilms.

1.2 Anatomie und Funktion der Augenlider

Die angemessene Form, Kontur, Höhe und Mobilität der Augenlider sind essenziell für den adäquaten Schutz und die Funktion der Augen sowie für das Gesamterscheinungsbild. Das Ober- und das Unterlid (*Palpebra superior und Palpebra inferior*) stellen die vordere Begrenzung der Augenhöhle (*Orbita*) dar. Zwischen den beiden Lidern befindet sich die Lidspalte. Physiologischerweise wird beim Lidschluss der komplette Augapfel bedeckt. Durch 20 bis 30 Lidschläge pro Minute wird das Auge vor Austrocknung geschützt. Weiterhin hat der Lidschlag eine mechanische Komponente, um Fremdkörper aus dem Auge zu entfernen.

Die funktionelle Anatomie der Augenlider unterscheidet eine vordere Lamelle, die aus Haut und Orbicularis-Muskel besteht von einer hinteren Lamelle, die aus der Tarsalplatte und der Bindehaut gebildet wird.



Abbildung 2: Schematischer Querschnitt durch die vorderen Augenabschnitte. [5]

Die Lidhaut ist weniger als 1 mm dick: Die Epidermis besteht aus mehrschichtigem, verhorntem Plattenepithel und die sich darunter anschließende Dermis enthält Kollagene, Blut- sowie Lymphgefäße und Nerven. Im subkutanen Areolargewebe sind die Haarfollikel gelegen. Assoziiert zu den Wimpern (*Cilia*) befinden sich Moll-Drüsen (*Gll. ciliares*, apokrine, modifizierte Schweißdrüsen) und Zeis-Drüsen (*Gll. sebaceae*, Talgdrüsen), die mit ihren Ausführungsgängen an den Haarfollikeln der Wimpern münden. Die Moll-Drüsen stehen vor allem im Dienste der Abwehr und bilden antimikrobielle Peptide [28]. Ekkrine Schweißdrüsen befinden sich überall verstreut. Die *Pars palpebralis* des quergestreiften ringförmigen *M. orbicularis oculi* ermöglicht den aktiven Lidschluss. Der oberflächlichste Teil des Muskels wird Riolan-Muskel genannt. Die aktive Lidhebung wird durch den quergestreiften Lidhebermuskel (*M. levator palpebrae*) durchgeführt. Von seinem Ursprung an der Unterseite des kleinen Keilbeinflügels kommend, teilt sich der Muskel am Whitnall'schen Ligament in eine vordere Aponeurose und hintere tarsale Muskelschicht, auch Müller'scher-Muskel (*M.*

tarsalis superior) genannt. Der *M. tarsalis Müller* besteht aus glatter Muskulatur und reguliert die Weite der Lidspalte durch Anheben des Lides. Die Lidfalte befindet sich am oberen Rand des Tarsus.

Die Bindehaut des Auges (*Conjunctiva bulbi*) ist eine Schleimhaut, die Augenlid und Augenbulbus, unter Aussparung der Hornhaut, zu einer beweglichen Einheit verbindet. Gegliedert werden kann die Bindehaut in drei Abschnitte: Die Bindehaut der Lider (*Conjunctiva palpebralis*) bedeckt das Augenlid von innen und ist fest mit dem Tarsus verwachsen. Sie besteht aus einer lockeren Bindegewebsschicht und einem unverhorntem mehrschichtigem Plattenepithel, welches Becherzellen enthält [28]. Sobald sich die Bindehaut nach hinten über die Übergangsfalten (*Conjunctiva fornicis*) erstreckt hat, liegt sie der Sklera auf und wird zur bulbären Bindehaut (*Conjunctiva bulbi*).

Die architektonische Form der Augenlider wird durch steife Bindegewebsplatten, die Tarsi, bestimmt. Ihre Form ermöglicht es den Lidern, bei schnellen Blickbewegungen engen Kontakt zum Bulbus zu halten. Die Tarsalplatten sind ein spezialisiertes Bindegewebe, welches weder rein faserig noch knorpelig ist: Es besteht überwiegend aus Kollagenen vom Typ I, III und VI, aber weiterhin auch aus Glykoproteinen z.B. aus hyalinem Knorpel wie Aggrecan und Versican und aus einer Vielzahl von Glycosaminoglycanen insbesondere Chdroitin-6-Sulfat [29]. Eingebettet in die Tarsalplatten sind die Meibom-Drüsen (*Gll. tarsales*) (Abbildung 3). Diese holokrinen Talgdrüsen produzieren ein lipidreiches Sekret, genannt Meibum, welches bei Körpertemperatur flüssig ist und ein Öl bildet [30]. Die Abgabe von Meibum ist hauptsächlich das Ergebnis einer kontinuierlichen Sekretion unter neuraler und hormoneller Kontrolle, ergänzt durch Lidwirkung.



Abbildung 3: Struktur der Augenlider mit Lidbändchen (orange), Tarsi (grau) und Meibomdrüsen (gelb). Die mediale und laterale Kanthalsehne verbinden den oberen und unteren Tarsus nasal und temporal an der Wand der Augenhöhle (Orbita). Sie spannen die Tarsalplatten in der Mitte der Orbitalöffnung auf.

Die Tarsalplatten sind über das mediale und laterale Lidbändchen an den orbitalen Knochenwänden befestigt (Abbildung 3). Der Tarsus und die Lidbändchen sind für die passive Zugfestigkeit der Tarsalplatten und ihre stabile Form verantwortlich. Dies ist eine Voraussetzung für die gleichmäßige Übertragung der mechanischen Kraft des M. orbicularis während des Blinzelns auf die Meibomdrüsen und eine damit einhergehende Expression des Öls. Dieses Öl wird auf den hinteren Lidrand durch Muskelkontraktion während des Lidschlages sezerniert, verteilt sich als Tensid über die Augenoberfläche [21]. Eine wichtige Funktion der Augenlider ist auch die Verteilung der Flüssigkeit aus dem Tränenmeniskus auf den Tränenfilm während der Aufwärtsphase des Blinzelns und der anschließende Transport in das Tränendrainagesystem.

1.3 Das "Trockene Auge" (Keratokonjunctivitis sicca)

1.3.1 Definition und Epidemiologie

Das Trockene Auge (engl. *Dry Eye Disease*, DED, Sicca-Syndrom, Keratokonjunctivitis sicca) ist eine der häufigsten Erkrankungen in der Ophthalmologie, die die Lebensqualität, Arbeitsproduktivität und das Sehvermögen betroffener Patienten erheblich beeinträchtigen kann. Die Symptome betreffen häufig Aktivitäten des täglichen Lebens wie Lesen, Schreiben oder Monitorarbeit [31].

Im Jahre 2017 erschien die neue Definition der *Tear Film and Ocular Surface Society* (TFOS) *Dry Eye Workshop* (DEWS) der Keratokonjunktivitis sicca: "DED eine multifaktorielle Erkrankung der Augenoberfläche, gekennzeichnet durch einen Verlust der Homöostase des Tränenfilms und begleitet von Augensymptomen, bei denen Tränenfilminstabilität und Hyperosmolarität, Augenoberflächenentzündung und -schädigung sowie neurosensorische Anomalien ätiologische Rollen spielen" [32].

Das Trockene Auge ist eine Volkskrankheit und nach dem Katarakt in Deutschland die zweit häufigste Erkrankung mit 15-17% in der Gesamtbevölkerung [33]. Die Prävalenz von DED in Europa und in den USA liegt zwischen 5 und 15 %, je nach Alter, Geschlecht und Schweregrad der Erkrankung. In asiatischen Ländern kann die Prävalenz der DED sogar noch höher sein [34-36]. Bei Frauen ist DED häufiger [36]. Aufgrund der zusätzlich hohen Kosten der medizinischen Behandlung pro Jahr stellt das trockene Auge eine enorme sozioökonomische Belastung dar [37, 38].

1.3.2 Subtypen

Das National Eye Institute teilte das Erkrankungsbildung in zwei Untergruppen ein: die durch Tränenmangel-bedingte Keratokonjunktivitis sicca (*aqueous tear-deficient dry eye*, ADDE) und die evaporativ-bedingte Keratokonjunktivis sicca (*evaporative dry eye*, EDE) [39]. Das klinische Erscheinungsbild kann jedoch auch eine Mischung der beiden Pathologien sein [40]. Zehn Prozent der Patienten sind an dem Subtyp der ADDE mit Flüssigkeitsmangel erkrankt, wohingegen mehr als 80 % entweder den evaporativ-bedingten Typ im Zusammenhang mit der Meibomdrüsen-Dysfunktion oder eine Kombination aus beiden vorweisen [2, 35, 41, 42].

Die Haupt- und Unterklassen des trockenen Auges werden in der Abbildung 4 gezeigt.



Abbildung 4: Klassifikation des trockenen Auges nach dem 2007 DEWS Report [40]. KM = Konservierungsmittel.

ADDE ist auf eine verringerte Tränensekretion dysfunktionaler Tränendrüsenazini und einer damit geringeren wässrigen Tränenmenge auf der Augenoberfläche zurückzuführen [43, 44]. Die wässrige Phase des Tränenfilms verdunstet zwar in normaler Menge und Rate, stammt jedoch aus einem reduzierten wässrigen Tränenpool und verursacht so eine Hyperosmolarität und Inflammation [45, 46]. Entzündungsmediatoren können auch durch die entzündliche Infiltration der Tränendrüse durch das Tränensekret auf die Augenoberfläche gelangen. Zwei große Formen werden unterschieden (Abbildung 4): Das Sjögren-Syndrom assoziierte und das Nicht-Sjögren-Syndrom assoziierte Trockene Auge. Das Sjögren-Syndrom (SS) ist eine

Autoimmunerkrankung. Durch lymphozytäre Infiltration der Tränen- und Speicheldrüse entsteht ein azinöser und duktulärer Zelltod mit dem Resultat einer Hyposekretion [46]. Von der American-European Consensus Group wird eine primäre und eine sekundäre Form beschrieben [47]: Die primäre Form beschreibt das Vorhandensein der Symptome des Trockenen Auges in Kombination mit Symptomen von Mundtrockenheit, Nachweis einer verringerten Speichelsekretion, einer positiven Histopathologie sowie dem Vorliegen von Autoantikörpern [48]. Das sekundäre SS besteht aus den Kennzeichen des primären SS und einer zusätzlichen SS-assoziierten Bindegewebserkrankung, wie z.B. der rheumatoiden Arthritis. Die genauen Ursachen für die Entwicklung einer solchen Autoimmunerkrankung sind noch nicht vollständig bekannt: Faktoren wie Genetik, das Umfeld, virale Infektionen und ein Ernährungsmangel scheinen eine Rolle zu spielen [45, 49, 50]. Die Charakteristik des nicht-SS-assoziierten Tröckenen Auges ist das Vorhandensein einer Tränendrüsenfunktionsstörung, bei der systemische Autoimmunmerkmale eines SS ausgeschlossen wurden. Es tritt häufig altersbedingt durch eine Tränendrüseninsuffizienz auf.

Das evaporativ Trockene Auge ist auf einen exzessiven Wasserverlust der exponierten Augenoberfläche bei einer normalen Funktion der Tränensekretion zurückzuführen. Die Ursachen können sowohl intrinsisch im Rahmen einer Beeinträchtigung der Lidstrukturen oder -dynamik bestehen oder extrinsisch durch bestimmte Expositionen auftreten [3]. Eine Übersicht der intrinsischen und extrinsischen Faktoren gibt Abbildung 4. Die häufigste Ursache des evaporativ trockenen Auges wurde von der internationalen Forschungsgemeinschaft als die obstruktive Meibomdrüsendysfunktion (MDD) oder posteriore Blepharitis klassifiziert [51-53]. Der Internationale Workshop für MDD der Tear Film and Ocular Surface Society (TFOS) veröffentlichte erstmals eine Definition dieser Störung: "Die MDD ist eine chronische, diffuse Anomalie der Meibom-Drüsen, die häufig durch eine Obstruktion des terminalen Ausführungsganges und/oder qualitative/quantitative Veränderungen des Drüsensekrets gekennzeichnet ist. Dies kann zu Alterationen im Tränenfilm, Symptomen okulärer Reizung, klinisch sichtbarer Inflammation und Erkrankungen der Augenoberfläche führen." [3]. Die Obstruktion der Ausführungsgänge wird durch eine Hyperkeratinizierung des duktalen Epithels und eine erhöhte Viskosität des Meibums verursacht. Einfluss auf diesen Prozess haben endogene Faktoren wie das Alter, das Geschlecht, hormonelle Störungen und exogene Faktoren wie topische Medikamente [3]. Folgen sind intraglanduläre Dilatationen, Atrophie und Ausfall der Drüsen und erniedrigte Sekretionsraten. Eine häufige Assoziation der MDD besteht auch zu seborrhoischer Dermatitis und Akne Rosazea. Die Konsequenz der insuffizienten Lipidschicht ist eine erhöhte Evaporation [54], Hyperosmolarität und Instabilität des Tränenfilms, erhöhtes bakterielles Wachstum auf der Lidkante, evaporativ trockenes Auge sowie eine Kaskade von Inflammationsprozessen mit entzündlichen Signalwegen [55-57] und resultierendem Schaden an der Augenoberfläche [53, 58-60]. Bis dato gibt es keine ursächliche Therapie für die MDD.

1.3.3 Klinik und Diagnostik

Die Leitsymptome des Sicca-Syndroms sind "Augenbrennen", Fremdkörpergefühl und eine Bindehautrötung [32, 39]. Weiterhin können Sehstörungen wie verschwommenes Sehen sowie Juckreiz, Fotophobie und das Gefühl von "müden Augen" auftreten.

Diagnostische Tests sind notwendig, um dem Trockenen Auge klinisch ähnlich imponierenden Erkrankungen wie Infektionen oder Allergien abzugrenzen. Leitlinien für ein evidenzbasiertes diagnostisches Vorgehen lieferte der 2007 veröffentlichte Dry Eye Workshop [40] sowie der 2017 veröffentlichte TFOS DEWS II Diagnostic Methology Report [61]. Die Symptome und klinische Anzeichen der DED können stark variieren [62-64]. Es ist deshalb empfohlen, einen validierten Symptomfragebogen zu Beginn jeder Patienteninteraktion durchzuführen (z.B. Ocular Surface Disease Index, OSDI) [65]. Bei der Spaltlampenuntersuchung sollte auf folgende klinische Zeichen geachtet werden: konjunktivale Rötung, punktförmige durch Fluoreszein oder Lissamingrün anfärbbare Epithelerosionen (Keratitis superficialis punctata, lidkantenparallele konjunktivale Falten (LIPCOF-Falten) und vermehrte Schleimfäden [66]. Eine Bestimmung der Tränenfilmaufrisszeit mit Fluoreszein und ein Schirmer-I-Test zur Funktionsprüfung der Sekretion der Tränendrüse ist erforderlich. Eine ausführliche Untersuchung des Lidrandes und der Ausführungsgänge der Meibomdrüsen mit Expression des Meibumsekrets sollte erfolgen: Bei MDD ist der Lidrand verdickt und Teleangiektasien sind erkennbar. Die Ausführungsgänge der Meibomdrüsen sind mit einem trüben, körnigen oder festen Sekret verstopft. Bei zusätzlich vorhandener Inflammation, besteht eine Blepharitis (Entzündung des Lidrandes) oder eine Meibomitis (Entzündung der Meibomdrüsen) [67]. Eine Infrarot-Meibographie ermöglicht berührungslose die direkte Visualisierung der Meibomdrüsen [68].

In späten Stadien oder bei schweren Formen können Bindehautvernarbungen oder Hornhautkomplikationen wie Ulzerationen und Hornhautperforationen auftreten. Schwere Komplikationen des DED sind eher selten und werden z.B. im Rahmen des Sjörgen-Syndroms beobachtet [69-71].

1.3.4 Gegenwärtige Therapieansätze

Aufgrund der multifaktoriellen Ätiologie des DED ist das Management komplex. Die Bestimmung der primären ursächlichen Faktoren der Erkrankung sind von essenzieller Wichtigkeit.



Abbildung 5: Stufenschema der Behandlung des Trockenen Auges nach dem DEWS II Report (TFOS) [1, 2] (obere Reihe). Die untere Reihe bildet die mögliche zusätzliche Therapie bei Meibomdrüsendysfunktion nach dem Internationalen Workshop für MDD (TFOS) [3, 4] ab.

Das Ziel einer adäquaten Therapie besteht darin, die Homöostase der Augenoberfläche und des Tränenfilms wiederherzustellen, indem der Teufelskreis der Tränenfilminstabilität und inflammatorischer Stimulationen durchbrochen wird. In der Regel wird eine kontinuierliche Behandlung zur Therapie chronischer Folgeerscheinungen angestrebt. Der Therapiealgorithmus [63] wird nicht als Richtlinie angesehen, die starr sequentiell befolgt werden muss. Vielmehr ist es ein dynamisches Instrument, das dabei helfen soll die Einleitung der Behandlung mit konkreten Interventionen zu beginnen, die dem DED-Patienten am wahrscheinlichsten Linderung verschafft und den Übergang zu fortgeschrittenen spezifischeren Behandlungsoptionen ermöglicht. Die TFOS veröffentlichte nach dem Dry Eye Workshop II 2015 [1, 2] und dem Internationalen Workshop für Meibomdrüsendysfunktion 2010 [3, 4] Empfehlungen für das abgestufte Management und die Behandlung von DED. Das Stufenschema in Abbildung 5 gibt eine Übersicht über die Reihe von Therapiemöglichkeiten, die alle evidenzbasiert zu einer Regression des DED führen können.

Spricht ein Patient auf eine Ebene nicht an oder stellt sich mit schwererer Ausprägung vor, wird die bestehende Therapie modifiziert oder durch die nächste Behandlungsstufe ergänzt. Insgesamt bleibt die Behandlung der DED individuell auf den Patienten zugeschnitten [2].

Für die Therapie der Meibomdrüsendysfunktion gibt es bis jetzt keinen Goldstandard. Die Behandlungsoptionen sind limitiert und bei vielen Patienten kann kein zufriedenstellendes Ergebnis erzielt werden. Es bestehen starke Variationen zwischen Augenärzten auf verschiedenen Kontinenten und die Dunkelzahlen scheinen hoch zu sein [3].

1.4 Korrelation Lidlaxizität und Keratokonjunctivitis sicca

1.4.1 Aktueller Wissensstand

Ein Verlust der Tränenfilmhomöostase kann aus einer Vielzahl von Faktoren resultieren, welche auch Anomalien des Augenlides umfassen [12, 24]. Es ist bekannt, dass eine erhöhte Lidlaxizität zu einer Fehlstellung der Lidkante, einem En- oder Ektropium führt. Dieser Zustand kann zu Trichiasis und erhöhter Tränenverdunstungsrate und symptomatisch zu erheblichen Beschwerden des Patienten führen. In schweren Fällen kann ein Lagophthalmus oder eine Expositionskeratopathie in einer Erblindung resultieren.

Augenlidlaxizität kann aus einer Reihe von involutiven, lokalen und systemischen Erkrankungen resultieren. Häufig ist sie jedoch von unbekannter Ätiologie. Involutive Veränderungen der Lidstrukturen führen oft zu einer horizontalen Lidschlaffheit. Verschiedene Studien bezüglich der Struktur der Tarsalplatte bei Augenlidschwäche, bestätigen, dass mit zunehmendem Alter eine Elastose, eine Abnahme der elastischen Fasern, eintritt [72, 73]. Diese Veränderungen werden in den Tarsalplatten von Patienten mit Ektropium und Entropium ebenfalls beobachtet [74]. Es gibt bisher wenig Literatur, die Meibom-Drüsen-, Tränenfilmparameter und Symptome des trockenen Auges mit der Lidspannung in Verbindung bringt.

Mildere Formen der Augenlidschlaffheit sind vermutlich durch eine altersentsprechende Rückbildung der Canthalsehnen bedingt und viel häufiger anzutreffen. Bei Patienten mit erhöhter Lidlaxizität werden vermehrt Symptome des DED festgestellt: Chhadva et al. konnten eine Korrelation zwischen erhöhter Lidlaxizität, Meibomdrüsenatrophie (*drop-out*) und reduzierter Meibumsekretion nachweisen [75]. Die Befunde umfassten ein Spektrum aus okulären Schmerzen, einem instabilen Tränenfilm, erhöhten Veränderungen des Hornhautepithels, einem Ausfall von Meibomdrüsen, erhöhter Vaskularität des Lidrandes und abnormaler Lipidqualität. Bei Patienten mit Ek- oder Entropium und damit reduzierter Unterlidspannung konnten ebenfalls Symptome des DED festgestellt werden [74, 76].

Wenn die Lidlaxizität konsequent mit papillärer Konjunktivitis und dem trockenen Auge auftritt, wird sie als *Lax-Eyelid-Syndrom* ezeichnet [77]. Es können eine Reihe von Untergruppen von *Lax-Eyelid-Syndrom* identifiziert werden. Eine Untergruppe ist das *Floppy-Eyelid-Syndrom* (FES), welches hauptsächlich bei Männern im höheren Alter auftritt, mit Adipositas oder Bindegewebserkrankung wie dem Marfan Syndrom assoziiert ist [78]. Die klinischen Zeichen und Symptome des FES sind sehr ähnlich zu denen des trockenen Auges. Untersuchungen an Patienten mit FES weisen darauf hin, dass die erhöhte Evaporation der Augenoberfläche auf einen Mangel an Lipidkomponenten im Tränenfilm zurückzuführen ist [79, 80].

Horizontale Liderschlaffung wird überwiegend chirurgisch durch eine Verkürzung des Augenlids behandelt. Ein mögliches operatives Prozedere ist die Keilexzision, bei der ein Teil des erschlafften Lides entfernt und das restliche Augenlid wieder adaptiert wird (Abbildung 6 A). Standardmäßig wird bei involutiven Veränderungen, wie einem En- oder Ektropium, die laterale Zügelplastik angewendet. Die laterale Zügelplastik ist ein Verfahren bei der das Unterlid horizontal verkürzt und der Tarsus an das Periost der Innenseite der lateralen Orbita refixiert wird (Abbildung 6 B).



Abbildung 6: Möglichkeiten der operativen Unterlidstraffung. rot: Schnittführung, blaue Pfeile: Richtung der Adaption. (A) Bei der Keilexzision wird das ein Teil des erschlafften Lides entfernt und die Schnittränder wieder zusammengenäht. (B) Bei der laterale Zügelplastik wird das Unterlid horizontal verkürzt, der seitliche Rand des Lidknorpels (Tarsus) wird präpariert und an der Knochenhaut (Periost) der Innenseite der lateralen Augenhöhle (Orbita) wieder fixiert.

Die chirurgische Verkürzung der Augenlider zur Erhöhung der Zugfestigkeit des Lides und der Tarsalplatten ist bis jetzt keine etablierte Technik zur Behandlung des trockenen Auges oder der Meibomdrüsendysfunktion.

1.4.2 Eigene Vorarbeiten

Bis jetzt haben nur wenige Veröffentlichungen Meibomdrüsen, Tränenfilmparameter und Symptome des Trockenen Auges in Verbindung mit der Unterlidspannung gebracht. Im Zuge einer prospektiven klinischen Studie der Universitätsaugenklinik Düsseldorf konnte bereits nachgewiesen werden, dass eine operativ gesteigerte Unterlidspannung die Funktion der Meibomdrüsen verbessert [81]: Bei vierzehn Patienten mit MDD wurde die Unterlidlaxizität mittels einer laterale Zügelplastik korrigiert. Vor und 3 Monate nach der laterale Zügelplastik wurden die Patienten auf Symptome des Trockenen Auges (OSDI) und auf MDD-Parameter wie unter anderem die nicht-invasive Tränenfilmaufrisszeit (NIBUT), die Lipidschichtdicke (LipiView® Interferometer), die Anzahl exprimierender Meibomdrüsen (gemessen mit dem Meibomian gland evaluator®) und die Qualität des Meibum-Sekrets untersucht. Als Kontrollauge diente das nicht operierte Partnerauge. Die Abbildung 7 gibt eine Übersicht über die Ergebnisse der Studie.



Abbildung 7: Klinische Parameter vor und 3 Monate nach laterale Zügelplastik bei Patienten. Angepasst aus [81]. (A) Der OSDI wies eine signifikante Reduktion der Symptomatik auf (präoperativ 42,9 ± 24,7; postoperativ 23,8 ± 21,6; p = 0,002). (B) Postoperativ zeigte sich ein tendenziell erhöhter NIBUT ($5,5 \pm 2,6$ s auf $9,9 \pm 6,8$ s; p = 0,08). (C) Der Schirmer-Test war signifikant reduziert ($15,3 \pm 4,7$ mm auf $11,9 \pm 2,9$ mm; p= 0,03). (D) Die Lipidschichtdicke des Tränenfilms war signifikant gesteigert ($64,3 \pm 30,4$ auf $74,1 \pm 27,8$; p = 0,025). (E) Die Tränenmeniskushöhe war postoperativ signifikant reduziert ($0,8 \pm 0,3$ bis $0,6 \pm 0,2$; p = 0,05). (F) Der Verlust der Meibom-Drüsen nahm postoperativ tendenziell leicht zu ($1,2 \pm 0,9$ bis $1,4 \pm 0,9$; p = 0,18). (G) Die Bindehautfalten waren verringert (p = 0,02). (H) Die Anzahl an funktionellen Meibomdrüsen verbesserte sich signifikant nach der Operation ($4,4 \pm 2,6$ auf $6,8 \pm 2,1$; p= 0,002). (I) Die Meibumqualität zeigte sich signifikant verbessert ($0,9 \pm 1,0$ auf $0,5 \pm 0,8$; p = 0,04) [81].

Die Behandlung der Unterlidschlaffheit mittels LCS-Verfahren verbesserte die Stabilität des Tränenfilms und die Symptome des trockenen Auges. Maßgeblich für diese Veränderungen ist vermutlich die erhöhte Unterlidspannung und der damit einhergehende erhöhte exkretorische Druck auf die in der Tarsalplatte liegenden Meibomdrüsen. Die klinischen Vorversuche weisen somit darauf hin, dass die Erhöhung der Unterlidspannung sich als Therapie der Meibomdrüsendysfunktion anbietet. Diese Ergebnisse sollten allerdings in einer weiteren Studie mit einem größeren Patientenkollektiv über einen längeren Zeitraum nachverfolgt werden, um eine Regression der erzielten Verbesserungen auszuschließen.

1.5 Einführung in die Laserphysik

1.5.1 Etablierte Laserbehandlungen in der Ophthalmologie

In der Augenheilkunde sind Laser ein essenzieller Bestandteil der Diagnostik und Therapie. Diagnostisch werden sie vor allem dann eingesetzt, wenn die üblichen inkohärenten Lichtquellen nicht ausreichend sind. Die konfokale Lasermikroskopie ist ein wichtiges diagnostisches Werkzeug, um frühe Stadien von Netzhautveränderungen zu detektieren. Eine Netzhautablösung und der Grüne Star (Glaukom) können mit dieser Methode rechtzeitig erkannt und erfolgreich behandelt werden [82, 83]. Die therapeutischen Laseranwendungen können nach der Anwendung im hinteren und vorderen Augenabschnitt eingeteilt werden. Die drei wichtigsten Indikationen für eine Laserbehandlung an der Netzhaut sind Foramina, -Netzhautablösungen und die diabetische Retinopathie. Der dazu verwendete Argonlaser ruft eine thermische Interaktion mit dem Gewebe hervor und ist heute immer noch das am häufigsten verwendete System in der Augenheilkunde. Er wird auch beim primärchronischen Glaukom für eine Lasertrabekuloplastik angewendet. Der Nd:YAG-Laser emittiert bei einer Wellenlänge von 1064 nm und wird z.B. zur posterioren Kapsulotomie oder Iridotomie beim akuten Glaukomanfall genutzt. An der Hornhaut werden Laserapplikationen für die refraktive Hornhautchirurgie mit dem Excimerlaser verwendet und zur Therapie deformierter Hornhäute (z.B. Crosslinking beim Keratokonus), bei Hornhauttransplantationen oder -verletzungen.

Die chirurgischen Laseranwendungen lassen sich in das Gebiet der "minimal-invasiven Chirurgie" einordnen. Das Ziel dieses Konzeptes ist eine geeignete Therapie mit möglichst wenig Eingriffen und geringen Komplikationen durchzuführen. Der Laserstrahl beinhaltet mit seinen physikalischen Möglichkeiten hierbei ein großes Potenzial.

1.5.2 Lasereigenschaften

Mit einem Laser (Akronym für *light amplification by stimulated emission of radiation*) werden Laserstrahlen erzeugt, die mit dem Wellen-Teilchen-Dualismus dargestellt werden können: Das Wellenmodell beschreibt die Lichtausbreitung und Interferenzerscheinung, das Teilchenmodell die Absorption und Emission der Teilchen (Photonen) [84, 85]. Die Strahlen können in Form von einer kontinuierlichen (*continous wave, cw*) oder einer gepulsten (*pulsed wave, pw*) Betriebsart abgegeben werden. [84]. Ein Laserstrahl breitet sich nahezu parallel aus und kann durch Linsen auf sehr kleine Durchmesser fokussiert werden. Diese Fokussierbarkeit ist ein Vorteil für die Anwendung in der Medizin [86].

Die Leistung bei kontinuierlich strahlenden Lasern wird als Strahlungsleistung P bezeichnet und wird in Watt (W) angegeben. Die Emission der Strahlungsleistung über ein Zeitintervall t (s) definiert die Strahlungsenergie Q und wird in Joule (J) angegeben [84-86].



 $Q = P \times t$

Abbildung 8: A Elektromagnetisches Spektrum und sichtbares Licht nach [1, 2]. B Übersicht der Laser-Gewebe-Wechselwirkung aus [6]. C Reversible und irreversible Gewebeveränderungen entsprechend der Einwirkung von Temperatur und Zeitdauer aus [8].

Ein Laser erzeugt Strahlung, die durch eine definierte Wellenlänge hervorgerufen wird. Es können Strahlungen in verschiedenen Bereichen des elektromagnetischen Spektrums emittiert werden (Abbildung 8 A). Licht kleinerer Wellenlänge weist eine größere Energie auf als Licht größerer Wellenlänge [84]. Für ultraviolette Strahlung (UV-Strahlung) sind vielfältige negative Auswirkungen auf den menschlichen Organismus beschrieben [87, 88]. Infrarot-Strahlung (IR-Strahlung) wird je nach Wellenlänge in drei Bereiche unterteilt: IR-A, IR-B und IR-C-Strahlung. Diese können unterschiedlich stark in biologisches Gewebe eindringen [23,25]. Wegen ihrer hohen Wellenlänge und der gleichzeitig geringen Energie kann IR-Strahlung Gewebe lediglich erwärmen, nicht aber chemisch modifizieren [89]. Sie ist also nicht mutagen bzw. kanzerogen. Diese Eigenschaften sind für klinische Anwendungen essentiell [86].

1.5.3 Einfluss von Lasereigenschaften auf Gewebe

Im Wesentlichen werden drei Wechselwirkungsarten von Lasern mit Gewebe genutzt [90]. Die Art der Wechselwirkung wird durch die Zeitdauer und die Laserpulsdauer bestimmt (Abbildung 8 B). Die Tabelle 1 gibt einen Überblick der Wechselwirkungsarten von Laserlicht mit Gewebe und ihren klinischen Einsatzmöglichkeiten.

Wechselwirkungsart	Pulsdauer	Lasertyp	Effekt (Beispiel)
Thermisch	cw oder µs	Ar, CO2, Krypton	Koagulation (Netzhaut)
Photoablativ	nsec	Excimer	Gewebeabtragung (Hornhaut)
plasmainduziert	psec	Nd:YAG, Nd:YLF	Gewebezertrümmerung (Linse), Gewebeabtragung (Hornhaut)

Tabelle 1: Wechselwirkungsarten von Laserlicht mit Gewebe. Nd:YAG entspricht Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser, Nd:YLF entspricht Neodym-dotiertes Yttrium-Lithium-Fluorid. Nach [8].

In der klinischen Praxis ist die Wirkung von Wärme auf Gewebe die am weitesten verbreitete Kategorie der Laser-Gewebe-Wechselwirkung [91]. Für dieses Forschungsprojekt ist die thermische Wechselwirkungsart ebenfalls von besonderer Bedeutung. Vorwiegend koagulierend wirkend, beschränkt sie sich auf die Denaturierung von Proteinen und Inaktivierung von Enzymen. Hierbei sollten allerdings nur Temperaturen bis 65° C erreicht werden, da höhere Temperaturen zu einer Karbonisation und Verdampfung des Gewebes führen [8]. Die Temperatur ist der bestimmende Parameter aller thermischen Laser-Gewebeinteraktionen. Die Tabelle 2 zeigt die thermischen Effekte in Abhängigkeit von der Temperatur auf.

Temperatur (°C)	Effekt		
37	Normal		
45	Hyperthermie		
50	Abnahme der Enzymaktivität		
60	Denaturierung von Proteinen und Kollagen, Koagulation		
80	Permeabilisierung von Membranen		
100	Verdampfung		
>100	Karbonisation		
> 300	Zerschmelzen		

Tabelle 2: Thermische Effekte der Laserstrahlung. Nach [8].

Es wurde beobachtet, dass nicht nur die erreichte Temperatur, sondern auch die Bestrahlungsdauer eine bedeutende Rolle für die Induktion von Gewebeveränderungen spielt [8]. In Abbildung 8 C wird dargestellt, wie sich die kritische Temperatur und die entsprechende Zeitdauer hinsichtlich reversibler und irreversibler Gewebeeffekte zueinander verhalten.

Die Schwelle zur irreversiblen Schädigung des Gewebes kann dementsprechend entweder durch hohe Laserleistung (hohe Temperatur) in kurzer Zeit oder mit geringerer Laserleistung und dafür längerer Einwirkungsdauer (Bestrahlungszeit) erreicht werden.

Auf mikroskopischer Ebene haben thermische Effekte ihren Ursprung in Massenabsorption. Die Energie der einfallenden Laserstrahlung wird durch Absorption der Photonen in Wärme umgewandelt. Die Photonen des Lichts werden von Atomen des Gewebes absorbiert. Der Absorptionskoeffizient μ_a bestimmt die thermische Wirkung des Lasers und gibt die Schwächung der Laserstrahlung durch Absorption pro mm an. Das Inverse des Koeffizienten μ_a^{-1} definiert die Eindringtiefe in das biologische Gewebe [84, 85]. Diese gibt an, wie tief die Strahlung in das Gewebe reicht. Der Absorptionskoeffizient hängt stark von der Wellenlänge der einfallenden Laserstrahlung und der Art des Gewebes ab: Niedrige Wellenlängen dringen tiefer in das Gewebe als hohe Wellenlängen [8] (Abbildung 9).



Abbildung 9: Eindringtiefe der Wellenlänge von Laserstrahlung in mm in Gewebe. Aus [92].

Die Eindringtiefe zeigt für verschiedene Gewebearten erhebliche Unterschiede. Wesentliche Komponenten für die Absorption der Laserstrahlung im biologischen Gewebe sind organische Moleküle, Melanin und Wasser [8]. Im IR-Bereich sind Wassermoleküle die dominierenden Absorber [8]. Wasser ist ein wichtiger Bestandteil der meisten Gewebe (wie auch hier des Unterlids).

1.6 Ziele der Arbeit

Eine minimal-invasive Laserbehandlung könnte eine alternative Methode zur operativen Erhöhung der Unterlidspannung darstellen. Eine solche Laser-induzierte Unterlidstraffung (Laserkanthoplastik) soll zur präventiven Behandlung einer Funktionsbeeinträchtigung der Meibom-Drüsen für Patienten im frühen Stadium der Unterlidschwäche eingesetzt werden.

Das Ziel dieses Forschungsprojekt ist die Entwicklung einer optimalen Laserbestrahlung durch den Vergleich verschiedener Laserparameter. Experimente zur Dosimetrie wurden an ex vivo gesunden porzinen Unterlidern durchgeführt. Um die Auswirkung der Koagulation auf die Extrazellulärmatrix der Tarsalplatte zu evaluieren und mögliche schädigende Effekte auf das Oberflächengewebe zu detektieren, wurden die Auswirkungen der Laserparameter auf die Unterlidspannung während und nach der Laserapplikation als auch makroskopische und histologische Untersuchungen vorgenommen.

Für eine klinische Etablierung ist kurzfristig eine ex *vivo* Studie an Kaninchengewebe und mittelfristig eine *in vivo* Studie am Kaninchenmodell geplant. Eine klinische Studie ist langfristig intendiert.

2 Material und Methoden

2.1 Untersuchungsmaterial

Der Versuch erfolgte an porzinen Unterlidern, die post mortem von der Hans Schacht Versandschlachterei GmbH aus Bad Oldesloe zur Verfügung gestellt wurden.

Tagesfrisch erfolgte eine Lagerung der Gewebeproben bis zum Gebrauch auf Eis. Das Unterlid wurde im Ganzen vom restlichen Gewebe präpariert.

2.2 Laserversuchsdurchführung

Die Laserbestrahlung und die Durchführung der Messungen der Spannung, der Unterlidverkürzung und des makroskopischen Koagulationsdurchmessers wurden durch Herrn Amar Avdakovic im Medizinischen Laserzentrum in Lübeck durchgeführt. Die statistischen Analysen dieser Untersuchugen wurden durch mich durchgeführt.

Material	Firma/Entwickler	Sitz der Firma	Land
Lasersystem MultiPulse	Asclepion Laser	Jena	Deutschland
Tm+1470	Technologie GmbH		
Kraftsensors S 524060	LD Didactic GmbH	Hürth	Deutschland
Sensor-CASSY 2 524013	LD Didactic GmbH	Hürth	Deutschland
Nikon D90	Nikon AG	Tokio	Japan
Excel	Microsoft Corporation	Washington	USA
ImageJ [93]	Wayne Rasband, vom	Maryland	USA
	National Institutes of		
	Health		
Graph Pad Prism 9	Graphpad Software, Inc.	Kalifornien	USA

Tabelle 3: Übersicht der Materialien für die Laserversuchsdurchführung.

2.2.1 Laser und Laserparameter

Das Lasersystem wurde vom Medizinischen Laserzentrum Lübeck unter der Leitung von Dr. Ralf Brinkmann zur Verfügung gestellt (Abbildung 10). Als Laserquelle diente der Laser MultiPulse Tm+1470, welcher Infrarot-B-Strahlung mit den Wellenlängen von 1470 und 1940 nm emittieren kann. Eine einführende Faser leitete die Strahlung durch zwei plankonvexe Linsen und eine Blende. Mit einem Kollimator wurde die emittierte Strahlung gebündelt und ein annähernd paralleler Strahlengang erzeugt. Somit konnte mit der ausführenden Faser eine punktuelle Laserapplikation auf die porzine Konjunktiva erreicht werden.



Abbildung 10: Schemazeichnung des Applikationssystems.

Der kollimierte Laserstrahl hatte einen Durchmesser von ca. 3 mm. Die Bestrahlung erfolgte in einem senkrechten Abstand von 2 cm auf die Gewebeproben. Mit einem Lasershutter-System wurde die Bestrahlungszeit bestimmt. Alle Proben wurden in einem cw-Modus (*continous wave*, dt.: kontinuierlich strahlend) bestrahlt.

Auf Grundlage der Eigenschaften des Lasers wurden für die Bestrahlung an porzinen Unterlidern verschiedene Laserparameterkombinationen festgelegt (Tabelle 4). Es wurden zwei verschiedene Wellenlängen der Infrarot-B-Strahlung eingesetzt, die sich hinsichtlich ihrer Eindringtiefe in Gewebe unterscheiden (siehe Kapitel 1.5.3). Laserleistung und Bestrahlungszeit variierten ebenfalls (siehe Kapitel 1.5.4). Die Strahlungsenergie blieb mit 5J konstant, da höhere Energien in Vorversuchen im Medizinischen Laserzentrum Lübeck eine Karbonisation des Gewebes bewirkten (siehe Kapitel 1.5.5). Die Versuche erfolgten insgesamt an 24 porzinen Unterlidern, wobei jede Behandlungsgruppe sechs präparierte Unterlider (n = 6) einschloss.

Wellenlänge	Leistung	Bestrahlungszeit	Strahlungsenergie	n
1940 nm	2,5 W	2 s	5 J	6
1940 nm	1 W	5 s	5 J	6
1470 nm	2,5 W	2 s	5 J	6
Unbehandelte porzine Unterlider				

Tabelle 4: Übersicht der Behandlungsgruppen mit den verschiedenen Laserparameterkombinationen.

2.2.2 Laserbestrahlung

Zur physiologischen Hydrierung des Gewebes wurde die Konjunktiva des porzinen Unterlides jeweils mit 2 ml 0,9% igem Natriumchlorid befeuchtet. Für die Laserapplikation wurden die Unterlider in eine Halterung mit einer Grundspannung von 120 mN eingespannt. Diese Halterung bestand aus zwei Metallplatten und war verbunden mit dem Kraftsensor (Abbildung 11 C), der kontinuierlich die Zugspannung und ihre Änderungen am Unterlid während und nach den Applikationen gemessen hat. Vor der Laserbestrahlung wurden die zu behandelnden Bereiche des porzinen Unterlids mit einem Hautmarkierungsstift markiert (Abbildung 11 D). Bei der Behandlung eines Unterlides wurden drei Laserkoagulationsherde gesetzt (Abbildung 11 D).



Abbildung 11: Darstellung des porzinen Unterlidgewebes in der Laserversuchsdurchführung. (A) Porzines Schweineauge vom Schlachthof vor der Präparation und Abtrennung des Unterlidgewebes. (B) Konjunktivale Seite des porzinen Unterlidgewebes vor der Laserbestrahlung. (C) Porzines Unterlidgewebe eingespannt in zwei Metallplatten, die mit einem Kraftsensor verbunden sind. Eine Grundspannung von 120 mN wurde aufgebaut und die Veränderung der Unterlidspannung während der Laserapplikation aufgezeichnet. (D) Konjunktivale Seite des porzinen Unterlides vor (oben) und nach (unten) der Laserapplikation. Die Stellen für die Laserkoagulation sind mit einem Hautmarkierungsstift im zu behandelnden Bereich (schwarzer Balken) eingezeichnet (oben). Die drei Laserkoagulationen im behandelten Bereich nach der Laserapplikation sind hervorgehoben (schwarze Kreise). Die Koagulationsherde sind makroskopisch nahezu kreisrund. Maßstab: 5 mm, Fotos durch A. Avdakovic.

2.2.3 Bestimmung der laserinduzierten Unterlidverkürzung

Die makroskopisch sichtbare longitudinale Gesamtverkürzung des Unterlides ergab sich aus der Differenz der Länge des behandelten Bereichs vor und nach der Laserbestrahlung (Abbildung 11 D):

Zur Längenbestimmung wurden makroskopische Aufnahmen der porzinen Unterlider mit der Kamera Nikon D90 vor und 15 min nach der Laserkoagulation angefertigt. Als Maßstab wurde ein Lineal mit der Gewebeprobe fotografiert.

2.2.4 Messung der Unterlidspannung

Für die Quantifizierung der laserinduzierten Unterlidstraffung wurde der Kraftsensor S in Verbindung mit dem computerunterstützenden Messsystem Sensor-CASSY 2 eingesetzt. Er ermöglicht die Messung von Kräften von bis zu \pm 50 N. Der Kraftsensor besteht aus zwei Biegeelementen, die sich bei Belastung S-förmig verbiegen. Beide Apparaturen waren an die Halterung, in der die Unterlidprobe eingespannt war, gekoppelt.

Mithilfe des Sensors und des Messsystems wird die Unterlidspannung der Proben während der Laserapplikation aufgezeichnet. Für die Auswertung der laserinduzierten Straffung wird die Spannung am Unterlid zum Beginn der Laserbestrahlung, nach dem Setzen des 1., 2. und 3. Koagulation sowie 5 Minuten nach der 3. Koagulation als auch 10 Minuten nach der 3. Koagulation und 15 Minuten nach der 3. Koagulation gemessen. Die unbehandelten Proben wurden wegen der fehlenden Laserapplikation für 20 Minuten in der Halterung der Kraftmessung eingespannt. Zu Beginn jeder Bestrahlung wurde annähernd eine Grundspannung von 120 mN eingestellt.

2.2.5 Detektion des makroskopischen Koagulationsdurchmessers

Die entstandenen makroskopischen Durchmesser jeder einzelnen Koagulation wurden quantifiziert. Wie bei der Auswertung der Gesamtverkürzung wurden makroskopische Aufnahmen der porzinen Unterlider mit der Kamera Nikon D90 nach der Laserkoagulation angefertigt (Abbildung 11 D). Als Maßstab diente ein Lineal.

2.2.6 Statistische Auswertungen

Für die Erhebung der Messdaten wurde die Software ImageJ benutzt. Die Datenanalyse für den Mittelwert und die Standardabweichung (STABW.S) erfolgte mit der Software Excel. Die statistischen Auswertungen wurden durch mich mit der Software GraphPad Prism 9 durchgeführt. Entsprechend der Datensätze wurde eine One-Way ANOVA oder Two-Way ANOVA mit post-hoc-Test (Tukey, Sidak oder Dunnett) generiert.

2.3 Histologische Untersuchungen des porzinen Unterlides

Die Auswirkungen der unterschiedlichen Laserparameter auf das Gewebe hinsichtlich Koagulationstiefe und -länge sowie Morphologie des Kollagens und der Tarsalplatte wurden im Labor für experimentelle Ophthalmologie an der Klinik für Augenheilkunde histologisch evaluiert. Weitere Untersuchungsparameter waren die Beurteilung der prozentualen Epithelablösung und die Ausdehnung einer doppelbrechenden Übergangszone.

Material	Firma	Sitz der Firma	Land
		17 1 1	D (11 1
Roti Histofix 4% saurefrei (pH 7) –	Carl Roth GmbH +	Karlsruhe	Deutschland
phosphatgepufferte	Co. KG		
Formaldehydlösung 4%			
Xylol	VWR Chemicals	Pennsylvania	USA
70%; 90%; 99,9% Ethanol	VWR Chemicals	Pennsylvania	USA
Roti-Histokit II, synthet.	Carl Roth GmbH +	Karlsruhe	Deutschland
Einschlussmittel, für die Histologie	Co. KG		
Hämalaunlösung sauer nach Mayer für	Carl Roth GmbH +	Karlsruhe	Deutschland
die Mikroskopie	Co. KG		
Eosin G-Lösung 0,5 % wässrig für die	Carl Roth GmbH +	Karlsruhe	Deutschland
Mikroskopie	Co. KG		
WEIGERT Stammlösung A/B	Morphisto GmbH	Offenbach am Main	Deutschland
Essigsäure 10%	Morphisto GmbH	Offenbach am Main	Deutschland
Pikro-Siriusrot	Morphisto GmbH	Offenbach am Main	Deutschland
Isopropanol (2-Propanol)	VWR Chemicals	Pennsylvania	USA
Aqua destillata	Otto Fischar GmbH	Saarbrücken	Deutschland
	& Co. KG		

Tabelle 5: Übersicht des Materials für die histologischen Arbeiten.

Paraffin Surgipath Paraplast Plus	Leica Biosystems	Nußloch	Deutschland
	Nussloch GmbH		
		IZ 1 1	
Einbettkassetten	Carl Roth	Karlsruhe	Deutschland
	GmbH+Co. KG		
STARFROST Objektträger ca. 76 x 26	Engelbrecht	Edermünde	Deutschland
mm geputzt/gebrauchsfertig	Medizin- &		
	Labortechnik		
Deckgläser 24 x 50 mm und 24 x 60	Engelbrecht	Edermünde	Deutschland
mm Stärke 1	Medizin- &		
	Labortechnik		
Skalpelle (Feather disposable Scalpel	FEATHER Safety	Osaka	Japan
No. 22, steril)	Razor Co. Ltd.		
Treekensebrenk / Armlegersebrenk	Jouan CmhH	Unterhaching	Doutschland
Trockensenrank / Arimagersenrank	Jouan Onion	Onternaching	Deutschland
Entwässerungsautomat SHANDON	Thermo Electron	Massachusetts	USA
CITADEL 1000	Corporation		
Einbettautomat TPS – 1 EVO II	Pathisto GmbH	Garbsen	Deutschland
MU / L DM0077			
Mikrotom Leica RM2255	Leica Microsystems	Wetzlar	Deutschland
	CMS GmbH		
Tissue Flotation Bath TFB 55	MEDITE Medical	Burgdorf	Deutschland
	GmbH		
Mikrotomklingen (Feather Microtome	FEATHER Safety	Osaka	Japan
Blade Stainless Steel, A35 und R35)	Razor Co., Ltd.		
Lichtmikroskop TYPE DM4000B	Leica Microsystems	Wetzlar	Deutschland
11888804	CMS GmbH		
Dolorisationsmiltraskon I FICA TVDE	Laion Microsystems	Wetzlar	Dautschland
FOIATISAUOIISIIIKTOSKOP LEICA TYPE	Watalan Cush II	w etziar	Deutschland
020-317. DIVILB 1005	weiziar GmoH		
	1	1	

2.3.1 Fixierung und Färbungen

Das Gewebe wurde 20 min nach der Laserbestrahlung in 4% Paraformaldehyd 24 bis 48 Stunden fixiert und danach in 70% Ethanol zwischengelagert. Anschließend wurden die Präparate entwässert und in Paraffin eingebettet. Mit dem Mikrotom wurden sagittale Serienschnitte der Koagulationsherde mit einer Schichtdicke von 4,5 - 5 µm angefertigt.

Von jedem 10. Schnitt ist eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) nach Färbeprotokoll durchgeführt worden:

Verfahren	Dauer	Chemikalien
Entparaffinieren	3x 5 min	Xylol
	5 min	95 % Ethanol
	5 min	90% Ethanol
Rehydrieren	5 min	80% Ethanol
	4 min	70% Ethanol
	3 min	Aqua dest
Färben	5 min	Hämatoxylin
Spülen	5 min	Leitungswasser
Färben	3 min	Eosin (1 : 10)
	kurz	70% Ethanol
Entwössern	3 min	96% Ethanol
Entwassent	4 min	99% Ethanol
	5 min	99% Ethanol
Klären	3x 5 min	Xylol
Eindecken		Roti Histokit

Tabelle 6: Färbeprotokoll für die HE-Färbung.

Eine Pikro-Siriusrot-Färbung (PS) wurde für einen Objektträger jeder Koagulation mit der maximalsten Koagulationsgröße nach Färbeprotokoll durchgeführt:

Verfahren	Dauer	Chemikalien
Entparaffinieren	2x 10 min	Xylol
Wässern	4 min	96% Ethanol
	4 min	80% Ethanol
	4 min	70% Ethanol
	4 min	60% Ethanol
	4 min	Leitungswasser
-------------	-----------	---------------------------
Färben	8 min	Weigerts Eisenhämatoxylin
Rehydrieren	5 min	95 % Ethanol
	5 min	90% Ethanol
	5 min	80% Ethanol
	4 min	70% Ethanol
	3 min	Aqua dest
Färben	5 min	Hämatoxylin
Spülen	5 min	Leitungswasser
		Aqua destillata
Bläuen	10 min	Leitungswasser
Spülen	1 min	Aqua destillata
Färben	3 min	Eosin (1:10)
		Pikro-Siriusrot
Spülen	2x 1 min	Essigsäure 30% ig
	2x 4 min	96% Ethanol
	4 min	Isopropanol (2-Propanol)
Entwässern	3 min	96% Ethanol
	4 min	99% Ethanol
	5 min	99% Ethanol
Klären	2x 10 min	Xylol
Eindecken		Roti Histokit
	•	•

Die gefärbten Schnitte wurden wie folgt unter den Mikroskopen analysiert und ausgewertet.

2.3.2 Mikroskopische Aufnahmen, Auswertung und Statistik

Die HE-Schnitte wurden unter dem Lichtmikroskop in 100-facher und 25-facher Vergrößerung aufgenommen. Aufnahmen der PS-gefärbten Schnitte erfolgten am Polarisationsmikroskop in 100-facher und 50-facher Vergrößerung.

Pro Unterlid wurden drei Schnitte, für jede Koagulation ein repräsentativer Schnitt an der maximalsten Koagulationstiefe, ausgewählt. Insgesamt wurden so 54 Schnitte evaluiert. Alle HE- und PS-Schnitte wurden mit der Software ImageJ ausgewertet.

Zur Datenerhebung wurden die Messergebnisse in einer Excel-Tabelle hinsichtlich des Mittelwertes und der Standardabweichung (STABW.S) analysiert. Mit dem Programm GraphPad Prism 9 wurden diese Ergebnisse mit einer *One-way ANOVA* und *Tukey's post-hoc Test* untereinander verglichen und grafisch veranschaulicht.

2.3.3 Vermessung der Koagulationsgröße

Es wurden $4,5 - 5 \mu m$ dicke HE- und PS-gefärbte Schnitte von jeder Koagulation untersucht, um die maximale Koagulationsgröße zu ermitteln. Die folgenden Parameter des thermisch veränderten Unterlidgewebes wurden gemessen (Abbildung 12):

- Koagulationstiefe
- Koagulationslänge epithelseitig
- Koagulationslänge stromaseitig



Abbildung 12: Beispielmessungen der Koagulationsgröße in der HE-Färbung. Pfeile: Tiefe der Koagulation, Linie: epithelseitige Länge der Koagulation, gestrichelte Linie: stromaseitige Länge der Koagulation. Maßstab 500 µm.

Für die Quantifizierung der Koagulationstiefe wurde die maximal tiefste Stelle der Koagulation gemessen, orientierend an der unterschiedlich ausgeprägten Darstellung des koagulierten Gewebes in der HE-Färbung zum Übrigen, nicht-koagulierten Gewebe (siehe Abbildung 12). Die Messung der Koagulationslängen erfolgte sowohl entlang der epithelseitigen als auch der stromaseitigen Ausdehnung der Koagulation (Abbildung 12).

Weiterhin erfolgte die Auswertung des prozentualen Anteiles der Laserkoagulation am Gesamtunterlid (Abbildung 13 A) und am Tarsus (Abbildung 13 B).



Abbildung 13: Beispielmessungen der Anteile für die Bestimmung der Relation der Koagulation in der HE-Färbung. Schwarzer Kasten: Tarsus. (A) Messung der Koagulationstiefe und der Dicke des Gesamt-Unterlides. (B) Messung der Koagulationstiefe und der Tiefe des Tarsus (ohne Epithel). Maßstab 500 µm.

Für den Anteil der Laserkoagulation am Tarsus wurde die Koagulation ohne Epithel beurteilt, da dieses definitionsgemäß nicht zum Tarsus gehört.

2.3.4 Evaluation der Epithel- und Gewebeveränderungen

Für die Bewertung eventueller durch die Laserbestrahlung entstandener Epithel- und Gewebedefekte wurde ein Grading-System erstellt (Tabelle 8). Die Einteilung in die verschiedenen Schweregrade erfolgte anhand der Begutachtung der Epithel- und Gewebeveränderungen.

Tabelle 8: Schweregrade der morphologischen Veränderungen der porzinen Konjunktiva des Unterlids nach Laserbestrahlung.

Schwere- grad	Epithel- ablösung	Gewebe- destruktion	Beispiel
0	keine	keine	
1	minimal	keine	
2	fortgeschritten	keine	
3	maximal	vorhanden	

Grad 0 wurde definiert als keine oder nur geringfügige Epithelablösung (0 bis 15% der bestrahlten Fläche) ohne sichtbare Zerstörung des darunterliegenden Gewebes. Eine minimale bis mäßige Epithelablösung (15-40% der bestrahlten Fläche) ohne Zerstörung des darunter liegenden Gewebes wurde als Grad 1 eingestuft. Fortgeschrittene Epithelablösung (40 bis 70% der bestrahlten Fläche) ohne sichtbare Schädigung des darunterliegenden Gewebes, wurde als Grad 2 evaluiert und eine schwere oder vollständige Epithelablösung (70-100% der bestrahlten Fläche) mit sichtbarer Zerstörung des darunter liegenden Gewebes als Grad 3.

2.3.5 Beurteilung thermisch veränderter Zonen in der PS-Färbung

In der Literatur wurde bereits das Vorhandensein thermisch veränderter Areale bei Laserkoagulationen im Gewebe in der Polarisationsmikroskopie beschrieben [94-96]. Diese Beobachtung unterschiedlich abzugrenzender doppelbrechender Zonen (Abbildung 14 A) mit einer koagulierten Zone und einer Übergangszone ("*Halo"*) wurde auf die Laserkoagulationen mit dem Lasersystem MultiPulse Tm+1470 angewendet und ihr Vorhandensein untersucht.



Abbildung 14: Bestimmung der zwei unterschiedlichen Zonen der Koagulation und Darstellung der Volumenbestimmung ebendieser. (A) Schematische Darstellungen der beiden unterschiedlich thermisch veränderten Laserzonen: # koagulerte Zone (orange), * Übergangszone (gelb). (B) Exemplarische Ausmessung der Koagulation für die Volumenbestimmung. a beschreibt den Radius des Äquatorkreises der halben Rotationsellipse und c den Abstand der Pole vom Mittelpunkt. (C) Schematische Darstellung eines abgeplatteten Rotationsellipsoids mit Koordinatenachsen und den Variablen zur Volumenbestimmung. a ist auch hier der Radius des Äquatorkreises und c der Abstand der Pole vom Mittelpunkt. (D) Ausführung der Messung zur Volumenbestimmung an der Koagulation im histologischen Längsschnitt in der Pikro-Siriusrot-Färbung. Maßstab 500µm.

2.3.6 Bestimmung des Volumens der Koagulation

Der laserthermisch induzierte Koagulationsherd nimmt im Gewebe nahezu die Gestalt einer halben abgeplatteten Rotationsellipse an (Abbildung 14 C). Daher erscheint es sinnvoll dieses Volumen im Vergleich zwischen den verschiedenen Laserparameterkombinationen zu quantifizieren. Die Formel zur Berechnung eines Rotationsellipsoids lautet wie folgt:

$$V = \frac{2}{3} \times \pi a^2 c$$

Für die Volumenbestimmung werden drei Volumina der Laserkoagulationen mithilfe der PS-Färbung berechnet:

• Koagulierte Zone (V_K)

$$V_K = \left(\frac{2}{3} \times \pi a_2^2 c_2\right)$$

• Übergangszone (*Halo*)

$$V_H = \left(\frac{2}{3} \times \pi a_1^2 c_1\right) - V_K$$

 $(V_{\rm H})$

Die folgenden Parameter der Laserkoagulation wurden in die Formel inkludiert (Abbildung 14 B + D): der Radius der koagulierten Zone und der Übergangszone (a_1), der Radius der koagulierten Zone (a_2), die axiale Tiefe des Pols der Koagulations- und Übergangszone (c_1) und die axiale Tiefe des Pols der Koagulationszone (c_2).

Das Volumen der Koagulationszone (V_K) wurde direkt durch die gemessenen Werten mit der Formel kalkuliert. Das Volumen der Übergangszone (Halo) wurde durch die Differenz des gesamten thermisch veränderten Gewebes (Koagulations- und Übergangszone) und der Koagulationszone quantifiziert.

3 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der Laserversuchsdurchführung

An je sechs porzinen Unterlidern wurden die folgenden Effekte unter Variation von Wellenlänge, Laserleistung und Bestrahlungszeit (1940 nm/2,5 W/2 s; 1940 nm/1 W/ 5 s; 1470 nm/2,5 W/2 s) durch Herrn Amar Avdakovic und mich ausgewertet.

3.1.1 Längenänderung der Unterlider

In allen drei Gruppen der Laserparameterkombinationen wurde eine signifikante Längenänderung der Unterlider nach der Bestrahlung im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt (p < 0,0001) (Abbildung 15 A und B). Für die Gruppen mit der Wellenlänge von 1940 nm war die longitudinale Verkürzung nahezu identisch (1940 nm/2,5 W/2 s: $12,9 \pm 2,7\%$ $\triangleq 2,4 \pm 0,7$ mm; 1940 nm/1 W/5 s: $12,3 \pm 0,6\% \triangleq 2,4 \pm 0,3$ mm). Die stärkste Längsverkürzung zeigte sich in der Gruppe 1470 nm/2,5 W/2 s mit 15,1 ± 3,7 % bzw. 2,5 ± 0,6 mm.

3.1.2 Ausdehnung des makroskopischen Koagulationsdurchmessers

Die Laserapplikation führte zur makroskopisch sichtbaren Koagulation des Gewebes auf der Konjunktiva. Wie in Kapitel 2.2.5 beschrieben, wurde der makroskopisch erkennbare Durchmesser pro Koagulation quantifiziert.

Die Koagulationsdurchmesser unterschieden sich nicht signifikant zwischen den drei Behandlungsgruppen (alle p-Werte > 0,29). Bei Gruppe 1940 nm/2,5 W/2 s und 1940 nm/1 W/ 5 s stellten sich die Durchmesser sehr ähnlich dar (1940 nm/2,5 W/2 s: $2,51 \pm 0,34$ mm; 1940 nm/1 W/ 5 s: $2,55 \pm 0,29$ mm). Der größte Durchmesser konnte tendenziell bei Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s festgestellt werden ($2,79 \pm 0,18$ mm). Die Kontrollgruppe wies aufgrund fehlender Laserapplikationen erwartungsgemäß keine Koagulationen auf.

Schwere thermische Schäden oder eine Karbonisation waren makroskopisch nicht erkennbar. Weitergehende durch die Laserbehandlung verursachte Gewebedefekte der Konjunktiva wurden histologisch untersucht.

3.1.3 Veränderungen der Unterlidspannung

Die Veränderungen der Unterlidspannung wurden für jede Gruppe im Vergleich zur eingespannten, unbehandelten Probe vor und nach der Bestrahlung verglichen (Abbildung 15 D). Nach Applikation der ersten Koagulation wurde keine signifikante Erhöhung der Lidspannung im Vergleich zu den unbehandelten Proben detektiert (1940 nm/2,5 W/2 s: 256,1 \pm 128,0 mN; p = 0,28; 1940 nm/1 W/5 s: 249,0 \pm 109,2 mN; p = 0,22; 1470 nm/2,5 W/2 s: 31

 $302,3 \pm 153,9$ mN; p = 0,21). Die erste signifikante Erhöhung wurde nach Platzierung des zweiten Laserherdes in Gruppe 1940 nm/2,5 W/2 s $(347.3 \pm 167.0 \text{ mN}; \text{p} = 0.05)$ und Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s (435,6 \pm 188,9 mN; p = 0,03) beobachtet. Der größte signifikante Unterschied zur Lidspannung vor der Bestrahlung wurde nach dem Setzen der 3. Koagulation gesehen: 1940 nm/2,5 W/2 s: 417,4 \pm 134,9 mN; p = 0,01; 1940 nm/1 W/ 5 s: 381,8 \pm 179,2 mN; p = 0,04; 1470 nm/2,5 W/ 2 s: 499,3 \pm 150,5 mN; p = 0,004. Fünf Minuten nach der Laserapplikation zeigte sich in allen drei Gruppen ein starker Abfall der Gewebespannung im Vergleich zur Spannung unmittelbar nach der Applikation der 3. Koagulation (1940 nm/2,5 W/2 s: p = 0,04; 1940 nm/1 W/ 5 s: p = 0,01; 1470 nm/2,5 W/ 2 s: p = 0,07). Im weiteren Verlauf sank die Spannung noch leicht weiter (15 min nach Applikation: 1940 nm/2,5 W/2 s: 175.7 ± 50.2 mN, p=0.02; 1940 nm/1 W/ 5 s: 177.6 ± 32.0 mN, p=0.002; 1470 nm/2.5 W/ 2 s: 167, $3 \pm 63,1$ mN, p = 0,09). 15 Minuten nach Applikation war die Spannung in Gruppe 1940 nm/2.5 W/2 s und 1940 nm/1 W/5 s immer noch höher als vor der Bestrahlung (p = 0.02; p = 0,002). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Behandlungsgruppen unmittelbar nach der Bestrahlung, sowie nach 5, 10 oder 15 min. Eine leichte Abnahme der Lidspannung bei nicht gelaserten Unterlidern in der unbehandelten Kontrollgruppe wurde beobachtet. Es war eine signifikante Abnahme der Lidspannung von Minute 10 bis 15 nach der Bestrahlung der dritten Koagulation (p = 0.046) sichtbar. Der Unterschied zur Spannung vor der Bestrahlung war allerdings nicht signifikant.



Abbildung 15: Diagramme der Ergebnisse der Laserversuchsdurchführung. * p<0,05; ** p<0,001; *** p<0,001; #** p<0,001; #** p<0,001; #** p<0,005; ## p<0,005; ## p<0,005; ## p<0,001; #** p<0,001; #*** p<0,001; #*** p<0,005; ## p>0,005; ## p>0,004; 5 bis 15 min nach der 3. Koagulation sank die Spannung ab. Eine Grundspannung von 120 mN wurde zu Beginn für jede Probe eingestellt.

3.2 Ergebnisse der Histologie

Zur weiteren Beurteilung der Auswirkungen der verschiedenen Laserparameter auf das porzine Unterlidgewebe wurden histologische Untersuchungen vorgenommen. Die Variationen von Wellenlänge, Laserleistung und Bestrahlungszeit zeigten signifikant unterschiedliche Ausprägungen der Laserkoagulation an der Konjunktiva (Abbildung 16).



Abbildung 16: Übersicht histologischer Aufnahmen der Laserherde, appliziert durch die unterschiedlichen Laserbehandlungsgruppen, am porzinen konjunktivalen Unterlidgewebe. Maßstab: 500 µm.

3.2.1 Koagulationsgrößen

Im Vergleich zum unbehandelten Unterlid zeigte sich im HE-gefärbten Schnitt eine erhöhte Farbstoffaufnahme des Eosins in das Kollagen in der thermisch behandelten Schadenszone, sodass sich die Koagulation hell rosa darstellt (Abbildung 17).



Abbildung 17: Übersichtsaufnahme eines behandelten und eines unbehandelten porzinen Unterlids in der HE-Färbung unter dem Lichtmikroskop im Querschnitt. Wichtige Strukturen sind beschriftet. (A) Porzines Unterlidgewebe mit Laserkoagulation (gelber Kreis) an der konjunktivalen Seite. (B) Porzines unbehandeltes Unterlidgewebe ohne Koagulation. Maßstab 1mm.

Eine Abgrenzung vom laserthermisch verändertem zum normalen Stroma war eindeutig vorhanden. Zur Evaluation der Koagulationsgrößen wurden die in Kapitel 2.3.2 erwähnten Kriterien wie beschrieben in der HE-Färbung ausgewertet.

Für die Koagulationstiefe (Abbildung 18 A) zeigte sich in der Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s eine signifikant tiefere Koagulation mit 1071,8 \pm 70,8 μ m als in Gruppe 1940 nm/2,5 W/2 s mit 389,9 \pm 63,2 μ m (p < 0,0001) oder 1940 nm/1 W/ 5 s mit 571,2 \pm 98,2 μ m (p < 0,0001). Der Unterschied der Koagulationstiefe von Gruppe 1940 nm/2,5 W/2 s und 1940 nm/1 W/ 5 s war ebenfalls signifikant (p = 0,017).

Bei der Auswertung der Koagulationslänge am Epithel (Abbildung 18 B) zeigten sich signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe 1940 nm/1 W/ 5 s und 1470 nm/2,5 W/ 2 s (p = 0,007). Die Länge des Laserpunktes in Gruppe 1940 nm/2,5 W/2 s bemaß sich bei 2592,1 ± 352,8 µm, in der Gruppe 1940 nm/1 W/ 5 s bei 2380,1 ± 146,9 µm und in der Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s bei 2910,8 ± 220,6 µm. Stromaseitig zeigte die Koagulationslänge (Abbildung 18 C) keine Signifikanz zwischen den Gruppen 1940 nm/2,5 W/2 s und 1940 nm/1 W/ 5 s (p = 0,78). Mit der Länge von 3731,26 ± 239,7 µm war die Koagulation der Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s signifikant größer als die der anderen beiden Gruppen (1940 nm/2,5 W/2 s: 2700,0 ± 242,4 µm, p = 0,0002; 1940 nm/1 W/ 5 s: 2572,2 ± 452,7 µm, 1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p < 0,0001).

Der Laserherd der Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s maß, korrelierend zu den vorher beschriebenen Größenmessungen, den größten Anteil am Gesamt-Unterlid (Abbildung 18 D) mit 25,6 \pm 3,8 % (1940 nm/2,5 W/2 s: 12,1 \pm 4,1 %, 1940 nm/2,5 W/2 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,002; 1940 nm/1 W/ 5 s: 17,3 \pm 3,9 %, p = 0,14). Zwischen den beiden Gruppen mit derselben Wellenlänge von 1940 nm ergab sich kein signifikanter Unterschied (p = 0,08). Die Gesamtdicke des Unterlides bemaß sich bei 3,7 mm \pm 0,5 mm.

Bei der Auswertung des Anteils der Koagulation am Tarsus des Unterlides (Abbildung 18 E) ergaben sich folgende Ergebnisse: 1940 nm/2,5 W/2 s $35,3 \pm 6,4$ %; 1940 nm/1 W/ 5 s $44,6 \pm 5,3$ %; Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s $59,1 \pm 8,3$ %. Damit zeigte sich die Gruppe mit 1470nm/2,5 W/ 2 s mit einem signifikant größeren Anteil am Tarsus als Gruppe 1940 nm/2,5 W/2 s (1940 nm/2,5 W/2 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,0004) und 1940 nm/1 W/ 5 s (1940 nm/1 W/ 5 s vs. 1470 nm/2,5 W/ 2 s p = 0,005).



Abbildung 18: Histologische Ergebnisse der Laserkoagulationen porziner Unterlider im histologischen Querschnitt. p*<0,04 p**<0,007 p***<0,002; p***<0,0004; p***<0,0001 (A) Für die Koagulationstiefe maß die Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s die signifikant tiefste Koagulation mit 1071,8 \pm 70,8 µm. (B) Die epithelseitigen Koagulationslängen der Gruppen 1940 nm/1 W/ 5 s und 1940 nm/2,5 W/2 s waren sehr ähnlich. Die Gruppe mit 1470 nm/2,5 W/ 2 s war mit 2910,8 \pm 220,6 µm signifikant länger als die Gruppe 1940 nm/1 W/ 5 s. (C) Für die stromaseitige Koagulationslänge zeigte die Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s eine signifikant größere Länge mit 3731,26 \pm 239,7 µm als die anderen beiden Gruppen. (D) Die Gruppe 1470 nm/2,5 W/2 s. (E) Die Gruppe 1470 nm/2,5 W/2 s maß mit 59,1 \pm 8,3 % den größten Anteil am Tarsus des Gesamt-Unterlid und war signifikant zu den anderen beiden Gruppen. (F) Die Behandlungsgruppe 1470 nm/2,5 W/2 s zeigte tendenziell am wenigsten Epithel- und Gewebeveränderungen. (G) Für die Koagulationstiefe zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Färbungen. (H) In der Koagulationslänge (epithelseitig) war kein signifikanter Unterschied zwischen den Färbungen für die Koagulationslänge (stromaseitig).

Weiterhin wurde ein Vergleich der verschiedenen Färbungen hinsichtlich der Koagulationstiefe und -längen vorgenommen (Abbildung 18 G + H + I). Zwischen den Messergebnissen der HEund PS-Färbung stellten sich keine signifikanten Unterschiede für die Größe der thermisch veränderten Zone dar. Es zeigte sich keine stärkere Demaskierung der Koagulation in der PS-Färbung. Das Laserareal lässt sich für die Größenbestimmung in der Lichtmikroskopie demnach genauso gut abgrenzen, wie unter polarisierendem Licht.

3.2.2 Epithel- und Gewebeveränderungen

Der Schweregrad der Epithel- und Stromaschädigung innerhalb der Koagulationszone wurde in den HE-gefärbten Objektträgern bewertet (Abbildung 18 F).

Hauptaugenmerk lag bei dieser Auswertung auf den Epithelveränderungen über der Koagulationszone und der Struktur des Laserherdgewebes. Abbildung 19 zeigt exemplarisch die morphologische Modifikation der konjunktivalen Becherzellen (Abbildung 19 B) und des mehrschichtigen unverhorntes Epithels (Abbildung 19 C) nach Laserapplikation im Vergleich zur unbehandelten Konjunktiva (Abbildung 19 A): Im Bereich der Laserapplikation stellten sich die Becherzellen amorph dar. Vor allem im zentralen Bereich der Laserkoagulation war das Epithel abgelöst und deformiert. Außerhalb der behandelten Zone erschien das Epithel physiologisch.

Zwischen den Behandlungsgruppen 1940 nm/2,5 W/2 s und 1470 nm/2,5 W/ 2 s gab es einen signifikanten Unterschied (p = 0,03): Gruppe 1940 nm/2,5 W/2 s wurde bei dem Grading in die Grade 2-3 (Mittelwert 2,33 ± 0,5) eingeteilt, die durch fortgeschrittene oder vollständige Epithelablösung und -zerstörung sowie zusätzlich durch Destruktion des Stromas innerhalb der Laserzone gekennzeichnet war. Im Gegensatz dazu wurden in der Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s weniger laserinduzierte Epithel- und Stromaschäden beobachtet, wo die Einstufung zwischen Grad 0 und 2 lag (Mittelwert 0,8 ± 1,2). In dieser Gruppe wurde keine Zerstörung des Stromas beobachtet.



Abbildung 19: Verdeutlichung der Epithelveränderungen der Konjunktiva des porzinen Unterlids mit und ohne Laserapplikation. (A) unbehandelte Konjunktiva (mehrschichtiges, nicht-verhorntes Plattenepithel). Pfeile: Becherzellen. (B) Die gestrichelte Linie markiert den Übergang von unbehandeltem (links) in mit Laserapplikation behandeltes (rechts) Gewebe. Die Becherzellen im behandelten Epithel sind amorph. (C) Konjunktivales Epithel im Bereich der Laserkoagulation. Peripher liegt das Epithel der Koagulation an, wohingegen sich das Epithel zentral durch die Schädigung der Laserapplikation abgelöst hat (schwarzer Kreis). Maßstab: 100µm.

3.2.3 Beurteilung thermisch veränderter Zonen in der PS-Färbung

Sowohl in der HE- als auch in der PS-Färbung konnte zwischen koaguliertem und normalem Gewebe unterschieden werden. In den mit Pikro-Siriusrot-gefärbten Schnitten, wurde eine Koagulationszone und eine Übergangszone unterschieden, die unter polarisiertem Licht analysiert wurden (Abbildung 20).

Die koagulierte Zone (markiert mit #) beginnt direkt unter dem konjunktivalen Epithel. Sie war durch einen vollständigen Verlust der Doppelbrechungen und einer zufälligen Neuanordnung der parallelen Kollagenfibrillen durch Laseranwendung gekennzeichnet. Das koagulierte und somit ungeordnete Kollagen erschien dunkler [94] unter dem Polarisationsmikroskop. Daran schloss sich unter dem Polarisationsmikroskop eine Übergangszone (markiert mit *) mit stärkerer Doppelbrechung als das normale, unkoagulierte Gewebe an. Dieser Effekt wird in der Literatur auch als *"Halo"* beschrieben: Es zeigt einen Anstieg in der parallelen Anordnung der Kollagenfibrillen im Vergleich zum normalen Gewebe [96]. Dieses *"Halo"* war in den HEgefärbten Schnitten nicht zu erkennen, es gab also keine gesteigerte oder verminderte Anreicherung von Eosin in dieser Zone der Koagulation. Diese zwei Zonen konnten in allen drei Behandlungsgruppen mit unterschiedlicher Wellenlänge, Laserleistung und Bestrahlungszeit nachgewiesen werden.





Abbildung 20: Zwei thermisch veränderte Zonen konjunktivaler Laserschädigung von porzinen Unterlidern im histologischen Querschnitt. Koagulierte Zone (orange, #) und eine Übergangszone (grün, *). Die koagulierte Zone weist keine Doppelbrechungen auf. In der Übergangszone sieht man eine stärkere Doppelbrechung im Vergleich zum unkoagulierten, normalem Gewebe. Maßstab 500 µm.

3.2.4 Volumenbestimmung

Die Ergebnisse der Messungen für die Volumina der Koagulations- und Übergangszone sind in der Abbildung 21 aufgezeigt. Das errechnete Volumen des koagulierten Gewebes der Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s war signifikant größer (p < 0,0001) als das der anderen beiden Gruppen (1940 nm/2,5 W/2 s: $1,37 \pm 0,91$ mm³; 1940 nm/1 W/ 5 s: $1,58 \pm 0,50$ mm³; 1470 nm/2,5 W/ 2 s: $4,86 \pm 0,99$ mm³). Die Übergangszone stellte sich allerdings in der Gruppe 1470 nm/2,5 W/ 2 s vergleichbar mit den Gruppe 1940 nm/2,5 W/2 s und 1940 nm/1 W/ 5 s dar (1940 nm/2,5 W/ 2 s: $3,01 \pm 0,73$ mm³; 1940 nm/1 W/ 5 s: $2,37 \pm 2,03$ mm³; 1470 nm/2,5 W/ 2 s: $3,05 \pm 0,82$ mm³; alle p $\geq 0,65$).



Abbildung 21: Auswertung der verschiedenen Volumina für die Koagulations- und Übergangszone ("Halo") von porzinen Unterlidern im histologischen Querschnitt. p****<0,0001. Die Koagulationszone der Gruppe mit 1470 nm zeigte einen signifikanten Unterschied zu den anderen beiden Laserparametergruppen.

Nach diesen Ergebnissen scheint eine signifikante positive Korrelation zwischen der niedrigeren Wellenlänge von 1470 nm und einem größeren Laservolumen zu bestehen.

4 Diskussion

Das Trockene Auge oder "Dry Eye Disease" (DED) ist eine der häufigsten Erkrankungen, denen man in der Ophthalmologie begegnet. Sie verringert bekanntermaßen die Lebensqualität und Arbeitsproduktivität des Patienten. Die meisten DED-Fälle resultieren aus einer Verdunstungskomponente, die von einer MDD verursacht wird.

Zum aktuellen Zeitpunkt beschränkt sich die Therapie der MDD auf die Applikation von Tränenersatzmitteln, topischen entzündungshemmenden Mittel oder Antibiotika, die physikalischer Therapie mit Wärmekompressen und die Lidkantenmassage [4, 97]. Diese Behandlungen sind allerdings oft nicht in der Lage, die Meibomdrüsendysfunktion, vergesellschaftet mit einer horizontalen Liderschlaffung, langfristig zu behandeln. Der Ansatz dieses Forschungsprojektes ist daher die Entwicklung einer kausalen Therapie der MDD.

Wir untersuchten in diesem Forschungsprojekt die verschiedenen Laserbehandlungsmodalitäten, um die Augenlidspannung durch kontrollierte Kollagenkoagulation zu erhöhen. Die kontrollierte Koagulation der extrazellulären Matrix der porzinen Unterlider zeigte eine Längsverkürzung nach Bestrahlung, sowie eine laserinduzierte Gewebeschädigung. Nach der Laserbehandlung zeigte die Gruppe mit den Laserparametern 1470nm/2,5W/2s im Vergleich signifikant die größte Längsverkürzung und Spannungserhöhung nach der 3. Koagulation. Diese Gruppe zeigte auch den höchsten Prozentsatz an signifikanter Koagulation innerhalb des Gesamtdurchmessers des Lides und des Tarsus mit den geringsten epithelialen Veränderungen und thermischen Gewebedestruktionen durch die Laserbestrahlung.

4.1 Effekte nach lidstraffenden Techniken

Eine bestehende Unterlidlaxizität wird gegenwärtig chirurgisch durch eine Straffung mittels Keilexzision oder lateraler Zügelplastik korrigiert. Bis jetzt sind diese beiden operativen Methoden keine etablierte Technik zur Unterlidstraffung zur Therapie der MDD. Beide Eingriffe sind weit verbreitete erfolgreiche Operationen und relativ betrachtet nur geringfügig invasiv. Die operative Verkürzung des Lidbändchens ist eine invasive Methode und aufgrund der komplexen Struktur und Funktion der Augenlider besteht wie bei jeder Operation die Möglichkeit von Komplikationen. Selbst nach einem scheinbar erfolgreichen Eingriff können postoperativ Komplikationen wie Ekchymosen und Hämatome, Chemosis [98], Wundheilungsstörungen, -infektionen und -dehiszenzen [99], Überkorrekturen oder Retraktionen [100], Epiphora und okulärer Dyskomfort oder Blutungen resultieren [101].

Letztere sind ein vorherrschendes Problem, v.a. bei älteren Patienten, welche das Hauptkollektiv für Augenlidschlaffheit und/oder trockene Augen sind. Narben mit Dyspigmentierung oder Hypertrophie können weiterhin ein störendes kosmetisches Problem darstellen [102].

Augenverletzungen nach Laser- oder lichtbasierten Verfahren sind selten [103]. Fallberichte schildern die Entwicklung einer Irisatrophie und die Förderung der Kataraktogenese bei kosmetischen Prozeduren wie der Laser-Epilation an der Augenbraue oder am Augenlid mit einem Diodenlaser [104, 105]. In einer Studie konnte nachgewiesen werden, dass in den meisten Fällen von dermatologisch aufgetretenen Laser-assoziierten Augenverletzungen ein unsachgemäßer Augenschutz verwendet wurde [106]. Eine falsche Positionierung des Lasers kann zu einer schlechten Fokussierung und damit zu unerwünschten Schäden an angrenzenden Strukturen führen. Es sollte bei jeder Laseranwendung auf die korrekte Benutzung und die Sicherheitshinweise geachtet werden. Die meisten laserassoziierten Augenverletzungen sind potenziell vermeidbar.

In der Gewichtung postoperativer Komplikationen einer chirurgischen oder laserinduzierten Therapiemethode der Lidlaxizität bietet das Konzept der hier entwickelten Laser-Kanthoplastik eine potentielle minimal-invasive Alternative zur lateralen Zügelplastik.

4.2 Wahl der Laserparameter

Bei der Auswahl der Laserparameter wurden zwei verschiedene Wellenlängen der Infrarot-B-Strahlung determiniert: 1470 nm und 1940 nm. Diese Wellenlänge unterscheiden sich hinsichtlich ihres Absorptionskoeffizienten μ_a (1470 nm $\triangleq 10$ cm⁻¹, 1940 nm $\triangleq 52$ cm⁻¹) und ihrer Eindringtiefe μ_a^{-1} (1470 nm $\triangleq 1$ mm, 1940 nm $\triangleq 0,2$ mm) in Wasser [107]. Die IR-Strahlung wird charakterisiert durch eine hohe Absorption durch Wassermoleküle, Hauptbestandteil menschlichen Gewebes. Beide Wellenlängen wurden zum Vergleich ausgewählt, um zu eruieren, welche Koagulationszone den gewünschten Effekt verursachen.

Für die Induktion von Gewebeveränderungen spielen ebenfalls die Parameter Laserleistung (Temperatur) und die Bestrahlungszeit eine Rolle. Die Schwelle zur irreversiblen Schädigung des Gewebes kann entweder durch hohe Laserleistung (hohe Temperatur) in kurzer Zeit oder mit geringerer Laserleistung und dafür längerer Einwirkungsdauer (Bestrahlungszeit) erreicht werden. In dieser Forschungsarbeit wurden beide Effekte untersucht. Die Laserleistung betrug 1 und 2,5 W für die Wellenlänge von 1940 nm. Die Bestrahlungszeit variierte zwischen 2 und 5 s. Für die Gruppe mit der Wellenlänge 1470 nm, wurde eine Bestrahlungszeit von 2 s und

eine Laserleistung von 2,5 W festgelegt. Die Bestrahlungsenergie war mit 5 J konstant in allen Gruppen. In Vorversuchen im Medizinischen Laserzentrum Lübeck, wurde diese Bestrahlungsenergie für den cw-Modus festgelegt. Höhere Bestrahlungsenergien führten zu einer Karbonisation des Gewebes des porzinen Unterlides. Höhere Bestrahlungszeiten (10 s) mit geringerer Bestrahlungsenergie (0,5 W) zeigten keine messbaren Veränderungen in der Unterlidspannung.

4.3 Thermische Effekte von Laser auf Kollagen

4.3.1 Korneale biomechanische Steifheit durch Crosslinking

Die Koagulation von Kollagen wird klinisch bereits regelmäßig angewendet, um langfristig wirkende Zugkräfte in okulärem Gewebe hervorzurufen z.B. wie oben erwähnt, in kornealem Gewebe. Mit Riboflavin als Photosensibilisierer und UV-A Licht wird eine korneale biomechanische Steifheit hervorgerufen (**Crosslinking**), um das Fortschreiten des Keratokonus zu verhindern [108, 109]. Da sowohl die Tarsalplatten als auch die Lidbändchen hauptsächlich aus Kollagen bestehen und nur von einer dünnen Bindegewebsschicht bedeckt werden, scheint es sinnvoll eine Spannungserhöhung durch eben diese Methode zu erzielen.

4.3.2 Crosslinkingverfahren an der Tarsalplatte

Das Verfahren des Crosslinkings wird in der Literatur an einigen Stellen zur Versteifung der Tarsalplatte bei Augenliderschlaffung angewendet: Ein experimenteller Versuch untersuchte die Effekte von Crosslinking auf die Unterlidspannung in einem ex vivo Schaf-Modell [110, 111]. Die exenterierten Tarsalplatten wurden mit Riboflavin als Photosensibilisator benetzt und mit UV-A-Licht (365 nm) bestrahlt, gleich dem Verfahren der Kollagenvernetzung an der Hornhaut bei Keratokonus [109]. In einem mechanischen Testgerät konnte die Erhöhung der Zugfestigkeit und des Young's Moduls (Steifigkeit) der Tarsalplatten, ohne Destruktion der Meibomdrüsen- oder Kollagenstrukturen nachgewiesen werden. Dieser Effekt zeigte sich sowohl bei niedrigen (3 oder 6 mW/cm²) als auch bei höheren Bestrahlungsstärken (30 oder 4 mW/cm²), wobei der Effekt bei höheren Bestrahlungsstärken zunahm [110, 111]. Dieselbe Forschungsgruppe kam zu dem Schluss, dass eine Gewebeversteifung durch Bestrahlung von Tarsalkollagen bei Fluenzniveaus zwischen 10 und 15 J/cm durchgeführt werden sollte, wobei die Belichtungszeit variieren kann [111]. Die Ergebnisse einer Studie von Ugradar et al. von 2019 legen ebenfalls nahe, dass eine Kollagenvernetzung der Kollagenfasern mit Riboflavin und UV-A Licht zu einer Versteifung der humanen Tarsalplatte führt und bei Erkrankungen eingesetzt werden kann, die eine Augenliderschlaffung verursachen [112]. Im Elektronenmikroskop erschienen die Kollagenfasern der Tarsalplatten dichter gepackt nach dem Crosslinking. Die Studie zeigt, dass eine Kollagenvernetzung auch eine praktikable und wirksame Methode zur Erhöhung der Steifheit humaner Tarsalplatten ist. Eine weitere Studie von De Paris et al. untersuchte das Kollagen-Crosslinking an humanen (nach Keilexzision) und porzinen Tarsalplatten [113]: Eine OCT-Bildgebung zeigte hier eine charakteristische Veränderung in den behandelten Schweine- und Humanproben. Die Gewebesteifigkeit war stark erhöht, die Änderungen der Zugeigenschaften allerdings nicht signifikant. Weitere Studien sind hier angedacht, um die Relevanz des Kollagen-Crosslinking als potenzielle Behandlung des Floppy-Eyelid-Syndrom zu rechtfertigen. Für UV-Strahlen sind allerdings aufgrund ihrer hohen Eindringtiefe vielfältige kurzfristige und langfristige Nebenwirkungen auf den menschlichen Organismus wie Augenschäden (Katarakt, degenerative Netzhauterkrankungen wie altersabhängige Makuladegeneration), vorzeitige Hautalterung oder Hautkrebs beschrieben [86].

4.3.3 Thermische Effekt der Laserbestrahlung

Der thermische Effekt der Laserenergie aus dem Wellenlängenbereich der Infrarotstrahlung-B-Strahlung wird ebenfalls in klinischen Studien bei der Laserthermokeratoplastik zur Hyperopiekorrektur mit gepulsten Holmium-Lasern verwendet (Wellenlänge von 2120 nm) [114-117]. Es findet auch hier eine starke Absorption der Laserstrahlen vom wasserhaltigen Hornhautstroma (Absorptionskoeffizient 1,9 mm⁻¹) statt. Durch die Laserapplikation kommt es zu einer Erhöhung der Temperatur des Zielgewebes, welche durch Veränderung der Quartärstruktur zur Schrumpfung der kornealen Kollagenfibrillen führt. Diese Verkürzung der Kollagenfibrillen kann zur biomechanischen Formung der Hornhautkurvatur und damit zur Korrektur von Ametropien genutzt werden [118].

4.3.4 Biomorphometrische Analyse der Koagulationen

In unserem Modell zeigten sich Gruppe 1940 nm / 2,5 W / 2s und Gruppe 1940 nm / 1 W / 5 s mit Variation in Laserleistung und Bestrahlungszeit (Gruppe 1940 nm / 1 W / 5 s mit 2,5-fach weniger Laserleistung und 2,5-fach längerer Bestrahlungszeit) von den Koagulationsausmaßen wenig signifikant unterschiedlich (p < 0,04). Die Gruppe 1470 nm / 2,5 W / 2 s zeigte eine signifikant größere Koagulationsausdehnung mit einer Bestrahlungszeit von 2 s. Gemäß der Relation zwischen Absorption und Eindringtiefe folgt, dass die Eindringtiefe in Wasser für die Wellenlänge 1470 nm annährend fünffach größer ist als die von 1940 nm. Die Koagulation mit der Wellenlänge 1470 nm sollte demnach in einer größeren Koagulationszone als 1970 nm resultieren. In einem Modell mit anorektalem Gewebe wurde ein ähnlicher Ansatz verfolgt und ein 1470 nm Diodenlasers verwendet, um die Ausprägung der Koagulationsgröße in

Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit und der Laserenergie für eine Laser-Hämorrhoidoplastik zu evaluieren. Danys et al. zeigten, dass der größte Gewebeeffekt durch die längste Bestrahlungsdauer, ohne signifikanten Unterschied in den genutzten Laserenergien, verursacht wurde [119]. Eine längere Laserbestrahlungszeit war ursächlich für einen größeren Gewebeschaden.

Methodisch bietet nach Asiyo-Vogel et al. Siriusrot eine verbesserte und einfache histologische Methode zur Analyse thermischer Kollagenveränderungen. Die Färbung kann zu einem besseren Verständnis der Wirkmechanismen von Laserthermokeratoplastiken beitragen und die Analyse thermischer Effekte bei der Hornhautablation verbessern [94]. In Siriusrot-gefärbten Schnitten unter dem Polarisationsmikroskop war es möglich, das thermisch veränderte Stroma in einen dunklen Kernbereich und einem Übergangsbereich ("halo") mit einer erhöhten Doppelbrechung zu trennen. Das Volumen der Zonen in der PS-Färbung hing von der Wahl der Laserparameter ab. In den HE-gefärbten Schnitten imponierten die Koagulationen mit einer erhöhten Intensität an Eosinrot, verglichen mit dem übrigen Gewebe. Eine Übergangszone ("halo") war schwierig zu beurteilen in HE-gefärbten Schnitten. In einer Studie von Geerling et al. zeigten sich identische biomorphometrische Beobachtungen, bei Koagulationen, die mit dem Holmium-YAG Laser (Wellenlänge 2120nm) an enukleierten Schweineaugen induziert worden sind [96].

4.3.5 Laser-induzierte Gewebeschäden

Die Laser-induzierten Koagulationen wiesen zum Teil starke Gewebeschäden durch die Laserbestrahlung auf: Im Bereich der Koagulation zeigte sich eine unterschiedlich starke Epithelablösung und Stromadestruktion v.a. im zentralen Bereich der Koagulation. Mit der Wellenlänge von 1940 nm wurden stärkere Gewebeschäden hervorgerufen, wobei die Wellenlänge von 1470 nm mit einem signifikant niedrigerem Gewebeschaden imponierte. Amorphe Becherzellen waren ebenfalls ein Charakteristikum, welches im Hinblick auf Laser-induzierten Schaden an der porzinen Konjunktiva beobachtet wurde. Bei Asiyo-Vogel et al. zeigten sich ähnliche Ergebnisse: Das Epithel oberhalb der Laserläsion an der Kornea war kondensiert und abgehoben von der darunterliegenden Bowman-Membran [94]. In den Ergebnissen von Tran et al. zeigten sich durch die Laserapplikation ebenfalls Laser-induzierte Gewebeschäden an der Trachea, wie die Abtragung der Zilienschichten und Becherzellen, Erosion der Epithelschicht, extrazelluläre Vakuolenrisse und große Löcher im Gewebe [120]. Frühere Arbeiten von Mitgliedern unserer Gruppen zeigten, dass Gewebeschäden in der menschlichen Hornhaut von der Laserleistung, dem Absorptionskoeffizienten und der

Hornhautdicke abhängen. Mit zunehmender Laserleistung nahm die Eindringtiefe der Koagulation und gleichzeitig auch die Endothelzellschädigung zu [121, 122]. In einer Studie an blinden Augen wurden zwei Wellenlängen der IR-B-Strahlung verglichen (Gruppe I 1854 nm und 1870 nm) [123, 124]: Der Endothelschaden war bei der Gruppe mit der geringeren Eindringtiefe (Gruppe 1940 nm / 1 W / 5 s) deutlich kleiner. Giglio et al. nutzten einen 1470 nm Dioden-Laser zur Verödung und Zerteilung von Blutgefäßen und untersuchten optische und thermische, sowie Gewebeschäden [125]. Mit steigender Laserleistung (24 W bis 200 W) nahm erwartungsgemäß die thermische Ausbreitung zu. In unserem Projekt wurden mit 1 W bzw. 2,5 W deutlich geringere Laserleistungen angesetzt. Die Gewebedestruktion war damit generell sehr limitiert. Allerdings zeigte sich im Vergleich bei Gruppe 1 mit 2,5 W der größte Gewebeschaden. Truong et al. untersuchten den Effekt von radialer und zylindrischer Lichtverteilung auf Gewebe von Gefäßen, durch eine Bestrahlung mit 1470nm in einem ex vivo Modell [126]. Die zylindrisch streuende Bestrahlung mit geringer Bestrahlungsenergie (5,3 W/cm³) führte zu minimalen thermischen Verletzungen des umliegenden Gewebes und gleichmäßigen thermischen Koagulationen in Leporinadern im Vergleich zu radialer Bestrahlung. Obwohl die in unseren Experimenten verwendete Laserleistung reduzierter war, zeigte diese niedrige Bestrahlungsstärke eine bessere kontrollierte Koagulation mit begrenzter Gewebeschädigung.

4.3.6 Regressionsneigung der Unterlidspannung

Bei der Laserkanthoplastik des Unterlides wird ein möglichst langanhaltender Effekt in der Unterlidspannung angestrebt. In der Messung der Unterlidspannung war allerdings eine Regressionsneigung messbar: In allen drei Gruppen nahm die Unterlidspannung 5 min nach der 3. Koagulation ab, ohne signifikante Veränderungen zwischen diesen Gruppen. Bei der menschlichen Hornhaut war die Geweberegression ein Rückschritt für die Langzeitwirkung des Verfahrens [124]. Bei der Korrektur von Ametropien ist diese Regressionsneigung bei der Anwendung des Holmium-Lasers beschrieben [115, 127]: Der Grund wurde hier in der Abgabe einer Pulsfolge gesehen, die Temperaturspitzen und damit unerwünschte Schäden an der Sekundär- und Tertiärstruktur der Kollagenfibrillen hervorruft. Dies könnte zu einer mangelnden Stabilität des Behandlungseffektes beitragen [128]. In diesem Projekt wurde der im cw-Modus eingesetzt, vergleichbar mit dem Effekt der kornealen Laser Laserthermokeratoplastik des Dioden-Laser [129, 130]: Die Anwendung mit dem Diodenlaser scheint geeigneter für die Laserthermokeratoplastik, da mit einer kontinuierlichen Lichtemission eine gleichmäßigere Temperaturerhöhung im Zielgewebe erreicht werden konnte. Dadurch kommt es zu einer definierten Änderung der Quartärstruktur, die möglicherweise in einer höheren und stabileren Refraktionsänderung resultiert [131]. Der Spannungsabfall in diesem Projekt lässt sich in Abgrenzung dazu womöglich auch auf das Gewebe selbst zurückführen: Totes Gewebe ist nicht vergleichbar mit in vivo Präparaten. Vermutlich dehnt sich totes Gewebe im Laufe der Zeit bis zu einem gewissen Grad aus, wenn es eingespannt ist. Auch bei der unbehandelten Kontrollgruppe wurde eine leichte Spannungsabnahme im Laufe der Zeit (5, 10, 15 min) beobachtet, was diese Theorie unterstützt. Im lebenden Gewebe wäre dies möglicherweise anders.

4.3.7 Gewebeschrumpfung

Bei der photothermischen Koagulation auf Trachealgewebe ex vivo mit 1470 nm-Laserlicht war eine signifikante Gewebeschrumpfung von 16,5% mit den Parametern 7 W/10s/70J nachweisbar [120]. Dieser Effekt wurde auf den Dehydratisierungseffekt des Luftröhrengewebes nach photothermischer Behandlung zurückgeführt. Die Schrumpfung koagulierter Zellen resultierte aus thermischer Denaturierung, Kontraktion intrazellulärer Proteine und einem möglichen Kollaps des Zytoskeletts [132]. Der in dieser Studie von Tran et al. angesprochene Verkürzungseffekt des Gewebes durch photothermische Behandlung kann sich ebenfalls auf die Messwerte der durch die Laser-Behandlung induzierten Unterlidverkürzung auswirken.

Bei morphometrischen Studien muss weiterhin die Schrumpfung des Gewebes bei Gewebeaufbereitung für die Histologie bedacht werden [133]. Dies ist ein bekannter Effekt bei der histologischen Aufarbeitung von Proben. Eine Gewebeschrumpfung ist durch Formalinfixiation, Austrocknung, Klärung und Paraffinwachseinbettung möglich. Die Veränderung der Abmessungen durch das Schneiden der Paraffinblöcke ist eine Verformung, die durch Druck verursacht wird. Insgesamt muss nach Boonstra et al. bei morphometrischen Untersuchungen mit einer Gesamtschrumpfung von etwa 15% der ursprünglichen Abmessungen gerechnet werden [134].

4.3.8 Weitere Lasertherapien bei MDD

Für die Behandlung der Meibomdrüsendysfunktion wurden bereits auch Verfahren mit Intensiver Lichtpulstherapie (IPL, *intense pulsed light therapy*) mit einer Wellenlänge von 500 nm bis 1200 nm Wellenlänge beschrieben. Im Bereich der Dermatologie wird diese Methodik häufig zur Behandlung verschiedener Hauterkrankungen wie Hautpigmentierungen, Sonnenschäden oder Akne eingesetzt [135]. Kürzlich wurde diese Methode auch in der ophthalmologischen Praxis zur Behandlung von DED als Ursache der MGD eingeführt [1]. Eine neuere retrospektive, doppelblinde, placebokontrollierte Studie verglich die Behandlung eines Auges mit der IPL mit dem anderen Auge unter Placebo-Behandlung. Die Behandlung bewirkte eine Verbesserung der Tränenfilmqualität und der Symptome [136]. Eine retrospektive Analyse hat eine Verbesserung der Meibomdrüsen-Funktion in mindestens einem Auge um 77% und eine Verbesserung der Symptome des trockenen Auges um 89% gezeigt, wenn die Behandlung mit IPL und manueller Meibomdrüsenexpression durchgeführt wurde [137]. Yan et al. zeigten eine signifikant erhöhte Effektivität der Therapie der Meibomdrüsendysfunktion (Meibomdrüsenexpression) in Kombination mit IPL im Vergleich zu der Therapie mit warmen Kompressen und Meibomdrüsenexpression [138]. Der Meibomdrüsen-Sekretionsscore, die korneale Fluoreszein-Anfärbbarkeit und Lidabnormalitäten verbesserten sich stärker unter IPL-Therapie. Vigo et al. zeigten ebenfalls eine Verbesserung der Tränenfilmparameter und Symptome des Trockenen Auges nach IPL-Therapie [139]. Eine weitere retrospektive Patientenkohorte mit MGD, die mit IPL behandelt wurden, zeigten ähnliche klinische Verbesserungen und schlussfolgerte, dass die IPL-Therapie eine sichere und wirksame Behandlung für EDE ist [140].

Vielversprechende Ergebnisse für die Linderung der Symptome des trockenen Auges lieferte auch eine Applikation von Laserpunkten auf der tarsalen Bindehaut mit einem Er: YAG Laser in Kombination mit Meibomdrüsenexpressions-Behandlung [141] (Abbildung 22). Ein Er:YAG Laser wurde ursprünglich für die plastische Chirurgie entwickelt. Sie werden aufgrund des verringerten Risikos von Komplikationen und der langanhaltenden Wirkung immer beliebter. Mit einer Wellenlänge von 2940 nm kann der Laser direkt auf Schleimhaut appliziert werden. Die Laserenergie wird von Wasser vollständig absorbiert und es wird Wärme erzeugt. Diese Wärme dringt ohne Destruktion tiefer in das Zielgewebe ein und das Meibum wird dadurch verflüssigt. Die Laserenergiedichte des Er-YAG Lasers betrug 3,0 bis 4,0 J/cm². Die Studiengruppe mit der Er:YAG Laserbehandlung in Kombination mit der Meibomdrüsenexpression zeigte eine signifikant höhere Verbesserung des SPEED-Scores, der Anzahl an totalen Meibomdrüsen und der Anzahl an Meibomdrüsen, die klares Sekret produzieren. Weitere Studien sollen zur Bestätigung dieser Ergebnisse folgen.



Abbildung 22: Demonstration des Er:YAG Lasers mit SMOOTH Mode Behandlung mit einem Fotona Handstück PS03 (A) und der Laserareale auf dem oberen und unteren tarsalen Augenlid (B und C). Aus [141].

4.4 Vor- und Nachteile der Laserkanthoplastik

Insgesamt hätte ein minimal-invasives Laserkanthoplastik-Verfahren Vorteile gegenüber einem herkömmlichen chirurgischen Verfahren zur Lidstraffung. Klassische postoperative Komplikationen wie Wundheilungsstörungen, Infektionen der Wunden, Nachblutungen, Fadenlockerung, etc. sind hier weniger wahrscheinlich. Der Aufwand zur Durchführung dieses Eingriffs gestaltet sich idealerweise minimal: Mit einem modifizierten Handstück könnte dieser Eingriff auch am Krankenbett unter unsterilen Bedingungen, ggf. nur mit örtlicher Betäubung durchgeführt werden. Das Verfahren kann wiederholt werden, wenn nach einer einzigen Sitzung keine ausreichende Lidspannung erreicht wird. Eine Variation der Laserparameter und Anzahl der Laserkoagulationen je nach Ausprägung des Schweregrades der Lidschlaffheit und Meibomdrüsendysfunktion wäre vergleichbar mit anderen Laserverfahren denkbar.

Ein Faktor, den es allerdings in weiteren folgenden Studien zu untersuchen gilt und zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht quantifiziert werden kann, ist der Langzeiteffekt in vivo. Falls eine Regression des Effektes eintreten sollte, könnten multiple Folgeanwendungen geprüft werden, um die gewünschte Lidspannung zu erreichen.

Potenzielle durch die Laserbestrahlung entstandene Gewebedefekte müssen weiterhin quantifiziert werden. Eine zusätzliche Destruktion der Drüsenareale sollte durch eine Laserbestrahlung vermieden werden. Daher ist geplant die Laserapplikation am temporalen Rand des Lidbändchen durchzuführen, wo keine Meibomdrüsen-Areale zu finden sind.

4.5 Limitationen

Das Forschungsprojekt wird durch mehrere Faktoren begrenzt. Die Experimente zur Bewertung des Einflusses verschiedener Laserparameter (Wellenlänge, Laserleistung, Bestrahlungszeit und Strahlungsenergie) ex vivo auf Schweineunterlidern wurden auf drei Behandlungsgruppen beschränkt. Weitere Behandlungsmodalitäten wurden nicht untersucht.

Weiterhin war die Anzahl der getesteten Proben in jeder Gruppe auf sechs limitiert. Ein größeres Probenkollektiv hätte verlässlichere Werte leisten können.

Die Augenlider wurden mit einem blauen Hautmarkierungsstift zur Platzierung der Laserspots vor der Laserapplikation markiert. Obwohl die eigesetzten Wellenlängen nicht im blauen Wellenlängenbereich lagen, kann eine nicht gewebeabhängige Energieabsorption durch diese Farbmarkierungen nicht vollständig ausgeschlossen werden.

Zur genaueren Quantifizierung der Regressionsneigung der Unterlidspannung, wäre ein längerer Messung der Unterlidspannung – idealerweise in vivo - interessant gewesen. In diesem Projekt waren die Messpunkte bis 15 min nach der 3. Koagulation beschränkt.

Der Unterschied zwischen porzinem und humanem Gewebe lässt nur eine eingeschränkte Übertragbarkeit der Ergebnisse zu, dient allerdings der Annäherung an den Zustand der Realität. Porzine Augenlider sind humanem Material in Anatomie und Histologie ähnlich [142]. Daher eigenen sie sich gut für Studien über die Physiologie und Pathophysiologie der Augenoberfläche. Die Nutzung von humanem Körperspender-Gewebe ist aufgrund der geringen Verfügbarkeit problematisch.

4.6 Schlussfolgerung

- Eine minimal-invasive Laserbehandlung stellt eine alternative Methode zur operativen Erhöhung der Unterlidspannung dar.
- 2.) Die Laserkoagulation der hinteren Lamelle führt zu einer Unterlidverkürzung und Erhöhung der Unterlidspannung.
- 3.) Der Effekt der Unterlidverkürzung und Unterlidspannungserhöhung wird vermutlich durch die Koagulationszone verursacht.
- 4.) Durch die Wahl verschiedener Laserparameter z.B. der Wellenlänge bzw. Eindringtiefe des Lichtes konnten in diesem Projekt geeignete Parameter f
 ür eine optimale Bestrahlung festgelegt werden.

- 5.) Das stärkste und schonendste Ergebnis wiesen die Laserparameter 1470nm/2,5W/2s auf.
- 6.) Die makroskopische und histologische Analyse der Koagulationsherde war zielführend für die Auswahl der optimalen Laserparameter.
- 7.) Eine solche Laser-induzierte Unterlidstraffung (Laserkanthoplastik) kann damit wahrscheinlich zur Behandlung einer horizontalen Lidereschlaffung und einer Funktionsbeeinträchtigung der Meibom-Drüsen eingesetzt werden.
- 8.) Ein längerfristiger Effekt der Erhöhung der Unterlidspannung sowie potentielle unerwünschte Effekte müssen geprüft werden.
- 9.) Für eine klinische Etablierung ist mittelfristig eine *ex* sowie *in vivo* Studie am Kaninchenmodell und langfristig eine klinische Studie am Patienten intendiert.

4.7 Ausblick

Diese Ergebnisse bilden die Grundlage für weitere Studien zur Laserkanthoplastik zur Therapie der Meibomdrüsendysfunktion. Erste experimentelle Erfahrungen mit einem Infrarot-B-Laser im Bereich der Wellenlänge 1470 und 1940 nm wurden gesammelt und geeignete Parameter für eine Unterlidstraffung konnten identifiziert werden. Im Anschluss zu diesen Ergebnissen wird bereits die Entwicklung eines Applikators vorbereitet, mit dem eine Laserapplikation auf humanem Tarsusgewebe zukünftig durchgeführt werden könnte. Dieser Applikator wird erst an ex vivo Kaninchengewebe vom Schlachthof und folgend an in vivo Kaninchengewebe evaluiert. Ein Drittmittel- und der entsprechende Tierversuchsantrag für dieses Projekt werden bereits bearbeitet. Bei weiterhin erfolgreichem Projektverlauf wird die klinische Erprobung an Patienten angestrebt.

Literatur- und Quellenverzeichnis

- Jones, L., et al., *TFOS DEWS II Management and Therapy Report*. Ocul Surf, 2017. 15(3): p. 575-628.
- Craig, J.P., et al., *TFOS DEWS II Report Executive Summary*. The Ocular Surface, 2017. 15(4): p. 802-812.
- 3. Nichols, K.K., et al., *The international workshop on meibomian gland dysfunction: executive summary.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(4): p. 1922-9.
- 4. Geerling, G., et al., *The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on management and treatment of meibomian gland dysfunction.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(4): p. 2050-64.
- 5. Baumeister, M. and T. Kohnen, *Refraktive Chirurgie 2 Anatomie des vorderen Augenabschnitts.* 2011, Berlin Heidenberg: Springer Verlag.
- 6. Bille, J.F. and M.H. Niemz, *Laser in der Augenheilkunde*. Springer-Verlag. p. 345-363.
- 7. Holtmann, C., et al., Assessment of Laser Parameters to Improve Lid Tension-A Proof of Concept towards Lasercanthoplasty. Int J Mol Sci, 2023. **24**(5).
- 8. Niemz, P.D.M., *Laser-Tissue Interactions Fundamentals and Interaction*. Vol. 3. 2007: Springer.
- 9. Werkmeister, R.M., et al., *Measurement of Tear Film Thickness Using Ultrahigh-Resolution Optical Coherence Tomography.* Investigative Ophthalmology & Visual Science, 2013. **54**(8): p. 5578-5583.
- 10. Wang, J., et al., *Precorneal and pre- and postlens tear film thickness measured indirectly with optical coherence tomography*. Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2003. **44**(6): p. 2524-2528.
- 11. King-Smith, P.E., et al., *The thickness of the human precorneal tear film: Evidence from reflection spectra.* Investigative Ophthalmology and Visual Science, 2000. **41**(11): p. 3348-3359.
- Willcox, M.D.P., et al., *TFOS DEWS II Tear Film Report*. The Ocular Surface, 2017. 15(3): p. 366-403.
- 13. Wolff, E., *The Anatomy of the eye and orbit. 4-th ed.* New York: Blakinston Co, 1954.
- 14. Wolff, E., *The muco-cutaneous junction of the lid margin and the distribution of the tear fluid*. Trans Ophthalmol Soc UK, 1946. **66**: p. 291-308.
- 15. Dilly, P.N., *Structure and function of the tear film*. Adv Exp Med Biol, 1994. **350**: p. 239-47.
- 16. Cher, I., *A New Look at Lubrication of the Ocular Surface: Fluid Mechanics Behind the Blinking Eyelids.* The Ocular Surface, 2008. **6**(2): p. 79-86.
- 17. King-Smith, P.E., E.A. Hinel, and J.J. Nichols, *Application of a Novel Interferometric Method to Investigate the Relation between Lipid Layer Thickness and Tear Film Thinning.* Investigative Opthalmology & Visual Science, 2010. **51**(5): p. 2418.
- 18. Lee, Y., J.Y. Hyon, and H.S. Jeon, *Characteristics of dry eye patients with thick tear film lipid layers evaluated by a LipiView II interferometer*. Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology, 2021. **259**(5): p. 1235-1241.
- 19. Craig, J.P. and A. Tomlinson, *Importance of the lipid layer in human tear film stability and evaporation*. Optom Vis Sci, 1997. **74**(1): p. 8-13.
- 20. Isenberg, S.J., et al., *The lipid layer and stability of the preocular tear film in newborns and infants*. Ophthalmology, 2003. **110**(7): p. 1408-11.
- 21. Bron, A.J., et al., *Functional aspects of the tear film lipid layer*. Exp Eye Res, 2004. **78**(3): p. 347-60.

- 22. Peng, C.C., et al., *Flow Evaporimeter To Assess Evaporative Resistance of Human Tear-Film Lipid Layer*. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2014. **53**(47): p. 18130-18139.
- 23. Knop, E., et al., *The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on anatomy, physiology, and pathophysiology of the meibomian gland.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(4): p. 1938-78.
- 24. Bron, A.J., et al., *TFOS DEWS II pathophysiology report.* Ocul Surf, 2017. **15**(3): p. 438-510.
- 25. Yokoi, N., et al., *Rheology of tear film lipid layer spread in normal and aqueous teardeficient dry eyes.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2008. **49**(12): p. 5319-24.
- 26. Spurr-Michaud, S., P. Argüeso, and I. Gipson, *Assay of mucins in human tear fluid*. Experimental Eye Research, 2007. **84**(5): p. 939-950.
- Yu, K., et al., Systemic Conditions Associated with Severity of Dry Eye Signs and Symptoms in the Dry Eye Assessment and Management Study. Ophthalmology, 2021. 128(10): p. 1384-1392.
- 28. Welsch, U., T. Deller, and W. Kummer, *Lehrbuch Histologie*. Vol. 4. 2014, München: Elsevier GmbH. 699.
- 29. Milz, S., et al., *An immunohistochemical study of the extracellular matrix of the tarsal plate in the upper eyelid in human beings.* J Anat, 2005. **206**(1): p. 37-45.
- 30. Korb, D.R., et al., *Tear film lipid layer thickness as a function of blinking*. Cornea, 1994.
 13(4): p. 354-9.
- 31. Farrand, K., et al., Impact of Dry Eye Disease on Quality of Life, Work Productivity, Daily Activities, and Health Care Resource Use in a Survey of 74,095 American Adults. Value in Health, 2016. **19**(3): p. A127.
- 32. Craig, J.P., et al., *TFOS DEWS II Definition and Classification Report*. The Ocular Surface, 2017. **15**(3): p. 276-283.
- 33. Reitmeir, P., et al., Common eye diseases in older adults of southern Germany: results from the KORA-Age study. Age Ageing, 2017. **46**(3): p. 481-486.
- 34. Schaumberg, D.A., et al., *The international workshop on meibomian gland dysfunction: report of the subcommittee on the epidemiology of, and associated risk factors for, MGD.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(4): p. 1994-2005.
- 35. Lemp, M.A., et al., *Distribution of aqueous-deficient and evaporative dry eye in a clinic-based patient cohort: a retrospective study.* Cornea, 2012. **31**(5): p. 472-8.
- Stapleton, F., et al., *TFOS DEWS II Epidemiology Report*. The Ocular Surface, 2017. 15(3): p. 334-365.
- 37. Clegg, J.P., et al., *The annual cost of dry eye syndrome in France, Germany, Italy, Spain, Sweden and the United Kingdom among patients managed by ophthalmologists.* Ophthalmic Epidemiol, 2006. **13**(4): p. 263-74.
- 38. McDonald, M., et al., *Economic and Humanistic Burden of Dry Eye Disease in Europe, North America, and Asia: A Systematic Literature Review.* Ocul Surf, 2016. **14**(2): p. 144-67.
- 39. Lemp, M.A., *Report of the National Eye Institute/Industry workshop on Clinical Trials in Dry Eyes.* Clao j, 1995. **21**(4): p. 221-32.
- 40. The Definition and Classification of Dry Eye Disease: Report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007). The Ocular Surface, 2007. **5**(2): p. 75-92.
- 41. Viso, E., F. Gude, and M.T. Rodríguez-Ares, *The association of meibomian gland dysfunction and other common ocular diseases with dry eye: a population-based study in Spain.* Cornea, 2011. **30**(1): p. 1-6.
- 42. Lemp, M.A. and K.K. Nichols, *Blepharitis in the United States 2009: a survey-based perspective on prevalence and treatment.* Ocul Surf, 2009. 7(2 Suppl): p. S1-s14.

- 43. Mishima, S., et al., *Determination of tear volume and tear flow*. Invest Ophthalmol, 1966. **5**(3): p. 264-76.
- 44. Scherz, W. and C.H. Dohlman, *Is the lacrimal gland dispensable? Keratoconjunctivitis sicca after lacrimal gland removal.* Arch Ophthalmol, 1975. **93**(4): p. 281-3.
- 45. Moutsopoulos, H.M. and M.N. Manoussakis, *Immunopathogenesis of Sjogren's* syndrome: "facts and fancy". Autoimmunity, 1989. **5**(1-2): p. 17-24.
- 46. Jones, D.T., et al., *Sjögren's syndrome: cytokine and Epstein-Barr viral gene expression within the conjunctival epithelium.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 1994. **35**(9): p. 3493-504.
- 47. Vitali, C., et al., *Classification criteria for Sjögren's syndrome: a revised version of the European criteria proposed by the American-European Consensus Group.* Ann Rheum Dis, 2002. **61**(6): p. 554-8.
- 48. Fox, R.I., et al., *Sjögren's syndrome. Proposed criteria for classification.* Arthritis Rheum, 1986. **29**(5): p. 577-85.
- 49. Sullivan, D.A., et al., Are women with Sjögren's syndrome androgen-deficient? J Rheumatol, 2003. **30**(11): p. 2413-9.
- 50. Cermak, J.M., et al., *Nutrient intake in women with primary and secondary Sjögren's syndrome*. Eur J Clin Nutr, 2003. **57**(2): p. 328-34.
- 51. Bron, A.J. and J.M. Tiffany, *The contribution of meibomian disease to dry eye*. Ocul Surf, 2004. **2**(2): p. 149-65.
- 52. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007). Ocul Surf, 2007. **5**(2): p. 75-92.
- Shimazaki, J., M. Sakata, and K. Tsubota, Ocular Surface Changes and Discomfort in Patients With Meibomian Gland Dysfunction. Archives of Ophthalmology, 1995. 113(10): p. 1266-1270.
- 54. Goto, E., et al., *Tear Evaporation Dynamics in Normal Subjects and Subjects with Obstructive Meibomian Gland Dysfunction*. Investigative Opthalmology & Visual Science, 2003. 44(2): p. 533.
- 55. Li, D.Q., et al., *Stimulation of matrix metalloproteinases by hyperosmolarity via a JNK pathway in human corneal epithelial cells*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2004. **45**(12): p. 4302-11.
- 56. Luo, L., et al., *Hyperosmolar saline is a proinflammatory stress on the mouse ocular surface*. Eye Contact Lens, 2005. **31**(5): p. 186-93.
- 57. De Paiva, C.S., et al., *Corticosteroid and doxycycline suppress MMP-9 and inflammatory cytokine expression, MAPK activation in the corneal epithelium in experimental dry eye.* Exp Eye Res, 2006. **83**(3): p. 526-35.
- 58. Mathers, W.D., *Ocular Evaporation in Meibomian Gland Dysfunction and Dry Eye*. Ophthalmology, 1993. **100**(3): p. 347-351.
- 59. Tong, L., et al., *Screening for meibomian gland disease: its relation to dry eye subtypes and symptoms in a tertiary referral clinic in singapore.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2010. **51**(7): p. 3449-54.
- 60. Mathers, W.D. and J.A. Lane, *Meibomian gland lipids, evaporation, and tear film stability.* Adv Exp Med Biol, 1998. **438**: p. 349-60.
- 61. Wolffsohn, J.S., et al., *TFOS DEWS II Diagnostic Methodology report*. Ocul Surf, 2017. **15**(3): p. 539-574.
- 62. Begley, C.G., et al., *The relationship between habitual patient-reported symptoms and clinical signs among patients with dry eye of varying severity.* Invest Ophthalmol Vis Sci, 2003. **44**(11): p. 4753-61.

- 63. *Management and therapy of dry eye disease: report of the Management and Therapy Subcommittee of the International Dry Eye WorkShop (2007).* Ocul Surf, 2007. **5**(2): p. 163-78.
- 64. Sullivan, B.D., et al., Correlations between commonly used objective signs and symptoms for the diagnosis of dry eye disease: clinical implications. Acta Ophthalmol, 2014. **92**(2): p. 161-6.
- 65. Schiffman, R.M., et al., *Reliability and validity of the Ocular Surface Disease Index.* Arch Ophthalmol, 2000. **118**(5): p. 615-21.
- 66. Burk, A. and R.O.W. Burk, *Checkliste Augenheilkunde*. Vol. 5. 2014, Vicenza: Georg Thieme Verlag. 620.
- 67. Foulks, G.N. and A.J. Bron, *Meibomian gland dysfunction: a clinical scheme for description, diagnosis, classification, and grading.* Ocul Surf, 2003. 1(3): p. 107-26.
- 68. Arita, R., et al., *Noncontact infrared meibography to document age-related changes of the meibomian glands in a normal population*. Ophthalmology, 2008. **115**(5): p. 911-5.
- 69. Golubović, S. and A. Parunović, *Corneal perforation in dry eye patients*. Fortschr Ophthalmol, 1987. **84**(1): p. 33-7.
- 70. Inagaki, E., et al., Four cases of corneal perforation in patients with chronic graftversus-host disease. Mol Vis, 2011. 17: p. 598-606.
- 71. Krachmer, J.H. and P.R. Laibson, *Corneal thinning and perforation in Sjögren's syndrome*. Am J Ophthalmol, 1974. **78**(6): p. 917-20.
- 72. Schlotzer-Schrehardt, U., et al., *The Pathogenesis of floppy eyelid syndrome: involvement of matrix metalloproteinases in elastic fiber degradation.* Ophthalmology, 2005. **112**(4): p. 694-704.
- 73. Kocaoglu, F.A., et al., *The histopathology of involutional ectropion and entropion*. Can J Ophthalmol, 2009. **44**(6): p. 677-9.
- 74. Damasceno, R.W., et al., *Involutional entropion and ectropion of the lower eyelid: prevalence and associated risk factors in the elderly population.* Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2011. **27**(5): p. 317-20.
- 75. Chhadva, P., et al., *Impact of Eyelid Laxity on Symptoms and Signs of Dry Eye Disease*. Cornea, 2016. **35**(4): p. 531-5.
- 76. Schwartz, L.K., H. Gelender, and R.K. Forster, *Chronic conjunctivitis associated with 'floppy eyelids'*. Arch Ophthalmol, 1983. **101**(12): p. 1884-8.
- van den Bosch, W.A. and H.G. Lemij, *The lax eyelid syndrome*. Br J Ophthalmol, 1994.78(9): p. 666-70.
- 78. Morax, S. and M.L. Herdan, *[The aging eyelid]*. Schweizerische Rundschau fur Medizin Praxis = Revue suisse de medecine Praxis, 1990. **79**(48): p. 1506-1511.
- 79. Gonnering, R.S. and P.R. Sonneland, *Meibomian gland dysfunction in floppy eyelid syndrome*. Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 1987. **3**(2): p. 99-103.
- 80. Liu, D.T., et al., *Tear film dynamics in floppy eyelid syndrome*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2005. **46**(4): p. 1188-94.
- 81. Holtmann, C., et al., *Lateral Canthal Sling Procedure for Meibomian Gland Dysfunction? Results of a Pilot Study.* Curr Eye Res, 2021. **46**(10): p. 1489-1494.
- 82. Weinreb, R.N., A.W. Dreher, and J.F. Bille, *Quantitative assessment of the optic nerve head with the laser tomographic scanner*. Int Ophthalmol, 1989. **13**(1-2): p. 25-9.
- 83. Bille, P.D.J.F., *High Resolution Imaging in Microscopy and Ophthalmology*. 2019: Springer.
- 84. Eichler, H.J. and e. al., *Laser: Bauformen, Strahlführung, Anwendungen.* 2005: Springer.
- 85. Raulin, C. and e. al., *Lasertherapie der Haut*. 2013: Springer Verlag.
- 86. Meffert, H. and H. Piazena, *Wirkungen künstlich erzeugter Infrarotstrahlung auf den Menschen*. Aktuelle Dermatologie, 2002. **28**(06): p. 187-192.

- 87. Podda, M., et al., *UV-irradiation depletes antioxidants and causes oxidative damage in a model of human skin.* Free Radic Biol Med, 1998. **24**(1): p. 55-65.
- 88. Noonan, F.P., et al., *Melanoma induction by ultraviolet A but not ultraviolet B radiation requires melanin pigment*. Nature Communications, 2012. **3**(1): p. 884.
- 89. Bannwarth, H., B.P. Kremer, and A. Schulz, *Basiswissen Physik, Chemie und Biochemie. Vom Atom bis zur Atmung für Biologen, Mediziner und Pharmazeuten.* Vol. 3. 2013: Springer Verlag.
- 90. Boulnois, J.-L., *Photophysical processes in recent medical laser developments: A review.* Lasers in Medical Science, 1986. **1**(1): p. 47-66.
- 91. McKenzie, A.L., *Physics of thermal processes in laser-tissue interaction*. Phys Med Biol, 1990. **35**(9): p. 1175-209.
- 92. Schneeweis, C., et al., *Leitfaden für Fachkundige im Laserschutz*. 2020: Springer Spektrum. 459.
- 93. Schindelin, J., et al., *Fiji: an open-source platform for biological-image analysis.* Nat Methods, 2012. **9**(7): p. 676-82.
- 94. Asiyo-Vogel, M.N., et al., *Histologic analysis of thermal effects of laser thermokeratoplasty and corneal ablation using Sirius-red polarization microscopy.* J Cataract Refract Surg, 1997. **23**(4): p. 515-26.
- 95. Asiyo-Vogel, M.N., et al., [Imaging of laser thermokeratoplasty lesions by optical low coherence tomography and polarization microscopy after Sirius Red staining]. Ophthalmologe, 1997. **94**(7): p. 487-91.
- 96. Gerling, G., et al., Morphological and biomorphometrical observations on laser thermal keratoplasty. Histological and biomorphometrical examination of the relationship between refractive change and the volume following Cr:Tm:Ho:YAG laser treatment. Ger J Ophthalmol, 1996. **5**(2): p. 84-91.
- 97. Goto, E., et al., *Treatment of non-inflamed obstructive meibomian gland dysfunction by an infrared warm compression device.* The British journal of ophthalmology, 2002. **86**(12): p. 1403-1407.
- Weinfeld, A.B., R. Burke, and M.A. Codner, *The comprehensive management of chemosis following cosmetic lower blepharoplasty*. Plast Reconstr Surg, 2008. 122(2): p. 579-586.
- Safranek, T.J., et al., Mycobacterium chelonae wound infections after plastic surgery employing contaminated gentian violet skin-marking solution. N Engl J Med, 1987. 317(4): p. 197-201.
- 100. McCord, C.D., Jr., *The correction of lower lid malposition following lower lid blepharoplasty.* Plast Reconstr Surg, 1999. **103**(3): p. 1036-9; discussion 1040.
- 101. Chong, K.K.-l. and R.A. Goldberg, *Lateral Canthal Surgery*. Facial Plast Surg, 2010.
 26(03): p. 193-200.
- 102. Oestreicher, J. and S. Mehta, *Complications of blepharoplasty: prevention and management*. Plast Surg Int, 2012. 2012: p. 252368.
- Juhasz, M., C. Zachary, and J.L. Cohen, Ocular Complications After Laser or Light-Based Therapy—Dangers Dermatologists Should Know. Dermatologic Surgery, 2021. 47(5).
- 104. Herbold, T.M., H. Busse, and C.E. Uhlig, *Bilateral Cataract and Corectopia after Laser Eyelid Epilation*. Ophthalmology, 2005. **112**(9): p. 1634-1635.
- Brilakis, H.S. and E.J. Holland, *Diode-laser-induced cataract and iris atrophy as a complication of eyelid hair removal.* American Journal of Ophthalmology, 2004. 137(4): p. 762-763.
- 106. Flegel, L., F. Kherani, and V. Richer, *Review of Eye Injuries Associated With Dermatologic Laser Treatment*. Dermatologic Surgery, 2022. **48**(5).

- 107. Polyanskiy, M.N. *Refractive index database*. 04.02.2023]; Available from: <u>https://refractiveindex.info</u>.
- 108. Wollensak, G., E. Spoerl, and T. Seiler, *Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus.* Am J Ophthalmol, 2003. **135**(5): p. 620-7.
- 109. Alhayek, A. and P.R. Lu, *Corneal collagen crosslinking in keratoconus and other eye disease*. Int J Ophthalmol, 2015. **8**(2): p. 407-18.
- 110. Smith, T.M., et al., *Photochemically Induced Crosslinking of Tarsal Collagen as a Treatment for Eyelid Laxity: Assessing Potentiality in Animal Tissue.* Ophthalmic Plast Reconstr Surg, 2018. **34**(5): p. 477-482.
- 111. Smith, T.M., et al., *Further Investigations on the Crosslinking of Tarsal Collagen as a Treatment for Eyelid Laxity: Optimizing the Procedure in Animal Tissue.* Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery, 2019. **35**(6): p. 600-603.
- 112. Ugradar, S., et al., *Biomechanical and Morphologic Effects of Collagen Cross-Linking in Human Tarsus.* Transl Vis Sci Technol, 2019. **8**(6): p. 25.
- 113. Deparis, S.W., et al., *Effects of collagen crosslinking on porcine and human tarsal plate*. BMC Ophthalmology, 2019. **19**(1).
- 114. Alió, J.L., et al., *Correction of hyperopia induced by photorefractive keratectomy using non-contact Ho:YAG laser thermal keratoplasty.* J Refract Surg, 1997. **13**(1): p. 13-6.
- 115. Ariyasu, R.G., et al., *Holmium laser thermal keratoplasty of 10 poorly sighted eyes*. J Refract Surg, 1995. **11**(5): p. 358-65.
- 116. Schirner, G., et al., *[Experimental studies on the effect of the Er:glass and Cr:Tm:Ho:YAG laser in thermokeratoplasty]*. Ophthalmologe, 1994. **91**(5): p. 638-45.
- Seiler, T., M. Matallana, and T. Bende, *Laser thermokeratoplasty by means of a pulsed holmium: YAG laser for hyperopic correction*. Refract Corneal Surg, 1990. 6(5): p. 335-9.
- 118. Kampmeier, J.B., Ralf; Pfleiderer, Martin; Schneider, Erich; Birngruber, Reginald; Birngruber, Reginald; Fercher, Adolf F.; Sourdille, Philippe *Biomechanical basis for laser thermokeratoplasty*, in *Lasers in Ophthalmology IV*, S.B.E.-V. SPIE Proceedings, Austria (Saturday 7 September 1996)], Editor. 1996.
- 119. Danys, D., et al., *Tissue coagulation in laser hemorrhoidoplasty an experimental study*. Open Medicine, 2020. **15**(1): p. 185-189.
- 120. Tran, V.N., et al., *Concentric photothermal coagulation with basket-integrated optical device for treatment of tracheal stenosis*. Journal of Biophotonics, 2018. **11**(1): p. e201700073.
- 121. Koop, N., et al., [Thermal damage to the corneal endothelium in diode laser thermokeratoplasty]. Ophthalmologe, 1999. **96**(6): p. 392-7.
- 122. Brinkmann, R.K., N.; Droege, G.; Grotehusmann, U.; Huber, A.; Birngruber, R., *Investigations on Laser Thermokeratoplasty.* In Proceedings of the Proc SPIE, San Jose, CA, USA, 15 February 1994. **2079**: p. 120–130.
- 123. Geerling, G., et al., [Diode laser thermokeratoplasty. Initial clinical experiences]. Ophthalmologe, 1999. **96**(5): p. 306-11.
- 124. Geerling, G., et al., *Continuous-wave diode laser thermokeratoplasty: first clinical experience in blind human eyes.* J Cataract Refract Surg, 1999. **25**(1): p. 32-40.
- 125. Giglio, N.C. and N.M. Fried, Sealing and Bisection of Blood Vessels using a 1470 nm Laser: Optical, Thermal, and Tissue Damage Simulations. Proc SPIE Int Soc Opt Eng, 2021. 11621.
- 126. Truong, V.G., et al., *Effect of spatial light distribution on the thermal response of vascular tissue*. Biomedical optics express, 2018. **9**(7): p. 3037-3048.
- 127. Cherry, P.M., *Holmium: YAG laser to treat astigmatism associated with myopia or hyperopia.* J Refract Surg, 1995. **11**(3 Suppl): p. S349-57.

- 128. Spörl, E., et al., *Thermomechanical behavior of the cornea*. Ger J Ophthalmol, 1996. **5**(6): p. 322-7.
- 129. Geerling G, B.R., Koop N, Klingemann I, Laqua H, Birngruber R, *Laser thermokeratoplasty experimental study in minipigs with a CW-IR-laser diode.* Invest Ophthalmol Vis Sci 37: S 65, 1996.
- 130. Schirner G, K.N., Borcherding S, van Aken Ch, Dröge G, El-Hifnawi E, Birngruber R, Brinkmann R, *Experimental studies to optimize laserthermokeratoplasty using pulsed and continuous wave (CW)-lasersources*. ARVO abstract 3304. Invest Ophthalmol Vis Sci 36: S 716, 1995.
- 131. Brinkmann, R., et al., *Diode laser thermokeratoplasty: Application strategy and dosimetry.* Journal of Cataract & Refractive Surgery, 1998. **24**(9): p. 1195-1207.
- 132. Thomsen, S., *Pathologic analysis of photothermal and photomechanical effects of lasertissue interactions.* Photochem Photobiol, 1991. **53**(6): p. 825-35.
- 133. Gerdes, A.M., J. Kriseman, and S.P. Bishop, *Morphometric study of cardiac muscle: the problem of tissue shrinkage*. Lab Invest, 1982. **46**(3): p. 271-4.
- 134. Boonstra, H., et al., *Cervical tissue shrinkage by formaldehyde fixation, paraffin wax embedding, section cutting and mounting.* Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histopathology, 1983. **402**(2): p. 195-201.
- Goldberg, D.J., *Current trends in intense pulsed light*. J Clin Aesthet Dermatol, 2012.
 5(6): p. 45-53.
- 136. Craig, J.P., Y.H. Chen, and P.R. Turnbull, *Prospective trial of intense pulsed light for the treatment of meibomian gland dysfunction*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2015. 56(3): p. 1965-70.
- 137. Vegunta, S., D. Patel, and J.F. Shen, Combination Therapy of Intense Pulsed Light Therapy and Meibomian Gland Expression (IPL/MGX) Can Improve Dry Eye Symptoms and Meibomian Gland Function in Patients With Refractory Dry Eye: A Retrospective Analysis. Cornea, 2016. **35**(3): p. 318-22.
- Yan, X., et al., The Efficacy of Intense Pulsed Light Combined With Meibomian Gland Expression for the Treatment of Dry Eye Disease Due to Meibomian Gland Dysfunction: A Multicenter, Randomized Controlled Trial. Eye Contact Lens, 2021. 47(1): p. 45-53.
- 139. Vigo, L., et al., Intense Pulsed Light for the Treatment of Dry Eye Owing to Meibomian Gland Dysfunction. J Vis Exp, 2019(146).
- 140. Gupta, P.K., et al., *Outcomes of intense pulsed light therapy for treatment of evaporative dry eye disease*. Can J Ophthalmol, 2016. **51**(4): p. 249-253.
- 141. Fu, Y., et al., Prospective trial of a 2940 nm Er:YAG laser for the treatment of meibomian gland dysfunction. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol, 2021. 259(8): p. 2269-2278.
- 142. Crespo-Moral, M., et al., *Histological and immunohistochemical characterization of the porcine ocular surface*. PLOS ONE, 2020. **15**(1): p. e0227732.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen Personen meinen großen Dank aussprechen, die mir bei der Anfertigung dieser Dissertation zur Seite standen:

Zuerst möchte ich meinen Doktorvater Herr Prof. Dr. Geerling nennen, der diese Doktorarbeit ermöglicht hat. Ihm gilt mein besonderer Dank. Die ausgezeichnete Betreuung und seine großartige Unterstützung zu jeder Zeit habe ich immer sehr wertgeschätzt und nie als selbstverständlich angesehen. Die zahlreichen Gespräche auf intellektueller Ebene waren ein sehr bereichernder und konstruktiver Austausch. Ich bin unheimlich froh, dass er mich auch zukünftig als Chef und Mentor begleiten wird.

Ich danke Frau Prof. Dr. von Gall für die hilfsbereite wissenschaftliche Betreuung als Zweitgutachterin.

Mein außerordentlicher Dank gilt ebenfalls Frau Dr. Witt. Die mehrfache Durchsicht dieser Abhandlung, ihre kritischen Betrachtungen, ihre differenzierten Anmerkungen sowie die produktiven Gespräche und ihr Rat habe ich sehr geschätzt. Sie war immer für mich erreichbar und hat mich die gesamte Zeit gefördert. Danke für den Rückhalt und eine wirklich tolle Zusammenarbeit.

Des Weiteren möchte ich Frau Wiebe-BenZakour meinen Dank aussprechen. Sie war eine Laborpartnerin, auf die ich mich verlassen konnte und die immerfort ein moralischer Beistand war.

Daneben möchte ich Herrn Dr. Holtmanns Bemühungen und Gedanken honorieren. Ich bin sehr stolz auf unsere gemeinsame Publikation.

Als nächstes möchte ich auch die Beteiligung des Teams im Medizinischen Laserzentrum in Lübeck nennen. Herr Theisen-Kunde und Frau Hutfilz haben das Projekt durch Ihren wertvollen Beitrag ermöglicht.

Tief verbunden und dankbar bin ich meinem Freund, für seine stete Hilfsbereitschaft, sein Zuhören und sein außerordentlich hilfreiches Gedankengut zu allen Problematiken.

Den größten Dank möchte ich meiner Familie aussprechen, die mir meinen bisherigen Lebensweg ermöglichte und der ich diese Arbeit widme. Meinen Eltern und meinem Bruder danke ich dafür, dass sie mir immer zur Seite stehen, Verständnis sowie Geduld aufbringen und
mich zu jeder Zeit unterstützen und bestärken. Dieser Halt bedeutet für mich mehr, als ich jemals mit Worten ausdrücken kann. Meiner Großmutter danke ich für Ihren liebevollen Zuspruch und meinem Großvater für seine unermüdliche, motivierende Fürsprache. Für den Einsatz und das Vertrauen meiner Familie bin ich auf ewig dankbar.