

Aus der Klinik für Augenheilkunde
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Gerd Geerling

**XENIA Lentikel: Biomechanik und enzymatische
Resistenz im Vergleich zu porzinen und humanen
cornealen Lentikeln**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Stephan Reiter
2026

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

gez.:

Dekan/in: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter/in: PD Dr. med. Dr. rer. nat. Johannes Menzel-Severing

Zweitgutachter/in: PD Dr. med. Jörg Felsberg

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Stephan Reiter, Joana Witt, Johannes Menzel-Severing, Gerd Geerling, Theo G. Seiler; Xenogenic Corneal Lenticules (XENIA) – Biomechanical Characterization and Enzymatic Resistance Analysis. Transl. Vis. Sci. Technol. 2025;14(12):34. <https://doi.org/10.1167/tvst.14.12.34>.

Zusammenfassung

Für die operative Therapie epidemiologisch relevanter Hornhauterkrankungen, wie zum Beispiel des Keratokonus, stellt die Hornhauttransplantation (Keratoplastik) bis heute den Goldstandard zur Behandlung fortgeschrittener Krankheitsstadien dar, um langfristig eine ausreichende visuelle Rehabilitation und damit einhergehende Lebensqualität für betroffene Patienten sicherzustellen. Aufgrund antigener Mechanismen und trotz des verbleibenden Restrisikos einer Immunreaktion bleibt die Verwendung von immunologisch möglichst kompatiblen humanen Spenderhornhäuten bislang weitgehend alternativlos. Um dem globalen Spendermangel entgegenzuwirken, konzentrieren sich aktuelle Forschungsansätze auf die Verwendung artifizieller und xenogener Gewebe, wie beispielsweise dezellularisierte porcine Corneae, die praktisch unbegrenzt zur Verfügung stehen und bereits als fertiges Medizinprodukt zur Implantation verfügbar sind. Bislang haben sich aber in der Augenheilkunde vergleichbare operative Ansätze mit xenogenem Gewebe noch nicht etabliert.

Das Unternehmen Gebauer Medizintechnik GmbH hat einen CE-zertifizierten und MDR-konformen xenogenen Lentikel (XENIA) aus Schweinehornhaut entwickelt, der bei Patienten mit Keratokonus in eine stromale Tasche implantiert werden kann. Die erste zugelassene Version besteht aus einem planar geformten Lentikel mit einem Durchmesser von 7,7 mm. Er wird aus dem anterioren Teil der Schweinehornhaut gewonnen und im Rahmen eines mehrschrittigen Bearbeitungsprozesses zunächst dezellularisiert, um unerwünschte Antigene und Epitope zu eliminieren und das Risiko einer Immunreaktion zu minimieren. Anschließend erfolgt eine Kompression auf ca. 80 µm Dicke und ein intensives aktinisches Crosslinking, bei dem die Kollagenfasern quervernetzt werden, was zu einer Versteifung und somit erhöhten Festigkeit des Lentikels führt.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die XENIA Lentikel weiterführend im Hinblick auf ihre biomechanischen Eigenschaften zu untersuchen und mit nativen Lentikeln aus humanen und porcinen Hornhäuten zu vergleichen. Hierzu wurden zum einen Zugversuche mittels uniaxialer Spannungs-Dehnungs-Messung durchgeführt. Die Lentikel wurden in 5 mm breite Streifen zugeschnitten und diese anschließend nach Anwendung einer Vorkraft von 10 Kilopascal (kPa) in einem physiologisch relevanten Bereich bis 19 % mit einer Materialprüfmaschine gedehnt und die korrespondierende Spannung detektiert. Zum anderen wurde die Resistenz der Lentikel gegenüber proteolytischen Enzymen untersucht. Die Lentikel wurden nach Einfärbung mit Trypanblau in Kollagenaselösung ($c = 0,1 \text{ U / ml}$) gelegt und anschließend die Flächenreduktion durch den enzymatischen Verdau über 20 Tage fotografisch dokumentiert. Die Spannungs-Dehnungs-Messungen zeigten, dass die XENIA Lentikel im untersuchten Dehnungsbereich in etwa 9 – 23,5-fach erhöhte Elastizitätsmodule gegenüber porcinen und 3,9 – 9,6-fach erhöhte gegenüber humanen Lentikeln aufweisen. Die Resistenztestung gegenüber Kollagenaselösung ergab, dass XENIA Lentikel im Beobachtungszeitraum über 20 Tage im Gegensatz zu den Kontrollen signifikant langsamer verdaut wurden und lediglich eine Flächenreduktion von $19,2 \% \pm 13,7 \%$ zeigten, während in den Kontrollgruppen sämtliche Proben vollständig über die Zeit verdaut wurden. Insgesamt zeigten beide Versuchsreihen eine deutlich erhöhte biomechanische Stabilität und Resistenz der XENIA Lentikel gegenüber nativem Kontrollgewebe. Zukünftig könnte die Implantation von xenogenen Lentikeln eine alternative und weniger invasive operative Therapie für corneale Einschmelzungen oder fortgeschrittenen Keratokonus darstellen; hierzu sind jedoch weitere klinische Studien erforderlich.

Abstract

For the surgical treatment of epidemiologically relevant corneal diseases (e.g. keratoconus), corneal transplantation (keratoplasty) remains to this day the gold standard technique to ensure long-term visual rehabilitation and a sufficient quality of life. Because of antigenic mechanisms and the risk of graft rejection, the use of human donor corneal tissue remains essential for corneal surgery. In order to deal with the global shortage of donor tissue, current research focuses on the development of artificial and xenogenic tissues, such as decellularized porcine corneas that have almost unlimited availability and are directly ready for use as prepared medical products for implantation. Currently, such xenogenic implantations are not well established in ophthalmology.

Recently, the company Gebauer Medizintechnik GmbH has developed a CE-marked and MDR-approved xenogenic lenticule (XENIA), which is manufactured from porcine cornea and can be implanted in stromal pockets of keratoconus corneas. The first approved version consists of a planar-shaped lenticule with a diameter of 7.7 mm. It is obtained from the anterior part of the porcine cornea and undergoes a multiple-step manufacturing process. First, lenticules are decellularized in order to remove antigens and epitopes to minimize the risk of graft rejection. After that, they are densely compressed to a thickness of 80 microns and intensively crosslinked by actinic radiation, which increases the stiffness and stability of the lenticule.

The aim of this work was to further investigate the biomechanical properties of XENIA lenticules in comparison to native human and porcine corneal lenticules. We performed uniaxial stress-strain measurements and an enzymatic resistance analysis. The lenticules were cut into 5 mm wide strips and after application of a prestress of 10 kPa, the corresponding stress within a physiological strain range up to 19% was detected with a material tester. In addition, for enzymatic resistance analysis the lenticules were stained with Trypan blue and placed into collagenase solution ($c = 0.1 \text{ U / ml}$). The area reduction over 20 days was documented by photographs. The stress-strain measurements showed that XENIA lenticules have 9 – 23.5-fold higher elastic moduli within the examined strain range compared to porcine lenticules and 3.9 – 9.6-fold higher ones compared to human lenticules. Furthermore, they demonstrated significantly prolonged digestion times in enzymatic resistance analysis compared to native control lenticules. During the investigation period of 20 days the XENIA lenticules showed an area reduction of $19.2 \pm 13.7 \%$, whereas all samples of the control groups were fully digested over time. In summary, both experiments showed a clearly increased biomechanical stability and resistance of XENIA lenticules compared to native control tissue. In the future, implantation of xenogenic lenticules could offer an alternative and less invasive surgical approach for corneal melting or advanced keratoconus; however, further clinical studies are needed.

Abkürzungsverzeichnis

BPC(DX)	Bioengineered porcine construct (, double crosslinked)
BSS	Balanced salt solution
CAIRS	Corneal allogenic intrastromal ring segments
CDVA	Korrigierter Fernvisus (<i>corrected distance visual acuity</i>)
CE	Conformité Européenne
CXL	UV-A-Riboflavin Crosslinking
dpt	Dioptrien
DALK	Tiefe anteriore lamelläre Keratoplastik (<i>deep anterior lamellar keratoplasty</i>)
DSPI	Elektronische Specklemuster-Interferometrie (<i>Displacement Speckle Pattern Interferometry</i>)
ICRS	Intrastromal corneal ring segments
IOP	Augeninnendruck (<i>intraocular pressure</i>)
K_{max}	Maximaler Keratometriewert
KLEx	Keratorefraktive Lentikelextraktion
kPa	Kilopascal
LASIK	Laser-in-situ-Keratomileusis
logMAR	logarithm of the Minimum Angle of Resolution
MDR	Medical Device Regulation
MPa	Megapascal
mW	Milliwatt
ORA	Ocular Response Analyzer
PKP	Perforierende Keratoplastik (<i>penetrating keratoplasty</i>)
PRK	Photorefraktive Keratektomie
SMILE	Small Incision Lenticule Extraction
U	Units
UCVA	Unkorrigierter Visus (<i>uncorrected visual acuity</i>)

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Anatomie und Physiologie der humanen Cornea	1
1.2	Biomechanik der humanen Cornea.....	2
1.3	Keratokonius	3
1.3.1	Ätiologie und Epidemiologie	3
1.3.2	Pathogenese und klinische Präsentation.....	4
1.3.3	Diagnostik	4
1.3.4	Therapie.....	5
1.3.5	Visuelle Rehabilitation.....	9
1.3.6	Intracorneale Implantate.....	11
1.3.7	Lentikel	14
2	Ziele der Arbeit	17
3	Publizierte Originalarbeit: Stephan Reiter, Joana Witt, Johannes Menzel-Severing, Gerd Geerling, Theo G. Seiler; Xenogenic Corneal Lenticules (XENIA) – Biomechanical Characterization and Enzymatic Resistance Analysis. Transl. Vis. Sci. Technol. 2025;14(12):34. https://doi.org/10.1167/tvst.14.12.34	18
4	Diskussion und Schlussfolgerungen	19
5	Literaturverzeichnis.....	25

1 Einleitung

1.1 Anatomie und Physiologie der humanen Cornea

Die Cornea ist die klare äußere Schicht des Augenvorderabschnitts und bildet einen Teil der brechenden Medien des Auges. Ihr Anteil an der Gesamtbrechkraft des Auges beträgt ca. 40 – 50 Dioptrien (entsprechend rund 66 - 70 % der Gesamtbrechkraft des Auges, je nach Individuum und Literaturquelle) [1, 2]. Die Brechung kommt durch den Übertritt des Lichts von einem Medium mit geringerem refraktiven Index in ein Medium mit höherem refraktiven Index, entsprechend der Phasengrenze zwischen Luft und der Hornhaut mit dem Tränenfilm, die zudem einen hohen Wassergehalt aufweist, sowie der asphärisch gekrümmten Hornhautoberfläche zustande.

Die Abmessungen der Cornea liegen bei 11,5 – 12 mm horizontalem und 9 – 11 mm vertikalem Durchmesser [2-4], die zentrale Dicke beträgt durchschnittlich 540 µm mit Zunahme zur Peripherie hin [3].

Die Hornhaut besitzt einzigartige Gewebeeigenschaften, die für ihre optische Funktion von großer Bedeutung sind. Neben der Eintrittsstelle für die optischen Sinneseindrücke erfüllt sie eine Schutzfunktion für das Auge, indem sie eine für viele Substanzen undurchlässige mechanische Barriere zwischen Auge und Umwelt bildet [1].

Das corneale Gewebe ist transparent im sichtbaren Lichtspektrum und physiologisch frei von Blutgefäßen, die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung erfolgt zum einen aus dem Tränenfilm, der die Augenoberfläche benetzt, und zum anderen aus dem Kammerwasser in der Vorderkammer des Auges [2, 3]. Die Hornhaut ist das am dichtesten innervierte Gewebe des Körpers; die sensiblen Nervenfasern stammen aus dem Ramus nasociliaris des ersten Astes des Nervus trigeminus [2]. Infolgedessen sind Verletzungen der Cornea äußerst schmerzhaft für betroffene Patienten [3].

Mikroskopisch ist die Cornea aus mehreren Schichten aufgebaut. Die äußerste Schicht bildet das unverhornte mehrschichtige Plattenepithel, welches aus 5 – 6 Zellschichten besteht. Die Epithelzellen werden ständig durch Zellteilungen in den tieferen Schichten und durch Migration von peripher ersetzt [2].

Es folgt die Bowman'sche Lamelle, die ca. 8 – 14 µm dick ist und aus Kollagenfibrillen besteht, die eher zufällig ausgerichtet sind. Diese Schicht ist nahezu zellfrei [2].

Mit 90 % nimmt das Stroma den Hauptteil der mikroskopischen Zusammensetzung der Cornea ein. Es besteht aus 1 – 2 µm dicken Kollagenlamellen (insb. aus Typ-I-Kollagen), die parallel übereinander angeordnet sind. Zwischen den Lamellen befinden sich Fibroblasten (Keratozyten), die der Kollagensynthese dienen. Die Grundsubstanz bildet extrazelluläre Matrix aus Proteoglykanen (Chondroitinsulfat und Keratansulfat) mit vereinzelt weiteren Zelltypen (Schwann-Zellen, Lymphozyten, Makrophagen und weitere) [2].

Die Descemet-Membran stellt die Basalmembran der Endothelzellen dar; sie nimmt im Verlauf des Lebens an Dicke zu [2].

Die letzte Schicht bilden die Endothelzellen der Cornea, die zahlreiche wichtige Funktionen erfüllen. Die Zellen haben eine polygonale Form, ihre Zahl liegt im ersten Lebensmonat bei ca. 6000, diese nimmt mit fortschreitendem Alter jährlich um ca. 0,6 % ab [2, 3]. Bei jungen Erwachsenen beträgt die Endothelzelldicke ca. 3000 Zellen / mm².

Zusammen mit dem Epithel gewährleistet das Endothel die Transparenz der Hornhaut, da der Einstrom von Flüssigkeit von anterior in das Hornhautstroma unterbunden wird, die Hydratation der Cornea stabil bleibt und dadurch die Anordnung und der Abstand der Kollagenfibrillen und -lamellen konstant gehalten werden. Das Epithel übernimmt hierbei eine Barrierefunktion, während die Endothelzellen in der Lage sind, corneale Gewebsflüssigkeit aktiv in das Kammerwasser zu transportieren (sog. Endothelpumpe) [2].

Da die Endothelzellen sich nicht regenerieren können und es kaum Kompensationsmechanismen gibt, kann es ab einer Zelldichte von 500 Zellen / mm² zur Entwicklung eines Hornhautödems mit konsekutiver Eintrübung kommen [3].

1.2 Biomechanik der humanen Cornea

Die Biomechanik ist ein Teilgebiet der Biophysik und beschreibt allgemein die Anwendung mechanischer Gesetze und Modelle auf biologische Systeme [5].

Vor allem durch die fortschreitende Entwicklung refraktiv-chirurgischer Techniken gewinnt das Verständnis der cornealen Biomechanik zunehmend an Bedeutung, da die Vorhersagbarkeit der cornealen Stabilität sehr wichtig ist, um die Eingriffe mit optimalem Ergebnis planen und durchführen zu können. Außerdem ist sie von großer Relevanz für die Diagnostik und Behandlung von Hornhautektasien wie des Keratokonus, bei dem die cornealen Strukturen geschwächt sind, was mithilfe entsprechender Parameter quantifiziert werden kann [6, 7]. Die biomechanischen Eigenschaften der Cornea werden im Wesentlichen durch ihre strukturelle Organisation bestimmt und sind heterogen verteilt. Der größte Anteil kommt hierbei dem Stroma zu, das 90 % der Dicke der Cornea ausmacht. Insbesondere das anteriore Stroma weist im Vergleich zum mittleren und posterioren Stroma eine um 50 % erhöhte Steifigkeit bzw. bis zu achtfach erhöhten Elastizitätsmodul auf [8]. Dies ist vor allem auf das eng verwobene, mehrfach verzweigte Netzwerk von Kollagenfibrillen, die in die Bowman'sche Lamelle übergehen, zurückzuführen [8]. Im mittleren und posterioren Stroma verlaufen die Fasern hingegen vermehrt parallel zur cornealen Krümmung in nasal-temporaler und superior-inferiorer Richtung.

Auch das Patientenalter hat einen entscheidenden Einfluss auf die biomechanischen Eigenschaften der Cornea. In einer Studie aus dem Jahr 2011 untersuchten Knox Cartwright et al. die elastischen Eigenschaften der Cornea in Abhängigkeit vom Alter mit einem Interferometer und ermittelten den Youngschen Modul (Elastizitätsmodul), einen Parameter, der sich aus dem Verhältnis von Spannung und Dehnung eines Materials im Zugversuch errechnen lässt und für das jeweilige Material konstant ist. Es zeigte sich, dass die corneale Steifigkeit mit dem Alter zunimmt, der aus der ermittelten Formel berechnete Elastizitätsmodul lag für ein Alter von 20 Jahren bei 0,25 MPa und bei 0,52 MPa bei einem Patientenalter von 100 Jahren [9].

Ursächlich hierfür ist, dass es mit dem Alter zu zunehmender Verdickung und Längenzunahme der Kollagenfasern kommt. Dies ist zum einen auf die erhöhte Anzahl an Kollagenmolekülen und die Entstehung von Quervernetzungen, induziert durch Glykierung von freien S-H-Gruppen, zurückzuführen. Zum anderen verändert sich der Neigungswinkel der Fasern, sodass diese an Länge zunehmen. Dies lässt sich in Einklang mit der Beobachtung bringen,

dass jugendliches Alter ein Risikofaktor sowohl für iatrogene Hornhautektasie als auch für Progression eines Keratokonus ist und die Inzidenz mit steigendem Alter abnimmt.

Bei der Messung der biomechanischen Eigenschaften muss zwischen *in vivo*- und *ex vivo*-Methoden unterschieden werden [10]. Für die *ex vivo*-Untersuchung eignet sich ein klassischer Zugversuch im Sinne einer Spannungs-Dehnungs-Messung, bei der zugeschnittene corneale Streifen gedehnt werden und die korrespondierende Spannung aufgezeichnet wird. Vorteil dieser Messmethode ist, dass verschiedene Belastungsmuster möglich sind, wie z.B. Spannungsgleichgewicht oder dynamische viskoelastische Analysen. Allerdings besteht ein Nachteil darin, dass durch das Zuschneiden von Streifen die Ausrichtung der Kollagenfibrillen verändert bzw. unterbrochen wird, außerdem muss eine konstante Feuchtigkeit herrschen, um eine gleichmäßige Hydratation zu gewährleisten. Auch der untersuchte Bereich der Dehnung befindet sich meist außerhalb des physiologischen Bereichs. Es ist letztendlich daher nicht möglich, exakte Bedingungen wie *in vivo* herzustellen, sodass Abweichungen vom physiologischen Zustand toleriert werden müssen [10].

Für die *in vivo*-Messung stehen verschiedene Methoden zur Verfügung. Gängige Geräte wie der Ocular Response Analyzer (ORA) oder die Dynamische Scheimpflug-Technologie (DST) arbeiten beispielsweise applanatorisch mit einer luftstoßbasierten Verformung der Cornea, die mittels einer hochauflösenden Kamera untersucht wird. Optisch basierte Verfahren wie die Brillouin-Mikroskopie können zudem eine 3D-Darstellung der cornealen Steifigkeit liefern. Nachteile der *in vivo*-Messung sind jedoch insbesondere bei den applanatorischen Verfahren die geringe räumliche Auflösung sowie die Abhängigkeit von Parametern wie dem Augeninnendruck (IOP), der zentralen cornealen Dicke oder Augenbewegungen, die die Messergebnisse verzerren können [11]. Zudem lassen sich *in vivo* bestimmte Parameter nicht exakt in konkrete physikalische Größen (bspw. Elastizitätsmodul) übersetzen [12]. Bislang existiert keine Technologie, die man als „Goldstandard“ für biomechanische Messungen ansehen könnte [11].

1.3 Keratokonus

1.3.1 Ätiologie und Epidemiologie

Der Keratokonus ist ein Krankheitsbild, welches den sog. Hornhautektasien zugeordnet ist und in dieser Erkrankungsgruppe die wichtigste Entität darstellt.

Hornhautektasien beschreiben allgemein progressive, nicht-entzündliche Wölbungsanomalien der Hornhaut, die zu Einbußen der optischen Abbildungsqualität des Auges führen und von den Hornhautdystrophien abgegrenzt werden [13].

Epidemiologisch beläuft sich die Prävalenz in der westlichen Welt auf 1 / 2000 Patienten [1, 14], jedoch zeigen sich regionale Unterschiede mit Schwerpunkt in den Ländern des Nahen und Mittleren Ostens. Anhand einer norwegischen Population konnten Kristianslund et al. (2021) zeigen, dass die Prävalenz in der dortigen Gesamtbevölkerung bei ca. 0,19 % liegt, weitere Studien aus den Niederlanden und Australien fanden Werte von 0,27 % bis hin zu 1,2 % bei 20-Jährigen [15, 16]. Für den Nahen Osten konnten Torres Netto et al. in einem pädiatrischen Patientenkollektiv zwischen 6 und 21 Jahren eine Prävalenz von nahezu 5 % nachweisen [17]. Der Keratokonus ist somit als relevantes Krankheitsbild anzusehen, welches vermutlich unterdiagnostiziert ist [18].

Die Ätiologie betreffend gab es in der Vergangenheit bereits zahlreiche Untersuchungen mit verschiedenen Erklärungsansätzen, jedoch bleibt die genaue Ursache für die Entwicklung eines Keratokonus bislang unklar. Es konnten aber einige Risikofaktoren identifiziert werden. Hierzu zählen insbesondere das häufige Reiben der Augen sowie Atopie [19, 20]. Zwar tritt die Erkrankung in den meisten Fällen sporadisch auf, dennoch konnten in der Vergangenheit familiäre Häufungen in ca. 6 – 10 % aller Fälle beobachtet werden [21]. Weiterhin sind zahlreiche syndromale Erkrankungen bekannt, in deren Zusammenhang vermehrt ein Keratokonus auftritt. Als wichtige Entität ist das Down-Syndrom zu nennen. Hier liegt die Prävalenz um den Faktor 10 – 300 höher. Dieser Trend konnte durch Kristianslund et al. (2021) bestätigt werden [21, 22]. Aber auch zahlreiche andere okuläre Krankheitsbilder stehen in Verbindung mit dem Keratokonus [21].

Vermutet wird eine komplexe Wechselwirkung zwischen genetischen und Umweltfaktoren. Der jeweilige Anteil an der Pathogenese bleibt aber unklar und scheint nach bisherigen Erkenntnissen variabel zu sein [19]. Zudem erscheint denkbar, dass ein Umweltfaktor bei genetisch prädisponierten Personen für die letztendliche Ausbildung des Keratokonus verantwortlich ist [20].

1.3.2 Pathogenese und klinische Präsentation

Der Keratokonus ist eine progressive Erkrankung der Hornhaut, die durch zentrale oder parazentrale Verdünnung des Hornhautstromas sowie konsekutiver Protrusion in Form eines Konus gekennzeichnet ist [3]. Es wird angenommen, dass die stromale Verdünnung durch einen verstärkten Kollagenabbau infolge gesteigerter Aktivität proteolytischer Enzyme (vornehmlich Matrixmetalloproteinasen wie MMP-9) [23] hervorgerufen wird, während entsprechende Inhibitoren vermindert aktiv sind [1]. Gleichzeitig sind Proteine, die für die Organisation des Kollagengerüsts wichtig sind, wie Decorin und Keratocan, hochreguliert [24]. Critchfield et al. konnten bereits 1988 nachweisen, dass der Kollagengehalt in Corneae mit Keratokonus reduziert ist. Strukturell zeigt sich zudem eine herabgesetzte Kollagenlamellenzahl in den betroffenen Regionen sowie Brüche der Bowman'schen Lamelle [25].

Die Erkrankung beginnt zumeist in der Pubertät und schreitet oft bis zur vierten Lebensdekade fort; dann tritt im Regelfall eine Stabilisierung ein [1, 20]. Typisch ist ein einseitiger Beginn, der sich zunächst asymptomatisch oder mit Sehverschlechterung präsentiert [3]. Im weiteren Verlauf sind innerhalb von 16 Jahren in 50 % der Fälle beide Augen betroffen, jedoch häufig asymmetrisch [3]. Bei Progredienz kommt es zu zunehmender Myopie, irregulärem Astigmatismus und in weit fortgeschrittenen Stadien zu cornealer Vernarbung [20]. Die Patienten erblinden trotz stark reduzierter Sehschärfe zwar nie [21], sind in ihrer Lebensqualität jedoch stark eingeschränkt, insbesondere bei alltäglichen Aktivitäten [26].

Die Erstvorstellung in der Klinik erfolgt meist aufgrund von Visusminderung und häufigen Refraktionsänderungen [1].

1.3.3 Diagnostik

Initial präsentieren sich die Patienten zumeist mit einer einseitigen Visusminderung mit verschwommenem Sehen und klagen über Blendempfindlichkeit, Halos, reduzierte

Kontrastempfindlichkeit oder Doppelbilder. Insbesondere kommt es zu Einschränkungen unter schlechten Lichtbedingungen mit einer großen Pupille wie zum Beispiel bei nächtlichen Autofahrten. Diese Befunde sind in der Refraktionsuntersuchung mit einem zunehmenden Astigmatismus korreliert [27]. Im Rahmen der Spaltlampenuntersuchung wird zwischen frühen und späten Zeichen unterschieden. Frühzeichen sind u.a. epitheliale Eisenablagerungen um die Konusbasis (Fleischer-Ring), zentrale und parazentrale Stromaverdünnung, sowie eine posteriore Protrusion. Spätzeichen zeigen sich in Form von sehr feinen, vertikalen, tiefen Stroma- und Descemetlinien (sog. Vogt-Linien) sowie einer Ausbuchtung des Unterlids bei Blick nach unten (Munson-Zeichen). Gelegentlich kann auch ein Hydrops corneae durch Ruptur der Descemet-Membran beobachtet werden. Hierbei kommt es zu einem schnellen Einstrom von Kammerwasser in die Hornhaut, dieser äußert sich symptomatisch in Schmerzen, Photophobie und akut reduziertem Visus [3]. In weit fortgeschrittenen Stadien tritt Narbenbildung auf.

Weitere klinische Zeichen sind ein „Öltropfen“-Reflex (Oil droplet sign [21]) in der direkten Ophthalmoskopie [3] und das Rizzuti-Phänomen, bei dem es sich um eine scharfe Lichtreflexion der nasalen Cornea bei Beleuchtung von temporal handelt.

Quantifiziert werden kann das Ausmaß bzw. das Stadium der Erkrankung nur mittels Keratometrie und Hornhauttopographie/-tomographie. Die Stadieneinteilung beim Keratokonus erfolgte früher nach Amsler-Krumeich (AK), diese wurde mittlerweile jedoch durch die sog. ABCD-Klassifikation abgelöst. Als Kriterien der AK-Klassifikation werden die Refraktion, die zentrale Keratometrie, das Vorhandensein bzw. die Abwesenheit cornealer Narben sowie die zentrale Hornhautdicke herangezogen [28]. Die Erkrankung wird hierbei in die Stadien 1 (mild) bis 4 (schwer) unterteilt. Der größte Nachteil der AK-Klassifikation besteht darin, dass sie nur Veränderungen der anterioren cornealen Fläche berücksichtigt, während die posteriore Fläche bislang diagnostisch nicht herangezogen wurde. Die ABCD-Klassifikation nach Belin und Duncan (2016) ist an die AK-Klassifikation angelehnt und berücksichtigt als weitere Parameter zusätzlich zum anterioren Krümmungsradius (A) die posterioren cornealen Krümmungsradien (B) sowie die minimale corneale Dicke (C) und den korrigierten Fernvisus (CDVA, D). Diese Klassifikation besteht nunmehr aus insgesamt 5 Stadien (0-4) und spiegelt laut den Autoren die anatomischen Veränderungen beim Keratokonus besser wider als die AK-Klassifikation [28]. Die ABCD-Klassifikation wurde bereits in die OCULUS Pentacam® integriert und dient auch zur Feststellung der Progression [29].

1.3.4 Therapie

Bei der Therapie des Keratokonus wird zwischen kausalen Maßnahmen, die die Progression der Erkrankung beeinflussen, und solchen, die die visuelle Rehabilitation fördern, unterschieden. Alle therapeutischen Optionen sind hierbei abhängig vom jeweiligen Krankheitsstadium. Während ohne Progression keine kausalen Maßnahmen erforderlich sind, kommen bei progredientem Keratokonus Verfahren wie das UV-A-Riboflavin-Crosslinking und verschiedene Keratoplastik-Techniken zum Einsatz. Optionen zur Visusrehabilitation sind abhängig vom Stadium der Erkrankung. Bei frühen Stadien wird meist eine gute Sehschärfe durch Brillengläser erreicht. Bei moderaten und fortgeschrittenen Stadien kommen harte und

sklerale Kontaktlinsen zum Einsatz. Nur wenn Kontaktlinsen nicht vertragen werden oder bei weit fortgeschrittenen Stadien kommen chirurgische Ansätze wie eine Topographie- oder Wellenfront-geführte photorefraktive Keratektomie (PRK), Corneale Allogene Intrastromale Ringsegmente (CAIRS) oder die verschiedenen Keratoplastik-Techniken zum Zug.

UV-A-Riboflavin-Crosslinking (CXL)

Das UV-A-Riboflavin Crosslinking (CXL) ist ein Therapieverfahren für den Keratokonus, welches 1996 von Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Theo Seiler erstmals in die Augenheilkunde eingeführt wurde und mittlerweile einen hohen Stellenwert in der Behandlung, insbesondere der Progression der Erkrankung, einnimmt [30, 31]. Allgemein ist das Crosslinking ein in der Polymerindustrie seit längerem bekanntes und angewendetes Verfahren, das eingesetzt wird, um verschiedene Materialien zu härten [32]. Aber auch in der Medizin gibt es weitere Anwendungen, beispielsweise bei der Herstellung biologischer Herzklappen [33]. 1997 konnten Spoerl et al. an Schweineaugen zeigen, dass die Induktion von Crosslinks/Vernetzungen in cornealem Gewebe grundsätzlich möglich ist [30]. Die erste Studie an 22 Patienten wurde von Wollensak, Spoerl und Seiler an der TU Dresden durchgeführt und führte zur Entwicklung eines Standard-Behandlungsprotokolls, was nach dem Ort der Studie bis heute als „Dresden-Protokoll“ bekannt ist [34].

Es setzt sich aus nachfolgenden Schritten zusammen: Zuerst wird das Auge mit lokalanästhetischen Tropfen betäubt und anschließend das Epithel mechanisch entfernt. Als photochemischer Aktivator dient 0,1 % Riboflavin-5-Monophosphat, welches für 10 bis 30 Minuten vor und im weiteren Verlauf während der Behandlung auf die Hornhaut getropft wird. Die eigentliche Crosslinking-Prozedur besteht aus Bestrahlung mit UV-A-Strahlung für 30 min mit einer Energiedichte von $3 \text{ mW} / \text{cm}^2$ ($= 5,4 \text{ J} / \text{cm}^2$).

Die wichtigste Erkenntnis der prospektiven Studie mit einem durchschnittlichen Follow-up von $23,2 \pm 12,9$ Monaten war, dass die Progression des Keratokonus in allen untersuchten Augen gestoppt werden konnte, die Hornhaut also quasi „eingefroren“ wurde. 70 % der Patienten zeigten sogar eine Regression mit verbesserten Keratometriewerten um rund 2 dpt [34].

Das CXL führt zur biomechanischen Stabilisierung und Verfestigung der Hornhaut, was bereits in vorangegangenen Experimenten an Schweine- und Kaninchenhornhäuten gezeigt werden konnte [30, 35, 36]. Bezüglich des visuellen Outcomes bleibt die Sehschärfe bei den meisten Patienten konstant oder verbessert sich leicht um 1 - 2 Snellen-Linien. Bei Corneae mit maximalen Keratometriewerten von mehr als 58 dpt konnte kein Vorteil der Behandlung in Hinblick auf den unkorrigierten Visus (UCVA) und korrigierten Fernvisus (CDVA) nachgewiesen werden [37]. 2015 wurden die positiven Langzeiteffekte des CXL in einer 10-Jahres-Follow-up-Studie von der TU Dresden präsentiert, an 34 Augen von insgesamt 24 Patienten reduzierte sich der K_{max} -Wert von 61,5 auf 55,3 Dioptrien, der CDVA verbesserte sich ebenfalls signifikant um 0,14 logMAR. Zudem blieb die Endothelzellzahl stabil [38]. Hagem et al. untersuchten zudem in einer Langzeitstudie über 15 Jahre die Zahl der Keratoplastiken aufgrund von Keratokonus vor und nach der Einführung des CXL am Universitätskrankenhaus Oslo, Norwegen, in den Zeiträumen 2005 – 2006 und 2021 – 2022. Diese konnte im Vergleich signifikant von 55 auf 11 reduziert werden, da durch das CXL weniger Patienten eine Progredienz zu höheren Stadien erfahren, die eine Hornhauttransplantation erforderlich machen [39]. Ähnliche Ergebnisse zeigen Daten aus den

Niederlanden mit einem Rückgang von 25 % der Hornhauttransplantationen drei Jahre nach Einführung des CXL verglichen mit einem 3-Jahres-Zeitraum vor Einführung des CXL [40]. Weiterentwicklungen des Dresden-Protokolls sind u.a. das akzelerierte Crosslinking (A-CXL), bei denen die Prozedur durch die Anwendung höherer Energiedichten verkürzt wird (bspw. 9 – 12 mW / cm² für 9 – 10 min oder 30 mW / cm² für 3 min). Metaanalysen zu den akzelerierten Protokollen ergaben eine generell vergleichbare Effizienz und Sicherheit verglichen mit dem Dresden-Protokoll, jedoch schlechtere Outcomes hinsichtlich CDVA, Abflachung der Cornea [41, 42] und der Tiefe der Demarkationslinie. Zudem kann das CXL mittlerweile auch Topographie-geführt durchgeführt werden und somit höhere Energiedichten an den am stärksten betroffenen Stellen der Cornea appliziert werden (sog. Customized CXL) [43]. Seiler et al. konnten 2016 in einer prospektiven Studie an 40 Augen zeigen, dass innerhalb eines Jahres in der Customized-CXL-Gruppe mehr Augen eine Abflachung von > 2 dpt zeigten und der Regularisierungsindex höher war als in der Kontrollgruppe mit Standard CXL [44]. Zu diesem noch recht neuen Ansatz laufen derzeit zudem weitere multizentrische Studien (z.B. C-Cross Studie).

Technisch gesehen ist CXL ein einfach durchzuführendes Verfahren, welches neben dem Keratokonus für weitere Indikationen mit guten Ergebnissen bzgl. Keratometrie und Visus angewendet werden kann, wie bspw. corneale Ektasie nach refraktiver Chirurgie, was 2017 in einer multizentrischen Studie an 179 Patienten in den USA gezeigt werden konnte [45]. Für die pelluzide marginale Degeneration und infektiöse Keratitis liegen nur kleinere Beobachtungsstudien vor, sodass der endgültige Stellenwert hier noch nicht abschließend bewertet werden kann [46].

Keratoplastik

Die Keratoplastik (Hornhauttransplantation) ist einer der wichtigsten hornhautchirurgischen Eingriffe und kommt bei zahlreichen Indikationen zum Einsatz, zu denen auch der fortgeschrittene Keratokonus zählt.

Generell müssen bei der Keratoplastik verschiedene Techniken unterschieden werden. Bei der Therapie eines fortgeschrittenen Keratokonus kommen im Wesentlichen die sog. Perforierende Keratoplastik (PKP) und die Tiefe anteriore lamelläre Keratoplastik (Deep anterior lamellar keratoplasty, DALK) zum Einsatz. Über Jahrzehnte stellte die PKP den Goldstandard der chirurgischen Keratokonusbehandlung dar [47, 48], der Trend bewegt sich aber zunehmend in Richtung DALK, die mittlerweile 10 – 20 % aller Transplantationen mit Indikation Keratokonus ausmacht und sogar 30 %, wenn man Augen mit vorangegangenen Hydrops ausschließt [48, 49]. Beide Keratoplastiken werden bei fortgeschrittenem Keratokonus im Stadium der Narbenbildung angewendet, um diesen kausal zu behandeln, jedoch existieren in der Literatur deutliche Hinweise darauf, dass beide Techniken die Progression der Erkrankung in einem Teil der Fälle nicht ausreichend verhindern können, da trotz des zentralen cornealen Ersatzes Teile der erkrankten Cornea verbleiben und die Konusbildung im Empfänger bzw. am Interface weiter voranschreiten kann [48]. Ca. 10 % aller mit PKP behandelten Augen zeigen nach 20 Jahren Rezidive, davon erste morphologische Veränderungen bereits nach 10 Jahren [50].

Nichtsdestoweniger bleibt die Keratoplastik in fortgeschrittenen Stadien mit Narbenbildung, schlechtem präoperativen Visus und bei Kontraindikationen, sowie nicht befriedigenden

Ergebnissen nach CXL die einzige kausale Therapiemöglichkeit. Hierbei soll aber auch darauf hingewiesen werden, dass nach einer Keratoplastik die visuelle Rehabilitation ebenfalls nicht trivial ist. Diese erfolgt ebenfalls mittels Brillengläsern, formstabilen Kontaktlinsen, Topographie- oder Wellenfront-geführten Excimerlaserbehandlungen, astigmatischen Keratotomien oder einer allenfalls erneuten Keratoplastik [51].

Perforierende Keratoplastik (PKP)

Diese Technik ist vor allem bei einem stattgehabten Hydrops corneae, also einer Ruptur der Descemet-Membran angezeigt, da hier eine DALK nicht mehr durchführbar ist. Bei der perforierenden Keratoplastik wird die gesamte Cornea durch gesundes Spendergewebe ersetzt. Wichtige andere Indikation sind neben dem Keratokonus durchgreifende Vernarbungen der Hornhaut [3].

Ein Altersmatching von Spender und Empfänger wird zumeist angestrebt, ein HLA-Matching hat sich im klinischen Alltag als nicht vorteilhaft herausgestellt [52].

Die Operation wird meist in Vollnarkose durchgeführt. Bei der PKP werden in der Regel Transplantate mit ca. 7 – 8 mm Durchmesser verwendet, um das krankhafte zentrale Gewebe zu ersetzen, eine klare zentrale Optik zu erhalten und nicht zu viel Hornhautverkrümmung nach der Operation zu erhalten. Der Durchmesser sollte aber nicht zu groß gewählt werden, um das Risiko einer Immunreaktion durch ausreichenden Abstand vom Limbus andererseits zu minimieren [1].

Zunächst wird in der Regel mit einem mechanischen Punch die Spenderhornhaut ausgestanzt, wobei der Durchmesser meistens ein wenig größer gewählt ist als die vorgesehene Öffnung der Empfängerhornhaut [3]. Anschließend erfolgt die Exzision der Empfängerhornhaut mit einem mechanischen Trepan. In den letzten Jahren erfolgte die Exzision der Spender- wie auch der Empfängerhornhaut auch vermehrt mittels Excimer- und Femtosekundenlaser-Systemen. Anschließend wird die Spenderhornhaut entweder mittels Einzelknüpfnähten oder mittels fortlaufenden Nylonnähten in der Empfängerhornhaut fixiert, welche nach rund 1,5 Jahren entfernt werden können. Postoperativ ist eine Versorgung mit topischen Steroiden (z.B. Dexamethason) indiziert. Die wichtigste Komplikation der PKP stellen eine Immunreaktion oder ein primäres Transplantatversagen dar [3].

Tiefe anteriore lamelläre Keratoplastik (DALK)

Bei der DALK wird im Gegensatz zur PKP lediglich das Hornhautstroma des Empfängers entfernt. Die Descemet-Membran und das Endothel des Empfängers bleiben aber erhalten. Bei der Spendercornea werden analog Descemet-Membran und Endothel abpräpariert. Anwar und Teichmann präsentierten 2002 eine Dissektionsmethode, die sog. „Big-Bubble Technique“. Nach partieller Trepanation wird das anteriore Stromadrittel manuell abpräpariert und Luft oder eine Flüssigkeit über einen angelegten Stromatunnel injiziert, um die Descemet-Membran vom hinteren Stroma zu trennen. Mit einem Spatel werden die darüberliegenden Stromaschichten separiert und entfernt [53]. Alternativ gibt es auch die Technik mittels manueller Dissektion auf die Descemet-Membran nach Melles. In den letzten Jahren ist auch die Möglichkeit dazu gekommen, den Tunnel OCT-geführt mittels Femtosekundenlaser zu erstellen [54]. Die Fixierung des Transplantates erfolgt wie bei der PKP mit Einzelknüpf- oder

fortlaufenden Nylonnähten, die Nachbehandlung ist ebenfalls gleich, allerdings können weniger starke Glucocorticoide verwendet werden [3]. Weitere Vorteile der DALK gegenüber der PKP bestehen in einer geringeren Rate von Immunreaktionen, weniger Endothelzellverlust, längerer Transplantathaltbarkeit sowie weniger intra- und postoperativen Komplikationen wie Katarakt- und Glaukomentwicklung [47, 48]. Technisch ist sie jedoch anspruchsvoller durchzuführen [1, 3, 47]. Bei der DALK sind Immunreaktionen aufgrund des nicht transplantierten Endothels deutlich seltener, es kann dennoch zu epithelialer, subepithelialer und stromaler Immunreaktion kommen [3].

Bezüglich des visuellen Outcomes ist die DALK als gleichwertig zur PKP anzusehen; in Fällen in denen die DALK der PKP unterlegen ist, wird dies zumeist auf eine unvollständige Dissektion der Descemet-Membran vom Stroma zurückgeführt, bei derartigen DALKs sind die visuellen Ergebnisse generell schlechter [48].

1.3.5 Visuelle Rehabilitation

Brille / Kontaktlinsen

Die visuelle Rehabilitation stellt einen entscheidenden Faktor bei der Wiederherstellung bzw. Verbesserung der Lebensqualität von Keratokonus-Patienten dar. Es stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung, darunter der Einsatz von Brillen(gläsern), verschiedene Kontaktlinsentypen, der Einsatz von Implantaten und die photorefraktive Keratektomie (PRK), auf die in einem separaten Abschnitt näher eingegangen wird. Besonders in frühen Krankheitsstadien eignen sich Brillengläser, um einen regulären Astigmatismus auszugleichen, da die corneale Oberfläche noch nicht so unregelmäßig ist und der irreguläre Astigmatismus im Regelfall noch keine hohe Relevanz besitzt [55]. Sobald ein höherer irregulärer Astigmatismus auftritt, kommen Kontaktlinsen zum Einsatz. Diese sind in ihrem Korrekturpotenzial Brillengläsern überlegen und stellen in 90 % der Patienten das Verfahren der Wahl zur visuellen Rehabilitation dar [21], jedoch konnte eine multizentrische Studie mit 1209 Patienten zeigen, dass 64 % aller Patienten Brillengläser als Ergänzung zu Kontaktlinsen verwenden [56]. Bei den Kontaktlinsen wird zwischen weichen und formstabilen Linsen unterschieden. Weiche Kontaktlinsen bieten den Vorteil eines relativ hohen Tragekomforts und sind zudem preisgünstiger, sie sind jedoch nicht geeignet, um irregulären Astigmatismus wirkungsvoll zu korrigieren, sodass formstabile Kontaktlinsen erforderlich werden, um die corneale Oberfläche zu regularisieren. Formstabile Kontaktlinsen ersetzen die irreguläre Hornhautoberfläche durch eine neue, reguläre optische Oberfläche, die den Astigmatismus der Hornhautvorderfläche maskiert. Dennoch können geringe Abbildungsfehler höherer Ordnung bestehen bleiben (vornehmlich von der Rückfläche der Hornhaut), die weitere Maßnahmen erfordern [57].

Eine weitere Möglichkeit bei fortgeschrittenem Keratokonus besteht in der Anwendung skleraler Linsen, die in den 1980er Jahren erstmals eingeführt wurden. Diese überspannen die gesamte Cornea inklusive des Limbus und liegen dem Limbus bzw. der Konjunktiva auf, die über der Sklera liegt. Im Rahmen einer belgischen klinisch-prospektiven Studie, durchgeführt in den Jahren von 2010 – 2014, konnte gezeigt werden, dass sklerale Linsen bei sehr steilen Corneae mit Keratometriewerten ≥ 70 dpt signifikant den Anteil an erforderlichen Keratoplastiken im Zeitverlauf von 5 Jahren reduzieren [58]. Vermutet wird hier aber nicht ein

Stopp der Progression, sondern lediglich eine zufriedenstellende optische Rehabilitation bei stabiler Ektasie. Der Einsatz von Kontaktlinsen kann auch nach Keratoplastik erforderlich sein, da viele Patienten bezüglich des visuellen Outcomes hiervon profitieren. Eine Herausforderung bleibt die Kontaktlinsentoleranz nach chirurgischen Eingriffen wie DALK oder PKP. In der Regel wird diese durch die Operation zwar verbessert, jedoch verbleibt nach Keratoplastik ein Prozentsatz von ca. 13 % an Patienten, die weiterhin keine Kontaktlinsen tolerieren [59].

Eine einheitliche Definition für die Zeitdauer, ab der von Kontaktlinsentoleranz gesprochen werden kann, existiert bislang nicht [48].

PRK

Die PRK ist das älteste Verfahren der refraktiven Laserbehandlungen und wird vornehmlich zur Korrektur einer Myopie oder eines myopen Astigmatismus eingesetzt, bei denen eine LASIK (Laser-in-situ-Keratomileusis) oder KLEx (Keratorefraktive Lentikel Extraktion) kontraindiziert ist.

Das Hornhautepithel wird mechanisch mit einem Hornhautschaber, einer Bürste oder mittels Excimerlaser entfernt. Anschließend wird das freigelegte Stroma mit einem Excimerlaser abgetragen. Das Verfahren ist kostengünstig und wird seit langer Zeit angewendet [2]. Die PRK kann Refraktions-geführt aber auch Wellenfront-geführt oder Topographie-geführt zur Korrektur von Irregularitäten durchgeführt werden; zumeist wird in der Behandlung des Keratokonus die Topographie-gestützte PRK angewendet.

Die PRK galt bei vorliegendem Keratokonus über lange Zeit als kontraindiziert, es wurden aber Versuche unternommen, den bestehenden Astigmatismus zu verbessern [55].

Eine Studie an 119 Augen mit Keratokonus Grad 1 – 2 nach Amsler-Krumeich konnte zeigen, dass die Refraktions-geführte PRK refraktive Fehler reduzieren und die Sehschärfe verbessern kann. 98,3 % der Augen zeigten nach 5 Jahren keine Progression [60].

Neuere Studien kombinieren meist eine Wellenfront-geführte oder Topographie-geführte PRK mit einem CXL, um einerseits die Fehler höherer Ordnung und andererseits die Senkung der Progressionsrate weiter zu optimieren. Diese Kombinationstherapie wird zumeist gemäß dem Athen-Protokoll nach Kanellopoulos durchgeführt [61]. Mehrere Studien zeigten, dass sich gleich mehrere klinische Parameter, darunter UCVA; CDVA sowie $K_{\max}$, verbesserten und eine Stabilisierung des Konus in einem Follow-up von 12 – 24 Monaten auftrat [62]. Im 10-Jahres Verlauf bleiben die Befunde stabil und verbessern sich nach einem Jahr nur noch geringfügig [61]. Andere Studien zeigten aber auch eine vermehrte Narben- bzw. Hazebildung der Cornea bei kombinierten Eingriffen [63].

1.3.6 Intracorneale Implantate

Intracorneale Ringsegmente (ICRS)

Es gibt bereits seit einigen Jahrzehnten Ansätze durch intrastromale Implantate bzw. additive Techniken die Konusform beim Keratokonus abzuflachen und die Optik der Cornea zu verbessern. Die Grundüberlegung besteht darin, durch das Hinzufügen von Material oder Gewebe am Rand der Cornea eine Abflachung des Konus zu erzielen. Dies kann durch das Barraquer-Dicken-Gesetz modelliert werden, welches der Ophthalmologe José Barraquer 1966 aufstellte [2, 64].

Die erste Implantation eines 360° Ringsegments zur Korrektur von Myopie wurde 1978 von Reynolds durchgeführt; Colin führte Ringsegmente zur Behandlung des Keratokonus im Jahr 2000 ein [65, 66].

Alle derzeit auf dem Markt verfügbaren Implantate besitzen eine Ringstruktur und bestehen entweder aus einem vollständigen Ring oder aus Segmenten (ICRS). Sie werden aus Polymethylmethacrylat (PMMA) hergestellt und unterscheiden sich in Durchmesser, Bogenlänge, Querschnitt und Dicke [2].

Aktuell etablierte Implantate sind Intacs / Intacs SK, Keraring, Ferrara-Ring (Ferrara Ophthalmics) und Cornealring (Viontech Medical Optics).

Die Implantation erfolgt über corneale Tunnel, die entweder mechanisch oder mit einem Femtosekundenlaser erzeugt werden können [67], wobei man heutzutage aufgrund der erhöhten Präzision und Sicherheit mittels Laser mechanisch erstellte Tunnel verlassen hat. Mit dem Femtosekundenlaser können beide Schritte mit hoher Präzision durchgeführt werden, sodass keine oder allenfalls minimale mechanische Manipulationen am Auge vorgenommen werden müssen. Postoperativ befinden sich die Ringsegmente zwischen den Kollagenlamellen. Sowohl die mechanische als auch die lasergestützte Variante haben sich in mehreren Studien als optisch rehabilitierend erwiesen [65]. Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die Implantation von ICRS zu einer signifikanten cornealen Abflachung führt.

Bezüglich der Visusergebnisse ergab eine multizentrische retrospektive Studie an 611 Augen von Vega-Estrada et al. (2013), dass 6 Monate postoperativ 37,9 % der Patienten mit einem guten präoperativen Visus ($CDVA \geq 0,6$) um ≥ 1 Linie schärfer sehen konnten, während bei schlechtem präoperativem Visus ($CDVA \leq 0,4$) 82,8 % eine Verbesserung ≥ 1 Linie zeigten [68]. In einer kleineren Patientengruppe (42 Augen mit moderatem bis fortgeschrittenem Keratokonus) von Torquetti et al. (2021) erreichten 45,2 % nach Implantation eines 300° ICRS sogar eine Visusverbesserung um ≥ 2 Linien [69]. Auch die Toleranz gegenüber Kontaktlinsen ist postoperativ verbessert [65]. Allerdings sind ICRS nicht in der Lage die Progression des Keratokonus zu stoppen [70]. Auch können zur visuellen Rehabilitation weiterhin eine Brille oder Kontaktlinsen erforderlich sein [2].

Die wichtigste Komplikation der ICRS ist die Explantationsrate aufgrund von Dislokation, die in einer Studie von Kanellopoulos et al. aus dem Jahr 2006 bei 35 % lag, aber stark variabel ist [48, 71]. Weitere mögliche Komplikationen können in Form von Epitheldefekten, cornealer Hazebildung, sowie infektiöser Keratitis entlang des Tunnels mit cornealer Einschmelzung auftreten [65].

Die Hauptvorteile der ICRS gegenüber einer PKP bestehen zum einen darin, dass die Technik minimalinvasiv und zudem reversibel ist, sodass ggf. im weiteren Verlauf eine notwendige

Keratoplastik durchgeführt werden kann [48, 65]. Zum anderen gibt es kein Risiko einer Immunreaktion.

Corneale Allogene Intrastromale Ringsegmente (CAIRS)

Als Alternative zu den bereits erwähnten intracornealen Implantaten aus synthetischem Material haben Jacob et al. 2015 erstmals intrastromale Ringsegmente aus Spenderhornhäuten (CAIRS) implantiert und die Operationstechnik 2018 anhand von 20 Keratokonus-Patienten (24 Augen) im Stadium 1 – 4 publiziert [72]. Um CAIRS zu generieren, werden die Spenderhornhäute zunächst auf eine künstliche Vorderkammer aufgebracht. Nach Entfernung des Epithels wird mittels eines Spezialmessers mit zwei Klingen ein Ring aus dem Hornhautstroma ausgestanzt. Anschließend wird der Ring halbiert, um zwei Segmente zu erzeugen. Die Dicke und Länge der Segmente kann bei Bedarf entsprechend der Befunde an die Konusform, den refraktiven Fehler, Astigmatismuswerte etc. angepasst werden. Aufgrund der höheren Präzision ist man in letzter Zeit dazu übergegangen die Ringsegmente auch mittels Femtosekundenlaser zu erstellen. Die Ringsegmente können zudem mit CXL kombiniert und intraoperativ mit 0,06% Trypanblau markiert werden [73].

Unter topischer Anästhesie werden die CAIRS in einen mit einem Femtosekundenlaser erzeugten Kanal inseriert. In der 2018 durchgeführten Studie mit einem Follow-up von 6 – 18 Monaten konnte eine durchschnittliche Visusverbesserung von $2,79 \pm 2,65$ Linien beim UCVA und $1,29 \pm 1,33$ Linien beim CDVA erzielt werden. Während des Follow-ups gab es keine Progression des Keratokonus und keine Dislokation der Ringsegmente. Zudem traten keine unerwünschten Ereignisse auf. Gegenüber synthetischen Ringsegmenten besitzen CAIRS einige Vorteile bzgl. unerwünschter Ereignisse. Sie erlauben beispielsweise die Diffusion von Nährstoffen und Sauerstoff und zeigen bisher geringere Komplikationsraten. ICERS benötigen zudem eine minimale Hornhautdicke von ca. 400 µm; da die CAIRS weniger steif sind, könnten diese eventuell auch in dünnere Hornhäute implantiert werden. Zudem ist eine einfachere Anpassung der Implantationslänge, Präparatdicke und -länge möglich [73].

Bowmantransplantation

Die Bowmantransplantation ist ein relativ junges chirurgisches Verfahren, welches von van Dijk et al. 2014 vorgestellt wurde [74]. Ziel des Verfahrens ist es, die Cornea zu stabilisieren, die Oberfläche abzuflachen und letztendlich die Progression zu stoppen.

Die Spenderhornhaut wird im ersten Schritt über eine künstliche Vorderkammer gespannt, anschließend erfolgt die Entfernung des Epithels mechanisch.

Mit einem 360° umfassenden oberflächlichen Schnitt in der cornealen Peripherie wird die Bowman'sche Lamelle vorsichtig vom anterioren Stroma abpräpariert und ein Flap von 9 – 11 mm Durchmesser zugeschnitten. Durch Behandlung mit 70 % Ethanol werden alle restlichen Epithelzellen entfernt [74].

Die Implantation des mit Trypanblau gefärbten Flaps erfolgt in Lokalanästhesie in eine intrastromale Tasche, die analog zur Dissektionstechnik nach Melles bei der DALK oder mittels Femtosekundenlaser generiert wird. Das Bowmantransplantat wird vorsichtig in die Tasche eingesetzt, entfaltet und mit leichten Bewegungen mit einer Kanüle unter Verwendung von BSS-Lösung zentriert.

Bisher existiert neben van Dijks Initialstudie an 10 Patienten noch eine weitere Studie an 22 Patienten und einem Follow-up von 21 ± 7 Monaten aus denen sich die bisherigen Erkenntnisse zur Bowmantransplantation ableiten [48, 75].

Intra- und postoperativ zeigten sich keine Komplikationen, eine Immunreaktion ist unwahrscheinlich, da die Bowman'sche Lamelle azellulär ist und eine ausgeprägte Immunantwort daher nicht zu erwarten ist. Der CDVA verbesserte sich um 1 – 2 Snellen-Linien, außerdem sanken alle keratometrischen Werte, $K_{\max}$ durchschnittlich um 8 – 9 Dioptrien, im 2-jährigen Nachbeobachtungszeitraum blieben die Werte stabil. Bezüglich Progression stabilisierten sich 90 % der Augen ausgehend von präoperativen $K_{\max}$ Werten >70 dpt in allen Augen [74, 75].

Insgesamt ist die Datenlage zur Bowmantransplantation noch nicht ausreichend, da neben den zwei bereits erwähnten Studien nur kleinere Fallberichte existieren, sodass der zukünftige Stellenwert des Verfahrens noch nicht abschließend bewertet werden kann [76]. Langfristig könnte sie sich aber als weniger invasive und damit risikoärmere Alternative zur Keratoplastik besonders in dünnen Hornhäuten etablieren.

1.3.7 Lentikel

Augmentation / Stromaverstärkung durch humanes Hornhautgewebe

Die SMILE (Small Incision Lenticule Extraction) stellt ein modernes Operationsverfahren der refraktiven Chirurgie dar und wurde 2008 von Sekundo und Blum erstmals im Rahmen einer prospektiven Studie an 10 Patienten etabliert [77]. Erste Ideen für den Einsatz eines Femtosekundenlasers zur Korrektur von Refraktionsfehlern stammen jedoch bereits aus den 1990er Jahren, die ersten Eingriffe wurden an blinden oder amblyopen Augen im Jahre 2003 durchgeführt [78, 79].

Die SMILE ist eine Weiterentwicklung der FLE_x (**F**emtosekunden **L**entikel **E**xtraktion), die 2006 das erste Verfahren war, welches die Erzeugung eines linsenförmigen Stromagewebestücks (sog. refraktiven Lentikels) mit dem Femtosekundenlaser beinhaltete. Damals wurde der VisuMax Laser der Firma Carl Zeiss Meditec AG aus Jena erstmals eingesetzt, um 10 Augen zu operieren [79] und die Technik unter dem Namen SMILE etabliert. Da die Technik heutzutage auch mit anderen Femtosekundenlasern mit anderen Markennamen durchgeführt wird, wurden sämtliche Lentikelextraktionsverfahren unter dem Überbegriff KLE_x (**K**eratorefraktive **L**entikel **E**xtraktion) zusammengefasst [80].

Die SMILE-Prozedur ist ein Verfahren, welches von der Kommission für Refraktive Chirurgie für die Korrektur von Myopien in einem Bereich von -3 bis -8 dpt und für Astigmatismus bis 5 dpt empfohlen wird. In Einzelfällen können aber auch höhere Korrekturen von -10 dpt (Myopie) und 6 dpt (Astigmatismus) durchgeführt werden. Kontraindikationen bestehen in einer geringen Hornhautdicke <480 µm, chronisch progressiven Hornhauterkrankungen und einem Forme-Fruste-Keratokonius. Behandlungen unter dem 18. Lebensjahr werden nicht empfohlen, zudem sollte nach Lentikelentfernung das verbliebene Hornhautstroma (Reststromabett) eine minimale Dicke von >250 µm aufweisen [81].

Die Operation wird in Tropfanästhesie durchgeführt. Die Erzeugung des refraktiven Lentikels erfolgt von posterior nach anterior, zum Schluss wird eine Inzision generiert. Anschließend wird der Lentikel vorsichtig präpariert und entfernt, indem mit einem Spatel bestehende corneale Gewebsbrücken gelöst werden und der Lentikel mit einer Pinzette durch die Inzision hindurch herausgezogen wird [81].

Bei der KLE_x werden die Lentikel nach der Behandlung im Regelfall verworfen. Ganesh et al. beschrieben 2014 eine Technik, um KLE_x Lentikel für Reimplantationen bei anderen Patienten zu konservieren. Der Lentikel wird zunächst in einer mit Antibiotikum und Antimykotikum versetzten, gepufferten Salzlösung gewaschen und danach in einem aus Zellkulturmedium und Dimethylsulfoxid (DMSO) zusammengesetzten Lagermedium bei -196 °C in flüssigem Stickstoff konserviert [82].

Für die Reimplantation wird der Lentikel aufgetaut und präoperativ erneut in gepufferter Salzlösung gewaschen, um Reste des Lagermediums zu entfernen.

Im Rahmen mehrerer Beobachtungsstudien wurden KLE_x Lentikel in den letzten Jahren bei Patienten mit Keratokonius implantiert [83-85].

In einer prospektiven Fallserie mit 22 Patienten konnten Doroodgar et al. (2020) zeigen, dass eine intrastromale humane Lentikelimplantation zu einem Anstieg der Dicke und der Dichte der Cornea führt [85]. Außerdem konnte nach einem Jahr eine Verbesserung des Fernvisus bei klarer Hornhaut nachgewiesen werden. Mastropasqua et al. hatten bereits 2018 die

Entwicklung der Konusform nach Implantation untersucht und eine Abflachung beobachtet [83]. Neuere Studien konnten zudem auch eine erhöhte postoperative Steifigkeit in der *in vivo* Messung zeigen [86]. Der große Vorteil besteht darin, dass das angewendete Operationsverfahren im Vergleich zu Keratoplastiken minimalinvasiv ist [84]. Eine große Limitation besteht jedoch darin, dass es sich formal um eine Gewebetransplantation handelt, die entsprechende präoperative Testungen erfordert.

Augmentation / Stromaverstärkung durch xenogenes Hornhautgewebe

In Anbetracht des weit verbreiteten Mangels an humanem Spendergewebe für Keratoplastiken konzentrierten sich Forschungsansätze zunehmend auf die Verwendung von dezellularisierten xenogenen Geweben, um bei Keratektasien wie dem Keratokonus oder cornealen Einschnürungen eine Behandlungsalternative zur Verfügung zu haben, die auf möglichst unlimited verfügbares Gewebe zurückgreifen kann. Da die Cornea ein immunprivilegiertes Gewebe darstellt, bietet sie generell gute Voraussetzungen für die Akzeptanz xenogener Implantate [87]. In ersten Studien an Tiermodellen, u.a. nach der Implantation an Kaninchen, konnte u.a. gezeigt werden, dass mit gängigen Methoden dezellularisierte Schweinehornhäute 3 Monate nach Implantation gut biokompatibel sind und in das Empfängerstroma integriert werden [88]. Du et al. untersuchten 2011 mit 0,5 % und 1 % Natriumdodecylsulfat (SDS) dezellularisierte porcine Hornhäute in Hinblick auf die Effektivität der Antigendepletion und die biomechanischen Eigenschaften im Zugversuch. Mit 0,5 % SDS konnte eine vollständige Dezellularisierung erreicht werden und die Zugfestigkeit unterschied sich nicht signifikant von nativen Schweinehornhäuten [89]. 2023 konnten Rafat et al. ein dezellularisiertes Hydrogel-Hornhautimplantat aus dermaletem porzinem Typ-I-Kollagen mit einer Dicke von 440 μm entwickeln, das zur Stabilisierung einer doppelten chemischen und photochemischen Crosslinking-Prozedur unterzogen wurde (BPCDX). Die biomechanische Zugfestigkeit ähnelt der humanen Cornea. Das Implantat wurde anschließend 20 Patienten in zwei Gruppen (in Indien und dem Iran) mit fortgeschrittenem Keratokonus in eine minimalinvasiv generierte stromale Tasche eingesetzt. Nach einem 24-monatigen Beobachtungszeitraum zeigte sich eine Zunahme der cornealen Dicke von $209 \pm 18 \mu\text{m}$ (Indien) bzw. $285 \pm 99 \mu\text{m}$ (Iran), sowie eine Abnahme des K_{max} von $13,9 \pm 7,9 \text{ dpt}$ (Indien) und $11,2 \pm 8,9 \text{ dpt}$ (Iran). Es wurden zudem keine unerwünschten Ereignisse beobachtet [90]. Es konnte somit gezeigt werden, dass aus porzinem Kollagen hergestellte Implantate eine vielversprechende und sichere Alternative zu humanem Spendermaterial darstellen können und eine invasive Keratoplastik vermieden werden kann.

Lentikel aus xenogenem Gewebe (XENIA Lentikel)

Parallel zu den bereits beschriebenen Entwicklungen hat die Firma Gebauer Medizintechnik GmbH kürzlich einen CE-zertifizierten, MDR-konformen Lentikel entwickelt (Produktname: XENIA), der aus der anterioren Schweinecornea gewonnen wird. Aus patentrechtlichen Gründen können nicht alle Details des Produktionsprozesses in ihren Einzelheiten beschrieben werden.

Es werden ausschließlich Hornhäute von Schweinen eines zertifizierten Schlachtbetriebs verwendet. Anschließend erfolgt die Dezellularisierung z.B. mit SDS oder Enzymen (wie Lipase, Galactosidase etc.) des cornealen Gewebes vergleichbar dem Herstellungsprozess biologischer Herzklappen, um unerwünschte Epitope (v.a. N-Glycolylneuraminsäure (Neu5Gc)) und Galactose- α -1,3-Galactose (Alpha-Gal) zu eliminieren und Immunreaktionen nach Implantation zu minimieren [91]. Zur Stabilisierung erfolgt abschließend eine Crosslinking-Behandlung mit hoher Energieintensität.

Der Lentikel hat eine planare Geometrie, der Durchmesser kann zwischen 2,0 und 9,0 mm, die Dicke zwischen 50 und 600 μ m individuell variiert werden. In der vorliegenden Arbeit wurden einheitliche Lentikel mit den Ausmaßen 7,7 mm Durchmesser und 80 μ m Dicke verwendet.

Gelagert wird der XENIA Lentikel in einem Spezialmedium, welches die Firma Gebauer Medizintechnik GmbH selbst herstellt; die Haltbarkeit liegt bei ca. 3 Monaten. Die Lagerung sollte bei Temperaturen zwischen 0 – 25 °C erfolgen, Temperaturen >40 °C sollten vermieden werden, um die Kollagenstruktur nicht zu beschädigen.

Kontraindikationen für die Implantation sind eine vorangegangene PKP, Herpes simplex oder Herpes zoster Infektionen mit Augenbeteiligung, Glaukom, akute okuläre Pathologien wie Uveitis / Iritis oder Blepharitis, Allergien gegen Schweineproteine und - speziell bei der Indikation Keratokonus - corneale endotheliale Dysfunktion.

Ziel der Implantation soll die Stabilisierung und Verbesserung der topographischen Eigenschaften der Hornhaut sein, außerdem soll die Abhängigkeit von humanem Spendergewebe verringert werden [92].

Hinsichtlich der biomechanischen Eigenschaften konnten Wilson et al. 2022 mittels Elektronischer Specklemuster-Interferometrie zeigen, dass der Herstellungsprozess der XENIA Lentikel zu einer Steifigkeitszunahme von 127 % gegenüber nativem Gewebe führt [93]. Außerdem konnten El-Massry et al. in einer prospektiven Studie 2021 mit einem Follow-up von einem Jahr zeigen, dass sich Sehschärfe und Hornhautkrümmung nach Implantation in Keratokonus-Patienten signifikant verbesserten ohne unerwünschte Ereignisse zu verursachen [94].

2 Ziele der Arbeit

Angesichts des zunehmenden Mangels an Spenderhornhäuten für Transplantationseingriffe in der Augenheilkunde verschiebt sich der Fokus zunehmend auf die Verwendung alternativer und dabei insbesondere xenogener Gewebe, die optimalerweise unbegrenzt verfügbar und gut verträglich sein sollten. Erste Studien sowohl am Tiermodell als auch in kleineren humanen Kohorten konnten zeigen, dass dezellularisierte porzine Hornhautlentikel in Keratokonus-Patienten zu einer Verbesserung des Visus und der cornealen Topographie führen können und generell gut vom Empfänger akzeptiert werden. In ersten klinischen Studien an humanen KLEx Lentikeln konnte gezeigt werden, dass diese in der Regel gut verträglich sind und zu verbesserten klinischen Outcomes hinsichtlich cornealer Topographie und Visus in Keratokonus-Patienten führen [83, 85]. Wie aber vorgängig bereits beschrieben, handelt es sich bei diesen Lentikeln um humanes Material, sodass die Verfügbarkeit begrenzt ist. Zudem handelt es sich formal um eine Gewebetransplantation, sodass damit verbundene rechtliche Aspekte in der westlichen Welt die Anwendung dieses Verfahrens bislang einschränken.

Die Verwendung xenogener Lentikel bspw. aus Schweinehornhaut zur Augmentation humaner Hornhäute stellt in der Augenheilkunde bislang ein noch relativ neuartiges Verfahren dar. Insbesondere die biomechanischen Eigenschaften eines intrastromalen Implantates sind im Kontext einer breiteren klinischen Anwendung am Menschen von großer Bedeutung, da die Implantate einerseits unter den pathophysiologischen Konditionen von Keratektasien oder cornealen Einschmelzungen möglichst stabil und eine lange Überlebensdauer haben sollen, andererseits aber auch adaptionsfähig sein müssen, um die cornealen Strukturen nicht zu schädigen und Komplikationen wie beispielsweise Extrusionen oder Einschmelzungen zu vermeiden. Ziel dieser Promotionsarbeit war es, die von der Firma Gebauer Medizintechnik GmbH hergestellten, CE-zertifizierten und MDR-konformen Lentikel in einem ersten Schritt biomechanisch mit Hilfe von etablierten und einfach reproduzierbaren physikalischen und chemischen Messverfahren, nämlich der uniaxialen Spannungs-Dehnungs-Messung und enzymatischen Resistenztests näher zu charakterisieren und mit unbehandelten humanen und porzinen Kontrolllentikeln zu vergleichen. Hierdurch sollten erste Rückschlüsse darüber gezogen werden, ob insbesondere der im Herstellungsprozess enthaltene Versteifungsprozess zu verbesserter Stabilität und Widerstandsfähigkeit der Lentikel gegenüber Nativgewebe führt und zum anderen mit der Exposition gegenüber proteolytischen Enzymen ein annähernd pathologisches Milieu im Rahmen eines Keratokonus simuliert werden, dem ein Implantat in der klinischen Anwendung langfristig ausgesetzt wäre und optimalerweise widerstehen sollte [95, 96]. Das Verständnis der biomechanischen Eigenschaften dieser Lentikel könnte zukünftig zur besseren Planung von klinischen Studien beitragen, indem auf Basis der im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Daten individualisierte und an die Hornhaut der betroffenen Patienten angepasste Lentikel hergestellt werden könnten und perspektivisch weitere Indikationsgebiete erschlossen werden können.

- 3 Publierte Originalarbeit: Stephan Reiter, Joana Witt, Johannes Menzel-Severing, Gerd Geerling, Theo G. Seiler; Xenogenic Corneal Lenticules (XENIA) – Biomechanical Characterization and Enzymatic Resistance Analysis. Transl. Vis. Sci. Technol. 2025;14(12):34. <https://doi.org/10.1167/tvst.14.12.34>.**

Xenogenic Corneal Lenticules (XENIA) – Biomechanical Characterization and Enzymatic Resistance Analysis

Stephan Reiter¹, Joana Witt¹, Johannes Menzel-Severing¹, Gerd Geerling¹, and Theo G. Seiler^{1–3}

¹ Department of Ophthalmology, Medical Faculty and University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine-University Düsseldorf, Germany

² Institut für Refraktive und Ophthalmisch-Chirurgie (IROC), Zürich, Switzerland

³ Universitätsklinik für Augenheilkunde, Inselspital Bern, Bern, Switzerland

Correspondence: Theo G. Seiler, Klinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Düsseldorf, Moorenstr. 5, Düsseldorf 40225, Deutschland. e-mail: theo@seiler.tv

Received: January 19, 2025

Accepted: November 3, 2025

Published: December 31, 2025

Keywords: cornea; xenogenic; XENIA; implant; lenticule; enzymatic digestion; stress-strain measurements

Citation: Reiter S, Witt J, Menzel-Severing J, Geerling G, Seiler TG. Xenogenic corneal lenticules (XENIA) – biomechanical characterization and enzymatic resistance analysis. *Transl Vis Sci Technol.* 2025;14(12):34. <https://doi.org/10.1167/tvst.14.12.34>

Purpose: Decellularized and cross-linked porcine stromal tissue offers a new option for corneal tissue augmentation. The aim of this study is to characterize the biomechanical properties and enzymatic resistance of processed xenogenic porcine corneal lenticules (XENIA) and compare them to human/porcine specimens.

Methods: Groups of XENIA, human, and porcine corneal lenticules were formed. The dimensions of all lenticules were 7.7 mm in diameter and 80 µm in thickness. Conformité Européenne (CE)-approved XENIA-lenticules were provided by the manufacturer and human/porcine lenticules were generated using a femtosecond laser from the anterior stroma of cadaver eyes. All specimens were analyzed by uniaxial stress-strain measurements ($n = 6$ per group) and the resulting elastic moduli were compared. To evaluate the enzymatic resistance, all lenticules ($n = 5$ per group) were treated with collagenase solution ($c = 0.1$ U/mL) over a 20-day period and the lenticule size was analyzed by photo-documentation.

Results: XENIA-lenticules showed the highest elastic modulus, significantly higher than human and porcine lenticules. At 11% strain, the maximum difference occurred between XENIA and porcine lenticules, with XENIA-lenticules being 23.5-fold stiffer. In the human lenticule group, donor age correlated strongly with the elastic moduli of this group ($r_s = 0.941$, $P = 0.005$). XENIA-lenticules showed the greatest resistance against enzymatic digestion. On average, human samples were completely digested after 11 ± 4 hours, porcine samples after 91 ± 60 hours, whereas XENIA-lenticules only showed a digested area of $19.2\% \pm 13.7\%$ after 20 days.

Conclusions: XENIA-lenticules are substantially stiffer (3.9–9.6-fold stiffer than human tissue and 9.0–23.5-fold stiffer than porcine tissue across 5% to 17% strain) and resistant to enzymatic digestion compared to human/porcine probes.

Translational Relevance: XENIA-lenticules may help to overcome the lack of human corneal donor tissue and may offer new alternatives for corneal augmentation therapies, such as for corneal melting or keratoconus.

Introduction

The shortage of human donor tissue is considered a major problem in modern health care.¹ In the past, approaches with xenogenic material have been assessed to overcome this shortage, such as with cardiac or aortic valve replacements² or, recently, even with entire heart transplants.³ The lack of donor

tissue is also problematic in ophthalmology and one reason why therapies for corneal pathologies with progressive thinning do not include tissue augmentation as a standard clinical procedure yet. In particular, corneal stromal melting or advanced keratoconus are difficult and challenging conditions with only limited therapeutic options. Xenogenic corneal tissue may offer a solution for this shortage and in the past decade new xenogenic approaches have

been undertaken with the use of acellular porcine corneal stroma.^{4–6} Recently, Gebauer Medizinprodukte GmbH (Neuhausen, Germany) received CE- and MDR-approval for its xenogenic corneal implant (XENIA). It is obtained from the anterior section of a porcine cornea and then further processed. In a first step the corneas are decellularized to remove antigenic epitopes and DNA, followed by a washing process to remove Gal-complexes. Subsequently, the corneas are compressed and finally intensively cross-linked by actinic radiation.⁷

A recent study conducted by Wilson et al.⁷ focused on biomechanical properties of XENIA-lenticules using displacement speckle pattern interferometry (DSPI) to investigate the effect of the washing and stiffening process on the mechanical strength of XENIA-lenticules in comparison to non-processed porcine lenticules. Their findings indicate an increase in stiffness by 127%. However, a biomechanical comparison to human tissue, as well as the resistance to enzymatic digestion has not been investigated yet for XENIA-lenticules. Understanding the enzymatic resistance of such additive lenticules or ring segments is particularly crucial in conditions like corneal melting and progressive thinning, such as in keratoconus, in the context of which it is well known that enzyme levels of matrix metalloproteinases are elevated^{8,9} and contribute to disease progression.¹⁰ Because the XENIA samples are treated by an intense cross-linking procedure, increased resistance can be expected based on previous corneal cross-linking experiments.¹¹

Therefore this study aims to investigate the biomechanical properties and enzymatic resistance of XENIA-lenticules compared to non-processed human and porcine controls. The findings will provide valuable insights into the potential of xenogenic corneal lenticules for tissue augmentation, proposing new therapeutic approaches for conditions like corneal melting and advanced keratectasia.

Material and Methods

Corneal Tissue

Eleven processed and artificially stiffened porcine xenogenic lenticules (XENIA) were provided by the manufacturer in a storage medium composed of glycerol, water, and ethanol. The CE-marked and MDR-approved XENIA-lenticules were planar and circular-shaped discs of 7.7 mm in diameter and 80 µm in thickness (Fig. 1). They were harvested from the anterior part of the cornea including Bowman's layer. The pretreatment of the XENIA-lenticules included a decellularization process to remove antigenic epitopes

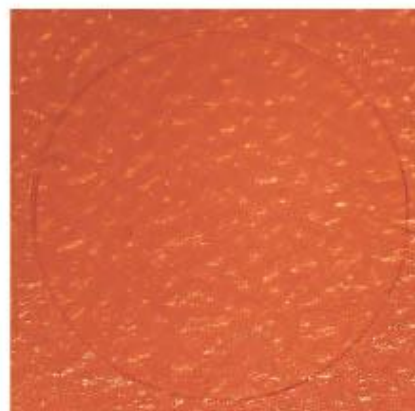


Figure 1. XENIA-lenticule before preparation.

and DNA to minimize the risk of immunological reactions, washing, compression, and an intensive cross-linking procedure with actinic radiation to increase their stiffness.^{7,12} At the time of the experiments, the stiffness was standardized for all CE-marked lenticules and could not be varied. For the second group, eleven human corneas (donor age: 78 ± 8 years, eight female and three male individuals) were allocated by the LIONS Eye Bank NRW (University Hospital Düsseldorf, Heinrich-Heine-University, Germany) after a storage time between seven to 28 days. Before the experiments, Descemet's membrane, including the endothelium, was peeled off and used for DMEK surgery without damaging the corneal stroma. Between the peeling and further processing, the corneas were kept for a maximum of 12 hours in organ culture medium containing 6% dextran to prevent corneal swelling according to the current organ culture storage solution guideline.¹³ The use of the donor tissue was approved by the local institutional review board and the relatives had agreed to the scientific use of the tissue. For the third group, eleven porcine corneas were obtained from a local abattoir. The eyes were transported in phosphate-buffered saline solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) and processed within 12 hours postmortem. Because all stress-strain-measurements were performed in an unphysiological biomechanical range, enzymatic resistance analysis was conducted on different samples to avoid bias from potential tissue destruction. All experiments were performed according to the Declaration of Helsinki.

Lenticule Creation From Non-Processed Human and Porcine Corneas

The lenticule creation was performed with an OCT-controlled femtosecond laser (LDV Z8; Ziemer Ophthalmic Systems AG, Port, Switzerland). After

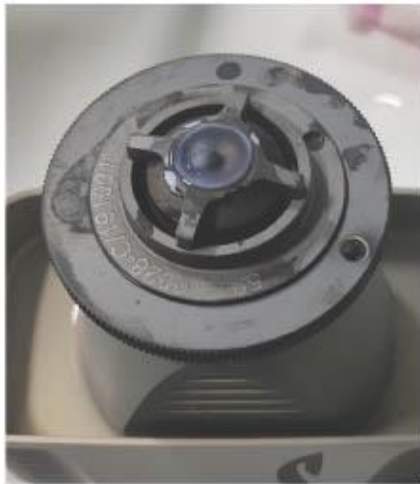


Figure 2. Human cornea mounted in an artificial anterior chamber, after the generation of the lenticule.

epithelial removal, human corneas were mounted in an artificial anterior chamber to generate the lenticule (Fig. 2), whereas for porcine lenticule creation, entire globes were used. All lenticules were dissected from the anterior corneal stroma using an applanating mode including Bowman's layer with a diameter of 7.7 mm and 80 μ m in thickness in a planar geometry to ensure equal biomechanical testing conditions. Although in recent years more evidence was found for the existence of Bowman's layer in porcine corneas, the biomechanical impact is still unclear, as well in human corneas.^{14–16} Fiber orientation was not taken into account as the provided XENIA-lenticules are not orientated. After the dissection, lenticules were placed in 2 mL test tubes containing organ culture medium with 6% dextran to maintain corneal hydration.

Preparation of Processed Porcine Lenticules (XENIA)

Before the experiments, human and porcine lenticules were rinsed with balanced salt solution (BSS) (Deltamedica, Reutlingen, Germany). The XENIA-lenticules were treated according to the manufacturer's guidelines by shaking at 500 rpm in BSS for three intervals of 15 minutes each. For better visualization, a drop of 0.4 % trypan-blue solution (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was applied to the surface of all lenticules.

Uniaxial Stress-Strain Measurement

For stress-strain measurements of the lenticules ($n = 6$ per group), central simple strips of 5 mm width according to similar experiments^{15,17,18}



Figure 3. Corneal lenticule strip between the clamps of the material tester.

were excised using two fixed, parallel-aligned razor blades. The measurements were performed using the material testing device ZwickiLine (Zwick Roell, Ulm, Germany) with the load cell XForceP (nominal force 10 N, resolution 0.04 N). Strips were clamped between two jaw pairs consisting of oxide ceramics with a clamp distance of 2.5 mm (Fig. 3) and slippage was checked. To ensure equal starting conditions, a prestress of 10 kPa was applied to all mounted specimens. The stress-strain cycle was performed at a velocity of 2 mm/min until a strain of 19%, similar to previous experiments.¹⁷ The data was recorded with testXpert III software (Zwick Roell) and exported to a Microsoft Excel file (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) including the absolute strain, the x-corrected strain, the force, and the distance. The elastic modulus (Young's modulus, $E = \frac{\sigma}{\epsilon}$) was calculated for each sample at 5%, 8%, 11%, 14%, and 17% with a strain window of $\pm 0.04\%$.

Digestion Resistance to Collagenase

A total of 15 lenticules ($n = 5$ per group) were placed into collagenase A solution (enzyme activity 0.223 U/mg, $c = 0.1$ U/mL in phosphate-buffered saline solution from *Clostridium histolyticum* (LOT 35830424; Roche, Basel, Switzerland), and the digestion process was observed over 20 days, similar to previous studies.¹¹ The resistance tests were performed

Timepoint [h]	Human		Porcine		XENIA	
0						
1						
4						
8					Not documented	Not documented
12	Completely digested	Completely digested				
23	Completely digested	Completely digested				
72	Completely digested	Completely digested		Completely digested		

Figure 4. Photo-documentation of the digestion process of human, porcine, and XENIA-lenticules at representative timepoints. Exemplary two lenticules of each group are shown here.

Table 1. Digestion Over Time of Human, Porcine, and XENIA-Lenticules

Timepoint	Human	Porcine	XENIA
1 (0 h)	100.0% ± 0.0%	100.0% ± 0.0%	100.0 ± 0.0%
2 (1 h)	94.4% ± 6.7%	92.0% ± 8.7%	101.0% ± 3.0%
3 (2 h)	76.0% ± 16.5%	92.2% ± 3.7%	98.0% ± 5.0%
4 (3 h)	63.2% ± 25.9%	86.8% ± 6.6%	93.4 ± 4.2%
5 (4 h)	59.6% ± 23.7%	85.5% ± 5.3%	94.0% ± 3.9%
6 (5 h)	54.6% ± 30.8%	83.2% ± 9.3%	Not measured
7 (6 h)	53.6% ± 30.0%	82.5% ± 7.1%	Not measured
8 (7 h)	46.0% ± 26.2%	81.2% ± 10.1%	Not measured
9 (8 h)	41.0% ± 23.2%	85.0% ± 7.7%	Not measured
10 (9 h)	46.2% ± 27.6%	81.5% ± 10.6%	Not measured
11 (10 h)	38.8% ± 22.6%	85.0% ± 12.5%	Not measured
12 (11 h)	7.0% ± 15.7%	90.7% ± 10.7%	Not measured
13 (12 h)	6.2% ± 13.9%	92.5% ± 13.8%	Not measured
14 (17 h)	0.0%	87.3% ± 17.5%	92.8% ± 7.8%
15 (20 h)	0.0%	81.7% ± 47.4%	90.6% ± 6.2%
16 (23 h)	0.0%	64.5% ± 51.2%	92.2% ± 5.4%
17 (3 d)	0.0%	16.2% ± 19.2%	91.2% ± 4.9%
18 (6 d)	0.0%	0.0%	87.8% ± 6.0%
19 (10 d)	0.0%	0.0%	84.2% ± 9.3%
20 (13 d)	0.0%	0.0%	83.8% ± 12.1%
21 (20 d)	0.0%	0.0%	80.8% ± 13.7%

The remaining area is displayed as mean percentage of the initial standardized area (mm²) at timepoint 1 (0 hours). The digestion process was stopped after 20 days, independently of remaining lenticule samples.

in 24-well plates with 500 μL of the prepared collagenase solution. To document the digestion process, photographs of all lenticules were taken with a digital camera on a white background. The well plate diameter of 15.22 mm served as reference scale and was always completely displayed in the photos. The collagenase solution was replaced every 24 hours.

After the first photo-documentation, the well plate, including the samples, was placed in an incubator at 37°C temperature. At each time point, the well plate was removed from the incubator and the photo-documentation was repeated (Fig. 4). Overall, 21 time points were documented (Table 1) over the course of 20 days, and the tests were stopped independently of the remaining lenticule size. The examined parameter was the lenticule area. The first photographed area of each lenticule was defined as 1 (100% remaining area) and the following areas were defined as the percentage of the remaining area. The photos were analyzed with ImageJ software (National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA). After the diameter of the wells displayed in the photos was set manually as a reference scale, the circumference of each lenticule was determined based on the visible rim of each sample. The resulting area size of each lenticule was calculated automatically from the given values by ImageJ.

Statistical Evaluation

All values are expressed as mean value $\pm$ standard deviation including 95% confidence interval (CI) wherever biologically appropriate. For stress-strain

measurements, elastic moduli were compared using two-way analysis of variance. Correlation between the donor age of the human samples and the elastic moduli for each strain was calculated with Spearman's rank correlation. For enzymatic digestion, the percentages of digested and non-digested lenticules were compared using χ^2 test. Furthermore, the percentage remaining areas per time point of each lenticule group were compared with a two-way analysis of variance. For multiple comparisons of elastic moduli, Bonferroni correction was used (Bonferroni-adjusted $\alpha = 0.003$). Statistical analysis was performed with the SPSS software Version 28.0.0.0 (IBM, Armonk, NY, USA). Significance was accepted for P values < 0.05 .

Results

The stress-strain extensimetry measurements of the corneal lenticules showed the typical nonlinear elastic behavior of biological tissues, as depicted in Figure 5. The elastic moduli of the three groups are listed in Table 2. XENIA processed porcine lenticules were significantly stiffer than human and porcine lenticules at all analyzed strains ($P < 0.001$). At 5% strain, the elastic modulus of XENIA-lenticules were nine times higher (95% CI, 4.4–17.9) than that of unprocessed porcine lenticules and seven times higher (95% CI, 2.1–22.2) compared to human lenticules. At 11% strain, this factor increased to 23.5-fold (95% CI, 14.7–37.6) compared to the unprocessed porcine group.

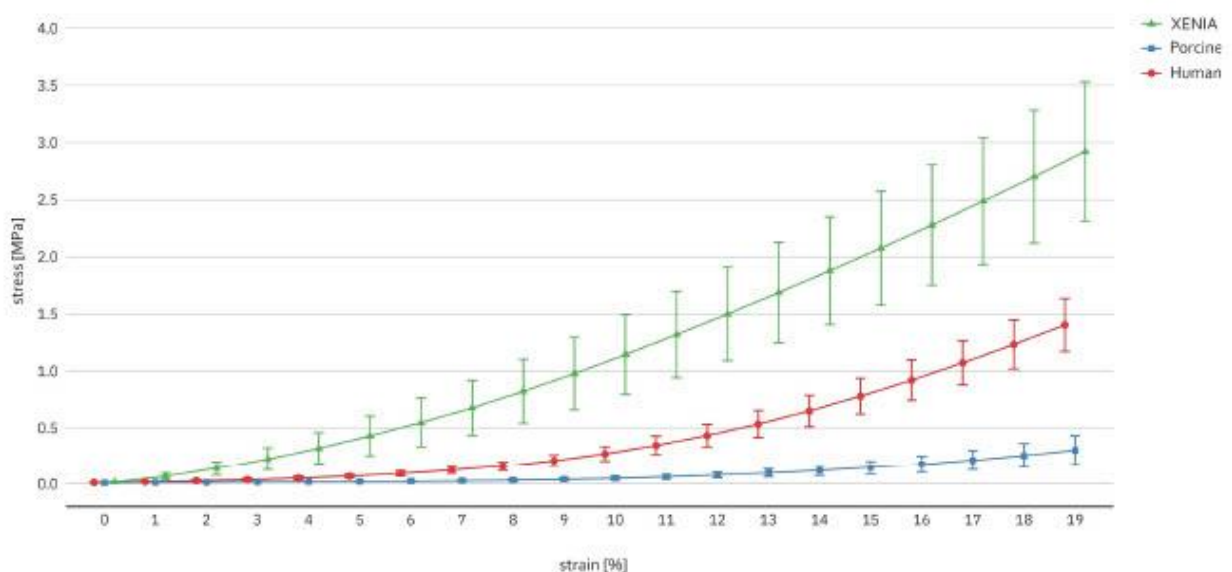


Figure 5. Stress-strain-curves of human, porcine and XENIA-lenticules up to 19% strain. Young's modulus was calculated as tangent modulus $E = \sigma/\epsilon$ within a strain window of $\pm 0.04\%$.

Table 2. Elastic Moduli (E, MPa) of Human, Porcine, and XENIA-Lenticules at 5%, 8%, 11%, 14%, and 17% Strain

Type of Lenticule	E at 5%	E at 8%	E at 11%	E at 14%	E at 17%
Human	0.36 ± 0.38 [0.06; 0.66]	0.52 ± 0.34 [0.25; 0.79]	0.90 ± 0.36 [0.61; 1.19]	1.62 ± 0.45 [1.26; 1.98]	2.76 ± 0.63 [2.26; 3.26]
Porcine	0.28 ± 0.04 [0.25; 0.31]	0.26 ± 0.06 [0.21; 0.31]	0.30 ± 0.08 [0.24; 0.36]	0.46 ± 0.11 [0.37; 0.55]	0.71 ± 0.18 [0.57; 0.85]
XENIA	2.48 ± 1.62 [1.18; 3.78]	4.98 ± 2.61 [2.89; 7.07]	7.05 ± 2.98 [4.67; 9.43]	8.97 ± 3.13 [6.47; 11.47]	10.64 ± 3.13 [8.14; 13.14]

The elastic modulus was calculated as $E = \sigma/\epsilon$ within a strain window of $\pm 0.04\%$. 95% confidence interval in brackets.

Surprisingly, human and porcine lenticules showed no significant difference at 5% and 8% strain ($P = 0.595$ and $P = 0.1$) but at 11%, 14%, and 17%, when the elastic modulus of the human corneas was significantly higher (Table 2). For the six human specimens, there was a significant positive correlation between the donor age of the human samples and the elastic moduli ($r_s = 0.941$, $P = 0.005$) at all examined strains.

To evaluate digestion of the lenticules over time, the percentages of digested areas of lenticules were compared at each time point (Table 1). Figure 6 shows that all groups experienced an area reduction over time, however, the digestion process was substantially faster in the human and non-processed porcine group. In the XENIA group, the average area reduction after 20 days was only 19.2% (95% CI, 7.2–31.2), whereas similar values were observed already after two hours in the human group (24.0% reduction [95% CI, –44.5 to –3.5]) and after seven hours in the porcine group (18.8% reduction [95% CI, –31.4 to –6.3]). The average time for the complete digestion was 11.00 ± 4.24 (95% CI, 7.28–14.72) hours in the human group and 91.17 ± 60.27 (95% CI, 42.56–139.78) hours in the unprocessed porcine group, showing a significant difference ($P = 0.012$), whereas none of the XENIA samples showed complete digestion within the 20-day observation period ($P < 0.001$). Bonferroni-adjusted comparisons of all three groups showed significant differences between the XENIA and human group as early as after two hours ($P = 0.011$), whereas a significant difference between the XENIA and porcine group was only observed after three days of digestion ($P < 0.001$). Comparing human and porcine samples, a significant difference occurred after seven hours, with 46.0% (95% CI, 23.0; 68.9) remaining area in the human group versus 81.2% (95% CI, 72.4–90.1) in the porcine group ($P = 0.047$).

Discussion

The main findings of this study are (1) that XENIA-lenticules are significantly stiffer and (2) have a significantly higher resistance to enzymatic digestion compared to human and non-processed porcine lenticules. To our knowledge, this is the first study assessing the enzymatic resistance of XENIA-lenticules and testing their biomechanical properties using stress-strain extensimetry.

The stress-strain measurements yielded typical nonlinear elastic stress-strain curves for all corneal lenticules comparable to previous studies.^{18–20} In a recent study, Wilson et al.⁷ investigated the changes

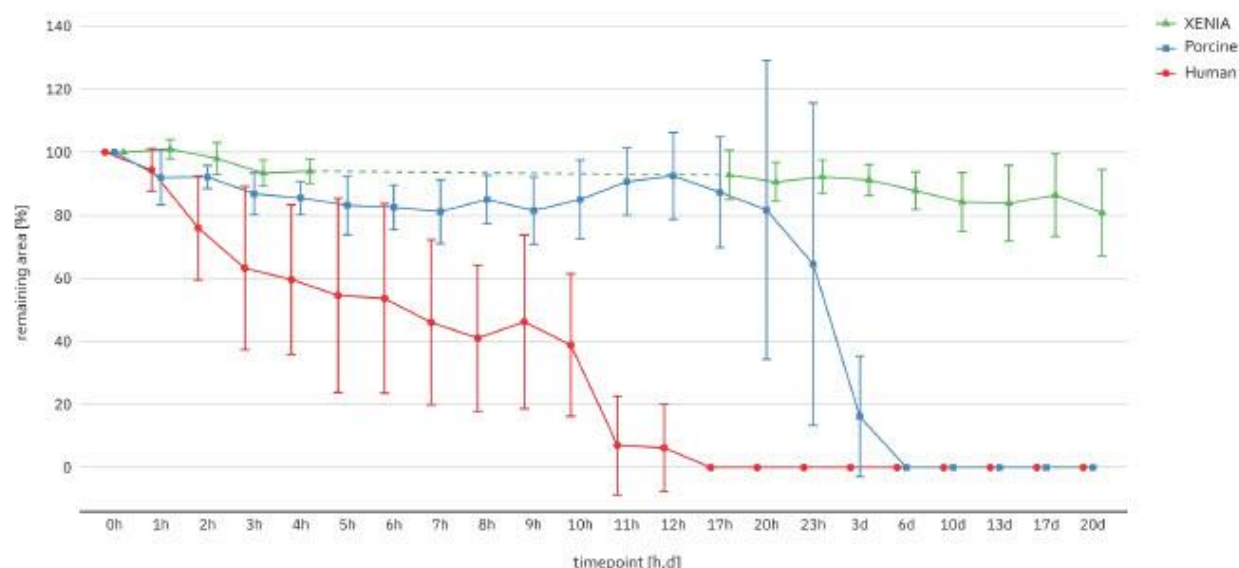


Figure 6. Enzymatic digestion of human, porcine and XENIA-lenticules over time up to 20 days. The remaining area of each timepoint is defined as percentage of the initial area at timepoint 0 h (1 = 100%). Enzymatic solution was replenished each 24 hours to maintain stable digestion activity. The *dashed line* indicates timepoints/intervals which were not measured. After 20 days the digestion process was stopped independently of not fully degraded samples.

in biomechanical properties of XENIA-lenticules in comparison to virgin porcine lenticules using DSPI. An increased stiffness of 2.3-fold was reported for the XENIA-lenticules. We could show that at strains up to 17%, XENIA-lenticules have an increase in stiffness between four- to ninefold compared to human lenticules and nine- to 23-fold compared to untreated porcine lenticules. We interpret the difference in the increase of stiffness, found in this study compared to results by Wilson et al.⁷ as caused by the different acquisition techniques (DSPI vs. extensimetry)—although we acknowledge the direct comparability of these testing methods is somehow limited—and notably the different strain ranges in which the experiments were conducted. It is remarkable, that the specific processing of virgin porcine corneas to XENIA-lenticules provides such a substantial increase in cornea stiffness, which is an order of magnitude higher than what is known from standard UV-riboflavin CXL.¹⁷ However, this could be kind of expected by the design of the lenticules because the cross-linking procedure is far more intense than regular CXL and the lenticules are additionally compressed. In a side analysis, we found a positive correlation between the donor age of the human corneas and the elastic modulus, also consistent with the published literature showing the effect of age-dependent glycation-mediated natural cross-linking.²¹

Enzymatic activity plays a key role in the pathogenesis of corneal melting as well as in keratoconus, leading to corneal thinning and disease progression.^{22,23} Therefore requirements on corneal stromal implants should comprise a sufficient stability against proteolytic enzymes. Our results show that the resistance of the XENIA-lenticules was significantly higher than in the control groups. We anticipate this as a consequence of the strong cross-linking performed by actinic radiation during the generation of the XENIA-lenticules. To our knowledge, there are no studies investigating enzymatic digestion of XENIA-lenticules or other corneal lenticules, as only full-thickness corneas were evaluated. In 2021, Donovan et al. investigated the enzymatic digestion of full-thickness human corneas, treated with the chemical cross-linker Genipin versus human controls. Their results showed that untreated corneal buttons of 2 mm in diameter were completely digested by 1% collagenase solution within four hours, whereas the Genipin-treated samples needed seven hours²⁴ close to the digestion time of human corneas of 11 hours in the present study. Similar results were found by Lammer and coworkers²⁵ for human samples. We assume that the difference in digestion time arises from the different dimensions of the tested specimen and the different collagenase solution concentration. Regarding porcine lenticules, Spoerl et al.¹¹ examined 8 mm porcine corneal buttons, which were either untreated or cross-linked with UV-riboflavin using different energy

intensities and exposed to 0.1% collagenase solution. The untreated controls were completely digested within six days, which is in agreement to the four days found in this study for the thinner lenticules. Their findings also revealed an effect of UV-riboflavin cross-linking on the cornea against enzymatic digestion as all cross-linked control groups needed significantly longer to be fully digested. Although XENIA-lenticules are cross-linked in a different manner, the even higher increased resistance of the lenticules compared to the control groups is impressive with an order of magnitude more and similar to magnitude of the stiffening effect.

Focusing on a potential clinical application of XENIA-lenticules, there are currently only two studies^{12,26} that investigated the implantation of XENIA-lenticules in moderate to severe keratoconus. El-Massry et al.¹² reported seven cases after XENIA-lenticule implantation, in which all eyes tolerated the lenticule well without any immunological reaction after one year. They also reported corneal curvature regularization in absence of adverse events. However, visual acuity improvements were limited to a maximum of 20/50 (except one eye that achieved 20/30) and a potential visual acuity limitation because of reduced light scattering or transmission, evaluated by rigid contact lens visual acuity testing, were not performed. Similar results were found by Deshmukh et al.²⁶ who implanted XENIA-lenticules in nine young patients that lead to an improvement of UDVA from 1.43 ± 0.3 to 0.78 ± 0.17 logMAR and CDVA from 0.89 ± 0.13 to 0.45 ± 0.03 logMAR after one year. In contrast to El Massry et al.,¹² they reported two eyes with a stromal melt 3 months postoperatively and the lenticules needed to be explanted. Also a recent case report by Berger et al.²⁷ describes a severe ulcerative keratitis eight months after XENIA-lenticule implantation. The authors suspected a reduced diffusion of glucose through the XENIA-lenticule with consecutive malnutrition of the overlying host cornea leading to the central ulceration.²⁷ Based on the substantial increased stiffness and resistance to enzymatic digestion found in this study, other potential clinical applications for XENIA-lenticules, although with different dimensions, are corneal ulcers with stromal melting or corneal augmentation with XENIA-rings segments (e.g., in keratoconus or pellucid marginal degeneration) similar to the approach of corneal allogenic intrastromal ring segments.²⁸

Other studies^{5,29} investigated the used of non-cross-linked acellular porcine corneal stroma for therapeutic lamellar keratoplasty with promising results regarding immunological reactions, visual improvement and adverse events. Recently, an artificial cornea stroma construct imitation created from porcine collagen and

processed by chemical cross-linking yielded remarkable visual and graft survival results for lamellar stromal augmentation in keratoconus corneas.³⁰ In contrast to XENIA-lenticules, the investigated corneal implant showed three- to fivefold weaker biomechanical properties and at least twice less resistance to enzymatic digestion than human specimen.

Based on our results, published literature and the CE-mark and MDR-approval, XENIA-lenticules may offer a future treatment option in corneal melting or progressed keratectasia. One concern that arises from the study is the biomechanical interaction at the interface of the XENIA-lenticule and the recipient cornea due to the high difference in stiffness similar to findings from intracorneal ring segments. In intracorneal ring segments, biomechanical stresses on the stroma or alterations in the diffusion of metabolites to the stroma overlying the PMMA segment has been described as potential sources of complications.³¹ In addition, before clinical routine implantation in humans, the optimal dimensions and shape of the XENIA-tissue have to be further adjusted to the individual clinical situation.

Concerning limitations of our study, we acknowledge that we applied different protocols for the pretesting preparation to the XENIA-lenticules compared to human and porcine samples in accordance with the manufacturer's guidelines, including prolonged shaking in BSS. However, because the difference in biomechanical properties between XENIA and the other two lenticule groups is very distinctive, we don't expect a major influence of the preparation method on the principal results. The width-to-gauge length of 5 mm/2.5 mm is different from established protocols, because we applied a prestress of 10 kPa for all lenticules to ensure comparability of all samples. We did not perform any preconditioning cycles. With reference to the enzymatic digestion analysis rim-based area measurement in fact does not take into account internal digestion, so alternative approaches like drying, followed by weighing of residual tissue need to be considered as alternatives as performed by O'Brart et al.³² and Aldahlawi et al.³³ However, in the mentioned experiments, dry weight measurements were only performed in a small subset of samples after 10 to 13 days which was not feasible for us due to the very limited availability of XENIA samples.

In summary our results indicate that XENIA-lenticules have several advantages compared to porcine and human non-cross-linked control lenticules with respect to biomechanics and resistance against enzymatic digestion under the in vitro conditions tested here. Furthermore, these xenogenic lenticules require no special storage conditions with almost unlimited

availability, which offer an approach to overcome the shortage of human graft tissue. However, further experimental and clinical research is needed to evaluate results and investigate potential indications for XENIA-implantations (e.g., deep corneal ulcers and corneal melting).

Acknowledgments

The authors thank Eberhard Nahr and Peter Klopotek, (both Gebauer Medizinprodukte GmbH) for the support during the study and the company Gebauer Medizinprodukte GmbH for the allocation of the XENIA samples. In addition, we thank the LIONS Eye Bank NRW (Universitätsklinikum Düsseldorf, Heinrich-Heine-University, Germany) for the allocation of the human tissue samples. We also thank the German Ophthalmological Society (DOG) for awarding the doctorate scholarship for this project.

Supported by Gebauer Medizinprodukte GmbH (Neuhausen, Germany). Reiter received a doctorate scholarship from the German Ophthalmological Society (DOG).

Disclosure: S. Reiter, None; J. Witt, None; J. Menzel-Severing, None; G. Geerling, None; T.G. Seiler, None

References

- Weiss J, Elmer A, Mahillo B, et al. Council of Europe European Committee on Organ Transplantation (CD-P-TO). Evolution of deceased organ donation activity versus efficiency over a 15-year period: an international comparison. *Transplantation*. 2018;102:1768–1778.
- Binet JP, Carpentier A, Langlois J, Duran C, Colvez P. Implantation of heterogenic valves in the treatment of aortic cardiopathies. *C R Acad Hebd Seances Acad Sci D*. 1965;261:5733–5734.
- Griffith BP, Goerlich CE, Singh AK, et al. Genetically modified porcine-to-human cardiac xenotransplantation. *N Engl J Med*. 2022;387:35–44.
- Li Q, Wang H, Dai Z, Cao Y, Jin C. Preparation and biomechanical properties of an acellular porcine corneal stroma. *Cornea*. 2017;36:1343–1351.
- Li S, Deng Y, Tian B, et al. Healing characteristics of acellular porcine corneal stroma following therapeutic keratoplasty. *Xenotransplantation*. 2020;27(2):e12566.
- Yoon CH, Choi HJ, Kim MK. Corneal xenotransplantation: Where are we standing? *Prog Retin Eye Res*. 2021;80:100876.
- Wilson A, Jones J, Marshall J. Biomechanical evaluation of decellularized and cross-linked corneal implants manufactured from porcine corneas as a treatment option for advanced keratoconus. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022;10:862969.
- di Martino E, Ali M, Inglehearn CF. Matrix metalloproteinases in keratoconus - Too much of a good thing? *Exp Eye Res*. 2019;182:137–143.
- Shetty R, Ghosh A, Lim RR, et al. Elevated expression of matrix metalloproteinase-9 and inflammatory cytokines in keratoconus patients is inhibited by cyclosporine A. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2015;56:738–750.
- Nichani PAH, Solomon B, Trinh T, et al. Investigating the role of inflammation in keratoconus: a retrospective analysis of 551 eyes. *Eur J Ophthalmol*. 2023;33:35–43.
- Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of cross-linked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res*. 2004;29:35–40.
- El-Massry A, Ibrahim O, Abdalla M, Osman I, Mahmoud S. Safety and indicative effectiveness of porcine corneal lenticular implants in patients with advanced keratoconus and post lasik ectasia: a retrospective clinical study. *Clin Ophthalmol*. 2021;15:3165–3171.
- Armitage WJ. Preservation of human cornea. *Transfus Med Hemother*. 2011;38:143–147.
- Hammond GM, Young RD, Muir DD, Quantock AJ. The microanatomy of Bowman's layer in the cornea of the pig: changes in collagen fibril architecture at the corneoscleral limbus. *Eur J Anat*. 2020;24:399–406.
- Seiler T, Matallana M, Sendler S, Bende T. Does Bowman's layer determine the biomechanical properties of the cornea? *Refract Corneal Surg*. 1992;8:139–142.
- Torres-Netto EA, Hafezi F, Spuru B, et al. Contribution of Bowman layer to corneal biomechanics. *J Cataract Refract Surg*. 2021;47:927–932.
- Seiler TG, Fischinger I, Senft T, Schmidinger G, Seiler T. Intrastromal application of riboflavin for corneal cross-linking. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55:4261–4265.
- Elsheikh A, Alhasso D, Rama P. Biomechanical properties of human and porcine corneas. *Exp Eye Res*. 2008;86:783–790.
- Zeng Y, Yang J, Huang K, Lee Z, Lee X. A comparison of biomechanical properties between human and porcine cornea. *J Biomech*. 2001;34:533–537.

20. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29:1780–1785.
21. Knox Cartwright NE, Tyrer JR, Marshall J. Age-related differences in the elasticity of the human cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:4324–4329.
22. Zhou L, Sawaguchi S, Twining SS, Sugar J, Feder RS, Yue BY. Expression of degradative enzymes and protease inhibitors in corneas with keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39:1117–1124.
23. Abalain JH, Dossou H, Colin J, Floch HH. Levels of collagen degradation products (telopeptides) in the tear film of patients with keratoconus. *Cornea*. 2000;19:474–476.
24. Donovan C, Koudouna E, Margo CE, Avila MY, Espana EM. Genipin delays corneal stromal enzymatic digestion. *Transl Vis Sci Technol*. 2021;10(9):25.
25. Lammer J, Laggner M, Pircher N, Fischinger I, Hofmann C, Schmidinger G. Endothelial safety and efficacy of ex vivo collagen cross-linking of human corneal transplants. *Am J Ophthalmol*. 2020;214:127–133.
26. Deshmukh R, Mohan RM, Kuniyil VM, Vaddavalli PK. Porcine Collagen Implants in Advanced Keratoconus: Outcomes at 1 Year. *J Refract Surg*. 2025;41(3):e272–e279.
27. Berger T, Schlötzer-Schrehardt U, Flockerzi F, Daas L, Flockerzi E, Seitz B. Severe ulcerative keratopathy following implantation of an acellular porcine corneal stromal lenticule in a patient with keratoconus. *Cont Lens Anterior Eye*. 2024;47(3):102145.
28. Jacob S, Patel SR, Agarwal A, Ramalingam A, Saijmol AI, Raj JM. Corneal allogenic intrastromal ring segments (CAIRS) combined with corneal cross-linking for keratoconus. *J Refract Surg*. 2018;34:296–303.
29. Shi W, Zhou Q, Gao H, et al. Protectively decellularized porcine cornea versus human donor cornea for Lamellar transplantation. *Adv Funct Mater*. 2019;29:190249.
30. Rafat M, Jabbarvand M, Sharma N, et al. Bioengineered corneal tissue for minimally invasive vision restoration in advanced keratoconus in two clinical cohorts. *Nat Biotechnol*. 2023;41:70–81.
31. Oatts JT, Savar L, Hwang DG. Late extrusion of intrastromal corneal ring segments: a report of two cases. *Am J Ophthalmol Case Rep*. 2017;8:67–70.
32. O'Brart NAJ, O'Brart DPS, Aldahlawi NH, Hayes S, Meek KM. An investigation of the effects of riboflavin concentration on the efficacy of corneal cross-linking using an enzymatic resistance model in porcine corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59:1058–1065.
33. Aldahlawi NH, Hayes S, O'Brart DP, Akhbanbetova A, Littlechild SL, Meek KM. Enzymatic resistance of corneas cross-linked using riboflavin in conjunction with low energy, high energy, and pulsed UVA irradiation modes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2016;57:1547–1552.

4 Diskussion und Schlussfolgerungen

Die Entwicklung neuer operativer Therapieverfahren für den fortgeschrittenen Keratokonus und corneale Einschmelzungen wird angesichts des Mangels an humanem Spendergewebe auch zukünftig von großer Bedeutung sein. Zahlen aus dem Jahr 2012 zeigten, dass etwa 53 % der Weltbevölkerung keinen Zugang zu Hornhauttransplantationen hatten und 12,7 Mio. Menschen auf eine Spenderhornhaut warteten [97]. Insbesondere die Verwendung praktisch uneingeschränkt verfügbarer xenogener Gewebe zur Augmentation dürfte daher an Bedeutung gewinnen. Dies zeigt sich an den bereits erwähnten Studien, Hornhautgewebeersatz aus dezellularisierter Schweinecornea bzw. aus Schweinekollagen zu synthetisieren und bei Patienten mit Keratokonus zu implantieren. Ein weiterer Vorteil liegt in der Reversibilität des Verfahrens - der Lentikel kann jederzeit unkompliziert entfernt werden, falls keine klinische Verbesserung eintritt - und auch eine Keratoplastik wie eine DALK ist weiterhin möglich.

In der vorliegenden Untersuchung konnte gezeigt werden, dass xenogene, versteifte Lentikel bezüglich der Zugfestigkeit und der Resistenz gegenüber proteolytischen Enzymen nativen Kontrolllentikeln aus humanem und porzinem Gewebe deutlich überlegen sind. Hierbei zeigten die Lentikel im uniaxialen Zugversuch die typischen Spannungs-Dehnungs-Kurven eines nicht-linearen elastischen Materials. Die Elastizitätsmodule waren bei allen untersuchten Dehnungswerten signifikant höher als diejenigen der Kontrolllentikel. Es konnte zudem eine Korrelation des Alters der Spenderhornhäute mit der Steifigkeit gezeigt werden, was in Einklang mit bisherigen Studien steht. Spannungs-Dehnungs-Messungen stellen hierbei ein einfach durchführbares *ex vivo*-Messverfahren für die Steifigkeit eines Gewebes dar, zu dessen Anwendung es in der Literatur zahlreiche Referenzen gibt. Hoeltzel et al. nutzten 1992 Spannungs-Dehnungs-Messungen, um die relativen Differenzen im biomechanischen Verhalten von Rinder-, Kaninchen- und humanen Hornhäuten zu messen [98].

In einer 2022 durchgeführten Studie an XENIA Lentikeln konnten bereits Wilson et al. mittels einer anderen Methode, der Elektronischen Specklemuster-Interferometrie (DSPI), zeigen, dass die Steifigkeit von XENIA Lentikeln durch den Herstellungsprozess um 127 % zunimmt. Bei dieser Methode wird das Untersuchungsmaterial mit monochromatischem, kohärentem Licht bestrahlt. Durch die Streuung und Reflexion entsteht ein Specklemuster, das durch eine Kamera aufgezeichnet wird und mit einer Referenzwelle überlagert wird. Wilson et al. haben die untersuchten Lentikel einer pulsartigen Druckbelastung über zwanzig Zyklen ausgesetzt. Aus der individuellen Phasenverschiebung durch diese biomechanische Belastung, die mit einer Änderung des Interferenzmusters einhergeht, können in einem weiteren Schritt Dehnungswerte und eine effektive Spannung abgeleitet werden, aus denen schlussendlich der Elastizitätsmodul berechnet werden kann [93]. Eine Stärke dieser Methode ist, dass sie eine hohe räumliche Auflösung der Steifigkeit über verschiedene Areale der Lentikelfläche liefert, zudem können die physiologischen biomechanischen Verhältnisse am Auge besser modelliert werden als mit der in dieser Arbeit gewählten uniaxialen Spannungs-Dehnungs-Messung. Nachteilig sind jedoch die (apparative) Komplexität sowie fehlende Standardisierung und Vergleichbarkeit mit anderen Studien aufgrund mangelnder Datenbasis. Hierin liegt eine Stärke der uniaxialen Spannungs-Dehnungs-Messung begründet, die zum einen technisch wesentlich einfacher durchführbar ist und zum anderen durch die breite

Datengrundlage die Vergleichbarkeit mit Vorarbeiten deutlich vereinfacht wird [93]. Mit dieser Messmethode kann außerdem durch die simultane Aufzeichnung von Dehnung und korrespondierender Spannung der Elastizitätsmodul direkt berechnet werden.

In der Studie unserer Arbeitsgruppe lag der Faktor der Steifigkeitszunahme für die XENIA Lentikel bei physiologisch relevanten Dehnungswerten bis zu 17 % im Vergleich zu humanen Lentikeln bei 3,9 bis 9,6 und im Vergleich zu porzinen Lentikeln bei 9 bis 23,5, was vermutlich auf die unterschiedlichen Messverfahren und die untersuchten Dehnungswerte zurückzuführen ist, und liegt damit deutlich über den Effekten, die von klinisch angewendetem UV-A-Riboflavin-Crosslinking bekannt sind [99]. Dies unterstreicht insbesondere auch eine zentrale Vorarbeit von Wollensak, Spoerl und Seiler aus dem Jahr 2003, die erstmals, ebenfalls wie wir, mittels uniaxialer Spannungs-Dehnungs-Messungen den biomechanischen Effekt von UV-A-Riboflavin-Crosslinking auf humane und porcine Hornhäute im Vergleich zu nativen Kontrollen derselben Spezies untersucht haben. Die Autoren konnten bei jeweils 6 % Dehnung für die behandelten humanen Hornhäute eine Steifigkeitszunahme um den Faktor 4,5 nachweisen, der in etwa dem unteren Wert unserer Messung bei 17 % Dehnung entspricht, für die porzinen Hornhäute lag der Wert jedoch nur bei 1,8, was deutlich unterhalb unserer Messwerte für die XENIA Lentikel angesiedelt ist [100]. In diesem Kontext muss allerdings berücksichtigt werden, dass Wollensak et al. Hornhäute vollständiger Dicke gegenüber sehr dünnen Lentikeln in der hier vorliegenden Arbeit untersucht haben und die Messparameter (u.a. untersuchter Dehnungsbereich nur bis 8 % sowie Klemmenabstand) leichte Abweichungen zeigen.

Die enzymatische Resistenztestung liefert zusätzlich Hinweise auf die Stabilität der Bindungen zwischen den Kollagenmolekülen, sodass indirekt Rückschlüsse auf die mechanische Stabilität gezogen werden können. Den Effekt des CXL auf die biomechanische Stabilität konnten Spoerl, Wollensak und Seiler 2004 mittels dieser Methode erstmals in einer Grundlagenarbeit an mit unterschiedlichen Energiedichten UV-A-Riboflavin CXL gecrosslinkten porzinen Hornhäuten, die anschließend durch Kollagenase, Pepsin und Trypsin verdaut wurden, eindrucksvoll zeigen. In der von uns ebenfalls verwendeten Kollagenase-Lösung erhöhte sich die Zeit für eine Flächenreduktion der gecrosslinkten Hornhäute von 100 % auf 50 % gegenüber den nativen Kontrollhornhäuten von $2,81 \pm 0,8$ Tage auf $10,5 \pm 0,5$ Tage [96].

Unsere Ergebnisse zeigten analog, dass XENIA Lentikel porzinen und humanen Lentikeln mit gleichen Dimensionen auch bei der enzymatischen Resistenz deutlich überlegen sind. Aus der XENIA-Gruppe wurde kein Lentikel im Beobachtungszeitraum von 20 Tagen vollständig verdaut, während sich in den Kontrollgruppen alle Lentikel im Beobachtungszeitraum auflösten.

Der stabilisierende Effekt von kollagenem Crosslinking auf die Hornhaut verschiedener Spezies ist, wie bereits oben beschrieben, sowohl *in vivo* als auch *in vitro* in zahlreichen Studien nachgewiesen worden und führte zur Etablierung des CXL als kausales Therapieverfahren für den Keratokonus. Beim klassischen CXL wird wie bereits in der Einleitung beschrieben Riboflavin als Photosensitizer benutzt, anschließend erfolgt die Bestrahlung mit UV-A-Licht. Der Prozess führt dazu, dass sich intrafibrilläre kovalente

Bindungen ausbilden und der Fibrillendurchmesser zunimmt [30, 34]. Hierdurch wird die Steifigkeit der Hornhaut erhöht und die Progression des Konus aufgehalten bzw. verlangsamt. Zwar unterscheidet sich das während des Produktionsprozesses von XENIA angewendete Crosslinkingverfahren vom CXL im klinischen Kontext, allerdings gibt es auch zahlreiche andere Crosslinkingverfahren, die mit anderen Photosensitizern oder anderen Initiierungen des Crosslinkings arbeiten (bspw. Bengalrosa (mit grünem Licht), Genipin oder Proanthocyanidin als chemische Crosslinker)). In einer von Donovan et al. (2021) durchgeführten Studie wurde der Effekt von Genipin als chemischer Crosslinker auf die enzymatische Verdauung von humanen Hornhäuten *ex vivo* untersucht [101]. Es zeigte sich, dass Genipin die Proteolyse des Stromas signifikant verlangsamen konnte. Es ist zu vermuten, dass sich die gesteigerte enzymatische Resistenz und die im Rahmen der Spannungs-Dehnungs-Messungen erhöhte Steifigkeit der XENIA Lentikel auf ähnliche Effekte des Crosslinkings zurückführen lassen.

Mit Bezug auf die humanen und porzinen Kontrolllenticel entspricht mit 4,1 h durchschnittlicher Verdauungszeit der unbehandelten Kontrollen in 1 % Kollagenaselösung die zeitliche Dimension im Wesentlichen unseren Ergebnissen. Die in der Publikation von Donovan et al. verwendeten cornealen Proben hatten einen Durchmesser von 2 mm, während die XENIA Lentikel einen Durchmesser von 7,7 mm besitzen, allerdings wurden Hornhäute voller Dicke verwendet, während die XENIA Lentikel lediglich 80 µm dick sind. Nach durchschnittlich 11 h waren in der Studie unserer Arbeitsgruppe alle humanen Kontrolllenticel verdaut.

Lammer et al. konnten 2020 ähnliche Ergebnisse für humane UV-A-CXL gecrosslinkte Lentikel mit 8,5 mm Durchmesser, aber der Dicke einer vollständigen Hornhaut (ca. 550 µm) zeigen. Die unbehandelten Kontrollen waren in 1 % Kollagenase nach 4 h verdaut, während dies für die gecrosslinkten Lentikel nach 7 h der Fall war [102].

Dabei gilt jedoch zu berücksichtigen, dass die Oberfläche der Lentikel als Messgröße für den enzymatischen Verdau anfällig gegenüber cornealer Schwellung in Lösung ist, sodass alternative Parameter wie das verbleibende Trockengewicht pro Zeitpunkt, wie von Aldahlawi et al. und O'Brart et al. verwendet, diskutiert werden müssen [103, 104]. In diesen Studien wurden jedoch nur kleine Teilstichproben zu ausgewählten Zeitpunkten gemessen, was bei der sehr geringen zur Verfügung stehenden Anzahl an XENIA Lentikeln nicht möglich war.

Die klinischen Erfahrungswerte für die Implantation von XENIA Lentikeln beschränken sich derzeit auf zwei Studien mit kleineren Fallzahlen. In einer ersten klinischen Studie haben El-Massry et al. (2021) XENIA Lentikel in sieben Augen mit einem Follow-up von 12 Monaten implantiert. Es konnte gezeigt werden, dass sich die Sehschärfe zwischen 6 und 12 Monaten bei allen Patienten statistisch signifikant verbesserte, die Hornhautkrümmung regularisierte (Abfall des $K_{\max}$ von $64,8 \pm 5,1$ dpt auf $62,8 \pm 6,2$ dpt) und keine unerwünschten Ereignisse auftraten, insbesondere keine immunologischen Reaktionen [94]. Zudem erhöhte sich die durchschnittliche zentrale corneale Dicke von $389,43 \pm 45,41$ µm auf $429,33 \pm 63,20$ µm. Ähnliche Ergebnisse erbrachte eine aktuelle Studie von Deshmukh et al. (2025) mit ebenfalls 1-Jahres-Follow-up, jedoch mussten als unerwünschtes Ereignis bei zwei Patienten die Lentikel nach drei Monaten aufgrund stromaler Einschmelzungen entfernt werden [105]. Berger et al. (2024) berichten in einem Case Report ebenfalls von einem Patienten nach XENIA-Implantation, der acht Monate nach der Operation eine stromale Einschmelzung mit

Ulceration entwickelte, die im Anschluss mit einer PKP behandelt werden musste [106]. Die Autoren führen dies auf eine mögliche gestörte Diffusion von Glucose und anderen Metaboliten durch die Bearbeitung des Lentikels mit konsekutiver Malnutrition des Stromas zurück, die die Einschmelzung verursacht haben könnte.

Daher ist es von zentraler Bedeutung, wie Wilson et al. (2022) bereits in ihrer Publikation diskutiert haben, die Lentikel zukünftig nicht nur isoliert biomechanisch zu betrachten, sondern auch Änderungen, die sich durch die Implantation in die Empfängercornea ergeben [93]. Insbesondere das Interface, also die Grenzfläche zwischen Hornhautstroma und Lentikeloberfläche, sollte in zukünftigen Studien genauer betrachtet werden, da die Spannungsverteilung zwischen der im Vergleich weichen Empfängerhornhaut und dem steifen XENIA-Implantat durch Scherkräfte oder Diffusionshindernisse zu cornealen Einschmelzungen beitragen kann. Außerdem ist bislang nicht bekannt, inwiefern sich die Versteifung im Rahmen des Herstellungsprozesses konkret auf die Integration der XENIA Lentikel in die Empfängercornea auswirkt. Für native porzine und humane KLEx Lentikel konnte bereits in mehreren Studien nachgewiesen werden, dass die Implantate gut in die Empfängercornea integriert werden. Konkret wurden in einer aktuellen Studie von Dourado et al. (2025) mit 1 % SDS dezellularisierte porzine Lentikel mittels interlamellärer Keratoplastik in das Hornhautstroma von Kaninchen implantiert. Nach 28 Tagen konnte in der postoperativen Spaltlampenuntersuchung gezeigt werden, dass die Lentikel gut an das Empfängerstroma adaptiert waren. Histologisch und elektronenmikroskopisch konnten zudem zahlreiche Keratozyten nachgewiesen werden. Anfangs konnte zwar leichter cornealer Haze beobachtet werden, der jedoch bis zu Tag 28 leicht rückläufig war [107]. Für KLEx Lentikel konnte eine prospektive Studie von Li et al. an acht Patienten mit Post-LASIK-Ektasie und drei Jahren Beobachtungszeit in den ersten 6 Monaten aktivierte Keratozyten im anterioren und posterioren Stroma nachweisen, während eingewachsene Nervenfasern nur in einem Fall detektiert werden konnten [108]. Diese Ergebnisse zeigen grundsätzlich, dass xenogene Lentikel von Empfängerhornhäuten gut akzeptiert werden; inwieweit das intensive Crosslinking der XENIA Lentikel diese Adaptation beeinflusst, muss in weiteren Studien geklärt werden.

Weiterführend wäre in diesem Zusammenhang perspektivisch eine *in vivo*-Messung der Biomechanik im Langzeitverlauf nach Implantation interessant, um einerseits eine mögliche Progression eines Keratokonus einschätzen zu können, und andererseits eine geeignete Therapieoption auswählen zu können, wie etwaiges adjuvantes CXL. Mit einer *in vivo*-Messung könnte in diesem Zusammenhang optimalerweise direkt die Gesamtstruktur aus Implantat und Empfängercornea beurteilt werden. Zwar existieren mittlerweile auf dem Markt verschiedene Technologien, die darauf ausgelegt sind, die corneale Biomechanik *in vivo* zu quantifizieren, bislang hat sich jedoch kein Verfahren als optimales Instrument erwiesen. Oftmals sind die Messergebnisse von zu vielen physiologischen Faktoren, wie z.B. der Höhe des IOP oder der zentralen cornealen Dicke bei applanatorischen Techniken wie dem ORA oder Störfaktoren, wie Bewegungsartefakten bei der Interferometrie, abhängig. Die erhobenen Parameter können außerdem i.d.R. nicht direkt in physikalische Größen übertragen werden. Dementsprechend muss oftmals auf *ex vivo*-Verfahren zurückgegriffen werden, die zwar einen ersten Überblick über die Biomechanik liefern, jedoch Limitationen hinsichtlich der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den *in vivo*-Zustand haben.

Die hohe Steifigkeit der XENIA Lentikel, die sich auch in der extrem hohen Resistenz gegenüber proteolytischen Enzymen widerspiegelt, könnte neben den bereits erwähnten Risiken jedoch auch einen Vorteil bei weiteren Anwendungsgebieten, wie cornealen Ulcerationen (Einschmelzungen), darstellen. Bislang besteht hier die Therapie der Wahl in der Defektdeckung bzw. Übernähung mit Amnionmembran oder Konjunktiva bzw. dem Ersatz mittels perforierender Keratoplastik, die insbesondere in der Akuttherapie bei einem perforierten Ulcus zum Einsatz kommt. In einer retrospektiven Studie von 2023 berichten Klimesova et al. von der Implantation von KLEx Lentikeln in zwölf Augen mit cornealen Ulcera verschiedener Genese [109]. Die stromale Tasche wurde hierbei mit einer Klinge generiert und der eingesetzte Lentikel zusätzlich mit einem Stück Amnionmembran übernäht. Postoperativ betrug die Beobachtungszeit 6 Monate. Evaluiert wurden CDVA und die Stabilität des Transplantats, zudem wurde eine Spaltlampenuntersuchung und ein Seidel-Test durchgeführt. In 7 / 12 (58 %) Patienten konnten die Ulcera zur Abheilung gebracht werden. Laut den Autoren wurde eine zusätzliche Übernähung des Lentikels mit Amnionmembran durchgeführt, da diese den Heilungsprozess durch antiinflammatorische Mediatoren und Reepithelialisierung fördert. In diesem Kontext könnte die beschriebene Operation auch mit xenogenen Lentikeln, ggf. ebenfalls mit zusätzlicher Verwendung von Amnionmembran durchgeführt werden. Bislang existiert noch keine Studie mit dezellularisierten porzinen Lentikeln, die nach der gleichen OP-Technik wie XENIA Lentikel oder KLEx Lentikel implantiert werden, und explizit corneale Ulcera als Anwendungsgebiet adressiert. Eine aktuelle Studie von Chen et al. verglich jedoch die Ergebnisse nach lamellärer Keratoplastik mittels einerseits humaner Cornea und andererseits dezellularisierter porziner Cornea bei insgesamt 58 Patienten mit peripherer ulcerativer Keratitis. Es zeigte sich, dass nach 3 und 6 Monaten postoperativ der CDVA in der humanen Gruppe signifikant besser war, nach 12 Monaten jedoch kein Unterschied mehr zu den porzinen Transplantaten beobachtet werden konnte. Ähnliche Ergebnisse zeigten sich auch für die Transparenz [110]. Dezellularisierte porzine corneale Lentikel wie XENIA könnten demnach potenziell eine weniger invasive Alternative zu Keratoplastiken auch bei Ulcera darstellen.

Zusammenfassend konnte die Publikation unserer Arbeitsgruppe zeigen, dass xenogene Lentikel nach dem vorliegenden Herstellungsverfahren verbesserte biomechanische Stabilitätseigenschaften gegenüber unbehandelten Lentikeln aufweisen. Auch die Resistenz gegenüber enzymatischer Zersetzung konnte in beeindruckender Weise gesteigert werden. Besonderes Augenmerk in künftigen Untersuchungen sollte auf der *in vivo*-Messung der Biomechanik liegen, um direkt das biomechanische und klinische Outcome miteinander korrelieren zu können und dementsprechend individuelle Anpassungen der Lentikel bspw. bei Dicke, Geometrie und der durch das Crosslinking im Rahmen des Herstellungsprozesses vorgegebenen Steifigkeit vornehmen zu können. Ein interessanter Ansatz könnte in diesem Zusammenhang eine Formanpassung der XENIA Lentikel hin zu einer Ringform analog zu ICRS oder CAIRS sein, die basierend auf der individuellen cornealen Topographie des Patienten in der Dicke und Steifigkeit (mittels ggf. angepasster Crosslinking-Protokolle) variiert werden können und auf die jeweilige Konusform zentriert werden können. Alternativ könnten XENIA Lentikel auch als Spenderhornhautersatz im Rahmen einer DALK fungieren. In weiteren klinischen Studien sollte zudem geprüft werden, ob xenogene Implantate auch für

weitere Indikationsgebiete (tiefe corneale Ulcera, akute corneale Einschmelzungen) geeignet sind.

Auch die Wechselwirkungen der Lentikel mit der Empfängerhornhaut sollten untersucht werden, um das langfristige Risiko bzgl. einer Immunreaktion sowie ggf. das klinische Outcome in Hinblick auf Transparenz / Lichttransmission und somit die Visusprognose aufgrund der topographischen Veränderung besser einschätzen zu können.

Das im Rahmen dieser Dissertation behandelte Therapieverfahren bietet Chancen für eine minimalinvasive Behandlung von Keratektasien und könnte Patienten deutlich aufwendigere und belastende Keratoplastiken ersparen. Durch nahezu unbegrenzte Verfügbarkeit porziner Cornea als Lentikelmateriale könnten die Hornhautbanken entlastet werden und Spenderhornhäute für Erkrankungen oder Fälle vorgehalten werden, in denen eine Keratoplastik alternativlos ist. Da bisher jedoch noch keine klinischen Daten zum längerfristigen Outcome über mehrere Jahre nach der Implantation vorliegen, ist weitere klinische Forschung nötig.

5 Literaturverzeichnis

1. Augustin, A.J., *Augenheilkunde* 4., komplett überarbeitete und erweiterte Auflage ed. 2019, Heidelberg: Kaden Verlag.
2. Kohnen, T., *Refraktive Chirurgie* 2011, Berlin Heidelberg: Springer-Verlag.
3. Bowling, B., *KANSKIs Klinische Ophthalmologie - Ein systematischer Ansatz* 8. Auflage ed. 2017: Elsevier GmbH
4. Sridhar, M.S., *Anatomy of cornea and ocular surface*. Indian J Ophthalmol, 2018. **66**(2): p. 190–194.
5. Seiler, T., *Refraktive Chirurgie der Hornhaut* 1. Auflage ed. 2000, Stuttgart Georg Thieme Verlag.
6. Piñero, D.P., J.C. Nieto, and A. Lopez-Miguel, *Characterization of corneal structure in keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 2012. **38**(12): p. 2167–83.
7. Ortiz, D., et al., *Corneal biomechanical properties in normal, post-laser in situ keratomileusis, and keratoconic eyes*. J Cataract Refract Surg, 2007. **33**(8): p. 1371–5.
8. Winkler, M., et al., *Nonlinear optical macroscopic assessment of 3-D corneal collagen organization and axial biomechanics*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(12): p. 8818–27.
9. Knox Cartwright, N.E., J.R. Tyrer, and J. Marshall, *Age-related differences in the elasticity of the human cornea*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011. **52**(7): p. 4324–9.
10. Piñero, D.P. and N. Alcón, *Corneal biomechanics: a review*. Clin Exp Optom, 2015. **98**(2): p. 107–16.
11. Li, F., K. Wang, and Z. Liu, *In Vivo Biomechanical Measurements of the Cornea*. Bioengineering (Basel), 2023. **10**(1).
12. Kling, S. and F. Hafezi, *Corneal biomechanics - a review*. Ophthalmic Physiol Opt, 2017. **37**(3): p. 240–252.
13. Grünauer-Kloevekorn, C., et al., *Kontaktlinsenanpassung - Bei komplizierten Hornhautsituationen*. 2007: Georg Thieme Verlag.
14. Kennedy, R.H., W.M. Bourne, and J.A. Dyer, *A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus*. Am J Ophthalmol, 1986. **101**(3): p. 267–73.
15. Godefrooij, D.A., et al., *Age-specific Incidence and Prevalence of Keratoconus: A Nationwide Registration Study*. Am J Ophthalmol, 2017. **175**: p. 169–172.
16. Chan, E., et al., *Prevalence of Keratoconus Based on Scheimpflug Imaging: The Raine Study*. Ophthalmology, 2021. **128**(4): p. 515–521.
17. Torres Netto, E.A., et al., *Prevalence of keratoconus in paediatric patients in Riyadh, Saudi Arabia*. Br J Ophthalmol, 2018. **102**(10): p. 1436–1441.
18. Kristianslund, O., et al., *Keratoconus more common than widely assumed*. Tidsskr Nor Laegeforen, 2021. **141**(5).
19. Davidson, A.E., et al., *The pathogenesis of keratoconus*. Eye (Lond), 2014. **28**(2): p. 189–95.
20. Gordon-Shaag, A., et al., *The genetic and environmental factors for keratoconus*. Biomed Res Int, 2015. **2015**: p. 795738.
21. Rabinowitz, Y.S., *Keratoconus*. Surv Ophthalmol, 1998. **42**(4): p. 297–319.
22. Kristianslund, O. and L. Drolsum, *Prevalence of keratoconus in persons with Down syndrome: a review*. BMJ Open Ophthalmol, 2021. **6**(1): p. e000754.
23. Niazi, S., et al., *The microenvironment of ocular surface in keratoconus: a systematic review*. Eye Vis (Lond), 2025. **12**(1): p. 37.
24. Wentz-Hunter, K., et al., *Keratocan expression is increased in the stroma of keratoconus corneas*. Mol Med, 2001. **7**(7): p. 470–7.
25. Critchfield, J.W., et al., *Keratoconus: I. Biochemical studies*. Exp Eye Res, 1988. **46**(6): p. 953–63.
26. Kymes, S.M., et al., *Quality of life in keratoconus*. Am J Ophthalmol, 2004. **138**(4): p. 527–35.
27. Singh, R.B., et al., *Keratoconus*. Nat Rev Dis Primers, 2024. **10**(1): p. 81.
28. Belin, M.W. and J.K. Duncan, *Keratoconus: The ABCD Grading System*. Klin Monbl Augenheilkd, 2016. **233**(6): p. 701–7.

29. Imbornoni, L.M., C.N.J. McGhee, and M.W. Belin, *Evolution of Keratoconus: From Diagnosis to Therapeutics*. Klin Monbl Augenheilkd, 2018. **235**(6): p. 680–688.
30. Spoerl, E., M. Huhle, and T. Seiler, *Induction of cross-links in corneal tissue*. Exp Eye Res, 1998. **66**(1): p. 97–103.
31. Seiler, T., et al., *Conservative therapy of keratoconus by enhancement of collagen cross-links*, in *ARVO Annual Meeting*. 1996, Investigative Ophthalmology & Visual Science
32. Wollensak, G., *Crosslinking treatment of progressive keratoconus: new hope*. Curr Opin Ophthalmol, 2006. **17**(4): p. 356–60.
33. Wollensak, G., E. Spörl, and T. Seiler, *[Treatment of keratoconus by collagen cross linking]*. Ophthalmologe, 2003. **100**(1): p. 44–9.
34. 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.
35. Spörl, E., et al., *[Increased rigidity of the cornea caused by intrastromal cross-linking]*. Ophthalmologe, 1997. **94**(12): p. 902–6.
36. Spörl, E., et al., *[Studies on the stabilization of the cornea in rabbits]*. Ophthalmologe, 2000. **97**(3): p. 203–6.
37. Sloot, F., et al., *Effective corneal collagen crosslinking in advanced cases of progressive keratoconus*. J Cataract Refract Surg, 2013. **39**(8): p. 1141–5.
38. Raiskup, F., et al., *Corneal collagen crosslinking with riboflavin and ultraviolet-A light in progressive keratoconus: ten-year results*. J Cataract Refract Surg, 2015. **41**(1): p. 41–6.
39. Hagem, A.M., et al., *Dramatic Reduction in Corneal Transplants for Keratoconus 15 Years After the Introduction of Corneal Collagen Crosslinking*. Cornea, 2024. **43**(4): p. 437–442.
40. Godefrooij, D.A., et al., *Nationwide reduction in the number of corneal transplantations for keratoconus following the implementation of cross-linking*. Acta Ophthalmol, 2016. **94**(7): p. 675–678.
41. Kobashi, H. and K. Tsubota, *Accelerated Versus Standard Corneal Cross-Linking for Progressive Keratoconus: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials*. Cornea, 2020. **39**(2): p. 172–180.
42. Shajari, M., et al., *Comparison of standard and accelerated corneal cross-linking for the treatment of keratoconus: a meta-analysis*. Acta Ophthalmol, 2019. **97**(1): p. e22–e35.
43. Son, H.S., et al., *Advancements and Innovations in Keratoconus Management: A Review of Current Practices*. J Clin Med, 2025. **14**(21).
44. Seiler, T.G., et al., *Customized Corneal Cross-linking: One-Year Results*. Am J Ophthalmol, 2016. **166**: p. 14–21.
45. Hersh, P.S., et al., *U.S. Multicenter Clinical Trial of Corneal Collagen Crosslinking for Treatment of Corneal Ectasia after Refractive Surgery*. Ophthalmology, 2017. **124**(10): p. 1475–1484.
46. Sorkin, N. and D. Varssano, *Corneal collagen crosslinking: a systematic review*. Ophthalmologica, 2014. **232**(1): p. 10–27.
47. Patil, M. and J.S. Mehta, *Lamellar Keratoplasty for Advanced Keratoconus*. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2020. **9**(6): p. 580–588.
48. Parker, J.S., K. van Dijk, and G.R. Melles, *Treatment options for advanced keratoconus: A review*. Surv Ophthalmol, 2015. **60**(5): p. 459–80.
49. Wisse, R.P., C.M. van den Hoven, and A. Van der Lelij, *Does lamellar surgery for keratoconus experience the popularity it deserves?* Acta Ophthalmol, 2014. **92**(5): p. 473–7.
50. Niziol, L.M., et al., *Long-term outcomes in patients who received a corneal graft for keratoconus between 1980 and 1986*. Am J Ophthalmol, 2013. **155**(2): p. 213–219.e3.
51. Bhayani, R. and A. Walkden, *Managing Post Keratoplasty Astigmatism*. Clin Ophthalmol, 2024. **18**: p. 1727–1734.

52. *The collaborative corneal transplantation studies (CCTS). Effectiveness of histocompatibility matching in high-risk corneal transplantation. The Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group.* Arch Ophthalmol, 1992. **110**(10): p. 1392–403.
53. Anwar, M. and K.D. Teichmann, *Big-bubble technique to bare Descemet's membrane in anterior lamellar keratoplasty.* J Cataract Refract Surg, 2002. **28**(3): p. 398–403.
54. Liu, Y.C., et al., *Intraoperative Optical Coherence Tomography-Guided Femtosecond Laser-Assisted Deep Anterior Lamellar Keratoplasty.* Cornea, 2019. **38**(5): p. 648–653.
55. Kim, K.H. and S.I. Mian, *Refractive approaches to visual rehabilitation in patients with keratoconus.* Curr Opin Ophthalmol, 2020. **31**(4): p. 261–267.
56. Wagner, H., J.T. Barr, and K. Zadnik, *Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) Study: methods and findings to date.* Cont Lens Anterior Eye, 2007. **30**(4): p. 223–32.
57. Downie, L.E. and R.G. Lindsay, *Contact lens management of keratoconus.* Clin Exp Optom, 2015. **98**(4): p. 299–311.
58. Koppen, C., et al., *Scleral Lenses Reduce the Need for Corneal Transplants in Severe Keratoconus.* Am J Ophthalmol, 2018. **185**: p. 43–47.
59. Smiddy, W.E., et al., *Keratoconus. Contact lens or keratoplasty?* Ophthalmology, 1988. **95**(4): p. 487–92.
60. Chelala, E., et al., *Photorefractive keratectomy in patients with mild to moderate stable keratoconus: a five-year prospective follow-up study.* Clin Ophthalmol, 2013. **7**: p. 1923–8.
61. Kanellopoulos, A.J., *Ten-Year Outcomes of Progressive Keratoconus Management With the Athens Protocol (Topography-Guided Partial-Refractive PRK Combined With CXL).* J Refract Surg, 2019. **35**(8): p. 478–483.
62. Mastropasqua, L., *Collagen cross-linking: when and how? A review of the state of the art of the technique and new perspectives.* Eye Vis (Lond), 2015. **2**: p. 19.
63. Moraes, R.L.B., et al., *Haze and Visual Acuity Loss After Sequential Photorefractive Keratectomy and Corneal Cross-linking for Keratoconus.* J Refract Surg, 2019. **35**(2): p. 109–114.
64. Barraquer, J.I., *Modification of refraction by means of intracorneal inclusions.* Int Ophthalmol Clin, 1966. **6**(1): p. 53–78.
65. Sakellaris, D., et al., *Intracorneal Ring Segment Implantation in the Management of Keratoconus: An Evidence-Based Approach.* Ophthalmol Ther, 2019. **8**(Suppl 1): p. 5–14.
66. Colin, J., et al., *Correcting keratoconus with intracorneal rings.* J Cataract Refract Surg, 2000. **26**(8): p. 1117–22.
67. Ertan, A. and J. Colin, *Intracorneal rings for keratoconus and keratectasia.* J Cataract Refract Surg, 2007. **33**(7): p. 1303–14.
68. Vega-Estrada, A., et al., *Outcome analysis of intracorneal ring segments for the treatment of keratoconus based on visual, refractive, and aberrometric impairment.* Am J Ophthalmol, 2013. **155**(3): p. 575–584.e1.
69. Alfonso, J.F., et al., *Visual and Tomographic Outcomes of a 300° Arc-length ICRS Implantation in Moderate to Advanced Central Keratoconus.* J Refract Surg, 2021. **37**(4): p. 249–255.
70. Piñero, D.P. and J.L. Alio, *Intracorneal ring segments in ectatic corneal disease - a review.* Clin Exp Ophthalmol, 2010. **38**(2): p. 154–67.
71. Kanellopoulos, A.J., et al., *Modified intracorneal ring segment implantations (INTACS) for the management of moderate to advanced keratoconus: efficacy and complications.* Cornea, 2006. **25**(1): p. 29–33.
72. Jacob, S., et al., *Corneal Allogenic Intrastromal Ring Segments (CAIRS) Combined With Corneal Cross-linking for Keratoconus.* J Refract Surg, 2018. **34**(5): p. 296–303.
73. Armia, A., *Keratoconus - Current and Future State-of-the-Art.* 2022, Cham: Springer Nature

74. van Dijk, K., et al., *Midstromal isolated Bowman layer graft for reduction of advanced keratoconus: a technique to postpone penetrating or deep anterior lamellar keratoplasty*. JAMA Ophthalmol, 2014. **132**(4): p. 495–501.
75. van Dijk, K., et al., *Bowman layer transplantation to reduce and stabilize progressive, advanced keratoconus*. Ophthalmology, 2015. **122**(5): p. 909–17.
76. Parker, J.S., P.W. Dockery, and G.R.J. Melles, *Bowman Layer Transplantation-A Review*. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2020. **9**(6): p. 565–570.
77. Sekundo, W., et al., *First efficacy and safety study of femtosecond lenticule extraction for the correction of myopia: six-month results*. J Cataract Refract Surg, 2008. **34**(9): p. 1513–20.
78. Ratkay-Traub, I., et al., *First clinical results with the femtosecond neodymium-glass laser in refractive surgery*. J Refract Surg, 2003. **19**(2): p. 94–103.
79. Blum, M., K.S. Kunert, and W. Sekundo, *[Historical Overview of the Clinical Development of the Small Incision Lenticule Extraction Surgery (SMILE)]*. Klin Monbl Augenheilkd, 2017. **234**(1): p. 117–122.
80. Dick, H.B., T. Seiler, and A.B. Cummings, *Lenticule Extraction*. J Refract Surg, 2022. **38**(9): p. 618.
81. Blum, M. and W. Sekundo, *[Refractive lenticule extraction - The ReLEx/SMILE technique : Video article]*. Ophthalmologe, 2017. **114**(9): p. 851–856.
82. Ganesh, S., S. Brar, and P.A. Rao, *Cryopreservation of extracted corneal lenticules after small incision lenticule extraction for potential use in human subjects*. Cornea, 2014. **33**(12): p. 1355–62.
83. Mastropasqua, L., et al., *Femtosecond Laser-Assisted Stromal Lenticule Addition Keratoplasty for the Treatment of Advanced Keratoconus: A Preliminary Study*. J Refract Surg, 2018. **34**(1): p. 36–44.
84. Jin, H., et al., *Small-Incision Femtosecond Laser-Assisted Intracorneal Concave Lenticule Implantation in Patients With Keratoconus*. Cornea, 2019. **38**(4): p. 446–453.
85. Doroodgar, F., et al., *Customized Stromal Lenticule Implantation for Keratoconus*. J Refract Surg, 2020. **36**(12): p. 786–794.
86. Niazi, S., et al., *Biomechanical changes in keratoconus after customized stromal augmentation*. Taiwan J Ophthalmol, 2024. **14**(1): p. 59–69.
87. Streilein, J.W., *Ocular immune privilege: therapeutic opportunities from an experiment of nature*. Nature Reviews Immunology, 2003. **3**(11): p. 879–889.
88. Fu, Y., et al., *Reconstruction of a tissue-engineered cornea with porcine corneal acellular matrix as the scaffold*. Cells Tissues Organs, 2010. **191**(3): p. 193–202.
89. Du, L., et al., *Histological evaluation and biomechanical characterisation of an acellular porcine cornea scaffold*. Br J Ophthalmol, 2011. **95**(3): p. 410–4.
90. Rafat, M., et al., *Bioengineered corneal tissue for minimally invasive vision restoration in advanced keratoconus in two clinical cohorts*. Nat Biotechnol, 2023. **41**(1): p. 70–81.
91. Klopotek, P.J., *Lenticules for Intrastromal Corneal Implantation*, U.S.P.a.T. Office, Editor. 2025, Gebauer-Klopotek Patent Verwaltungs-UG.
92. Gebauer Medizintechnik GmbH, *XENIA™ Instructions for use* 2020.
93. Wilson, A., J. Jones, and J. Marshall, *Biomechanical Evaluation of Decellularized and Crosslinked Corneal Implants Manufactured From Porcine Corneas as a Treatment Option for Advanced Keratoconus*. Front Bioeng Biotechnol, 2022. **10**: p. 862969.
94. El-Massry, A., et al., *Safety and Indicative Effectiveness of Porcine Corneal Lenticular Implants in Patients with Advanced Keratoconus and Post Lasik Ectasia: A Retrospective Clinical Study*. Clin Ophthalmol, 2021. **15**: p. 3165–3171.
95. Hong, C.W., et al., *Collagenase-mediated tissue modeling of corneal ectasia and collagen cross-linking treatments*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012. **53**(4): p. 2321–7.
96. Spoerl, E., G. Wollensak, and T. Seiler, *Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion*. Curr Eye Res, 2004. **29**(1): p. 35–40.
97. Gain, P., et al., *Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking*. JAMA Ophthalmol, 2016. **134**(2): p. 167–73.

98. Hoeltzel, D.A., et al., *Strip extensiometry for comparison of the mechanical response of bovine, rabbit, and human corneas*. J Biomech Eng, 1992. **114**(2): p. 202–15.
99. Seiler, T.G., et al., *Intrastromal application of riboflavin for corneal crosslinking*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2014. **55**(7): p. 4261–5.
100. Wollensak, G., E. Spoerl, and T. Seiler, *Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking*. J Cataract Refract Surg, 2003. **29**(9): p. 1780–5.
101. Donovan, C., et al., *Genipin Delays Corneal Stromal Enzymatic Digestion*. Transl Vis Sci Technol, 2021. **10**(9): p. 25.
102. Lammer, J., et al., *Endothelial Safety and Efficacy of Ex Vivo Collagen Cross-linking of Human Corneal Transplants*. Am J Ophthalmol, 2020. **214**: p. 127–133.
103. O'Brart, N.A.L., et al., *An Investigation of the Effects of Riboflavin Concentration on the Efficacy of Corneal Cross-Linking Using an Enzymatic Resistance Model in Porcine Corneas*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2018. **59**(2): p. 1058–1065.
104. Aldahlawi, N.H., et al., *Enzymatic Resistance of Corneas Crosslinked Using Riboflavin in Conjunction With Low Energy, High Energy, and Pulsed UVA Irradiation Modes*. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2016. **57**(4): p. 1547–52.
105. Deshmukh, R., et al., *Porcine Collagen Implants in Advanced Keratoconus: Outcomes at 1 Year*. J Refract Surg, 2025. **41**(3): p. e272–e279.
106. Berger, T., et al., *Severe ulcerative keratopathy following implantation of an acellular porcine corneal stromal lenticule in a patient with keratoconus*. Cont Lens Anterior Eye, 2024. **47**(3): p. 102145.
107. Dourado, L.F.N., et al., *Interlamellar keratoplasty for implantation of decellularized porcine corneal lenticule in a rabbit for corneal thickening*. J Mater Sci Mater Med, 2025. **36**(1): p. 49.
108. Li, M., et al., *Femtosecond Laser-Assisted Allogenic Lenticule Implantation for Corneal Ectasia After LASIK: A 3-Year In Vivo Confocal Microscopic Investigation*. J Refract Surg, 2020. **36**(11): p. 714–722.
109. Min Klimesova, Y., et al., *Corneal stromal lenticule transplantation for the treatment of corneal ulcers*. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub, 2023.
110. Chen, Y., et al., *Comparison of Transplantation Outcomes of Human Cornea vs. Acellular Porcine Corneal Stroma in Noninfectious Peripheral Ulcerative Keratitis: A Single-Center Retrospective Cohort Study*. Xenotransplantation, 2025. **32**(6): p. e70085.

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Prof. Dr. med. Theo G. Seiler sowie meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Dr. rer. nat. Johannes Menzel-Severing für die tatkräftige Unterstützung und Beratung in jeglichen Fragen bei der Durchführung der Promotion sowie die Geduld und das Verständnis, das mir auch in schwierigen Phasen stets entgegengebracht wurde.

Herrn Univ.-Prof. Dr. med. Gerd Geerling möchte ich herzlich für die Ermöglichung des Promotionsvorhabens sowie die Bereitstellung der nötigen Infrastruktur für die Realisierung der Experimente danken.

Frau Dr. rer. nat. Joana Witt sowie den Mitgliedern des Labors für Experimentelle Ophthalmologie danke ich für die ausführliche Einweisung in die experimentelle Methodik, die wertvollen Anregungen bei der Durchführung der Experimente sowie die stets kollegiale Zusammenarbeit.

Herrn Prof. Dr. med. Babac Mazinani möchte ich für die Übernahme der Co-Betreuung und den Austausch im Rahmen der Fortschrittsberichte danken.

Der Firma Gebauer Medizintechnik GmbH und hier insbesondere Herrn Eberhard Nahr gilt mein Dank für die Kooperation und Bereitstellung der XENIA Lentikel.

Der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) danke ich für die finanzielle Förderung meines Forschungsprojekts durch das Doktorandenstipendium und die Möglichkeit das Projekt auf dem Jahreskongress 2022 in Berlin präsentieren zu dürfen.

Abschließend danke ich meinen Eltern und Großeltern sowie meinem Freundeskreis für die emotionale Unterstützung und motivierenden Worte, mit denen sie mich auf diesem prägenden Weg begleitet haben.