

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für  
Augenheilkunde  
**Direktor:** Univ.-Prof. Dr. med. Holger Busse

**Atmung isolierter Kaninchenhornhäute bei Strömung  
der Messflüssigkeit**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur

Erlangung des doctor medicinae dentium

der Medizinischen Fakultät

Der Westfälischen Wilhelms – Universität Münster

Vorgelegt von

Görner Wolfgang  
aus Karlsruhe

2006



Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Heribert Jürgens

1. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Holger Busse  
in Vertretung von Univ.- Prof. Dr. Gertrude Cremer-Bartels
2. Berichterstatter: Univ. –Prof. Dr. med. Holger Busse  
Tag der mündlichen Prüfung: 17.10.2006

## Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	1
1.1 Die Cornea	1
1.1.1 Anatomie der menschlichen Hornhaut und Funktion	1
1.2 Physiologie der Cornea	6
1.3 Sauerstoffverbrauch	7
1.4 Verätzung der Cornea	9
1.5 Der Glaskörper	12
1.5.1 Anatomie und Physiologie	12
1.5.2 Antigeninjektion in den Glaskörper ( Immunologie )	13
1.6 Polarometrische Sauerstoffpartialdruckmessung	18
1.6.1 Die Sauerstoffpartialdruckmessung	18
1.6.2 Prinzip der Sauerstoffpartialdruckmessung	18
1.6.3 Aufbau der Sauerstoffpartialdruck – Elektrode	19
1.6.4 Entwicklung der Polarographie	20
2.1.1. Problemstellung und Thematik	20
3. Material und Methode	21
3.1 Material	21
3.1.1. Die Elektrode	21
3.1.2. Die Messkammer	22
3.1.3. Der Verstärker	23
3.1.4. Der Schreiber	23
3.1.5. Die Messlösung	24
3.1.6. Das Gasgemisch	24
3.1.7. Die Kaninchenhornhäute	24
3.1.8. Die Eichung	25
3.2 Methode	25
3.2.1 Durchführung der Messung	25
3.2.2 Berechnung des Sauerstoffpartialdruckes in der Messflüssigkeit	26
3.2.3 Berechnung des Sauerstoffgehaltes der Messlösung	27
3.2.4 Der Sauerstoffverbrauch	28
3.2.5 Statistische Berechnung	28

4.	Ergebnisse	32
4.1	Versuchsreihe I	32
4.2	Versuchsreihe II	37
4.3	Versuchsreihe III	41
5.	Diskussion	46
5.1	Sauerstoffverbrauchsmessung	46
5.2	Versuchsreihe I Messung der Atmung isolierter Kaninchenhornhäute nach Injektion von 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitrium eines weißen Kaninchens.	47
5.3	Versuchsreihe II Messung der Atmung unter Einwirkung von 4 n NaOH auf die Kaninchenkornea 15 Sekunden lang in vitro.	49
5.4	Versuchsreihe III Messung der Atmung unter Einwirkung von 0,5 n NaOH auf die Kaninchenkornea 15 Sekunden lang in vivo.	50
6	Literaturverzeichnis	53
	Danksagung	
	Lebenslauf	

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde  
**Direktor:** Univ.-Prof. Dr. med. Holger Busse

Referent:  
Univ.-Prof. Dr. med. Holger Busse  
in Vertretung für Frau  
Univ.-Prof. Dr. Gertrude Cremer – Bartels

Koreferent:  
Univ.-Prof. Dr. med. Holger Busse

Zusammenfassung:  
Görner, Wolfgang

Atmung isolierter Kaninchenhornhäute bei Strömung der Messflüssigkeit

Es stand eine Messanordnung zur Verfügung, mit welcher in einer geschlossenen Messkammer der Sauerstoffverbrauch von Kaninchenhornhäuten bestimmt werden konnte. Die Verhältnisse am lebenden Kaninchenauge denen eine in vitro Untersuchung nahekommen sollte, wurde ein Rührwerk vor der Elektrode ( AVL 939, Bad Homburg ) entwickelt, welches einer physiologischen Strömung des Kammerwassers zum Endothel nahe kommt. Mit der neuen Methode wurde die Sauerstoffverbrauchsmessung isolierter Kaninchenhornhäute nach Injektion von 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitreum durchgeführt. (Versuchsreihe I, 4.1) Bei allen 10 Kaninchenhornhäuten, bei denen die Injektion von 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitreum durchgeführt wurde, zeigte sich eine Verschlechterung der Atmung (des Sauerstoffverbrauches). Fortgeleitet vom Corpus vitreum über Sklera, Uvea konnte eine immunologische Reaktion der Kaninchenhornhaut anhand der Verschlechterung der Atmung messtechnisch nachgewiesen werden. Inspektorisch war am behandelten Kaninchenauge bestehende Lichtscheu, Tränenfluss und Blepharospasmus feststellbar. Versuchsreihe II (4.2) Nach Verätzung der Kaninchenkornea mit 4 n NaOH 15 Sekunden lang **in vitro** (Filterpapierstück von 5,5 mm Durchmesser) und danach ausgiebiger Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung konnte nach Messung der Atmung gezeigt werden, daß bei allen 8 behandelten Kaninchenhornhäuten die Atmung (der Sauerstoffverbrauch) im Vergleich zu unbehandelten Kaninchenhornhäuten zweifellos verringert war.

Versuchsreihe III ( 4.3 ) Unter Einwirkung von 0,5 n NaOH ( Filterpapierstücke von 5,5 mm Durchmesser ) auf die Kaninchenkornea 15 Sekunden lang **in vivo** und nach lokaler Applikation 0,9 % NaCl – Lösung 4 mal täglich über 5 Tage konnte nach Messung der Atmung gezeigt werden, daß bei den behandelten Kaninchenhornhäuten ( n =6 ) eine Verschlechterung der Atmung im Vergleich zu den gesunden Kaninchenhornhäuten stattfand.

Bescheinigung von Univ.-Prof. Dr. med. Holger Busse im Rahmen der tierexperimentellen Forschung liegt der Arbeit bei.

Tag der mündlichen Prüfung: 17.10.2006

## Einleitung

### 1.1 Die Cornea

#### 1.1.1 Anatomie der menschlichen Hornhaut und Funktion

Die Tunica fibrosa bulbi ( Tunica externa ) wird in Cornea und Sklera unterteilt

Die Cornea ist der vordere transparente Teil der äußeren Augenhaut. An ihrem Rand, dem Limbus corneae, geht die Hornhaut unmittelbar in die Sklera über.

Der **Krümmungsradius** der Hornhaut ist mit 7,8 mm deutlich kleiner als der des übrigen Bulbus. ( 11,5 mm )

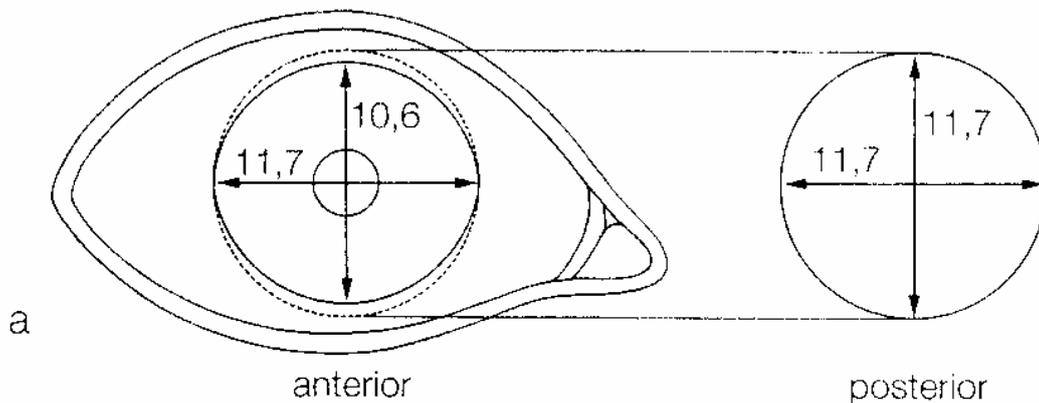


Abb. 1 Aus Benninghoff, 2004

Diese stärkere Vorwölbung bedingt eine Brechkraft von mehr als 40 Dioptrien.

Der vertikale **Durchmesser** der Cornea beträgt 10,6 mm, der horizontale 11,6 mm ( die Fläche 90 – 100 mm<sup>2</sup> ).

Die Cornea hat deshalb eine leicht **elliptische Form** und ist nicht kreisrund.

Die Hornhautdicke beträgt zentral 0,52 mm, zum Limbus hin nimmt sie auf 0,67 mm zu.

Der zentrale Abschnitt von 4 mm ist vollkommen sphärisch.

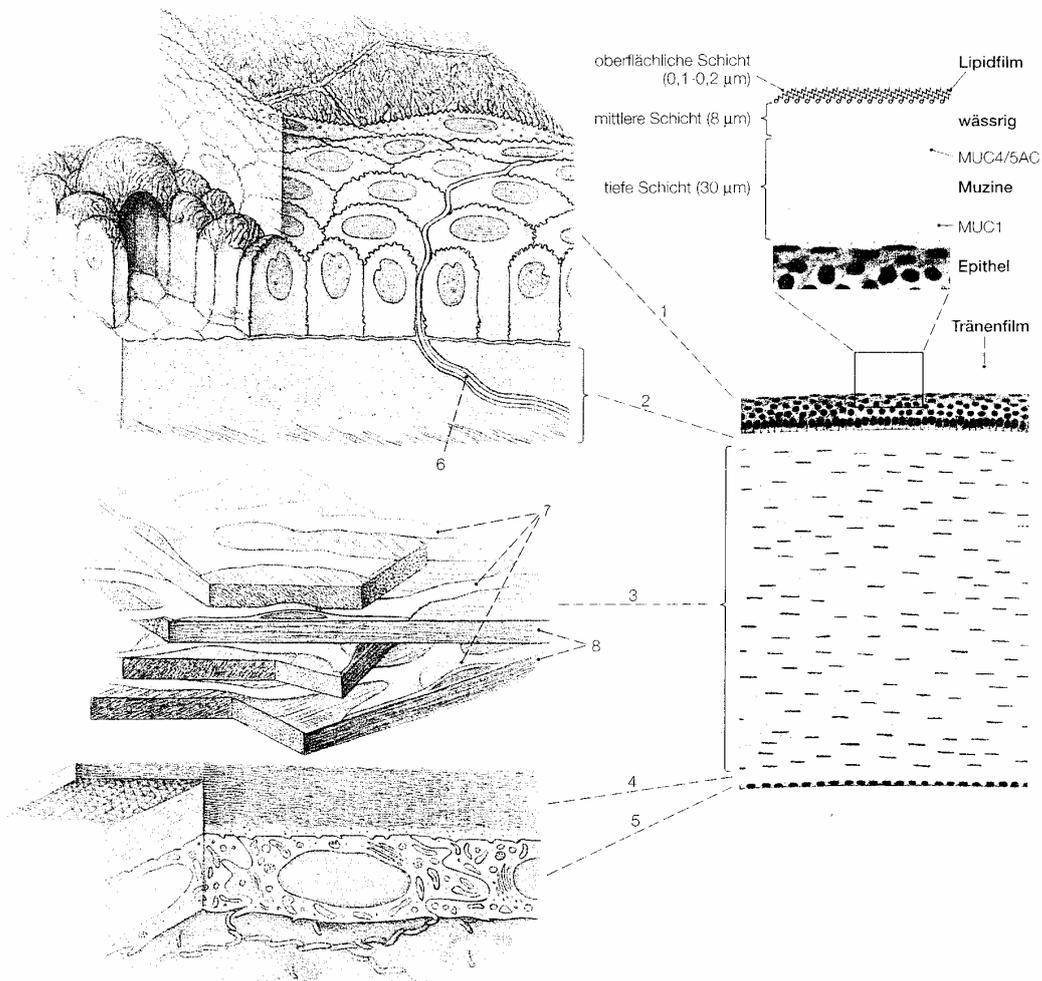
Die vorderen und hinteren Flächen der Cornea liegen hier parallel zueinander.

Ansonsten ist der vertikale Meridian etwas stärker gekrümmt als der horizontale.

Da an der Vorderfläche der Hornhaut ( gegen die Luft ) die stärkste Lichtbrechung für den Abbildungsapparat des Auges liegt, werden diese Maßverhältnisse extrem konstant gehalten.. ( Benninghoff, 2004 )

Die Cornea setzt sich aus **fünf Schichten** zusammen.

Von ventral nach dorsal, von außen nach innen unterscheidet man:



**Abbildung: Struktur der Cornea aus Benninghoff, 2004 Abbildung 2**

### 1. Epithelium anterius ( vorderes Hornhautepithel )

Das vordere Hornhautepithel ist ein mehrschichtiges unverhorntes 50-70 µm dickes Plattenepithel aus fünf bis sechs Zellschichten. Das Epithel geht lateral in die Lamina episcleralis, als blutgefäßreiche Schicht mit einem feinen retikulären Geflecht von Kollagenfibrillen, elastischen Fasern, Blutkapillaren und reichlich feinen Zellen ( Makrophagen, Lymphozyten ) über.

Alle Epithelzellen der Cornea sind über Desmosomen, Nexus und Adhärenskontakte miteinander verbunden. ( Benninghoff, 2004 ) Glykoproteine sind am Aufbau von Desmosomen beteiligt. Retinylphosphat als Coenzymform des Retinol ( Vitamin A ) greift als Transfer von Galaktose –und Mannoseresten in die Glykoproteinsynthese ein.

Ein Ausfall der Epithelschutzfunktion äußert sich in einer Xerophthalmie mit Keratinisierung der Cornea und einer Xerosis. ( Buddecke, 1986 )

Die Intermediärfilamente ( Tonofilamente ) bestehen aus dem nur im Hornhautepithel vorkommenden Zytokeratinpaar CK3 / CK12.

Mikroplicae und Mikrovilli der äußeren Plattenepithelzelloberfläche enthalten eine 300 nm dicke Glykokalyx, die auch das Membranmucin MUC1 enthält.

An dieser Glykokalyx haftet der Tränenfilm ( Abbildung 2 aus Struktur der Cornea ). In den Randbereichen der Cornea enthält das Epithel Langhans – Zellen und Melanozyten.

Das vordere Epithel ist mit seinen Transportleistungen für die Transparenz notwendig und meldet mit den sensorischen Nervenfasern des 1. Trigeminusastes ( N. ophthalmicus ) Fremdkörper und Schädigungen.

## 2. **Lamina limitans anterior ( Bowmansche Membran )**

Die Basalmembran des Epithels besteht aus einer typischen Basallamina ( Kollagentyp IV ) und einer 8-14 µm dicken spezialisierten Membrana fibroreticularis ( Bowmansche Membran ).

Die Membrana fibroreticularis besteht aus einem engmaschigen Netzwerk dünner Kollagenfibrillen ( Durchmesser 14-27 nm ) und ist mit einer proteoglykanreichen Grundsubstanz ausgefüllt. Die Kollagenfasern sind hauptsächlich vom **Typ I** und **Typ V** mit geringen Anteilen vom Typ III und VI. Kollagen Typ V ( dünne Fibrillen ) hemmt das Dickenwachstum von Typ I – Kollagenfibrillen. Im feinen Filzsack von Kollagenfibrillen befinden sich 0,3 – 0,5 µm große Poren für die zum Epithel laufenden Nervenfasern. ( Benninghoff, 2004 ). Die Membrana fibroreticularis ( Bowmansche Membran ) findet sich nur bei den Primaten und kommt nicht bei der Messung der benutzten Kaninchenhornhäuten vor. ( Cotlier E., 1975 ).

## 3. **Substantia propria ( Stroma )**

Die Substantia propria ( Stroma ) hat einen Wassergehalt von 72 – 82 % ( 78 % des Trockengewicht besteht aus Kollagen ). Diese Schicht bildet mit 0,5 mm ( 500 µm )

**etwa 9/10 der gesamten Hornhautdicke.** Es besteht aus 200 – 250 Lamellen von parallel ausgerichteten Kollagenfibrillen mit einem einheitlichen Durchmesser von 30 nm.

Keratozyten besitzen lange Ausläufer und bilden zwischen den Lamellen zweidimensionale Netzwerke. Für die Transparenz der Cornea sind das Fehlen von Blutgefäßen, ein Wassergehalt von 72 – 82 % und der reguläre Durchmesser der Kollagenfibrillen ( hauptsächlich **Typ I** – Kollagen mit geringem Anteil von Typ V und Typ III ) von **30 nm** Voraussetzung. Für die regelmäßige Kollagenfibrillenstärke und den Wassergehalt sind u. a. Proteoglykane wichtig, deren Seitenketten zu über 50 % aus Keratansulfat bestehen ( erstmalig aus der Cornea gr. Keras isoliert und deshalb so benannt ). Dermatansulfat und Chondroitinsulfat –Seitenketten sind die beiden anderen Glykosaminoglykan – Seitenketten. Die häufigsten Keratansulfat – Proteoglykane der Cornea sind Lumican, Keratocan, Minecan und Fibromodulin, die Dermatan – Chondroitinsulfat – Proteoglykane sind Decorin und Biglykan. Patienten mit einem Gendefekt des Proteoglykan Keratocan bilden eine abgeflachte Cornea aus. ( Cornea plana )

Bei Genausschaltung des Proteoglykans Lumican führt bei Mäusen zu Corneatrübung und unregelmäßigen Kollagenfibrillendurchmesser. Diese Beispiele belegen die Bedeutung der Proteoglykane. Die hohe Wasserbindungsfähigkeit der Proteoglykane führt bei Verlust des hinteren Epithels ( Endothel ) zu starker Anschwellung der Corneaa. ( annähernd Verdopplung des Volumens ). Die reguläre Lamellenstruktur ist in den anterioren Schichten der Cornea nicht so deutlich ausgebildet, daher betrifft das Stromaödem nicht die verflochtenen vorderen Schichten der Stroma.

#### **4. Lamina limitans posterior ( Descemet – Membran )**

Es handelt sich um eine 10 – 12 µm dicke Lamina fibroretikularis **der Basalmembran** des **Hornhautendothels**. Während der Geburt ist die Lamina limitans posterior 3–4 µm dick. Die Descemet – Membran hat als Hauptkollagen: Kollagen – Typ **VIII**, ein nicht fibrilläres Kollagen, das ein hochgeordnetes, dichtes, filamentöses Netzwerk bildet. Die Membran ist schwach mit den Kollagenfasern des Stromas verhaftet und ist häufig die letzte Schutzbarriere gegenüber der Vorderkammer des Auges. In der Peripherie der Descemet – Membran findet man normalerweise ab dem 20. Lebensjahr Protruionen ( knotenartige Verdickungen, Hassai – Henle – Warzen ). ( Benninghoff, 2004 ).

## 5. Epithelium posterius ( Hornhautendothel )

Es handelt sich um ein **einschichtiges Plattenepithel**. Die hexagonalen Zellen sind 3 – 4 µm dick und 20 µm breit und tragen an ihrer apikalen Oberfläche zur Vorderkammer pro Zelle 20 – 30 Mikrovilli ( 0,5 µm hoch ), häufig auch eine Kinozilie. Die Zellkontakte zur Vorderkammer hin, Zonula occludens sonst Zonula adhaerens und Nexus. Die Zellen enthalten Vimentinfilamente und **fast keine Zytokeratine**. Die Zelldichte beträgt ca. 3000 Zellen / mm<sup>2</sup>, die Mitoserate ist sehr gering.

Das Corneaendothel **reguliert den Wasserhaushalt des Stroma** und ist für die **Transparenz** der Cornea unerlässlich. Das Endothel hat einen hydrostatischen Druck von ca. 40 mm Hg durch Ionen – und Wassertransport entgegenwirken. Bei höheren Druckwerten ( Glaukom, ) versagt das Endothel und es entsteht ein **Hornhautödem**.

Unterhalb der Zelldichte von 3000 / mm<sup>2</sup> besteht bei Transplantationen die Gefahr eines permanenten Hornhautödems.

Von allen Augengeweben ist die Cornea am dichtesten mit sensorischen Nervenfasern versehen ( auf jede zweite Basalzelle des Epithels kommt eine Nervenendigung ).

Ebenfalls gelangen noradrenerge Fasern aus dem Ganglion cervicalis superius und auch cholinerge Fasern aus dem Ganglion ciliare, das medial vom M. rectus lateralis im Fettgewebe der Orbita liegt in die Substantia propria ( Stroma ) zieht. ( Benninghoff, 2004 ).

Die Oberfläche der Cornea normalerweise glatt, glänzend ( H. Busse, 1990 ) ist **frei** von Blut – und Lymphgefäßen. Konjunktivale und episklerale Gefäße bilden am Limbus corneae ein Randschlingennetz mit zahlreichen Biegelkapillaren ( arteriovenöse Verbindung ). Die **Randschlingen** sorgen für einen Teil der kornealen Ernährung.

Embryologie: Die Hornhaut wird zusammen mit der Sklera ( Lederhaut ) im 2. Embryonalmonat angelegt. Das Epithel ist ektodermaaler, die tieferen Hornhautabschnitte mesenchymaler Herkunft. ( M. Sachsenweger, 2003 ).

## 1.2 Physiologie der Cornea

Die Cornea ist transparent und bradytroph, ihre Ernährung erfolgt über das Kammerwasser, die Tränenflüssigkeit und das arkadenartige Randschlingennetz am Limbus corneae aus konjunktivalen und episkleralen Gefäßen. ( M. Sachsenweger, Benninghoff, 2004 ) Verschiedene Autoren ( Gruber, 1834 ; Leber, 1903 ; Weckers, 1940 ) konnten zeigen, daß die Versorgung über das Randschlingennetz vernachlässigt werden kann, da diese Unterbrechung der pericornealen Zirkulation **ohne** Einfluß auf die Versorgung der Cornea bleibt. ( Zander, 1975 ) Die Ernährung erfolgt **überwiegend** über das Corneaepithel ( vorderes Hornhautepithel ) und Epithelium posterius ( Hornhautendothel ).

Das vordere Hornhautepithel wirkt als Infektionsschranke und verhindert das Eindringen der Tränenflüssigkeit. Es ist **hydrophob** und wird durch die Benetzung durch das von den Becherzellen gebildete Mucin hydrophil. ( M. Sachsenweger, 2003 ). Das Endothel ist für den **Stoffaustausch** zwischen Cornea und Kammerwasser verantwortlich und wirkt darüber hinaus als **Diffusionsbarriere**, die das Kammerwasser daran hindert, in das Hornhautparenchym einzudringen.

Durch den aktiven An – ( Glucose ) und Abtransport ( Lactat ) von Stoffwechselprodukten leisten Endothel und Epithel einen entscheidenden Anteil für die **ständige Dehydration der Hornhaut** ( Ionenpumpe ) ( M. Sachsenweger, 2003 ). Das vordere Hornhautepithel **eliminiert Lactat** ( anaerobe Glykolyse der Cornea ) aus Stroma und Epithel ( basale Aufnahme durch **Na<sup>+</sup> – Lactat – Kotransporter**, **Abgabe in den Tränenfilm durch H<sup>+</sup> – Lactat – Kotransporter** ). Die **Na<sup>+</sup> – K<sup>+</sup> ATPase** liegt basolateral. Der H<sub>2</sub>O Nachstrom erfolgt durch **Aquaporin 5** ( Benninghoff, 2004 ).

Aquaporin 5 ist ein Kanal – oder Porenprotein, das selektiv Wasser in die Zelle und aus der Zelle transportiert. ( Aquaporin 0 ist in der Augenlinse lokalisiert, Mutationen führen zu Katarakt ) ( Pschyrembel 2002 )

Chlorid und Kalium werden durch **Na<sup>+</sup> – K<sup>+</sup> – 2Cl<sup>-</sup> – Kotransporter** aufgenommen und über Chlorid - und Kaliumkanäle apikal abgegeben. ( Benninghoff, 2004 ).

Im **Endothel** ist der Transportmechanismus ähnlich dem vorderen Hornhautepithel. Die Zellen sezernieren Chlorid durch luminale **Cl<sup>-</sup> – Kanäle**, Kalium über **K<sup>+</sup> – Kanäle**, Wasser und **Na<sup>+</sup>** überwiegend parazellulär ( recht durchlässige Zonula occludens ) und Lactat über **H<sup>+</sup> – Lactat – Kotransporter** .

Lediglich  $\text{HCO}_3^-$  wird durch die Aktivität der **Carboanhydrase** in diesen Zellen laufend gebildet. Chlorid wird zusätzlich an der basolateralen Membran über  $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$  Austauscher aufgenommen. ( Benninghoff, 2004 )

Schon 1969 hat M. Reim gezeigt, daß die Glucosekonzentration abnehmende Werte vom **Blutserum** über **das Kammerwasser** zur **Hornhaut** zeigt. Während umgekehrt Lactat zur Hornhaut hin steigt.

**Sauerstoffmangel** führt zur Quellung und Trübung der Cornea und zur Erhöhung der Lactatkonzentration ( Zander, 1970 ).

Im Bereich des Epithel kommt es erst dann zu einer Sörung, wenn die normalerweise reichen Glykogenvorräte verbraucht sind ( Zander, 1975 ).

Bei der Quellung vergrößern sich die Abstände zwischen den Kollagenlamellen des **Stroma**. Eine **kontinuierliche Wasseraufnahme** erhält die Kollagenfibrillen im Quellungszustand und die notwendige Transparenz ist gewährleistet.

( G. Cremer – Bartels, 1980 )

Die Transparenz der Cornea ist in erster Linie **eine Stoffwechsellistung seiner Grenzschichten**. ( H. Sachsenweger, 2003 ).

### 1.3 Sauerstoffverbrauch

Die Stoffwechselreaktionen (Glykogenolyse, Glykolyse, Pentosephosphatstoffwechsel) führen über Atmungskette, Elektronen – und Protonentransport in den Mitochondrien zur Phosphorylierung von ADP ( oxidative Phosphorylierung ). Beim Elektronentransport wird Sauerstoff verbraucht.

Der Zufuhr von Sauerstoff erfolgt über das vordere Hornhautepithel über den **Tränenfilm** aus der Atmosphäre, für das Endothel aus dem **Kammerwasser**. Der Sauerstoff im Kammerwasser der Vorderkammer stammen überwiegend von den **Irisgefäßen** ( R. Zander, 1975, M. Sachsenweger, 2003 ).

**Der Sauerstoffverbrauch** der Cornea ist ein **Maß** für **die Stoffwechsellistung**.

Maurice D. M., M. V. Riley, 1970 geben  $\text{O}_2$  Verbrauchswerte ( $\mu\text{l O}_2 / \text{mg Trockengewicht h}$ ) der Kaninchenhornhaut von verschiedenen Autoren an:

- 1.1 M. V. Riley 1969
- 1.09 K. Matsumoto, I. Kudo 1966
- 1.2 K. Nonaka, 1958
- 1.1 T. Kohra, 1935
- 0.86 M. E. Langham 1954

**Folgende Faktoren** halten die Transparenz der Cornea und damit die intakte Physiologie aufrecht:

Die **Organisation** der anatomischen regelmäßigen Struktur kann physikalisch durch ihren Feinbau erklärt werden. ( Benninghoff, 2004, Rohen, 1964, Reim, 1971 ).

**Chemischer Aufbau der Grundsubstanz:** Glykosaminoglykane, Glykoproteine  
 Aus Reim, 1971: Verteilung der Glykosaminoglykane in der Cornea (Anteil in Prozent):

<b>Keratan – 6 sulfat</b>	53%
Chondroitin – 6 sulfat	38% ( Greiling u. Stuhlsatz )
Chondroitin	3%

Energieproduktion der Zelle in den Gewebeschichten.

Für die **ständige Dehydration** der Hornhaut ( Ionenpumpe:  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$  aktivierte **ATPase** ) leisten Epithel und Endothel eine entscheidende Rolle. ( Böke, W. ,Thiel, H.J. 1981, Cotlier, E. 1975 )Versuche in vivo:

Nach Vereisung einer Kaninchenhornhaut trat eine vorübergehende ödematöse Trübung der Cornea ein ( Fuhrmeister und Schulz, 1965, aus Reim, M. 1971 ).

**Physiologische Kontrolle der Hydratation:**

Der optimale Hydratationszustand ist abhängig vom Aufrechterhalten eines dynamischen Gleichgewichtes zwischen Wassereinstrom in das Stroma und Wasserausstrom aus dem Stroma.

( **Wassergehalt** von 72 – 82% der Substantia propria ( Stroma )  
 und regulärer Durchmesser der Kollagenfibrillen von **30 nm** ist Voraussetzung )

Der Stoffwechsel des gefäßlosen Corneagewebes

( die Energieversorgung ) erfolgt über Kammerwasser, Tränenflüssigkeit und das Randschlingennetz am Limbus corneae. Aus Reim, 1971 ( Normales Kaninchenauge )

	Cornea, Stroma	Kammerwasser	Tränenflüssigkeit
Glucose	4,5	6,6	0,2
µMol/ g H <sub>2</sub> O			
Lactat	12,4	7,5	1,9
µMol / g H <sub>2</sub> O			

#### 1.4 Verätzungen der Cornea

Verätzungen durch Säure ( z. B. Salz -, Schwefel – oder Salpetersäure ), Laugen ( z. B. Natronlauge oder Kalilauge, Ammoniak ) und Kalkverätzungen durch ungelöschten oder gelöschten Kalk beim Spielen am offenen Kalkbottich, auf Baustellen oder beim **Kalken** von Wänden in landwirtschaftlichen Betrieben. Heute kommt es auch nicht selten zu Verätzungen durch im Handel erhältlichen **Reiniger**.

( **H. Busse , 1990** ) Bei Verätzungen im Stadium I besteht lediglich eine **Rötung des Auges ( Stadium der Rötung )**, während es im Stadium II zu einer **Chemose der Bindehaut** ( ödematöse Schwellung der Bindehaut ) durch toxisches sub – konjunktivales Transsudat, partielle Ischämie der Bindehaut, Epitheldefekte und beginnende Hornhauttrübung kommt, wobei der Eindruck eines insgesamt eher **blassen** Auges entsteht.

( **Stadium der Schwellung**) Im dritten Stadium hat sich das Vollbild des **weißen** Auges im Sinne des sog. **gekochten Fischauges** mit grau – weißlicher Eintrübung der Hornhaut entwickelt. ( **Stadium der Nekrose** )

Die Folge ist eine schwere **fibrinöse Iritis** durch Alkalose des Kammerwassers und oft mit nachfolgendem **Sekundärglaukom**

Später treten ausgedehnte **Verwachsungen** der Conjunctiva tarsi et bulbi auf.

Das Ausmaß der Verätzung ist meist erst **nach Stunden** zu objektivieren.

Eine **sofortige Notfallbehandlung** am Unfallort ist erforderlich.

Bei Kalkverätzungen muß zunächst der **Bindehautsack** von Kalkpartikeln gereinigt werden. Danach sollte man sofort **ausgiebig spülen**, z. B. mit

Leitungswasser. Bei Säure – oder Laugenverletzungen ist es wichtig, sofort

**ausgiebige Spülungen** unter evt. gewaltsamen **Spreizen der Lider** vorzunehmen.

In der augenärztlichen, am besten **stationären** Behandlung steht eine Tropfanästhesie

zur Beseitigung des Blepharospasmus bereit beim weiteren mechanischen Reinigen unter Ektropionieren des Oberlides und ausgiebigen Spülungen mit Pufferlösungen ( Isogutt, bei Kalkverätzungen mit Titriplex III 1% ).

Bei Chemose der Bindehaut mit toxischem Transsudat ist eine radiäre Schlitzung der Bindehaut nach Tropfanästhesie erforderlich.

**Schwere Verätzungen** müssen **stationär** behandelt werden mit Entfernung eingebrannter Kalkpartikel und Dauerspülungen mit einer **Infusionskontaktlinse**, Applikation von Cebion – Lösungen sowie korticoid – und antibiotikahaltigen Augentropfen, medikamentöser Mydriasis durch Atropin, zwei – bis fünf Vitamin C – Lutschtabletten ( nach Reim ) evt. Excision nekrotischer Bindehautbezirke sowie Schleimhautplastik und Einlegen einer Illig – Schale.

Die **Prognose** ist bei schweren Laugen – und Kalkverätzungen ausgesprochen **ernst**. Es kann zur **Eintrübung der Hornhaut** sowie **Symblepharabildung** wegen trophischer Störungen kommen.

Die Prognose der Keratoplastik ist daher ungünstig. ( H. Busse )

Symptomatik aus P. A. Jaensch, G. Pietruschka, 1978:

**Säuren** fällen fast augenblicklich durch Gerinnung die Eiweißstoffe der betroffenen Zellen.

In wenigen Tagen hat sich die „ Demarkationslinie“ zwischen geschädigtem und geschontem Gewebe gebildet.

Sie verteilen sich nicht im Gewebe. – Dies ist jedoch nur bedingt richtig.

Fluorwasserstoff, Schwefel – wie Bromsäure und alle Säuren mit Schwermetallen gehören zu den „progressiven“ Stoffen.

Die **Alkalien** lösen das Gewebe auf ( **Kolliquationsnekrose** ) und dringen noch weiter in der „ Fläche“ wie in der „ Tiefe“ vor. Die anfangs scheinbar **harmlosen** Schädigungen können daher in den folgenden Tagen ernst und schwer werden

**Säuren** dringen nur zögernd durch die Schichten der Hornhaut; wird das Epithel entfernt, dagegen sehr rasch. ( Pathogenese: P. A. Jaensch, G. Pietruschka, 1978 )

**Säureverätzungen** führen zu einer „ oberflächlichen“ **Koagulation** des Gewebes mit „**Krustenbildung**“, die abgetragen werden sollten ( **Koagulationsnekrose** )

( M. Sachsenweger, 2003 )

Laugen, insbesondere Ammoniak, sind bereits 3 bis 20 Minuten später in der Vorderkammer nachweisbar. Nach **Feller und Graupner** ist die Schwere **der Säureverätzung** von der „**Einwirkzeit**“ abhängig, bei Laugen dagegen mehr von **der „Konzentration“**.

Die „**Pufferkapazität**“ von Hornhaut und Vorderkammer ist der wichtigste Faktor, der den Schweregrad der Augenverätzung entscheidet.

Die Pufferkapazität des Kammerwassers ist wesentlich „höher“, als die der Hornhaut. „Hornhaut und Kammerwasser puffern Säuren doppelt so gut wie Laugen“.

Die Verätzung der bulbären Bindehaut und Sklera führt erst dann zu einer sekundären Hornhauttrübung, wenn der Ätzstoff die **vordere Uvea** erreicht und schädigt.

Der pH – Wert ändert sich, sobald die Pufferkapazität erschöpft ist ( Pathogenese P. A. Jaensch, G. Pietruschka, 1978 )

**Alkaliverätzungen** hydrolysieren die Strukturproteine der Hornhaut (**Kolliquationsnekrose** ).

Die ätzende Substanz gelangt damit **rasch** in die Tiefe und kann zu einer Alkalisierung des Kammerwasser mit erheblichen intraokulären Reizungen, Sekundärglaukom und eines Katarakt führen ( M. Sachsenweger, 2003 )

Aus M. Sachsenweger, 2003 werden **3. Schweregrade** unterschieden: ( Modifiziert nach Gassler, 1978, der 5. Schweregrade unterschieden hatte )

Bei Verätzung **ersten Grades ( Rötung** des Auges ) ist die Bindehaut hyperämisch oder chemotisch und es finden sich oberflächliche Epithelläsionen ( Epithelstippung, Erosionen )

Bei Verätzungen **zweiten Grades ( Ischämie )** führen zu großen Epithelerosionen und grauweißlichen Parenchymtrübungen.

Die Schädigung des kornealen „ **Randschlingennetzes**“ folgen

Durchblutungsstörungen des Limbus und der Bindehaut mit Chemosis, Miosis, Iritis mit Proteinaustritt in das Kammerwasser und Sekundärglaukom.

Lysosomale Enzyme ( vorallem Kollagenase ) lösen „das Stroma“ auf.

Leukozyten leiten im späten Verlauf eine „ Gefäßeinsprossung“ ein, Damit ist eine normale Regeneration des Stroma nicht mehr möglich. Die „ **Transparenz**“ des Stroma geht verloren.

Bei Verätzung **dritten Grades ( Nekrose )** sind diese Veränderungen so ausgeprägt, daß vom „ gekochten Fischauge“ gesprochen wird.

Gassler, 1978 beschreibt diesen dritten Grad in 4 a ) Verätzung 4. Grades der „ Bindehaut“ ( gesamte Bindehaut weiß, gefäßlos, stumpf – nekrotisch schuppig ) und 4 b ) – mit Hornhautbeteiligung ( homogen weiße Hornhaut im Sinne eines „ gekochten Fischeauges“ ).

Gerhard, K. Lang, 1998 teilt den Schweregrad der Verätzung in leicht, mittel bis schwer und schwerst ein.

Heute werden lediglich **drei Grade** beschrieben in **Küchle, Hans J., Busse, Holger, 1998**, M. Sachsenweger, 2003.

## 1.5 Glaskörper ( Corpus vitreum )

### 1.5.1 Anatomie und Physiologie

Der Glaskörper füllt die **Camera postrema** ( Camera vitrea bulbi ) zwischen Linse und Retina aus und nimmt 4 / 5 des Augenvolumens ein.

Er besteht zu **99 % aus Wasser** und hat ein spezifisches Gewicht von 1,006.

Er enthält keine „ Blutgefäße“ und „ Nerven“ und besitzt besonders in seinen vorderen Abschnitten **in der Nähe des „ Ziliarkörpers“** und **zur Oberfläche der „ Retina“** hin einzelne amöboid bewegliche Zellen, die Eigenschaften von „ Makrophagen“ besitzen und „**Hyalozyten**“ genannt werden.

Zur Hinterkammer und Linse besteht ebenfalls eine fibrillenreiche oberflächliche Verdichtungszone ( vordere Glaskörpermembran , Membrana vitrea ).

Der Glaskörper besteht aus **Stroma vitreum** ( Kollagenfasergerüst ): 10 – 20 nm dünnen **Kollagenfibrillen** aus **Kollagen Typ I** ( mit Kollagentyp IX besetzt ) und **Kollagen Typ V** ( mit Typ XI besetzt ) und dem **Humor vitreus** (Glaskörperflüssigkeit).

Der Humor vitreus ist eine „ visköse“ Flüssigkeit, die reichlich „ Hyaluronsäure“ enthält sowie geringe Mengen des an Hyaluronsäure bindenden Proteoglykans „ Versican“. **Hyaluronsäure und Proteoglykane** erzeugen einen „ **Quelldruck**“, durch den der Glaskörper gegen die Retina gepresst wird und so den Bulbus von „ innen“ stützt und ihm „ Formstabilität“ verleiht.

Das **kollagene Netzwerk** ist in der Peripherie des Glaskörpers „ dichter“ und an die „ **Basalmembran**“ von **Retina und Ziliarkörper angeheftet** ( **Membrana vitrea**, Glaskörpermembran ).

Starke Verbindungen bestehen besonders im Bereich um die Ora serrata herum und in der Peripherie des N. opticus.

Zwischen Tractus präretinalis und Tractus retrolenticularis dehnt sich die „Intermediärzone“ des Glaskörpers aus.

Die **mittlere, retrolenticuläre Zone** des Corpus vitreum wird von einem „individuell“ unterschiedlich erhaltenem Kanal, Canalis hyaloideus ( **Cloquet – Kanal** ) durchzogen. Durch diesen „Kanal“ erreicht in die Embryonal – und Fetalzeit die „A. hyaloidea“ die Hinterfläche der Linse.

Die Aterie wird später zurückgebildet. (Benninghoff, 2004 )

### 1.5.2 Antigeninjektion in den Glaskörper ( **Immunologie** )

Unter aktiver Immunisierung versteht man das Einbringen eines **Antigen** ( Boviserin ) in den Glaskörper um dabei eine humorale und / oder zellvermittelnde Immunität auszulösen.

Erst nach 10 bis 14 Tagen führt die Immunreaktion zur „Produktion“ **spezifischer Antikörper**. ( Hof, R. Dorries, 2002 )

Ein **ruhender B – Lymphozyt** wandelt sich nach **Antigenstimulierung** in eine **Plasmazelle** um.

Zunächst werden nur Antikörper der Klasse **Ig M** synthetisiert und sezerniert.

**Abbildung** aus Hof, Dörries, 2002: Klassen der menschlichen Immunglobuline

7 Klassen der menschlichen Immunglobuline					
H-Kette	IgG Gamma	IgA Alpha	IgM Mü	IgD Delta	IgE Epsilon
▷ L-Kette	κ oder λ	κ oder λ	κ oder λ	κ oder λ	κ oder λ
▷ Unterklassen	IgG <sub>1</sub> – IgG <sub>4</sub>	IgA <sub>1</sub> , IgA <sub>2</sub>	IgM <sub>1</sub> , IgM <sub>2</sub>	–	–
▷ Molekulargewicht (kDa)	150 monomer	180 monomer oder dimer	900 pentamer	150 – 380 monomer	195 monomer
▷ spez. Antigenbindungsstellen	2	2 oder 4	10	2	2
▷ Komplementfixierung	+	–	+	–	–
▷ Plazentagängigkeit	+	–	–	–	–
▷ Verteilung					
• Blut	+++	++	+++	±	±
• Interstitium	+++	+	+	±	±
• Sekrete	±	+++	++	±	±
▷ Serumhalbwertszeit (Tage)	21	< 4	< 4	< 4	< 4
▷ Bindung an Zellrezeptoren					
• Neutrophile	++	±	–	–	–
• Makrophagen	++	–	–	–	±
• Basophile	±	–	–	–	++
• Mastzellen	±	–	–	–	++

**Funktionelle Eigenschaften der Immunglobulin** – Klassen von Brandis, Pulverer, 1994 ( Tab. 7.3 )

	Ig M	Ig G	Ig A	Ig E	Ig D
<b>Komplementaktivierung</b>					
A ) klassische Sequenz	+	+	-	-	-
m B ) alternative Sequenz	-	+	-	-	-
<b>Reaktion mit Fc – Rezeptoren auf</b>					
A ) Granulozyten	-	++	-	-	-
B ) Monozyten	-	+	-	-	-
C ) NK – Zellen	-	+	-	-	-
D ) Mastzellen	-	-	-	++	-
<b>Membranform auf B – Zellen</b>					
( Antigen – Rezeptor )	++	( + )	( + )	( + )	+
Plazentapassage	-	+	-	-	-
Vorkommen in exokrinen Sekreten	-	-	++	-	-
Agglutination	+	+	+	-	-
Präzipitation	( + )	++	-	-	-
Neutralisation	+	+	+	-	-

**Beteiligung an pathologischen**

**Reaktionen**

Immunkomplex –

Erkrankungen ( **Ig M und Ig G** )

Allergische ( **Ig E** ) Reaktionen vom  
Soforttyp

Nach Bindung an das entsprechende Epitop eines Antigen ist dessen Funktion behindert.

Durch die bivalenten ( Ig A, Ig G ) bzw. pentavalenten Ig M Eigenschaften von Immunglobulinen können antigene Strukturen „**aggregiert**“ werden, was entweder als **Präzipitation** ( von löslichen Produkten ) oder als **Agglutination** ( von partikulären Strukturen ) imponiert. ( Hof, Dörries, 2002 )

Mechanismen der „unspezifischen“ Infektabwehr sind neben „anatomischen“ Faktoren des Glaskörper ( Stroma vitreum, Humor vitreus ), „pysikalische“ Faktoren ( Quelldruck erzeugt von Hyaluronsäure und Proteoglykane )



Das Komplementsystem unterhält **Entzündungsreaktionen**, die im Verlauf einer Infektionskrankheit auftreten können.

Beim **klassischen Weg** wird die Komponente C1 ( bestehend aus den C1 – Komponenten q, r, s,) durch einen Antigen – Antikörperkomplex aktiviert. Dies kommt dadurch zustande, daß im Fc – Stück des Antikörpers eine „Konformationsänderung“ durch die Antigen – Antikörper – Reaktion eintritt. Hierdurch wird ein Rezeptor freigelegt, an den sich C1 anlagert und in Gegenwart von Calcium aktiviert wird.

Kaskadenförmig werden dann nacheinander die anderen C – Faktoren aktiviert.

Das aktivierte C1 q, r, s ist eine Esterase und spaltet C4 in C4 a und **C4 b**.

Das Hauptfragment C4 b bindet **C2**, wobei der Faktor C2 a abgegeben wird.

**Fragment C2 b und C4 b bilden die C3 Konvertase, welche C3 in C3 b und das Anaphylatoxin C3 a umwandelt.**

Aktivierungsvorgang spaltet **C5 b** und Anaphylatoxin C5 a ab.

Spontane Anlagerung der Proteine C6, C7, C8, C9 an das **Fragment C5 b folgt**.

Der terminale **C5 b – C9 – Komplex**, auch membrane attack complex ( MAC ) genannt, führt zu einer Membranschädigung ( Entstehung von **Poren** ).

Einstrom von Natrium in die Poren führt zu einer „osmotischen“ Zell – Lyse.

( Brandis, Pulverer 1994 )

Der **alternative Weg** benötigt keinen Immunkomplex. Dextran und Zymosan von Hefen, bakterielle Lipopolysaccharide, aggregiertes Ig A und Ig E u. a. können zusammen mit Ko – Faktoren im Serum ( Properdin, Faktor B, Faktor D ) zu einer **C3 – Konvertase** führen, die C3 in C3a und C3b umwandelt. **Ab C3b** fließt dieser Nebenschluß in den klassischen Aktivierungsweg ein und endet in der „ Membranschädigung“ und „ Zell – Lysis.

Die Komplement – Aktivierung wird mit Hilfe besonderer, „ natürlich“ vorkommender Inhibitoren:

C1 INA, C4 pl, I, H reguliert. Kontrollprotein C1 INA blockiert die C1 – Esterase und Kontrollprotein C4 pl blockiert die C2 – Komponente mit C4 b, wodurch die Bildung **der C3 – Konvertase** gesteuert wird.

Durch die Kontrollproteine I und H wird eine „unkontrollierte“ Spaltung von C3 verhindert.

Endphase der Kaskade des Komplementsystems ist der Poren – bindende **Membran – Attack – Komplex ( MAC )** bestehend aus **C5 b – 8 und Poly – C9**, bildet als terminaler Lysekomplex der Zellmembran.

Dieser transmembranöse hydrophile Proteinkanal ( **12 nm** Porendurchmesser ) führt über „unkontrollierten Ionenaustausch“ zu einer **osmotischen Lysis** der Zelle.

( Brandis, Pulverer, 1994 )

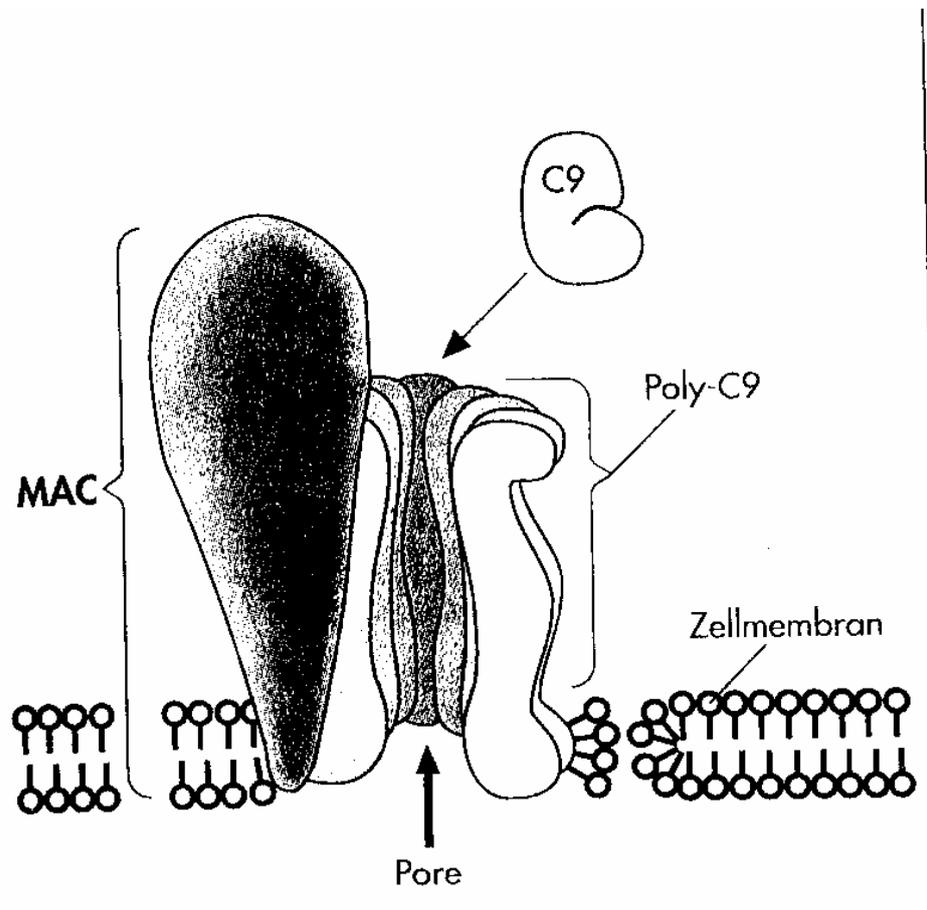


Abb. 4 aus Brandis, Pulverer 1994

Injeziert man eine antigen wirkende Substanz z. B. ein Fremdprotein in den menschlichen und tierischen Organismus, so erfolgt als Reaktion auf den Reiz eine Produktion von Antikörper, die entweder zellständig bleiben oder auch teilweise in die Gewebeflüssigkeit und das Blut abgegeben werden können.

( B. Dieckhues, 1961 )

Eine lokale Antikörperbildung ist demnach in den **einzelnen Augengeweben** möglich.

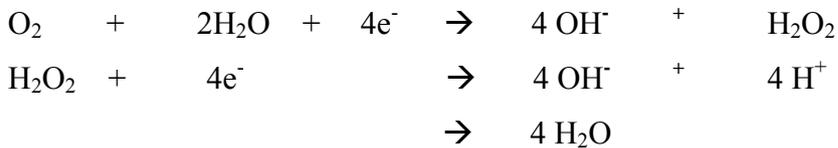
B.Dieckhuss, W. Böke haben schon 1960 elektrophoretisch Antikörper nachgewiesen.

## 1.6 Polarometrische Sauerstoffpartialdruckmessung

### 1.6.1 Die Sauerstoffpartialdruckmessung

Die Sauerstoffpartialdruckmessung mit dem Gas Check AVL 939 Bad Homburg beruht auf einem polarographischen Prinzip. Das Prinzip wird bei L. C. Clark, R. Wolf, D. Granger, Z. Taylor, 1953 dargestellt. Die in einer wässrigen Lösung gelösten Sauerstoffmoleküle werden an einer Edelmetallelektrode ( **Platinkathode** ), die gegenüber der **Referenzanode** ( aus Silber) auf einem konstanten Potential von  $-700\text{ mV}$  .

( Polarisationsspannung ) gehalten wird, und nach der folgenden Reaktionsgleichung elektrochemisch reduziert:



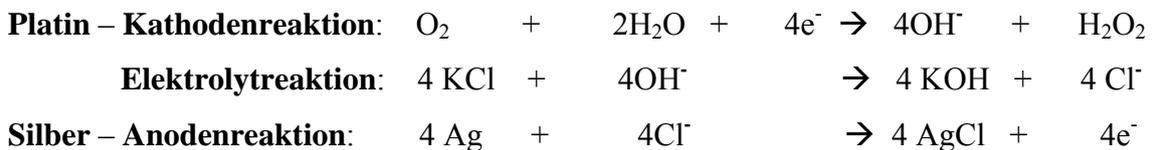
Die von der Platinkathode gelieferten und von der Referenzanode aufgenommenen vier Elektronen bedeuten, daß ein „ elektrischer Strom“ in der wässrigen Lösung fließt. Es entsteht die charakteristische „ Stromkurve“, die Sauerstoffkurve.

Da bei dieser Reaktion Sauerstoff **verbraucht** wird, sinkt die Sauerstoff – Spannung in der unmittelbaren Nähe der Platinelektrode.

### 1.6.2 Prinzip der Sauerstoffpartialdruck - Elektrode

Die Sauerstoffpartialdruck – Elektrode enthält eine **Platinkathode** und eine **Silberanode**; der Elektrolyt ist eine **Kaliumchloridlösung**.

Der gesamte elektrochemische Vorgang in der Elektrode wird vereinfacht durch die folgenden drei Reaktionsgleichungen beschrieben:



Die Platinkathode ist durch eine in sehr geringem Abstand vor der Kathode angeordnete sauerstoff – permeable  $25\text{ }\mu\text{m}$  dicke Teflonmembran von der Probe ( wässrige Lösung, deren Sauerstoffpartialdruck gemessen werden soll ) getrennt. Zwischen Kathode, Anode und Teflonmembran ist ein dünner Elektrolytfilm (  $\text{KCl}$  ).

Durch die vom Sauerstoffpartialdruck in der Meßflüssigkeit abhängige O<sub>2</sub> Diffusion durch die Teflonmembran werden die durch die Platin – Kathodenreaktion **verbrauchten O<sub>2</sub> Moleküle** im Elektrolytfilm ständig ersetzt.

„ Es fließt ein konstanter Reduktionsstrom durch die Elektrode, der ein **Maß** für den **Sauerstoffpartialdruck** in der Meßflüssigkeit ist.“ ( Firma AVL, Bad Homburg ).

Je mehr O<sub>2</sub> Moleküle reduziert werden, desto mehr Reduktionsstrom fließt im Meßsystem ( in Nanoamperèmeter gemessen ).

Wenn die Sauerstoffkonzentration ( Sauerstoffpartialdruck ) gleich Null ist, wird die Stärke des fließenden Reduktionsstroms nur noch durch die Menge des nachdiffundierenden Sauerstoffs bestimmt. Eine Erhöhung der Polarisationsspannung hat dabei keinen Einfluß mehr auf die Stärke des Reduktionsstroms.

### 1.6.3 Aufbau der Sauerstoffpartialdruck - Elektrode

Die Sauerstoffpartialdruck – Elektrode besteht aus einem **Innenteil** ( mit Anschlußkopf ) und dem Elektroden – **Gehäuse** mit integrierter Teflon – **Membran**.

In dem im Innenteil „zentral“ angeordneten dünnen Glasstab ( aus Spezialglas ) sind an der Elektrodenspitze vier symmetrisch verteilte dünne Platindrähte eingeschmolzen.

Die an der Elektrodenspitze in der Stirnfläche des Glasstabes liegenden Endflächen der vier Platindrähte ( Kontaktflächen der **Kathode** ) sind feinst poliert.

Die Platindrähte sind oben im Glasstab vereinigt und an einem Ableitdraht aus Platin angeschlossen, der zum Anschlußkabel der Elektrode führt.

In seinem oberen Teil wird der Glasstab umgeben von der ringförmigen **Referenzanode** aus Silber, die zur Vermeidung einer Eigenpolarisation der Elektrode einen Niederschlag aus Silberchlorid besitzt.

Der Innenteil ist mit dem Anschlußkopf verschraubt.

Der Innenteil ist in ein **glasklares Kunststoff** – Elektroden – **Gehäuse** einzustecken, an deren Spitze sich eine 25 µm dicke semipermeable Teflonmembran befindet.

Das Gehäuse ist mit Elektrolyt gefüllt.

Der Elektrolyt ist eine **0, 15 molare Kaliumchloridlösung**.

Ein O – Ring auf dem Innenstück fixiert die gegenseitige Lage von Innenteil und Gehäuse und dient auch als Dichtung.

Der Innenteil der Sauerstoffpartialdruck – Elektrode bleibt monate – bis jahrelang

funktionsfähig und kann aus dem Gehäuse zum Reinigen herausgenommen werden.

**Abbildung der Sauerstoffpartialdruck – Elektrode** im Schnittbild von der Firma AVL – Bad Homburg. im Abschnitt **3.1.2**, „Die Meßkammer“, dieser Arbeit Abb. 5 dargestellt

#### 1.6.4 Entwicklung der Polarographie

Die Polarographie ist ein elektrochemisches Verfahren zur qualitativen und quantitativen Analyse von Ionen in einer Lösung.

Sie wurde **1922 von Jaroslav Heyrowsky** entwickelt und beruht auf der Messung des Polarisationswiderstandes an einer Quecksilbertropfelektrode. (Aus Wikipedia der Enzyklopädie, 2004 )

Bei der Messung wird eine Spannung vorgegeben und der entstehende Strom abgelesen.

Die Methode mit der Quecksilbertropfelektrode ist relativ aufwendig und nicht für Sauerstoffmessungen in allen Flüssigkeiten geeignet. ( J. Heyrowsky, 1948 )

Die Messung des Sauerstoffpartialdrucks in Gasen und Flüssigkeiten **geschieht heute** überwiegend mit der Platin – Silber / Silberchlorid – Elektrode **von L. C. Clark, D. Granger, Z. Taylor, R. Wolf 1953 entwickelt** und ohne allzu großen Aufwand kann eine genaue Messung durchgeführt werden.

Die Platin – Silber / Silberchlorid – Elektrode der Firma AVL, Bad Homburg ist eine Weiterentwicklung der Clark – Elektrode.

Heute wird die Clark – Elektrode auch **als Biosensor** ausgeführte Meßzelle zur Bestimmung von gelöstem Sauerstoff im Meerwasser eingesetzt. ( Meereschemische Analytik, 2003, A.Kötzinger).

#### 2.1.1. Problemstellung und Thematik

An der Universitäts – Augenklinik Münster wurde die

**Sauerstoffverbrauchsbestimmung** isolierter Rinderhornhäute unter dem Einfluß von Steroidhormonen ( H. Frantzman, 1981 ), unter verschiedenen Aufbewahrungslösungen ( M. Spree, 1983 ) und unter Tränengasverätzungen ( D. Eggert, 1984 ) mit einer Clark – Elektrode ( modifiziert der Firma AVL ) in einer geschlossenen Meßkammer bestimmt.

Der Sauerstoffpartialdruckabfall in der Spezialmeßflüssigkeit **nach Geye** in der geschlossenen Meßkammer an der Platinkathodenspitze durch Reduktion der Sauerstoffmoleküle entlang dem Partialdruckgradienten durch Diffusion,

wurde gemessen.

Bei den Messungen war die gleichmäßige Verteilung der Sauerstoffmoleküle in der Meßflüssigkeit nicht gegeben. M. Spree, 1983 bewies, daß zu Beginn der Meßperiode die Rinderhornhäute schneller atmeten, als gegen Ende der Meßperiode.

Der Sauerstoffverbrauch, ein **Maß für die Atmung** der Cornea richtet sich nach der Diffusion einerseits zur Cornea andererseits zur Platinkathode.

Um eine **gleichmäßige** Verteilung der Sauerstoffmoleküle in der Meßkammer zu erlangen wurde von B. Singer, Kokott, G. Cremer – Bartels, 1981 ein Rührwerk in die Meßkammer integriert.

Die **gleichmäßige** Diffusion der Sauerstoffmoleküle **zur Cornea** und **zur Platinelektrode** im Meßsystem war gegeben.

B. Singer hat mit isolierten Rinderhornhäuten die Wirkung von Corneregen ( ein Vitaminpräparat ) auf den Sauerstoffverbrauch mit dem in die Meßkammer integrierten Rührwerk gemessen.

Das **Ziel** dieser Arbeit sollte sein, mit isolierten **Kaninchenhornhäuten** 12 Tage nach „Antigeninjektion“ ( 0,3 ml Boviserin ) in den Corpus vitreum, zweite Versuchsreihe nach Verätzung der Cornea mit 4 n NaOH Lösung 15 Sekunden lang **in vitro**, dritte Versuchsreihe nach Verätzung der Cornea mit 0,5 n NaOH 15 Sekunden lang **in vivo**, den **Sauerstoffverbrauch** der Cornea mit integriertem Rührwerk in der Messkammer zu messen.

### 3. Material und Methode

#### 3.1. Material

##### 3.1.1. Die Elektrode

Der Aufbau der Sauerstoff – Elektrode, modifizierte Clark – Elektrode der Firma AVL, Bad Homburg ist in Abschnitt 1.6.3 beschrieben und in **Abbildung 5** dargestellt.

Der Sauerstoffpartialdruckabfall ( Atmung der Kaninchenhornhaut ) wird mit dieser modifizierten Clark – Elektrode gemessen.

Vereinfachtes Prinzip der Clark – Elektrode. (Platin – Silber / Silberchlorid – Elektrode)



Der Elektrolyt: ( 0,15 molare KCl – Lösung ) wurde vor einer Messreihe in der Elektrode erneuert und die Elektrode mit einer neuen Kunststoffhülse versehen, die eine **absolut durchgängige** Teflon – Membran an der Elektrodenspitze danach nachweislich hatte.

### 3.1.2 Die Meßkammer

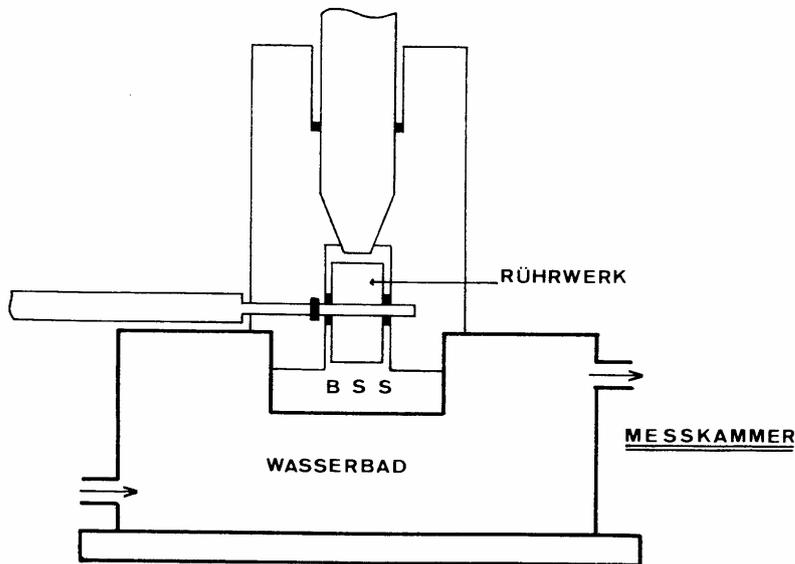
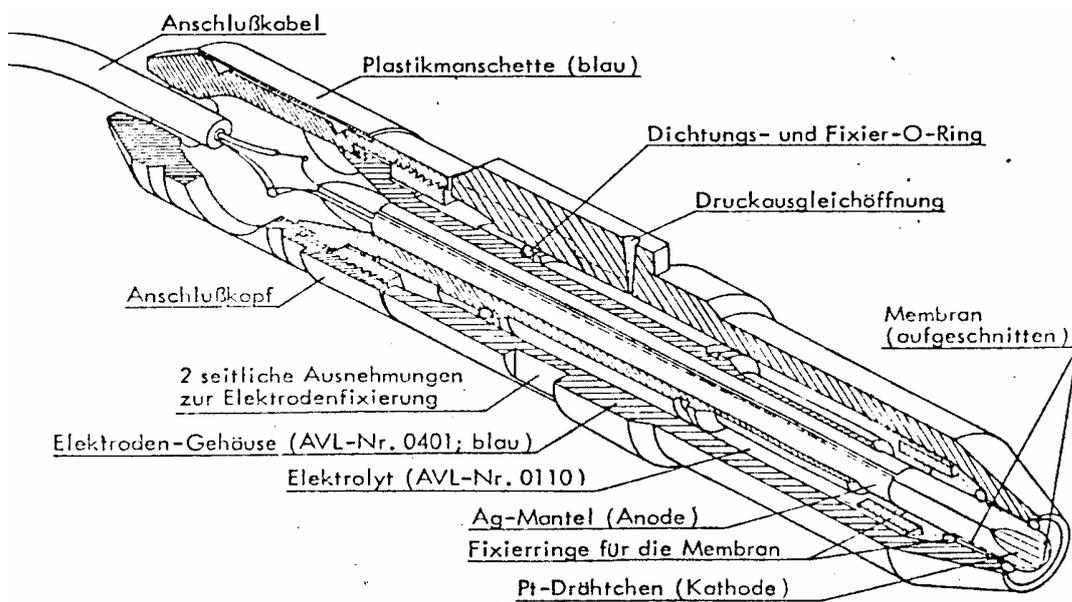


Abb. 5 Aufbau AVL-Elektrode im Messsystem aus Firma AVL

Die Meßkammer **im Meßsystem Abbildung 5** im Maßstab 1:1, wie auch B. Singer, 1985 dargestellt besteht, aus dem zylindrischen Mantel des Wasserbades

( unterer Durchmesser 8 cm ) und einem abnehmbaren Elektrodensatz mittig eingelassen ist eine zylindrische Vertiefung mit einer Tiefe von 2.4 cm und einem Durchmesser von 3 cm.

Das zylindrische Unterteil wird von Wasser mit 35°C durchströmt. Die Konstanz der Wassertemperatur wird durch ein thermostatisch gesteuertes Heizelement gehalten.

Paßgenau läßt sich die Clark – Elektrode, das Rührwerk in die zylindrische Vertiefung einfügen.

Zwischen Clark – Elektrode und Kaninchenhornhaut ist ein zweiarmiges Rührwerk mit 20 U / Min. eingefügt.

Sowohl zylindrischer Mantel, als auch Aufsteckteil mit Clark – Elektrode und Rührwerk sind aus durchsichtiges Acrylglas.

Durch die Wand des Aufsteckteils erstreckt sich eine Achse aus Nylon.

Die Abdichtung der Achse erfolgt mit Simmering.

Die Abdichtung der Clark – Elektrode wird mit zwei O – Ringen durchgeführt.

Der Überlaufgang kann neben des Druckausgleich der Meßflüssigkeit als auch zur Temperaturbestimmung im Innern der Kammer verwendet werden.

Antriebsquelle des Rührwerk ist ein Gleichstrommotor der Firma Fischer in Tumlingen.

Der Motor dreht die Achse 20 U / Min. bei einer Trafospannung von 6 Volt und einer Stromstärke von 1 Ampère.

### 3.1.3 Der Verstärker

Der Verstärker des Reduktionsstromes mit integrierter Polarisationsquelle, vom Institut der Physiologie der WWU Münster entwickelt hat ein Ampèremeter mit einem Meßbereich bis pico (  $10^{-12}$  ) Ampère.

Die Verstärkung läßt sich bis zu einem Bereich von  $3 \times 10^4$  regeln.

Die **Polarisationsspannung** von 0 bis 1000 Millivolt zu regeln wird durch einen DC – to – DC Converter schwankungsfrei gehalten. Beim Versuch war die **Polarisationsspannung -700 mV konstant.**

### 3.1.4 Der Schreiber

Mit einem Variablen – Zeit – Schreiber der Firma Rikadenki – Electronics, Freiburg, dessen Papierschubgeschwindigkeit von 1 cm/h bis 60 cm/Min variiert werden kann, wurde der Abfall des **Reduktionsstromes** aufgezeichnet.

### 3.1.5 Die Meßlösung

Die Spezial – Meßlösung **nach Geye**: Balanced Salt Solution ( BSS ) enthält auf 1000 ml:

7,9 g NaCl

0,35 g KCl

0,44 g MgCl<sub>2</sub>

0,14 g Na<sub>2</sub> HPO<sub>4</sub>

0,24 g NaHCO<sub>3</sub>

1,62 g Glucose

0,35 g CaCl<sub>2</sub>                      ad 1000 ml aqua dest.

Der ph – Wert wurde **auf 7,2 eingestellt**.

Vor jeder Messung wurde die Lösung **frisch angesetzt** und gekühlt.

### 3.1.6 Das Gasgemisch

Die Äquilibration der BSS erfolgte mit einem Gasgemisch **von 21 Vol% Sauerstoff** und 79 Vol% Stickstoff ( entspricht der atmosphärischen Luft ). Dieses Gasgemisch stammte von den Westfalen – Gas – Werken. Das Frittengefäß gefüllt mit BSS, im Wasserbad mit einer Temperatur **von 35°C erwärmt**, wurde mit dem Gasgemisch **jeweils 5 Minuten äquilibriert**.

### 3.1.7 Die Kaninchenhornhäute

Bestimmt wurde der **Sauerstoffpartialdruckabfall ( Sauerstoffverbrauch )** von Kaninchenhornhäuten sofort nach Tötung mit Genickschlag.

Es wurde am cornea – skleralen Übergang mit einem spitzen Skalpell eingeschnitten.

Darauf folgte eine zirkuläre Schnittführung entlang des Limbus mit der leicht gebogenen Schere.

Weiterhin wurde sorgfältig darauf geachtet, daß bei der präparierten Kaninchenhornhaut die Epithelseite sowohl im Aufbewahrungsgefäß mit BSS als auch in der Meßkammer nach oben zu liegen kam.

Die Temperatur der BSS wurde in einem mit Aluminiumfolie geschützten Aufbewahrungsgefäß auf **35°C konstant** gehalten, die auch der Temperatur der Meßkammer entsprach.

Stets wurde die Atmung von zwei Geschwisterhornhäuten des selben Tieres miteinander verglichen.

**Zur Gewichtsbestimmung** wird die Hornhaut auf Aluminiumfolie in einem mit  $\text{CaCl}_2$  gefüllten Exsiccator **mehrere Tage** getrocknet. Die Gewichtsbestimmung erfolgt danach mit einer Präzisionswaage.

### 3.1.7 Die Eichung

Mit Nullpunktlösung der Firma Hillerkus, Krefeld wurde der Nullpunkt des Schreibers bestimmt. An der der Platinkathode fließt dabei **kein Reduktionsstrom**.

Die Ordinatenenteilung erfolgt dabei mit dem **Gasgemisch 21 Vol% Sauerstoff** in Stickstoff der Westfalen – Gaswerke Münster auf dem Papierstreifen des Schreibers.

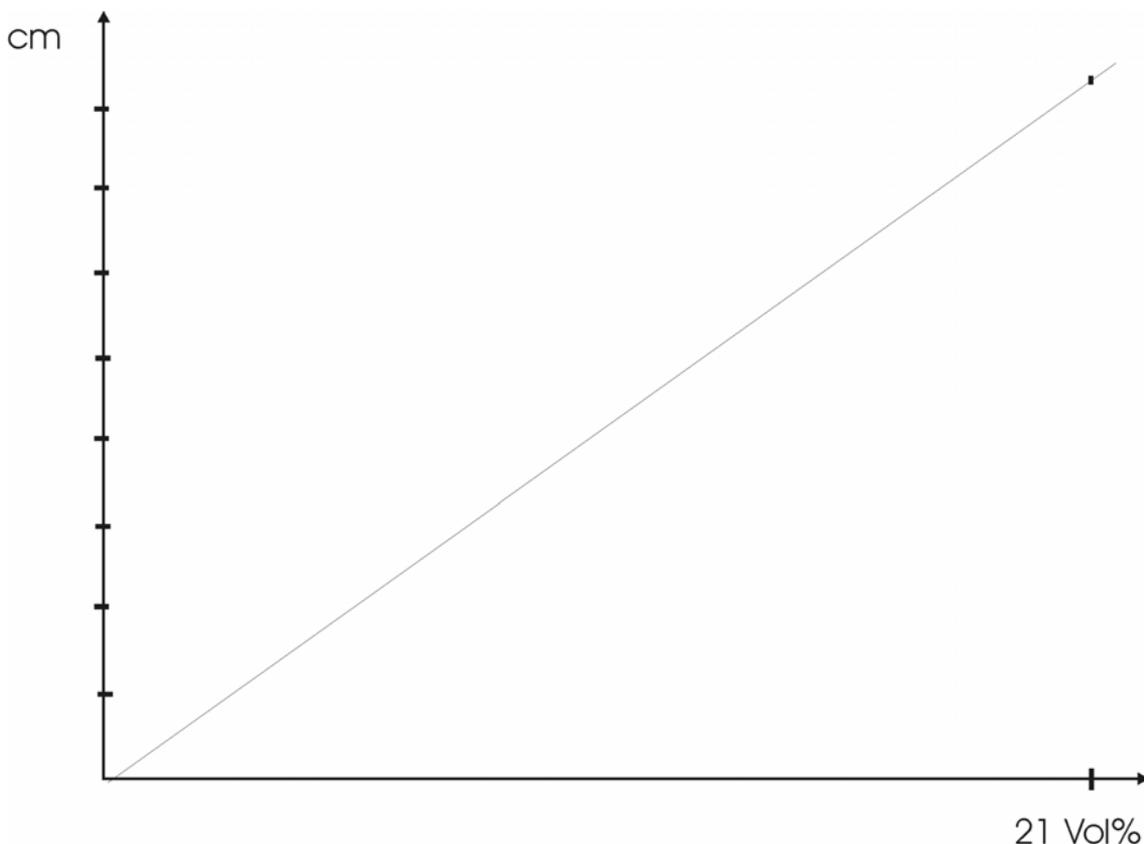


Abb.6: Eichkurve mit Nulllösung  
Abszisse: 21 Vol%  
Ordinate: Schreiberabfall in cm

**Abbildung 6 Eichkurve mit Nulllösung**

## 3.2. Methode

### 3.2.1. Durchführung der Messung

Vor jeder Sauerstoffverbrauchsmessung wurde der **Tagesluftdruck** und die **Raumtemperatur** festgestellt und protokolliert. Mit 70% igem Isopropylalkohol wurden die Meßkammer und der Elektrodenaufsatz desinfiziert. Überprüft wurde die AVL- Clark- Elektrode.

Zum Reinigen kann das Innenteil herausgenommen und anschließend mit einer neuen Kunststoffhülse versehen werden.

Der Elektrolyt: 0,15 molare KCl- Lösung wurde vor jeder Meßreihe in der Elektrode erneuert.

Die Meßkammer wird mit **äquilibrierter 35° C** warmer BSS nach Gey ( 3.1.5 ) gefüllt und die Kaninchenhornhaut immer mit der Epithelseite nach oben in die Meßkammer hineingegeben.

Dann wird der Elektrodeneinsatz, dessen Ränder mit einem Film aus chemisch inertem Silikonfett bestrichen worden ist, langsam auf das Kammerunterteil gesteckt. Hierbei wird die BSS in der Meßkammer verdrängt und steigt im Elektrodeneinsatz hoch . Sehr wichtig war dabei, daß alle Luft über den Überlaufgang entweicht und daß keine Luftbläschen in der Meßkammer waren.

Erst wenn die Meßkammer luftblasenfrei war, wurde das Rührwerk in Gang gesetzt. Danach wurden die Ränder des Einsatzes und der O- Ring der Elektrode nochmals gewissenhaft auf die „ Dichtigkeit“ überprüft.

### 3.2.2. Berechnung des Sauerstoffpartialdruckes in der Meßflüssigkeit

Bestimmt wird die Änderung des Sauerstoffpartialdruckes durch den Sauerstoffverbrauch der isolierten Kaninchenhornhaut

mit der AVL- Clark- Elektrode. Der Abfall des Schreibers entspricht dem Abfall des Partialdruckes des in der Meßflüssigkeit physikalisch gelösten Sauerstoffes.

Die Höhe des Sauerstoffpartialdruckes ( physikalisch gelöster Sauerstoff in der BSS ) läßt sich entsprechend dem Gesetz von „ Dalton“ bestimmen.

Der Gesamtdruck  $P_T$  eines Gasgemisches ist gleich der Summe der Partialdrucke  $P_A$  ,  $P_B$  der Gase. ( Ulrich Haas, 2002)

$$P_T = P_A + P_B$$

$P_T$  = Gesamtdruck eines Gasgemisches

$P_A, P_B$  = Partialdrucke der Gase

Der Dampfdruck  $P_L$  der Balanced Salt Solution errechnet sich nach dem Gesetz von „ Raoult“:

$$P_L = \frac{n_a}{n_s + n_a} \cdot p_{H_2O}$$

$n_a$  = Molzahl  $H_2O$

$n_s$  = Teilchenwert gelöster Substanzen in der BSS

$p_{H_2O}$  bei 35° C ( Wasserdampfdruck bei 35° C ) = 42,2 mm Hg

Der Dampfdruck  $P_L$  der Meßflüssigkeit ( BSS ) beträgt bei 35° C

$$P_L = \frac{55,5}{0,33 + 55,5} \cdot 42,2 = \mathbf{41.95 \text{ mm Hg}}$$

$P_T$  = Gesamtdruck eines Gasgemisches

$P_L$  = Dampfdruck der Meßflüssigkeit ( BSS)

$P_{\text{aktuell}}$  = aktueller Tagesluftdruck

$$P_T = P_L - P_{\text{aktuell}}$$

$P_T$  bei einem aktuellen Tagesluftdruck von 765 mm Hg ist gleich 723,05 mm Hg.

Die benutzte Gasmischung in der Meßflüssigkeit ( BSS ) :

**21 Vol% O<sub>2</sub>** und **79 Vol% N<sub>2</sub>**

$$pO_2 = \frac{21}{100} \cdot 723,05 = 151,84$$

Der Sauerstoffpartialdruck  $pO_2$  mit 21Vol% äquibrierter Meßflüssigkeit ( BSS ) von 35° C beträgt bei einem Tagesluftdruck von 765 mm Hg 151,84 mm Hg.

Der Sauerstoffpartialdruck  $pO_2$  errechnet sich somit:

$$pO_2 = (P_{\text{aktuell}} - P_L) \cdot \frac{21}{100}$$

### 3.2.3 Berechnung des Sauerstoffkonzentration $C_{LO_2}$ der Meßlösung

Man benötigt zur Berechnung des Sauerstoffgehaltes in einer Flüssigkeit ( hier BSS ) den Löslichkeitskoeffizienten ( Bunsenscher Absorptionskoeffizienten ). Für Sauerstofflöslichkeit in der BSS- Lösung wird annäherungsweise der Löslichkeitskoeffizient für eine 0,155 molare NaCl- Lösung benutzt. Er beträgt bei 35° C

$$L \alpha_{O_2} = 0,02327 \frac{\text{cm}^3 \text{ Gas} \cdot L_{\text{at}}}{\text{ml Lösung}} \quad \text{nach D'ans - Lax, 1967.}$$

In einem ml Meßlösung enthält bei einem aktuellen Tagesluftdruck von 765 mm Hg und einer Temperatur von 35° C mit 21 Vol% O<sub>2</sub> äquibriert 0,0046 ml (4,618 µl) Sauerstoffkonzentration. In der Meßkammer befinden sich  $b = 16$  ml. Demnach errechnet sich die Sauerstoffkonzentration:

$$C_{LO_2} = \frac{b \cdot L \alpha_{O_2} \cdot pO_2}{P_{\text{aktuell}}} \quad \text{( aktuelle Formel )}$$

$$C_{LO_2} = \frac{16 \text{ ml} \cdot 0,02327 \cdot 151,84}{765} = 73,89 \mu\text{l}$$

Demnach enthalten 16 ml BSS bei 765 mmHg aktuellem Tagesluftdruck und einer Temperatur von 35° C mit 21 Vol% Sauerstoff äquibriert 73,89 µl.

Aus der aktuellen Formel bei der Berechnung konstant:  $b = 16$  ml ,  $L \alpha_{O_2}$ ,  $P_L$   
variabel:  $pO_2$ ,  $P_{\text{aktuell}}$

### 3.2.4 Berechnung des Sauerstoffverbrauchs V

Der Sauerstoffverbrauch der isolierten Kaninchenhornhaut, der als Maß für die Stoffwechsellistung (Atmung) anzusehen ist, wird wie von verschiedenen Autoren (Kapitel 1.3) in  $\mu\text{l O}_2$  pro mg (Trockengewicht) pro Stunde (h) angegeben.

Der Sauerstoffverbrauch V wird über die Sauerstoffkonzentrationsdifferenzen  $dC_{\text{LO}_2}$  (aktuelle Formel 3.2.3) bei den jeweiligen Sauerstoffpartialdruckdifferenzen  $d p\text{O}_2$  in der Meßflüssigkeit (BSS) anhand des Schreiberabfall der Kurve im Zeitintervall  $dt$  nach folgender Formel errechnet. (Abszisse  $dt$ , Ordinate  $d p\text{O}_2$ )

$$\frac{d p\text{O}_2}{dt} = \frac{dC_{\text{LO}_2} \cdot P_{\text{aktuell}}}{dt \cdot L \cdot \alpha\text{O}_2 \cdot b}$$

$$\frac{1 \cdot dC_{\text{LO}_2}}{m \cdot dt} = \frac{d p\text{O}_2}{dt} \cdot \frac{b \cdot L \cdot \alpha\text{O}_2}{P_{\text{aktuell}}} \cdot \frac{1}{m}$$

$$V = \frac{dC_{\text{LO}_2}}{m \cdot dt} \quad \text{(aktuelle Formel)}$$

$dC_{\text{LO}_2}$  = Sauerstoffkonzentrationsdifferenzen [ $\mu\text{l}$ ]  
 $dt$  = Zeitintervall [h]  
 $m$  = Trockengewicht der Kaninchenhornhaut [mg]

Kontrollrechnung mit Faktor 9,65 (Multiplikationsfaktor bei 1cm Schreiberabfall der Kurve nach Singer, B.)

$$V = \frac{A}{m \cdot dt} \cdot F$$

A = Schreiberabfall der Kurve in cm  
 $m$  = Trockengewicht der Kaninchenhornhaut in mg  
 $t$  = Zeit in Stunde [h]

### 3.2.5 Statistische Berechnung

Das statistische Testverfahren gibt Auskunft, ob bei der Versuchsdurchführung eine Hypothese bestätigt oder nicht bestätigt wird.

Die Hypothese  $H_{1A}$  (Alternativhypothese), die hier aufgestellt wird lautet also:  
 Die Injektion mit Boviserin (elektive Sensibilisierung) in den Corpus vitreum beeinflusst den Sauerstoffverbrauch der isolierten Kaninchenhornhaut in vitro.

Die Hypothese  $H_{1B}$  lautet:

Inwieweit eine Verätzung mit 4n NaOH Lösung der isolierten Kaninchenhornhaut in vitro die Atmung der Kaninchenhornhaut beeinflusst.

Die Hypothese  $H_{1C}$  lautet:

Inwieweit eine Verätzung mit 2 Tropfen 0,5n NaOH Lösung in vivo nach Applikation von 0,9%iger NaCl Lösung 4mal täglich, in Abständen von 4 Stunden an beiden Augen über 5 Tage, die Atmung der isolierten Kaninchenhornhaut in vitro beeinflusst.

Es handelt sich hierbei um eine zweiseitige Alternativhypothese, da keine Aussage über die Richtung der Beeinflussung gemacht wird.

Die einseitige Fragestellung setzt ein Vorwissen über die Richtung des erwarteten Unterschiedes voraus.

Die Unterscheidung zwischen ein- und zweiseitiger Fragestellung ist wichtig, weil sich unter der einseitigen Fragestellung eher ein signifikantes Ergebnis einstellt, d.h. Fehler 2. Art ( $\beta$   $H_0$ -Fehler) ist geringer. (Harms, V. 1998)

Der Alternativhypothese  $H_1$  wird eine Nullhypothese  $H_0$  gegenübergestellt. Die Alternativhypothese legt sich nicht auf einen bestimmten Betrag fest, indem es z.B. heißt, der Erwartungswert  $\mu_A$  sei zwei Einheiten größer als der Erwartungswert  $\mu_B$ . Statt dessen lautet  $H_1$  nur pauschal  $\mu_A$  ist größer  $\mu_B$ .

Die Nullhypothese  $H_0$  hat zum Inhalt, die Alternativhypothese  $H_1$  zu widerlegen.  $H_0$  besagt, dass der beobachtete Effekt in der Grundgesamtheit nicht existiert.

In diesem Fall lautet  $H_{0A}$ : Die Injektion mit Boviserin in den Corpus vitreum hat keinen Einfluss auf den Sauerstoffverbrauch (Atmung) der isolierten Kaninchenhornhaut.

Ein statistischer Test ist ein Entscheidungsverfahren, um zu ermitteln, ob die Nullhypothese  $H_0$  mit den vorliegenden Daten vereinbar ist.

Der Fehler 1. Art:  $H_0$  trifft zu, wird aber aufgrund der Stichprobe verworfen (Ergebnis ist in Wirklichkeit zufallsbedingt).

Wird  $H_0$  mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $\sigma$  von 0,05 (5%) abgelehnt: „schwach signifikant“, von 0,01 (1%) abgelehnt: „signifikant“ und von 0,001 (0,1%) „hochsignifikant“ bezeichnet. (Harms, V. 1998)

Beim Fehler 2. Art liegt die umgekehrte Situation vor:

Der beobachtete Effekt existiert tatsächlich, aber das Ergebnis wird als „nicht signifikant“ bezeichnet, weil die zufallsbedingte Störung groß genug ist, um solche Ergebnisse zu produzieren.

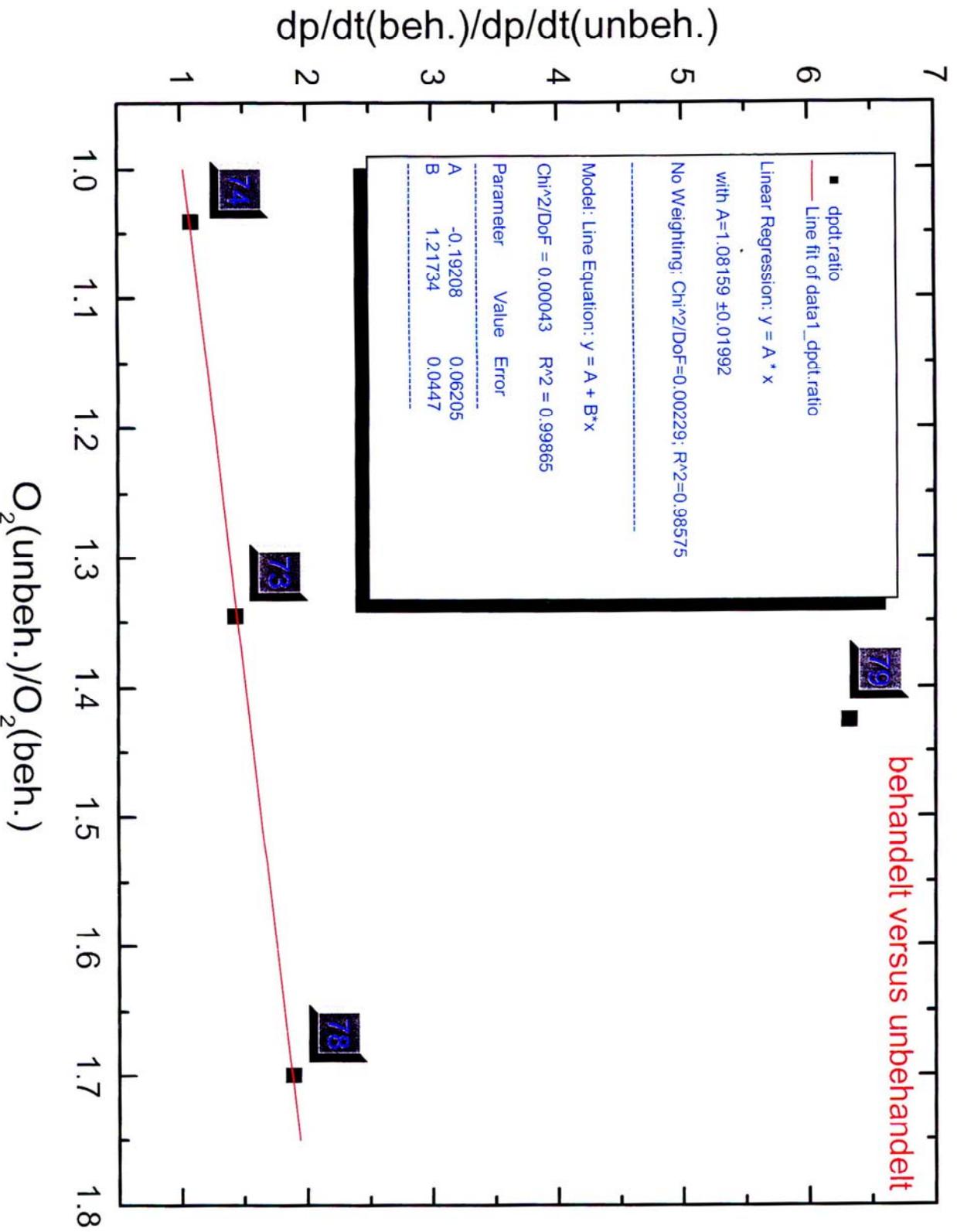
Irrtumswahrscheinlichkeit  $\beta$  hängt ab:

1. Von der Größe des tatsächlich vorhandenen Effektes
2. Von der Fallzahl
3. Von der zufallsbedingten Streuung der Meßwerte
4. Von der Art des statistischen Testverfahrens und der Fragestellung (ein- oder zweiseitig)
5. Von der Irrtumswahrscheinlichkeit  $\sigma$

In den Versuchsreihen werden jeweils zwei Geschwisterkaninchenhornhäute miteinander verglichen.

Abb. V1

# Korrelation zw. Sauerstoffaktivität und Druckabfall



	A(L)	O <sub>2</sub> .unb(Y)	O <sub>2</sub> .beh(Y)	dpdt.unb(Y)	dpdt.beh(Y)	2.ratio(X)	dt.ratio(Y)
1	73	6.39	4.75	21	30	1.34526	1.42857
2	74	6.07	5.83	42.6	46.2	1.04117	1.08451
3	78	2.6	1.53	450	848	1.69935	1.88444
4	79	2.01	1.41	744	4700	1.42553	6.3172

Der Wilcoxon Test für Paardifferenzen ist das Rangsummentestverfahren in den Versuchsreihen. Hierbei bilden die zu jedem Paar gehörenden Differenzen  $d_i = x_{Ai} - x_{Bi}$ , ordnen diese Differenzen ihrem absoluten Betrag  $|d_i|$  nach in zunehmender Größe an und teilen jeder Differenz einen Rangplatz zu.

Die Differenz mit dem Wert  $d=0$  wird fortgelassen. Dann werden die Rangplätze für die negativen Differenzen ( $R_-$ ) und die Rangplätze für die positiven Differenzen ( $R_+$ ) getrennt addiert und entweder eine positive Rangsumme oder negative Rangsumme gebildet.

Als Kontrolle für eventuelle Rechenfehler kann man die Größe:

$$R_+ + R_- = \frac{n(n+1)}{2} \text{ bilden.}$$

Unterscheiden sich beide Rangsummen wesentlich voneinander, so wird man annehmen, dass  $H_1$  zutrifft.

Die Testgröße T wird durch den **kleineren** der beiden Werte  $R_+$  und  $R_-$  gebildet. Aus der **Tabelle** im Anhang (Harms, V. 1998) sind die kritischen Werte von T in Abhängigkeit vom Stichprobenumfang n, die Irrtumswahrscheinlichkeit  $\sigma$  (Fehler 1. Art) und der Fragestellung (ein- oder zweiseitig) aufgeführt.

**$H_0$**  (Nullhypothese) wird verworfen, wenn die Testgröße T den in der Tabelle aufgeführten Wert **nicht** überschreitet. (Harms, V. 1998)

Interpretation der Daten:

Lage- oder Lokalisationsmaß

Arithmetischer Mittelwert  $\bar{x}$

Die arithmetrischen Mittelwerte errechnen sich aus:

$$\bar{x} = \frac{\text{Summe aller Messwerte}}{\text{Anzahl aller Messwerte}} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n}$$

Streuungs- oder Dispersionsmaße

Varianz  $s^2$ : Die empirische Varianz ist das am häufigsten verwendete Streuungsmaß. Sie ergibt sich als **durchschnittliches Abweichungsquadrat**.

$$s^2 = \frac{\text{Summe aller Abweichungsquadrate}}{\text{Zahl der Meßwerte} - 1} = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}$$

Die Varianz  $s^2$  ist jedoch ohne anschauliche Bedeutung.

Konkrete anschauliche Bedeutung ist die Standardabweichung s

$s = \sqrt{s^2}$  (Varianz) hat konkrete anschauliche Bedeutung.

Bei der Gauß- oder Normalverteilung liegen ca. 68,27% der Werte von  $\bar{x} \pm s$ , also in der Entfernung von höchstens einer Standardabweichung vom Mittelwert  $\bar{x}$ .

Etwa 95% der Meßwerte liegen im Bereich  $\bar{x} \pm 2s$ .

Ca. 99,7% im Intervall von  $\bar{x} \pm 3s$ .

### Korrelationskoeffizient

Der Korrelationskoeffizient macht Aussagen darüber, wie eng der lineare statistische Zusammenhang zwischen zwei Größen ist.

### Regressionsanalyse

Die Regressionsanalyse dient dazu, Schlüsse von einer Größe auf die andere zu ziehen, d.h. bei einem gegebenen x-Wert den y-Wert zu errechnen. Die Regressionsgerade von x und y dient der Schätzung des x-Wertes aus dem y-Wert. Sie liegt so, dass die Streuung der x-Werte minimal ist.

(Sauerstoffverbrauch unbehandelt / behandelt zu  $\frac{dp}{dt}$  unbehandelt / behandelt)

$$\sum_{i=1}^n x_i (x_i - \bar{x})$$

Der Produktmoment – Korrelationskoeffizient r nach Pearson ist nur dann interpretierbar, wenn:

- Beide Variablen aus normalverteilten Grundgesamtheiten stammen, und
- Die Variablen in einer „linearen“ Abhängigkeit zueinander stehen.

$$SAQ_{xy} = \frac{SAP}{\sqrt{SAO_X \cdot SAO_Y}}$$

$SAO_X =$  Summe der Abweichungsquadrate  $(x - \bar{x})^2$

$SAO_Y =$  Summe der Abweichungsprodukte  $(y - \bar{y})^2$

$SAP =$  Summe der Abweichungsprodukte und Summe der Abweichungsquadrate

Wenn man den Korrelationskoeffizienten quadriert erhält man das Bestimmungsmaß, das Werte zwischen 0 und 1 annehmen kann. Das Bestimmungsmaß sagt aus, welcher Anteil der Varianz einer Größe durch die Korrelation mit einer anderen Größe bestimmt wird.

Die Bedeutung des Korrelationskoeffizienten wird häufig **überschätzt**. Der Korrelationskoeffizient sagt lediglich aus, wie groß der stochastische d.h. statistische Zusammenhang ist, der sich unter der Hypothese einer Abhängigkeit zwischen x und y findet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Versuchsreihe I

#### Durchführung der Versuche

12 Tage nach Injektion von 0,3ml Boviserin in den Corpus vitreum eines weißen Kaninchens, wurden nach töten des Tieres die Kaninchenhornhäute trepaniert und die rechte und linke Cornea in zwei offene Glasgefäße mit 20ml gefüllter BSS gegeben. Die zwei Glasgefäße waren markiert und sofort wurde die Atmung einer Cornea bestimmt, während die andere Cornea bis zur Messung im Kühlschrank des Labors verwahrt wurde.

In dieser immunologischen Versuchsreihe wurden 14 Kaninchenhornhäute gemessen.

Tabelle I gibt den jeweiligen Abfall des Sauerstoffpartialdruck  $dp$  in der Meßlösung, ausgedrückt im Zeitintervall **dt in Sekunden [s]**, wieder.

Tabelle Ia

$H_1$  = keine Injektion in den Corpus vitreum des Kaninchenauges ( $x_{A1}$ )

$H_2$  = Injektion in den Corpus vitreum des Kaninchenauges ( $x_{B1}$ )

Hornhautpaar	$H_1$ Links	$H_2$ Rechts
Hornhautpaar 73		
dp 150 – 130 mm Hg	21	30
dp 140 – 120 mm Hg	25,2	36
Hornhautpaar 74		
dp 150 – 130 mm Hg	42,6	46,2
dp 140 – 120 mm Hg	53,0	66
Hornhautpaar 78		
dp 150 – 130 mm Hg	450	847,9
dp 140 – 120 mm Hg	768	bis 122 mm Hg
Hornhautpaar 79		
dp 150 – 130 mm Hg	744	4704
dp 140 – 120 mm Hg	1320	bis 129

Hornhautpaar 75	$H_2^L$	$H_2^R$
dp 150 – 130 mm Hg	313,5	367,4
dp 140 – 120 mm Hg	337,5	306,9

Hornhautpaar 76

dp 150 – 130 mm Hg	867	960
dp 140 – 120 mm Hg	1229	1134
	(126 mm Hg)	

Hornhautpaar 77

dp 150 – 140 mm Hg	732	981
dp 140 – 130 mm Hg	590,2	663,7
dp 150 – 130 mm Hg	1322,2	1644,7

Statistiken:

Sauerstoffpartialdruckabfall  
dp 150 – 130 mm Hg in Sekunden

Wilcoxon-Test für Paardifferenzen

Gegeben 2 verbundene oder paarige Stichproben.

$d_1 - d_{10}$  = Differenz in Sekunden [s]

$D_{\text{Proz}}$  = Differenz in % (nicht injiziert in Corpus vitrium = 100%)

Beo.	$X_{Ai}$	$X_{Bi}$	Differenzen	$D_{\text{Proz}}$
1	21	30	$d_1 = +9$	142,85
2	42,6	46,2	$d_2 = +3,6$	108,45
3	450	847,9	$d_3 = +397,9$	188,42

$X_{Ai} (X_{A1} - X_{A3})$   
= 171,2

4	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">171,2</span>	367,4	$d_4 = +196,2$	214,60
5		313,5	$d_5 = +142,3$	183,11
6		960,3	$d_6 = +789,1$	560,92
7		867	$d_7 = +695,8$	506,42
8		1644,7	$d_8 = +1473,5$	960,68
9		1322,2	$d_9 = +1151$	772,31
10		4704	$d_{10} = +4532,8$	2747,19

---

Mittelwert	----- $X_{Ai} = 171,2$	----- $X_{Bi} = 1110,62$	----- $D_{\text{Proz}} = 638,49 \%$
Standardabweichung	$s = 241,68$	$s = 1369,58$	$s = 796,38$

### Wilcoxon-Test für Paardifferenzen

Die einzelnen Differenzen erhalten folgende Rangplätze (R.Plätze):

	$d_2$	$d_1$	$d_5$	$d_4$	$d_3$	$d_7$	$d_6$	$d_9$	$d_8$	$d_{10}$
R.Plätze:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Summe der Rangplätze der positiven Differenzen  $R_+ = 55$

Summe der Rangplätze der negativen Differenzen  $R_- = 0$

Kontrolle für Rechenfehler kann man die Größe bilden:

$$R_+ + R_- = \frac{n(n+1)}{2}$$

$$55+0 = \frac{10(11)}{2}$$

Die Testgröße T wird durch den kleineren der beiden Werte  $R_+$  und  $R_-$  gebildet.

$$R_+ = 55$$

$$R_- = 0 = \text{Testgröße T}$$

In Tabelle IV (Harms, 1998)

Der kritische Wert beträgt bei  $n=10$  Stichproben für die zweiseitige Fragestellung und eine angenommene Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,02$  (2%).

$$T_{(\alpha=0,02, n=10)} = 5 \text{ und für } T_{(\alpha=0,01, n=10)} = 3$$

Da die Testgröße T die kleinere der beiden Rangsummen den kritischen Wert nicht überschreitet, kann die Nullhypothese **verworfen** werden.

$T = R_- = 0$  überschreitet  $T_{(\alpha=0,02, n=10)} = 5$  bzw.  $T_{(\alpha=0,01, n=10)} = 3$  **nicht**.

Ergebnis: Die Nullhypothese  $H_{0A1}$ : Die Injektion mit 0,3ml Boviserin in den Corpus vitrium (elektive Sensibilisierung) hat keinen Einfluss auf die Atmung (Sauerstoffverbrauch) **wird verworfen**.

Die Alternativhypothese  $H_{1A}$ : Die Injektion mit 0,3ml Boviserin in den Corpus vitrium **beeinflusst** den Sauerstoffverbrauch und führt mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% zu einer **Verschlechterung** der Atmung von isolierten Kaninchenhornhäuten in vitro.

Tabelle Ib

Sauerstoffverbrauch in  $\mu\text{l O}_2$  pro mg Trockengewicht pro Stunde [ $\mu\text{l/h} \cdot \text{mg}$ ] $H_1$  = keine Injektion in den Corpus vitreum des Kaninchenauges ( $x_{A1}$ ) $H_2$  = Injektion in den Corpus vitreum des Kaninchenauges ( $x_{B1}$ )

	$H_1$ Links	$H_2$ Rechts
Hornhautpaar 73	6,39	4,75
Hornhautpaar 74	6,04	5,83
Hornhautpaar 78	2,60	1,53
Hornhautpaar 79	2,01	1,408
	$H_2^L$	$H_2^R$
Hornhautpaar 76	2,198	1,374
Hornhautpaar 75	3,266	3,079
Hornhautpaar 77	0,745	0,7153

Statistiken:

Sauerstoffverbrauch in  $\mu\text{l O}_2$  pro mg Trockengewicht pro Stunde [ $\mu\text{l/h} \cdot \text{mg}$ ] $d_1 - d_{10}$  = Differenz

Beo.	$x_{Ai}$	$x_{Bi}$	Differenzen
1	6,39	4,75	$d_1 = -1,64$
2	6,04	5,83	$d_2 = -0,21$
3	2,60	1,53	$d_3 = -1,07$

 $x_{Ai} (x_{A1} - x_{A3})$   
 $= 5,01$ 

4	<span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">5,01</span>	2,190	$d_4 = -2,82$
5		1,374	$d_5 = -3,64$
6		3,266	$d_6 = -1,744$
7		3,079	$d_7 = -1,931$
8		0,745	$d_8 = -4,265$
9		0,7153	$d_9 = -4,2947$
10		1,408	$d_{10} = -3,602$

---

Mittelwert	----- $x_{Ai} = 5,01$	----- $x_{Bi} = 2,488$	--- $d = -2,521$
Standardabweichung	$s = 2,09$	$s = 1,726$	$s = 1,409$

### Wilcoxon-Test für Paardifferenzen

Die einzelnen Differenzen erhalten folgende Rangplätze (R.Plätze):

	d <sub>9</sub>	d <sub>8</sub>	d <sub>5</sub>	d <sub>10</sub>	d <sub>4</sub>	d <sub>7</sub>	d <sub>6</sub>	d <sub>1</sub>	d <sub>3</sub>	d <sub>2</sub>
R.Plätze:	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Summe der Rangplätze der positiven Differenzen  $R_+ = 0$

Summe der Rangplätze der negativen Differenzen  $R_- = 55$

Kontrolle für Rechenfehler kann man die Größe bilden:

$$R_+ + R_- = \frac{n(n+1)}{2}$$

$$0+55 = \frac{10(11)}{2}$$

$$R_+ = 0 = \text{Testgröße } T$$

Tabelle IV (Harms, 1998):

Der kritische Wert beträgt bei  $n=10$  Stichproben für die zweiseitige Fragestellung und einer angenommenen Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,01$  (1%).

$$T_{(\alpha=0,01, n=10)} = 3$$

Ergebnis: Die Nullhypothese  $H_{01}$ : Die Injektion mit 0,3ml Boviserin in den Corpus vitrium hat **keinen Einfluss** auf den Sauerstoffverbrauch **wird verworfen**, da die Testgröße  $T$  die kleinere der Rangsummen den kritischen Wert nicht überschreitet.

Die Statistiken mit Wilcoxon-Test für Paardifferenzen: Sauerstoffpartialdruckabfall  $dp$  150 – 130 mm Hg in Sekunden und Sauerstoffverbrauch in  $\mu\text{l/h} \cdot \text{mg}$  bestätigen die Alternativhypothese  $H_{1A}$ : Die Injektion mit 0,3ml Boviserin in den Corpus vitrium **beeinflusst** den Sauerstoffverbrauch von isolierten Kaninchenhornhäuten. Die Atmung ist, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1%, **verschlechtert**.

Aus der Grafik (lineare Regression)  $\frac{dp}{dt}$  (injeziert/nicht injeziert)

zu  $VO_2$  (injeziert/nicht injeziert) geht hervor, das Hornhautpaar 79 außer der Reihe liegt. Aus diesem Grund wurde das linke Kaninchenauge von 79 (nicht injeziert) bei der Berechnung nicht berücksichtigt.

Abbildung VI : Grafik Korrelation zwischen Sauerstoffverbrauch (Sauerstoffaktivität) und Druckabfall.

## 4.2 Versuchsreihe II

### Durchführung der Versuche

Verätzung der Kaninchenkornea mit 4n NaOH 15 Sekunden lang in vitro.  
Augenpaare: 73, 74, 78, 79

Mit einem Filterpapierstück von 5,5mm Durchmesser mit 2 Tropfen einer 4n NaOH Lösung beschickt und anschließend mit einer chirurgischen Pinzette 15 Sekunden lang auf die epitheliale Vorderfläche der Kaninchenkornea gelegt. Danach wurde die Kaninchenkornea zuerst mit physiologischer Kochsalzlösung ausgiebig gespült und in ein offenes Glasgefäß mit 20ml gekühlter BSS gegeben. Nach Kontrolle des pH-Wertes der BSS-Lösung wurde die Kaninchenhornhaut sofort in die Meßkammer gegeben und der Abfall des Sauerstoffpartialdruckes im Zeitintervall  $dt$  registriert.

### Tabelle IIa

Abfall des Sauerstoffpartialdruckes  $dp$  im Zeitintervall  $dt$  [s].  
 $H_2$  = Kaninchenkornea geätzt mit 4n NaOH ( $x_{Bi}$ )

	$H_2$ Links	$H_2$ Rechts
Hornhautpaar 73		
dp 150 – 130 mm Hg	765	1401
Hornhautpaar 74		
dp 150 – 130 mm Hg	504	834
Hornhautpaar 78		
dp 150 – 130 mm Hg	474	4025 (nur bis 147mm Hg)
Hornhautpaar 79		
dp 150 – 130 mm Hg	1026	keine Atmung bis 150mm Hg 1326

Statistiken:

Sauerstoffpartialdruckabfall dp 150 – 130mm Hg in Sekunden

Wilcoxon-Test für Paardifferenzen

$d_1 - d_7 =$  Differenz in Sekunden

$D_{\text{Proz.}}$  = Differenz in Prozent (unbehandelte Kaninchenhornhaut = 100%)

$x_{Ai}$  = unbehandelte Augenpaare 73, 74, 78, 79 (**Tabelle Ia**)

$x_{Bi}$  = behandelte Augenpaare 73, 74, 78, 79 mit 4n NaOH 15 Sekunden lang in vitro ( $H_2$ )

Beo.	$x_{Ai}$	$x_{Bi}$	Differenzen	$D_{\text{Proz}}$
1	21	765	$d_1 = +744$	3642,85
2	42,6	504	$d_2 = +461,4$	1183,09
3	450	474	$d_3 = +24$	105,33
4	744	1026	$d_4 = +282$	137,90
5	30	1401	$d_5 = +1371$	4670
6	46,2	834	$d_6 = +787,8$	1805,79
7	847,9	4025	$d_7 = +3177,1$	384,70

(8) Anmerkung: Kaninchenhornhaut 79 rechts nur bis dp 150 1326 = keine Atmung

Mittelwert	$x_{Ai} = 311,67$	$x_{Bi} = 1289,85$	$D_{\text{Proz.}} = 1704,24\%$
Standardabweichung	$s = 365,21$	$s = 1246,96$	$s = 1806,79$

Im Mittel ist die Atmung (Sauerstoffpartialdruckabfall) nach 15 Sekunden verätzung mit 4n NaOH verlangsamt. ( $D_{\text{Proz.}} = 1704,24\%$  mit Standardabweichung  $s = 1806,79$ )

Wilcoxon-Test für Paardifferenzen:

Die einzelnen Differenzen erhalten folgende Rangplätze (R.Plätze):

	$d_3$	$d_4$	$d_2$	$d_1$	$d_6$	$d_5$	$d_7$
R.Plätze:	1	2	3	4	5	6	7
	+	+	+	+	+	+	+

Summe der Rangplätze der positiven Differenzen  $R_+ = 28$

Summe der Rangplätze der negativen Differenzen  $R_- = 0$

Kontrolle für Rechenfehler kann man die Größe bilden:

$$R_+ + R_- = \frac{n(n+1)}{2}$$

$$28+0 = \frac{7(8)}{2}$$

Die Testgröße T wird durch den kleineren der beiden Werte  $R_+$  und  $R_-$  gebildet.

$$R_+ = 28$$

$$R_- = 0 = \text{Testgröße T}$$

In Tabelle IV (Harms, 1998)

Kritischer Wert bei  $n=7$  Stichproben für die zweiseitige Fragestellung und angenommene Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,10$  (10%).

$$T_{(\alpha=0,10, n=7)} = 3$$

und

$$T_{(\alpha=0,02, n=7)} = 0$$

Da die Testgröße  $T$  die kleinere der beiden Rangsummen den kritischen Wert nicht überschreitet, kann die Nullhypothese  $H_{0B}$  verworfen werden.

Ergebnis: Die Nullhypothese  $H_{0B}$ : Eine Verätzung mit 4n NaOH-Lösung 15 Sekunden lang der isolierten Kaninchenhornhaut in vitro die Atmung nicht beeinflusst verworfen wird.

Die Alternativhypothese  $H_{0B}$ : Eine Verätzung der isolierten Kaninchenhornhaut mit 4n NaOH-Lösung 15 Sekunden lang in vitro und anschließender ausgiebiger Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung in vitro beeinflusst die Atmung **signifikant**.

Tabelle IIb:

Sauerstoffverbrauch in  $\mu\text{l O}_2$  pro mg Trockengewicht pro Stunde [ $\mu\text{l/h} \cdot \text{mg}$ ]

$H_1$  = Kaninchenkornea unbehandelt ( $x_{Ai}$ ) Augenpaare 73, 74, 78, 79 (Tabelle Ib)

$H_2$  = Kaninchenkornea verätzt mit 4n NaOH-Lösung 15 Sekunden lang; behandelt ( $x_{B1}$ )

	$H_1$	$H_2$
Hornhautpaar 73 Links	6,39	1,2675
Hornhautpaar 73 Rechts	4,75	0,6472
Hornhautpaar 74 Links	6,04	2,211
Hornhautpaar 74 Rechts	5,83	1,8087
Hornhautpaar 78 Links	2,60	1,1807
Hornhautpaar 78 Rechts	1,53	0,4377
Hornhautpaar 79 Links	2,01	0,507
Hornhautpaar 79 Rechts	1,408	0,1865

Statistiken:

Sauerstoffverbrauch in  $\mu\text{l O}_2$  pro mg Trockengewicht pro Stunde [ $\mu\text{l/h} \cdot \text{mg}$ ]

$d_1 - d_8 = \text{Differenz}$

Beo.	$x_{Ai}$	$x_{Bi}$	Differenzen
1	6,39	1,2675	$d_1 = -5,12$
2	4,75	0,6472	$d_2 = -4,10$
3	6,04	2,211	$d_3 = -3,83$
4	5,83	1,8087	$d_4 = -4,03$
5	2,60	1,1807	$d_5 = -1,42$
6	1,53	0,4377	$d_6 = -1,09$
7	2,01	0,5057	$d_7 = -1,50$
(8	1,41	0,1865	$d_8 = -1,22)$

(Hornhautpaar 79 Rechts aufgrund zu geringer Atmung nicht berücksichtigt)

---

Mittelwert	$x_{Ai} = 4,16$ ( $x_{A1} - x_{A7}$ )	$x_{Bi} = 1,15$ ( $x_{B1} - x_{B7}$ )	$d = -3,012$
Standardabweichung	$s = 2,066$	$s = 0,677$	$s = 1,625$

### Wilcoxon-Test für Paardifferenzen

Die einzelnen Differenzen erhalten folgende Rangplätze (R.Plätze):

	$d_1$	$d_2$	$d_4$	$d_3$	$d_7$	$d_5$	$d_6$
R.Plätze:	1	2	3	4	5	6	7
	-	-	-	-	-	-	-

Summe der Rangplätze der positiven Differenzen  $R_+ = 0$

Summe der Rangplätze der negativen Differenzen  $R_- = 28$

Kontrolle für Rechenfehler kann man die Größe bilden:

$$R_+ + R_- = \frac{n(n+1)}{2}$$

$$0 + 28 = \frac{7(8)}{2}$$

$$R_+ = 0 = \text{Testgröße } T$$

Tabelle IV (Harms, 1998):

Der kritische Wert beträgt bei  $n=7$  Stichproben für die zweiseitige Fragestellung und einer angenommenen Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,10$  (10%)

$$T_{(\alpha=0,10, n=7)} = 3$$

und Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,02$  (2%)

$$T_{(\alpha=0,02, n=7)} = 0.$$

Ergebnis: Die Nullhypothese  $H_{0B}$ : Eine Verätzung mit 4n NaOH-Lösung 15 Sekunden lang in vitro beeinflusst die Atmung nicht, verworfen wird.

Die Alternativhypothese  $H_{1B}$ : Eine Verätzung der isolierten Kaninchenhornhaut mit 4n NaOH-Lösung 15 Sekunden lang in vitro und anschließender ausgiebiger Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung beeinflusst den Sauerstoffverbrauch signifikant. Bei allen 7 Kaninchenhornhäuten ist jeweils ein verminderter Sauerstoffverbrauch der behandelten Kaninchenkornea mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 2% nachzuweisen.

### 4.3 Versuchsreihe III

#### Versuchsdurchführung

Polarographische Messung verätzter Kaninchenkornea **in vivo**.

Nachdem die Tiere narkotisiert waren, wurde sofort mit der Verätzung begonnen. Dazu wurde ein Filterpapierstückchen von 5,5mm Durchmesser ausgestanzt, mit 2 Tropfen 0,5n NaOH-Lösung beschickt und anschließend mit einer chirurgischen Pinzette 15 Sekunden auf die Kaninchenhornhaut gelegt.

Nach lokaler Applikation von 0,9%iger NaCl-Lösung 4mal täglich in Abständen von 4 Stunden an beiden Augen (je zwei Tropfen) über 5 Tage.

Es wurden 4 Tiere getötet und die Kaninchenhornhäute trepaniert und in zwei offene Glasgefäße mit 20ml gekühlter BSS gegeben.

Es standen 6 verätzte Kaninchenhornhäute zur polarographischen Messung zur Verfügung.

Tabelle IIIa:

Abfall des Sauerstoffpartialdruckes  $dp$  im Zeitintervall  $dt$  [s].

$H_1$  = Kaninchenkornea unbehandelt ( $x_{A1}$ )

$H_2$  = Kaninchenkornea geätzt mit 0,5n NaOH ( $x_{B1}$ ) in vivo

	$H_2$ Links	$H_1$ Rechts
Hornhautpaar 25.11		
dp 150 – 130 mm Hg	1524	31,2
	$H_2$ Links	$H_2$ Rechts
Hornhautpaar 2.2		
dp 150 – 130 mm Hg	294	258



### Wilcoxon-Test für Paardifferenzen

Die einzelnen Differenzen erhalten folgende Rangplätze (R.Plätze):

	$d_5$	$d_2$	$d_3$	$d_1$	$d_4$
R.Plätze:	1	2	3	4	5
	+	+	+	+	+

Summe der Rangplätze der positiven Differenzen  $R_+ = 15$

Summe der Rangplätze der negativen Differenzen  $R_- = 0$

Kontrolle für Rechenfehler kann man die Größe bilden:

$$R_+ + R_- = \frac{n(n+1)}{2}$$
$$15+0 = \frac{5(6)}{2}$$

Die Testgröße T wird durch den kleineren der beiden Werte  $R_+$  und  $R_-$  gebildet.

$$R_+ = 15$$

$$R_- = 0 = \text{Testgröße T}$$

In Tabelle IV (Harms, 1998)

Kritischer Wert bei  $n=5$  Stichproben für die zweiseitige Fragestellung und angenommene Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,10$  (10%).

$$T_{(\alpha=0,10, n=5)} = 0$$

Da die Testgröße T die kleinere der beiden Rangsummen den kritischen Wert nicht überschreitet, kann die Nullhypothese  $H_{0C}$  verworfen werden.

Ergebnis: Die Alternativhypothese  $H_{1C}$ : Eine Verätzung der Kaninchenhornhaut mit 2 Tropfen 0,5n NaOH-Lösung 15 Sekunden lang in vivo und lokaler Applikation von 0,9%iger NaCl 4mal täglich in Abständen von 4 Stunden beeinflusst die Atmung (Sauerstoffverbrauch) der isolierten Kaninchenhornhaut in der Messkammer. Bei Kaninchenhornhaut 24.11 Rechts: Gekochtes Fischauge war ein Sauerstoffpartialdruckabfall nicht mehr zu registrieren. (Stadium der Nekrose: 3.Grad Verätzung)

Tabelle IIIb:

Sauerstoffverbrauch in  $\mu\text{l O}_2$  pro mg Trockengewicht pro Stunde [ $\mu\text{l/h} \cdot \text{mg}$ ]

$H_1$  = Kaninchenkornea unbehandelt ( $x_{Ai}$ )

$H_2$  = Kaninchenkornea 15 Sekunden verätzt mit 0,5n NaOH in vivo und lokaler Applikation von 0,9 % NaCl Lösung 4mal täglich in Abständen von 4 Stunden (je 2 Tropfen) über 5 Tage ( $x_{Bi}$ ).

	H <sub>2</sub> Links	H <sub>1</sub> Rechts
Hornhautpaar 25.11	1,35	5,15
	H <sub>2</sub> Links	H <sub>2</sub> Rechts
Hornhautpaar 2.2	3,998	3,866
Hornhautpaar 26.11	3,55	3,63
Hornhautpaar 24.11	Auge fehlt	keine Atmung (Stadium der Nekrose)

Statistiken:

Sauerstoffverbrauch in  $\mu\text{l O}_2$  pro mg Trockengewicht pro Stunde [ $\mu\text{l/h} \cdot \text{mg}$ ]

$d_1 - d_5 = \text{Differenz}$

$x_{Ai}$  = unbehandelte Kaninchenkornea 25.11 Rechts, ( $x_{A1} - x_{A3}$ ) Tabelle Ib

$x_{Bi}$  = behandelte Kaninchenkornea mit 0,5n NaOH in vivo nach Applikation von 0,9%iger NaCL-Lösung 4mal täglich in Abständen von 4 Stunden an beiden Augen über 5 Tage

Beo.	$x_{Ai}$	$x_{Bi}$	Differenzen
1 (25.11)	5,15	1,35	$d_1 = -3,80$
2 (2.2) <sup>R</sup>	5,01	3,866	$d_2 = -1,144$
3 (2.2) <sup>L</sup>	5,01	3,998	$d_3 = -1,01$
4 (26.11) <sup>R</sup>	5,01	3,63	$d_4 = -1,38$
5 (26.11) <sup>L</sup>	5,01	3,55	$d_5 = -1,46$
6 (24.5) <sub>R</sub>	Fischaug: Keine Atmung zu registrieren (Stadium der Nekrose)		

---

Mittelwert	$\bar{x}_{Ai} = 5,038$	$\bar{x}_{Bi} = 3,2788$	$\bar{d} = -1,758$
Standardabweichung	$s = 0,0626$	$s = 1,0930$	$s = 1,1552$

#### Wilcoxon-Test für Paardifferenzen

Die einzelnen Differenzen erhalten folgende Rangplätze (R.Plätze):

	$d_1$	$d_5$	$d_4$	$d_2$	$d_3$
R.Plätze:	1	2	3	4	5
	-	-	-	-	-

Summe der Rangplätze der positiven Differenzen  $R_+ = 0$   
 Summe der Rangplätze der negativen Differenzen  $R_- = 15$

Kontrolle für Rechenfehler kann man die Größe bilden:

$$R_+ + R_- = \frac{n(n+1)}{2}$$

$$0+15 = \frac{5(6)}{2}$$

$R_+ = 0 = \text{Testgröße } T$

Tabelle IV (Harms, 1998):

Der kritische Wert beträgt bei  $n=5$  Stichproben für die zweiseitige Fragestellung und einer angenommenen Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha = 0,10$  (10%)

$$T_{(\alpha=0,10, n=5)} = 0$$

Ergebnis: Die Nullhypothese  $H_{0C}$ : Eine Verätzung der Kaninchenhornhaut mit 2 Tropfen 0,5n NaOH-Lösung 15 Sekunden lang in vivo beeinflusst die Atmung nicht, verworfen wird.

Die Alternativhypothese  $H_{1C}$ : Eine Verätzung der isolierten Kaninchenhornhaut in vivo mit 2 Tropfen 0,5n NaOH-Lösung auf 5,5mm Filterpapierstückchen beschickt und anschließend 15 Sekunden lang auf die Kaninchenhornhaut gelegt und lokaler Applikation von 0,9%iger NaCL-Lösung 4mal täglich 2 Tropfen in Abständen von 4 Stunden beeinflusst den Sauerstoffverbrauch (Atmung) der isolierten Kaninchenhornhaut in der Messkammer. Bei allen gemessenen Kaninchenhornhäuten ist jeweils ein verminderter Sauerstoffverbrauch der behandelten Kaninchenkornea nachzuweisen.

## 5. Diskussion

### 5.1 Sauerstoffverbrauchsmessung

Es war Aufgabe dieser Arbeit, den Sauerstoffverbrauch isolierter Kaninchenhornhäute *in vitro* mit der polarometrischen Meßmethode zu vergleichen.

Der Sauerstoffverbrauch der Kaninchenhornhaut ist ein Maß für die Stoffwechselleistung.

Die Stoffwechselleistung der Cornea besteht neben der Synthese von Grundsubstanz ( Proteoglykane, Glykoproteine ) und kollagene Fasern und der Epithelregeneration vor allem in der Bereitstellung von ATP, um den Hydrationszustand der Cornea zu kontrollieren. ( Böke W., Thiele H. J., 1981 ).

Die Stoffwechselreaktionen ( Glykogenolyse, Glykolyse ) über Citratzyklus und Atmungskette sind für die ATP-Bildung notwendig.

Beim Elektronentransport in der Atmungskette wird Sauerstoff verbraucht.

**Aus dem Sauerstoffverbrauch der Cornea kann man Rückschlüsse auf die Funktion ihrer energieliefernden oxidativen Prozesse ziehen.**

Unter Sauerstoffverbrauch wird dem „ lebenden“ Coneagewebe Energie zugeführt.

Die Messung des Sauerstoffverbrauchs der Kaninchenhornhaut kann mit verschiedenen Methoden der Polarometrie durchgeführt werden.

Seit Jaroslav Heyrovsky, 1922 werden Sauerstoffbestimmungen in Elektrolytlösungen auch polarometrisch in vitro durchgeführt.

Die Polarometrie zur Bestimmung des cornealen Sauerstoffverbrauchs in vivo mit der direkten Methode von A. A. Jakovlev , 1972 wurde mit einer „ implantierten“ Mikroelektrode ( Platin- Eisen ) in die Cornea am „ lebenden“ Kaninchen durchgeführt.

J. P. Schloessler, J. Morris et al. , 1981 bestimmten in vivo am menschlichen Auge die Sauerstoffaufnahme der Cornea, indem sie die Elektrode auf das Auge aufsetzten.

Die Polarometrie zur Sauerstoffpartialdruckmessung der Kaninchenhornhaut **in vitro** mit der **indirekten Methode** geschieht heute überwiegend mit der modifizierten **Platin- Silber / Silberchlorid – Elektrode** auf der Grundlage von **L.C. Clark et al. 1953** in einer Meßlösung ( Elektrode AVL 939, Bad Homburg ).

Der ph – Wert der Meßlösung „Balanced Salt Solution“ ( BSS ) wurde auf 7,2 vor jeder Messung eingestellt. Ebenso wurde bei jeder Messung die Temperatur der BSS durch

ein thermostatgesteuertes Wasserbad konstant auf 35°C gehalten.

An der Augenklinik der Universität Münster wurde die in **vitro Sauerstoffverbrauchs-**  
**messung** isolierter Rinderhornhäute unter dem Einfluß von Steroidhormonen  
auf die Endothel – Stroma – Atmung von H. Frantzmann, 1981 und verschiedene  
Aufbewahrungsmedien „ Zum Stoffwechsel konservierter Hornhäute“ von M. Spree,  
1983 und von Eggert D., 1984 „ Tränengasverätzung und verschiedene  
Auswaschungsverfahren“ durchgeführt.

Meine Untersuchungen waren mit dem Prinzip von Bernhard Singer, 1985  
übereinstimmend „ die Atmung isolierter Kaninchenhornhäute bei Strömung der  
Meßflüssigkeit“ zu bestimmen. ( Bernhard Singer führte erstmals  
Sauerstoffverbrauchsmessungen mit isolierten Rinderhornhäuten bei Strömung der  
Meßflüssigkeit durch ). Die Verhältnisse am lebenden Kaninchenauge denen eine in  
vitro – Untersuchung nahekommen sollte, wurde durch das Rührwerk vor der Elektrode  
einer physiologischen Strömung des Kammerwassers zum Endothel nachgeahmt. R.  
Zander, 1975 beschrieb die Strömung des Kammerwassers zum Endothel der Cornea  
durch Kammerwasserneubildung, Bewegung durch den Akkomodationsvorgang und  
Temperaturunterschiede.

## 5.2 Versuchsreihe I Messung der Atmung isolierter Kaninchenhornhäute nach Injektion von 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitreum eines weißen Kaninchens.

Dieckhues B., 1961 beschreibt als Reaktion auf den Reiz der Injektion eines  
Fremdprotein ( Boviserin ) in den Corpus vitreum eine Produktion von **Antikörper**,  
die entweder zellständig bleiben oder in die Gewebeflüssigkeit und das Blut abgegeben  
werden können.

Antikörper der Klasse Ig G und Ig M mit dem Fab Stück an das entsprechende Antigen  
gebunden, wird durch **Molekülstrukturierung** am Fc- Stück eine Komplement-  
bindungsstelle frei.

Endphase der Kaskade des Komplementsystems ist der Membran- Attack- Komplex  
( **MAC** ), ein osmotischer Lysekomplex der Zellmembran. ( Brandis, Pulverer 1994 )

**Fortgeleitet vom Corpus vitreum über Sklera, Uvea war auch eine immunologische  
Reaktion ( Antigen- Antikörperreaktion ), nach Injektion von 0,3 ml Boviserin  
in den Corpus vitreum festzustellen.**

Diese sklerosierende Keratitis war durch bestehende Lichtscheu, Tränenfluß und

Blepharospasmus ( Lidkrampf : Krampf des M. orbicularis oculi und des M. corrugator supercilii (u./ od. Inhibition des M. levator palpebrae superioris ) gekennzeichnet.

Die normal glatt, glänzende Kaninchenhornhaut war getrübt mit mattem Hornhautspiegelbild.

12 Tage nach Injektion von 0,3 ml Boviserin ( als sensibilisierendes Agens, B. Dieckhues, Münster 1982, „ elektive“ Gewebesensibilisierung ) in den Corpus vitreum eines weißen Kaninchen wurde nach töten des Tieres die Kaninchenhornhäute trepaniert und die rechte und linke Cornea in zwei offene Glasgefäße mit gekühlter BSS gegeben. Sofort wurde die Atmung einer Kaninchenhornhaut gemessen, während die andere Cornea bis zur Messung im Kühlraum des Labors verwahrt wurde.

Ergebnis: Die vier **nicht** mit 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitreum injizierten Kaninchenhornhäute verbrauchten mehr Sauerstoff als die injizierten Kaninchenhornhäute.

Der Sauerstoffpartialdruckabfall  $dp$  war bei den nicht mit 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitreum injizierten Kaninchenhornhäuten „ schneller“ in Sekunden. (  $dt$  in Sekunden **nicht** mit 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitreum injizierten Kaninchenhornhäuten ist **kleiner** als  $dt$  in Sekunden behandelter Kaninchenhornhäute ).

Die Injektion mit 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitreum des weißen Kaninchens zeigt eine Beeinflussung des Sauerstoffverbrauches ( der Atmung ) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% zu einer Verschlechterung von isolierten Kaninchenhornhäuten in vitro.

Der Sauerstoffverbrauch der Kaninchenhornhaut mit 0,3 ml Boviserin in den Glaskörper injizierten Augen zeigt bei 10 Augen eine Verschlechterung ( Statistiken Versuchsreihe I ).

Wie schon **B. Dieckhues**, Münster 1961 über das Vorkommen von **Antikörper** im Corpus vitreum von weißen Kaninchen nach Sensibilisierung mit dem Agens „ Boviserin“ **zweifelloso nachwies** und zweitens die Antikörperbildung von entzündlichen Reaktionen im Corpus vitreum in die angrenzende **Uvea** ( mittlere Augenhaut: Umfaßt Choroidea, Copus ciliare und Iris ) begleitet ist, hat die Sauerstoffpartialdruckmessung der isolierten Kaninchenhornhaut in vitro bewiesen, daß zweifelloso mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1% die Atmung ( Sauerstoffverbrauch ) vermindert ist. Da der Sauerstoffverbrauch der Cornea ein Maß für die Stoffwechsellistung ist, kann daraus geschlossen werden, daß auch in der Kaninchenhornhaut eine entzündliche

Reaktion über die Antikörperbildung im Corpus vitreum stattgefunden hat.

**H. Busse, Münster** hat die am Kaninchenauge sichtbaren **Abwehrtrias** objektiv mit „Lichtscheu“, „Tränenfluß“ und „Bleopharospasmus“ beschrieben.

Nicht nur die Injektion des sensibilisierenden Agens „Boviserin“ in den Corpus vitreum, sondern auch die Sauerstoffpartialdruckmessung bestätigen zweifellos die „sklerosierende“ Keratitis.

Der „fortgeleitete“ Entzündungsprozess vom Corpus vitreum über **Sklera** ( Lederhaut des Auges: hinterer, größerer und lichtdurchlässigerer Teil der Tunica fibrosa bulbi ) und **Uvea** wird an der **Kaninchenkornea** durch die Messung des Sauerstoffpartialdruckabfall  $dp$  im Zeitintervall  $dt$  ( verminderter Sauerstoffverbrauch, verminderte Atmung ) bewiesen.

### 5.3 Versuchsreihe II Messung der Atmung unter Einwirkung von 4 n NaOH auf die Kaninchenkornea 15 Sekunden lang **in vitro**.

Biochemisch hydrolysiert 4 n NaOH die Strukturproteine der Hornhaut. Es kommt zur Kolliquationsnekrose mit Ischämie und Eindringen des Ätzstoffes in die Tiefe ( Gewebseinschmelzung ). ( Busse Holger, Kühle Hans J., Kühle M., 1998 )

Normalerweise ist die gesunde Kaninchenkornea auf der Epitheloberfläche **glatt** und **glänzend**. Sichtbar ist der experimentell gesetzte Defekt durch Epithelerosionen mit Trübungen in den verschiedenen Abschnitten.

1. Epithelium anterius ( vorderes Hornhautepithel ): Verlust des desmosomalen Epithelverbandes, der Intermediärfilamente ( Zytokeratinpaar CK3/ CK12) und Mikroplicae und Mikrovilli.
2. Bowman – Membran: Basalmembran des Epithel ( Kollagentyp IV ) und der spezialisierten Membrana fibroreticularis ( Kollagentyp I und V und geringem Anteil Typ III und IV ), die bei Primaten und nicht bei Kaninchenhornhäuten vorkommt.
3. Stroma ( 200 – 250 Lamellen von Kollagenfibrillen mit einem einheitlichen Durchmesser von 30 nm und Proteoglykanseitenketten mit über 50% aus

Keratansulfat ( Lumican, Keratocan, Minecan und Fibromodulin ) und Chondroitin-Dermatansulfat ( Decorin und Biglycan ).

4. Descemet – Membran: Lamina fibroreticularis der Basalmembran des Hornhaut-Endothels.

5. Hornhautendothel: Einschichtiges Plattenepithel

Bei der Versuchsdurchführung **in vitro** perforierten die Kaninchenhornhäute nicht. Mit einem Filterpapierstück von 5,5 mm Durchmesser mit 2 Tropfen einer 4 n NaOH Lösung beschickt und anschließend mit einer chirurgischen Pinzette 15 Sekunden lang auf die epitheliale Vorderfläche gelegt. Nach Entfernung des Filterpapierstückes erfolgte eine ausgiebige Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung.

Vor jeder Messung wurde eine Kontrolle des ph – Wertes der BSS – Meßlösung durchgeführt.

Ergebnis: Bei allen 8 behandelten Kaninchenhornhäuten war der Sauerstoffverbrauch zur gesunden Hornhaut zweifellos verringert.

Kritischer Wert bei  $n = 7$  Stichproben für die zweiseitige Fragestellung und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 2% ist Null. Da die Testgröße T die kleinere der beiden Rangsummen den kritischen Wert nicht überschreitet kann die Nullhypothese verworfen werden.

Bei allen 7 Kaninchenhornhäuten, bei denen eine Verätzung mit 4 n NaOH Lösung 15 Sekunden lang **in vitro** und anschließender ausgiebiger Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung durchgeführt wurde, war ein verminderter Sauerstoffverbrauch (verminderte Atmung ) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 2% nachzuweisen. ( Statistiken 4.2 )

5.4 Versuchsreihe III Messung der Atmung unter Einwirkung von 0,5 n NaOH auf die Kaninchenkornea 15 Sekunden lang **in vivo**.

Nachdem die Tiere narkotisiert waren, wurde sofort mit der Verätzung begonnen. Dazu wurde Filterpapierstückchen von 5,5 mm Durchmesser ausgestanzt und sofort mit der Verätzung begonnen.

Filterpapierstückchen mit 2 Tropfen 0,5 n NaOH Lösung beschickt und anschließend mit einer chirurgischen Pinzette 15 Sekunden auf die Kaninchenhornhaut gelegt. Nach lokaler Applikation: 0,9% NaCl – Lösung 4 mal täglich in Abständen von Stunden ( 8 Uhr, 12 Uhr, 16 Uhr, 20 Uhr ) über 5 Tage.

Es wurden **4 Tiere** getötet und die Kaninchenhornhäute trepaniert und in zwei offene Glasgefäße mit 20 ml gekühlter BSS ( Balanced Salt Solution ) gegeben. Es standen 7 Kaninchenhornhäute zur polarographischen Messung zur Verfügung. Inspektorisch war am ersten und zweiten Tag objektiv eine Lichtscheu, verstärkter Tränenfluß und Blepharospasmus zu erkennen. Epitheldefekte ( Epithelerosionen ) und beginnende Eintrübung der Kaninchenkornea waren sichtbar.

Bei Versuchstier 24.11 ( linkes Auge fehlte ) war eine **grau – weißliche Eintrübung** der Kaninchenhornhaut und das Vollbild des „ weißen“ Auges entwickelt.( Fisch – auge rechts, sog. gekochtes Fischauge ).

Es war bei dieser Kaninchenkornea 24.11 rechts keine Atmung mehr zu messen.

Bei den 6 mit 0,5 n NaOH Lösung **in vivo** behandelten Kaninchenkornea, nach Applikation von physiologischer Kochsalzlösung 4 mal täglich in Abständen von 4 Stunden über 5 Tage war zweifellos eine **Verschlechterung** der Atmung ( des Sauerstoffverbrauches ) im Vergleich zu den gesunden Kaninchenkornea zu messen. ( Statistiken 4.3 Versuchsreihe III )

Ogleich Hans, J. Kühle 1956 eine **schnelle Regeneration** des Hornhautepithels innerhalb von 30 – 50 Stunden nach einer umschriebenen Kalkverätzung beschreibt, habe ich eine schlechte Atmung der Kaninchenhornhäute gemessen.

Wrobel, U. 1983 hat nach Probeexzisionen die Tiefe des Verätzungsdefektes histologisch so beurteilt, daß in den Randbezirken der Verätzung die Basalmembran des Epithelium anterius ( Bowman – Membran ) noch intakt, jedoch in dem zentralen Verätzungsbereich war die „ Bowman – Membran“ **nicht** mehr intakt.

Im klinischen Bild waren Epitheldefekte ( Epithelerosionen ) mit grau – weißlichen Eintrübungen auch nach 5 Tagen mit 0,9% physiologischer Kochsalzlösung sichtbar. Weitere polarographische Messungen nach Behandlung mit Vitamin A Präparaten ( Retinylphosphat als Galaktose - , Mannosetransfer bei der Glykoproteinsynthese: Interfilamentsynthese „ Zytokeratinpaar CK3, CK12 ) wäre rein wissenschaftlich

interessant und entscheidend bei der **Regeneration** des **desmosomalen** Epithelverbundes des vorderen Kaninchenhornhautepithels ( Epithelium anterius ). ( Buddecke E., 1986 )

nach Verätzungen hinsichtlich der Atmung ( des Sauerstoffverbrauches ).

Die benutzte Methode der Sauerstoffverbrauchsmessung scheint für die Untersuchung der Cornea geeignet.

Der Sauerstoffverbrauch der Cornea ist ein Maß für deren Stoffwechsellistung.

Die Behandlung immunologisch kornealer Erkrankung ist noch eine Herausforderung für jeden Ophthalmologen. ( Amm H., Nolle R. 2002 ).

John, Wayne Streilein in „In Immun response and the eye“, 1999 und J. Biswas in „Immunology in Ophthalmology ” und M. Jain und J. Biswas in „Immunology of Allergic Conjunctivitis“ beschrieben die klinische Bedeutung der Immunologie in der Ophthalmologie . (Clinical Immunology II, 2003)

Der **Nachweis** von immunologischen Reaktionen in der Cornea und dessen mögliche Behandlungserfolge in der Forschung kann durch die benutzte Methode in Zukunft gut geeignet sein.

## 6. Literaturverzeichnis

1) Amm, M., Nolle, B.

Klinisches Monatsblatt

Augenheilkunde 2002 Oktober, 219: 735-9

„Gore- tex ® patch in immunologically conditioned corneal u.“

Klinik für Ophthalmologie der Christian – Albrechts – Universität Kiel

2) Augustin, A. J.

Augenheilkunde

Springer Verlag

2. Auflage 2001, 1433 S.

3) Benninghoff, A.

Anatomie

Band 2 Herz – Kreislauf – System

Lymphatisches - System

Nervensystem, Sinnesorgane ( Kapitel 3 Visuelles System , 667 – 684)

Thieme Verlag 16. Auflage 2004

4) Böke, Wilhelm

Ocular immune response: proceedings of the 1. Internat.Symposium on

Immunology and Immunopathology.

Ed.: W. Böke and H. Luntz

Karger Verlag

Basel, München, Paris, London, New York, Sydney, 1976, 333 S.

5) Böke, Wilhelm, Thiel, H. J.

„ Zur Morphologie, Physiologie und Physiopathologie der Hornhaut.“

Band II in: Augenheilkunde in Klinik und Praxis

Hrsg.: J. Francois, Hollwich, F.

Thieme Verlag, Stuttgart, 1981

- 6) Brandis, H. , Pulverer, G.; Eggers, H. , Köhler, W.  
Medizinische Mikrobiologie  
Urban Fischer Verlag  
7. Auflage 1994, 40 – 42, 927 S.
- 7) Brewitt, H.  
Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen über das Hornhautepithel  
nach mechanischer Schädigung.  
Zit. n. Naumann et al. 1980
- 8) Buddecke, E.  
Grundriss der Biochemie  
Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York  
6. Auflage 1986
- 9) Busse, Holger.  
Augenerkrankungen  
Urban Schwarzenberg Verlag  
München – Wien – Baltimor 1990
- 10) Clark, L. C., Wolf, R., Granger, D., Taylor, Z.  
Continous Recording of Blood Oxygen Tensions by Polarography  
J. appl. Physiologie, 6:189 1953
- 11) Clinical Immunology II ( Section 14 Ophthalmology)  
edited by Pravash C. Scn Gupta  
Oxford University Press 2003  
114 Immunology in Ophthalmology. Jyotirmay Biswas  
115 Immunology of Allergic Conjunctivitis. Manish Jain and J. Biswas

- 12) Cremer – Bartels, Gertrude., Küchle, Hans J.  
Bovine Corneal Endothelium and Stroma metabolism zit. n.  
The Cornea in Health and Disease ( VI th Congress of the European Society of Medicine  
International Congress and Symposium Series Nr.40 /1980
- 13) Cotlier, E.  
The Cornea  
In Adler s Physiology of the Eye  
Mosby, St. Louis, 6 th. Edit.,1975
- 14) D ans – Lax  
Taschenbuch für Chemiker und Physiker Band I  
Springer Verlag  
Berlin, Heidelberg, New York  
3.Auflage 1967
- 15) Dieckhues, B.  
Über das Vorkommen von Antikörper im Glaskörper  
Westf. Wilh. Universität Münster  
Bericht über die 64 Zusammenkunft der Deutschen Ophthalmologischen  
Gesellschaft in Heidelberg 1961
- 16) Dieckhues, B., Böke, W.  
„ Antikörperbildung im Auge“  
Ein Beitrag zur elektiven Gewebesensibilisierung  
Sonderdruck aus „ Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde“  
Ferdinand Enke Verlag Stuttgart  
138 Band, 1 Heft , 25 – 29 , 1960
- 17) Donshik, P. C., Bermann, M. B., Dohlmann, C. H., Gage, J.  
Effect of Tropical Corticosteroides on Ulceration in Alkali – Burned – Eyes  
Arch. Ophthalmol. 96, 2117, 1978

- 18) Eggert, D  
Sauerstoffverbrauch mit Tränengas verätzten Rinderhornhäuten nach  
verschiedenen Auswahllverfahren.  
Dissertation ( Westf. – Wilh. – Universität Münster ) 1984
- 19) Frantzman, H.  
Wirkung von Steroidhormon auf die Endothel – Stroma – Atmung der  
Hornhaut.( Rinderhornhaut )  
( Westf.- Wilh. – Universität Münster ) 1981
- 20) Francois, J., Feher, J.  
Collagenolysis and Regeneration in Corneal Burnings  
Ophthalmologica 165, 137-152, 1972
- 21) Haas, Ulrich  
Physik für Pharmazeuten und Mediziner  
6. neu überarbeitete und erweiterte Auflage  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m b h Stuttgart 2002,  
107, 249
- 22) Harms, Volker  
Biomathematik, Statistik und Dokumentation  
Harms Verlag Kiel  
7. Auflage 1998, 286 S.
- 23) Hartung, S.  
Statistik  
Oldenburg  
7. Auflage 1989
- 24) Hellenthal, W.  
Physik für Mediziner und Biologen  
7. Auflage  
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft m b h Stuttgart 2002

- 25) Heyrowsky, J.  
Polarographisches Praktikum  
Springer Verlag Berlin Göttingen Heidelberg  
3. Auflage 1948
- 26) Hof, Herbert, Dörries, Rüdiger  
Medizinische Mikrobiologie  
Thieme Verlag  
2. Auflage 2002
- 27) Janeway, Charles A., Travers, Paul  
Immunologie  
Spektrum Akademischer Verlag  
5. Auflage 2002 656 S.
- 28) Jakovlev, A. A.  
Die Untersuchung der Sauerstoffspannung in den Geweben und im  
Kammerwasser des Auges mit Hilfe der Polarographie.  
Albr. v. Graefes Arch. Klin. exp. Ophthalmologie 185, 1972
- 29) Kahle W., Leonard W., Platner  
Taschenatlas der Anatomie  
Band 3 Nervensystem und Sinnesorgane  
Thieme Verlag  
8. Auflage 2003
- 30) Kanski, J. J.  
Klinische Ophthalmologie  
Lehrbuch und Atlas  
5. Auflage 2004  
U.& F. Verlag

- 31) Kampik, A., Greten, F.  
Augenärztliche Therapie  
Thieme Verlag 2002
- 32) Köhler, W., Eggers, H., Pulverer, G.  
Medizinische Mikrobiologie Urban & Fischer Verlag  
8. Auflage 2001
- 33) Kühle, Hans J.  
Experimentelle Studien zur Frage der nervalen Beeinflussbarkeit des Auges  
und seiner Bereitschaft zur Entzündung.  
Habilitationsschrift, München 1956
- 34) Kühle, Hans J., Busse, Holger, Kühle, Michael  
Taschenbuch der Augenheilkunde  
Huber Verlag  
4. vollst. überarbeitete Auflage 1998, 632 S.
- 35) Kühle, Hans J., Busse, Holger, Kühle, Michael  
Atlas der Augenkrankheiten  
Huber Verlag, Auflage 1999, 222 S. 887 Abb.
- 36) Lang, K. Gerhard      Augenheilkunde  
Thieme Verlag, zweite Auflage 1998, 534
- 37) Langham, M. E.  
Utilisation of Oxygen by Component Layers of the Living Cornea.  
J. Physiol. 117: 461-466 1952
- 38) Leber, T.  
Die Zirkulation – und Ernährungsverhältnisse des Auges  
in Handbuch der gesamten Augenheilkunde Band II.  
Hrsg. A. Graefe, T. Saemisch  
Engelmann Verlag, Leipzig 1902

- 39) Löffler, G., Petrides, E.  
Biochemie und Pathobiochemie  
Springer Verlag  
7. Auflage 2003, 1256 S.
- 40) Maurice, D. M., Riley, M. V.  
The Cornea  
in: Biochemistry of the Eye, ed. Graymore, C.  
Academic Press, London, New York, 1970
- 41) Maurice, D. M.  
The Permeability to Sorbitol Ions of the Living Rabbits Cornea.  
J. Physiol. ( London ) 112: 367 – 391, 1951
- 42) Meerestechnische Analytik 2003  
Vorlesung WS 2002/2003  
Prof. Dr. Anne Kötzinger
- 43) Mutschler, E.  
Lehrbuch der Pharmakologie und Toxikologie  
Walter de Gruyter Verlag  
8. Auflage 2001, 1186 S.
- 44) Nelson, D., Cox, M., Lehninger  
Biochemie  
Springer Verlag  
3. Auflage 2001
- 45) Netter, F. H.  
Farbatlanten der Medizin  
Band 5: Nervensystem I: 1997  
Band 6: Nervensystem II: 1999  
Thieme Verlag

46) Opitz, E., Bartels, H.

Gasanalyse

in: Hoppe – Seyler Thierfelders Handbuch der physiologisch – pathologisch –  
chemischen Analyse

Band II ,Springer Verlag , Berlin, Göttingen, Heidelberg 10. Auflage 1955

47) Pschyrembel

Klinisches Wörterbuch

259. neu bearbeitete Auflage

Walter de Gruyter Verlag

Berlin New York 2002

48) Rammensee, Hans G., Dawkins, Roger L.

Antigen Processing

Mechanisms, Genomics and Evolution

1 Aufl. 2004

Wiley – VCH Verlag

49) Reim, M., Cattepoel, H., Bittmann, K., Kilp, H.

Methodische und physiologische Aspekte bei der  
statistischen Auswertung von Metabolitspiegeln in verschiedenen  
Kompartimenten der vorderen Augenabschnitte.

Albr. v. Graefes Arch. klin. exp. Opht. 177: 355 – 368 1969

50) Reim, M

Physiologie der Cornea. – Warum ist die Hornhaut durchsichtig.

Bericht über die Zusammenkunft in Heidelberg.

Deutsch. Ophthal. Gesellschaft 1971, 58 – 77

51) Rohen

Das Auge und seine Hilfsorgane

Band III / 4

Berlin, Heidelberg, New York, Göttingen 1964

52) Rippa, M.

Chemica medica

Band I

Libreria Editrice Italo Bovolenta

Ferrara, 1976

53) Sachs, L.

Angewandte Statistik

Anwendung statistischer Methoden

Springer Verlag

11. überarbeitete und aktualisierte Aufl. 2004, 899 S.

54) Sachsenweger, M

Augenheilkunde Duale Reihe

Thieme Verlag

2. Auflage 2003, 500 S., 750 Abb

55) Schloessler, J. P.

„Measurement of Corneal Oxygen Uptake“

An. J. Optom.58: 614 – 617 ,( 1981 )

56) Schrameyer, B. Busse, Holger, Schiffer, H. P.

Klinisches Monatsblatt

Augenheilkunde 1978 ( 173): 854 - 871

„Ergebnisse der Nandrolontherapie ( Keratyl ) bei Hornhautverletzungen und – erkrankungen“.

57) Smolin, Gilbert, O“ Connor

Imunologie des Auges

Enke Verlag

Bücherei des Augenarztes Band 100, 1984, 287 S.

- 58) Streilein, J. Wayne  
Immune response and the eye  
Karger Verlag  
Basel, Freiburg ( Breisgau ), Paris, London, New York, New Delhi, Bangkok,  
Singapore, Tokyo, Sydney, 1999
- 59) Spree, M.  
Zum Stoffwechsel konservierter Hornhäute  
Dissertation ( Westf. – Wilh. – Universität Münster ) 1983
- 60) Tampisch, Windeler  
Medizinische Statistik  
2. überarb. u. akt. Aufl. 2000, 376 S.
- 61) Thoft, R. A. , Friend, J, Dohlmann, C. H.  
Corneal Glucose Flux  
A.M. A. Arch. Ophtal. 86: 635 – 694, 1971
- 62) Velhagen, K.  
Der Augenarzt  
Thieme Verlag  
Leipzig 1978  
2,ergänzende und überarbeitete Auflage, Band V, Kapitel XIX: 105 – 125
- 63) Wagener, Marlies, Busse, Holger  
Bärentatzen und andere ophthalmologische Besonderheiten  
Kaden Verlag  
2. Auflage 2003, 168 S. mit zahlreichen meist farbigen Abbildungen.
- 64) Waldeyer, A.  
Anatomie des Menschen  
Hrsg. Franz Pera, Jochen Fanghänel, Friedrich Anderhuber  
17 überarbeitete Auflage 2003  
Walter de Gruyter Verlag 1134 S.

65) Wrobel, Udo

Vergleichende tierexperimentelle Untersuchung zur Wirkungsweise von Vitamin A  
( Regepithel ) und Nandrolon ( Keratyl ) auf die Cornea.

Dissertation ( Westf. – Wilh. – Universität Münster ) 1983

66) Zander, R.

Experimentelle Untersuchungen zur Sauerstoffversorgung des Auges.

Albr. v. Graefes Arch. klein. exp. Ophthalmologie 195: 215 – 230, 1975



## Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. Cremer – Bartels für die Überlassung des Dissertationsthemas und ihrer hilfreichen Unterstützung bei der Durchführung. Sie ist leider im Februar 2003 verstorben. Ich habe sie sehr verehrt und sie wird immer in meinem Herzen weiterleben.

Mein Dank gilt auch Prof. Dr. Dieckhues, der über das Vorkommen von Antikörpern im Glaskörper eine immunologische Versuchsreihe bei 7 Kaninchen ( 0,3 ml Boviserin in den Corpus vitreum von 10 Kaninchenaugen injizierte ) durchführte und ich 12 Tage nach der Injektion 14 Kaninchenhornhäute polarographisch messen durfte. ( 4.1 Versuchsreihe I dieser Arbeit ) Er ist leider auch verstorben und wird bei mir immer in Erinnerung bleiben.

Ebenso gilt mein Dank

Herrn Diplomphysiker Dr. Kokott ( Fachhochschullehrer der Westf. – Wilh. – Universität) bei technischen und mathematischen Fragen.

Ebenso gilt mein Dank

Herrn Diplomphysiker Priv. Doz. Dr. Dekieviet ( Fachhochschullehrer der Ruprecht – Karls –Universität Heidelberg ) bei der Überprüfung meiner Versuchsergebnisse.

Ebenso gilt mein Dank

Frau Wagener von der Photoabteilung der Augenklinik, die vor jeder polarographischen Messung mit Frau Prof. Cremer – Bartels im Tierstall anwesend war.

Mein ganz besonderer Dank gilt

dem Direktor der Augenklinik der Westfälischen Wilhelms – Universität Münster Prof. Dr. Holger Busse für die Vertretung als Referent für Frau Prof. Dr. Gertrude Cremer – Bartels.

## Lebenslauf

Ich, Wolfgang Görner, wurde als Sohn des Finanzkaufmann  
Erwin Görner und Ingeborg Görner, geb. Bertelsmeyer  
am 30.01.1958 in Karlsruhe geboren.

1961	Eintritt in die Volksschule Freiherr von Stein
1968	Eintritt in das Internat Heimschule Lender, naturwissenschaftlicher Zweig des Gymnasium
1975	Eintritt in das Gymnasium Wilhelmschule in Kassel
3. Juni 1976	Ablegung des Abitur
9. April 1977	Immatrikulation als ordentlicher Student an der Ruprecht Karls – Universität Heidelberg im Studiengang Physik Diplom
6. Dez. 1978	Immatrikulation als ordentlicher Student im Studienfach Zahnmedizin Staatsexamen an der Westfälischen Wilhelms – Universität in Münster
26. April 1979	Ablegung der naturwissenschaftlichen Vorprüfung
11. Oktober 1986	Ablegung der zahnärztlichen Vorprüfung
28. Juni 2004	Ablegung der zahnärztlichen Prüfung

Schwerpunkt – Studien an der WWU Münster im Fach Humanmedizin:

Über 4. Jahre	Medizinische Biochemie, Pathobiochemie,
Über 4. Jahre	Medizinische Mikrobiologie, Hygiene, Gesundheits – fürsorge
Über 2,5. Jahre	Augenheilkunde im Rahmen der Dissertationsarbeit

Schwerpunkt – Studien an der WWU Münster im Fach Zahnmedizin:

Über 8. Jahre	Oralchirurgie (präprothetische, präimplantäre Chirurgie) Zahn – Mund – u. – Kieferchirurgie
Über 8. Jahre	Parodontologie ( Parodontalchirurgie )
Über 5. Jahre	Konservierende Zahnheilkunde, Kieferorthopädie Prothetik