

4. Material und Methoden

4.1. Material

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurden alle Patienten retrospektiv untersucht, denen ein Glaukomdrainageimplantat in der Augenklinik der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin implantiert wurde. Alle Patienten wurden von Prof. Dr. med. F. Hoffmann mit der gleichen Implantationsmethode operiert.

4.2. Methoden

4.2.1. Patientenauswahl

Zur Patientensuche wurden alle handschriftlichen Operationslisten (OP-Bücher) der Augenklinik ab dem Jahr 1985 (Operationssäle 9 und 10 am Campus Benjamin Franklin), die Operationsberichte und Entlassungsbriefe in der Datenbank der Augenklinik (FileMaker Pro 4.0 Dv1, Claris Corporation) nach den Stichworten Molteno Implantat und Ahmed glaucoma Valve durchsucht.

4.2.2. Ophthalmologische Untersuchung

Die Nachuntersuchung des vorderen Augenabschnittes erfolgte an der Spaltlampe Modell RCL 2 der Firma Zeiss in 8-, 12- oder 20-facher Vergrößerung. Der hintere Augenabschnitt wurde mit Hilfe eines binokularen Kopfophthalmoskopes nach Foerster „Foersterbrille“ der Firma Kocher und einer 20 Dioptrien-Lupe (Nicon) in Mydriasis untersucht. Zum Weitstellen der Pupille wurde 15 bis 20 Minuten vor der Untersuchung ein Tropfen Mydriatikum (Gemisch aus 25 mg Phenylephrin + 3,75 mg Tropicamid, Apotheke Charité) in den Bindehautsack appliziert.

4.2.3. Messung des intraokularen Drucks

Der intraokulare Druck wurde mittels Applanationstonometrie nach Goldmann oder mit der Impressionstonometrie nach Schioetz gemessen.

Zur Applanationstonometrie nach Goldmann wurde ein Applanationstonometer Model H04 der Firma Haag-Streit benutzt, welches auf der Spaltlampe (RCL 2, Zeiss, geeicht) montiert war. Vor der Druckmessung wird ein Tropfen Fluoreszin (Thilorbin, Alcon) in den Bindehautsack appliziert. Die Messung erfolgte mit einem Blaufilter und 12-facher Vergrößerung.

Bei Patienten, bei denen keine Applanationstonometrie erfolgen konnte, zum Beispiel bei Hornhautunregelmäßigkeiten, dekompenzierter Hornhaut, Zustand nach perforierender Keratoplastik oder eingetrübtem Hornhauttransplantat, wurde der Augendruck mit einem Impressionstonometer nach Schioetz (Schioetz Tonometer, Winters Tonometer, geeicht) gemessen. Die Messwerte wurden nach der Umrechnungstabelle 1955 nach Friedenwald, Kronfeld, Ballintine und Trotter in Millimeter Quecksilbersäule umgerechnet.

4.2.4. Sonographische Untersuchung

Die Beurteilung des Sickerkissens oder die Untersuchung des vorderen und hinteren Augenabschnitts bei Patienten mit einer eingetrübten Hornhaut, nach zum Beispiel vorangegangener perforierender Keratoplastik, erfolgte mittels Sonographie (I³system-ABD, I³ - Innovative Imaging Incorporation). Zur Untersuchung wurden 1 – 2 ml Kontaktgel (Methocel 2%, Excelvision) auf den Schallkopf gegeben. Danach wurde der Schallkopf auf das geschlossene Auge gesetzt und das Auge untersucht. Die Befunde wurden mit einem Thermodrucker (P 90, Mitsubishi) ausgedruckt.

4.2.5. Photographische Darstellung

Der vordere Augenabschnitt wurde mittels Spaltfotografie, der hintere Augenabschnitt mittels Fundusfotografie dargestellt.

Für die Spaltfotografie wurde hauptsächlich das analoge System TRC-50VT der Firma Topcom benutzt. Die Bilder wurden entwickelt und als Diapositive archiviert. Die Fundusfotografie erfolgte mit der Digitalkamera HV-C20A von Hitachi, welche auf dem

optischen Trägersystem (FF 450 IR, Zeiss) montiert war. Die Bilder wurden mit der Bildbearbeitungssoftware (analysis Docu PSI CCS:V 1.69, Soft Imaging System GmbH) bearbeitet und archiviert. Der Ausdruck erfolgte mit einem HP Laserjet 1000 Drucker.

Die makroskopische Darstellung des enukleierten Auges erfolgte durch digitale Fotografie (Canon EOS 500) in einem gekühlten Wasserbad.

4.2.6. Histologische Untersuchung

Der enukleierte Bulbus wurde postoperativ in gekühlter isotonischer Kochsalzlösung aufbewahrt und umgehend zur histologischen Aufarbeitung und Untersuchung gebracht.

4.2.6.1. Paraffineinbettung

Vor der Einbettung des Gewebes muss dieses zuerst entwässert werden. Dafür wird das Gewebe in den Entwässerungsautomaten (Citadel 1000, Shandon AG) gegeben. Es werden die einzelnen Entwässerungsschritte mit folgenden Substanzen durchgeführt.

1. Entwässerungsschritt 70% Ethanol
2. Entwässerungsschritt 80% Ethanol
3. Entwässerungsschritt 96% Ethanol
4. Entwässerungsschritt 100% Ethanol
5. Entwässerungsschritt Xylol
6. Entwässerungsschritt Paraffin

Danach wird das Gewebe in Paraffinblöcke eingegossen. Die Paraffinblöcke werden dann mit dem Rotationsmikrotom (HM 360, Micron AG) geschnitten. Die Schnittdicke beträgt 4 µm. Die einzelnen Schnitte werden auf Objektträger aufgezogen und in einem Wasserbad bei circa 58° Celsius noch einmal gestreckt. Danach werden die Schnitte 30 Minuten bei 63° Celsius getrocknet (Wärmeschrank, Heraeus AG).

4.2.6.2. Färbung nach Hämatoxylin und Eosin

1000 ml Eosinarbeitslösung bestehen aus 200 ml Stammlösung I (10 g Eosin [Merck 15935] + 1000 ml aqua dest) plus 20 ml Stammlösung II (1 g Phloxin [Chroma 1 A 190] + 100 ml aqua dest) plus 4 ml Eisessig (Merck 56). Dieser Ansatz der Eosinarbeitslösung wird mit 96% Ethanol auf 1000 ml aufgefüllt.

Ablaufschritte der HE-Färbung:

1. Xylol (5min)
2. Xylol (5min)
3. 100% Ethanol
4. 96% Ethanol
5. 80% Ethanol
6. 70% Ethanol
7. aqua dest
8. Papanicolauo-Lösung 1a (Merck 1.09253.2500) (1-2 min)
9. kurz unter Leitungswasser abspülen
10. 3% HCl-Ethanol-Lösung (3-5 sek)
11. unter fließendem Leitungswasser für 10 min abspülen
12. Eosinarbeitslösung (0,5-1 min)
13. kurz unter Leitungswasser abspülen
14. 70% Ethanol
15. 80% Ethanol
16. 96% Ethanol
17. 100% Ethanol
18. Xylol
19. Eindecken in Corbit-Balsam (Hecht)

Nach der Einbettung in Corbit-Balsam erfolgt die Lichtmikroskopie (BX 60, Olympus) und die digitale Fotografie (ColorView XS, Soft Imaging System) der Schnitte. Die Digitalbilder wurden mit Hilfe des Programms (analySIS 3.0, Soft Imaging System) nachbearbeitet und gespeichert.

4.2.7. Statistische Auswertung

Die Patientenstammdaten wurden in einer Datenbank (FileMakerPro 4.1Dev1a, FileMaker Incorporation) gesammelt.

Zur Erstellung des Langzeitverlaufs sind die Patientenakten der Augenklinik und die Akten der niedergelassenen Augenärzte ausgewertet worden. Die Daten wurden in einer Übersichtstabelle (Excel 2000, Microsoft Corporation) eingegeben und zur statistischen Auswertung in das statistische Programm (SPSS 12.0.1. für Windows, SPSS Incorporation) konvertiert.

Im Rahmen der Datenkorrelierung wurden verschiedene statistische Tests eingesetzt. Zum Vergleich zweier qualitativen Parameter wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet, bei zwei quantitativen, nicht normalverteilten Parametern war dies der Mann-Whitney-Test. Zur Auswertung der Überlebenswahrscheinlichkeit wurde der LogRank-Test (Kaplan-Meier-Kurve) benutzt.