

Analyse eingetrübter Intraokularlinsen nach Explantation mittels Rasterelektronenmikroskopie und Elementaranalyse

St. Schmidt, G. U. Auffarth, T. M. Rabsilber, M. P. Holzer, M. J. Sánchez, I. Lieberwirth

Zusammenfassung

Fragestellung: Die Eintrübung hydrophiler Intraokularlinsen stellt eine seltene Komplikation nach Kataraktoperation und Hinterkammerlinsenimplantation dar. Mithilfe spezieller Färbungen konnten hierbei Kalziumablagerungen nachgewiesen werden. Neuere Analyseverfahren können Hinweise für weitere strukturelle und elementare Veränderungen des Linsenmaterials liefern.

Methodik: Es wurden 4 explantierte hydrophile Acrylatlinsen, die ein Aliazinrot-positives Färbverhalten aufwiesen, und 2 originalverpackte hydrophile Acrylatlinsen mittels Rasterelektronenmikroskopie (REM) und energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) analysiert.

Ergebnisse: Die REM ergab variable Veränderungen und Ablagerungen an der Oberfläche der explantierten IOLs. In der EDX wurde bei 3 der Aliazinrot-positiven IOLs Kalzium nachgewiesen. Des Weiteren fanden sich neben den Elementen Kohlenstoff und Sauerstoff auch Natrium, Chlorid sowie in geringen Mengen Phosphat und Stickstoff. Die originalverpackten IOLs enthielten lediglich Kohlenstoff und Sauerstoff.

Schlussfolgerungen: Die Oberflächenveränderungen explantierter Intraokularlinsen können vielfältig sein. Sie beinhalten mineralische und möglicherweise organische Ablagerungen sowie strukturelle Defekte. Die Tatsache, dass nur bei 3 von 4 Aliazinrot-positiven IOLs Kalzium nachgewiesen wurde, weist auf die geringe Spezifität dieser Färbemethode hin.

Summary

Purpose: The opacification of hydrophilic intraocular lenses is a rare but severe complication, which can appear after primarily successful cataract surgery. In the past, staining methods showed Calcium to be the main element of deposits on the IOL surface. By using more defined techniques of analysis, further information on the structural and elemental changes of IOL material could be found.

Methods: In this case series, 4 explanted hydrophilic acrylic IOLs, staining positively with alizarin red, were analysed via Scanning Electron Microscopy (SEM) and Elemental Analysis (EDX). As a control group, 2 hydrophilic acrylic IOLs of original package were analysed in the same way.

Results: SEM revealed variable changes and deposits on the surface of the explanted IOLs. EDX detected the element of Calcium in 3 out of 4 IOLs, which had stained positively with alizarin red beforehand. Furthermore carbon, oxygen, sodium, chloride, and additionally phosphate and nitrate in smaller doses were found. The IOLs of original package just showed carbon and oxygen.

Conclusions: Superficial changes on explanted IOLs can show variety. The nature of deposits includes mineral or assumed organic origin, and structural defects. Surprisingly

the element of Calcium could only be detected in 3 out of 4 explanted IOLs, which had stained positively with alizarin red. This could be explained by low specificity of alizarin red staining.

Einleitung

Die Explantation von Intraokularlinsen ist eine vergleichsweise seltene Notwendigkeit nach primär erfolgreicher Kataraktoperation. Die häufigsten Gründe, die zur Explantation führen, umfassen eine falsche IOL-Brechkraft [1], Dislokation, IOL-Trübungen, IOL-Beschädigungen und Lichtsensationen. Die Häufigkeit ihres Auftretens ist hierbei abhängig vom Design und Material des IOL-Typs [2].

Insbesondere die hydrophilen Acrylatlinsen besitzen eine Prädisposition zur sekundären Eintrübung [3]. In diesem Zusammenhang scheinen das Vorhandensein eines chronischen intraokularen Reizzustandes, z. B. bei Uveitis anterior, diabetischer Retinopathie oder der Zustand nach mehrfacher Hinterabschnittschirurgie, einen triggernden Effekt zu haben. Die genauen Mechanismen, die zu Ablagerungen auf IOL-Oberflächen führen, sind bis heute nicht geklärt.

Mithilfe der konventionellen Lichtmikroskopie und spezieller Färbetechniken, wie der Alizarinrot-Färbung, konnten mehrfach Kalziumablagerungen auf der Oberfläche explantierter IOLs nachgewiesen werden [4, 5]. Gleichzeitig ist die Aussagekraft dieser Methoden begrenzt. Um genauere Aufschlüsse über die oberflächlichen Veränderungen explantierter IOLs zu erhalten, müssen modernere Analyseverfahren wie die Rasterelektronenmikroskopie (REM) und die Elementaranalyse (EDX) mittels Röntgenspektroskopie eingesetzt werden. Hierdurch können exakte Aussagen über die Morphologie und die elementare Zusammensetzung der untersuchten Ablagerungen getroffen werden.

Methodik

Für diese Fallserie wurden vier explantierte hydrophile Acrylatlinsen Rayner 570 C und zwei originalverpackte IOLs gleicher Art mittels REM und EDX untersucht. Die explantierten IOLs waren bereits zuvor halbiert worden, wobei jeweils eine Hälfte mit Alizarinrot gefärbt wurde. Die Analyse der anderen Hälfte erfolgte im Max-Planck-Institut für Polymerforschung (MPIP) in Mainz, Deutschland. Zur REM wurde das Mikroskop SU 8000 REM (Abb. 1a) der Firma Hitachi verwendet. Das Funktionsprinzip des Rasterelektronenmikroskops beruht auf dem Abtasten von Oberflächen mittels eines hochenergetischen, fokussierten Elektronenstrahls. Hierdurch kann eine hochauflösende Darstellung von Oberflächenstrukturen erzielt werden mit einer theoretischen Vergrößerung von 1 : 1 Millionen. Dies entspricht einem Auflösungsvermögen von 1 nm.

Zur Bestimmung der elementaren Zusammensetzung erfolgte im Anschluss eine Elementaranalyse von interessant erscheinenden Arealen mittels Energiedispersiver Röntgenspektroskopie. Hierzu wurde das System Quantax EDX der Firma Bruker (Abb. 1b) verwendet. Das Funktionsprinzip des EDX basiert auf einer Anregung von

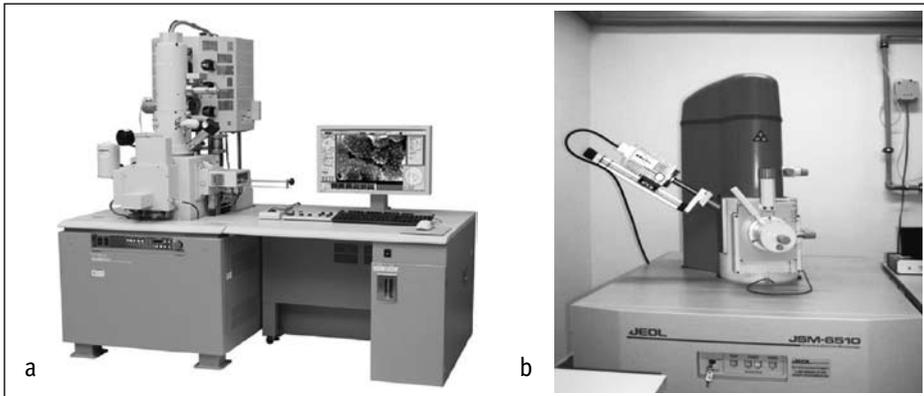


Abb. 1: a) Hitachi SU 8000 REM, b) Bruker Quantax EDX

Atomen durch einen Elektronenstrahl einheitlicher Energie (Abb. 2a). Dies führt zur Abgabe von Röntgenstrahlen, die eine elementspezifische Energie besitzen. Die emittierte Strahlung wird von einem Siliziumdetektor aufgefangen und in elektrische Energie umgewandelt, woraus ein EDX-Spektrum entsteht (Abb. 2b). Es kommt zur Darstellung von elementspezifischen Peaks auf einem breiten unspezifischen Untergrund, der durch sogenannte Bremsstrahlung erzeugt wird. Aus dem EDX-Spektrum lässt sich auch eine quantitative Analyse mit prozentualer Verteilung der gemessenen Elemente erzeugen.

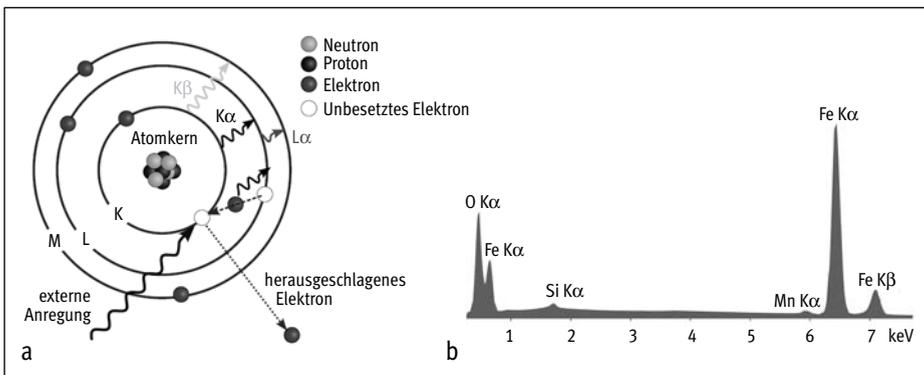


Abb. 2: a) Funktionsprinzip des EDX auf atomarer Ebene, b) EDX Spektrum bestehend aus Untergrundstrahlung und elementspezifischen Peaks

Ergebnisse

Die Kontrollgruppe der originalverpackten IOLs zeigte in der REM eine glatte Oberfläche mit vereinzelt kristallinen Ablagerungen. Die EDX ergab neben Kohlenstoff und Sauerstoff (Elemente des hydrophilen Acrylats) den Nachweis von

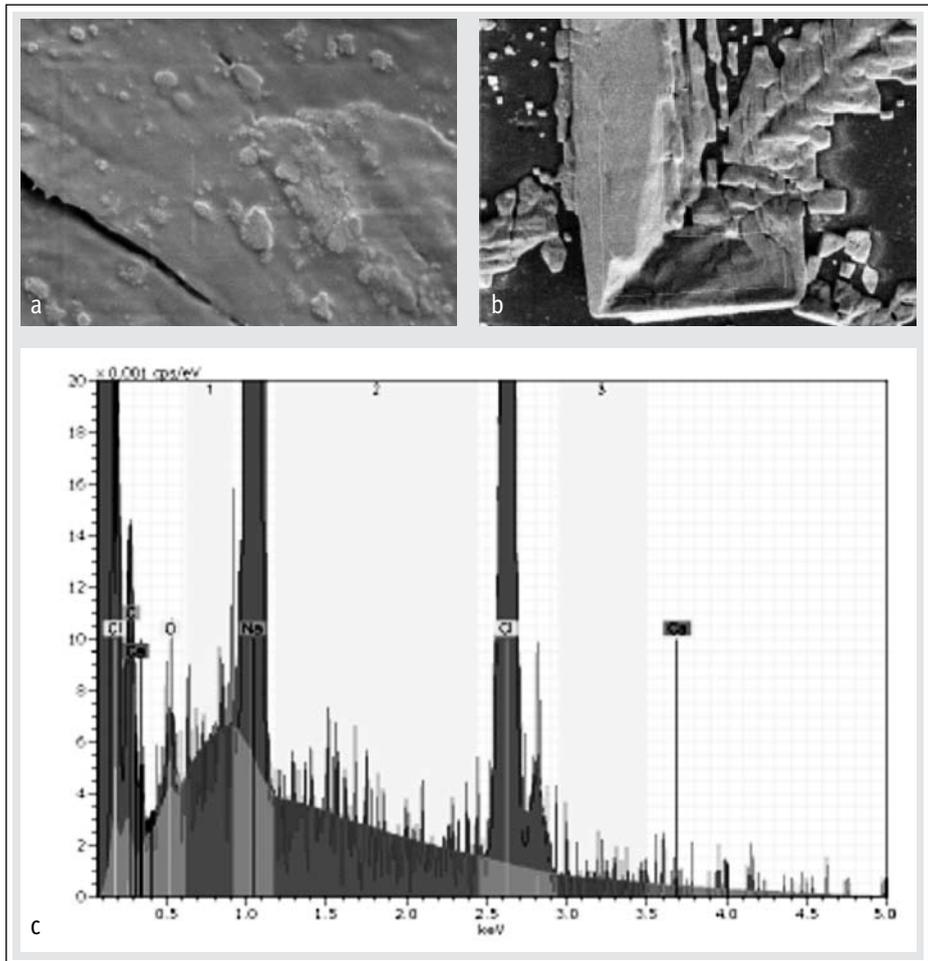


Abb. 3: Explantierte IOL Nr. 1, a) feine Risse, b) flächenförmige Ablagerungen, c) Röntgenspektroskopie

Natrium und Chlorid. Wahrscheinlich handelte es sich bei den kristallinen Ablagerungen um auskristallisierte Partikel der Lagerungsflüssigkeit.

Die explantierte IOL Nr. 1 wies in der REM feine Risse an der Optikvorderfläche auf (Abb. 3a), die am ehesten als Artefakte im Rahmen der operativen Entfernung zu sehen sind. Weiterhin zeigten sich fleckförmige Ablagerungen mit rauer Oberfläche (Abb. 3b), die bei höherer Auflösung eine mineralische Gestalt aufwiesen. Eine Analyse dieser Ablagerungen mittels EDX ergab neben den Elementen Natrium, Chlorid, Kohlenstoff und Sauerstoff einen Kalziumgehalt von 25 %.

Die explantierte IOL Nr. 2 wies in der REM sowohl kockenartige als auch girlandenförmige Ablagerungen auf (Abb. 4a), die bei höherer Auflösung an Pilzhyphen erinnerten (Abb. 4b). In der EDX konnten die Elemente Kohlenstoff, Sauerstoff und

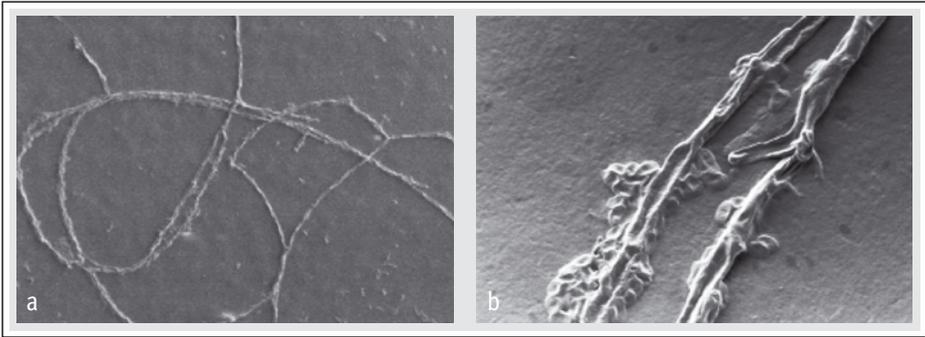


Abb. 4: Explantierte IOL Nr. 2, a) kochenartige und girlandenförmige Ablagerungen, b) pilzhypenförmige Ablagerungen

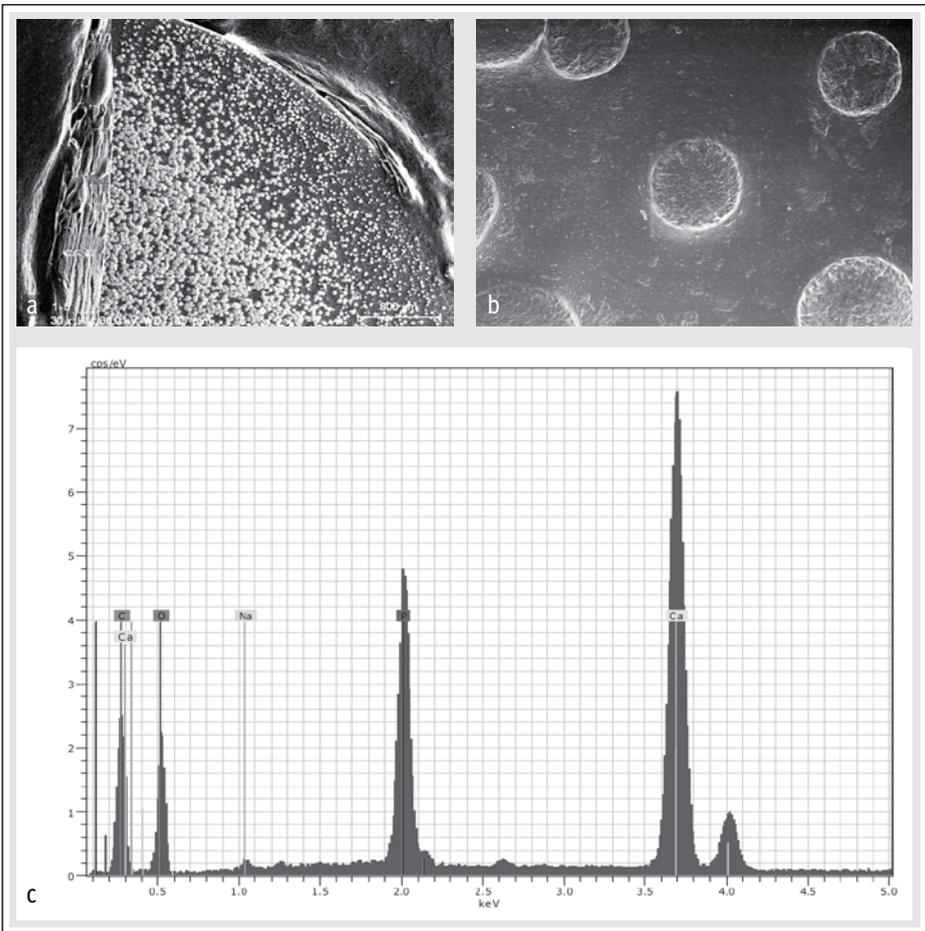


Abb. 5: Explantierte IOL Nr. 3, a) granuläre Ablagerungen an der Optikvorderfläche, b) raue Oberfläche der kugelförmigen Gebilde, c) Röntgenspektroskopie

Stickstoff nachgewiesen werden, wodurch der Verdacht des organischen Ursprungs dieser Veränderungen bestätigt wurde. Obwohl diese IOL zuvor ein positives Färbeverhalten für Alizarinrot zeigte, war in der EDX kein Kalzium nachweisbar.

Die explantierte IOL Nr. 3 zeigte an ihrer Optikvorderfläche eine flächenhafte Bedeckung mit kleinen granulären Ablagerungen, deren Dichte und Größe vom Zentrum zur Peripherie hin abnahm (Abb. 5a). Diese kugelförmigen Gebilde besaßen bei höherer Vergrößerung eine raue Oberfläche (Abb. 5b). Die Röntgenspektroskopie ergab jeweils hohe Peaks für Kalzium und Phosphat (Abb. 5c). In geringeren Mengen waren auch Kohlenstoff, Sauerstoff und Natrium nachweisbar.

Die explantierte IOL Nr. 4 besaß zwei auffällige Areale an ihrer Optikvorderfläche. Im Zentrum der Optik zeigte sich eine homogen erscheinende, fleckförmige Mem-

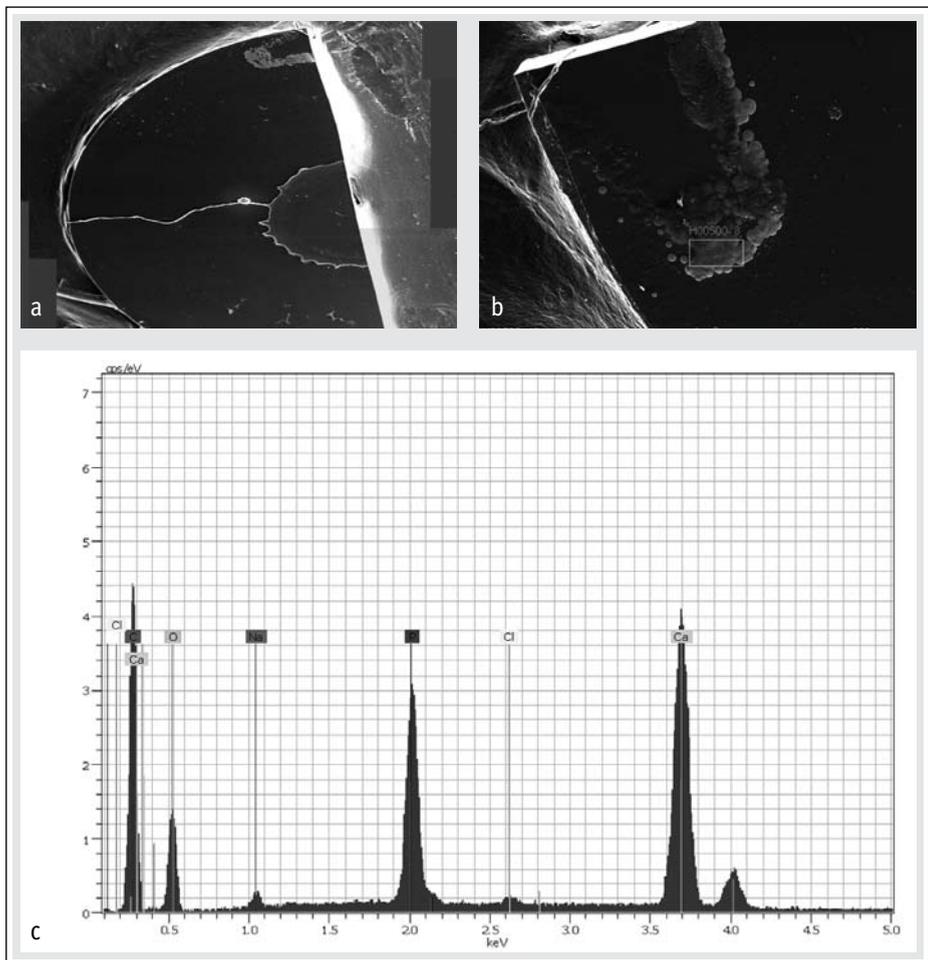


Abb. 6: Explantierte IOL Nr. 4, a) fleckenförmige Membran im Zentrum der Optik, b) granuläre Ablagerungen am Rand der Optik, c) Röntgenspektroskopie

bran (Abb. 6a), die einen Durchmesser von ca. 2 mm besaß. Am Rand der Optik zeigte sich zusätzlich ein umschriebenes Areal granulärer, teils miteinander verschmolzener Ablagerungen (Abb. 6b). Die Analyse der zentral gelegenen Veränderung mittels EDX ergab die Elemente Kohlenstoff und Sauerstoff in hoher Konzentration und nebenbei Natrium und Phosphat. Die peripheren Ablagerungen bestanden hauptsächlich aus Kalzium und Phosphat, in geringen Mengen waren auch Kohlenstoff, Sauerstoff und Natrium nachweisbar (Abb. 6c).

Schlussfolgerungen

Die Kombination aus Rasterelektronenmikroskopie und Elementaranalyse ergibt wesentlich genauere Informationen über die Gestalt und Zusammensetzung oberflächlicher Veränderungen als herkömmliche Untersuchungsmethoden wie Lichtmikroskopie und Alizarinrot-Färbung. In den vorliegenden REM-Aufnahmen konnten variable Oberflächenablagerungen gezeigt werden, die einerseits granuläre und membranöse anorganische Materialien, andererseits Ablagerungen organischen Ursprungs beinhalten.

Die Auswertung der Elementaranalyse erbrachte neben Kalzium und Phosphat eine Vielzahl weiterer Elemente, die jedoch in wesentlich geringerem Maße vorlagen. Wir konnten nachweisen, dass insbesondere die granulären und fleckförmigen Ablagerungen der IOL Nr. 1, Nr. 3 und Nr. 4 einen hohen Kalziumanteil besitzen. Dieser Sachverhalt korreliert mit den Ergebnissen einer kleineren Fallserie von explantierten Rayner 570 C [6]. Die Tatsache, dass in der EDX von IOL Nr. 2 trotz positiver Alizarinrot-Färbung kein Kalzium nachgewiesen wurde, ist ein Hinweis für die geringe Spezifität von Alizarinrot.

Bereits seit Einführung der hydrophilen Acrylatlinsen ist deren vergleichsweise hohe Tendenz zur Eintrübung bekannt. Noch heute werden Eintrübungen bei der hydrophilen Acrylat-IOL Hydroview (Bausch & Lomb) beobachtet und analysiert [7, 8]. Als eine der Ursachen, die zur Ablagerung von Kalziumphosphatkristallen führt, werden die oberflächlichen Hydroxylgruppen des hydrophilen Acrylatmaterials diskutiert [9]. Weiterhin könnten verlängerte intraokulare Reizzustände, wie sie im Rahmen komplizierter vitreoretinaler Eingriffe oder bei fortgeschrittener diabetischer Retinopathie eintreten [10], durch Erhöhung der intracameralen Kalziumkonzentrationen die Bildung von Kalziumphosphatablagerungen fördern. Zum besseren Verständnis dieser Vorgänge sind größere Fallserien mit einer detaillierten Aufarbeitung der Patientenhistorie notwendig.

Literatur

1. AUFFARTH GU ET AL.: Reasons for the explantation of posterior chamber lenses. *Ophthalmologie* 1994 Aug;91(4):507–511
2. DICK HB ET AL.: Komplikationen faltbarer Intraokularlinsen mit der Folge der Explantation. *Ophthalmologie* 2003;100:465–470
3. SCHMIDBAUER JM ET AL.: Postoperative opacification of posterior chamber intraocular lenses – a review. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2001 Sep;218(9):586–594. Review. German.
4. WERNER L ET AL.: Postoperative deposition of Calcium on the surfaces of a hydrogel intraocular lens. *Ophthalmology* 2000 Dec;107(12):2179–2185
5. WERNER L ET AL.: Dense opacification of the optical component of a hydrophilic acrylic intraocular lens: a clinicopathological analysis of 9 explanted lenses. *J Cataract Refract Surg* 2001 Sep;27(9):1485–1492
6. SUNG JL ET AL.: Surface calcification of hydrophilic acrylic intraocular lens related to inflammatory membrane formation after combined vitrectomy and cataract surgery. *J Cataract Refract Surg* 2010;36:676–681
7. FODOR M ET AL.: Spectroscopic study of explanted opacified hydrophilic acrylic intraocular lenses. *Acta Ophthalmol* 2011 Mar;89(2):e161–166
8. KATSIMPRISET JM ET AL.: Späte postoperative Eintrübung von Hydrogel-Intraokularlinsen: eine Analyse von 13 Fällen. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2009;226(4):264–271
9. GARTAGANIS SP ET AL.: Opacification of hydrophilic acrylic intraocular lens attributable to calcification: investigation on mechanism. *Am J Ophthalmol* 2008;146:395–403
10. TACHI N ET AL.: Anterior chamber inflammation after vitrectomy in posterior vitreous membrane syndrome and phacoemulsification and intraocular lens implantation. [Japanese] *Nippon Ganka Gakkai Zasshi* 1995;99:329–335