Aus der Klinik für Augenheilkunde
Universitätsklinikum des Saarlandes, UKS
Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. med. Berthold Seitz ML, FEBO

Einflussfaktoren auf die Eignung von kornealem Spendergewebe in der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz von 2006 bis 2016

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2020

vorgelegt von: Kristina Susanna Kramp

geboren am: 26.07.1992, in Saarlouis

Tag der Promotion: 27.01.2021

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Berthold Seitz

Prof. Dr. med. Matthias W. Laschke

Große Teile der vorliegenden medizinischen Dissertation wurden am 20.05.2020 in den „Klinischen Monatsblättern für Augenheilkunde“ veröffentlicht [1].

I Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung 1

1.1 Zusammenfassung 1

1.2 Abstract 3

2 Einleitung 5

2.1 Die Hornhaut 5

2.2 Die Keratoplastik 8

2.2.1 Aktuelle Zahlen 8

2.2.2 Formen der Keratoplastik 10

2.3 Die Hornhautbank 13

2.4 Spenderakquise und medizinische Eignung 14

2.4.1 Rekrutierung der Spender 14

2.4.2 Einholen des Einverständnisses 15

2.4.3 Bescheinigung des Todes 15

2.4.4 Medizinische Kontraindikationen 16

2.4.5 Spenderserologie 18

2.5 Hornhautentnahme 19

2.5.1 Ablauf der Hornhautentnahme 20

2.5.2 Bindehautabstrich 24

2.6 Kultivierung des Spendergewebes 24

2.6.1 Inkulturnahme und Organkultur 25

2.6.2 Kontamination des Kulturmediums 26

2.7 Transplantatuntersuchung 29

2.7.1 Endothelzelldichte 30

2.7.2 Endothelnekrosen 33

2.7.3 Endothelzellmorphologie 34

2.8 Freigabe der Hornhaut und Allokation 36

2.9 Ziel der Studie 37

3 Patienten und Methoden 38
3.1 Studiendesign 38
3.2 Definition der Zielgröße 38
3.3 Statistik 38
3.4 Datenerhebung 39
3.5 Eignung des kornealen Spendergewebes 44
3.6 Verwerfungsgründe 45
3.6.1 Verwerfung wegen Endothel 45
3.6.2 Verwerfung wegen Kontamination 45
3.6.3 Verwerfung wegen Serologie 46
3.6.4 Verwerfung wegen Narbe 46
3.6.5 Verwerfung wegen Bindehautabstrich 46
3.6.6 Verwerfung wegen nachträglicher medizinischer Kontraindikationen 46
3.6.7 Verwerfung wegen technischer Ursachen 47
4 Ergebnisse 48
4.1 Eignung 48
4.2 Verwerfungsgründe 49
4.2.1 Verwerfung wegen Endothel 49
4.2.2 Verwerfung wegen Kontamination 51
4.2.3 Verwerfung wegen Serologie 51
4.2.4 Verwerfung wegen Narbe 52
4.2.5 Verwerfung wegen Bindehautabstrich 52
4.2.6 Verwerfung wegen medizinischer Kontraindikationen 52
4.2.7 Verwerfung wegen technischer Ursachen 52
4.3 Einflussfaktoren 53
4.3.1 Spenderalter 53
4.3.2 Spendergeschlecht 56
4.3.3 Todesursachen 57

4.3.4 Diabetes mellitus ... 59
4.3.5 Arterielle Hypertonie ... 60
4.3.6 Chemotherapie ... 60
4.3.7 Linsenstatus ... 60
4.3.8 Postmortem-Zeit ... 63
4.4 Multivariate Analyse von Einflussfaktoren auf die Eignung des Spendergewebes ... 65
5 Diskussion ... 67
5.1 Eignung ... 67
5.2 Verwerfungsgründe ... 69
5.3 Einflussfaktoren ... 70
5.3.1 Spenderalter ... 70
5.3.2 Spendergeschlecht ... 72
5.3.3 Todesursache ... 73
5.3.4 Diabetes mellitus ... 76
5.3.5 Arterielle Hypertonie ... 80
5.3.6 Chemotherapie ... 80
5.3.7 Linsenstatus ... 81
5.3.8 Postmortem-Zeit ... 82
5.4 Studienaufbau und limitierende Faktoren ... 84
6 Schlussfolgerungen ... 85
7 Abbildungsverzeichnis ... 86
8 Tabellenverzeichnis ... 88
9 Literaturverzeichnis ... 89
10 Anhang ... 100
11 Danksagung ... 109
12 Publikationen ... 110
13 Lebenslauf der Autorin ... 111

II Abkürzungsverzeichnis

§	Paragraph
Abs	Absatz
Ag	Antigen
AMG	Arzneimittelgesetz
AMWHV	Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung
BH	Bindehaut
BSS	Balanced Salt Solution
bzw	beziehungsweise
ca	circa
DALK	Deep Anterior Lamellar Keratoplasty
DGFG	Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation
DMEK	Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty
dpt	Dioptrien
DSAEK	Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty
EBAA	Eye Bank Association of America
EEBA	European Eye Bank Association
EZD	Endothelzelldichte
FCS	Fetales Kälberserum
GewV	Gewebeverordnung
ggf	gegebenenfalls
h	hours (Stunden)
HbA1c	Glykohämoglobin
HBV	Hepatitis B-Virus
HCV	Hepatitis C-Virus
HH	Hornhaut

HHB	Hornhautbank
HIV	human immunodeficiency virus
Ig	Immunglobuline
KM	Kulturmedium
KPL	Keratoplastik
pKPL	perforierende Keratoplastik
M	Morbus
ml	Milliliter
mm²	Quadratmillimeter
MOV	Multiorganversagen
Nr	Nummer
OP	Operation
PCR	polymerase chain reaction
QM	Qualitätsmanagement
SD / Std.-Abw.	Standardabweichung
TPG	Transplantationsgesetz
u.a.	unter anderem
UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes
vs	versus
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach

1 Zusammenfassung

1.1 Zusammenfassung

Hintergrund und Ziel der Studie: Vor dem Hintergrund eines Ungleichgewichts zwischen Hornhautverfügbarkeit und -bedarf, war das Ziel unserer Studie, signifikante Einflussfaktoren auf die Eignung sowie die Verwerfungsgründe von kornealem Spendergewebe zu ermitteln und damit die Rate der verworfenen Hornhäute langfristig zu verringern.

Patienten und Methoden: Retrospektiv wurden 4140 Hornhäute von 2083 Spendern über einen Zeitraum von 11 Jahren (Januar 2006 bis Dezember 2016) analysiert. Die untersuchten Einflussgrößen umfassten sowohl das Alter, das Geschlecht und die medizinische Vorgeschichte der Spender als auch Lagerungsfaktoren. Das Spendergewebe wurde durch direkte Exzision einer 15mm Korneoskleralscheibe an der Leiche gewonnen und anschließend bei 34° C organkultiviert. Die gesammelten Daten wurden in eine Microsoft Access Datenbank übernommen und mittels logistischer Regressionsanalysen mit SPSS 20.0 ausgewertet. Gründe für eine Verwerfung des Spendergewebes sind typischerweise eine mangelnde Endothelqualität, ausgeprägte Narben, eine positive Spenderserologie, nachträgliche medizinische Kontraindikationen sowie eine Kontamination des Kulturmediums oder ein positives Bindehaut-Abstrich-Ergebnis mit relevanten Keimen. Technische Ursachen führten in vereinzelten Fällen ebenfalls zur Verwerfung des Spendergewebes. Im Mehrfaktorenmodell wurden 6 Einflussfaktoren auf die Eignung des Spendergewebes analysiert. Alle Hornhäute, welche nicht für eine reguläre Keratoplastik in Betracht kamen, galten hierbei als ungeeignet.

Ergebnisse: 49,6% aller in der Studie entnommenen Hornhäute waren für reguläre Keratoplastiken geeignet. Hiervon waren 46,3% des Spendergewebes ohne Einschränkungen geeignet, weitere 3,3% der Hornhäute standen für lamelläre Verfahren zur Verfügung. 34,0% der Hornhäute kamen für eine Notfallkeratoplastik „à chaud“ in Frage. 16,4% des Gewebes waren gänzlich ungeeignet für eine Keratoplastik. Die Hauptverwerfungsgründe waren eine verminderte Endothelqualität (26,5%), die Kontamination des Kulturmediums (7,2%) und die positive Serologie des Spenders (5,8%). 56,8% der Spender waren männlichen und 43,2% weiblichen Geschlechts. Das mittlere Spenderalter betrug 70,3 ± 15,0 Jahre. Ein hohes Spenderalter >80 Jahre erwies sich im Vergleich zur Referenzgruppe der Spender <40 Jahre als signifikant negative Einflussgröße auf die Eignung der Hornhaut (p=0,001). Der Anteil ungeeigneter Hornhäute reichte von 22,8% bei Spendern unter 40 Jahren bis 59,5% bei

Spendern älter als 80 Jahre. Auch eine durchgeführte Katarakt-Operation ($p<0,001$) minderte signifikant die Eignung. Männliche Hornhäute waren signifikant weniger geeignet als weibliche Hornhäute ($p=0,028$). Eine arterielle Hypertonie ($p=0,612$) in der Spendervorgeschichte oder eine stattgefundene Chemotherapie ($p=0,745$) hingegen brachten kein statistisch signifikantes Ergebnis. Auch ein Diabetes mellitus ($p=0,321$) schränkte die Eignung nicht signifikant ein. Bei Diabetikern zeigte sich jedoch eine im Mittel 72 Zellen/mm² niedrigere Endothelzelldichte als beim Gesamtkollektiv. Die 3 häufigsten Todesursachen der Hornhautspender waren kardiovaskuläre (25,4%), zerebrovaskuläre Todesursachen (19,8%) und Krebs (19,1%). Sepsis ($p=0,026$), Multiorganversagen ($p<0,001$) und „andere" Todesursachen beim Spender ($p=0,027$) resultierten in signifikant höheren Verwerfungsraten aufgrund von Kontamination des Mediums im Vergleich zur Referenzgruppe der kardio- und zerebrovaskulären Todesursachen. Die Postmortem-Zeit, also die Zeit zwischen Versterben des Spenders und der Entnahme der Korneoskleralscheibe, lag in unserer Studie im Mittel bei 11,9 ± 9,6 Stunden, der Median bei 11 Stunden. Die Blutentnahmen für die infektionsserologische Prüfung fanden im engen zeitlichen Rahmen zur Hornhautentnahme statt. Spenderhornhäute mussten signifikant häufiger wegen einer positiven Spenderserologie verworfen werden ($p<0,001$), wenn die Blutentnahme mehr als 12 Stunden seit Versterben des Spenders zurücklag. Die Verwerfungsrate wegen positiver Serologie lag bei Hornhäuten mit einer Postmortem-Zeit von <6 Stunden bei 3,5%, 6-12 Stunden bei 5,1% und >12 Stunden bei 8,4%.

Schlussfolgerungen: Faktoren wie ein hohes Spenderalter oder eine stattgehabte Katarakt-Operation verringerten die Eignung des kornealen Spendergewebes in der Organkultur. Sepsis, Multiorganversagen oder „andere" Todesursache (zum Beispiel Suizid) erhöhten die Kontaminationsrate des Mediums. Eine postmortale Blutentnahme nach mehr als 12 Stunden steigerte das Risiko für ein positives Serologie-Ergebnis. Ein Diabetes mellitus in der Spendervorgeschichte resultierte in einer verminderten Endothelzelldichte, schränkte die Eignung des Spendergewebes aber nicht statistisch signifikant ein. Eine arterielle Hypertonie und eine Chemotherapie in der Spendervorgeschichte schienen die Eignung ebenfalls nicht signifikant zu beeinflussen.

1.2 Abstract

Background and Purpose: Based on the discrepancy between availability and demand for corneal donors, the purpose of our study was to identify significant factors influencing the suitability and affecting the main reasons for discarding organ-cultured corneas. Thus, our long term objective was to minimise the percentage of unsuitable corneas.

Patients and Methods: Retrospectively, 4140 corneas from 2083 donors were analysed over a study period of eleven years (January 2006 to December 2016). The factors examined included age, gender and medical history of the donors as well as storage factors. The donor tissue was obtained from the cadaver by direct excision of a 15mm corneoscleral disc and then organ-cultured at 34°C. The collected data was transferred to a Microsoft Access database and evaluated with SPSS 20.0, using logistic regression analyses. Reasons for discarding donor tissue are typically a poor endothelial quality, relevant scars, a positive donor serology, subsequent medical contraindications as well as a contamination of the culture medium or a positive test result of the conjunctiva with relevant pathogens. In isolated cases, technical causes also led to the donor tissue being discarded. In a multiple regression model, six factors influencing the suitability of the donor tissue were analysed. All corneas that did not meet the criteria for a regular keratoplasty were considered unsuitable.

Results: 49.6% of all corneas considered in the study were suitable for a regular keratoplasty. 46.3% of these were suitable without restrictions, and a further 3.3% of the corneas were only available for lamellar procedures. 34.0% of the corneas were suitable for an emergency keratoplasty “à chaud”. Only 16.4% of the tissue was totally unsuitable for keratoplasty. The main reasons for discarding corneas were poor endothelial quality (26.5%), contamination of the culture medium (7.2%) and a positive donor serology (5.8%). 56.8% of the donors were male and 43.2% were female. The mean donor age was 70.3 ± 15.0 years. A high donor age of >80 years was found to significantly negatively influence the suitability of the cornea ($p=0.001$) compared to the reference group of donors aged <40 years. The percentage of unsuitable corneas ranged from 22.8% for donors under 40 years of age to 59.5% for donors older than 80 years of age. Cataract surgery ($p<0.001$) also significantly reduced suitability. Male corneas were significantly less suitable than female corneas ($p=0.028$). No statistically significant result was found for hypertension ($p=0.612$) or chemotherapy ($p=0.745$) in the donor history. A status of diabetes mellitus ($p=0.321$) did also not significantly restrict the suitability. Diabetics, however, showed an endothelial cell density 72 cells/mm² lower on average than the overall collective. The three most frequent causes of death of the cornea donors were cardiovascular

(25.4%) and cerebrovascular reasons (19.8%) as well as cancer (19.1%). Due to contamination of the culture medium, sepsis ($p=0.026$), multiorgan failure ($p<0.001$) and “other” causes of death ($p=0.027$) resulted in significantly higher discarding rates compared to the reference group of cardiovascular and cerebrovascular causes of death. The postmortem time, i.e. the time between decease of the donor and the excision of the corneoscleral disc, was on average 11.9 ± 9.6 hours. The median was 11 hours. The blood samples for the serological examinations were taken in close temporal relation to the excision. Corneas had to be discarded significantly more often because of a positive donor serology, if the blood sample collection occurred more than 12 hours after the death of the donor ($p<0.001$). The discarding rate due to positive donor serology was 3.5% for corneas with a postmortem time of <6 hours, 5.1% for 6-12 hours, and 8.4% for >12 hours.

Conclusions: Factors such as a high donor age or cataract surgery significantly reduced the suitability of corneal donor tissue in organ culture. Sepsis, multi-organ failure and “other” causes of death (for example suicide) increased the contamination rate of the medium. Post-mortem blood collection after more than 12 hours increased the risk of positive serology results. Diabetes mellitus in the donor history resulted in reduced endothelial cell density but did not statistically significantly limit the suitability of donor tissue. Arterial hypertension and chemotherapy in the donor history also did not seem to significantly affect suitability.

2 Einleitung

2.1 Die Hornhaut

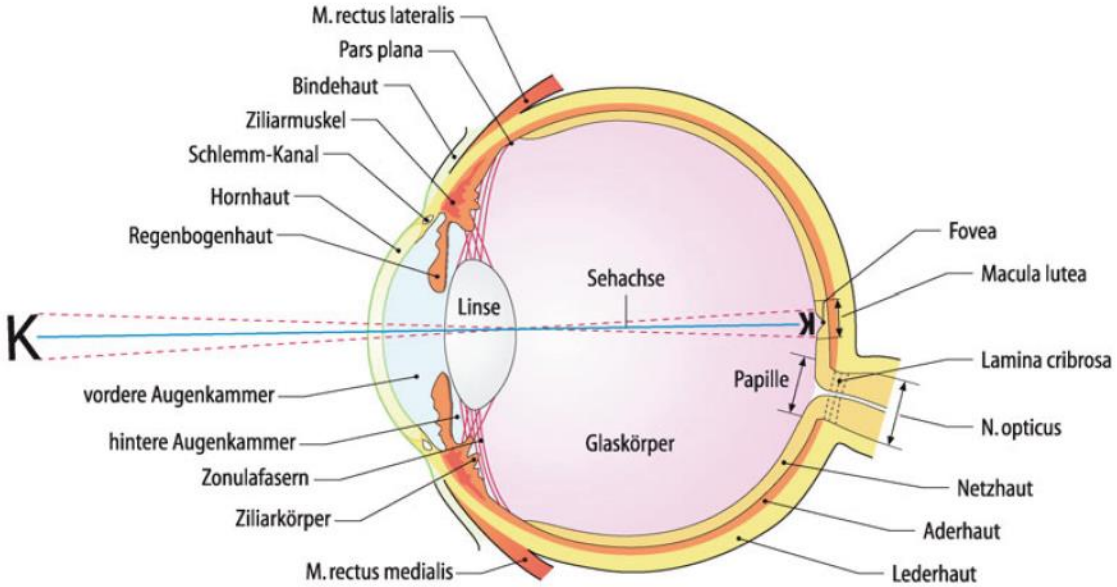

Abbildung 1: *Waagerechter schematischer Schnitt durch den rechten Augapfel* [2]

Die Hornhaut (HH) (englisch: cornea) spielt als optische Struktur des menschlichen Auges eine bedeutsame Rolle für unser Sehen. Entsprechend einem Uhrglas in der Uhr, ist die HH in die Lederhaut (Sklera) eingelassen [2]. Sie begrenzt das Auge nach außen und bildet nach innen die mit Kammerwasser gefüllte Vorderkammer (siehe **Abbildung 1**). In ihrer Funktion als „Frontlinse“ des Auges, trägt die HH mit ihrer Transparenz und Wölbung zur scharfen Abbildung von Gegenständen auf unserer Netzhaut bei. Mit circa (ca.) 43 Dioptrien (dpt) übernimmt sie durch ihre Krümmung und die glatte, optisch brechende Oberfläche einen erheblichen Anteil an der Gesamtbrechkraft des Auges [2,3].

Der histologische Aufbau der HH gliedert sich, wie in **Abbildung 2** dargestellt, von außen nach innen in fünf Schichten: Epithel, Bowman-Lamelle, Stroma, Descemet-Membran und Endothel.

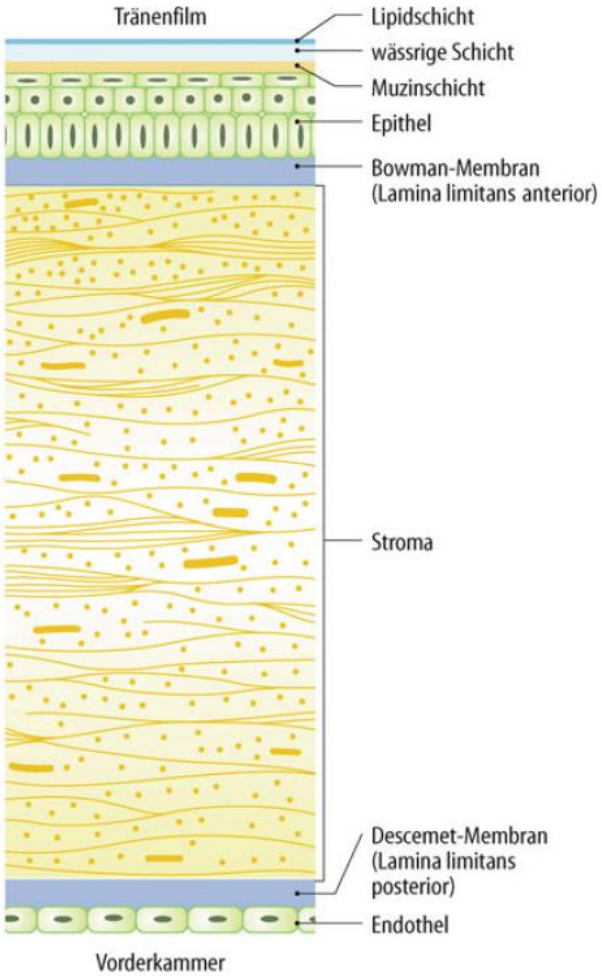

Abbildung 2: *Schnittbild der Cornea* [2]

Die äußerste Schicht und somit Hornhautoberfläche stellt ein regenerationsfähiges, mehrschichtig, unverhorntes Plattenepithel dar, wessen basale Zellen mit der sogenannten Bowman-Lamelle adhärent sind [3]. Das Hornhautepithel bietet mechanischen Schutz und dient der Keimabwehr. Kleinere Läsionen können durch einen hohen Mitoseindex innerhalb von Stunden regeneriert werden [3,4].

In Richtung Vorderkammer, an die Bowman-Lamelle angrenzend, findet sich das Hornhautstroma. Es besteht aus kollagenem Bindegewebe und zeichnet sich durch Zellarmut, hohe Transparenz und hohe Festigkeit aus [2]. Da das Hornhautstroma keinerlei Blutgefäße enthält, ergibt sich eine langsame Regenerationsfähigkeit nach Schädigung und eine narbige Verheilung [2,3].

Abgeschlossen wird das Stroma durch die besonders widerstandsfähige Descemet-Membran, welche aus elastischen Fasern besteht [2].

Ihr sitzt das einschichtige Hornhautendothel mit einer Dicke von 4-6 µm auf. Die Endothelzellen sind polygonal mit 5-7 Rändern [4]. Die meist hexagonalen Zellen gewährleisten zum einen den Stoffaustausch zwischen Kornea und Kammerwasser, zum anderen stellen sie eine Diffusionsbarriere für das Kammerwasser dar. Dank seiner Pumpfunktion bewirkt das Endothel eine ständige Dehydration, entquillt das Stroma und trägt wesentlich zur Transparenz der HH bei [2,3]. Das Endothel ist die metabolisch aktivste sowie empfindlichste Schicht der menschlichen HH [5]. Sinkt die Endothelzelldichte (EZD) auf unter 700 Zellen/mm² (pro Quadratmillimeter), so verliert das Endothel sowohl seine Barriere- als auch seine Pumpfunktion, was zu einer Schwellung und Trübung der HH führt [2,4].

Die EZD beträgt normalerweise ca. 2500 Zellen/mm^2 [2]. Sie nimmt mit zunehmendem Alter physiologisch ab, da die mittlere Zellfläche im Alter fortwährend zunimmt [6,7]. Im Durchschnitt reduziert sich die EZD jährlich um 0,6% im Alter von 15 bis 85 Jahren [8]. Im ersten Lebensmonat liegt sie noch bei ca. 6000 Zellen/mm² [9]. Untersuchungen von Nucci et al. zeigten, dass die EZD im Alter von 5 Lebensjahren im Mittel bei 3500 Zellen/mm² liegt, dann aber schätzungsweise zwischen dem 5. und 7. Lebensjahr um 13% abnimmt und bis zum 10. Lebensjahr wiederum um 12% [10].

Im Gegensatz zum Epithel besitzt das Hornhautendothel keine Regerationsfähigkeit [2]. Die postmitotischen Zellen des Endothels haben wenige bis keine Möglichkeiten sich durch Teilung zu erneuern [11,12]. Defekte des Endothels sowie der allmähliche Verlust an Endothelzellen mit dem Alter gehen mit einer kompensatorischen Zellvergrößerung benachbarter, intakter Endothelzellen und einer deutlichen Funktionseinschränkung einher. Es entsteht ein Zellbild mit zunehmend unregelmäßig großen Zellen (Polymegalismus) [2,6,13]. Ebenso kommt es im Rahmen des Endothelzelldichteverlustes zu einem gesteigerten zellulären Pleomorphismus, nämlich einer zunehmenden Variation an Zellformen [6,13].

Erkrankungen der HH, die zum Beispiel (z.B.) mit einer Trübung oder einer irregulären Wölbung einhergehen und somit starke Einbußen der Sehstärke hervorrufen, können mit einer Hornhauttransplantation therapiert werden [2]. Aus einer Studie von Matthaei et al. geht hervor, dass der Keratokonus in Europa die führende Indikation (24,2%) für eine perforierende Keratoplastik darstellt, gefolgt vom postoperativen Ödem nach Katarakt-Chirurgie (20,6%), einer Keratitis (13,2%) und der Fuchschen Endotheldystrophie (10,2%). Weltweit betrachtet unterscheiden sich die Indikationen von Region zu Region und innerhalb verschiedener Zeiträume [14].

Posteriore lamelläre Keratoplastik-Verfahren wie z.B. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK) und Descemet's Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK) werden zudem immer mehr zur Standardtherapie bei Hornhautendothelerkrankungen, die vorher hauptsächlich durch perforierende Keratoplastiken (pKPL) therapiert wurden [15,16]. So stellen Patienten mit Fuchs-Endotheldystrophie neben sämtlichen Erkrankungen des Hornhautendothels die größte Gruppe innerhalb der Indikationen für posteriore lamelläre Keratoplastiken dar [16].

2.2 Die Keratoplastik

Im Jahr 2018 gab es laut der Weltgesundheitsorganisation (WHO) weltweit schätzungsweise 1,3 Milliarden Menschen, welche mit einer Sehbehinderung lebten [17]. Sechsunddreißig Millionen Menschen galten weltweit als blind und 217 Millionen Menschen als mittel bis schwer sehbehindert [18]. Hornhauterkrankungen zählen zu den Hauptursachen für Erblindung und betreffen weltweit mindestens 4 Millionen Menschen [19]. Das Verfahren der Keratoplastik ist der Goldstandard für die Therapie von Hornhauttrübungen und bei Herabsetzung der Sehschärfe nach kongenitalen Hornhautveränderungen, Hornhautdystrophien, Traumata und Entzündungen [19]. Die perforierende Keratoplastik dient bei akut infektiösen Geschehen dem Erhalt des Auges und der Linderung von Schmerzzuständen [20–22]. Um ihre Sehkraft zurückzuerlangen stellt die Keratoplastik für die Betroffenen meist eine alternativlose Therapie dar [20].

Mehr als 100 Jahre sind bereits vergangen seit Dr. Eudard Zirm im Dezember des Jahres 1905 die erste erfolgreiche perforierende homologe Keratoplastik am Menschen gelang [23]. Der Erfolg entsprach nach vielen zuvor gescheiterten Versuchen einem Meilenstein und stellte einen Höhepunkt jahrhundertelanger Experimente und Theorien dar. Bis Tausend Jahre vor unserer Zeit lassen sich die Anfänge der Keratoplastik zurückverfolgen. Erste Behandlungsansätze für den Ersatz von erkranktem kornealem Gewebe ließen sich schon im Altertum nachweisen [24].

2.2.1 Aktuelle Zahlen

Deutschlandweit werden inzwischen jährlich mehr als 9000 Hornhauttransplantationen durchgeführt. Hiermit zählt die Keratoplastik medizinisch gesehen zu einem „Routineeingriff“ [20,25]. Fortschritte in der Spenderakquise und Kultivierung des Spendergewebes sowie verbesserte chirurgische Techniken tragen wesentlich zur Weiterentwicklung bei. Die

Keratoplastik gehört mit einer Erfolgsrate von etwa 90% zu den erfolgreichsten Gewebetransplantationen [21,25] und zählt, neben der Bluttransfusion, zu dem am meisten transplantierten Gewebe [21,22,26,27]. Laut der „Eye Bank Association of America“ (EBAA) stellen über 97% aller Hornhauttransplantationen das Sehvermögen des Hornhautempfängers erfolgreich wieder her [28].

Die Anzahl der durchgeführten Keratoplastik steigt jährlich [29]. Zahlen des Jahresberichtes der „European Eye Bank Association“ (EEBA) aus dem Jahr 2016 stammten aus 66 Hornhautbanken (HHB) in 22 Ländern. Sowohl im Jahr 2015 als auch im Jahr 2016 kam es zu einem Zuwachs an prozessierten Hornhäuten sowie zu einer prozentualen Steigerung der zur Transplantation freigegebenen HH. So wurden im Jahr 2012 zahlenmäßig 33.302 HH prozessiert, im Jahr 2016 waren es 40.894 HH [29].

Weltweit wurden im Jahr 2012 in insgesamt 116 Ländern 184.576 Hornhauttransplantationen durchgeführt. Die prozessierten Hornhäute, 283.530 an der Zahl, wurden in insgesamt 742 Hornhautbanken gelagert. Jedoch wurde hiermit nur ca. 53% der Weltbevölkerung ein Zugang zur Transplantation ermöglicht [27]. Gain et al. bemaßen das Missverhältnis zwischen weltweitem Bedarf und der vorherrschenden Verfügbarkeit von kornealem Spendergewebe anhand ihrer Umfragen auf 1 verfügbare Hornhaut pro 70 nachfragenden Patienten [27].

In den jährlichen Leistungszahlen der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft wurden für das Jahr 2016 die Daten von 25 deutschen HHB erhoben. 10.458 Hornhäute wurden demnach im Jahr 2016 in Kultur genommen, womit erstmalig der 5-stellige Bereich erreicht wurde. Trotz einer Steigerung der verfügbaren und geeigneten HH um 12% im Vergleich zum Vorjahr, zählte die Warteliste in Deutschland zum 31.12.2016 dennoch 2812 Patienten (von 18 deutschen HHB). Durchschnittlich warteten 172 ± 165 Patienten pro HHB auf ein Transplantat [30].

Auch in Homburg stieg die Anzahl der prozessierten HH und durchgeführten Keratoplastiken in den Jahren zwischen 2005 und 2019 stetig an (siehe **Abbildung 3**). Die Warteliste zählte zum Ende des Jahres 2018 dreihundertfünfundsiebzig Patienten.

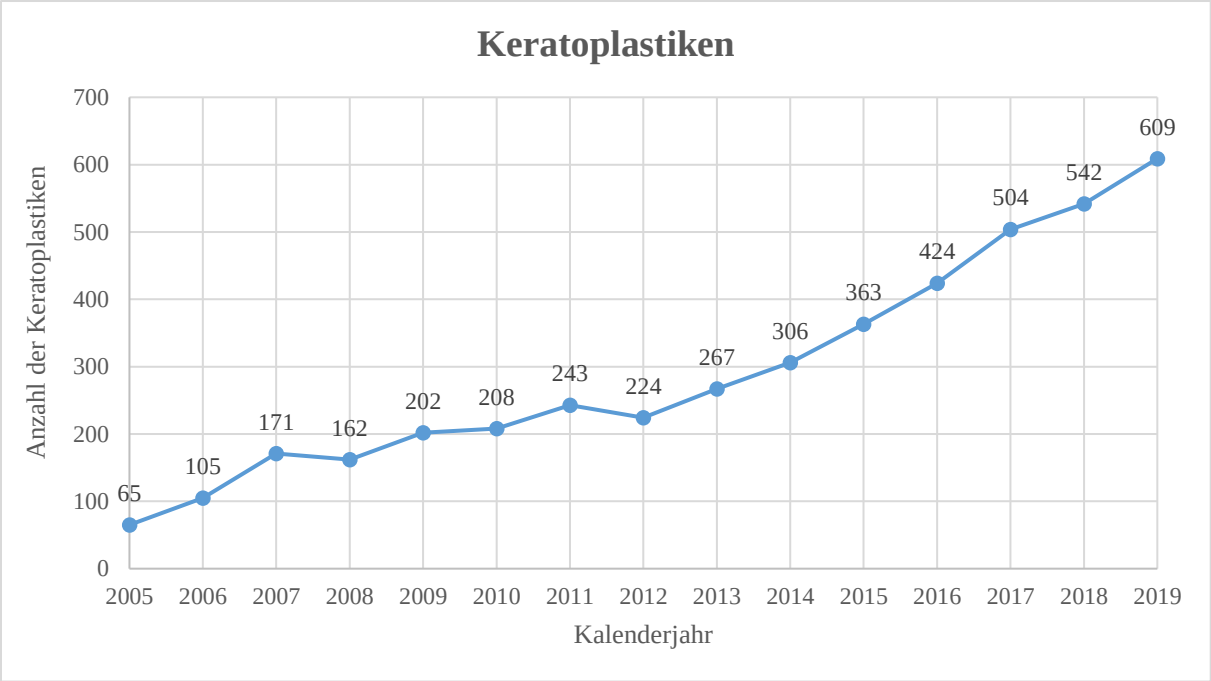

Abbildung 3: *Anzahl der durchgeführten Keratoplastiken in Homburg in den Jahren 2005-2019*

Laut dem Deutschen Keratoplastik-Register zählte die Warteliste in Deutschland am 31.12.2018 fast 5000. Der Bedarf an Spendergewebe wird trotz höherem Angebot nach wie vor nicht gedeckt. So geht man wegen eines stetigen Wachstums und einer stetigen Alterung der Weltbevölkerung davon aus, dass der Bedarf an Hornhäuten weiter steigen wird [11,17–19,31]. Ein Ungleichgewicht zwischen der Nachfrage und allgemeinen Organverfügbarkeit verursacht in der Transplantationsmedizin deutschland- als auch weltweit bedeutende Wartezeiten [32,33].

2.2.2 Formen der Keratoplastik

Die Keratoplastik kann prinzipiell aus optischen oder tektonischen Gründen erforderlich werden (meist elektiv) [25,34]. Optische Indikationen stellen beispielsweise Trübungen und Wölbungsanomalien dar. Eine Blockexzision aufgrund eines malignen Melanoms des Ziliarkörpers oder einer Epithelimplantationszyste wird zu den tektonischen Indikationen gezählt [34]. Des Weiteren kann eine Keratoplastik in kurativer Absicht in Form von Notfalleingriffen „à chaud“ notwendig werden. Sie dient der Wiederherstellung der Integrität des Bulbus. Indikationen sind beispielsweise eine infektiöse oder rheumatisch bedingte Descemetozele oder eine Hornhautperforation [34].

Über ein halbes Jahrhundert stellte die perforierende, durchgreifende Keratoplastik (pKPL) die führende Technik der Transplantation dar. Inzwischen haben sich jedoch die sogenannten lamellären Keratoplastiken etabliert, die eine immer größere Rolle einnehmen [35–37].

Innovationen technischer Art ermöglichen nicht mehr die gesamte Hornhaut, sondern nur die erkrankten Anteile durch spezielle Schichten der Hornhaut zu ersetzen [38,39].

Unterschieden wird bei den lamellären Keratoplastiken zwischen den anterioren und posterioren lamellären Verfahren. Im Folgenden sollen die verschiedenen Techniken kurz vorgestellt werden.

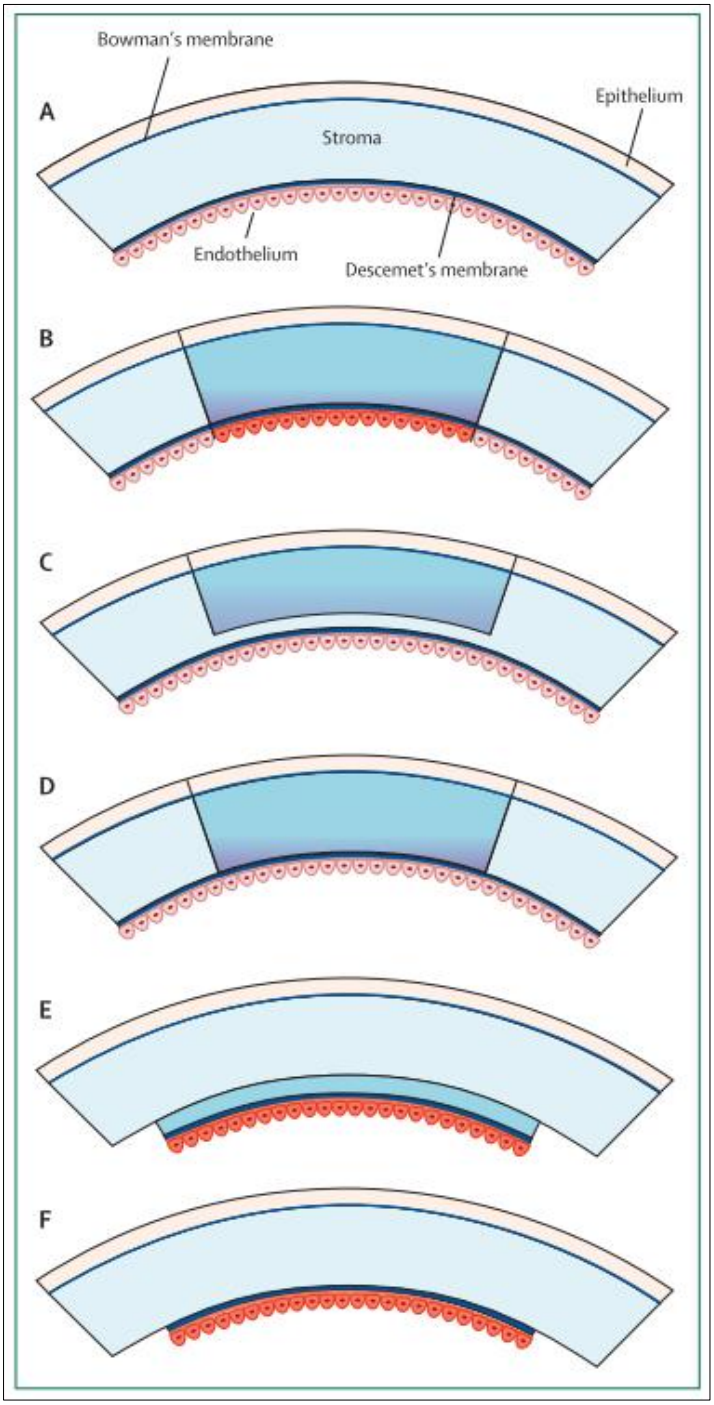

Abbildung 4: *Techniken der Keratoplastik* [35]

2.2.2.1 Perforierende Keratoplastik

Die perforierende Keratoplastik oder auch penetrierende Keratoplastik beschreibt die Transplantation eines alle Hornhautschichten umfassenden Spenderhornhautscheibchens variablen Durchmessers (siehe B **Abbildung 4**) [35,38]. Charakteristischerweise werden somit alle fünf Hornhautschichten, nämlich das Epithel, die Bowman-Lamelle, das Stroma, die Descemet-Membran und das Endothel verpflanzt [39].

Hornhauterkrankungen, die das Hornhautstroma in voller Dicke erfassen, wie z.B. Hornhautnarben, -dystrophien und -degenerationen, aber auch Wölbungsanomalien der Hornhaut wie der Keratokonus und der Keratoglobus sind Indikationen für eine pKPL. Wird die Transplantation im Rahmen eines Notfalleingriffes vollzogen, handelt es sich um eine sogenannte „Keratoplastik à chaud“. Diese wird z.B. aufgrund eines therapieresistenten Hornhautulkus zur Entfernung der Perforationsstelle oder bei offenem (perforiertem) Auge vollzogen [38]. Im Jahre 1950 wurde der Begriff „Keratoplastik à chaud“ von Franceschetti und Doret eingeführt [40].

Mithilfe diverser Trepanationssysteme kann die Trepanation der Spender- als auch Empfänger-Hornhaut entweder von endothelial oder epithelial erfolgen [41]. Zur Auswahl stehen mechanische Systeme, wie z.B. das handgeführte und motorgetriebene System, sowie die Homburger/Erlanger Technik der nichtmechanischen Trepanation mit dem Excimerlaser, welche im Jahr 2019 den 30. Geburtstag seines klinischen Einsatzes feierte (siehe **Abbildung 5**) [34].

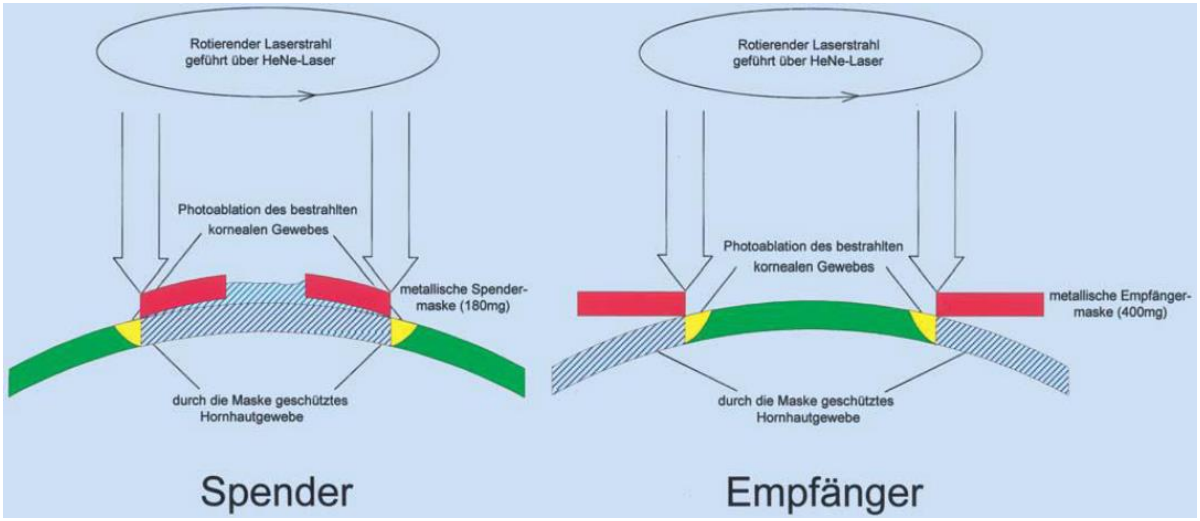

Abbildung 5: *Prinzip der nichtmechanischen Trepanation mittels 193-nm-Excimerlasers entlang einer Metallmaske im Sagittalschnitt. Links: Spendertrepanation. Rechts: Empfängertrepanation* [41]

2.2.2.2 Vordere lamelläre Keratoplastik

Unter der vorderen lamellären Keratoplastik beziehungsweise (bzw.) anterioren lamellären Keratoplastik (ALK) versteht man die alleinige Übertragung der vorderen Hornhautschichten, während die gesunde Descemet-Membran, das funktionstüchtige Endothel und ein Teil des Stromas erhalten bleiben [2,35] (siehe C **Abbildung 4**). Man unterscheidet bei den vorderen lamellären Verfahren die anterior lamelläre und die tiefe anterior lamelläre KPL.

Bei der tiefen vorderen lamellären Keratoplastik bzw. deep anterior lamellar keratoplasty (DALK) wird das Hornhautstroma komplett exzidiert. Hier bleiben ausschließlich die intakte Descemet-Membran und das Endothel erhalten (siehe D **Abbildung 4**) [38].

Vorderen lamelläre Verfahren kommen beim Keratokonus, bei oberflächlich gelegenen Narben oder stromalen Hornhautdystrophien in Frage [2]. Eine DALK kommt zum Einsatz, wenn Trübungen und Narben bis in tiefe Stromabereiche reichen [38].

2.2.2.3 Hintere lamelläre Keratoplastik

Bei der hinteren bzw. posterioren lamellären KPL handelt es sich um zwei Verfahren, welche bei Patienten mit erkranktem Endothel angewendet werden. Man unterscheidet die Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK) von der Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK). Bei der sogenannten DSAEK wird das Endothel zusammen mit der Descemet-Membran kreisförmig entfernt und ein Transplantat, bestehend aus Endothel, Descemet-Membran und dünner Stromalamelle auf die Innenseite der Empfängerhornhaut aufgebracht [2] (siehe E **Abbildung 4**). Beim moderneren Verfahren der DMEK wird nur die Descemet-Membran und das Endothel transplantiert [38] (siehe F **Abbildung 4**). Beide hinteren lamellären Methoden eignen sich für Patienten mit Endothelinsuffizienz z.B. im Rahmen einer Fuchsschen Endotheldystrophie, der bullösen Keratopathie und dem Endothelversagen nach Keratoplastik [39].

2.3 Die Hornhautbank

Die LIONS-Hornhautbank (HHB) Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz an der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes (UKS) wurde im Jahre 2000 von Herrn Professor Ruprecht gegründet. Sie war damals die zwölfte HHB in Deutschland [42] und die zweite durch Spendengelder von „LIONS-Clubs International“ finanzierte deutsche HHB [43]. Das Ziel der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz ist es,

Spenderhornhäute optimaler Qualität zu gewinnen, zu prozessieren und zu transplantieren. Seitens der Gesetzgebung richtet sich die HHB nach den Richtlinien der Bundesärztekammer und der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft, dem Transplantationsgesetz (TPG), der TPG-Gewebeverordnung (TPG-GewV), dem Arzneimittelgesetz (AMG), der Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV) und den EU-Richtlinien. Zu den Aufgaben der HHB zählen die im Folgenden näher beschriebene Spenderakquise, die Hornhautentnahme, die Kultivierung, die Transplantatuntersuchung und -befundung sowie die anschließende Verteilung der HH an die zu transplantierenden Patienten nach Allokationsregeln.

2.4 Spenderakquise und medizinische Eignung

Die Spender der Studie wurden durch das UKS sowie durch die enge Kooperation mit anderen externen Kliniken im Gebiet Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz rekrutiert. Bei der Auswahl der Spender wurde keine minimale oder maximale Altersgrenze gesetzt. Verpflichtend zur Spende war das Vorliegen des Einverständnisses zur Gewebespende, der Ausschluss medizinischer Kontraindikationen und die infektionsserologische Prüfung. Hornhäute von Spendern mit medizinischen Kontraindikationen durften nicht entnommen werden und wurden somit aus der Studie ausgeschlossen. Fiel eine Kontraindikation erst nach der Hornhautentnahme auf, so wurde das Gewebe nachträglich wegen Kontraindikation verworfen.

2.4.1 Rekrutierung der Spender

Durch die enge Zusammenarbeit mit Kooperationspartnern der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz wurden Spender großflächig rekrutiert. Innerhalb des Universitätsklinikums des Saarlandes kamen die Spender aus 19 verschiedenen Abteilungen. Ein Anteil von 6,5% aller Spender-HH kam aus den Kooperationskliniken in Luxemburg, weitere 6,3% der Spender aus der Kooperation mit Kusel, zusätzliche 6,9% aus sonstigen externen Kliniken (Trier, St.Wendel, Saarbrücken) und 3,3% von anderen Kooperationspartnern (Bestattungsinstitute etc.). Dies ergibt einen Anteil von 23% aller Hornhäute, welche durch Kooperationspartner der LIONS-HHB rekrutiert wurden. Laut der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft lag die Anzahl der bezüglich der Hornhautspende kooperierenden Kliniken im Jahr 2013 bei durchschnittlich 5 Kliniken pro HHB [44].

Alle mit der LIONS-HHB kooperierenden Partner richteten sich bei der Spenderakquise nach den gleichen Richtlinien. Von der Bundesärztekammer werden die Richtlinien jeweils nach

dem neusten Stand der wissenschaftlichen Erkenntnisse und im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut sowie unter Berücksichtigung untergesetzlicher Regularien der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft erstellt und konkretisiert [20]. Alle Anforderungen zur Spenderakquise als auch zur Entnahme, Prozessierung und Freigabe der Hornhaut sind in einem Regelwerk zusammengefasst. Im Zeitraum der Studie wurde jeweils nach dem aktuell und allgemein anerkannten Stand der Erkenntnisse gehandelt. Das Personal erhielt regelmäßig Schulungen, wodurch alle Mitarbeiter mit den Ihnen zugewiesenen Aufgaben vertraut waren [45].

2.4.2 Einholen des Einverständnisses

Voraussetzung für die postmortale Spende einer Augenhornhaut war gemäß §§ 3 und 4 des Transplantationsgesetzes [46] eine Einwilligung zur Gewebespende zu Lebzeiten des Spenders oder nach deren Tod die Zustimmung Angehöriger, welche im Sinne des Verstorbenen entscheiden (sogenannte Entscheidungslösung) [20,33,47]. Hierzu mussten die zustimmenden Angehörigen mit dem Spender in den letzten 2 Jahren vor dessen Versterben in Kontakt gestanden haben. Die Zusage eines einzelnen erreichten Angehörigen reichte aus. Sobald ein Widerspruch eines Angehörigen vorlag, wurde die Spende unterbunden. Der geeignete Zeitpunkt, Umfang und Inhalt des Gespräches über die Gewebespende wurde möglichst erfahren ausgewählt. Die Mitarbeiter der LIONS-HHB nahmen regelmäßig an Seminaren zur professionellen Gesprächsführung mit den Angehörigen potentieller Hornhautspender teil [20,46].

2.4.3 Bescheinigung des Todes

Das Versterben des Gewebespenders musste entsprechend der Richtlinie zur Feststellung des irreversiblen Hirnfunktionsausfalls der Bundesärztekammer festgestellt werden. Es genügte die Feststellung durch einen Arzt, sofern der endgültige nicht behebbare Herzkreislaufstillstand eingetreten war und seitdem mehr als drei Stunden vergangen waren. Bei Multiorganspendern oder anderen Spendern, bei denen die Zeit zwischen Entnahme des Gewebes und dem Tod des Spenders weniger als drei Stunden betrug, musste die Todesfeststellung gemäß § 3 Absatz 1 (Abs.) Nummer 2 (Nr.) und Abs. 2 Nr. 2 Transplantationsgesetz durch zwei dafür qualifizierte Ärzte erfolgen. Dabei musste die ärztliche Untersuchung des Spenders unabhängig voneinander stattgefunden haben. Ärzte, die an der Todesfeststellung beteiligt waren, durften gemäß § 5 Abs. 2 TPG weder an der Entnahme des Spendergewebes noch an der Übertragung beteiligt

sein [20,48]. Die Todesbestätigung wurde auf dem Hornhautspende-Formular notiert (siehe Anhang 10.1 Hornhautspendeformular und Todesbestätigung, Seite 101).

2.4.4 Medizinische Kontraindikationen

Die klinische Spenderauswahl ist ein wichtiger Punkt für die Sicherheit einer Hornhauttransplantation. So können beispielsweise neurologische Erkrankungen wie Tollwut, und die Creutzfeldt-Jakob-Krankheit auf den Empfänger übertragbar sein und stellen demnach eine Kontraindikationen für die Transplantation von Augengewebe dar [49–51]. Vor der Hornhautentnahme musste sichergestellt sein, dass die Anforderungen an die medizinische Eignung des Spenders erfüllt sind (§ 8d Abs. 1 Nr. 2 TPG). Zum Zwecke der Eignungsprüfung bzw. Risikobewertung eines Verstorbenen waren gemäß § 7 TPG Ärzte, Einrichtungen der medizinischen Versorgung und Behörden zur Zusammenarbeit verpflichtet und hatten unverzüglich Auskunft zu geben. Die Ausschlusskriterien waren anhand Anamnese, zweckdienlicher Quellen wie Krankenakten, der Befragung behandelnder Ärzte, biologischer Untersuchungen und der postmortalen körperlichen Untersuchung zu prüfen [20]. Die Reise- und Expositionsgeschichte des Spenders als auch die lokale Prävalenz von Infektionskrankheiten waren hierbei zu berücksichtigen [49,52]. In der vorliegenden Studie diente das Fremdanamnese-Protokoll der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz der Eignungsprüfung (siehe Anhang 10.2 Fremdanamneseprotokoll, Seite 102). Die im Folgenden angeführten Kriterien führten zum Ausschluss des Spenders zur Gewebespende:

1.) unbekannte Todesursache, signifikante Erkrankung unbekannter Ätiologie in der Vorgeschichte

2.) Virale Spendererkrankungen: Infektion mit „human immunodeficiency virus“ (HIV) Hepatitis B/C, HTLV I/II oder besondere Risikofaktoren für diese Infektionen

3.) Bakterielle Spendererkrankungen: Syphilis oder andere chronisch persistierende bakterielle Infektionen (Brucellose, Fleckfieber unter anderem (u.a.) Rickettsiosen, Lepra, Rückfallfieber, Melioidose, Tularämie)

4.) Protozoonotische Spendererkrankungen: Babesiose, Trypanosomiasis (z.B. Chagas-Krankheit), Leishmaniose

5.) aktive, systemische Infektionen: bakteriell, viral, durch Pilze, parasitär oder unklarer Ursache

6.) Pilzsepsis oder Sepsis mit multiresistenten Keimen

7.) Zentralnervöse Erkrankungen unklarer Ursache: (Morbus (M.) Alzheimer, M. Parkinson, unklare schnell fortschreitende Demenz, Multiple Sklerose, Amyotrophe Lateralsklerose, retrovirale ZNS-Erkrankungen)

8.) Hämatologische Neoplasien, Leukämien, Lymphome

9.) Ophthalmologische Spendererkrankungen mit sichtbarer Veränderung der Hornhaut, Z.n. (Zustand nach) Hornhautchirurgie, Infektionen (lokal), Tumoren des Auges

10.) Z.n. postexpositioneller Impfung gegebenenfalls (ggf.) Tollwut innerhalb von 12 Monaten, Z.n. Lebendimpfstoffimpfung innerhalb von 4 Wochen

11.) Risiko der Krankheitsübertragung durch Prionen: Empfänger von Dura mater-, Cornea-, Sklera-, Hetero- oder Xenotransplantaten; Empfänger von Hypophysenhormonen; Diagnostizierte Creutzfeldt-Jakob-Krankheit beim Spender oder in der familiären Vorgeschichte

12.) Prämortale Aufnahme von Stoffen, bei denen durch die Transplantation eine für den Empfänger schädliche Wirkung eintreten kann (z.B. Gifte, Schwermetalle)

13.) Spender, bei denen prämortal durch vorausgegangene Transfusionen eine über 50%ige Plasmaverdünnung eingetreten ist (siehe **Tabelle 1:** Berechnung der Plasmaverdünnung)

Tabelle 1: *Berechnung der Plasmaverdünnung (EK = Erythrozytenkonzentrat, TK = Thrombozytenkonzentrat, FFP = Gefrorenes Frischplasma, KG = Körpergewicht)*

Tabelle zur Berechnung der Plasmaverdünnung:

Transfusionen in den letzten 48 h	Anzahl x Volumen
EK	X 300 ml
TK	X 240 ml
FFP	X 270 ml
Andere	X ml .....X.....ml
SUMME	ml

Für die Berechnung herangezogen werden nur die Infusionen, die im jeweils relevanten Zeitraum gegeben wurden; dieser beträgt für:

Kristalloide:
- 1 h vor dem Tod

Kolloide oder Blutprodukte:
- 48 h vor dem Tod

Es darf der Grenzwert von 22,5 ml pro kg KG nicht überschritten werden (sofern keine Prätransfusionsprobe verfügbar ist).

14.) Zeitlich begrenzter Ausschluss: 2 Jahre nach Heilung von: Salmonellen, Q-Fieber, Tuberkulose, Leptospiren; 4 Jahre nach Heilung von Malaria; 4 Wochen nach Heilung von Masern, Röteln, VZV, oder anderer schwerwiegender viraler Erkrankungen

15.) Hinweise auf weitere unklare Erkrankungen, Besiedlung oder Infektion mit MRSA (Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus), ESBL (Extended spectrum ß-lactamase), VRSA (Vancomycin-resistenter Staphylococcus aureus)

16.) Hinweise auf unvollständige oder unzuverlässige Anamnese, Zweifel an der Aussagenrichtigkeit

2.4.5 Spenderserologie

Zusätzlich zum Ausschluss der oben genannten medizinischen Kontraindikationen waren bei jedem Spender Laboruntersuchungen auf Infektionsmarker verpflichtend [20,45]. Mehrere Studien publizierten, dass Virusinfektionen durch Gewebe und Organe übertragen werden [49,53–56]. Da die Hornhäute nicht sterilisiert werden können [20], bleibt das Risiko der Übertragung von Infektionskrankheiten bestehen und eine gründliche Spenderkontrolle und -prüfung ist besonders wichtig [57]. Für die notwendigen serologischen und molekularbiologischen Untersuchungen musste ausreichend geeignetes Material zur Verfügung stehen, bevor die Entnahme der Korneoskleralscheibe erlaubt wurde. Prinzipiell durften für die Laboruntersuchungen zugelassene Blutproben entweder maximal sieben Tage prämortal (sogenannte Laborrückstellproben) oder bis maximal 24 Stunden nach Eintritt des Todes entnommen werden [20]. In der vorliegenden Studie wurde die Blutprobe fast ausschließlich postmortal von jenem Personal entnommen, welches die Entnahme des Spendergewebes durchführte. Die Blutentnahme geschah üblicherweise an den Hals- oder Leistengefäßen und es wurden 2 Serum-Röhrchen als auch 2 EDTA-Röhrchen entnommen. Das serologische Material wurde anschließend schnellstmöglich an das Institut für Infektionsmedizin zur Testung weitergeleitet und dort zentrifugiert sowie gemäß den präanalytischen Anforderungen des Testes bis zur Weiterleitung gelagert (z.B. im Kühlschrank bei 1-10 °C). Für die Untersuchungen war zu dokumentieren, ob es sich um Serum oder Plasma des Spenders handelte [20]. Zu berücksichtigen waren bei der Beurteilung der Laborbefunde der Hämolysegrad, die Hämodilution durch Transfusion oder Infusion sowie gegebenenfalls eine Immunsuppression, worunter die Antikörperbildung ausbleibt [58]. Blutproben, welche nach Versterben der Spender entnommen werden, unterscheiden sich von der Qualität des Analysates oft erheblich von denjenigen Blutproben, die zu Lebzeiten gewonnen wurden. Es kommt vermehrt zur Hämolysierung und Autolysierung der Probe [55]. Die Reaktivität der serologischen Test kann durch die Qualität der postmortalen Blutprobe stark beeinträchtigt sein [59].

Alle serologischen Untersuchungen der hiesigen Studie erfolgten an den Instituten für Infektionsmedizin am Universitätsklinikum des Saarlandes und stellten einen wichtigen Teil der Produktfreigabe dar. Die in Europa untersuchten Marker sind im Prinzip die gleichen wie bei lebenden Gewebe- und Blutspendern [55]. Die serologischen Testverfahren wurden anhand des jeweiligen Verwendungszwecks ausgewählt und sind in **Abbildung 6** aufgeführt. Dabei wurden die Validierungsempfehlungen des Paul-Ehrlich-Institutes beachtet. Gemäß Anlage 3 der TPG-GewV (Gewebeverordnung) mussten mindestens folgende biologische Tests durchgeführt werden: HIV 1 und 2 (Anti-HIV 1 und 2), Hepatitis B (HBsAg, Anti-HBc), Hepatitis C (Anti-HCV, HCV-NAT (HCV-RNA) und Syphilis [20].

Nachweis von	Testkit	Hersteller	Bestellnummer	CE-markiert
HBsAg	HBsAg Qualitative II	ABBOTT/ARCHITECT	2G22	Ja
Anti-HBc IgG	Anti-HBc II	ABBOTT/ARCHITECT	8L44	Ja
Anti-HCV Ak	Anti-HCV	ABBOTT/ARCHITECT	6C37	Ja
Anti-HIV-1/2 Ak, p24-Ag	HIV Ag/Ab Combo	ABBOTT/ARCHITECT	4J27	Ja
HCV-RNA	COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HCV Quantitative Test, version 2.0	Roche Diagnostics	05532264190	Ja

Nachweis von	Testkit	Hersteller	Bestellnummer
Antikörper gegen Treponema pallidum	Serodia-TP□PA	Fujirebio Inc. (Japan) (Vetrieb: Mast Diagnostika GmbH)	201633 396414

***Abbildung 6**: Biologische Test-Kits für die serologischen Untersuchungen*

2.5 Hornhautentnahme

Ziel der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz war es, mittels einer präzisen korneoskleralen Entnahmetechnik Spendergewebe zu gewinnen, welches möglichst frei von Endothelschädigungen und Kontaminationen ist. Laut des Jahresbericht 2018 der „EEBA“ wurde in 44,5% aller erfassten HHB das Spendergewebe via Enukleation des Bulbus gewonnen, in 55,5% aller HHB wurde wie in der Homburger LIONS-HHB eine Exzision der Korneoskleralscheibe an der Leiche durchgeführt [29].

Das Hauptaugenmerk bei der Entnahme lag in der Erhaltung der für die Verwendung erforderlichen biologischen und physikalischen Eigenschaften des Spendergewebes [20]. Ein

optimales Entnahmeverfahren sollte u.a. das Risiko einer mikrobiellen Verunreinigung minimieren [20]. Die im Folgenden beschriebenen und in der Studie durchgeführten Techniken der LIONS-HHB orientierten sich an den Sektionslehrverfahren sowie den Standards von Eurotransplant [60], der „European Association of Tissue Banks“ (EATB) [61] und der „American Association of Tissue Banks“ (AATB) [62]. Für die Gewinnung von Gewebe galten die Regelungen des §34 der Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung [63]. In aller Regel waren die ärztlichen Mitarbeiter für die korneosklerale Entnahme zuständig. Gemäß § 3 Abs. 1 S. 2 TPG durfte die Entnahme von Gewebe aber auch durch dafür qualifizierte Personen unter der Verantwortung und nach fachlicher Weisung eines Arztes durchgeführt werden [20]. Durch die ärztliche Leitung sowie durch bereits eingearbeitetes Personal wurden alle Mitarbeiter in alle Abläufe der HHB und in die Entnahmetechnik der Korneoskleralscheibe eingewiesen. Bis ein Mitarbeiter die Entnahme eigenverantwortlich vornehmen durfte, musste er zunächst 3 Hornhautentnahmen assistieren und anschließend 3 Entnahmen unter Anleitung eigenständig durchführen.

2.5.1 Ablauf der Hornhautentnahme

Analog eines ophthalmochirurgischen Eingriffes wurde gemäß den Richtlinien zur Gewinnung von Spenderhornhäuten ein lokaler, steriler Bereich für die Hornhautentnahme geschaffen [20]. Die Entnahme fand in Räumlichkeiten statt, welche vor der Entnahme auf intakte Medien, Sauberkeit und hygienischen Zustand geprüft und gereinigt wurden. Zugelassene Entnahmeorte waren sowohl Räume innerhalb als auch außerhalb des Krankenhauses, beispielweise Institute für Pathologie oder Rechtsmedizin, klinische Stationen oder andere Bereiche von Krankenhäusern sowie Bestattungsinstitute. Das Personal, welches die Entnahme durchführte, war entsprechend steril gekleidet, um das Risiko der Kontamination des Gewebes so gering wie möglich zu halten. Der Entnehmende stellte die Identität des Spenders sicher und überprüfte den Zustand des Spenders auf Auffälligkeiten im Sinne von Ausschlusskriterien bzw. anatomischen Variationen. [20,45,63]. Falls bisher keine Blutproben des Verstorbenen zur Verfügung standen, wurde eine Blutentnahme vorgenommen. Blut-Rückstellproben standen nur sehr selten zur Verfügung. Anschließend wurden alle Angaben zum Spender auf dem Hornhautspende-Formular (siehe Anhang 10.1, Seite 101), dem Spender-Fremdanamnese-Protokoll (siehe Anhang 10.2, Seite 102) und dem Hornhautentnahme-Protokoll (siehe Anhang 10.4, Seite 105) vermerkt.

Die Hornhaut des verstorbenen Spenders wurde zunächst von dem HHB-Mitarbeiter auf grobe Verletzungen oder Narben untersucht. Anschließend fand eine Hautdesinfektion bei

geschlossenen Augenlidern mittels Braunol-Spray statt. Das OP-Feld wurde mittels eines sterilen Lochtuches abgedeckt und ein Lidsperrer eingesetzt. Anschließend wurde eine Bindehautdesinfektion an beiden Augen mittels Braunol-Lösung (7,5%) durchgeführt. Die Fornices wurden gut ausgespült und die Lösung 5 Minuten einwirken gelassen. Im nächsten Schritt wurde die Bindehaut (BH) mit 250 ml (Milliliter) Natriumchlorid 0,9% pro Auge ausgespült und es wurden je 2 Bindehautabstrichen pro Auge mit je einem sterilen Abstrich-Röhrchen abgenommen.

Abbildung 7: *Trepan mit 15mm Durchmesser vor Exzision der Korneoskleralscheibe*

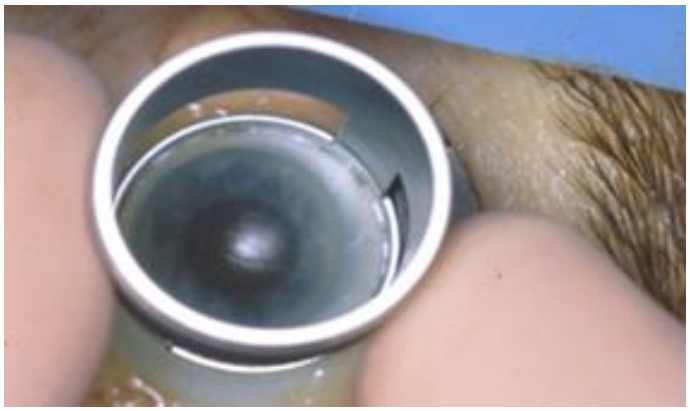

Abbildung 8: *Trepanation*

Nach zirkulärem Absetzen der Bindehaut am Limbus mittels Pinzette und Schere wurde die Sklera mit einem 15 mm Trepan trepaniert (siehe **Abbildung 7** und **Abbildung 8**) und im Anschluss mittels einer rechts/links gebogenen Hornhautschere ausgeschnitten. Es folgte das

Fassen der Korneoskleralscheibe mittels Bindehautpinzette und das Abziehen der Korneoskleralscheibe von der Uvea (siehe **Abbildung 9**).

Abbildung 9: *Komplettierung der Exzision mittels Hornhautschere*

Abbildung 10: *Auflegen einer Augenkappe auf den Bulbus*

Nach der Entnahme der Korneoskleralscheibe wurde eine Augenkappe auf den Bulbus aufgelegt und die Lider wurden mit wenig Acryl-Klebstoff bzw. durch eine Lidnaht (bei Körperspendern in der Anatomie) verschlossen (siehe **Abbildung 10**). Sowohl zu Beginn als auch am Ende der Entnahme erfolgte eine fotografische Dokumentation des Zustandes des Verstorbenen. Die Wahrung von Würde und Ästhetik des Verstorbenen standen neben der sterilen Entnahme der Hornhäute im Vordergrund. Das Spenderscheibchen wurde nach Entnahme in ein geeignetes Transportmedium eingebracht (siehe **Abbildung 11**) und in einem fest verschließbaren Kunststoffbehälter aufbewahrt. Zur Herstellung des Transportmediums wurde eine Flasche des Kulturmediums II mit 2 ml Fetalem Kälberserum (FCS) versetzt (siehe Anhang 10.7 Zusammensetzung des Kulturmediums, Seite 108) und in 4-5 sterile Cryodosen umgefüllt, welche nach Gewebeentnahme als Transportbehälter dienten.

Abbildung 11: *Einbringen der Korneoskleralscheibe in das Transportmedium*

War eine sofortige Kultivierung der HH möglich, so wurde die HH direkt nach der Entnahme in Organkultur genommen (siehe Kapitel 2.6.1 Inkulturnahme und Organkultur, Seite 25). Konnte die Kultivierung nicht sofort erfolgen und musste die HH daher zwischengelagert werden, so geschah dies in den Transportgefäßen im Quarantäne-Brutschrank bei 34° C im Lager der HHB. Die Hornhauttransplantate wurden in sterilen, luftdicht verschließbaren Schraubbehältern aus Kunststoff mit Transportmedium transportiert. Sie waren bei Temperaturen zu lagern, bei denen ihre biologischen Funktionen optimal erhalten blieb. Die Transportdauer war hierbei möglichst minimal zu halten und sollte 48 Stunden nicht überschreiten. Die Temperaturen für den Transport durften zwischen ≥10° C und ≤40° C betragen. Die maximale Zeit zwischen Versterben des Spenders und der Inkulturnahme sollte 72 Stunden nicht übersteigen [20]. Es wurde zudem sichergestellt, dass das Gewebe unter Quarantäne aufbewahrt wurde, bis es auf seine Vorschriftsmäßigkeit kontrolliert wurde [20].

Nach Rückkehr in die HHB wurde die Hornhautentnahme durch technische Mitarbeiter dokumentiert. Dabei wurden im Entnahmebericht folgende Daten zum Spender erfasst: Name, Geschlecht, Geburtsdatum, Sterbedatum und -uhrzeit, Todesursache, vorliegende Zustimmung sowie Ausschluss von Kontraindikationen. Zur Entnahme wurde das Datum, die Uhrzeit, der Ort der Entnahme, die Methode, der Linsenstatus (phak, pseudophak, aphak) und die Art des entnommenen Gewebes dokumentiert. Ebenso wurde vermerkt, ob der Verstorbene gekühlt war und ob eine Blutentnahme erfolgte. Daten zu den verwendeten Materialien wurden mit Etikette und Chargen-Nummern gesichert (siehe Anhang 10.4 Hornhautentnahmeprotokoll, Seite 105). Jede Spenderhornhaut wurde gemäß §§13a-c TPG in Verbindung mit §§7-9 TPG-GewV eindeutig identifiziert und gekennzeichnet, sodass zu jedem Zeitpunkt alle Daten zurückverfolgt werden konnten [20].

Neben der Dokumentation erfolgten außerdem die Anforderung der serologischen Untersuchungen als auch die Anforderung der mikrobiologischen Untersuchungen des

Bindehautabstriches und des Kammerwassers. Sofern das Blut nicht innerhalb von 24 Stunden zur entsprechenden Abteilung gegeben werden konnte, wurde es zentrifugiert und vorübergehend im Kühlschrank im Lager der HHB deponiert.

2.5.2 Bindehautabstrich

Während des Entnahmevorgangs der HH wurden zwei Abstriche der Bindehaut mit einem sterilen Entnahme- und Transportsystem durchgeführt. Die Abstriche wurden an das Institut für Infektionsmedizin übersandt und im Institut für Mikrobiologie und Hygiene untersucht. Bei positivem Ergebnis erfolgte eine Keimdifferenzierung. Mit einer Referenzliste wurden die differenzierten Mikroorganismen abgeglichen und die HH verworfen, sofern es sich um einen Keim der Liste handelte. War der Keim nicht gelistet, so konnte die HH zur Transplantation freigegeben werden. Bei Spendern mit einer vermuteten Septikämie wurden die Abstriche von der Oberfläche des offenen Auges durchgeführt. Der Verdacht auf das Vorliegen einer Septikämie beim Spender führte außerdem zur Anfertigung von zwei weiteren Abstrichen aus dem Kammerwasser jedes Auges, welche ebenfalls mikrobiologisch untersucht wurden.

2.6 Kultivierung des Spendergewebes

Standardisierte Kultivierungstechniken sind notwendig, um Kontaminationen und Schädigungen am kornealen Spendergewebe zu verhindern. Anhand des Richtlinienkatalogs der Bundesärztekammer [20] sowie in Übereinstimmung mit der „Gute Fachliche Praxis für Hornhautbanken“ [45] mussten sämtliche Verarbeitungsschritte und Kontrolltests der Spenderhornhäute unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt werden, um eine standardisierte Qualitätssicherung einzuhalten. Ärztlichen und technischen Mitarbeitern der HHB standen zur Dokumentation diverse Protokolle zur Verfügung (siehe Anhang 10.5 Entgegennahme- und Anonymisierungsprotokoll, Seite 106 und Anhang 10.6 Prüfprotokoll, Seite 107).

Prinzipiell bestehen zwei Systeme zur Lagerung von kornealem Spendergewebe. Einerseits besteht die Möglichkeit zur hypothermen Lagerung bei 4°C vor allem in Optisol-Medium, andererseits gibt es die in unserer Studie angewandte Möglichkeit der Organkultivierung bei physiologischen Temperaturen in einem modifzierten „minimal essential medium“ (MEM) [64].

2.6.1 Inkulturnahme und Organkultur

Das Kulturmedium (KM) spielt eine ganz wesentliche Rolle bei der Gewährleistung von Qualität und Sicherheit des Spendergewebes. Da das Spendergewebe auch nach der Desinfektion des Auges mit geeigneten Desinfektionsmitteln nicht steril ist, werden dem KM Antibiotika und Antimykotika gegen die zu erwartenden Bakterien- und Pilzspezies zugesetzt [20]. Auch der Zusatz von fetalem Kälberserum ist unter bestimmten Voraussetzungen erlaubt und ihre Supplementierung zum KM in Zellkulturanwendungen gängige Praxis [65]. Das KM setzte sich in unserer Studie aus MEM-Earle´s, den Zusätzen von Antimykotika und Antibiotika sowie in den aktuelleren Jahren aus fetalem Kälberserum zusammen. Die genaue Zusammensetzung des verwendeten Mediums ist im Anhang 10.7 auf Seite 108 zu finden.

Bevor die HH in Kultur genommen wurde, wurde auf makroskopische Unversehrtheit, sowie auf das Einhalten korrekter Transport- und Lagerungsbedingungen kontrolliert. War alles vollständig und ordnungsgemäß dokumentiert, durfte die Hornhaut weiter prozessiert und in Kultur genommen werden. Für die Inkulturnahme wurden die Hornhäute durch technische Mitarbeiter der HHB unter äußerst sterilen Bedingungen an der Sterilbank in Gewebekulturflasche mit Hornhauthalter (sogenannte Böhnke-Kammer) eingebracht. Diese waren mit 40 ml Hornhautkulturmedium I (inkl. 2 ml FCS) gefüllt. Die Korneoskleralscheibe wurde hierzu mittels einer sterilen Pinzette vorsichtig an der Sklera gefasst und in den Hornhauthalter eingelegt. Die Gewebekulturflasche inklusive Hornhauthalter wurde dann verschlossen und die HH anschließend an der Spaltlampe auf Auffälligkeiten, wie z.B. Narben untersucht. Das Spendergewebe wurde in Organkultur in einem geschlossenen System im Brutschrank unter Raumluft bei 34°Grad Celsius aufbewahrt (siehe **Abbildung 12**) und verblieb in diesem Medium für 7 Tage bis zum Wechsel des Mediums. Der erste Mediumwechsel stand nach 7 Tagen an. Anschließend wurden weitere Medienwechsel regelmäßig nach 7 Tagen bis zum Ablauf der Haltbarkeit durchgeführt. Unter sterilen Bedingungen wurde hierzu im sogenannten „Laminar Air Flow“ mit „Non-Touch-Technik“ das neue KM I mit FCS vorbereitet und gegen die alte Nährlösung eingetauscht. Bei jedem Mediumwechsel wurde die komplette Gewebekulturflasche getauscht (siehe **Abbildung 13**). Zum Zeitpunkt des ersten Mediumwechsels fand außerdem die erste Endothelzellzählung der Hornhaut statt, worauf in Kapitel 2.7.1 Endothelzelldichte auf Seite 30 näher eingegangen wird. Außerdem erfolgte zum Zeitpunkt des ersten Mediumwechsels sowie vor Einsetzen in das Entquellungsmedium eine mikrobiologische Sterilitätskontrolle (siehe Kapitel 2.6.2 Kontamination des Kulturmediums, Seite 26). Es wurden maximal 5 Medienwechsel durchgeführt. Vor der Transplantation wurde die Hornhaut unter sterilen Bedingungen in das

KM II gewechselt, worin es wiederrum in einem geschlossenen System bei Temperaturen zwischen ≥10° C und ≤40° C bei normaler Raumluft gelagert wurde. Nach 24 Stunden im KM II fand eine erneute Endothelzellzählung statt. Das KM II ist ein Entquellungsmedium. Die Dauer der Lagerung in diesem Entquellungsmedium sollte nicht länger als 6 Tage betragen. Für die Organkultur gilt im Allgemeinen eine maximale Zeitspanne von 34 Tagen, worin die Dauer der Lagerung im Entquellungsmedium bereits eingeschossen ist [20].

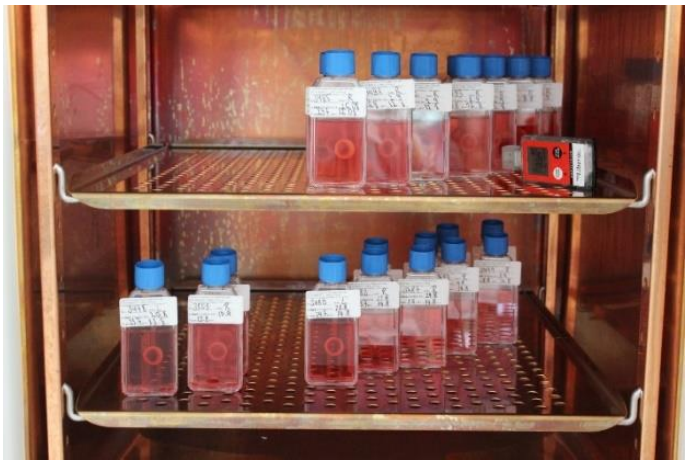

Abbildung 12: *Organkultivierte Korneoskleralscheiben im Brutschrank bei 34° Celsius*

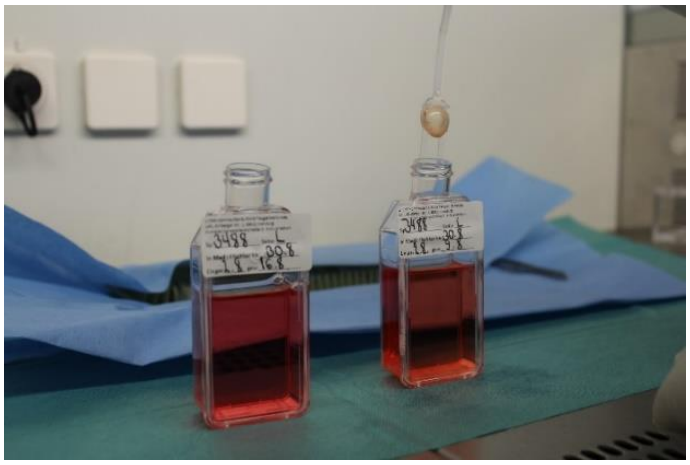

Abbildung 13: *Umsetzen der Hornhaut beim Wechsel des Kulturmediums I*

2.6.2 Kontamination des Kulturmediums

Um die Eignung der Spenderhornhäute zur Transplantation zu gewährleisten, dienten oben beschriebene standardisierte Kultivierungstechniken. Ziel ist das Vermeiden einer Kontamination des Spendergewebes, welches zur Verwerfung der Korneoskleralscheibe führt.

Vergleicht man die hypotherme Lagerung mit der in unserer Studie durchgeführten Organkultur, so zeichnet sich die Organkultur durch die Möglichkeit einer eingehenderen

mikrobiologischen Untersuchung aus. Längere Konservierungszeiten von bis zu 34 Tagen erlauben eine intensivere Evaluation des Spendergewebes [66].

In der hiesigen Studie standen täglich Kontrolluntersuchungen an, bei denen makroskopisch auf Anzeichen einer Kontamination geprüft wurde. Hierbei wurde insbesondere auf eine Trübung des KM geachtet. Weitere Anhaltspunkte für eine Kontamination waren die Änderung der Indikatorfarbe des Mediums, ungewöhnliche Ablagerungen in der Kulturflasche oder das auffällige Aussehen der Korneoskleralscheibe. Bei jedem Verdacht der Kontamination wurde eine erweiterte mikrobiologische Testung veranlasst und die Spenderhornhäute wurden unter gesonderte Quarantäne gestellt.

Standardmäßig wurden zwei mikrobiologische Untersuchungen des KM I veranlasst. Die erste mikrobiologische Sterilitätskontrolle fand beim ersten Mediumwechsel nach einer Woche (7 Tagen) statt, die Zweite erfolgte aus dem letzten Medium, bevor die HH in das Entquellungsmedium umgesetzt wurde. Hierbei wurden je eine anaerobe und eine aerobe Blutkulturflasche mit je 2 ml Medium beimpft (siehe **Abbildung 14** und **Abbildung 15**).

Abbildung 14: *Aerobe und anaerobe Blutkulturflaschen sowie Bouillon-Röhrchen*

Abbildung 15: *Beimpfen der Blutkulturflasche mit Kulturmedium*

Die Proben wurden unter aseptischen Bedingungen aus dem Kulturmedium entnommen und anschließend im Institut für Mikrobiologie und Hygiene untersucht. Die Kontrolle wurde mithilfe eines automatischen Blutkultursystems namens „BACTEC“ durchgeführt. Das System besteht aus einem Gerät, welches den Mikroorganismen optimale Wachstumsbedingungen bietet. Es enthält verschiedene Nährmedien, deren Zusammensetzung das Wachstum von aeroben oder anaeroben Bakterien als auch Pilzen fördert. Im Kulturmedium enthaltende Antibiotika werden durch Kunstharze im Blutkulturmedium inaktiviert. Die Blutkulturflaschen wurden im BACTEC-System 14 Tage bei 35°C bebrütet. Mittels einer fluorometrischen CO_2-Detektion wurde Keimwachstum erkannt. Wurde Keimwachstum durch das BACTEC-System gemeldet, so wurden Agarplatten mit 3-4 Tropfen des Kulturmediums beimpft. Nach Inkubation der Agarplatten wurden die gewachsenen Mikroorganismen makroskopisch beurteilt. Ebenso wurde eine Gramfärbung veranlasst und das Ergebnis dokumentiert. War das Grampräparat negativ, so wurde die Blutkulturflasche in das BACTEC-gerät zurückgestellt. Blutkulturflaschen, welche zu keiner Zeit durch das BACTEC Gerät als keimbelastet gemeldet wurden, durften nach 14-tägiger Bebrütungszeit aus dem Gerät entnommen werden. Die HHB wurde umgehend über jeden Zwischenbefund informiert. Nach Abschluss der Bebrütung der Festmedien und der makroskopischen Beurteilung der gewachsenen Mikroorganismen wurde der Endbefund übermittelt. Zu unauffälligen Blutkulturflaschen wurde der Endbefund bereits nach 7-tägiger Bebrütungszeit übermittelt. Eine weitere Benachrichtigung erfolgte nur bei positiven Proben. War die Keimdifferenzierung abgeschlossen, so wurden die differenzierten Mikroorganismen mit einer Referenzliste abgeglichen. Keime, welche in der Liste aufgeführt wurden, führten zur Verwerfung des Spendergewebes wegen Kontamination des Kulturmediums. Hierbei galten spezielle Verfahren zur Aussonderung des kontaminierten Gewebes, um die Kontamination weiteren Spendergewebes, der Verarbeitungsumgebung und

des Personals zu vermeiden [20]. Ergab die mikrobiologische Testung der Organkultur keinen gelisteten Keim, so durfte die HH zur Transplantation freigegeben werden [20]. Befand sich die Partnerhornhaut einer kontaminierten Probe weiterhin in Organkultur, so musste diese in Quarantäne belassen und erneut auf Sterilität getestet werden. War das Testergebnis wiederholt negativ, so konnte die Hornhaut im Sinne einer begründeten Einzelfallentscheidung zur Transplantation freigegeben werden [20].

2.7 Transplantatuntersuchung

Um die Qualität des durch die LIONS-Hornhautbank des UKS hergestellten Arzneimittels „Humane Augenhornhaut, organkultiviert, Homburg/Saar“ gemäß Paul Ehrlich Institut Arzneimittel [67] zu sichern, gehört die Endothelzellmikroskopie zu den wichtigsten Prüfungen der Hornhaut. Die Morphologie der Kornea ist hierbei eines der wichtigsten Auswahlkriterien [29]. Verschiedenste Methoden können zum Einsatz kommen. Die Vorgehensweise in unserer Studie soll im Folgenden näher erläutert werden.

Die Transplantatuntersuchung wurde in der hiesigen Studie durch erfahrenes Personal durchgeführt, welches mindestens folgende Qualifikationen aufwies:

- Facharzt für Augenheilkunde
- Arzt in Weiterbildung zum FA für Augenheilkunde mit ausreichender Erfahrung in der Befundung von Spenderhornhäuten, die unter Anleitung/Kontrolle des HHB-Leiters, bzw. eines Stellvertreters erworben wurde
- Technischer Mitarbeiter oder Arzt der HHB mit ausreichender Erfahrung in der Befundung von Spenderhornhäuten, die unter Anleitung/ Kontrolle des HHB-Leiters, bzw. eines Stellvertreters erworben wurde

Die Inspektion des Endothels wurde zu verschiedenen Phasen durchgeführt. Während der Kultivierung wurde das Endothel in der Regel zweimal begutachtet: nach dem ersten Mediumwechsel (am 7. Tag) und nach Entquellen in Kulturmedium II (nach mindestens 12 Stunden). Besonders wichtig war die Beurteilung nach Entquellen, die sogenannte „Endbefundung“. Zu diesem Zeitpunkt wurde über die Freigabe der HH zur Transplantation entschieden. Es gab drei Prüfkriterien, die in die Begutachtung des Endothels einflossen: die EZD, die Endothelzellvitalität und die Endothelzellmorphologie. Auf die einzelnen Prüfkriterien wird im Folgenden näher eingegangen.

2.7.1 Endothelzelldichte

Um für den späteren Empfänger eine klare Hornhaut zu gewährleisten, ist eine ausreichende Pumpfunktion des Endothels und somit eine ausreichende Endothelzellzahl des Transplantates vonnöten [68]. Während der Organkultur wurde in der hiesigen Studie zweimal eine Zählung der Endothelzellen vorgenommen. Die Hornhaut wurde hierzu mittels chirurgischer Pinzette mit Krümmung nach oben in eine Untersuchungsschale eingebracht. Es handelt sich um ein steriles, geschlossenes und durchsichtiges Gefäß (Multiwell-Platte), welches mit 2,5 ml Balanced Salt Solution (BSS) gefüllt war (siehe **Abbildung 16** und **Abbildung 17**). Da die Darstellungsqualität der Endothelzellen von Hornhaut zu Hornhaut variiert und die Endothelzellen mit zunehmender Quellung der HH im Kulturmedium schlechter zu erkennen sind, kann eine hypotone Lösung (BSS) die Visualisierung der HH verbessern, indem sie die HH für kurze Zeit entquillt.

Zusammensetzung BSS-Lösung hypoton dampfsterilisiert	
Magnesiumchlorid x 6 H2O	0,3
Calciumchlorid x 2 H2O	0,48
Kaliumchlorid	0,75
Natriumcitrat x 2 H2O	1,7
Natriumacetat x 3H2O	3,9
Natriumchlorid reinst	4,9
Aqua ad inject.	ad 1000,0 ml

***Abbildung 16**: Zusammensetzung der hypotonen Balanced Salt Solution (BSS)*

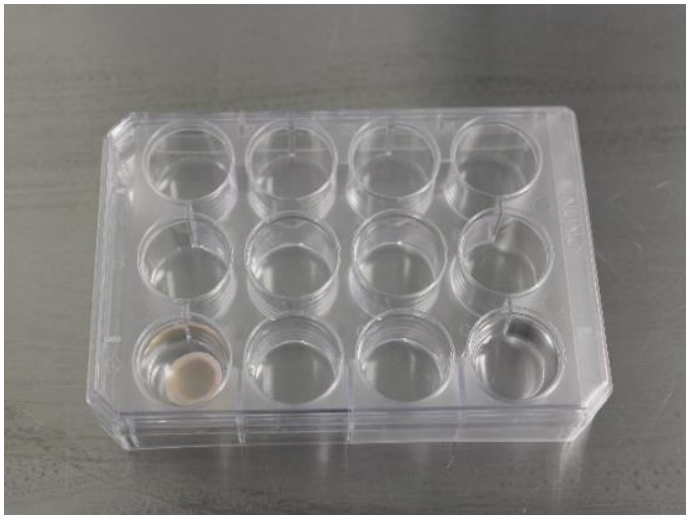

***Abbildung 17:** HH in Balanced Salt Solution (BSS)*

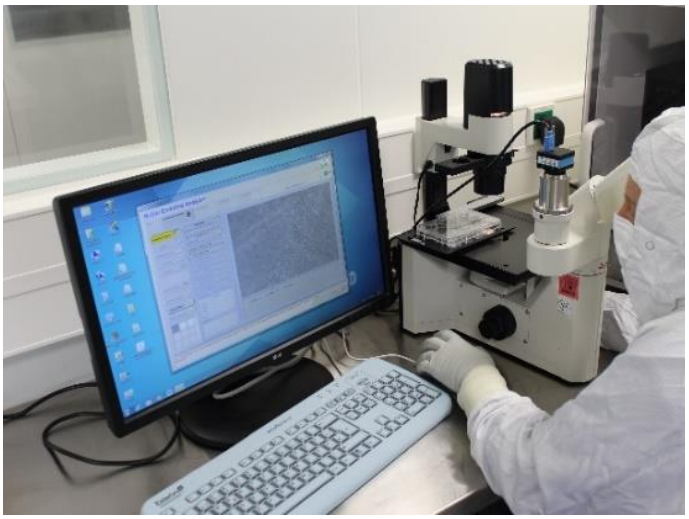

Abbildung 18: *Fotodokumentation der Hornhautendothels für die EZD-Zählung*

Mithilfe eines inversen Phasenkontrastmikroskops wurde das Endothel zentral als auch peripher beurteilt und evaluiert. Eine Fotodokumentation zur Qualitätssicherung wurde mit einem Videoprinter vorgenommen (siehe **Abbildung 18**). Zur Bewertung der Endothelzellen wurde ein Microsoft Windows gestützter Bildanalysator verwendet, mit dessen Hilfe das Zählquadrat oder der sogenannte „Fixed Frame“ auf eine repräsentative Stelle („region of interest“ (ROI)) gelenkt und die automatische Zählung gestartet wurde (siehe **Abbildung 19**). Eine manuelle Nachkorrektur durch erfahrenes Personal war möglich, sofern notwendig. Als Programm diente hierzu der „Robin Endothel Analyzer“ („REA“) [69].

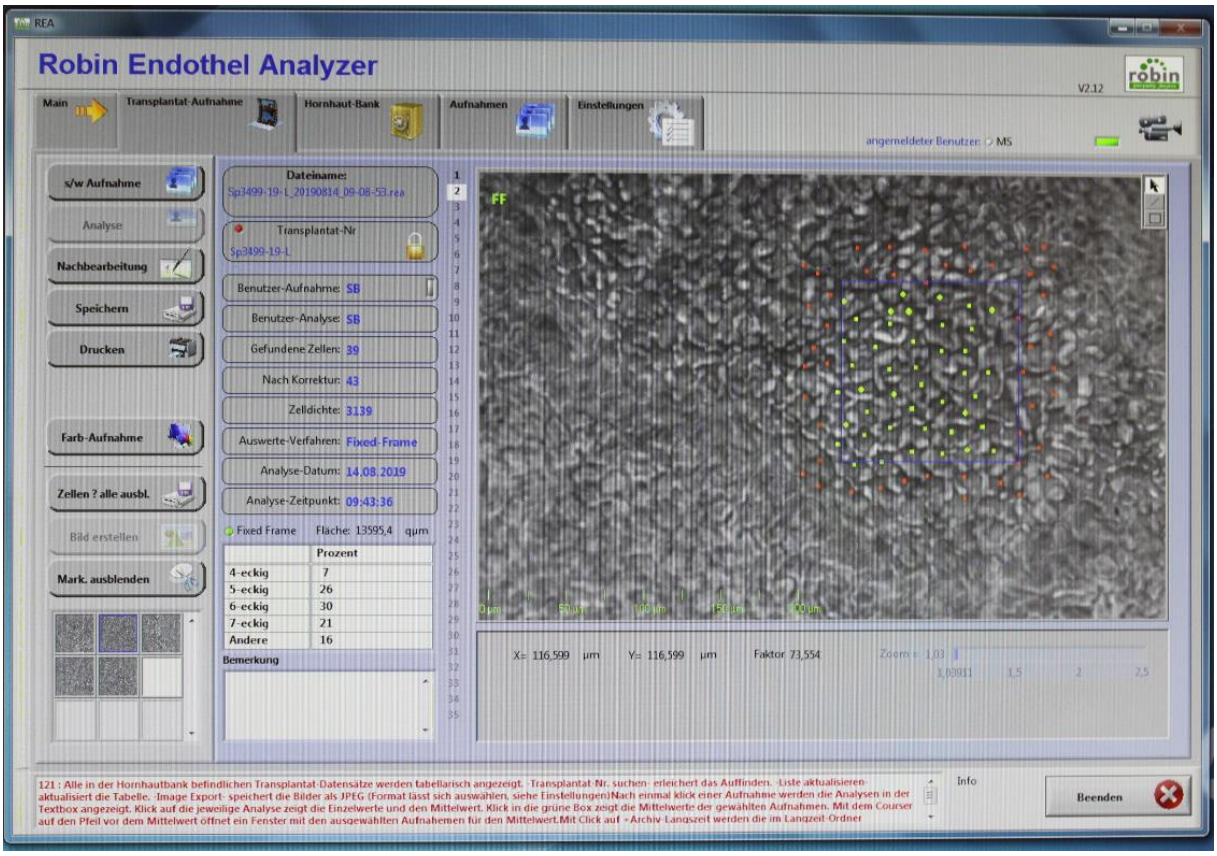

Abbildung 19: *Auszählung der Endothelzelldichte mithilfe des Robin Endothel Analyzer*

Bei der Beurteilung des Endbefundes der Spenderhornhaut erfolgte die Mikroskopie im Zentrum und in den vier peripheren Quadranten. Nach jeder Endothelbeurteilung wurden die erhobenen Befunde detailliert dokumentiert. Die Untersuchung der Korneoskleralscheibe in BSS durfte maximal drei bis fünf Minuten dauern. Es droht ein Verlust an Endothelzellen, wenn die HH über diese Zeitspanne hinaus aus dem Nährmedium entfernt wird. Das empfindliche Endothel kann durch die osmotische Wirkung der Lösung geschädigt werden. Geschulte Mitarbeiter der HHB bewerteten das Endothel wissensbasiert und schätzen es als voraussichtlich transplantabel oder nicht transplantabel ein. Nach Ermittlung der EZD wurde unter Zusammenschau aller anderen freigaberelevanten Kriterien die Eignung der HH beurteilt.

In **Abbildung 20** ist der Normalbefund einer Hornhaut mit einer Endothelzelldichte von >2000 Zellen/ mm² gezeigt.

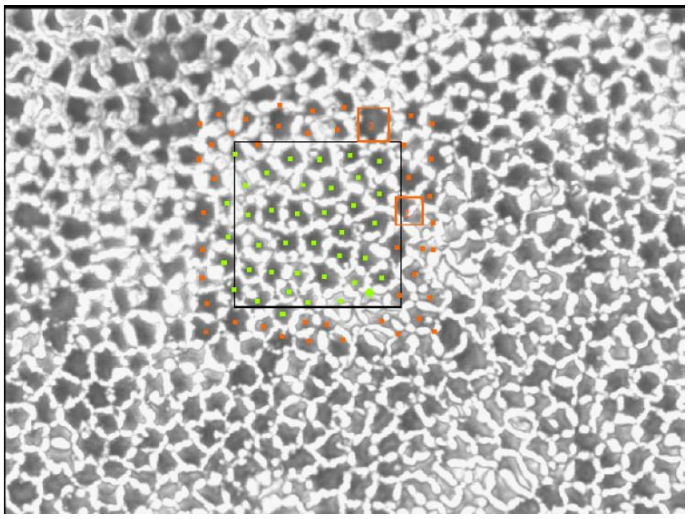

Abbildung 20: *Normalbefund einer Hornhaut mit einer Endothelzelldichte von >2000 Zellen/mm²*

2.7.2 Endothelnekrosen

Die Beurteilung der Endothelzellvitalität der HH ist ein weiterer wichtiger Schritt der Transplantatuntersuchung. Sie beinhaltet u.a. die Untersuchung der HH auf Endothelzellnekrosen. Die Qualität des Endothels ist dabei abhängig von Größe und Lokalisation des Defektes sowie von der Dichte der vitalen Endothelzellen. Je höher die EZD und je peripherer und kleiner die Nekrose, desto unbedeutender ist der Nekrosebereich [70].

Bei der Untersuchung betrachtete man die gesamte Endothelzellschicht und schätzte den prozentualen Anteil der Nekrosen ab. Zellnekrosen in der Endothelzellschicht waren nach Lagerung als normal zu betrachten. Folgende Konstellationen erforderten aber besonderes Augenmerk und konnten zur Verwerfung des kornealen Spendergewebes führen: große, zentrale Mehrzellnekrosen (siehe **Abbildung 21**) und mehrere zusammenhängende Endothelzellgruppennekrosen. Die Beurteilung, ob eine HH aufgrund von Nekrosen verworfen wird und ob sie als Keratoplastik à chaud verwendet werden kann, oblag dem zuständigen ärztlichen Mitarbeiter.

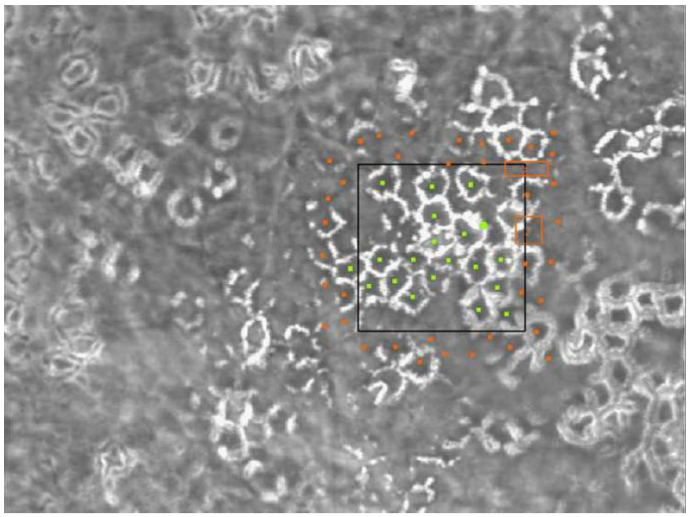

Abbildung 21: *Großflächige Endothelzellnekrosen*

2.7.3 Endothelzellmorphologie

Häufig können Endothelzellen Abweichungen ihrer typischen Morphologie zeigen [2,6,7,71]. Diese müssen bei der Freigabe des Spendergewebes beachtet werden. Als fester Bestandteil der mikroskopischen Zählung der EZD wird die Morphologie der Zellen begutachtet. Intakte Endothelzellen zeichnen sich durch Hexagonalität und die gleiche Größe wie benachbarte Zellen aus. Geringe morphologische Veränderungen sind im Rahmen der Lagerung in Organkultur als normal zu befunden. Abweichung von der Norm sind ausgeprägter Pleomorphismus (Abweichung von der hexagonalen Struktur), ausgeprägter Polymegalismus (unterschiedliche Zellfläche) sowie ausgeprägte Granulierung/Vakuolisierung der Endothelzellen (siehe **Abbildung 22**). Je nach Ausprägung waren die oben genannten Veränderungen Grund für die Verwerfung von Spendergewebe und wurden in der vorliegenden Studie unter dem Verwerfungsgrund Endothel zusammengefasst. Die Beurteilung der Eignungseinschränkung oblag auch hier dem ärztlichen Mitarbeiter.

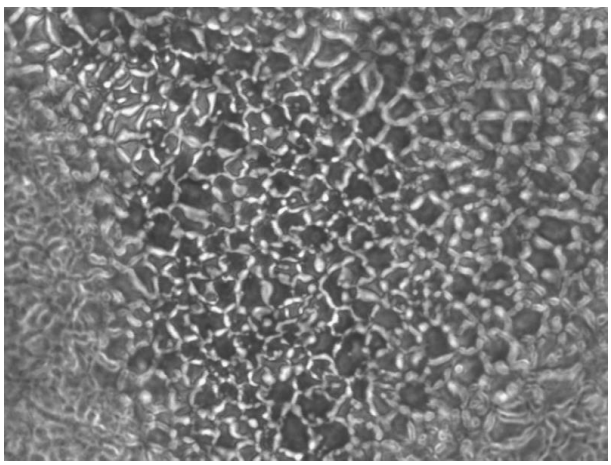

Abbildung 22: *Endothelzellschicht mit deutlichem Polymegalismus und Pleomorphismus bei normaler Endothelzelldichte*

***Abbildung 23**: Spaltlampenmikroskop zur Untersuchung der Hornhaut*

Sowohl im direkten Anschluss an die Inkulturnahme der HH als auch kurz vor der Freigabe der HH zu Transplantation (im entquollenen Zustand in Kulturmedium II), wurde jedes Stroma des gewonnenen Spendergewebes spaltlampenmikroskopisch untersucht. Die Spenderhornhaut wurde hierzu in einer fest verschlossenen Gewebekulturflasche vor das Objektiv der Spaltlampe (siehe **Abbildung 23**) gestellt und von der Endothelseite oder gegebenenfalls auch von der Epithelseite her mit schmaler, heller Spaltbeleuchtung bei 8- bis 12-facher Vergrößerung untersucht. Dabei wurden zunächst durch verschiedene Beleuchtungsrichtungen Stromatrübungen und -defekte detektiert. Anschließend konnte mit progredientem Licht die Gesamttransparenz des Hornhautgewebes bewertet werden. Zuletzt wurden mit stärkster Vergrößerung und seitlicher, heller Beleuchtung Endothelzellen im Reflexbereich der Endothelseite sichtbar gemacht. Sofern pathologische Veränderungen vorlagen, galt es die Relevanz für die Eignung des Spendergewebes abzuschätzen. Sowohl Stromatrübungen, welche zentral lagen und daher optisch relevant sind (z.B. Narben durch Verletzungen), als auch Stromverdünnungen, welche im Transplantatbereich lagen, konnten zur Verwerfung der HH führen. Relevante Narben führten in der vorliegenden Studie zur Verwerfung wegen Narbe.

Ob die HH als Keratoplastik à chaud verwendet werden konnte, oblag der Beurteilung des ärztlichen Mitarbeiters. Gegebenenfalls konnte ebenso die Verwendung für eine Transplantation in lamellärer Technik (DSAEK, DMEK) erwogen und geprüft werden. Die Eignung einschränkend waren Stromaveränderungen infektiöser Genese (z.B. Expositionskeratopathie oder eine Narbe nach herpetischer Keratitis), Guttae der Endothelzellschicht und die Ablösung der Descemet-Membran. Keine Relevanz hatten ein Arcus lipoides (sofern der Durchmesser der klaren optischen Zone mindestens 7 mm betrug), periphere Narben traumatischer Genese (z.B. Zugänge durch Kataraktoperation (Katarakt-OP), oberflächliche, subepitheliale Fremdkörpernarben) und getrübte Epithelreste. Alle Befunde der Spaltlampenuntersuchung wurden auf dem Prüfprotokoll dokumentiert und im EDV-System der HHB eingetragen (siehe Anhang 10.6 Prüfprotokoll, Seite 107).

2.8 Freigabe der Hornhaut und Allokation

Nach Prüfung aller qualitätsrelevanten Kriterien wurde über die Freigabe der Hornhaut zur Transplantation und die Art der geplanten Operation (OP) entschieden. Ziel war die ausschließliche Freigabe qualitativ geeigneter Hornhäute und die optimale Anpassung des Spendergewebes auf die individuellen Bedürfnisse der Patienten. Die Allokation der Spenderhornhäute erfolgte in der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz nach einem vorgegebenen Schema. Die Kriterien orientierten sich dabei an der von BIO Implant Services (BIS) gebrauchten Verteilung von Hornhäuten. Essenziell war die Endbewertung der Transplantate im entquollenen Zustand im Kulturmedium II durch den Leiter der HHB bzw. dessen Vertreter anhand des Prüfprotokolls. Anschließend erfolgte die Freigabe des Transplantates. Bei der Vergabe der HH wurden zunächst Notfälle (beispielsweise Perforationen von Hornhautulzera) versorgt sowie Kinder und sehr junge Patienten. Im Anschluss gestaltete sich die Allokation nach Wartezeit. Ein geeigneter Empfänger wurde von der Warteliste bestimmt, telefonisch informiert und die Operation geplant. Die Meldung von Patienten erfolgte dazu an BIS. In Vorbereitung zur Transplantation wurde er über die Operationsfähigkeit befragt, untersucht und aufgeklärt.

Je nach Bedarf und Verfügbarkeit wurden Transplantate auch an andere Kliniken verteilt. Sofern nicht für eigene Notfälle gebraucht, wurden Notfall-Transplantate über BIS oder direkt an die betreffende andere Klinik vermittelt. Ebenso wurden externe Kliniken mit ungematchten Transplantate versorgt.

2.9 Ziel der Studie

Vor dem Hintergrund des allgemeinen Spendergewebemangels, welcher weiterhin für ein Missverhältnis zwischen Hornhautbedarf und -angebot sorgt [21,27,30,72], war es das Ziel unserer Studie, signifikante Einflussfaktoren auf die Eignung sowie die Verwerfungsgründe von kornealem Spendergewebe zu eruieren und somit zukünftig den Prozentsatz der ungeeigneten Hornhäute zu verringern und die Verwerfungsrate langfristig zu reduzieren. Risikofaktoren, die die Eignung des Spendergewebes negativ beeinflussen, sollten mit Vergleichsstudien abgeglichen und auf ihre klinische Relevanz geprüft werden.

3 Patienten und Methoden

3.1 Studiendesign

Die vorliegende ophthalmologische Arbeit ist eine retrospektive Studie, welche die Daten von 4140 Hornhäuten von 2083 Spendern über einen Zeitraum von 11 Jahren (Januar 2006 bis Dezember 2016) analysiert. Mithilfe der erhobenen Daten wurden Einflussfaktoren auf die Eignung des kornealen Spendergewebes untersucht. Die Untersuchungen entsprachen der Deklaration von Helsinki [73] und wurden durch die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes (Nr. 240/20) genehmigt.

3.2 Definition der Zielgröße

Zielgröße bzw. abhängige Variable der Untersuchungen war die Eignung des kornealen Spendergewebes. Hornhäute galten als geeignet, sofern sie für eine reguläre Keratoplastik (perforierende Keratoplastik oder lamelläre Keratoplastik) freigegeben wurden. Hornhäute, welche lediglich als Notfallkeratoplastik in Frage kamen oder wegen anderer Verwerfungsgründe nicht zur Transplantation zugelassen wurden, galten als ungeeignet. Hauptverwerfungsgründe waren eine verminderte Endothelqualität, die Kontamination des Kulturmediums und eine positive Spenderserologie. Für die multiplen Regressionsanalysen wurden die abhängigen Variablen jeweils binär definiert (z.B. geeignet versus (vs.) ungeeignet).

3.3 Statistik

Alle erhobenen Daten wurden in einer Microsoft Access Datenbank gesammelt und mithilfe des Programms „Statistical Packages for the Social Science“ (SPSS) Version 20) ausgewertet. Die Datenbank wurde von Herrn Prof. Dr. Achim Langenbucher, Leiter der Experimentellen Ophthalmologie der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS Homburg/Saar, erstellt. Mittels deskriptiver Statistik wurden die Verteilungen der Spendervariablen wie Spendergeschlecht, Spenderalter und die Daten zur Vorgeschichte des Spenders analysiert. Quantitative Variablen, wie das Spenderalter, die Postmortem-Zeit und die Kulturdauer wurden mithilfe von Mittelwert, Median und Standardabweichung beschrieben. Boxplots wurden mithilfe von SPSS erstellt, Kreisdiagramme-, Balkendiagramme und diverse Tabellen wurden mittels Microsoft Excel 2016 angefertigt.

Um zu untersuchen, ob ein Einflussfaktor die Eignung oder die Verwerfungsgründe beeinflusst, wurde mithilfe von Kreuztabellen, dem Chi-Quadrat-Test sowie mit logistischer Regressionsanalyse auf statistisch signifikante Zusammenhänge geprüft. Als unabhängige Einflussfaktoren wurden als Spendervariablen das Spenderalter, das Spendergeschlecht, die Todesursache, der Diabetes mellitus, die arterielle Hypertonie, eine stattgehabte Chemotherapie und der Z.n. Katarakt-OP in der Spendervorgeschichte untersucht. Ebenso beleuchtet wurde der Einfluss von Variablen, die die Prozessierung des kornealen Spendergewebes bestimmten, wie z.B. die Postmortem-Zeit. Ein p-Wert <0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen. Mittels Chi-Quadrat nach Pearson wurden Korrelationen zwischen Variablen untersucht und ein zweiseitiger p-Wert <0,05 galt als statistisch signifikant. Multifaktorielle Regressionsanalysen erlaubten es simultan verschiedene Einflussvariablen seitens des Spenders und des kornealen Spendergewebes zu analysieren. Hierdurch konnten mögliche Auswirkungen der Komorbidität zwischen den Variablen ausgeschlossen werden.

Der Zusammenhang eines Einflussfaktors wurde jeweils im Vergleich zur Referenzgruppe geprüft. Die Referenzgruppe für das Spenderalter war die Gruppe der Spender unter 40 Jahren, Referenz für die Postmortem-Zeit bis zur Entnahme des Spendergewebes lag bei unter 12 Stunden. Bei den Todesursachen der Spender galt die Gruppe der Spender mit kardiovaskulären und zerebrovaskulären Todesursachen als Referenzgruppe. Für zwei Hornhäute desselben Spenders wurde keine Anpassung für die statistische Abhängigkeit vorgenommen.

3.4 Datenerhebung

Rekrutiert wurden die 2083 Spender der hiesigen Studie durch das UKS sowie durch Kooperationspartner der LIONS-HHB Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz. Die klinikinterne Datenerhebung begründete sich unter anderem auf dem innerklinischen Programm SAP, womit medizinische Informationen zum Spender gesammelt wurden. Sowohl verschiedene Protokolle als auch das Cornea-Programm der LIONS-HHB Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz stellten weitere Informationen zum Spender sowie alle nötigen Informationen zum kornealen Spendergewebe und der Prozessierung zur Verfügung. Die Daten für diese Studie wurden retrospektiv erfasst und mittels einer Microsoft Access Datenbank gesammelt (siehe **Abbildung 24**). An der Dateneingabe waren zwei Doktoranden der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes beteiligt (Herr Daniel Laun, Frau Kristina Kramp).

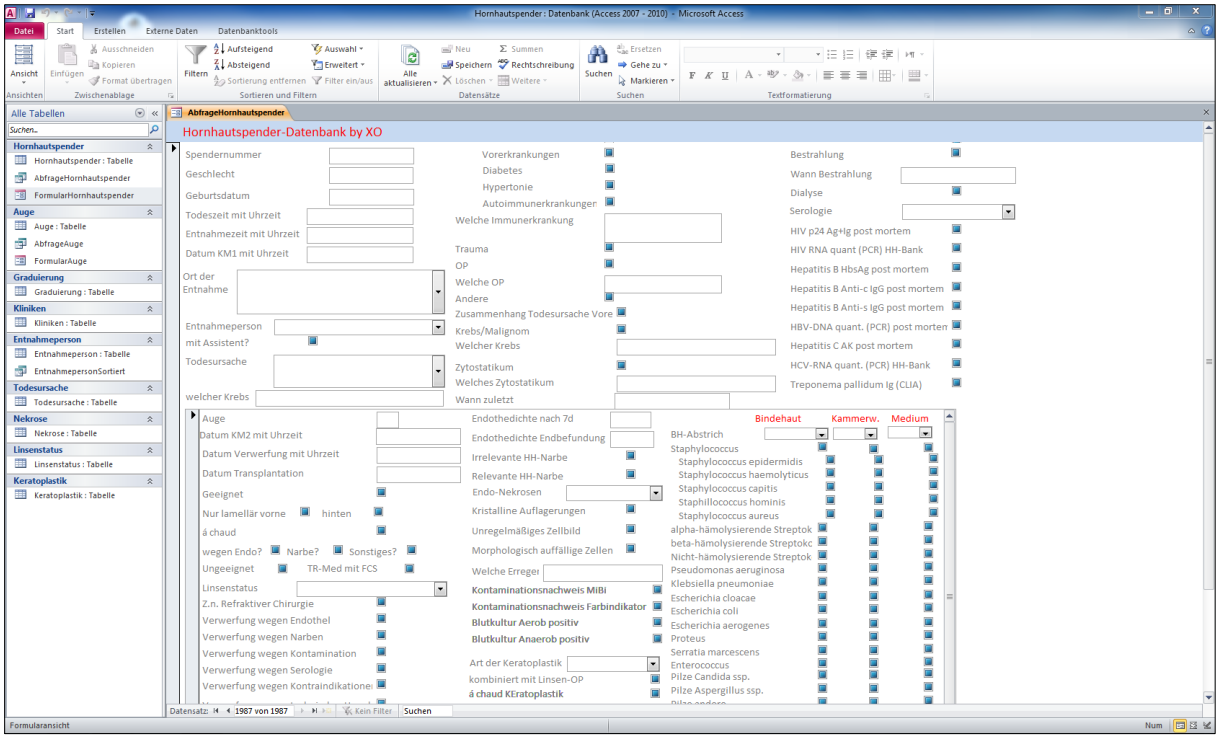

Abbildung 24: *Datenbank der Studie*

Die Datenbank war in 2 Felder unterteilt. Das obere Feld diente der Erfassung aller Daten zum Spender, während das untere Feld den Angaben zum Spendergewebe diente. Pro Spender gab es zwei identische untere Eingabefelder für die jeweils 2 Hornhäute (rechts (R)/ links (L).

Um die Spender zu identifizieren und ihre Anonymität zu wahren, wurde eine fortlaufende Spendernummer vergeben. Ein R bzw. L hinter der Spendernummer stand für die rechte bzw. linke HH des Spenders.

In der oberen Eingabemaske wurde zunächst anhand des Entnahmeprotokolls das Geschlecht des Spenders, das Geburtsdatum, der Zeitpunkt des Versterbens mit Uhrzeit und die Todesursache notiert (siehe **Tabelle 2**). Ebenso wurde der Entnahmezeitpunkt mit genauer Uhrzeit erhoben und die Zeit der Inkulturnahme des kornealen Spendergewebes dokumentiert.

Die Todesursache wurde in mehrere Gruppen unterteilt. Man unterschied zwischen zerebrovaskulären, kardiovaskulären, respiratorischen Ursachen sowie den Todesursachen Krebs, Trauma, Sepsis, Intoxikation, Infektion, Multiorganversagen (MOV) und „Andere“. Bei den Infektionen konnte man unter bakterieller, viraler und durch Pilz verursachten Infektion unterscheiden, sofern dies aus den vorliegenden Unterlagen ersichtlich war.

Die Angaben zum Spender ließen sich auf dem Hornhautspendeformular (siehe Anhang 10.1, Seite 101), dem Hornhautentnahmeprotokoll (siehe Anhang 10.4, Seite 105) sowie dem Spenderfremdanamneseprotokoll (siehe Anhang 10.2, Seite 102) finden.

Die Postmortem-Zeit wurde anhand des Zeitpunktes des Versterbens und des Zeitpunktes der Entnahme der Spender-HH errechnet. Das Spenderalter errechnete sich aus dem Geburtsdatum und dem Datum des Versterbens. Eine maximale Altersspanne zwischen Spender und Empfänger wurde bei der Freigabe der Hornhäute nicht berücksichtigt. Die Zeit bis zur Inkulturnahme in das Kulturmedium I konnte anhand des Zeitpunktes der Inkulturnahme berechnet werden.

***Tabelle 2**: Auflistung der erfassten Daten aus der oberen Eingabemaske der Datenbank*

Studiendaten aus oberer Maske
Spenderalter
Spendergeschlecht
Postmortem-Zeit
Todesursache
Diabetes
Hypertonie
Chemotherapie
Serologie des Spenders

Mithilfe des innerklinischen SAP-Programmes wurden alle zum Spender vorliegenden medizinischen Informationen aufgerufen und nach Vorerkrankungen durchgesehen. Informationsquellen innerhalb des SAP-Programmes waren vor allem die Diagnosen der zum Spender eingelesenen Arztbriefe. Die Arztbriefe stammten sowohl aus dem UKS als auch aus anderen Kliniken, sofern übermittelt. Jegliche Dokumentationen zu Patientenvorstellungen, stationären Aufenthalten oder Eingriffen an den Kliniken des UKS dienten im SAP-Programm als weitere Quelle von Spenderdaten. Das Vorliegen von Vorerkrankungen wie eines Diabetes mellitus oder einer arteriellen Hypertonie sowie die Notiz einer vorangegangenen Chemotherapie wurde in einem binären Feld notiert. Darüber hinaus wurde in die Spendermaske das Ergebnis der infektionsserologischen Prüfung eingegeben. Welche Daten zur Serologie erhoben wurden, wird in Kapitel 2.4.5 Spenderserologie auf Seite 18 näher erläutert.

Im unteren Feld der Access Datenbank wurden jeweils die Angaben zum rechten und linken kornealen Spendergewebe festgehalten (siehe **Tabelle 3**). Inbegriffen war das Datum der Inkulturnahme in das Kulturmedium II (sofern geschehen), Datum der Verwerfung bzw. Datum

der Transplantation des Gewebes sowie der Linsenstatus (phak, aphak oder pseudophak). Ebenso wurde die Eignung dokumentiert und in „geeignet“, „nur lamellär vorne bzw. hinten“ geeignet, „à chaud“ oder „ungeeignet“ unterschieden. Sofern verworfen, wurde der Verwerfungsgrund angegeben. Es konnte sowohl ein Verwerfungsgrund als auch mehrere Verwerfungsgründe angegeben werden. Der Verwerfungsgrund ließ sich anhand der gesammelten Daten erschließen und fand sich im Cornea-Programm sowie auf dem Prüfprotokoll niedergeschrieben.

***Tabelle 3**: Auflistung der erfassten Daten aus der unteren Eingabemaske der Datenbank (EZD = Endothelzelldichte, BH = Bindehaut, KM= Kulturmedium)*

Studiendaten aus unterer Maske
Datum der Inkulturnahme
Verwerfungsdatum
Transplantationsdatum
Eignung
Linsenstatus
Verwerfungsgrund
EZD nach 7 Tagen
EZD zur Endbefundung
Nekrosen in Prozent
positiver BH-Abstrich inklusive Erreger
Kontamination des KM inklusive Erreger

Zur Endothelqualität wurden die folgenden Parameter erhoben. Die EZD (in Zellen/mm²) wurde nach 7 Tagen sowie nach Endbefundung notiert. Zudem wurde die Fläche der Nekrosen erfasst und in „keine Nekrosen“, „<3% Nekrosen“, „3-5% Nekrosen“, „5-10% Nekrosen“ und „>10% Nekrosen“ unterteilt. Im Kapitel 2.7.2 Endothelnekrosen auf Seite 33 finden sich eingehendere Informationen. Ein Vorhandensein einer Narbe wurde ebenso dokumentiert. In der Spaltlampenmikroskopie unterschied der ärztliche Mitarbeiter zwischen einer kleinen, irrelevanten Narbe und sogenannten „relevanten“ Narben, welche die Eignung einschränkten. War die Narbe so groß, dass die HH dadurch nur noch „hinten lamellär“ oder für eine Notfallkeratoplastik geeignet war, so war sie „relevant“.

Des Weiteren wurden jegliche nachgewiesenen Erreger im Bindehautabstrich, im Kammerwasser sowie im Kulturmedium erfasst. Die Ergebnisse der mikrobiologischen Untersuchungen lagen uns in Form von Ausdrucken des Institutes vor.

Informationsquelle für die Datenerhebung im unteren Feld der Datenbank war u.a. das Prüfprotokoll zum kornealen Spendergewebe (siehe Anhang 10.6, Seite 107). Es enthielt

Informationen zu den Spaltlampenuntersuchungen am Transplantat nach 7 Tagen und nach Endbefundung. Des Weiteren bediente man sich der Daten im Cornea-Programm der LIONS-HHB (siehe **Abbildung 25**:).

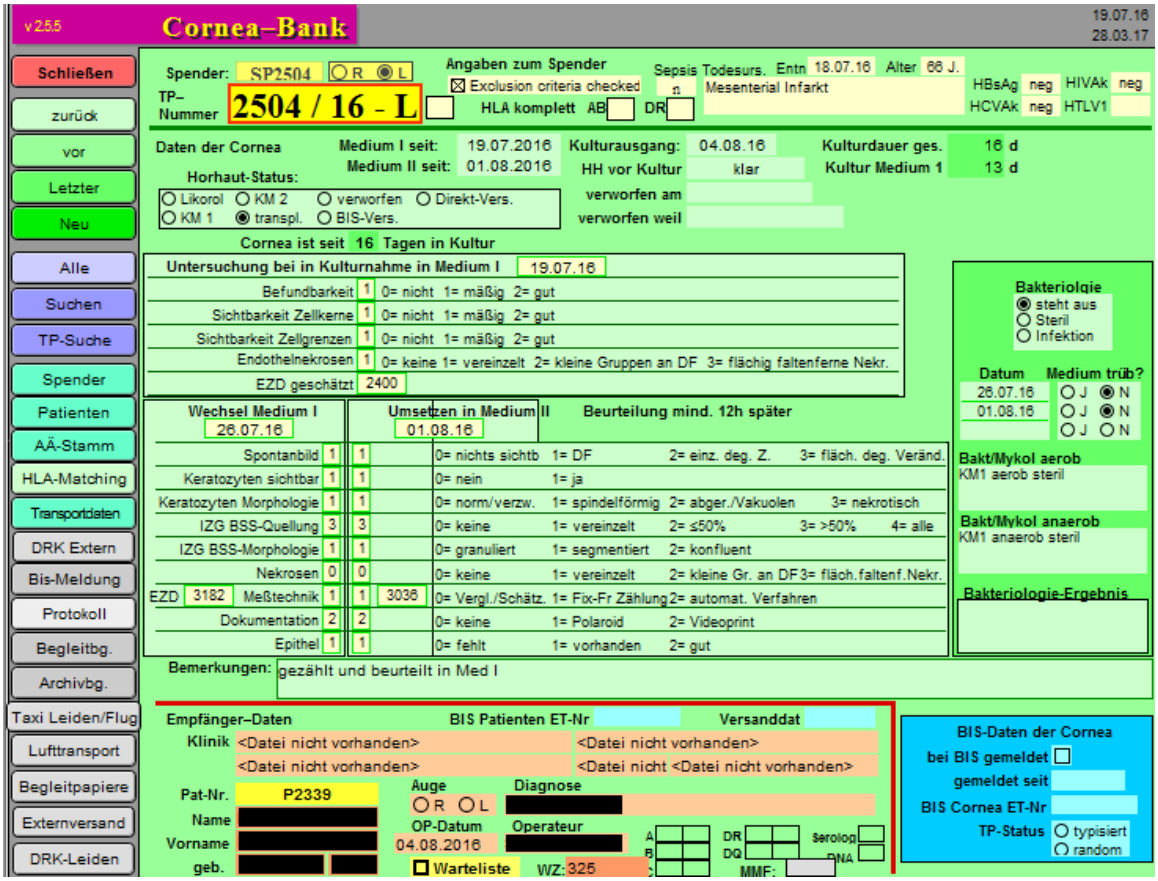

***Abbildung 25**: Ausschnitt aus dem Cornea-Programm der LIONS-HHB Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz*

3.5 Eignung des kornealen Spendergewebes

In unserer Studie wurde die Eignung des kornealen Spendergewebes in 4 Gruppen untergliedert:

1) Hornhäute, welche ohne Einschränkungen für jegliche Keratoplastik in Frage kamen.

2) Hornhäute, welche wegen der unten genannten Einschränkungen nur für lamelläre Verfahren geeignet waren.

3) Hornhäute, welche aufgrund mangelnder Endothelqualität oder wegen Narben lediglich als Notfallkeratoplastik à chaud zur Verfügung standen.

4) Hornhäute, welche für alle Keratoplastik-Arten ungeeignet waren.

Als „voll geeignet“ galten Hornhäute, deren Endothelzellzahl abzüglich der nekrotischen Areale über 2000 Zellen/mm² lag sowie keine signifikanten Auffälligkeiten der Endothelzellmorphologie und keine signifikanten Stromanarben aufwiesen.

Hornhäute mit einer relevanten Narbe waren in ihrer Eignung für eine durchgreifende Keratoplastik eingeschränkt. Sie wurden als „nur lamellär hinten“ geeignet eingestuft, sofern sie eine EZD über 2000 Zellen/mm² besaßen und keine signifikanten Auffälligkeiten der Endothelzellmorphologie aufwiesen.

Nur für eine „vordere lamelläre Keratoplastik“ geeignet waren Hornhäute, welche eine zu niedrige EZD (<2000 Zellen/mm²) oder eine mangelnde Endothelqualität aufgrund von Nekrosen, auffälliger Zellmorphologie oder unregelmäßigem Zellbild zeigten.

Als Notfallkeratoplastik à chaud wurden Hornhäute mit ausgeprägten Narben oder einer verminderten Endothelqualität freigegeben, sofern sie für ein lamelläres Verfahren nicht in Frage kamen.

Nicht für eine Transplantation freigegeben galt korneales Spendergewebe, wessen Kulturmedium infiziert war, deren Korneoskleralscheibe Infektionszeichen aufwies, deren Bindehautabstriche bei Hornhautentnahme mit relevanten Keimen kontaminiert waren und bei dessen Spender Hinweise auf Infektionen und nachträgliche Kontraindikationen vorlagen.

Zu jedem Zeitpunkt der Studie war die jeweils fachliche Einschätzung des ärztlichen Mitarbeiters ausschlaggebend für die Eignungsbeurteilung. Die Eignung wurde als Notiz auf dem Prüfprotokoll (siehe Anhang 10.6, Seite 107) festgehalten. Die Grenzen für die EZD in den verschiedenen Eignungsgruppen variierten innerhalb des Erhebungszeitraums geringfügig,

da in den früheren Jahren noch keine QM-mäßig (QM = Qualitätsmanagement) standardisierten Kriterien existierten. So wurde in Ausnahmefällen je nach individueller Indikation die EZD-Grenze mobilisiert und vereinzelt Hornhäute mit einer EZD von 1900-2000 Zellen/mm² für eine reguläre Keratoplastik freigegeben.

Da in den früheren Jahren der Studie noch keine vorderen lamellären Verfahren durchgeführt wurden, wurden Hornhäute, welche prinzipiell für ein vorderes lamelläres Verfahren in Frage gekommen wären, wegen ihrer Einschränkungen zum größten Teil in ihrer Eignung als Notfallkeratoplastik à chaud eingeschätzt.

In den multiplen Regressionsanalysen unserer Studie wurde nach „geeignet für eine reguläre Keratoplastik“ und „nicht geeignet für eine reguläre Keratoplastik“ unterteilt. Hornhäute der Gruppe 1 waren für eine perforierende oder lamelläre Keratoplastik geeignet. Die Gruppe 2 schloss alle HH ein, welche aufgrund relevanter Einschränkungen nur als Notfallkeratoplastik à chaud in Frage kamen oder wegen anderer Gründe ungeeignet waren.

3.6 Verwerfungsgründe

3.6.1 Verwerfung wegen Endothel

Gründe für die Verwerfung wegen Endothels war eine zu niedrige EZD (unter 2000 Zellen/mm²) oder eine mangelnde Endothelqualität aufgrund von Nekrosen, auffälliger Zellmorphologie, einem unregelmäßigen Zellbild oder eines zu großen Zellverlustes.

3.6.2 Verwerfung wegen Kontamination

Wie in Kapitel 2.6.2 Kontamination des Kulturmediums auf Seite 26 bereits eingehender beschrieben, führte eine Kontamination des Kulturmediums zu einer Verwerfung der Korneoskleralscheibe. Anhaltspunkte für eine Kontamination war die Änderung der Indikatorfarbe des Kulturmediums, ungewöhnliche Ablagerungen in der Kulturflasche oder das auffällige Aussehen der Korneoskleralscheibe. Außerdem wurden Proben des Kulturmediums zu zwei festgelegten Zeitpunkten mikrobiologisch auf Sterilität untersucht. Sofern keine Keimbelastung gemeldet wurde, galten die HH zur Transplantation freigegeben. Kam es zu einer Keimdifferenzierung, so wurden die differenzierten Mikroorganismen mit einer Referenzliste abgeglichen. Keime, welche in der Liste aufgeführt wurden, führten zur Verwerfung des Spendergewebes wegen Kontamination des Kulturmediums.

3.6.3 Verwerfung wegen Serologie

Korneales Spendergewebe wurde wegen Serologie verworfen, sofern kein oder zu wenig Blut des Spenders für die infektionsserologische Untersuchung zur Verfügung stand oder wenn das Untersuchungsergebnis positiv oder nicht eindeutig ausfiel. Laboruntersuchungen auf Infektionsmarker waren für jeden Spender verpflichtend. Durchgeführt wurden biologische Tests zu HIV 1 und 2, Hepatitis B (HBsAg, Anti-HBc), Hepatitis C (Anti HCV, HCV-NAT (HCV-RNA) und Syphilis (siehe Kapitel 2.4.5 Spenderserologie, Seite 18).

3.6.4 Verwerfung wegen Narbe

Narben waren Grund für eine Verwerfung, wenn sie aufgrund ihrer Lokalisation und Tiefe die Eignung der HH so stark beeinträchtigten, dass das Spendergewebe nicht zur Transplantation freigegeben werden konnte. Je nach Einschätzung des ärztlichen Mitarbeiters konnten Hornhäute mit Narben jedoch für lamelläre Verfahren oder als Notfallkeratoplastik à chaud verwendet werden.

3.6.5 Verwerfung wegen Bindehautabstrich

Eine Hornhaut musste aufgrund eines Bindehautabstriches verworfen werden, sofern dieser positiv war und sich der differenzierte Mikroorganismus auf der Referenzliste befand (siehe Kapitel 2.5.2 Bindehautabstrich, Seite 24). Während des Entnahmevorgangs der Hornhäute wurden jeweils zwei Abstriche der Bindehaut vorgenommen, welche mikrobiologisch untersucht werden. Eine Keimdifferenzierung fand bei jedem positiven Ergebnis statt und gab Aufschluss über die Freigabe zur Transplantation.

3.6.6 Verwerfung wegen nachträglicher medizinischer Kontraindikationen

Bei der klinischen Spenderauswahl wurden wichtige medizinische Kontraindikationen erfragt und ausgeschlossen, bevor die Hornhaut zur Entnahme freigegeben wurde (siehe Kapitel 2.4.4 Medizinische Kontraindikationen, Seite 16). Fielen nach der erfolgten Hornhautentnahme Ausschlusskriterien zur Spende auf, so musste das entnommene Gewebe wegen nachträglicher medizinischer Kontraindikationen verworfen werden.

3.6.7 Verwerfung wegen technischer Ursachen

In seltenen Fällen kam es zur Beschädigung des Spendermaterials bei der Präparation und Vorbereitung zur Operation. In solchen Fällen musste das Spendergewebe „wegen technischer Ursachen“ verworfen werden.

4 Ergebnisse

4.1 Eignung

Die Eignung des kornealen Spendergewebes wurde in der vorliegenden Studie in fünf Gruppen unterteilt.

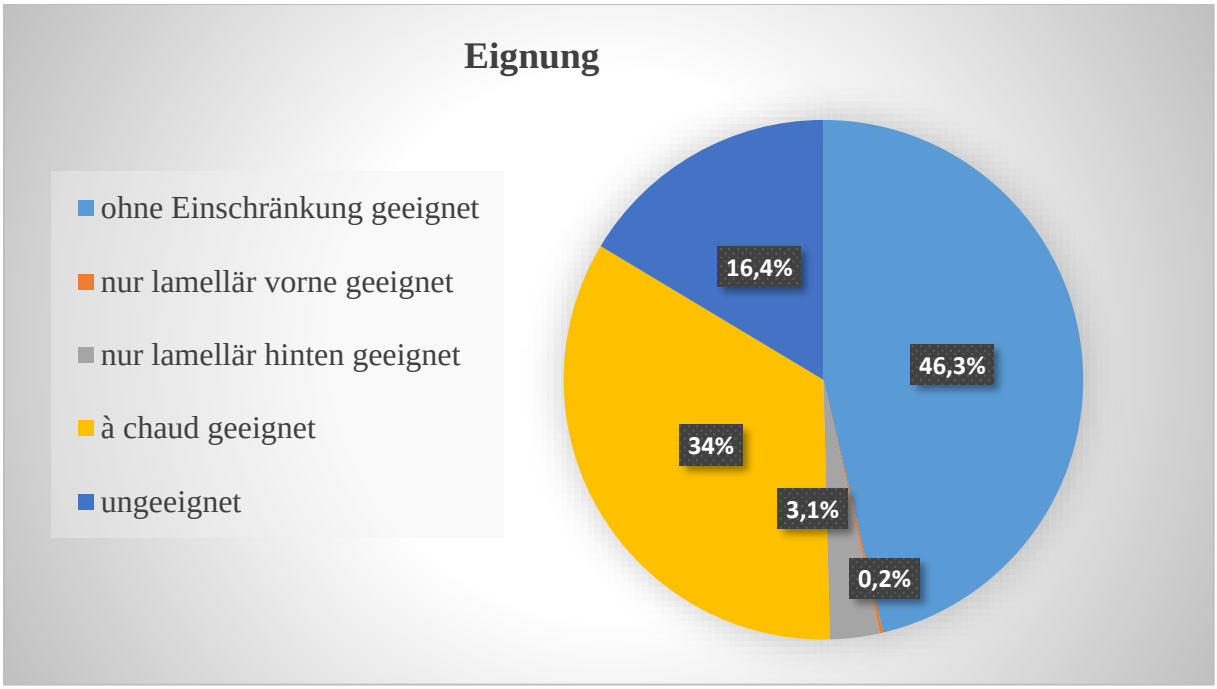

Abbildung 26: *Kreisdiagramm zur Eignung des kornealen Spendergewebes (% = Prozent)*

49,6% aller entnommenen Hornhäute der Studie (2052 HH von 4140 HH) waren für eine reguläre Keratoplastik geeignet. 46,3% der Hornhäute (1915 HH) waren hiervon „ohne Einschränkung“ geeignet, 3,1% der Hornhäute (130 HH) standen für ein hinteres lamelläres Verfahren und 0,2% der Hornhäute (7 HH) für ein vorderes lamelläres Verfahren zu Verfügung. 34% der Hornhäute (1409 HH) kamen aufgrund von Endotheleinschränkungen oder Narben nur für eine Notfallkeratoplastik à chaud in Betracht. 16,4% des Spendergewebes (679 HH) war gänzlich, also für jedwede Keratoplastik, ungeeignet (siehe **Abbildung 26**). Gründe für die Einschränkung der HH als Notfallkeratoplastik à chaud waren in 31,8% (1318 HH) die Endothelqualität, in 3,7% (155 HH) Narben und in 0,1% (4 HH) sonstige Gründe. In 1,6% der Fälle (68 HH) lag die Eignungseinschränkung als Notfallkeratoplastik à chaud an mehr als einem Grund. Bei 67 HH waren sowohl das Endothel als auch eine Narbe ausschlaggebend. 1 HH war wegen einer Narbe als auch aus sonstigen Gründen lediglich als Notfallkeratoplastik à chaud geeignet.

4.2 Verwerfungsgründe

In 43,8% aller Fälle (1814 HH) wurde das korneale Spendergewebe nicht zur Transplantation freigegeben und musste aus einem oder mehreren Gründen verworfen werden.

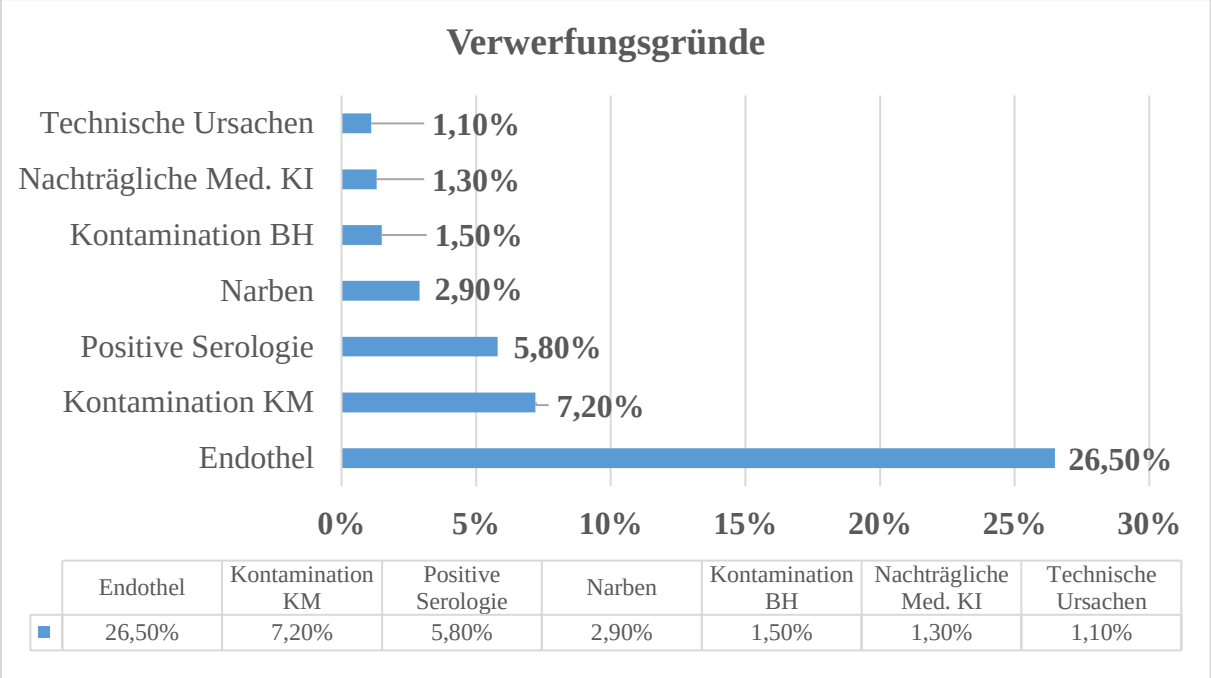

Abbildung 27: *Verwerfungsgründe des kornealen Spendergewebes (Med. = medizinisch, KI = Kontraindikation, BH = Bindehaut, KM = Kulturmedium, % = Prozent)*

Die drei Hauptverwerfungsgründe in der Studie waren eine verminderte Endothelqualität (26,5%, 1097 HH), die Kontamination des Kulturmediums (7,2%, 297 HH) und die positive Serologie des Spenders (5,8%, 241 HH). Wie in **Abbildung 27** ersichtlich waren weitere Ursachen für die Verwerfung des kornealen Spendergewebes Narben (2,9%), ein positives Bindehautabstrich-Ergebnis mit relevantem Erreger (1,6%), nachträgliche medizinische Kontraindikationen zur Hornhautspende (1,3%) sowie technische Ursachen (1,1%).

Zum Großteil führte lediglich ein einziger Verwerfungsgrund zur Verwerfung (95,1%). In 4,8% gab es zwei Verwerfungsgründe pro verworfener HH und bei 1 HH drei Verwerfungsgründe.

4.2.1 Verwerfung wegen Endothel

Gründe für die Verwerfung wegen Endothels war eine zu niedrige EZD und eine mangelnde Endothelqualität aufgrund von Nekrosen, eines zu großen Zellverlustes zwischen erster und zweiter Endothelzellzählung, einer auffälligen Zellmorphologie oder eines unregelmäßigen Zellbildes. Mit 26,5% (1097 HH) war das Endothel der häufigste Verwerfungsgrund.

4.2.1.1 Endothelzelldichte (EZD)

Wie in Kapitel 2.7.1 Endothelzelldichte auf Seite 30 erklärt, spielte die EZD bei der Transplantatuntersuchung und bei der Freigabe des Gewebes eine herausragende Rolle. Eine zu niedrige EZD führte zur Verwerfung wegen unzureichender Endothelqualität. Die EZD wurde am 7. Tag der Organkultur sowie zur Endbefundung (mindestens 12 Stunden nach Entquellen im Kulturmedium II) bestimmt.

Die EZD lag am 7. Tag zwischen 666 Zellen/mm² (Minimum) und 3635 Zellen/mm² (Maximum) mit einem Mittelwert von 2322 Zellen/mm² ± 423 Zellen/mm² (SD= Standardabweichung). Der Median der EZD lag bei 2365 Zellen/mm².

Bei der Endbefundung belief sich die EZD zwischen 612 Zellen/mm² (Minimum) und 3499 Zellen/mm² (Maximum) bei einem Mittelwert von 2166 Zellen/mm² ± 383 Zellen/mm² (SD). Der Median lag bei 2202 Zellen/mm².

Einflüsse auf die EZD ergaben sich durch folgende Faktoren: Spenderalter, Diabetes mellitus, Linsenstatus sowie Postmortem-Zeit. In den folgenden Kapiteln zu den jeweiligen Einflussfaktoren findet sich die dazugehörige Auswertung (Kapitel 4.3.1 Spenderalter, Seite 53, Kapitel 4.3.4 Diabetes mellitus, Seite 59, Kapitel 4.3.7 Linsenstatus, Seite 60, Kapitel 4.3.8 Postmortem-Zeit, Seite 63).

4.2.1.2 Endothelnekrosen

Auch Endothelnekrosen führten neben einer zu geringen EZD zur Verwerfung des kornealen Spendergewebes wegen mangelnder Endothelqualität (siehe Kapitel 2.7.2 Endothelnekrosen, Seite 33). Hornhäute mit >10% Nekrosen wurden in insgesamt 82,6% der Fälle „wegen Endothel verworfen“. In der Gruppe der HH mit 3-5% Nekrosen waren es nur 31,3%. HH aus der Gruppe ohne Nekrosen wurden in 13,9% „wegen Endothel verworfen“. Hier war der Grund der Verwerfung also durch andere Ursachen wie eine zu geringe EZD bedingt. Je geringer der Anteil an Nekrosen war, desto seltener wurde die HH „wegen Endothel verworfen“ (siehe **Abbildung 28**).

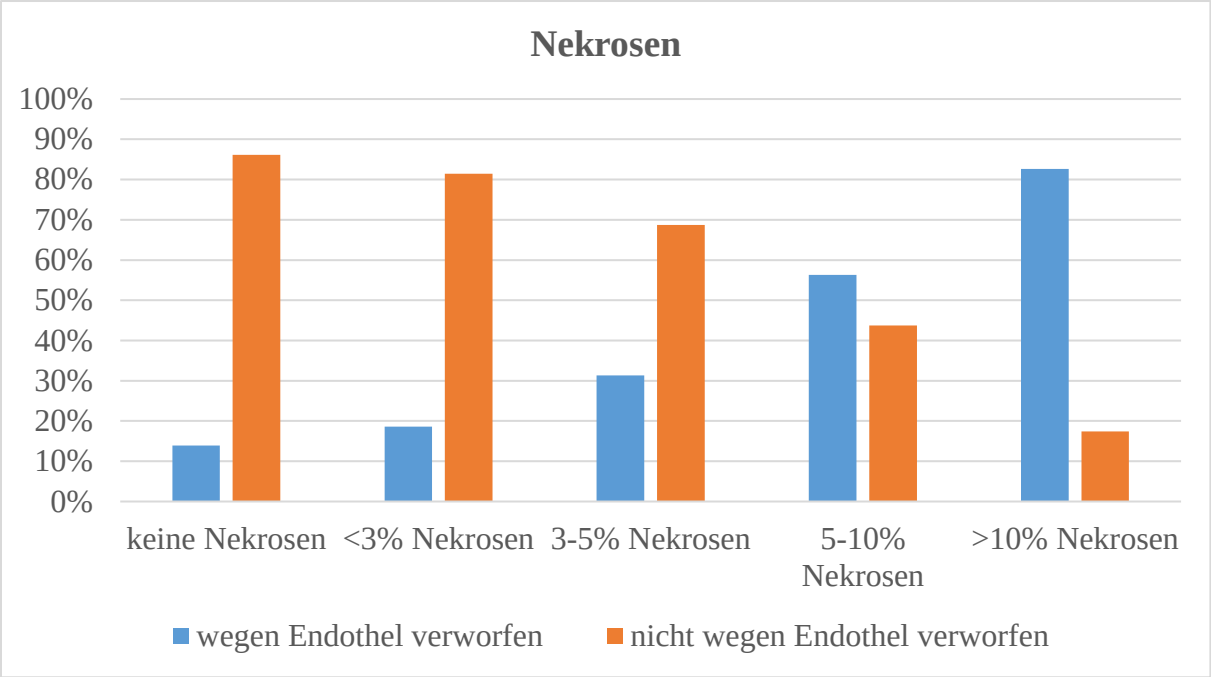

Abbildung 28: *Prozentzahl der Verwerfungen wegen Endothel bei Hornhäuten mit Nekrosen (% = Prozent)*

Ein Chi-Quadrat Test nach Pearson wurde zwischen der Prozentzahl an Nekrosen und der Verwerfung wegen Endothel durchgeführt und zeigte eine zweiseitige Signifikanz von $p<0,001$.

4.2.2 Verwerfung wegen Kontamination

Die Kontamination des Kulturmediums war mit 7,2% (297 HH) der zweithäufigste Verwerfungsgrund. In den meisten Fällen ergab sich eine Kontamination des Kulturmediums durch Staphylokokken (125 Fälle) und Pilze (88 Fälle). Andere Erreger waren Streptokokken, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Enterokokken etc..

Der Einfluss der Todesursache des Spenders, eines Diabetes mellitus als Spendervorerkrankung und der Postmortem-Zeit wurde auf die Verwerfung wegen Kontamination geprüft. Die dazugehörige Auswertung lässt sich in den Kapiteln zu den jeweiligen Einflussfaktoren nachlesen (siehe Kapitel 4.3.3 Todesursachen, Seite 57, Kapitel 4.3.4 Diabetes mellitus, Seite 59 und Kapitel 4.3.8 Postmortem-Zeit, Seite 63).

4.2.3 Verwerfung wegen Serologie

Die positive Serologie des Spenders war mit 5,8% der dritthäufigste Grund für die Verwerfung des kornealen Spendergewebes. 241 Hornhäuten waren aus diesem Grund nicht zur Transplantation geeignet. Gehäuft kam es zu mehrfach positiven serologischen Befunden. Ein

positiver HIV- Befund p24 Ag (Antigen) + Ig (Immunglobuline) - Befund lag in 1,1% vor, eine positive HIV-RNA-Serologie in 0,3%. Hepatitis B HBsAg war in 2,1%, Hepatitis B Anti-c IgG in 7,1%, Hepatitis B Anti-s IgG in 4,8% und Hepatitis B DNA in 1,2% positiv. Ein Nachweis von Hepatitis C Antikörpern ergab sich in 0,9% und ein Nachweis von Hepatitis C RNA in 0,3%. Treponema pallidum Ig als Nachweis einer Syphilis Infektion lag in 1,0% vor.

Es wurde der Zusammenhang zwischen der Postmortem-Zeit und der Verwerfung wegen Serologie geprüft, welcher in Kapitel 4.3.8 Postmortem-Zeit auf Seite 63 näher beschrieben wird.

4.2.4 Verwerfung wegen Narbe

Eine Narbe war in 122 von 4140 Fällen (2,9%) ausschlaggebend für die Verwerfung des Spendergewebes. Damit waren Narben der vierthäufigste Grund für eine Verwerfung. Es wurden keine Einflussfaktoren auf die Verwerfung wegen Narbe geprüft.

4.2.5 Verwerfung wegen Bindehautabstrich

Das Bindehautabstrich-Ergebnis war bei 1975 von 4140 HH (47,7%) positiv. Zur Verwerfung des kornealen Spendergewebes führte der positive Bindehautabstrich-Befund jedoch nur bei 63 HH, was 1,5% entspricht.

4.2.6 Verwerfung wegen medizinischer Kontraindikationen

In insgesamt 1,3% aller Fälle wurde die HH wegen nachträglich erhobener medizinischer Kontraindikationen beim Spender verworfen. In Zahlen gesprochen handelte es sich um 53 Hornhäute, die aus diesem Grunde nicht zur Transplantation zugelassen werden konnten. Medizinische Kontraindikationen waren beispielsweise zentralnervöse Erkrankungen unklarer Ursache wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson sowie die prämortale Aufnahme von Giften oder Schwermetallen (siehe Kapitel 2.4.4 Medizinische Kontraindikationen, Seite 16).

4.2.7 Verwerfung wegen technischer Ursachen

In 45 von 4140 Fällen (1,1%) führten technische Ursachen bei der Präparation des Spendergewebes zur Verwerfung.

4.3 Einflussfaktoren

4.3.1 Spenderalter

Das Alter der Hornhautspender lag zwischen 3 Jahren (Minimum) und 101 Jahren (Maximum) mit einem mittleren Spenderalter von 70,3 ± 15,0 Jahren (SD). Der Median lag bei 73 Jahren. Die Mehrheit der Spender war mit 78,2% älter als 60 Jahre. 30,6% der Spender waren älter als 80 Jahre. Lediglich 21,8% der Spender waren jünger als 60 Jahre. Die größte Altersgruppe bestand mit 57,7% aus Spendern zwischen dem 60. und 79. Lebensjahr (siehe **Abbildung 29**).

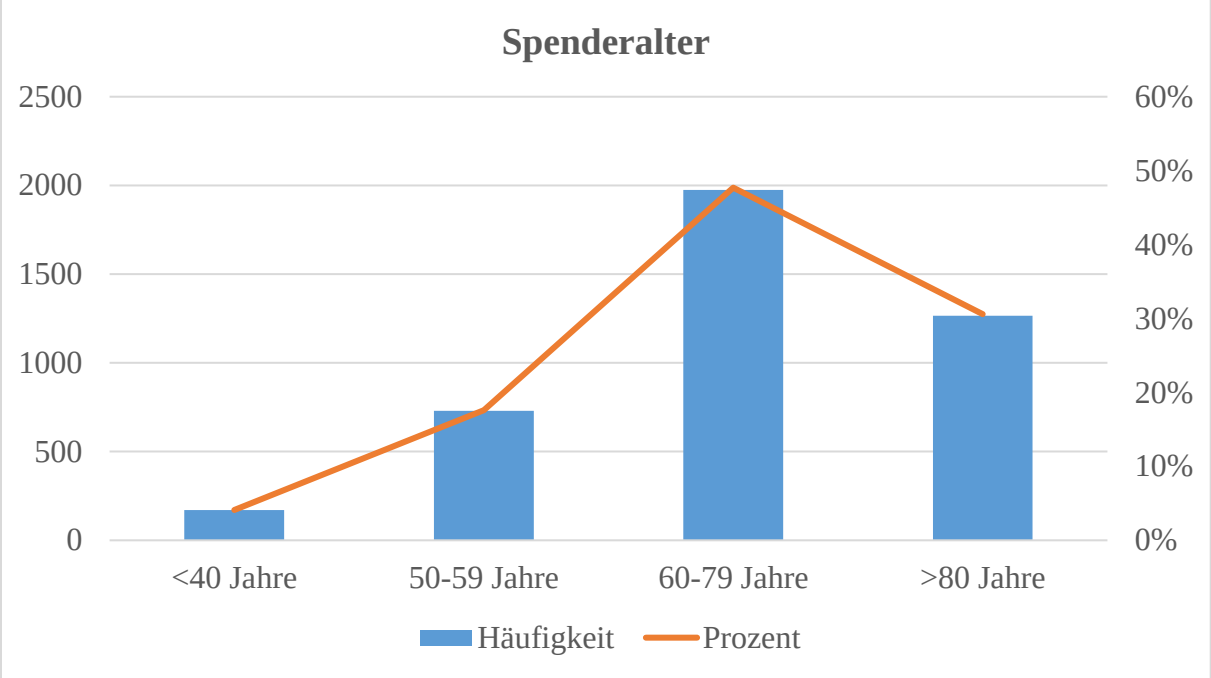

***Abbildung 29**: Anzahl und Prozentanteil der Hornhautspender nach Altersgruppen (%= Prozent)*

Mittels des Likelihood-Quotienten-Tests wurde der Einfluss des Spenderalters univariat auf die Eignung der HH untersucht. Der Zusammenhang zwischen Spenderalter und Eignung erwies sich mit $p<0,001$ als hoch signifikant. Verglichen wurden Spender verschiedener Altersgruppen (40-59 Jahre, 60-79 Jahre, >80 Jahre) mit der Referenzgruppe der Spender <40 Jahre.

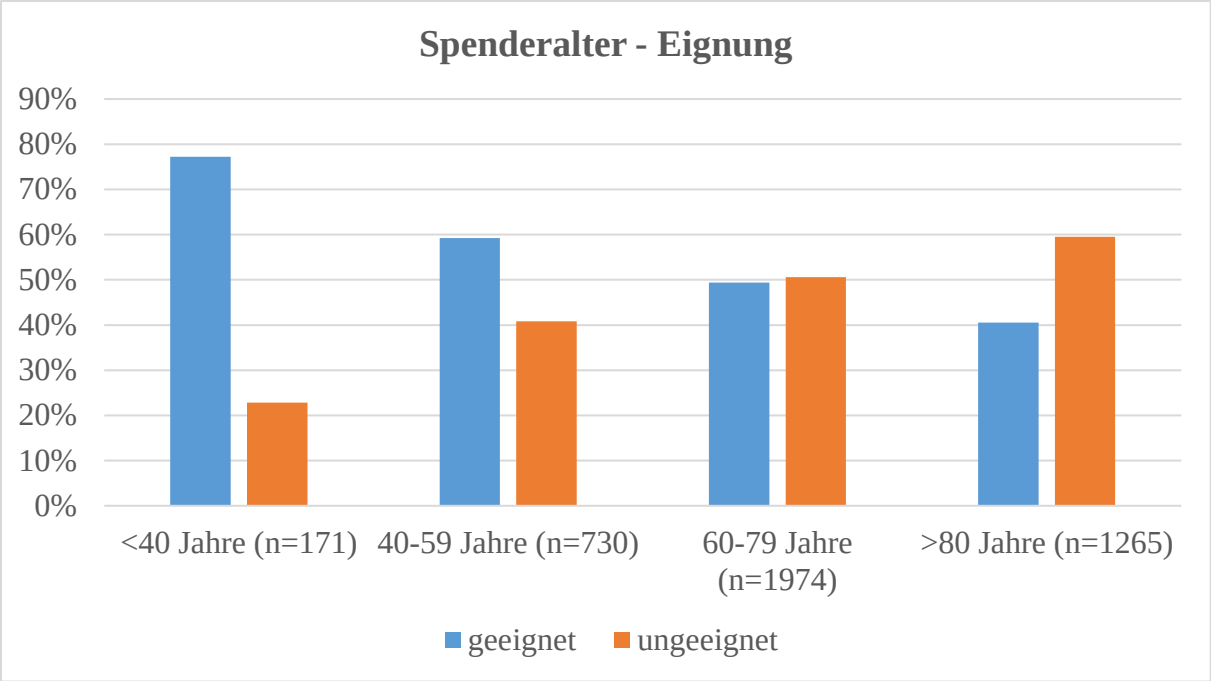

Abbildung 30: *Abhängigkeit der Eignung des Spendergewebes für die Transplantation vom Spenderalter (% = Prozent, n = Anzahl)*

Während Hornhäute von Spendern <40 Jahren in 77,2% geeignet waren und somit für eine reguläre KPL zur Verfügung standen, waren Spender-HH von >80-Jährigen in lediglich 40,5% geeignet. Die Eignung des Spendergewebes von Spendern >80 Jahren war statistisch signifikant niedriger als die Eignung von Hornhäuten jüngerer Spender (p<0,001). Mehr als die Hälfte, nämlich 59,5% aller HH von >80-jährigen Spendern (753 HH von 1265 HH), kamen für eine reguläre KPL nicht in Frage (siehe **Abbildung 30**). HH von Spendern >60 Jahren waren im Vergleich zu den HH von <40- Jährigen mit 3,4-fachem Risiko ungeeignet, HH von Spendern >80 Jahren mit 4,9-fachem Risiko.

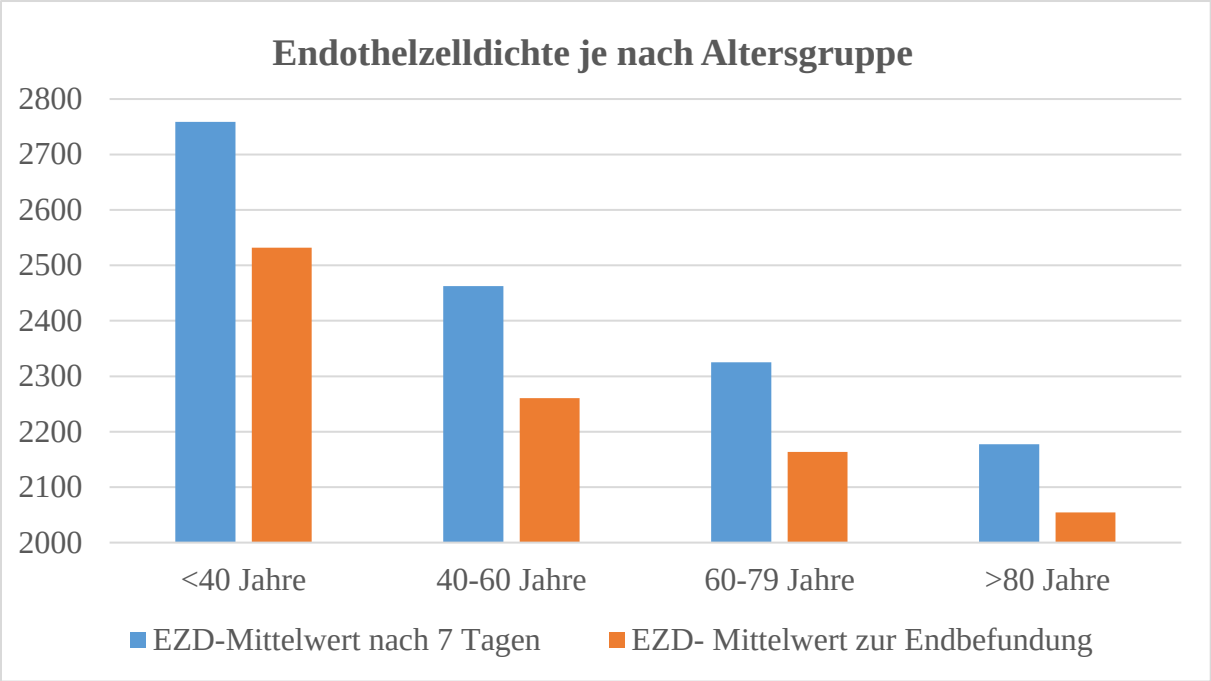

Abbildung 31: *Mittlere Endothelzelldichte in Zellen/mm² nach 7 Tagen sowie nach Endbefundung je Altersgruppe der Spender (EZD = Endothelzelldichte)*

Das Spenderalter wurde in verschiedenen Altersgruppen auf die jeweilige EZD untersucht. Dargestellt sind die Ergebnisse in **Abbildung 31** und **Abbildung 32**. So lag die EZD bei Spendern <40 Jahren im Mittel nach 7 Tagen bei 2759 Zellen/mm² und bei 2532 Zellen/mm² nach Endbefundung. HH von Spendern zwischen 40 und 59 Jahren hatten im Mittel eine EZD von 2463 Zellen/mm² nach 7 Tagen und 2261 Zellen/mm² bei Endbefundung. Spender zwischen 60 und 80 Jahren wiesen eine mittlere EZD von 2325 Zellen/mm² nach 7 Tagen und 2164 Zellen/mm² bei Endbefundung nach. Hornhäute von Spendern >80 Jahren hatten die niedrigsten EZD mit im Mittel 2177 Zellen/mm² nach 7 Tagen und 2054 Zellen/mm² nach Endbefundung.

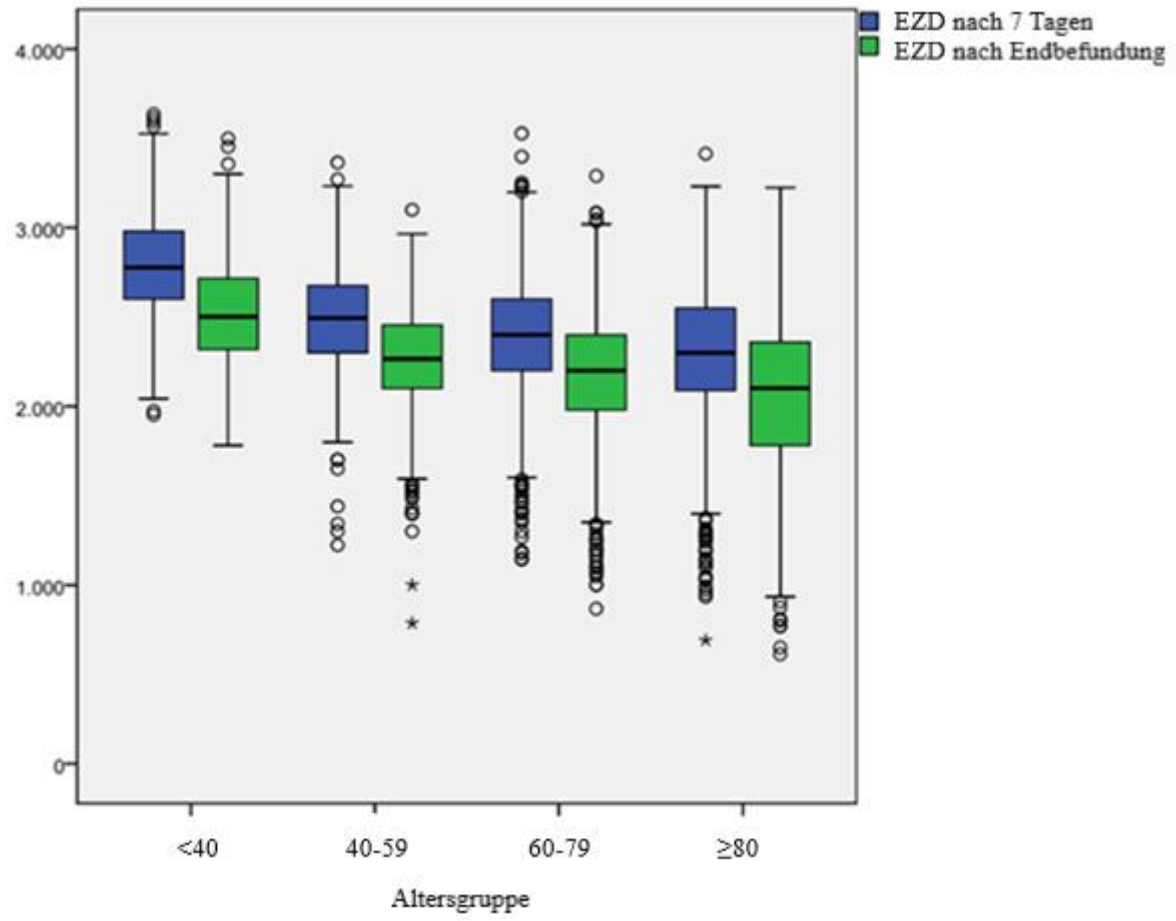

Abbildung 32: *Boxplot zur Endothelzelldichte in Zellen/mm² nach 7 Tagen sowie nach Endbefundung je Altersgruppe der Spender (Jahre) (EZD = Endothelzelldichte)*

4.3.2 Spendergeschlecht

Von 2083 Spendern waren 56,8% männlichen Geschlechts und 43,2% weiblichen Geschlechts. Der Einfluss des Spendergeschlechts auf die Eignung des kornealen Spendergewebes wurde in Kapitel 4.4 auf Seite 65 in einer multivariaten Analyse auf die Unabhängigkeit gegenüber anderen Einflussvariablen untersucht.

4.3.3 Todesursachen

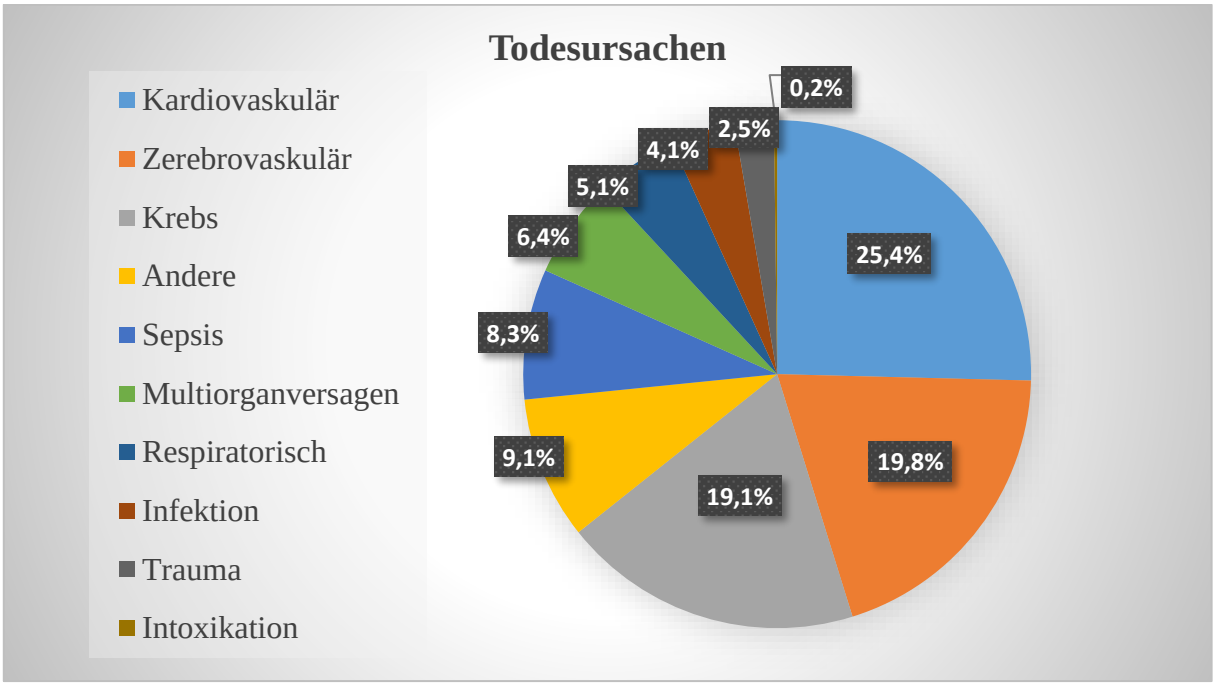

Abbildung 33: *Todesursachen der Hornhautspender (% = Prozent)*

Die zwei am häufigsten vertretenen Todesursachen der Hornhautspender waren kardiovaskulärer (25,4%) und zerebrovaskulärer Art (19,8%). An dritter Stelle lag eine Krebserkrankung als Todesursache (19,1%) (siehe **Abbildung 33**). Die übrigen Anteile fielen auf „andere“ Todesursachen (9,1%), eine Sepsis (8,3%), ein Multiorganversagen (MOV) (6,4%), respiratorische Ursachen (5,1%), ein Trauma (2,5%), Infektionen (4,1%) und Intoxikationen (0,2%). Bei Infektionen wurde, sofern dies aus den medizinischen Befunden hervorging, zwischen bakteriellen Infektionen (1,7%), Infektionen durch Pilze (0,4%) und viralen Infektionen (0,1%) unterschieden. Bei 1,9% aller Infektionen konnte das Erregerspektrum nicht näher bestimmt werden.

Sepsis oder MOV als Todesursachen ergaben höhere Verwerfungsraten aufgrund von Kontamination des Kulturmediums verglichen mit der Referenzgruppe der kardio- und zerebrovaskulären Todesursachen. Hornhäute von Spendern, welche an respiratorischen Ursachen verstarben, waren nur in 2,4% der Fälle kontaminiert. Die Kontaminationsrate bei Spendern, die an Sepsis (9,4%), „anderen“ Todesursachen, z.B. Suizid (8,9%) und MOV (12,1%) verstarben, lag hingegen um ein Vielfaches höher (siehe **Abbildung 34**).

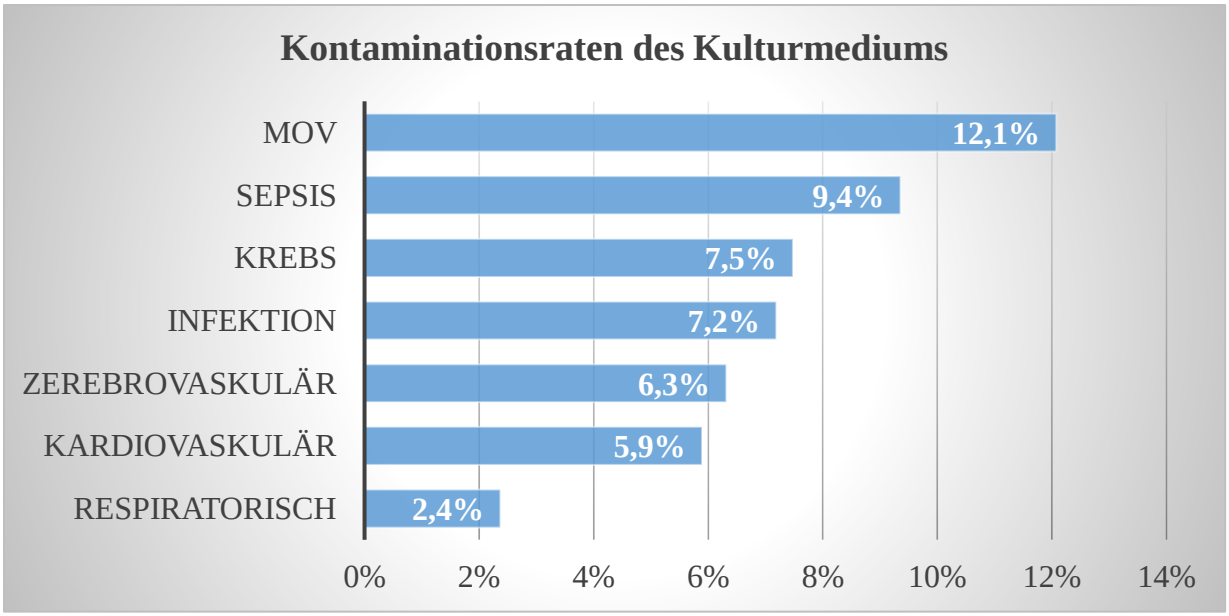

Abbildung 34: *Kontaminationsraten des Kulturmediums in Abhängigkeit von der Todesursache des Spenders (MOV = Multiorganversagen, % = Prozent)*

In einem multiplen binären Regressionsmodell wurde der Einfluss der Todesursache auf die Verwerfung wegen Kontamination untersucht. Hierbei wurde jede Todesursache jeweils mit der Referenzgruppe der zerebro- und kardiovaskulären Todesursachen verglichen. Es ergaben sich Folgende in der Tabelle dargestellten p-Werte. Es fanden sich signifikant höhere Verwerfungsraten für Todesursachen wie Sepsis (p=0,026), MOV (p<0,001) und „Andere“ (p=0,027) (siehe **Tabelle 4**). Die respiratorischen Todesursachen verzeichneten signifikant niedrigere Verwerfungsraten wegen Kontamination (p=0,034) im Vergleich zur Referenzgruppe der kardio- und zerebrovaskulären Todesursachen.

Tabelle 4: *Verwerfung des Spendergewebes wegen Kontamination des Kulturmediums in Abhängigkeit von der Todesursache*

Todesursache	**Verwerfung wegen Kontamination des Kulturmediums**
	p-Wert
Zerebrovaskuklär	-
Kardiovaskulär	-
Multiorganversagen	<0,001
Krebs	0,182
Sepsis	0,026
Respiratorisch	0,034
Infektion	0,570
Andere	0,027

4.3.4 Diabetes mellitus

Ein Diabetes mellitus als Vorerkrankung wurde bei 360 aller Spender erfasst. Dies entsprach 17,3% aller Fälle. Geprüft wurde der Einfluss des Diabetes mellitus auf die Verwerfung wegen Kontamination des Kulturmediums und im Mehrfaktorenmodell auf die Eignung der Spenderhornhäute.

Spenderhornhäute von Diabetikern hatten am 7. Tag nach Inkulturnahme im Mittel eine EZD von 2250 ± 438 Zellen/mm² (SD). Das Gesamtkollektiv besaß eine EZD von 2322 Zellen/mm² ± 423 Zellen/mm² (SD). Zur Endbefundung hatten Diabetiker im Mittel eine EZD von 2095 Zellen/mm² ± 408 Zellen/mm² (SD), das Gesamtkollektiv eine EZD von 2166 Zellen/mm² ± 383 Zellen/mm² (SD) (siehe **Abbildung 35**).

Bei Diabetikern zeigte sich eine um 73 Zellen/mm² niedrigere EZD zur Zählung nach 7 Tagen als beim Gesamtkollektiv. Zur Endbefundung lag die EZD bei Diabetikern im Mittel 72 Zellen/mm² niedriger als beim Gesamtkollektiv.

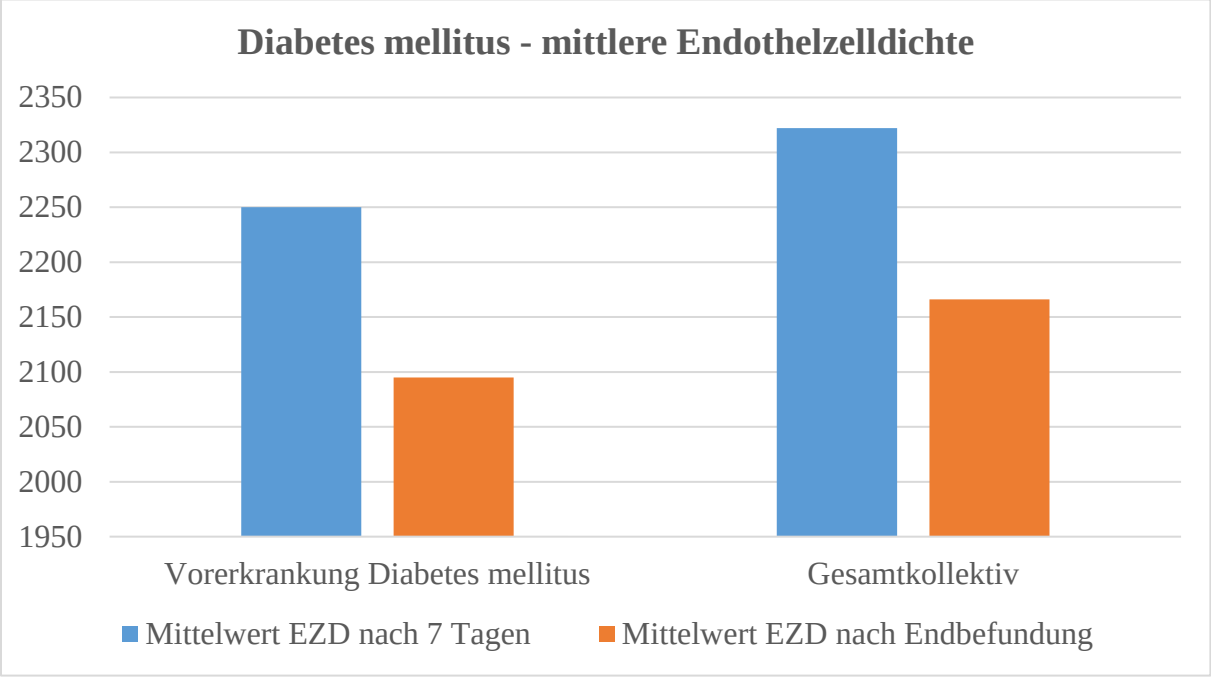

Abbildung 35: *Vergleich der mittlere Endothelzelldichten in Zellen/mm² zwischen Hornhautspendern mit Diabetes mellitus als Vorerkrankung und dem Gesamtkollektiv (EZD = Endothelzelldichte)*

Zwischen dem Einflussfaktor des Diabetes mellitus als Vorerkrankung und der Verwerfung wegen Kontamination konnte kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden. Der Chi-Quadrat-Test nach Pearson erbrachte eine Signifikanz von p=0,938 (zweiseitig).

Der Einfluss des Diabetes mellitus wurde im Mehrfaktorenmodell auf die Eignung geprüft (siehe Kapitel 4.4, Seite 65).

4.3.5 Arterielle Hypertonie

In der Studie wurde bei 773 Hornhautspendern (37,1%) eine arterielle Hypertonie befundet. Der Einfluss einer arteriellen Hypertonie wurde im Mehrfaktorenmodell auf die Eignung geprüft (siehe Kapitel 4.4, Seite 65).

4.3.6 Chemotherapie

Bei 192 Hornhautspendern wurde eine Chemotherapie in der Vorgeschichte erfasst. Dies entsprach 9,2% des Gesamtkollektivs. Untersucht wurde der Einflussfaktor der Chemotherapie im multiplen Regressionsmodell auf die Eignung (siehe Kapitel 4.4, Seite 65).

4.3.7 Linsenstatus

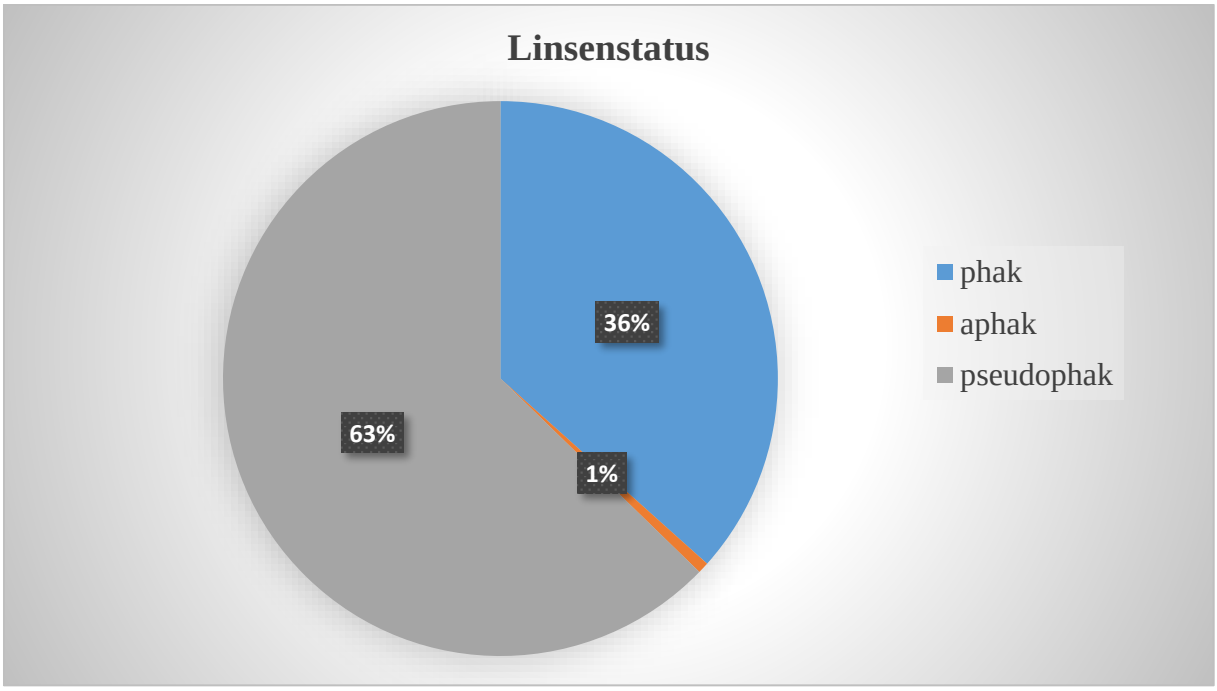

Abbildung 36: *Linsenstatus der Hornhautspender unterteilt nach phak, aphak und pseudophak (% = Prozent)*

Der Linsenstatus der jeweiligen Augen des Hornhautspenders wurde in 1538 von insgesamt 4140 Fällen dokumentiert, was 37,1% entsprach. Alle übrigen Fälle (62,9%) stammten aus früheren Jahren der Studie, in welchen der Linsenstatus noch nicht standardisiert erhoben wurde oder in denen die Hornhäute wegen anderer Verwerfungsgründe verworfen wurden, ehe der Linsenstatus erhoben war. Der Linsenstatus wurde bei der Hornhautentnahme festgestellt und in Phakie (natürliche eigene Linse vorhanden), Pseudophakie (Kunstlinse vorhanden), Aphakie (keine Linse vorhanden) unterteilt.

In 16 von 1538 Fällen (1,0%) war der Linsenstatus aphak, in 898 von 1538 Fällen (58,4%) phak und in 624 von 1538 Fällen (40,6%) pseudophak (siehe **Abbildung 36**). Der Befund einer Aphakie und Pseudophakie wurde als Zustand nach Kataraktoperation interpretiert.

Geprüft wurde der Einfluss einer vorangegangenen Katarakt-OP auf die Eignung des kornealen Spendergewebes.

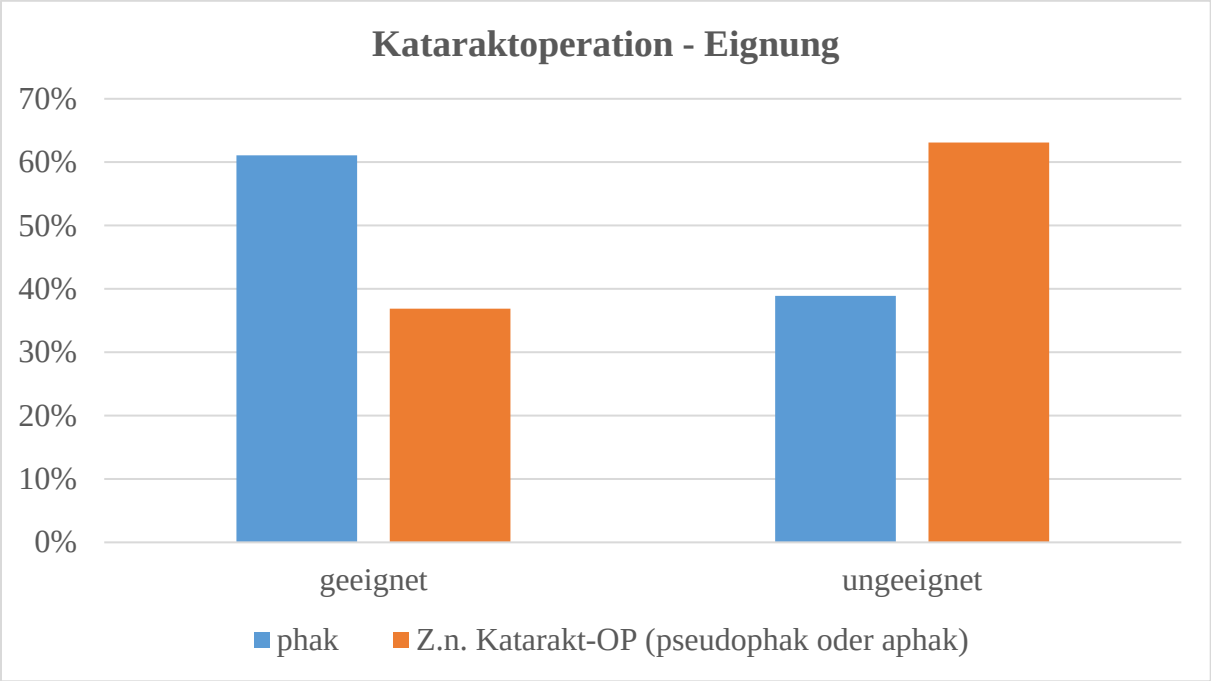

Abbildung 37: *Abhängigkeit der Eignung des Spendergewebes von einer vorangegangenen Katarakt-Operation (Z.n. = Zustand nach, OP = Operation, % = Prozent)*

Hornhäute von Spendern mit vorangegangener Katarakt-OP waren signifikant seltener geeignet als solche von Spendern ohne stattgehabte Katarakt-Chirurgie. Während die HH von Spendern ohne vorangegangene Katarakt-OP in 61,1% der Fälle geeignet waren, waren HH von Spendern nach vorangegangener Katarakt-OP nur in 36,9% der Fälle geeignet (siehe **Abbildung 37**). Sowohl der Chi-Quadrat Test nach Pearson als auch der exakte Test nach Fisher erbrachte einen p-Wert von <0,001.

Auch mittels multivariater Analyse wurde der Einfluss einer stattgehabten Katarakt-OP auf die Eignung des kornealen Spendergewebes geprüft (siehe Kapitel 4.4, Seite 65).

Des Weiteren ergab sich ein hoch signifikanter Zusammenhang zwischen einer vorangegangenen Katarakt-OP und einer verminderten EZD (p<0,001, zweiseitig). HH, deren Spender zuvor eine Katarakt-OP hatten, besaßen in 66,7% der Fälle weniger als 2000 Zellen/mm², während Spender ohne stattgehabte Katarakt-OP in 65,2% mehr als 2000 Zellen/mm² besaßen (siehe **Abbildung 38**) .

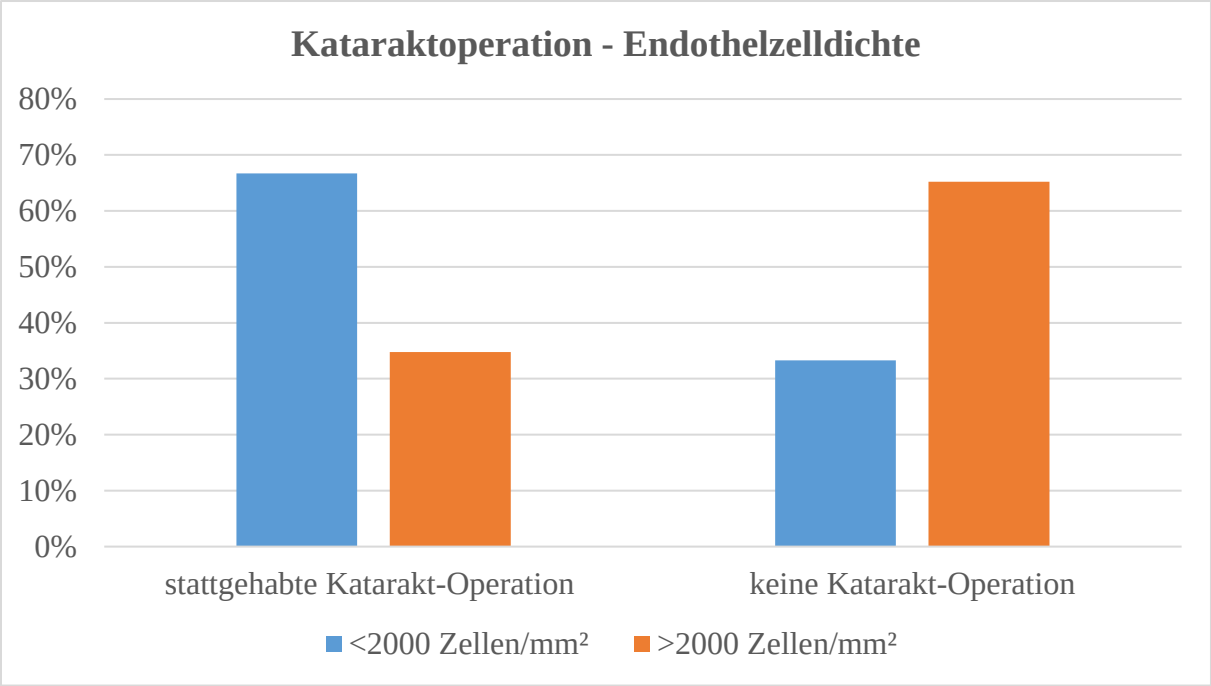

Abbildung 38: *Abhängigkeit der Endothelzelldichte von einer vorangegangenen Katarakt-Operation (% = Prozent)*

Hornhäute von Spendern mit vorangegangener Katarakt-Operation hatten am 7. Tag nach Inkulturnahme eine mittlere EZD von 2126 Zellen/mm² im Vergleich zu phaken HH mit einer mittleren EZD von 2450 Zellen/mm². Zur Endbefundung lag die mittlere EZD bei Katarakt-Operierten bei 1977 Zellen/mm² im Vergleich zu einer mittleren EZD von 2283 Zellen/mm² bei phaken HH (siehe **Abbildung 39**).

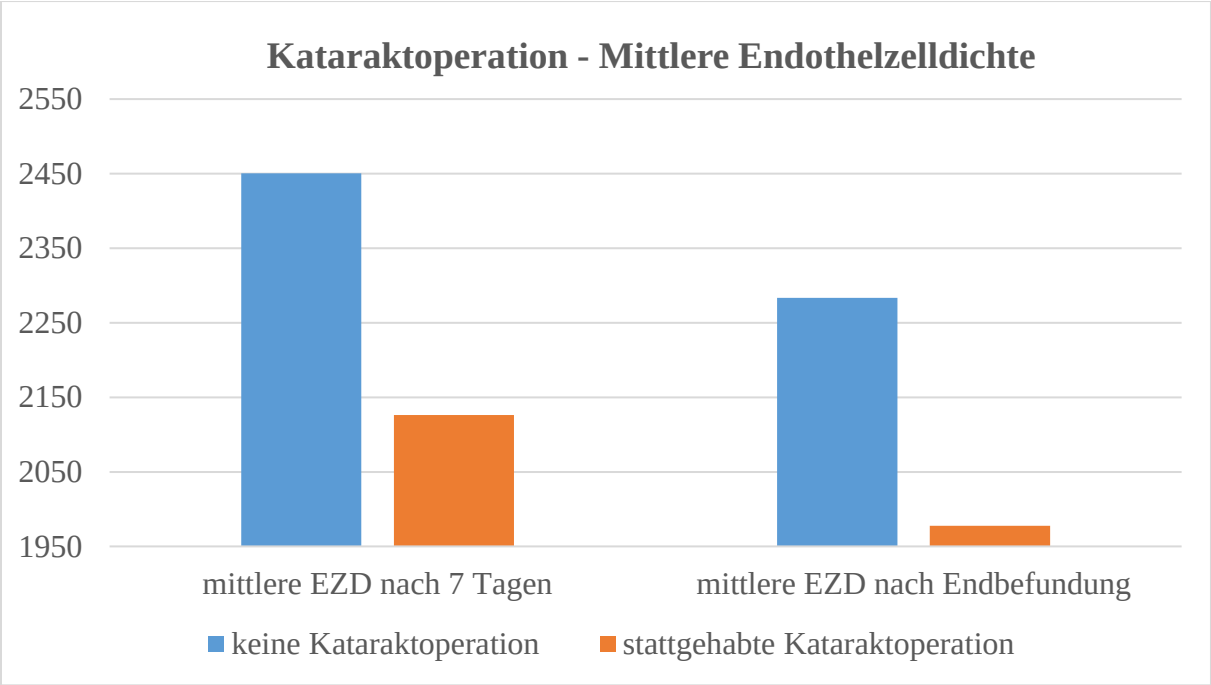

Abbildung 39: *Einfluss einer stattgehabten Katarakt-Operation auf die mittlere Endothelzelldichte in Zellen/mm² nach 7 Tagen und nach Endbefundung (EZD = Endothelzelldichte)*

4.3.8 Postmortem-Zeit

Die Postmortem-Zeit, also die Zeit zwischen Versterben des Spenders und der Entnahme der Korneoskleralscheibe, lag im Mittel bei 11,9 h ± 9,6 h (SD). Der Median lag bei 11 h (siehe **Abbildung 40**).

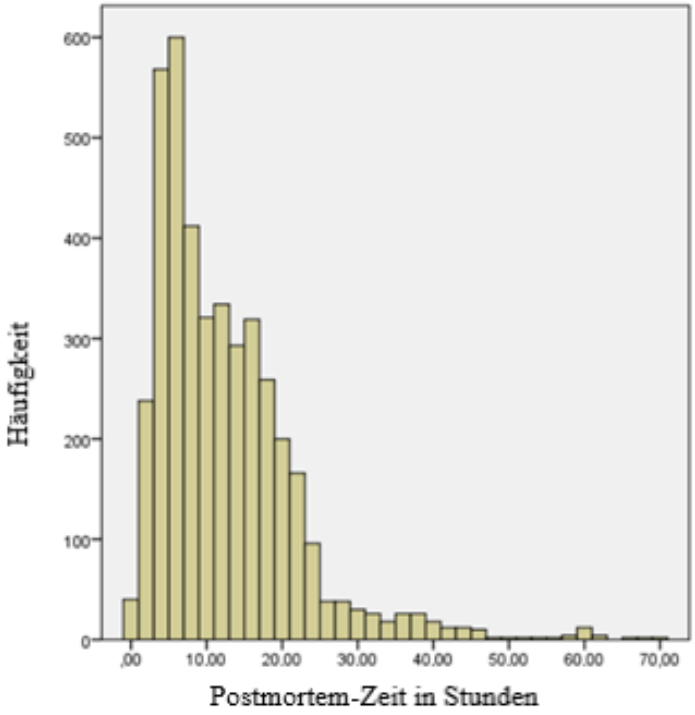

Abbildung 40: *Postmortem-Zeit in Stunden*

In 34,9% der Fälle (1446 HH) wurde die HH innerhalb von 6 h nach Versterben des Spenders entnommen. Lediglich 7,1% aller entnommenen Hornhäute überschritten eine Postmortem-Zeit von >24 h (siehe **Abbildung 41**).

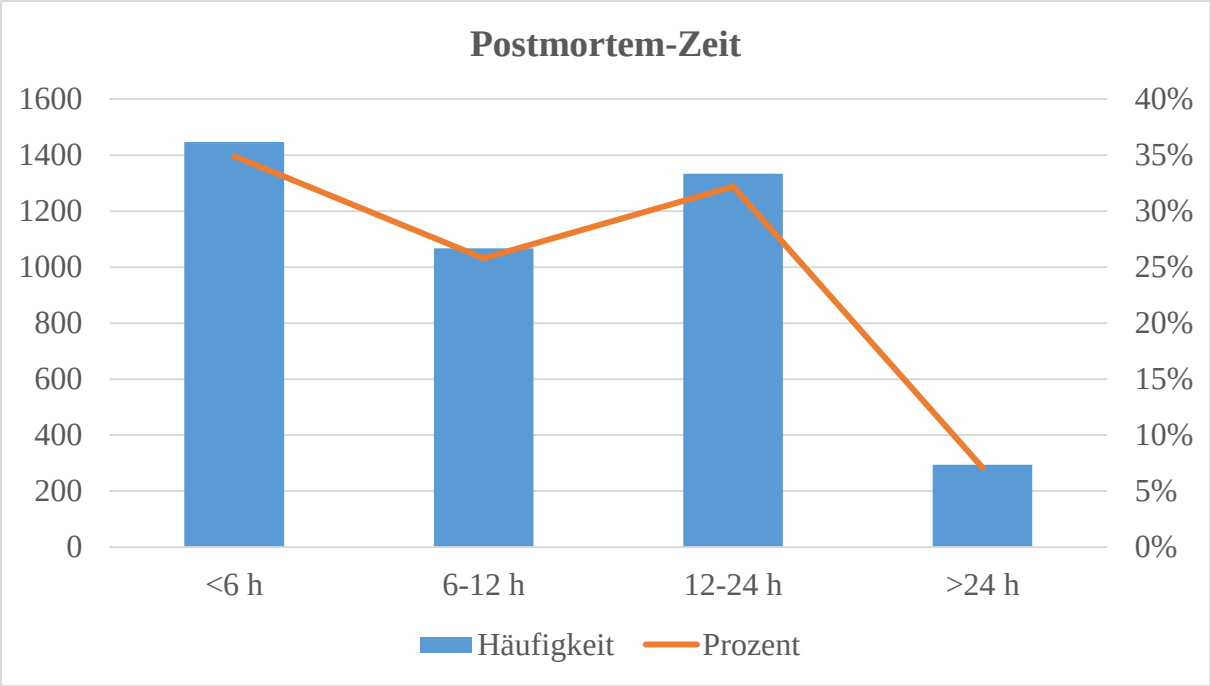

Abbildung 41: *Postmortem-Zeit in Stunden gegliedert in Zeitgruppen (h = Stunden, % = Prozent)*

In unseren Untersuchungen zeigte sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Postmortem-Zeit und der Kontamination des Kulturmediums.

Wie in Kapitel 2.4.5 Spenderserologie auf Seite 18 beschrieben, erfolgte die Blutentnahme zur infektionsserologischen Prüfung im engen zeitlichen Rahmen zur Hornhautentnahme. Die Zeit zwischen Versterben des Spenders und der Blutentnahme ist demnach mit der Postmortem-Zeit (Zeit zwischen Versterben des Spenders und der Hornhautentnahme) gleichzusetzen. In seltenen Fällen lagen dem Labor bereits vor der Hornhautentnahme Blutproben des Spenders vor, welche zu Lebzeiten des Spenders zurückgestellt wurden.

In der Studie wurde der Zusammenhang zwischen der Postmortem-Zeit und der Verwerfung des Spendermaterials wegen positiver Spenderserologie untersucht. Im Chi-Quadrat-Test nach Pearson bestand ein statistisch hoch signifikanter Zusammenhang ($p<0,001$, zweiseitig) zwischen der Postmortem-Zeit und der Verwerfung wegen positiver Serologie. So wurden HH, deren Postmortem-Zeit <12 h betrug, wesentlich seltener wegen positiver Serologie verworfen als HH, welche >12 h nach Versterben des Spenders entnommen wurden (siehe **Abbildung 42**). HH mit einer Postmortem-Zeit von <6 h wurden in der vorliegenden Studie lediglich in 3,5% wegen positiver Serologie verworfen. Bei Hornhäuten mit einer Postmortem-Zeit zwischen 6-12 h waren es 5,1% und eine Postmortem-Zeit von >12 h steigerte die Verwerfungsrate auf 8,4%.

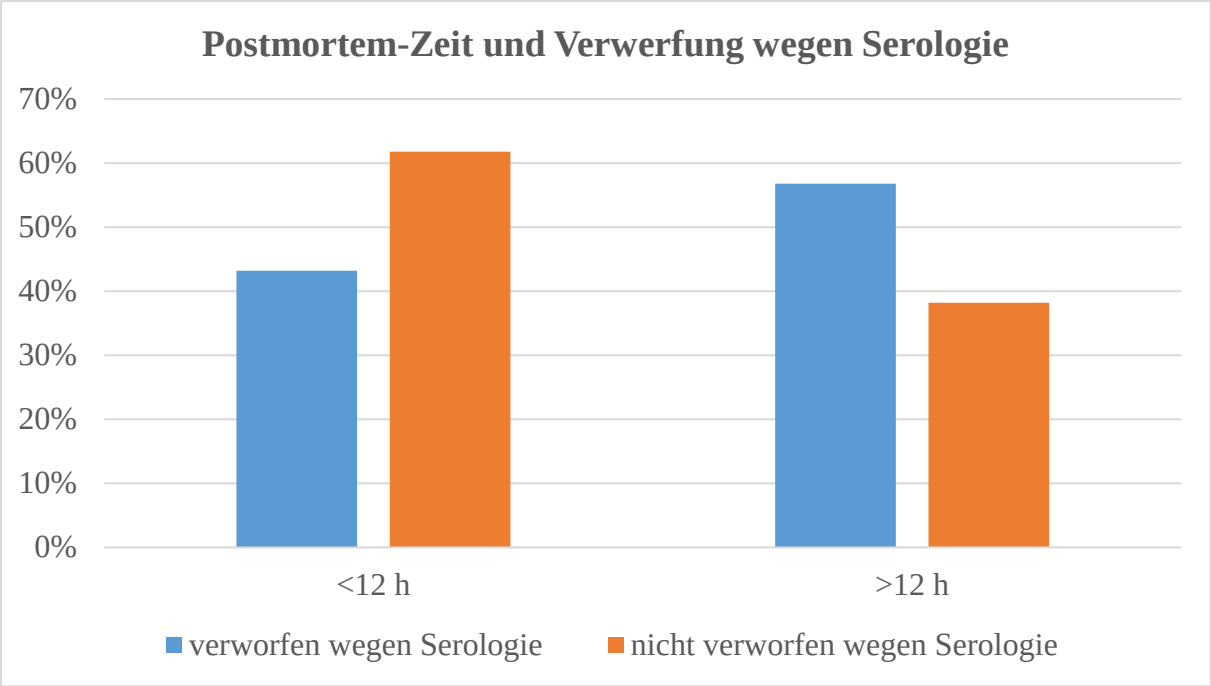

Abbildung 42: *Verwerfung des Spendergewebes wegen positiver Serologie in Abhängigkeit von der Postmortem-Zeit in Stunden (h = Stunden, % = Prozent)*

4.4 Multivariate Analyse von Einflussfaktoren auf die Eignung des Spendergewebes

Werden Faktoren einzeln auf ihren Einfluss geprüft, so riskiert man, dass eine gegenseitige Beeinflussung der Faktoren außer Acht gelassen wird. In der folgenden Analyse wurden daher die Einflussfaktoren unter Einschluss von Interaktionseffekten in einer multiplen logistischen Regressionsanalyse auf ihre Unabhängigkeit gegenüber anderen Variablen untersucht.

Es wurden folgende Einflussfaktoren im Mehrfaktorenmodell auf die Eignung des Spendergewebes geprüft: das Spenderalter (in Gruppen), Spender-Vorerkrankungen wie ein Diabetes mellitus und eine arterielle Hypertonie, die Vorgeschichte einer Chemotherapie, eine vorangegangene Katarakt-Operation und das Spendergeschlecht.

Unterteilt wurde die Eignung der Hornhäute hierzu in zwei Gruppen (siehe Kapitel 3.5 Eignung des kornealen Spendergewebes, Seite 44). HH der Gruppe 1 waren für eine reguläre Keratoplastik, also für eine perforierende oder lamelläre Keratoplastik, geeignet. HH der Gruppe 2 kamen lediglich für eine Notfallkeratoplastik à chaud in Frage oder waren wegen anderer Gründe ungeeignet. Eingeschlossen in die multiple logistische Regressionsanalyse wurden 1538 HH. HH mit fehlenden Angaben wurden aus der Analyse ausgeschlossen. Im Likelihood-Quotienten ergaben sich Folgende in der Tabelle dargestellten p-Werte.

Tabelle 5: *Multiple logistische Regressionsanalyse verschiedener Einflussfaktoren auf die Eignung des kornealen Spendergewebes (Art. = Arterielle, Z.n. = Zustand nach, OP = Operation)*

Einflussfaktoren	**Eignung**
Spenderalter	**p-Wert**
<40 Jahre	-
40 - 59 Jahre	0,037
60 - 79 Jahre	0,015
>80 Jahre	0,001
Diabetes mellitus	0,321
Art. Hypertonie	0,621
Z.n. Chemotherapie	0,745
Z.n. Katarakt-OP	<0,001
Geschlecht männlich	0,028

Lediglich bei 3 der insgesamt 6 untersuchten Einflussfaktoren zeigte die multiple Regressionsanalyse einen statistisch signifikanten Zusammenhang mit der Eignung des Spendergewebes. Unter Einschluss von Interaktionseffekten hatten sowohl das Spenderalter mit $p<0,001$, der Linsenstatus mit $p<0,001$ und das Spendergeschlecht mit $p=0,028$ einen negativen Einfluss auf die Eignung (siehe **Tabelle 5**).

So minderte eine vorangegangene Katarakt-Operation ($p<0,001$) signifikant die Eignung. Spenderhornhäute von Männern waren signifikant weniger geeignet als Spenderhornhäute von Frauen ($p=0,028$). Eine arterielle Hypertonie ($p=0,612$) oder eine stattgehabte Chemotherapie ($p=0,745$) in der medizinischen Vorgeschichte der Spender hingegen erbrachten kein statistisch signifikantes Ergebnis. Auch ein Diabetes mellitus ($p=0,321$) schränkte die Eignung nicht signifikant ein.

5 Diskussion

In der hiesigen Studie wurden retrospektiv die Daten von 4140 Hornhäuten und 2083 Spendern über einen Zeitraum von 11 Jahren (Januar 2006 bis Dezember 2016) analysiert. Im Folgenden sollen die Daten wichtiger Vergleichsstudien aufgeführt und mit unseren Ergebnissen diskutiert werden.

Die Anzahl der untersuchten Spenderhornhäute lag in wichtigen Vergleichsstudien zwischen 1340 HH und 34.234 HH [74–77]. Die Untersuchungszeiträume schwankten zwischen 3 und 8 Jahren [74–77]. In der größten Vergleichsstudie von Kwon et al. aus dem Jahr 2016 wurden in dem Zeitraum zwischen 2007 und 2015 34.234 Hornhäute von 18.665 Spendern analysiert [76]. Eine Vergleichsstudie von Armitage et al. aus dem Jahr 1997 inkludierte 9250 Hornhäute aus einem Untersuchungszeitraum von 1992 bis 1994 [77]. Gavrilov et al. untersuchten 2596 Spenderhornhäute in dem Zeitraum zwischen 2000 und 2003 [75]. Eine bedeutende deutsche Vergleichsstudie aus Tübingen von Röck et al. untersuchte 1340 Spenderhäute von insgesamt 670 Spendern in einem Zeitraum zwischen 2009 und 2015 [74].

5.1 Eignung

In der vorliegenden Studie wurden Einflussfaktoren auf die Zielgröße der Eignung des kornealen Spendergewebes untersucht. 49,6% aller entnommenen HH waren für eine reguläre Keratoplastik (perforierend oder lamellär) geeignet, wovon 46,3% aller HH ohne Einschränkungen geeignet waren und 3,3% der HH für lamelläre Verfahren zur Verfügung standen. 34,0% aller HH kamen für eine Notfallkeratoplastik à chaud in Frage. Lediglich 16,4% der HH waren gänzlich ungeeignet.

Die Einflussfaktoren wurden als unabhängige Variablen auf die binäre abhängige Variable der Eignung geprüft. Unterteilt wurde in 2 Gruppen: „geeignet für eine reguläre KPL“ und „nicht geeignet für eine reguläre KPL“. Eine EZD >2000 Zelle/mm², kein übermäßiger Zellverlust, nur wenige beeinträchtigende Nekrosen und ein unauffälliges Zellbild waren ausschlaggebend für die ärztliche Eignungsbeurteilung. Der overall EZD cut-off in unserer Studie lag bei 2000 Zellen/mm² und stellte eine gute Basis zum Vergleich mit anderen Studien dar, bei welchen die Eignung ebenfalls auf ähnlichen Kriterien basierte [74,76]. Dennoch variierte der Anteil geeigneter und ungeeigneter HH im Rahmen unterschiedlicher Studienmethoden.

Röck et al. legten ähnlich zu Kwon et al. eine EZD-Grenze von >2000 Zellen/mm² als Voraussetzungen für die Eignung des Spendergewebes fest. Jegliche HH mit einer geringeren EZD als 2000 Zellen/mm² galten als ungeeignet. Bei Röck et al. lag der Anteil ungeeigneter HH bei 41,3% [74].

Gavrilov et al. konstatierten eine HH als ungeeignet, sofern mindestens 1 der folgenden Kriterien zutraf: eine EZD <2000 Zellen/mm², eine Endothelzell-Mortalität (Nekrosen) von >2%, ein unregelmäßiges Zellmosaik und ein Endothelzellverlust von >20% während der Lagerung. Hieraus resultierte eine Verwerfungsrate von 43,1% [75].

Bei Armitage et al. lag die Rate ungeeigneter HH bei 38% [77]. HH wurden als „geeignet" eingestuft, sofern die EZD >2200 Zellen/mm² betrug und sie für eine perforierende Keratoplastik in Frage kamen. HH, die durch Einschränkungen des Endothels nur für lamelläre Verfahren geeignet waren, galten im Gegensatz zur hiesigen Arbeit als ungeeignet. Ausgeschlossen aus Armitage et al.´s Untersuchungen wurden außerdem jegliche HH, welche wegen medizinischer Kontraindikationen oder wegen Kontamination ungeeignet waren. Hierzu konträr wurden in unserer Studie die HH, welche wegen Serologie, Kontamination und Kontraindikationen verworfen wurden, zum Anteil der ungeeigneten HH hinzugezählt.

Die allgemeine Studienlage zeigt, dass des Öfteren weitere Kriterien, wie z.B. Endothelzellnekrosen und die Zellmorphologie für die Beurteilung der Endothelqualität und der Eignung berücksichtigt werden. Ein exakter Vergleich mit anderen Studien ist erschwert, da Morphologie-Kriterien unterschiedlich definiert werden.

Im Allgemeinen muss kritisch hinterfragt werden, ob die EZD als alleiniges Eignungskriterium aussagekräftig ist. Weitere fest definierte Endothelqualitätskriterien sollten einbezogen werden. Gerade bei der Untersuchung des Einflusses von Vorerkrankungen könnten Auswirkungen auf das Endothel ganzheitlicher analysiert werden, indem man zusätzliche Qualitätskriterien konsequent erhebt. Hierzu könnten neben der EZD, d.h. der Anzahl an kornealen Endothelzellen pro Quadratmillimeter, ebenso der Variationskoeffizient, d.h. die mittlere Zellfläche geteilt durch die SD der Zellfläche, und der Prozentsatz der hexagonalen Zellen beurteilt werden [13]. Eine Zunahme des Variationskoeffizienten wird als Polymegalismus bezeichnet. Eine Abnahme der hexagonalen Zellen und eine entsprechende Zunahme von Zellen mit mehr oder weniger als 6 Seiten wird als Pleomorphismus bezeichnet [13].

Des Weiteren bergen verschiedenste Verfahren der EZD-Zählung die Gefahr, dass es von Studie zu Studie zu unterschiedlichen EZD-Ergebnissen kommt. Campolmi et al. vermuten,

dass es sowohl durch unterschiedliche Zählprinzipien als auch durch eine Reduktion der EZD bei zunehmender Schwellung des Hornhautendothels in Organkultur zu unterschiedlichen EZD kommen kann [78]. Ein Erklärungsansatz von Röck et al. interpretiert eine niedrige EZD ihrer Studie im Vergleich zu anderen Studien mit ihrem Zählprinzip der manuellen Zählung im Gegensatz zur Zählung via Bildanalyse [74].

5.2 Verwerfungsgründe

Neben der Eignungseinschränkung wurde weiterhin untersucht, ob ein potenzieller Einflussfaktor in Zusammenhang mit den Hauptverwerfungsgründen steht. Hierzu wurden Chi-Quadrat-Tests und univariate Regressionsanalysen durchgeführt.

Die 3 Hauptverwerfungsgründe waren in der vorliegenden Studie die verminderte Endothelqualität (26,5%, 1097 HH), die Kontamination des Kulturmediums (7,2%, 297 HH) und die positive Serologie des Spenders (5,7%, 241 HH).

Auch bei Armitage et al. waren die dominierenden Gründe, weswegen das Spendergewebe nicht für eine perforierende KPL in Frage kam, die mangelnde Endothelqualität und die Kontamination des Kulturmediums. Zweithäufigster Verwerfungsgrund waren medizinische Kontraindikationen [77]. Dies steht konträr zu unseren Erhebungen, da in der hiesigen Studie nur nachträgliche Kontraindikationen erfasst wurden, die demnach vernachlässigbar klein blieben.

Die deutsche Vergleichsstudie von Röck et al. aus dem Jahr 2016 erhob ähnlich zu Armitage et al. eine hohe Anzahl von HH, welche wegen medizinischer Kontraindikationen verworfen wurden. Mit 20,2% waren medizinische Kontraindikationen der Hauptgrund für die ungenügende Eignung des Spendergewebes. An zweiter Stelle folgte eine schlechte Endothelqualität mit 19,3% und weitere 1,8% der HH mussten wegen einer Kontamination des Kulturmediums verworfen werden [74]. Während in der vorliegenden Studie solche Spender, welche vor Entnahme durch medizinische Kontraindikationen auffielen, ausgeschlossen wurden, erfasst die Tübinger Studie von Röck et al. diese Spender in ihrer Statistik. Lediglich medizinische Kontraindikationen, welche nach der Hornhautentnahme entdeckt wurden und somit nachträglich zur Verwerfung führten, werden in unseren Verwerfungsgründen aufgeführt. Die Anzahl der Fälle ist mit 54 HH (1,3%) verhältnismäßig klein.

In Einklang mit unserer Studie war bei Gavrilov et al. die inadäquate Endothelqualität mit 21,5% der Hauptverwerfungsgrund. Weitere 13,0% der ungeeigneten HH ließen sich auf den

Verwerfungsgrund einer positiven Spenderserologie zurückführen. An dritter Stelle (6,0%) lag die Kontamination des Kulturmediums als Verwerfungsgrund [75].

In dem 2018 erstellten Bericht der „Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft“ wurden die Verwerfungsraten von 25 Hornhautbänken für das Jahr 2016 mit durchschnittlich 37 ± 12% beschrieben. Deutschlandweit galt einheitlich eine mangelhafte Transplantatqualität (vor allem eine niedrige EZD) als wichtigster Verwerfungsgrund. Außerdem relevant für die Verwerfungsrate waren invalide bzw. positive Serologiebefunde und eine bakterielle Kontaminationen der Organkultur [30]. Die Zahlen der „Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft“ aus dem Leistungsbericht des Jahres 2013 zeigten im Verlauf zunehmende Verwerfungsraten wegen Kontamination, während der Anteil der Verwerfungen aufgrund mangelhafter Endothelqualität rückläufig war [44].

Die „European Eye Bank Association“ (EEBA) veröffentlichte in ihrem Bericht 2018 Verwerfungsraten von 17,7% wegen Endothelmorphologie, 5,4% wegen positiver Spenderserologie und 2,6% wegen Kontaminationen im Kulturmedium [29].

Der Vergleich mit einer Studie aus Brasilien von Freitas et al. zeigte, dass länderspezifisch unterschiedliche Verwerfungsgründe eine Rolle spielen. So war in der genannten Studie die positive Spenderserologie der Hauptverwerfungsgrund. Eine regional erhöhte Rate an sexuell übertragbaren Infektionskrankheiten wurde hiermit in Zusammenhang gebracht [31].

In Zusammenschau mehrerer Vergleichsstudien kommt einer mangelnden Endothelqualität, einer positiven Spenderserologie und der Kontamination des Kulturmediums weltweit eine große Bedeutung unter den Verwerfungsgründen zu.

5.3 Einflussfaktoren

5.3.1 Spenderalter

Laut dem Bevölkerungsinstitut für Bevölkerungsforschung steigt die „Lebenserwartung bei Geburt“ in Deutschland nahezu kontinuierlich an [79]. Während die geschätzte Lebenserwartung der Geburtenjahrgänge 2006/2007 für Männer 77,17 Jahre und für Frauen 82,40 Jahre betrug, lag für die Jahrgänge 2015/ 2017 die Lebenserwartung für Männer bei 78,36 Jahren und für Frauen bei 83,18 Jahren [80]. Das statistische Bundesamt schätzt die künftige Bevölkerungsentwicklung von Menschen über 67 Jahren auf die Anzahl von 16,2 Millionen im

Jahr 2020 und auf 21,4 Millionen im Jahr 2040 [81]. Auch das durchschnittliche Spenderalter von Hornhautspendern wird demnach stetig steigen.

Das durchschnittliche Spenderalter der 2083 Spender unserer Studie lag bei 70,3 ± 15,0 Jahren (SD). Die Mehrheit der Spender war mit 78,2% älter als 60 Jahre. 30,8% aller Spender waren sogar älter als 80 Jahre und lediglich 21,8% der Spender vertraten die Gruppe der unter 60-Jährigen. Die größte Gruppe war mit 57,7% die Spendergruppe zwischen dem 60. und 79. Lebensjahr.

Vergleichsstudien wiesen ein Spenderkollektiv mit einem mittleren Alter zwischen 57 ± 21 Jahren [77] und 71 ±14 Jahren [74] auf. Hofman et al. beschrieben ein Durchschnittsalter von 72,8 Jahren bei Eingang der Spenderhornhäute in die Gewebebanken der Deutschen Gesellschaft für Gewebetransplantation (DGFG). In der Zeitspanne zwischen 2008 und 2016 habe sich das durchschnittliche Spenderalter von 60 auf 73 Jahre erhöht [11].

In unserer Studie fand sich das Spenderalter sowohl univariat im Likelihood-Quotienten-Test als auch im multiplen Regressionsmodell als hoch signifikant negativer Einflussfaktor auf die Eignung von kornealem Spendergewebe. Sowohl HH von Spendern im Alter zwischen 40-59 Jahren ($p=0,037$), als auch HH von Spendern im Alter zwischen 60-79 Jahren ($p=0,015$) und vor allem HH von Spendern >80 Jahren ($p<0,001$) waren signifikant weniger geeignet als HH von Spendern <40 Jahren. HH von Spendern unter 40 Jahren waren in 77,2% der Fälle geeignet, während HH von Spendern >80 Jahren in lediglich 40,5% geeignet waren. Demnach kamen mehr als die Hälfte aller HH von über 80-jährigen Spendern nicht für eine reguläre Keratoplastik in Frage. Im Vergleich zu den unter 40-jährigen Spendern war das Risiko für eine ungeeignete HH um das 4,9fache erhöht.

Die EZD wurde ebenfalls innerhalb der verschiedenen Altersgruppen untersucht. Spender-HH von über 80-Jährigen hatten zur Endbefundung eine mittlere EZD von 2054,2 Zellen/mm² und damit im Mittel 477,8 Zellen/mm² weniger als HH aus der Gruppe der unter 40-Jährigen.

Der Einfluss des Spenderalters auf die Eignung von kornealem Spendergewebe und auf die EZD wurde bereits in vielen Studien untersucht. Unsere Ergebnisse bestätigen die mehrheitlichen Resultate, dass ein hohes Spenderalter zu einer signifikant geminderten Eignung führt [75–77]. Kwon et al. fanden in einer multiplen Regressionsanalyse das Spenderalter zwischen 75-99 Jahren ($p<0,001$) als auch das Spenderalter zwischen 65-74 Jahren ($p<0,001$) als signifikante Einflussfaktoren auf die Eignung im Vergleich zur Referenzgruppe der Spender im Alter von 20-34 Jahren. Ausschlaggebend für die Eignung war eine EZD >2000 Zellen/mm²

[76]. Auch bei Armitage et al. stellte sich das Spenderalter als stärkster Einflussfaktor auf die Eignung von Spenderhornhäuten für eine perforierende KPL (pKPL) heraus. Bei Ihnen galten HH mit einer EZD >2200 Zellen/mm² als geeignet für eine pKPL. Mehr als 80% aller HH von unter 40-Jährigen waren geeignet, während bei den über 80-Jährigen lediglich 45% der HH geeignet waren. In einer multiplen Regressionsanalyse wurde der Einfluss des Spenderalters im Vergleich zur Referenzgruppe der <20-Jährigen geprüft und das Spenderalter ergab sich auch hier als signifikanter Einflussfaktor auf die Eignung. Außerdem zeigte sich für ältere Spender eine wesentlich niedrigere Rate an sehr guten (>2500 Zellen/mm²) und exzellenten Hornhäuten (>3000 Zellen/mm²). Lediglich 11% der HH von über 80-Jährigen schafften es in die Kategorie der sehr guten und exzellenten HH [77].

In einer immer älter werdenden Bevölkerung [80,81] ist der Einfluss des Spenderalters sowohl auf die Eignungs- und Verwerfungsraten als auch auf das spätere Transplantatüberleben von großer Bedeutung. Der Ausschluss älterer Menschen zur Hornhautspende wird aufgrund des allgemeinen Spendermaterialmangels jedoch üblicherweise als keine sinnvolle Option erachtet.

5.3.2 Spendergeschlecht

In der vorliegenden Studie waren 56,8% der 2083 Spender männlichen Geschlechts und 43,2% weiblichen Geschlechts. In einer Mehrfaktorenanalyse wurde der Einfluss des Spendergeschlechts auf die Eignung des Spendergewebes geprüft. Es ergab sich unter Ausschluss von Interaktionseffekten (Spenderalter, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Chemotherapie und Linsenstatus) ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen einer geminderten Eignung und dem männlichen Geschlecht (p=0,028). Demnach sind laut unserer Datenanalyse interessanterweise die Spenderhornhäute von Männern weniger geeignet als Spenderhornhäute von Frauen. Vergleichsstudien erhielten mehrheitlich kein solches Ergebnis [74,82,83]. Wir interpretieren unser Resultat in Zusammenschau mit anderen Studien als zufällig. Der statistischen Signifikanz des von uns gefundenen Zusammenhangs schreiben wir keine klinische Relevanz zu.

Das Verhältnis von männlichen zu weiblichen Spendern verhielt sich in Vergleichsstudien typischerweise ähnlich mit einer Mehrheit an männlichen Spendern. Die Geschlechterverteilung (männlich : weiblich) lag in der hiesigen Studie bei 56,8 : 43,2%, bei Kwon et al. bei 64,6% : 35,4% [76], bei Röck et al. bei 61% : 39%, bei McGlumphy et al. bei 59% : 41% [82] und bei Cunningham et al. bei 64% : 36% [83].

Untersucht wurde der Einfluss des Spendergeschlechts auf die Eignung des Spendergewebes sowie auf die EZD. Kwon et al. konnten in ihrem Mehrfaktorenmodell keinen Zusammenhang zwischen Spendergeschlecht und EZD (p=0,367) aufweisen. Im Vergleich der EZD von weiblichen und männlichen Spenderhornhäuten lag die Differenz im Mittel bei lediglich 4 Zellen/mm². Univariat ließ sich ein statistisch signifikanter Einfluss des Spendergeschlechts auf die Eignung zeigen (p=0,012), während sich das Spendergeschlecht in der Mehrfaktorenanalyse nicht als signifikanter Beeinflusser herausstellte [76].

Sowohl bei McGlumphy et al. (p=0,07) als auch bei Kwon et al. (p=0,012) lag der Einfluss des Geschlechtes in der Mehrfaktorenanalyse außerhalb des Signifikanzniveaus (p≥0,05) [76,82].

Röck et al. wiesen keine positive oder negative Assoziation zwischen dem Spendergeschlecht und der Eignung nach [74]. Auch Cunningham et al. fanden keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Spendergeschlecht und der Eignung des Spendergewebes (p=0,54). Sie stellten jedoch einen Korrelation zwischen dem männlichen Geschlecht und einer niedrigeren EZD fest (p=0,03) [83]. Nach unserem Kenntnisstand sind somit Cunningham et al. und Snellingen et al. die Einzigen, welche wie wir einen Zusammenhang zwischen dem Spendergeschlecht und der EZD herausfanden [84].

5.3.3 Todesursache

Die 2 häufigsten Todesursachen der Hornhautspender unserer Studie waren kardiovaskulärer (25,4%) oder zerebrovaskulärer Art (19,8%). An dritter Stelle war in 19,1% eine Krebserkrankung ursächlich. Der übrige Anteil verteilte sich auf folgende Ursachen: „Andere“ (9,1%), Sepsis (8,3%), MOV (6,4%), respiratorische Ursachen (5,1%), Trauma (2,5%), Infektionen (4,1%) und Intoxikationen (0,2%).

Die Todesursache des Spenders spielte in unserer Studie eine statistisch signifikante Rolle hinsichtlich der Verwerfung. „Andere“ Todesursachen (z.B. Suizid) (p=0,027), Sepsis (p=0,026) oder ein Multiorganversagen (MOV) (p<0,001) erhöhten signifikant die Kontaminationsrate des Mediums. Als Referenzgruppe dienten die Spender mit zerebro- und kardiovaskulären Todesursachen. Hornhäute von Spendern, welche aufgrund respiratorischer Ursachen verstarben, waren nur in 2,4% der Fälle im Kulturmedium kontaminiert, während die Kontaminationsrate bei Spendern mit Infektion (7,2%), Sepsis (9,4%) und MOV (12,1%) um ein Vielfaches höher lag.

Die Verteilung der häufigsten Todesursachen zeigte sich in einer Studie von Armitage et al. aus dem Jahr 1997 sehr ähnlich zu unserer Studie: kardiovaskulärer Art (28%), zerebrovaskulärer Art (22%) und Krebserkrankungen (21%). Armitage et al. publizierten, dass die Todesursachen Infektion, respiratorischer Art und Krebs das Kontaminationsrisiko im Kulturmedium signifikant erhöhten ($p<0,001$) [77]. Hornhäute von Spendern, welche an kardiovaskulären ($p=0,001$) oder zerebrovaskulären Ursachen ($p=0,003$) starben, waren im Vergleich zu den anderen Todesursachen deutlich seltener im Kulturmedium kontaminiert. Die Kontaminationsrate für kardiovaskuläre und zerebrovaskuläre Todesursachen lag bei 0,5%, während sie bei der Todesursache Infektion bei 1,9% lag. Außerdem waren HH von Spendern mit kardiovaskulärer und zerebrovaskulärer Todesursache deutlich häufiger für eine perforierende KPL geeignet. Referenzgruppe der Analyse waren jeweils alle übrigen Verwerfungsgründe. Voraussetzungen für die Eignung für eine pKPL war eine EZD >2200 Zellen/mm². Außerdem wurde das Endothel je nach EZD in sehr gute Qualität (>2500 Zellen/mm²) und exzellente Qualität (>3000 Zellen/mm²) klassifiziert. HH von Spendern mit „anderen“ Todesursachen oder „Krebs“ als Todesursache waren statistisch signifikant seltener von sehr guter oder exzellenter Qualität ($p=0,001$, $p=0,037$). Die Verwerfungsrate wegen Kontamination lag in der Studie bei 5%. Das Verhältnis bakterielle vs. Pilz-Kontamination lag bei 2:1 [77].

Singh et al. untersuchten in ihrer Studie aus dem Jahr 2019 die Kontaminationsrate von HH, welche von Spendern mit Sepsis stammten. 46 HH von 23 Hornhautspendern mit Sepsis wurden analysiert. Das Kulturmedium war bei 36 HH bzw. bei 18 von 23 Spendern kontaminiert, was einer Kontaminationsrate von 78,2% entsprach. Sie empfehlen daher Vorsicht bei der Verwendung von Hornhäuten, die von den Spendern mit Sepsis entnommen wurden [85]. Diese Empfehlung wird von unseren Ergebnissen unterstützt. Laut Singh et al. sei das Ziel, die Anzahl potenzieller Spender zu erhöhen und medizinische Kontraindikationen zu überdenken, jedoch dürfte die Verwendung von HH, wessen Spender an Sepsis starben, nicht die Empfänger gefährden. Singh et al. geben zudem zu bedenken, dass eine sichere Infektion des Auges mit erhöhter Sicherheit durch eine PCR (Polymerase-Chain-Reaction) der Intraokularflüssigkeit zu belegen wäre und der isolierte Erreger mit dem in der Blutkultur des Spenders übereinstimmen müsste. Prospektive Studien, welche die tatsächliche Ausbreitung der Infektion untersuchen, wären von wissenschaftlichem Wert [85].

Li et al. fanden darüber hinaus eine Assoziation zwischen positiven Bindehautabstrichen und einer späteren mikrobiellen Kontamination des Kulturmediums. Ein strenges Einhalten der Desinfektionszeiten der Bindehaut sowie das Verwenden von Antibiotika und die

routinemäßige mikrobiologische Testung des Kulturmediums sind von höchster Bedeutung [86].

Gavrilov et al. untersuchten in ihrer Studie aus dem Jahr 2010 ebenfalls die Auswirkung der Todesursache auf die Eignung des Spendergewebes. Hauptursachen für das Versterben der Hornhautspender stellten sehr ähnlich zu unseren Erhebungen kardiovaskuläre (30,7%), zerebrovaskuläre (22,1%) Todesursachen und eine Krebserkrankung (17,6%) dar. Gavrilov et al. konnten keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Todesursache und der Eignung des Spendergewebes feststellen [75].

In einer Studie von Patel et al. verteilten sich die Todesursachen auf kardiovaskuläre Todesursachen (50,5%), Traumata (12,5%), zerebrovaskuläre Todesursachen (11,8%), respiratorische Erkrankungen (7%) und Krebs (6,1%). Sie fanden heraus, dass HH von Spendern, welche an kardiovaskulären oder zerebrovaskulären Ursachen verstarben, signifikant häufiger geeignet waren (p=0,05) als HH von Spendern mit anderen Todesursachen. Kardiovaskuläre Todesursachen resultierten in einer 82,1%igen Transplantationsrate und zerebrovaskuläre Todesursachen in einer 83,4%igen Transplantationsrate. Alle anderen Todesursachen wiesen Transplantationsraten zwischen 71,0% und 74,6% auf. Als mögliche Erklärung wird vermutet, dass Hornhautspender, welche aus kardiovaskulären und zerebrovaskuläre Ursachen starben, weniger Komorbiditäten haben und somit die Qualität des Spendergewebes besser sei [87].

Redbrake et al. stellten fest, dass HH von Spendern, welche plötzlich beispielsweise an einem Herzinfarkt oder einem Schlaganfall starben, über einen wesentlich besseren Stoffwechselzustand verfügen als Hornhäute von Spendern mit Sepsis. Statistische Auswertungen ergaben signifikant unterschiedliche ATP-Konzentrationen. HH von plötzlich verstorbenen Spendern wiesen wesentlich höhere Glukosekonzentrationen auf und verfügten demnach über bessere Stoffwechselressourcen [88].

Spender der Studie von Cunningham et al. verstarben hauptsächlich an kardiovaskulären (37%), zerebrovaskulären (18%) und traumatischen Ursachen (12%). In ihren Untersuchungen ergab sich kein Zusammenhang zwischen der Eignung der Spenderhornhäute und den verschiedenen Todesursachen (p=0,84). Es ergab sich ebenso kein Zusammenhang zwischen der Todesursache und der EZD der HH (p=0,43).

5.3.4 Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus ist in der heutigen Zeit ein großes Anliegen der öffentlichen Gesundheit. Die „International Diabetes Federation“ (IDF) schätzte die globale Prävalenz von Diabetes mellitus im Jahr 2019 auf 463 Millionen, bis 2030 auf 578 Millionen und bis 2045 auf bis zu 700 Millionen. Deutschlandweit waren im Jahr 2019 9,5 Millionen Menschen zwischen 20 und 79 Jahren von einer Diabetes mellitus-Erkrankung betroffen [89,90]. Entsprechend der Gesamtpopulation wird auch die Population der Hornhautspender mit einer Diabetes mellitus - Erkrankung wachsen und demnach ein höherer Prozentsatz der zukünftigen Spenderhornhäute von Diabetikern stammen. Ein Diabetes mellitus wirkt sich sowohl auf morphologische, metabolische, physiologische und klinische Aspekte der HH aus. Alle Strukturen der HH können betroffen sein [91,92]. Die Auswirkungen des Diabetes mellitus sind sehr komplex und werden seit langer Zeit untersucht. Ziel unserer Arbeit war es, den Einfluss des Diabetes mellitus auf die Eignung und die Verwerfungsgründe von Spenderhornhäuten zu analysieren.

Im Mehrfaktorenmodell unserer Studie ergab sich für den Diabetesstatus (ja/nein) kein signifikanter Zusammenhang mit einer eingeschränkten Eignung (p=0,321). In der Analyse zur Eignung wurden Interaktionseffekte des Spenderalters, des Spendergeschlechts, der arteriellen Hypertonie, der Chemotherapie und des Linsenstatus berücksichtigt. Einen Einfluss des Diabetes mellitus auf die Verwerfung wegen Kontamination des Spendergewebes ergab sich ebenfalls nicht.

Eine große Vergleichsstudie von Margo et al. im Jahr 2017 untersuchte 14.532 Spender und deren HH auf den Zusammenhang zwischen einem Diabetes mellitus und der Eignung des Spendergewebes. Analysiert wurde der Einfluss des Diabetesstatus (ja/nein) und das Vorliegen einer schweren Diabetes mellitus-Erkrankung (mit Komplikationen). Nach Anpassung von Interaktionseffekten durch das Spenderalter, das Spendergeschlecht, die Ethnizität, den Linsenstatus und die Postmortem-Zeit, erwies sich der Diabetes mellitus als nicht die Eignung einschränkend (Diabetesstatus p=0,28, schwerer Diabetes mellitus p=0,54). Die Eignung wurde an der Untersuchung des Gewebes festgemacht und unterschied epitheliale, stromale und endotheliale Eignungseinschränkungen. Ursachen für die Nicht-Eignung wegen Endothel waren eine EZD <2000 Zellen/mm², ein übermäßiger Zellverlust, ein auffallender Pleomorphismus und Polymegalismus unter dem Spiegelmikroskop sowie andere unspezifische Endothelprobleme. Gründe für die Nicht-Eignung des Gewebes wie Kontamination, Serologie etc. wurden nicht erfasst [93].

Eine weitere Arbeit aus dem Jahr 2017 von Liaboe et al. untersuchte ebenfalls den Einfluss des Diabetes mellitus auf die Eignung des Spendergewebes. Hierbei wurde zwischen der An- und Abwesenheit von Diabetes mellitus (Diabetesstatus), der Therapieform (insulinabhängig/nicht insulinabhängig) sowie nach aufgetretenen Komplikationen im Rahmen der Diabeteserkrankung unterschieden. Die Studie inkludierte 4185 HH von 2112 Spendern. Einen negativen Einfluss des Diabetesstatus auf die Eignung des Spendergewebes erwies sich auch hier nicht, auch nicht für die Gruppen der Therapieformen oder Komplikationen. Die Eignung wurde definiert über ein Endothel, welches >2000 Zellen/mm² besaß und keine sonstigen Einschränkungen hatte [94].

Eine Studie von Rand et al. aus dem Jahr 2019 unterschied bei 10.454 HH von 5346 Spendern nach Diabetesstatus, Diabetesschwere (mit und ohne Komplikationen) sowie nach Insulinabhängigkeit (ja/nein). Des Weiteren wurden alle Spendergruppen zusätzlich in Phakie und Pseudophakie der Spenderhornhaut unterteilt und jeweils auf die Eignung geprüft. Bei der Nicht-Eignung wurden verschiedene Gründe berücksichtigt (epithelial/stromal, endothelial/Descemet-Membran, Prozessierung). Phake HH von nicht-insulinabhängigen Diabetikern mit Komplikationen erwiesen sich als weniger geeignet als phake HH von nicht-insulinabhängigen Diabetikern ohne Komplikationen (p=0,006). Dies ließ sich auf eine verminderte Wahrscheinlichkeit einer ausreichenden EZD (<2000 Zellen/mm²) (p=0,001) zurückführen. Phake HH aus der Gruppe der insulinabhängigen Diabetiker ohne Komplikationen hatten einen Crossover-Effekt mit einer höheren Eignung im Vergleich zu den Spendern ohne DM im jüngeren Spenderalter und einer geringeren Eignung im älteren Spenderalter. Bei pseudophaken Augen hatte die Gruppe der insulinabhängigen Diabetiker ohne Komplikationen sogar eine höhere Eignung, die mit steigendem Spenderalter jedoch nachließ [95].

Die vorliegende Arbeit, als auch Margo et al. und Liaboe et al., fanden keine statistisch signifikanten Trends zu einer geringeren Transplantationseignung bei Spendern mit DM [93,94].

Die inhaltliche Vergleichbarkeit der Studien ist durch die unterschiedlichen Studiendesigns erschwert. So unterschieden sich unsere Analysen von denen von Rand et al. dadurch, dass nicht zwischen phaken und pseudophaken HH unterschieden wurde. Außerdem wurde die Diabetes mellitus-Erkrankung nicht nach Therapieform und Schwere untergliedert. In den Vergleichsstudien lag das Hauptaugenmerk für die Eignungsbeurteilung auf der Endothelqualität, während in unserer Studie deutlich mehr Faktoren die Eignung bestimmten.

So spielten z.B. eine positive Spenderserologie und eine Kontamination des Kulturmediums eine Rolle. Darüber hinaus wurden nicht einheitlich dieselben Interaktionseffekte betrachtet. In der Studie von Kwon et al. wurde im Mehrfaktorenmodell der Linsenstatus nicht berücksichtigt, während dafür die arterielle Hypertonie Beachtung fand [76]. Die arterielle Hypertonie wurde nach unserem Kenntnisstand bisher nur in unserer sowie der Studie von Kwon et al. in die Mehrfaktorenanalyse eingeschlossen.

In der vorliegenden Studie kam es durch einen Diabetes mellitus (DM) in der Spendervorgeschichte zu einer verminderten EZD. Spender-HH von Diabetikern hatten am 7. Tag der Kultur im Mittel 2249,6 ± 438,3 Zellen/mm², was im Durchschnitt 73 Zellen/mm² weniger waren als beim Gesamtkollektiv. Auch bei der Endbefundung der EZD ergab sich bei den Diabetikern mit einer EZD von im Mittel 2094,8 ± 408,0 Zellen/mm² eine Differenz von 72 Zellen/mm² zum Gesamtkollektiv. HH von Diabetikern lagen mit einem Mittel von 2094 Zellen/mm² zur Endbefundung über der Grenze von 2000 Zellen/mm². Einen fehlenden negativen Einfluss des Diabetes mellitus auf die Eignung bei signifikant geringerer EZD lässt sich durch eine dennoch ausreichende EZD von >2000 Zellen/mm².

Ähnliche Schlüsse ziehen Chen et al., welche bei Diabetikern eine im Durchschnitt 29 Zellen/mm² geringere EZD fanden und dem geringen Unterschied in der EZD nur eine minimale klinische Auswirkung auf die Endothelfunktion beimessen [96].

Kwon et al. untersuchten ebenfalls den Einfluss des Diabetes mellitus auf die EZD und die Eignung des kornealen Spendergewebes. HH von Diabetikern besaßen im Mittel 84 Zellen/mm² weniger als HH von Nicht-Diabetikern. Für die Eignungsanalyse definierten sie eine EZD von <2000 Zellen/mm² als nicht ausreichend für eine Transplantation. In einer binär multiplen Regressionsanalyse stellte sich der Diabetes mellitus ($p>0,01$) neben dem Spenderalter und der Vorgeschichte einer Katarakt-Operation als signifikant eignungsmindernd heraus [76].

Liaboe et al. publizierten ebenfalls, dass insulinabhängige Diabetiker mit Diabetes mellitus-induzierten Komplikationen HH mit einer signifikant niedrigeren EZD aufwiesen als Nicht-Diabetiker ($p=0,049$) und nicht-insulinabhängige Diabetiker ($p=0,031$) [94].

Konträr zu Kwon et al. [76], Liaboe et al. [94] sowie unserer Studie fanden Margo et al. [93] und Rand et al. [95] keinen signifikanten Zusammenhang zwischen EZD und Diabetes mellitus.

Eine hoch signifikante Assoziation des Diabetes mellitus mit einem Verlust an EZD *in vivo* konnte bereits in einigen Studien nachgewiesen werden. El-Agamy et al. zeigten in ihrer im

Jahr 2017 veröffentlichten Studie, dass die EZD bei Diabetikern des Typ II signifikant geringer war als die EZD in der Vergleichsgruppe von Nicht-Diabetikern (p=0,014). Ebenso zeigten Diabetiker-HH ein signifikant höheres Auftreten von Polymegalismus (p=0,008) sowie eine geringere Prozentzahl an hexagonalen Zellen als in der Kontrollgruppe [97]. Sudhir et al. konnten in einer multivariaten Regressionsanalyse nach Anpassung an das Alter eine im Mittel 66 Zellen/mm² niedrigere EZD bei Diabetikern als bei Nicht-Diabetikern feststellen [98]. Zahlreiche weitere Studien bestätigten einen Endothelzellverlust *in vivo* im Rahmen einer Diabetes mellitus-Erkrankung [91,99–102]. Roszkowska et al. unterschieden den Verlust an EZD zwischen Diabetes mellitus Typ I und Typ II. Sie fanden bei DM Typ I eine um 11% , bei DM Typ II eine um 5% reduzierte EZD im Vergleich zur altersgerechten Kontrollgruppe ohne DM [100]. Storr-Paulsen et al. fanden keinen Einfluss des DM Typ II auf die EZD, konnten aber einen hohen HbA1c-Wert (Glykohämoglobin) mit einer niedrigeren EZD in Verbindung bringen [103]. Kontroverse Ergebnisse finden sich auch zum Einfluss des Diabetes mellitus auf eine vermehrte Zellgrößen-Variation (Polymegalismus). Bestätigt wird dieser von Inoue et al., El-Agamy et al., Roszkowska et al. und Lee et al. [91,97,100–102], während bei Liaboe et al. und Sudhir et al. mit dem Diabetes mellitus kein signifikant erhöhter Polymegalismus einhergeht [94,98,103]. Mit in die Untersuchungen einbezogen wurde von Lee et al. die Dauer der Erkrankung. Die mittlere Zellgrößen-Variation war bei Diabetikern mit mehr als 10 Jahren Erkrankungsdauer signifikant höher als bei weniger als 10 Jahren Erkrankungsdauer [102].

Gleichermaßen kontrovers verhält sich die Studienlage bezüglich der Anzahl der hexagonalen Zellen. Lee et al. und Roszkowska et al. erhoben eine signifikant geringere Prozentzahl an hexagonalen Zellen bei Diabetikern [91,100,102]. Inoue et al., Liaboe et al., El-Agamy et al. konnten dies nicht bestätigen [94,97,101,103].

Empfängerstudien zeigen bisher mehrheitlich, dass der chronischen Grunderkrankung keine Bedeutung bezüglich des Transplantatüberlebens beizumessen ist [104–106]. Mindestens eine Studie konnte jedoch die Diabetes mellitus-Vorerkrankung mit einem erhöhten Risiko für ein Transplantatversagen in Verbindung bringen [107].

Der Diabetes mellitus scheint vielerlei Prozesse an der menschlichen HH zu beeinflussen. Bei der Untersuchung des Einflusses von Vorerkrankungen könnten Auswirkungen auf das Endothel ganzheitlicher analysiert werden, indem über die EZD hinaus zusätzlich der Aspekt des Polymegalismus und Polymorphismus beleuchtet wird [13].

Außerdem wäre für nachfolgende Studien eine detailliertere Diabetes-Anamnese erstrebenswert. Da es sich bei unserer Studie um eine retrospektive Studie handelt, wurden Typ

der Erkrankung (DM Typ I oder II), Therapieformen, Dauer und Schwere der Erkrankung und der HbA1c nicht näher erhoben und ausgewertet. Zusätzliche Studien zur Prüfung des Einflusses eines Diabetes mellitus auf die Eignung von kornealem Spendergewebe wären wünschenswert. Hierbei sollten Interaktionseffekte des Spenderalters, des Linsenstatus, der arteriellen Hypertonie etc. herausgerechnet werden.

5.3.5 Arterielle Hypertonie

Die arterielle Hypertonie betreffend, konnte in der vorliegenden Studie keine Eignungseinschränkung nachgewiesen werden (p=0,612). Kwon et al. stellten ähnliche Untersuchungen an und betrachteten in ihrem Mehrfaktorenmodell gleichermaßen Interaktionseffekte des Spenderalters, des Diabetes mellitus und chirurgischer Eingriffe am Auge. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen stellte sich die arterielle Hypertonie als signifikant eignungsmindernd heraus (p=0,001). Ein Korrelation zwischen der arteriellen Hypertonie und der EZD fand sich nicht (p=0,791) [76]. Eine Studie von Scherer et al. aus dem Jahr 2018 untersuchte den Einfluss kardiovaskulärer Vorerkrankungen und der arteriellen Hypertonie auf die mittlere EZD. Sowohl der Bluthochdruck (p=0,033), die Mortalität aufgrund einer koronaren Herzerkrankung (p=0,011) als auch „Herzerkrankungen jeglicher Art“ (p=0,019) standen signifikant im Zusammenhang mit einer niedrigeren EZD [108]. Um eine aussagekräftige Empfehlung aussprechen zu können, wären weitere Analysen zum Einfluss der arteriellen Hypertonie auf die Eignung notwendig.

5.3.6 Chemotherapie

Des Weiteren wurde in einer multiplen Regressionsanalyse der Zusammenhang zwischen einer stattgefundenen Chemotherapie und der HH-Eignung untersucht. Eingeschlossen wurden 192 Spender, bei denen in der Vorgeschichte eine Zytostatika-Therapie notiert war. Die Chemotherapie erwies sich als nicht eignungsmindernd (p=0,745).

Nach unserem Kenntnisstand wurde bisher in keiner weiteren Studie die Chemotherapie als Einflussfaktor auf die Eignung untersucht. Dies sehen wir im Zusammenhang mit dem erwartbar geringen direkten Einfluss von Chemotherapeutika auf das Endothel, welches sich postmitotisch in der G1-Phase befindet. Dennoch existieren zahlreiche Nebenwirkungen einer systemischen Chemotherapie am Auge, welche auch Schädigungen an der Hornhaut auslösen könnten [109]. Daher ist es generell möglich, dass durch bisher noch unbekannte Mechanismen eine Endothelschädigung und somit eine Eignungsminderung bedingt wird. So könnten sich

beispielsweise durch Chemotherapie getriggerte entzündliche Prozesse als auch ein veränderter Augendruck negativ auf die Endothelfunktion und die Eignung der Spenderhornhäute auswirken [109–111]. Außerdem beeinflussen einige Mechanismen einer Chemotherapie eine frühzeitige Alterung der Spender [112]. Dies könnte sich wiederum negativ auf die Eignung der Spenderhornhäute auswirken. Ebenso scheint es denkbar, dass durch adjuvante Medikamente im Rahmen einer Chemotherapie die Eignung einschränkt wird. Dies könnte z.B. die Begünstigung eines Kataraktes im Rahmen einer Cortisontherapie sein [112].

5.3.7 Linsenstatus

Der Befund einer Aphakie oder Pseudophakie wurde in der hiesigen Studie als Zustand nach Katarakt-Chirurgie interpretiert und ebenso als Einflussgröße auf die Eignung von kornealem Spendergewebe geprüft. Der Linsenstatus wurde in 1538 Fällen erhoben und erwies sich in 16 Fällen (1%) als aphak, in 898 Fällen (58,4%) als phak und in 624 Fällen (40,6%) als pseudophak. Die univariate Analyse in unserer Studie zeigte einen signifikant negativen Einfluss einer vorangegangenen Katarakt-Operation auf die Eignung des kornealen Spendergewebes. Spenderhornhäute mit Z.n. Katarakt-OP waren signifikant seltener geeignet als solche ohne stattgehabte Katarakt-OP ($p<0,001$). Auch in der multivariaten Analyse ergab sich für die Katarakt-Chirurgie unter Berücksichtigung von Interaktionseffekten durch Spenderalter, Spendergeschlecht, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Chemotherapie ein signifikant negativer Einfluss auf die Eignung ($p<0,001$). Unter allen 6 Faktoren war der Linsenstatus neben dem Spenderalter mit $p<0,001$ der stärkste Einflussfaktor.

Des Weiteren wurde der Zusammenhang zwischen einer vorausgegangenen Katarakt-Chirurgie und der EZD (>2000 Zellen/mm² und <2000 Zellen/mm²) untersucht. Der Chi-Quadrat-Test nach Pearson ergab einen statistisch hoch signifikanten Zusammenhang ($p<0,001$). HH, deren Spender sich zuvor einer Katarakt-OP unterzogen hatten, besaßen in 66,7% der Fälle weniger als 2000 Zellen/mm².

Der Linsenstatus wurde in vielen Studien als Einflussfaktor geprüft. Kwon et al. fanden in einer binär logistischen Regressionsanalyse den Linsenstatus mit $p=0,001$ neben dem Spenderalter und einem Diabetes mellitus ebenfalls als Haupteinflussfaktor auf die Eignung. Außerdem hatten HH mit Z.n. Katarakt-OP hoch signifikant ($p<0,001$) niedrigere EZD mit 2234 ± 508 Zellen/mm² als HH ohne Z.n. Katarakt-OP mit 2604 ± 398 Zellen/mm² [76].

Eine Studie aus dem Jahr 2018 von Lapp et al. prüfte selbigen Zusammenhang an 7626 erfassten HH, wovon 1572 Hornhäute einen Z.n. Katarakt-OP darstellten. Lediglich 36% aller

pseudophaken HH waren für eine Transplantation geeignet, während auf der Seite der phaken HH 64% geeignet waren. Von den 64% verworfenen HH aus der Gruppe der pseudophaken HH wurde als Hauptursache für die Verwerfung eine EZD <2000 Zellen/mm² angegeben [113]. Trotz der hohen Verwerfungsrate von HH mit Z.n. Katarakt-OP plädieren wir in Anbetracht des Spendermangels übereinstimmend mit Lapp et al. gegen einen generellen Ausschluss von Hornhautspendern mit stattgehabter Katarakt-Chirurgie [113].

5.3.8 Postmortem-Zeit

In der hiesigen Studie zeigten sich signifikant erhöhte Verwerfungsraten wegen positiver Spenderserologie, wenn eine postmortale Blutentnahme nach mehr als 12 Stunden stattfand. Die Postmortem-Zeit, also die Zeit zwischen Versterben des Hornhautspenders und der Entnahme der Korneoskleralscheibe, lag in der vorliegenden Studie im Mittel bei 11,99 ± 9,69 (SD) Stunden. Der Median betrug 11 Stunden. Die Blutentnahmen für die infektionsserologischen Untersuchungen fanden unmittelbar vor der Hornhautentnahme und somit im engen zeitlichen Verhältnis zur Gewebeentnahme statt.

In Vergleichsstudien lagen die Postmortem-Zeiten zwischen 8,4 ± 6,0 Stunden bei Gavrilov et al. [75], 22 Stunden ± 12 Stunden bei Challine et al. [114] und 12,4 ± 5,8 Stunden bei Röck et al. [115]. Übereinstimmend mit unseren Resultaten konnten auch Gavrilov et al. und Röck et al. einen signifikanten Einfluss einer verlängerten Postmortem-Zeit auf das Risiko einer positiven Spenderserologie nachweisen [20,33]. Die Prävalenz einer positiven Spenderserologie stieg bei Gavrilov et al. von 10,8% bei einer Postmortem-Zeit von <6 Stunden auf 18,4% für eine Postmortem-Zeit von >12 Stunden. Somit zeigte sich bei Spendergewebe mit einer Postmortem-Zeit von >12 Stunden signifikant häufiger ein positives Serologie-Ergebnis ($p<0,001$) als in der Referenzgruppe mit einer Postmortem-Zeit von <6 Stunden [75]. Gegensätzlich zu unseren Aussagen und denen von Röck et al. sowie Gavrilov et al. stehen die Ergebnisse von Raj et al. aus dem Jahr 2018 [116]. Sie stellten keinen Zusammenhang zwischen der Postmortem-Zeit und den Virologie-Ergebnissen fest. Jedoch wurde hier die maximale Zeit zwischen Ableben des Spenders und der postmortalen Blutentnahme auf 10 Stunden festgelegt. Verglichen wurde in ihren Untersuchungen eine Postmortem-Zeit von ≤6 h mit >6 h. Weder die Rate positiver serologischer Ergebnisse ($p=0,76$) noch der zusätzlich geprüfte makroskopische Aspekt der Blutproben ($p=0,13$) unterschied sich signifikant zwischen den Gruppen. Eine im Zeitfenster von 10 Stunden nach Versterben des Spenders entnommene Blutprobe hatte keinen negativen Effekt auf die Virologie-Ergebnisse [34]. Raj et al. ziehen daher den Schluss, dass das Einhalten dieser Zeitgrenze eine höhere Sicherheit zur Eignung des

kornealen Spendergewebes garantiert [116]. Für eine Postmortem-Zeit von <12 Stunden können wir diese Ergebnisse grundsätzlich bestätigen.

Studien von Heim et al., Challine et al., Röck et al. sowie Wilkemeyer et al. legen Erklärungsansätze für gehäuft positive Spenderserologien bei langer Postmortem-Zeit dar [59,114,115,117]. Wilkemeyer et al. publizierten, dass Hämolyse, Autolyse und bakterielle Kontamination signifikante Veränderungen der postmortalen Blutproben hervorrufen, welche zu falschen serologischen Testergebnissen führen können [117]. Challine et al. wiesen einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem makroskopischen Aspekt des Spenderserums und dem Ausschluss potenzieller Hornhauttransplantate nach. Der Zeitpunkt der postmortalen Blutentnahme und der makroskopische Aspekt des Serums korrelierten signifikant. Je länger die Zeit bis zur Blutentnahme nach dem Tod, umso auffälliger war der makroskopische Aspekt des Serums (trüb, ikterisch oder hämolysiert). Es zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem makroskopischen Aspekt des Serums einerseits und falsch-positiven Virologie-Ergebnissen andererseits sowie dem Erfordernis, den Test erneut durchzuführen. Man solle daher die serologischen Testergebnisse aus makroskopisch auffälligem Serum mit Bedacht interpretieren [114]. Auch Heim et al. befürchten in ihrer wissenschaftlichen Arbeit eine Wechselwirkung der Hämolyse-/Autolyseprodukte des Leichenserums mit den Testsystemen [59].

Es ist somit zu vermuten, dass das Serum durch eine verlängerte Entnahmezeit in der Beurteilbarkeit eingeschränkt ist. Weitere Analysen zur Spezifitäts-Beurteilung der durch das Paul Ehrlich Institut (PEI) für Leichenblutplasma zugelassenen Tests wären wünschenswert. Dabei sollte der Einfluss der Postmortem-Zeit beachtet werden.

Eine mögliche Verzerrung unserer Resultate könnte durch Multiorganspender und Intensivpatienten bedingt sein. Diese Gruppe von Spendern ist meist negativ serologisch vorselektioniert und verfügt über organisatorisch bedingt kürzere Zeiten bis zur postmortalen Blutentnahme. Da Multiorganspender und Spender von Intensivstationen in unseren Erhebungen nicht gesondert erfasst wurden und uns demnach statistische Auswertungen als Beweisgrundlage fehlen, stellt dieser Erklärungsansatz lediglich eine Vermutung dar.

Des Weiteren kann eine Hämodilution falsch-negative serologische Ergebnisse beeinflussen und stellt daher eine strenge Kontraindikation zur Spende dar. Klare Richtlinien und Auflagen führen weitestgehend zu deren Vermeidung.

In Anbetracht des derzeitigen Spendergewebemangels sollte das Interesse jeder Hornhautbank in der Vermeidung falsch-positiver sowie nicht eindeutiger serologischer Testergebnisse liegen, um möglichst wenige Hornhäute aus diesem Grund verwerfen zu müssen. Das Bestreben, kürzere Zeiten bis zur postmortalen Blutentnahme zu erzielen, ist somit die logische Schlussfolgerung. Es sollte jedoch sehr vorsichtig und gewissenhaft abgewogen werden, ob engere Zeitgrenzen auch gesetzlich eingeführt werden. Zeitgrenzen sollten aus logistischer Hinsicht sinnvoll einzuhalten sein, damit es nicht aufgrund von zu engen Grenzen zu einem vermehrten Ausschluss von Spendern kommt [115].

5.4 Studienaufbau und limitierende Faktoren

Als Einschränkung in unserer wissenschaftlichen Arbeit sehen wir den retrospektiven Charakter der Studie mit erschwerter Akquise aller medizinischer Daten. In nachfolgenden Studien soll durch ein Fortführen und Ausbauen der Datenbank näher auf den Einfluss des Diabetes mellitus und der arteriellen Hypertonie hinsichtlich Erkrankungsdauer etc. eingegangen werden. Ein weiterer limitierender Faktor unserer Studie besteht in der lückenhaften Erhebung von Polymegalismus und Pleomorphismus. Aufgrund fehlender Daten aus den früheren Jahren konnten diese zwei Aspekte bei der Endothelbeurteilung nicht konsequent beleuchtet und ausgewertet werden. Außerdem sollten die Endothelzelldichten vor dem Hintergrund der Variabilität der Zellzählungs-Methodik sowie der Eignungsgrenzen im Vergleich zu anderen Studien kritisch hinterfragt werden. Weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen zur Analyse des Einflussfaktors der Chemotherapie wären ebenfalls wünschenswert [1].

6 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Studie waren 49,6% aller entnommenen Hornhäute für eine reguläre Keratoplastik geeignet. Ein Drittel des entnommenen Spendergewebes war aufgrund verschiedener Einschränkungen nicht für eine reguläre Keratoplastik geeignet, stand jedoch für eine Notfallkeratoplastik à chaud zur Verfügung. Multiple Regressionsanalysen konnten erneut den negativen Einfluss einer stattgehabten Katarakt-Operation und eines hohen Spenderalters auf die Eignung des kornealen Spendergewebes nachweisen. Todesursachen des Spenders wie Sepsis und Multiorganversagen führten zu einer signifikant erhöhten Kontaminationsrate des Kulturmediums. Durch einen Diabetes mellitus, eine arterielle Hypertonie und eine Chemotherapie in der Spendervorgeschichte wurde die Eignung nicht signifikant eingeschränkt. Konträr zu den mehrheitlichen Ergebnissen der aktuellen Literatur zeigte unsere Datenanalyse, dass Spenderhornhäute von Männern signifikant weniger geeignet waren als solche von Frauen. Trotz statistischer Signifikanz des von uns gefundenen Zusammenhangs schreiben wir diesem keine Relevanz für die klinische Praxis zu. Um die Verwerfungsraten zukünftig zu reduzieren, schlagen wir möglichst das Einhalten einer maximalen Postmortem-Zeit von 12 Stunden vor, um erhöhte Verwerfungsraten wegen positiver Serologie zu verhindern. Ein Ausschluss von Spendern stellt hinsichtlich des derzeitigen Spendermangels keine sinnvolle Option dar. Stattdessen sollte die Lösung für den nicht zu deckenden Bedarf an Hornhäuten in einem größeren Spenderpool liegen. Zur Unterstützung einer vermehrten Spenderakquise könnte der Ausbau weiterer Kooperationen mit anderen Kliniken und die verbesserte Aufklärung zur Organspende dienen [118].

Das Fortführen der hiesigen Datenerhebung soll in Zukunft weitere, spezifischere Analysen von Einflussfaktoren auf die Eignung des kornealen Spendergewebes sowie auf einzelne Verwerfungsgründe ermöglichen. Für verschiedene Faktoren-Konstellationen könnte ein individuelles Risikoprofil für Spender erstellt werden. Die Entscheidung für oder gegen eine Hornhautentnahme könnte dann je nach vorhergesagter Eignung abgewogen werden.

7 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Waagerechter schematischer Schnitt durch den rechten Augapfel [2] 5
Abbildung 2: Schnittbild der Cornea [2] 6
Abbildung 3: Anzahl der durchgeführten Keratoplastiken in Homburg in den Jahren 2005-2019 10
Abbildung 4: Techniken der Keratoplastik [35] 11
Abbildung 5: Prinzip der nichtmechanischen Trepanation mittels 193-nm-Excimerlasers entlang einer Metallmaske im Sagittalschnitt. Links: Spendertrepanation. Rechts: Empfängertrepanation [41] 12
Abbildung 6: Biologische Test-Kits für die serologischen Untersuchungen 19
Abbildung 7: Trepan mit 15mm Durchmesser vor Exzision der Korneoskleralscheibe ... 21
Abbildung 8: Trepanation 21
Abbildung 9: Komplettierung der Exzision mittels Hornhautschere 22
Abbildung 10: Auflegen einer Augenkappe auf den Bulbus 22
Abbildung 11: Einbringen der Korneoskleralscheibe in das Transportmedium 23
Abbildung 12: Organkultivierte Korneoskleralscheiben im Brutschrank bei 34° Celsius .. 26
Abbildung 13: Umsetzen der Hornhaut beim Wechsel des Kulturmediums I 26
Abbildung 14: Aerobe und anaerobe Blutkulturflaschen sowie Bouillon-Röhrchen 27
Abbildung 15: Beimpfen der Blutkulturflasche mit Kulturmedium 28
Abbildung 16: Zusammensetzung der hypotonen Balanced Salt Solution (BSS) 30
Abbildung 17: HH in Balanced Salt Solution (BSS) 30
Abbildung 18: Fotodokumentation der Hornhautendothels für die EZD-Zählung 31
Abbildung 19: Auszählung der Endothelzelldichte mithilfe des Robin Endothel Analyzer 32
Abbildung 20: Normalbefund einer Hornhaut mit einer Endothelzelldichte von >2000 Zellen/mm² 33
Abbildung 21: Großflächige Endothelzellnekrosen 34
Abbildung 22: Endothelzellschicht mit deutlichem Polymegalismus und Pleomorphismus bei normaler Endothelzelldichte 34
Abbildung 23: Spaltlampenmikroskop zur Untersuchung der Hornhaut 35
Abbildung 24: Datenbank der Studie 40
Abbildung 25: Ausschnitt aus dem Cornea-Programm der LIONS-HHB Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz 43
Abbildung 26: Kreisdiagramm zur Eignung des kornealen Spendergewebes (% = Prozent) 48

Abbildung 27: Verwerfungsgründe des kornealen Spendergewebes (Med. = medizinisch, KI = Kontraindikation, BH = Bindehaut, KM = Kulturmedium, % = Prozent) 49

Abbildung 28: Prozentzahl der Verwerfungen wegen Endothel bei Hornhäuten mit Nekrosen (% = Prozent) 51

Abbildung 29: Anzahl und Prozentanteil der Hornhautspender nach Altersgruppen (%= Prozent) 53

Abbildung 30: Abhängigkeit der Eignung des Spendergewebes für die Transplantation vom Spenderalter (% = Prozent, n = Anzahl) 54

Abbildung 31: Mittlere Endothelzelldichte in Zellen/mm² nach 7 Tagen sowie nach Endbefundung je Altersgruppe der Spender (EZD = Endothelzelldichte) .. 55

Abbildung 32: Boxplot zur Endothelzelldichte in Zellen/mm² nach 7 Tagen sowie nach Endbefundung je Altersgruppe der Spender (Jahre) (EZD = Endothelzelldichte) 56

Abbildung 33: Todesursachen der Hornhautspender (% = Prozent) 57

Abbildung 34: Kontaminationsraten des Kulturmediums in Abhängigkeit von der Todesursache des Spenders (MOV = Multiorganversagen, % = Prozent) .. 58

Abbildung 35: Vergleich der mittlere Endothelzelldichten in Zellen/mm² zwischen Hornhautspendern mit Diabetes mellitus als Vorerkrankung und dem Gesamtkollektiv (EZD = Endothelzelldichte) 59

Abbildung 36: Linsenstatus der Hornhautspender unterteilt nach phak, aphak und pseudophak (% = Prozent) 60

Abbildung 37: Abhängigkeit der Eignung des Spendergewebes von einer vorangegangenen Katarakt-Operation (Z.n. = Zustand nach, OP = Operation, % = Prozent) 61

Abbildung 38: Abhängigkeit der Endothelzelldichte von einer vorangegangenen Katarakt-Operation (% = Prozent) 62

Abbildung 39: Einfluss einer stattgehabten Katarakt-Operation auf die mittlere Endothelzelldichte in Zellen/mm² nach 7 Tagen und nach Endbefundung (EZD = Endothelzelldichte) 62

Abbildung 40: Postmortem-Zeit in Stunden 63

Abbildung 41: Postmortem-Zeit in Stunden gegliedert in Zeitgruppen (h = Stunden, % = Prozent) 64

Abbildung 42: Verwerfung des Spendergewebes wegen positiver Serologie in Abhängigkeit von der Postmortem-Zeit in Stunden (h = Stunden, % = Prozent) 65

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Berechnung der Plasmaverdünnung (EK = Erythrozytenkonzentrat, TK = Thrombozytenkonzentrat, FFP = Gefrorenes Frischplasma, KG = Körpergewicht) 17

Tabelle 2: Auflistung der erfassten Daten aus der oberen Eingabemaske der Datenbank 41

Tabelle 3: Auflistung der erfassten Daten aus der unteren Eingabemaske der Datenbank (EZD = Endothelzelldichte, BH = Bindehaut, KM= Kulturmedium)..... 42

Tabelle 4: Verwerfung des Spendergewebes wegen Kontamination des Kulturmediums in Abhängigkeit von der Todesursache 58

Tabelle 5: Multiple logistische Regressionsanalyse verschiedener Einflussfaktoren auf die Eignung des kornealen Spendergewebes (Art. = Arterielle, Z.n. = Zustand nach, OP = Operation) 66

9 Literaturverzeichnis

[1] Kramp K, Suffo S, Laun D, Bischoff-Jung M, Huber M, Langenbucher A, Seitz B: Analyse von Einflussfaktoren auf die Eignung von kornealem Spendergewebe in der LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz von 2006 bis 2016. Klin Monbl Augenheilkd 2020; doi: 10.1055/a-1141-3703

[2] Grehn F: Augenheilkunde. 31. Aufl. Heidelberg: Springer Verlag; 2012

[3] Sachsenweger M: Kornea (Hornhaut). In: Sachsenweger M, Volker K, Nasemann J, Ugi I: Augenheilkunde. 2. Aufl. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2003; 100-139

[4] Edelhauser HF: The balance between corneal transparency and edema. Invest Ophthalmol 2006; 46:2650-2661

[5] Schroeter J, Rieck P: Endothelial evaluation in the cornea bank. Dev Ophthalmol 2009; 43:47-62

[6] Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF: Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. Curr Eye Res 1985; 4:671-678

[7] Laing RA, Sandstrom MM, Berrospi AR, Leibowitz HM: Changes in the corneal endothelium as a function of age. Exp Eye Res 1976; 22:587-594

[8] Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO: Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. Investig Ophthalmol Vis Sci 1997; 38:779-782

[9] Bahn CF, Glassman RM, MacCallum DK, Lillie JH, Meyer RF, Robinson BJ, Rich NM: Postnatal development of corneal endothelium. Invest Ophthalmol Vis Sci 1986; 27:44-51

[10] Nucci P, Brancato R, Mets MB, Shevell SK: Normal endothelial cell density range in childhood. Arch Ophthalmol 1990; 108:247-248

[11] Hofmann N, Derks M, Börgel M, Engelmann K: Einfluss des Donoralters auf das Transplantatüberleben. Ophthalmologe 2017; 114:440-444

[12] DelMonte DW, Kim T: Anatomy and physiology of the cornea. J Cataract Refract Surg 2011; 37:588-598

[13] Sheng H, Bullimore MA: Factors affecting corneal endothelial morphology. Cornea 2007; 26:520-525

[14] Matthaei M, Sandhaeger H, Hermel M, Adler W, Jun AS, Cursiefen C, Heindl LM: Changing indications in penetrating keratoplasty. Transplantation 2017; 101:1387-1399

[15] Maier P, Reinhard T, Cursiefen C: Descemet stripping endothelial keratoplasty - Rapid recovery of visual acuity. Dtsch Arztebl Int 2013; 110:365-371

[16] Bachmann B, Schaub F, Cursiefen C: Therapie von Hornhautendothelerkrankungen mittels DMEK und UT-DSAEK: Indikationen, Komplikationen, Ergebnisse und Nachsorge. Ophthalmologe 2016; 113:196-203

[17] World Health Organisation (WHO): Blindness and vision impairment. 2018. Im Internet: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/blindness-and-visual-impairment; Stand: 15.08.2019

[18] Bourne RRA, Flaxman SR, Braithwaite T, Cicinelli MV, Das AD, Jonas JB, Keeffe J, Kempen JH, Leasher J, Limburg H, Naidoo K, Pesudovs K, Resnikoff S, Silvester A, Stevens GA, Tahhan N, Wong TY, Taylor HR: Magnitude, temporal trends, and projections of the global prevalence of blindness and distance and near vision impairment: a systematic review and meta-analysis. Lancet Glob Health 2017; 5:e888-e897

[19] Lamm V, Hara H, Mammen A, Dhaliwal D, Cooper DKC: Corneal blindness and xenotransplantation. Xenotransplantation 2014; 21:99-114

[20] Montgomery FU, Cichutek K, Scriba PC, Reinhard T: Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank, Erste Fortschreibung. Dtsch Arztebl Online 2018; 1-18

[21] Seitz B, Blüthner K, Kruse FE, Reinhard T, Sundmacher R: Zu geringe Spendenbereitschaft. Dtsch Arztebl 2004; 101:1-3

[22] European Cornea and Cell Transplantation Registry. Im Internet: http://www.ecctr.org/. Stand: 26.09.2019

[23] Zirm E. Eine erfolgreiche totale Keratoplastik. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 1906; 64:580-593

[24] Calabrese S, Wenkel H, Rummelt C, Kruse F, Cursiefen C: Histopathology of retrocorneal membranes after keratoplasty. Klin Monbl Augenheilkd 2010; 227:815-818

[25] Cursiefen C, Seitz B, Kruse FE: Hornhauttransplantation: Glänzende Bilanz und viele Perspektiven. Dtsch Arztebl 2005; 102:A3087-A3080

[26] Fasolo A, Capuzzo C, Fornea M, Franch A, Birattari F, Carito G, Cucco F, Prosdocimo G, Sala M, Noci ND, Primavera V, Frigo AC, Grigoletto F, Ponzin D: Risk factors for graft failure after penetrating keratoplasty: 5-year follow-up from the corneal transplant epidemiological study. Cornea 2011; 30:1328-1335

[27] Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, Thuret G: Global survey of corneal transplantation and eye banking. JAMA Ophthalmol 2016; 134:167-173

[28] FAQs Eye Bank Association of America. Im Internet: https://restoresight.org/cornea-donation/faqs/; Stand: 10.09.2019

[29] EEBA. Annualy directory 26th edition. 2018

[30] Reinshagen H, Maier P, Böhringer D: Aktivitäten der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft: Leistungsbericht 2016. Klin Monbl Augenheilkd 2018; 235:1292-1295

[31] Almeida de Freitas R, Dell'Agnolo CM, Augusto de Melo W, de Andrade L, Pimentel RR, Pelloso SM, Dalva de Barros Carvalho M: Do donated corneas become transplanted corneas? The causes of discard in southern brazil. Cornea 2019; 38:419-425

[32] Roels L, Rahmel A: The european experience. Transpl Int 2011; 24:350-367

[33] Uhlig CE, Promesberger J, Hirschfeld G, Koch R, Reinhard T, Seitz B: Ergebnisse einer internetbasierten Umfrage zur Hornhautspendebereitschaft bei DOG-Mitgliedern. Ophthalmologe 2012; 109:1198-1206

[34] Seitz B: Perforierende Keratoplastik – aktuelle Indikationen und Operationstechniken. In: Scharrer A & Neuhann Th: Fortschritte der Ophthalmologie 2009. 22. Internationaler Kongress der Deutschen Ophthalmochirurgen. Aktiv Druck und Verlags GmbH, Ebelsbach, 2009; 379:112-114

[35] Tan DTH, Dart JKG, Holland EJ, Kinoshita S: Corneal transplantation. Lancet 2012; 1749-1761

[36] Ting DSJ, Sau CY, Srinivasan S, Ramaesh K, Mantry S, Roberts F: Changing trends in

keratoplasty in the west of scotland: a 10-year review. Br J Ophthalmol 2012; 96:405-408

[37] Wang J, Hasenfus A, Schirra F, Bohle RM, Seitz B, Szentmáry N: Changing indications for penetrating keratoplasty in Homburg/Saar from 2001 to 2010 - histopathology of 1,200 corneal buttons. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 2013; 251:797-802

[38] Lang GK: Augenheilkunde. 6th German ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2019

[39] Maier P, Reinhard T, Cursiefen C: Hauchdünne Hornhauttransplantate - schnelle und gute Sehschärfenerholung. Dtsch Arztebl Int 2013; 110:365-371

[40] Franceschetti A, Doret M: Kératoplastie à chaud. Ophthalmologica 1950; 120:11-15

[41] Seitz B, Langenbucher A, Naumann GOH: Die perforierende Keratoplastik. Eine 100-jährige Erfolgsgeschichte. Ophthalmologe 2005; 102:1128-1139

[42] Der Augenspiegel, Zeitschrift für Klinik und Praxis. Zum 1. Internationalen Homburger Hornhauttag (05.2010). Im Internet: http://www.augenspiegel.com/zeitschrift.php/auge/blog/wissenschaftlicher-austausch-zu-kornealen-erkrankungen/; Stand: 31.08.2019

[43] LIONS Portal - LIONS-Hornhautbanken. Hilfe gegen Erblindung in Deutschland. Im Internet: https://www.lions.de/lions-hornhautbanken; Stand: 31.08.2019

[44] Reinshagen H, Boehringer D, Seitz B, Reinhard T: Aktivitäten der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft- Leistungsbericht 2013. Ophthalmologe 2015; 112:70-72

[45] Schroeter J, Maier P, Bednarz J, Blüthner K, Quenzel M, Pruß A, Reinhard T: Arbeitsrichtlinien. Ophthalmologe 2009; 106:265-276

[46] Transplantationsgesetz (TPG)- Gesetz über die Spende, Entnahme und Übertragung von Organen und Geweben. Im Internet: https://www.gesetze-im-internet.de/tpg/BJNR263100997.html#BJNR263100997BJNG000202310; Stand: 02.09.2019

[47] Organspende- Gesetzliche Grundlagen: Entscheidungslösung. Im Internet: https://www.organspende-info.de/gesetzliche-grundlagen/entscheidungsloesung.html; Stand: 02.09.2019

[48] Bundesärztekammer: Richtlinie gemäß § 16 Abs. 1 S. 1 Nr. 1 TPG für die Regeln zur Feststellung des Todes nach § 3 Abs. 1 S. 1 Nr. 2 TPG und die Verfahrensregeln zur Feststellung des endgültigen, nicht behebbaren Ausfalls der Gesamtfunktion des Großhirns, des Kleinhirns und des Hirnstamms nach § 3 Abs. 2 Nr. 2 TPG. Dtsch Arztebl 2015; 1-31

[49] Borderie VM: Donor selection, retrieval and preparation of donor tissue: Donor selection. Dev Ophthalmol 2009; 43:22-30

[50] Javadi MA, Fayaz A, Mirdehghan SA, Ainollahi B: Transmission of rabies by corneal graft. Cornea 1996; 15:431-433

[51] Gode GRR, Bhide NKK: Two rabies deaths after corneal grafts from one donor. Lancet 1988; 332:791

[52] The European Commission: Commission Directive 2006/17/EC of 8 February 2006 implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells. Off J Eur Union 2006; L38:40-52

[53] Conrad EU, Gretch DR, Obermeyer KR, Moogk MS, Sayers M, Wilson JJ, Strong DM: Transmission of the hepatitis-C virus by tissue transplantation. J Bone Jt Surg 1995; 77:214-224

[54] Simonds RJ, Holmberg SD, Hurwitz RL, Coleman TR, Bottenfield S, Conley LJ, Kohlenberg SH, Castro KG, Dahan BA, Schable CA, Rayfield MA, Rogers MF: Transmission of human immunodeficiency virus type 1 from a seronegative organ and tissue donor. N Engl J Med 1992; 326:726-732

[55] Padley D, Ferguson M, Warwick RM, Womack C, Lucas SB, Saldanha J: Challenges in the testing of non-heart-beating cadavers for viral markers: Implications for the safety of tissue donors. Cell Tissue Bank 2005; 6:171-179

[56] Hoft RH, Pflugfelder SC, Forster RK, Ullman S, Polack FM, Schiff ER: Clinical evidence for hepatitis B transmission resulting from corneal transplantation. Cornea 1997; 16:132-137

[57] Eastlund T: Infectious disease transmission through cell, tissue, and organ transplantation: reducing the risk through donor selection. Cell Transplant 1995; 4:455-477

[58] Hoppe J-D, Sewing K-F: Richtlinien zum Führen einer Hornhautbank. Dtsch Arztebl Online 2000; 97: A2122-A2124

[59] Heim A, Wagner D, Rothämel T, Hartmann U, Flik J, Verhagen W: Evaluation of serological screening of cadaveric sera for donor selection for cornea transplantation. J Med Virol 1999; 58:291-295

[60] Eurotransplant. Cooperating saves lives. Im Internet: http://www.eurotransplant.org/cms/; Stand: 26.09.019

[61] European Association of Tissue Banks (EATB). Im Internet: https://www.eatb.org/; Stand: 26.09.2019

[62] The American Association of Tissue Banks (AATB). Im Internet: https://www.aatb.org/; Stand: 26.09.2019

[63] § 34, Gewinnung von Gewebe durch die Entnahmeeinrichtung. Im Internet: https://www.gesetze-im-internet.de/amwhv/__34.html; Stand: 02.09.2019

[64] Redbrake C, Salla S, Frantz A, Reim M: Untersuchungen zum Energiestoffwechsel der humanen Hornhaut in verschiedenen Kultursystemen. Klin Monbl Augenheilkd 1997; 210:213-218

[65] van der Valk J, Bieback K, Buta C, Cochrane B, Dirks WG, Fu J, Hickman JJ, Hohensee C, Kolar R, Liebsch M, Pistollato F, Schulz M, Thieme D, Weber T, Wiest J, Winkler S, Gstraunthaler G: Fetal bovine serum (FBS): Past – present – future. ALTEX 2018; 35:99-118

[66] Elisabeth P, Hilde B, Ilse C: Eye bank issues: II. Preservation techniques: warm versus cold storage. Int Ophthalmol 2008; 28:155-163

[67] Paul-Ehrlich-Institut (PEI). Bundesinstitut für Impfstoffe und biomedizinische Arzneimitel. Liste zugelassener Augenhornhauten (Cornea). Im Internet: https://www.pei.de/DE/arzneimittel/gewebezubereitungen/augenhornhaut-cornea/cornea-liste.html; Stand: 15.08.2020

[68] Irschick E, Meyer M, Pedross F, Bechrakis NE: Einfluss der Kultur- und Entquellungsdauer auf die Klarheit von transplantierten Hornhäuten. Spektrum Augenheilkd 2009; 23:256-264

[69] Robin GmbH. REA for Eyebanks. Im Internet: http://www.robin-solutions.com/rea-

for-eyebanks.html; Stand: 15.08.2020

[70] Rieck P, Jaroszewski J, Hartmann C: Einschätzung des Hornhautendothels. In: Wilhelm FW, Duncker G, Bredehorn T: Augenbanken. Berlin, New York: De Gruyter; 2002

[71] Joyce NC: Proliferative capacity of the corneal endothelium. Prog Retin Eye Res 2003; 22:359-389

[72] Schaub F, Simons HG, Enders P, Bachmann BO, Roters S, Cursiefen C, Heindl LM: Hornhautspende. Ophthalmologe 2016; 113:1058-1065

[73] World Medical Association (WMA). Deklaration von Helsinki- Ethische Grundsätze für die medizinische Forschung am Menschen. 2013; Im Internet: https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/International/Deklaration_von_Helsinki_2013_20190905.pdf ; Stand: 05.09.2019

[74] Röck T, Hofmann J, Thaler S, Bramkamp M, Bartz-Schmidt KU, Yoeruek E, Röck D: Factors that influence the suitability of human organ-cultured corneas. Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol 2016; 254:135-141

[75] Gavrilov J-C, Borderie VM, Laroche L, Delbosc B: Influencing factors on the suitability of organ-cultured corneas. Eye 2010; 24:1227-1233

[76] Kwon JW, Cho KJ, Kim HK, Lee JK, Gore PK, McCartney MD, Chuck RS: Analyses of factors affecting endothelial cell density in an eye bank corneal donor database. Cornea 2016; 35:1206-1210

[77] Armitage WJ, Easty DL: Factors influencing the suitability of organ-cultured corneas for transplantation. Investig Ophthalmol Vis Sci 1997; 38:16-24

[78] Campolmi N, He Z, Acquart S, Trone MC, Bernard A, Gauthier AS, Garraud O, Forest F, Péoc'h M, Gain P, Thuret G: Comparison of endothelial cell density of organ cultured corneas with cornea donor study. Cornea 2014; 33:597-603

[79] Bundesinstitut für Bevölkerungsentwicklung. Lebenserwartung bei Geburt in Deutschland nach Geschlecht, Sterbetafel 1871/1881 bis 2014/2016 (2018); Im Internet: https://www.bib.bund.de/DE/Fakten/Fakt/S31-Lebenserwartung-Geburt-Geschlecht-ab-1871.html;jsessionid=99BCCB6846BF85153D61C0E3AB65F061.1_cid389?nn=9992

060; Stand: 30.08.2019

[80] Statistisches Bundesamt. Sterbefälle und Lebenserwartung in Deutschland (2018); Im Internet: https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Sterbefaelle-Lebenserwartung/_inhalt.html#sprg229094; Stand: 30.08.2019

[81] Statistisches Bundesamt. Künftige Bevölkerungsentwicklung in Deutschland. Im Internet: https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Bevoelkerungsvorausberechnung/_inhalt.html;jsessionid=174EF30536172E2B70B63DA0F20D570B.internet721; Stand: 30.08.2019

[82] McGlumphy EJ, Margo JA, Haidara M, Brown CH, Hoover CK, Munir WM: Predictive value of corneal donor demographics on endothelial cell density. Cornea 2018; 37:1159-1162

[83] Cunningham WJ, Moffatt SL, Brookes NH, Twohill HC, Pendergrast DGC, Stewart JM, McGhee CNJ: The New Zealand National Eye Bank Study. Cornea 2012; 31:538-545

[84] Snellingen T, Rao GN, Shrestha JK, Huq F, Cheng H: Quantitative and morphological characteristics of the human corneal endothelium in relation to age, gender, and ethnicity in cataract populations of south asia. Cornea 2001; 20:55-58

[85] Singh T, Arya SK, Handa U, Chander J: Usability of donor corneas harvested from the deceased having septicaemia or malignancy. QJM An Int J Med 2019; 112:681-683

[86] Li S, Bischoff M, Schirra F, Langenbucher A, Ong M, Halfmann A, Herrmann M, Seitz B: Korrelation zwischen mikrobiellem Wachstum in Bindehautabstrichen von Hornhautspendern und Kontamination des Organkulturmediums. Ophthalmologe 2014; 111:553-559

[87] Patel HY, Brookes NH, Moffatt L, Sherwin T, Ormonde S, Clover GM, McGhee CNJ: The New Zealand National Eye Bank study 1991-2003: A review of the source and management of corneal tissue. Cornea 2005; 24:576-582

[88] Redbrake C, Becker J, Salla S, Stollenwerk R, Reim M: The influence of the cause of death and age on human corneal metabolism distribution of mean postmortem time and donor age in different groups of cause of death. Invest Ophthalmol Vis Sci 1994; 35:3553-3556

[89] International Diabetes Federation (IDF). Diabetes Atlas 9th Edition 2019. Im Internet: https://www.diabetesatlas.org/upload/resources/2019/IDF_Atlas_9th_Edition_2019.pdf ; Stand: 15.08.2020

[90] International Diabetes Federation (IDF). Facts & Figures. 2019; Im Internet: https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes/facts-figures.html; Stand: 15.08.2020

[91] Choo MM, Prakash K, Samsudin A, Kadir AJ. Corneal changes in type II diabetes mellitus in malaysia. Int J Ophthalmol 2010; 3:234-236

[92] Sánchez-Thorin JC: The cornea in diabetes mellitus. Int Ophthalmol Clin 1998; 38:19-36

[93] Margo JA, Munir WM, Brown CH, Hoover CK: Association between endothelial cell density and transplant suitability of corneal tissue with type 1 and type 2 diabetes. JAMA Ophthalmol 2017; 135:124-130

[94] Liaboe CA, Aldrich BT, Carter PC, Skeie JM, Burckart KA, Schmidt GA, Reed CR, Zimmerman MB, Greiner MA: Assessing the impact of diabetes mellitus on donor corneal endothelial cell density. Cornea 2017; 36:561-566

[95] Rand GM, Polla DJ, Patel SH, Gore PK, Forest-Smith L, Livesay TM, Chuck RS: Donor diabetes mellitus severity and corneal transplant suitability in a US eye bank donor population. Cornea 2019; 0:1-6

[96] Chen Y, Tsao SW, Heo M, Gore PK, McCarthy MD, Chuck RS, Channa P: Age-stratified analysis of diabetes and pseudophakia effects on corneal endothelial cell density: A retrospective eye bank study. Cornea 2017; 36:367-371

[97] El-Agamy A, Alsubaie S: Corneal endothelium and central corneal thickness changes in type 2 diabetes mellitus. Clin Ophthalmol 2017; 11:481-486

[98] Sudhir RR, Raman R, Sharma T: Changes in the corneal endothelial cell density and morphology in patients with type 2 diabetes mellitus. Cornea 2012; 31:1119-1122

[99] Shenoy R, Khandekar R, Bialasiewicz AA, Al Muniri A: Corneal endothelium in patients with diabetes mellitus: A historical cohort study. Eur J Ophthalmol 2009; 19:369-375

[100] Roszkowska AM, Tringali CG, Colosi P, Squeri CA, Ferreri G: Corneal endothelium

evaluation in type I and type II diabetes mellitus. Ophthalmologica 1999; 213:258-261

[101] Inoue K, Kato S, Inoue Y, Amano S, Oshika T: The corneal endothelium and thickness in type II diabetes mellitus. Jpn J Ophthalmol 2002; 46:65-69

[102] Lee JS, Oum BS, Choi HY, Lee JE, Cho BM: Differences in corneal thickness and corneal endothelium related to duration in Diabetes. Eye 2006; 20:315-318

[103] Storr-Paulsen A, Singh A, Jeppesen H, Norregaard JC, Thulesen J: Corneal endothelial morphology and central thickness in patients with type II diabetes mellitus. Acta Ophthalmol 2014; 92:158-160

[104] Vislisel JM, Liaboe CA, Wagoner MD, Goins KM, Sutphin JE, Schmidt GA, Zimmerman MB, Greiner MA: Graft survival of diabetic versus nondiabetic donor tissue after initial keratoplasty. Cornea 2015; 34:370-374

[105] Lass JH, Riddlesworth TD, Gal RL, Kollman C, Benetz BA, Price FW, Sugar A, Terry MA, Soper M, Beck RW: The effect of donor diabetes history on graft failure and endothelial cell density 10 years after penetrating keratoplasty. Ophthalmology 2015; 122:448-456

[106] Sugar A, Gal RL, Kollman C, Raghinaru D, Dontchev M, Croasdale CR, Feder RS, Holland EJ, Lass JH, Macy JI, Mannis MJ, Smith PW, Soukiasian SH, Beck RW: Factors associated with corneal graft survival in the cornea donor study. JAMA Ophthalmol 2015; 133:246-254

[107] Price MO, Thompson RW, Price FW: Risk factors for various causes of failure in initial corneal grafts. Arch Ophthalmol 2003; 121:1087-1092

[108] Scherer WJ: Corneal endothelial cell density and cardiovascular mortality. Clin Anat 2018; 31:927-936

[109] Liu CY, Francis JH, Pulido JS, Abramson DH: Ocular side effects of systemically administered chemotherapy - UpToDate 2020; Im Internet: https://www.uptodate.com/contents/ocular-side-effects-of-systemically-administered-chemotherapy; Stand: 06.02.2020

[110] Alfawaz AM, Holland GN, Yu F, Margolis MS, Giaconi JA, Aldave AJ: Corneal endothelium in patients with anterior uveitis. Ophthalmology 2016; 123:1637-1645

[111] Li X, Zhang Z, Ye L, Meng J, Zhao Z, Liu Z, Hu J: Acute ocular hypertension disrupts

barrier integrity and pump function in rat corneal endothelial cells. Sci Rep 2017; 7:6951

[112] Cupit-Link MC, Kirkland JL, Ness KK, Armstrong GT, Tchkonia T, LeBrasseur NK, Armenian SH, Ruddy KJ, Hashmi SK: Biology of premature ageing in survivors of cancer. ESMO Open 2017; 2:e000250

[113] Lapp T, Heinzelmann S, Böhringer D, Eberwein P, Reinhard T, Maier P: Use of donor corneas from pseudophakic eyes for descemet membrane endothelial keratoplasty. Cornea 2018; 37:859-862

[114] Challine D, Roudot-Thoraval F, Sabatier P, Dubernet F, Larderie P, Rigot P, Pawlotsky J-M: Serological viral testing of cadaveric cornea donors. Transplantation 2006; 82:788-793

[115] Röck T, Beck R, Jürgens S, Bartz-Schmidt KU, Bramkamp M, Thaler S, Röck D: Factors influencing the virological testing of cornea donors. Medicine (Baltimore) 2017; 96:e8561

[116] Raj A, Mittal G, Bahadur H: Factors affecting the serological testing of cadaveric donor cornea. Indian J Ophthalmol 2018; 66:61-65

[117] Wilkemeyer I, Pruss A, Kalus U, Schroeter J: Comparative infectious serology testing of pre- and post-mortem blood samples from cornea donors. Cell Tissue Bank 2012; 13:447-452

[118] Uhlig CE, Koch R, Promesberger J, Hirschfeld G, Schmidt H, Seitz B, Reinhard T, Böhringer D: Attitudes toward postmortem cornea donation in Germany: a multicenter survey. Graefe’s Arch Clin Exp Ophthalmol 2014; 252:1955-1962

10 Anhang

10.1 Hornhautspendeformular und Todesbestätigung 101
10.2 Fremdanamneseprotokoll 102
10.3 Einverständnisprotokoll zur Hornhautspende 104
10.4 Hornhautentnahmeprotokoll 105
10.5 Entgegennahme- und Anonymisierungsprotokoll 106
10.6 Prüfprotokoll 107
10.7 Zusammensetzung des Kulturmediums 108

10.1 Hornhautspendeformular und Todesbestätigung

	Qualitätsmanagement-Handbuch Anlage B.1.4.	Lions Horn-hautbank Saar-Lor-Lux, Trier/ West-pfalz
	Hornhautspendeformular Begleitschein zur Todesbescheinigung im Universitätsklinikum des Saarlandes und für Teilnehmer des kooperativen Programms	

Patient:_____

☐ männl. ☐ weibl., geb. am:_____ ETIKETTE

verstorben am:_____um_____Uhr

Diagnose:_____

Klinik:_____Station:_____Tel.:_____

Leichenschau und Todesbestätigung durch folgende(n) Arzt(e)/Ärztin(nen):

1. Name:_____Tel./Funk:_____Datum_____

Uhrzeit_____Unterschrift_____

2. Name:_____Tel./Funk:_____Datum_____

Uhrzeit_____Unterschrift_____

medizinische Angaben zur/zum Verstorbenen

☐ akute Viruserkrankung ☐ maligne hämatologische Systemerkrankung

☐ Sepsis ☐ _____

Obduktion genehmigt? ☐ ja ☐ nein

Einverständnis für Hornhautspende zur Transplantation ☐
und ggf. auch zu Forschungszwecken ☐

☐ **Entnahme der Korneoskleralscheibe**

☐ durch Einwilligung des Verstorbenen (z.B. Organspendeausweis)

durch Zustimmung der/des Angehörigen

☐ Ehepartner ☐ Lebensgefährte ☐ volljährige Kinder ☐_____
sonstige Angehörige
☐ persönlich ☐ telefonisch
☐ Angehörige **nicht** einverstanden

☐ Angehörige nicht gefragt / Einverständnis kann von Hornhautbank eingeholt werden

Name, Adresse und Telefon des Zustimmenden

_____

Der Zustimmende muß in den letzten 2 Jahren einen persönlichen Kontakt zum Verstorbenen gehabt haben!

_____

Datum, Name und Unterschrift der/des gesprächsführenden Ärztin/Arztes

Dieses Dokument bitte umgehend an die 06841-16-22486 faxen

Vielen Dank!!! Ihre Lions-Hornhautbank (Augenklinik)

Bei Rückfragen Tel.: 06841-16-22353 oder 06841-16-22337 Hornhautbank-Funk: 2475
nach 16.30 Uhr 1. Dienst-Funk: 2481

Stand: Januar 2012

10.2 Fremdanamneseprotokoll

	Qualitätsmanagement-Handbuch	Lions Horn-hautbank Saar-Lor-Lux, Trier/ West-pfalz
	Anlage B.2.1.1., Spender-Fremdanamneseprotokoll	

Spender-Nr.: _____;

Name und Geburtsdatum: _____

folgende Punkte müssen *vor* Entnahme abgeklärt werden:

Todesursache: _____

1. unbekannte Todesursache, signifikante Erkrankung unbekannter Ätiologie in der Vorgeschichte — Nein ☐ Ja ☐
2. Virale Spendererkrankungen: Infektion mit HIV-, Hepatitis B/C, HTLV I/II oder besondere Risikofaktoren für diese Infektionen — Nein ☐ Ja ☐
3. Bakterielle Spendererkrankungen: Syphilis oder andere chron. pers. bakt. Infektionen (Brucellose, Fleckfieber u.a. Rickettsiosen, Lepra, Rückfallfieber, Melioidose, Tularämie) — Nein ☐ Ja ☐
4. Protozoonotische Spendererkrankungen: Babesiose, Trypanosomiasis (z.B.Chagas-Krankheit), Leishmaniose — Nein ☐ Ja ☐
5. aktive, systemische Infektionen: bakteriell, viral, durch Pilze, parasitär oder unklarer Ursache — Nein ☐ Ja ☐
6. Pilzsepsis oder Sepsis mit multiresistenten Keimen — Nein ☐ Ja ☐
   (eine bakt. Sepsis mit üblichem Spektrum ist **keine** KI !!!)
7. Zentralnervöse Erkrankungen unklarer Ursache: (M. Alzheimer, M. Parkinson, unklare schnell fortschreitende Demenz, Multiple Sklerose, Amyotrophe Lateralsklerose, retrovirale ZNS-Erk.) — Nein ☐ Ja ☐
8. Hämatologische Neoplasien, Leukämien, Lymphome — Nein ☐ Ja ☐
9. Ophthalmologische Spendererkrankungen mit sichtbarer Veränderung der Hornhaut, Z.n. Hornhautchirurgie, Infektionen (lokal), Tumoren des Auges — Nein ☐ Ja ☐
10. Z.n. postexpositioneller Impfung gg. Tollwut innerhalb von 12 Monaten, Z.n. Lebendimpfstoffimpfung innerhalb von 4 Wochen — Nein ☐ Ja ☐
11. Risiko der Krankheitsübertragung durch Prionen: Empfänger von Dura mater-, Cornea-, Sklera-, Hetero- oder Xenotransplantaten; Empfänger von Hypophysenhormonen;

Diagnostizierte Creutzfeldt-Jakob-Krankheit beim Spender oder in der fam. Vorgeschichte	Nein ☐	Ja ☐
12. Prämortale Aufnahme von Stoffen, bei denen durch die Transplantation eine für den Empfänger schädliche Wirkung eintreten kann (z.B. Gifte, Schwermetalle)	Nein ☐	Ja ☐
13. Spender, bei denen prämortal durch vorausgegangene Transfusionen eine über 50%ige Plasmaverdünnung eingetreten ist (siehe untenstehendeTabelle zur Berechnung)	Nein ☐	Ja ☐
14. Zeitlich begrenzter Ausschluss:		
2 Jahre nach Heilung von:		
Salmonellen, Q-Fieber,Tuberkulose, Leptospiren	Nein ☐	Ja ☐
4 Jahre nach Heilung von Malaria	Nein ☐	Ja ☐
4 Wochen nach Heilung von Masern, Röteln, VZV, oder anderer schwerwiegender viraler Erkrankungen	Nein ☐	Ja ☐
15. Hinweise auf weitere unklare Erkrankungen	Nein ☐	Ja ☐
Besiedlung oder Infektion mit MRSA/ESBL/VRSA	Nein ☐	Ja ☐
16. Hinweise auf unvollständige oder unzuverlässige Anamnese, Zweifel an der Aussagenrichtigkeit	Nein ☐	Ja ☐

Tabelle zur Berechnung der Plasmaverdünnung:

Transfusionen in den letzten 48 h	Anzahl x Volumen
EK	X 300 ml
TK	X 240 ml
FFP	X 270 ml
Andere	X ml .....X.....ml
SUMME	ml

Für die Berechnung herangezogen werden nur die Infusionen, die im jeweils relevanten Zeitraum gegeben wurden; dieser beträgt für:

Kristalloide:
- 1 h vor dem Tod

Kolloide oder Blutprodukte:
- 48 h vor dem Tod

Es darf der Grenzwert von 22,5 ml pro kg KG nicht überschritten werden (sofern keine Prätransfusionsprobe verfügbar ist).

Entscheidung: Hornhautentnahme möglich. Es liegen ausreichende Informationen vor, um die Eignung des Spenders zur Hornhautentnahme beurteilen zu können. Zum Spendezeitpunkt sind keine Kontraindikationen bekannt:

Nein ☐ Ja ☐

Gesprächspartner: _____
(Name des Arztes/des Angehörigen)

gesprächsführender Arzt der Hornhautbank: _____
(Name und Unterschrift)

10.3 Einverständnisprotokoll zur Hornhautspende

	Qualitätsmanagement-Handbuch Anlage B.1.4.1	Lions Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/ Westpfalz
	Einverständniserklärung	

Hornhautgewebespende
Persönliches Einverständis

Patient:_____

☐ **männl.** ☐ **weibl., geb. am:**_____ **ETIKETTE**

verstorben am:_____um_____Uhr

Nach dem Tod meiner/meines _____ bin ich über die Möglichkeit einer Hornhautspende aufgeklärt worden. Ich habe auf Nachfrage erklärt, dass ich zu dem/der Verstorbenen in den letzten zwei Jahren vor dessen/deren Tod persönlichen Kontakt hatte. Ich wurde darauf hingewiesen, dass ich Erklärungen des/der Verstorbenen zur Organspende zu berücksichtigen und bei meiner Entscheidung einen mutmaßlichen Willen des/der Verstorbenen zu beachten habe.
Mir wurden das geplante Vorgehen, der Ablauf sowie Zweck und Nutzen der Entnahme von Herrn/Frau Dr. _____ verständlich geschildert.
Ich hatte Gelegenheit, Fragen zu stellen, die mir alle beantwortet wurden.

☐ Mit der geplanten Entnahme und der weiteren Verwendung des Hornhautgewebes zur Transplantation bin ich einverstanden.

☐ Sollten die Hornhäute nicht zur Transplantation geeignet sein, so gestatte ich eine Verwendung zu Forschungszwecken für das Wohl zukünftiger Patienten.

☐ Gänzlich **unabhängig** von einer möglichen Hornhautentnahme bin ich über die Möglichkeit der Durchführung einer Obduktion aufgeklärt worden und stimme dieser zu.

Datum: Uhrzeit:

_____
Datum, Name und Unterschrift der/des Angehörigen

_____
Verwandheitsgrad, Anschrift und Telefonnummer

_____
Datum, Name und Unterschrift der/des gesprächsführenden Ärztin/Arztes

Anmerkungen zum ärztlichen Gespräch:

Bitte dieses Dokument, **zusammen mit dem HH-Spendeformular**, an die 06841-16-22486 faxen. **Vielen Dank!** Ihre Lions-Hornhautbank (Augenklinik)

Erstellt Januar 2012/ Ag Hornhautbank Freigabe Januar 2012 / Prof. Seitz

10.4 Hornhautentnahmeprotokoll

	Qualitätsmanagement-Handbuch	**Lions Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/ Westpfalz**
	Anlage B.2.1., Entnahmeprotokoll	

Entnahmeprotokoll für Spender Nr.

Wird durch die Hornhautbank vergeben

Spender

Name, Vorname: _____

Geschlecht: m ☐ w ☐; geb. am:_____

verstorben am: _____um:_____

Kreislaufstillstand: _____um:_____

Todsursache: _____

Etikette steriler Mantel

Zustimmung zur Hornhautspende erfolgte: Nein ☐ Ja ☐

Kontraindikationsprüfung wurde durchgeführt, mit der Entscheidung, die Hornhaut entnehmen zu können Nein ☐ Ja ☐

Identifizierung des Spenders erfolgte: Nein ☐ Ja ☐
(durch Explanteur, anhand:_____)

Nummer + Etikette Entnahmesieb

Entnahme

Entnahmedatum: _____Uhrzeit:_____

Entnahmeort: _____

Methode: corneoskleral ☐ andere:_____

entnommene Gewebe: Corneoskleralscheibe R ☐ L ☐

Kühlung des Verstorbenen: Nein ☐ Ja ☐

Chargen-Nr. Transportmedium:

Linsenstatus:
Phak R ☐ L ☐
Aphak R ☐ L ☐
Pseudophak R ☐ L ☐

Blutentnahme: Nein ☐ Ja ☐ Uhrzeit: _____

Besonderheiten bei Entnahme/ Bemerkungen:_____

➢ ***Name/Unterschrift des Explanteurs***: _____

Erstellt		**Freigabe der zuletzt aktualisierten Version**	
Version 3.0	*Bischoff*	*Dr. M. Bischoff*	
		November 2014	*Seite 1 von 1*

10.5 Entgegennahme- und Anonymisierungsprotokoll

	Qualitätsmanagement-Handbuch	Lions Horn-hautbank Saar-Lor-Lux, Trier/ West-pfalz
	Anlage B.3.0., Entgegennahme- und Anonymisierungs-protokoll	

Entgegennahme- und Anonymisierungsprotokoll

Spender

Name, Vorname: _____ geb.am: _____

verstorben am: _____um:_____in:_____

Kodierung

Spendernummer: _____ ET-Nummer: _____

Entgegennahme

Beschriftung des Transportbehältnisses eindeutig

- Korrekte Zuordnung zu den Spenderdaten möglich Nein ☐ Ja ☐

Primärverpackung des Gewebes verschlossen u. intakt Nein ☐ Ja ☐

Spendergewebe ist makroskopisch unauffällig Nein ☐ Ja ☐

Blutproben vorhanden und eindeutig zuzuordnen Nein ☐ Ja ☐

Abstriche vorhanden und eindeutig zuzuordnen Nein ☐ Ja ☐

Korrekte Lagerung der Korneoskleralkomplexe Nein ☐ Ja ☐

Korrekte Lagerung der Blutproben und Abstriche Nein ☐ Ja ☐

Begleitdokumentation vorliegend Nein ☐ Ja ☐

Unauffällige Entgegennahme Nein ☐ Ja ☐

Auffälligkeiten_____

Entscheidung

Weitere Prozessierung der Hornhäute möglich Nein ☐ Ja ☐

_____

Ort / Datum Name / Unterschrift

Erstellt		Freigabe der zuletzt aktualisierten Version	
Version 1.0	*Bischoff*	*Dr. F. Schirra*	
		Dezember 2011	*Seite 1 von 1*

10.6 Prüfprotokoll

	Qualitätsmanagement-Handbuch	**Lions Horn-hautbank Saar-Lor-Lux, Trier/ West-pfalz**
	Anlage B.3.1., Prüfprotokoll I	

1. Spaltlamenuntersuchung (Med. I)

Spender-Nr:

R / L

- ☐ unauffälliger Befund
- ☐ zentrale / periphere Narben
- ☐ Z.n. Trauma / Operation; Infektionszeichen
- ☐ getrübte Epithelreste
- ☐ Arcus senilis
- ☐ Stromatrübungen / Stromaverdünnugnen
- ☐ auffällige Endothelzellschicht (z.B. Guttae)
- ☐ Sonstiges: _____

Untersucher: _____ Datum:_____

1. Endothelzellzählung (Med. I)

- ☐ ausgedehnte Mehrzellnekrosen
- ☐ Endothelzelldichte manuelle Zählung: _____/mm²
- ☐ Endothelzelldichte automatische Zählung zentral (Navis): _____/mm²
- ☐ Sontiges: _____

Untersucher: _____ Datum:_____

2. Spaltlampenuntersuchung (Med. II)

- ☐ unauffälliger Befund
- ☐ zentrale / periphere Narbe
- ☐ Infektionszeichen -> Hornhaut nicht transplantierbar
- ☐ Descemet´sche Falten
- ☐ auffällige Endothelzellschicht (z.B. Guttae)
- ☐ Sonstiges: _____

Untersucher: _____ Datum:_____

2. Endothelzellzählung (Med. II)

- ☐ Endothelzelldichte manuelle Zählung: _____/mm²
- ☐ Endothelzelldichte automatische Zählung zentral (Navis): _____/mm²
- ☐ Anmerkungen: _____

Untersucher: _____ Datum:_____

Erstellt		**Freigabe der zuletzt aktualisierten Version**	
Version 2.0	*AG HHB*	*Bischoff*	
Oktober 2011		*Oktober 2011*	*Seite 1 von 1*

10.7 Zusammensetzung des Kulturmediums

Rezeptur Kulturmedium I+ II

Kulturmedium I

der Firma Biochrom wird aus folgenden Zutaten hergestellt:

MEM-Earle´s	100,00 ml
Penicillin/Streptomycin	10,00 ml
L-Glutamin (200mM)	10,00 ml
Amphotericin B (250µg/ml)	10,00 ml
Hepes Puffer (1M) (50x)	12,50 ml
$NaHCO^3$	29,30 ml
Aqua dest., steril	ad 1000,00 ml

PH-Wert: 7,2 -7,3

Kulturmedium II

enthält zusätzlich zu den oben genannten Zutaten pro 1000 ml Medium:

Dextran 500	60 g	(enstpricht 6% Dextran)

Das Fetale Kälberserum wird jeweils unmittelbar vor der Kultur zugesetzt.

11 Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Berthold Seitz ML, FEBO (Direktor der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum UKS in Homburg/Saar) danke ich für die Chance, an der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum UKS in Homburg/Saar zu promovieren. Danke für das entgegengebrachte Vertrauen diese Studie durchführen zu dürfen und für die offene Einbindung in die exzellente wissenschaftliche Arbeit und Lehre an Ihrer Klinik.

Ein besonderer Dank gilt Frau Dr. med. Mona Bischoff-Jung, Frau Manuela Huber und vor allem Herrn Dr. med. Shady Suffo für ihre hilfsbereite Begleitung und geduldige Unterstützung während der Erhebung der Daten sowie für die fachliche Hilfe bei der Verfassung meiner Dissertationsschrift.

Gerne möchte ich mich auf diesem Wege bei allen Mitarbeitern der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/ Saar sowie bei allen Mitarbeitern der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz bedanken, welche mir bei der Durchführung und Fertigstellung dieser Arbeit geholfen haben.

Herrn Prof. Dr. Achim Langenbucher gilt ein großer Dank für die Hilfe bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit sowie für den wesentlichen fachlichen Beistand bei der Ausarbeitung der Datenbank.

Meiner Familie und Yannik möchte ich herzlich für ihre wunderbare Unterstützung bei all meinen Vorhaben im Rahmen meines Arztberufes und der Dissertation danken.

12 Publikationen

28.09.2019 Posterpräsentation auf der DOG in Berlin

20.05.2020 „Analyse von Einflussfaktoren auf die Eignung von kornealem Spendergewebe in der LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz von 2006 bis 2016" Publikation in den „Klinischen Monatsschriften Augenheilkunde", Thieme Verlag. doi: 10.1055/a-1141-3703

13 Lebenslauf der Autorin

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.