

Aus der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes *UKS*  
in Homburg/Saar  
(Direktor: Professor Dr. Berthold Seitz)

**Autologe Serumaugentropfen bei therapieresistenten Erosiones vs. Ulcera corneae  
unter besonderer Berücksichtigung der Heilungstendenz von eigenem Gewebe im  
Vergleich zu transplantiertem Gewebe**

Dissertation zur Erlangung des Grades einer Doktorin der Medizin  
der  
medizinischen Fakultät  
der  
Universität des Saarlandes

2022

vorgelegt von  
Marie Leonhard,  
geboren am 18.03.1988 in Niederkorn (Luxemburg)

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1. Zusammenfassung .....	1
1.2. Summary .....	3
<b>2. EINLEITUNG .....</b>	<b>4</b>
2.1. Therapieresistente Epitheldefekte.....	4
2.2. Therapieoptionen bei Hornhautdefekten .....	5
2.3. Geschichte der Therapie mit autologen Serumaugentropfen.....	6
2.4. Autologe Serumaugentropfentherapie in der Klinik für Augenheilkunde am UKS.....	7
2.5. Charakteristika der autologen Serumaugentropfen.....	10
2.6. Komplikationen der autologen Serumaugentropfen .....	12
2.7. Herstellung der autologen Serumaugentropfen .....	13
2.8. Zielsetzung .....	14
<b>3. PATIENTEN UND METHODIK .....</b>	<b>16</b>
3.1. Patienten.....	16
3.2. Ausschlusskriterien .....	16
3.3. Rekrutierung .....	18
3.4. Herstellung der autologen Serumaugentropfen in der Klinik für Augenheilkunde am UKS..	18
3.4.1. Blutentnahme .....	18
3.4.2. Gerinnungsphase .....	19
3.4.3. Zentrifugation .....	19
3.4.4. Sterilisation und Filtration .....	20
3.4.5. Verdünnung .....	22
3.4.6. Aufbewahrung .....	22
3.5. Lagerung der autologen Serumaugentropfen.....	23
3.6. Applikation der autologen Serumaugentropfen .....	23
3.7. Variablen.....	24
3.8. Zielgrößen .....	25
3.9. Statistische Methoden .....	25
<b>4. ERGEBNISSE.....</b>	<b>25</b>
4.1. Allgemein .....	25
4.2. Erfolgreicher Epithelschluss.....	26
4.3. Behandeltes Gewebe (transplantierte Hornhaut vs. eigene Hornhaut) .....	27

4.4. Schwere der Läsion .....	29
4.5. Ätiologie des therapieresistenten Epitheldefektes .....	30
4.6. Therapieschema .....	32
4.7. Komplikationen der Therapie mit autologen Serumaugentropfen .....	33
<b>5. DISKUSSION .....</b>	<b>34</b>
5.1. Eigene Hornhaut versus Transplantat .....	35
5.2. Hornhauterosio versus Hornhautulcera .....	36
5.3. Ätiologie des Epitheldefektes .....	37
5.4. Tropfschema.....	37
5.5. Herstellung und Lagerung .....	38
5.6. Therapiedauer bis zum Epithelschluss .....	40
5.7. Rezidivrate .....	41
5.8. Limitationen und Alternativen .....	41
5.9. Schlussfolgerungen .....	44
<b>6. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>46</b>
<b>7. DANK.....</b>	<b>52</b>
<b>8. LEBENSLAUF .....</b>	<b>53</b>

# 1. ZUSAMMENFASSUNG

## 1.1. Zusammenfassung

### Hintergrund

Seit der Publikation von Fox *et al.* 1985, werden autologe Serumaugentropfen bei schwerem Sicca Syndrom sowie bei therapieresistenten Epitheldefekten der Kornea zur Förderung der Epithelheilung eingesetzt. Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkung von 100% autologen Serumaugentropfen bei therapieresistenten Epitheldefekten auf der eigenen Hornhaut und der transplantierten Hornhaut zu vergleichen. Daneben sollten die Erfolgsraten bei Erosiones vs. Ulcera sowie unterschiedliche Tropfschemata verglichen werden.

### Patienten und Methoden

Die autologen Serumaugentropfen werden seit Juli 2007 in der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes hergestellt. In einer retrospektiven Studie von 2007-2014 wurden 364 Behandlungen mit unverdünnten autologen Serumaugentropfen bei 303 Augen von 255 Patienten mit therapieresistenten Epitheldefekten analysiert. Unterschieden wurde bei der Auswertung ob der Patient hornhauttransplantiert war (n=175, 48,1%) oder sich der Epitheldefekt auf der eigenen Hornhaut befand (n=189, 51,9%). Patienten mit unvollständiger Akteudokumentation sowie Patienten die innerhalb der 28 Behandlungstage eine Amnionmembrantransplantation bekamen (n=93) wurden ausgeschlossen, da dies eine Auswertung der alleinigen Wirkung der autologen Serumaugentropfen unmöglich machte. Die Schwere der Läsion (Erosio vs. Ulcus), die Ätiologie des Epitheldefektes und das Tropfschema wurden ebenfalls untersucht.

Die Zielgrößen waren 1) der komplette Epithelschluss innerhalb von 28 Tagen Therapie mit autologen Serumaugentropfen sowie 2) die Rezidivrate nach erfolgreichem Abschluss der Therapie.

### Ergebnisse

Bei 88,2% der behandelten Defekte (n=263) kam es innerhalb von 28 Behandlungstagen zu einem kompletten Epithelschluss. Am 14. Behandlungstag waren bereits 73,8% zugeheilt. Nach 5,0 +/- 0,2 Tagen waren 50% der Epitheldefekte zugeheilt. Bei der Heilungstendenz unter Therapie mit autologen Serumaugentropfen gab es keinen signifikanten Unterschied zwischen eigenem Hornhautgewebe (87,8%) oder transplantiertem Hornhautgewebe

(88,6%) ( $p=0,137$ ). Bei dem transplantiertem Gewebe waren nach  $5,0 \pm 0,3$  Tagen 50% der Epitheldefekte zugeheilt, bei der eigenen Hornhaut nach  $6,0 \pm 0,2$  Tagen 50%.

Bei genau 12 (5,1%) Patienten kam es nach erfolgreichem Abschluss der 1-monatigen Therapie mit autologen Serumaugentropfen zu einem Rezidiv des Epitheldefektes. Bei der eigenen Hornhaut rezidierten nach erfolgreichem Epithelschluss 2 (1,7%) Epitheldefekte, bei transplantiertem Hornhaut rezidierten nach erfolgreichem Epithelschluss 10 (6,4%) Epitheldefekte. Von den therapieresistenten Epitheldefekten ( $n=258$ ) waren 227 (86,6%) Erosiones und 31 (11,8%) Ulcera. Bei den Ulcera, zeigte sich eine deutliche geringere Heilungstendenz (74,2% zugeheilt nach 4 Wochen) ( $p=0,001$ ) sowie eine signifikant verzögerte Heilung ( $20,0 \pm 3,8$  Tage bis 50% Epithelschluss) ( $p=0,001$ ) im Vergleich zu den oberflächlichen Epitheldefekten, den sogenannten Erosiones (90,3% zugeheilt nach 4 Wochen und  $5,0 \pm 0,2$  Tage bis 50% Epithelschluss). So waren am Behandlungstag 14 bereits 78,0% der Erosiones gegenüber 41,9% der Ulcera zugeheilt.

11 (4,4%) Erosiones und 1 (4,3%) Ulkus sind nach erfolgreichem Abschluss der 1-monatigen Therapie wieder rezidiert und benötigten eine erneute Therapie. Die postinfektiösen Epitheldefekten zeigten unter lokaler Therapie mit autologen Serumaugentropfen eine signifikant ( $p=0,011$ ) schlechtere Heilungstendenz als bei postoperativen Defekten und Epitheldefekten nach perforierender oder penetrierender Verletzung. Bei den verschiedenen Tropfschemen 8x/Tag ( $n=26$ ), 12x/Tag (stündlich) ( $n=218$ ) und 24x/Tag (halbstündlich) ( $n=4$ ) der autologen Serumaugentropfen zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied ( $p=0,1$ ).

### Schlussfolgerungen

Die Resultate unserer retrospektiven Studie bestätigen, dass die autologen Serumaugentropfen eine gute, nicht invasive und sichere Therapiealternative bei therapieresistenten Epitheldefekten darstellen, ohne signifikanten Unterschied der Wirkung bei Epitheldefekten auf der eigenen Hornhaut und bei Epitheldefekten auf der transplantierten Hornhaut. Die verschiedene Tropfschemen zeigten ebenfalls keinen statistisch signifikanten Unterschied. Um in der Zukunft die positive Wirkung der autologen Serumaugentropfen weiter zu untersuchen und zu festigen, ist eine Standardisierung aller Schritte von der Herstellung über das Tropfschema und die Aufbewahrung der autologen Serumaugentropfen notwendig sowie weitere randomisierte kontrollierte Studien.

## 1.2. Summary

### Purpose

Since 1985, with the publication of Fox *et al.*, autologous serum eye drops have been efficiently used in patients with keratoconjunctivitis sicca and persistent corneal epithelial defects. The aim of this study was to compare the healing tendency of corneal epithelial defects on transplanted cornea and the patient's own cornea when treated with 100%, undiluted autologous serum eye drops. In addition, the success rate for epithelial healing in erosions vs. ulcers and with different therapy schemes was compared.

### Patients and methods

Since July 2007, autologous serum eye drops are produced in the department of ophthalmology, Saarland university medical center, Homburg. In a retrospective study from 2007-2014, 364 treatments with autologous serum eye drops of 303 eyes from 255 patients presenting persistent corneal epithelial defects have been analyzed. In the study, we compared the epithelial healing tendency of patients with defects on their own cornea (n=189, 51,9%) vs. patients who had undergone keratoplasty (n=175, 48,1%). Patients with an incomplete patient file as well as patients with an amniotic membrane graft were excluded from the study. The main influencing factors analyzed, were the type of corneal defect (erosion vs. ulcer), the etiology of the corneal defect and the intensity of administration. The target of the study was 1) a complete epithelial healing during the 28 days of treatment with autologous serum eye drops and 2) the recurrence rate after a successful completion of the therapy.

### Results

88,2% of the epithelial defects healed during 28 days of therapy with autologous serum eye drops. On the 14. day of treatment 73,8% of the defects were already closed, After 5,0 +/- 0,2 days 50% of the defects were closed. There was no significant difference between the healing tendency of corneal defects on the patient's own cornea and on the graft treated with autologous serum eye drops (p=0,137). The success rate for epithelial healing was 88,6% on grafts vs. 87,8% on the patient's own cornea. After 5,0 +/- 0,3 days 50% of the defects on the grafts were closed. After 6,0 +/- 0,2 days 50% of the defects on the own cornea were healed completely. The recurrence rate after successful treatment was 5,1% (1,7% on the own cornea, 6,4% on grafts). There was a significant lower (p=0,001) and slower (p=0,001) healing tendency in ulcers (n=31, 11,8%) compared to erosions (n=227, 86,6%). On the 14<sup>th</sup> day following the start of the therapy with autologous serum eye drops 78,0% of the erosions were already closed vs. 41,9% of the ulcers.

The recurrence rate after 1 month of therapy was 4,4% in erosions vs. 4,3% in ulcers. Only the infectious etiology had a significant ( $p=0,011$ ) negative impact of the healing process of persistent epithelial defects.

There was no significant difference ( $p=0,1$ ) of the healing process between an administration of 8 times a day compared to 12 and 24 times a day.

## Conclusions

The results of our study show that autologous serum eye drops are a non invasive and safe alternative treatment for persistent corneal epithelial defects with no significant difference in patients with a defect on their own cornea and on the corneal graft. Different drop applications showed no significant difference in the healing process. In the future, more studies need to be conducted to analyze the positive effects of the autologous serum eye drops and to define a standardized production, application and storage of the autologous serum eye drops.

## 2. EINLEITUNG

### 2.1. Therapieresistente Epitheldefekte

Bei den Hornhautoberflächendefekten unterscheidet man zwischen oberflächlichen Hornhautepitheldefekten, sogenannten Erosiones, und tiefen Hornhautdefekten mit Beteiligung des Hornhautstromas, sogenannten Ulcera.

Als therapieresistente Epitheldefekte der Hornhaut werden Defekte der Hornhaut beschrieben, die über mehrere Wochen bestehen, ohne Heilungstendenz unter intensiver lokaler und systemischer Therapie. Die therapieresistenten Epitheldefekte sind oft eine große Herausforderung und verursachen nicht selten eine mehrwöchige stationäre Liegezeit. Die Hauptkomplikationen bei persistierenden Epitheldefekten sind die Narbenbildung und Vaskularisation, das Ulcus serpens mit Hypopyon, die Durchwanderungsendophthalmitis oder schlimmstenfalls die Perforation mit Verlust des Augenlichtes und E nukleation.

Um diese Komplikationen zu vermeiden sind eine stationäre Aufnahme sowie eine adäquate Verlaufskontrolle und Therapie empfohlen. Eine tägliche Untersuchung an der Spaltlampe mit Anfärbung des Hornhautdefektes mithilfe von Vitalfärbungen (Fluoreszein) ist notwendig um den Hornhautdefekt auszumessen (Höhe und Breite) und eine eventuelle Progression zu erfassen.

Bei therapieresistenten Hornhautdefekten muss in erster Linie ein Hornhaut- und/oder Bindehautfremdkörper sowie ein Lagophthalmus (inkompletter Lidschluss) ausgeschlossen

werden. Das sind Ätiologien die effektiv behoben werden können. Die Ästhesiometrie im Seitenvergleich ist wichtig, um eine neurotrophe Keratopathie auszuschließen. Ein Tear breakup time (TBUT) zur Bestimmung der Stabilität des Tränenfilms sowie ein Schirmer Test zur Bestimmung der Tränenmenge werden zusätzlich durchgeführt.

Hauptätiologien für therapieresistente Epitheldefekte sind :

- Hornhautinfektion (Viren (insbesondere Herpesviren), Bakterien, Pilze, Akanthamöben)
- Neurotrophe Keratopathie (bei Z.n. rezidivierender herpetischer Keratitis, Diabetes mellitus, Trigeminusläsion)
- Z.n. operativem Eingriff (pars plana Vitrektomie, phototherapeutische Keratektomie, perforierende Keratoplastik, lamelläre Keratoplastik,...)
- Z.n. penetrierender oder perforierender Hornhautverletzung
- Z.n. Hornhautverätzung (Säuren oder Laugen)
- Z.n. Verbrennung
- Immunologische Erkrankungen (okuläres Pemphigoid, rheumatoide Arthritis, Kollagenosen, Fuchs-Stevens-Johnson-Syndrom)
- Limbusstammzellinsuffizienz bei kongenitaler Aniridie

## 2.2. Therapieoptionen bei Hornhautdefekten

An erster Stelle muss die Ätiologie für den Hornhautdefekt identifiziert, erschwerende Faktoren eliminiert und die Ursache therapiert werden.

Der Hornhautdefekt wird in erster Linie durch konservierungsfreie Tränenersatzmittel (Augensalbe oder Augengel), Verschluss des Tränenpünktchens (temporär oder permanent), lokale niedrig dosierte Steroide, topisches Ciclosporin A und/oder systemische Antibiotika behandelt.

In zweiter Linie, wenn es unter mehrwöchiger Therapie zu keiner Heilungstendenz kommt oder der Hornhautdefekt fortschreitet, besteht die Möglichkeit, eine Verbandskontaktlinse einzusetzen (in Verbindung mit lokaler antibiotischer Prophylaxe), autologe Serumaugentropfen zu applizieren, einer Tarsorrhaphie (temporär oder permanent) sowie einer Amnionmembrantransplantation (AMT) (AMT Patch, AMT Graft, AMT Sandwich)<sup>1-3</sup>. Die Tarsorrhaphie und die Amnionmembrantransplantation sind invasive Therapieoptionen die einen operativen Eingriff benötigen.

Als fortgeschrittene Alternativen bestehen die Möglichkeit einer 90%-Tarsorrhaphie, einer Botulinuminjektion zur Induktion einer temporären Ptosis, einer Verklebung mit Cyanoacrylat,

einer tektonischen lamellären oder perforierenden Keratoplastik im Falle einer Perforation oder einer Bindehautdeckung als ultima ratio.

Die invasiven Eingriffe sollten möglichst durch eine rechtzeitige und adaptierte nicht invasive Therapie vermieden werden. Die autologen Serumaugentropfen stellen eine gute nicht invasive Therapiemöglichkeit bei persistierenden kornealen Defekten dar, wenn keine Infektion mehr vorliegt <sup>42,4-9</sup>.

### 2.3. Geschichte der Therapie mit autologen Serumaugentropfen

Die Benutzung von autologen Serumaugentropfen bei Patienten mit schwerer Sicca Symptomatik, insbesondere nach Verätzung, wurde erstmalig 1975 von Ralph et al.<sup>10</sup> beschrieben. Jedoch setzten sich die autologen Serumaugentropfen als zusätzliche lokale Therapie bei schwerem trockenem Auge und therapieresistenten Epitheldefekten der Kornea erst ab 1985, mit der Publikation von Fox et al. <sup>5</sup> durch. Fox et al. berichteten über die erfolgreiche Behandlung von Sjögren-Patienten mit autologen Serumaugentropfen.

Der Hintergrund der Entwicklung der Therapie mit autologen Serumaugentropfen war die Suche nach einem Benetzungsmittel, welches nicht nur die mechanischen, sondern auch die biochemischen und epitheliotropen Eigenschaften der Tränen besaß. Tsubota et al. <sup>6</sup> haben 1999 erstmalig die autologen Serumaugentropfen klinisch zur Behandlung von Epitheldefekten eingesetzt. 16 Augen wurden erfolgreich mit 20% autologen Serumaugentropfen therapiert. In den darauffolgenden Jahren wurden mehrere Studien publiziert <sup>5-7,9,11-16</sup> in denen sowohl in vitro als auch klinisch die positive Wirkung von humanem Serum auf die Zellmigration und Proliferation der kornealen Epithelzellen nachgewiesen werden konnte.

Die autologen Serumaugentropfen werden heutzutage sowohl bei schwerer Sicca Symptomatik bei Sjörgensyndrom, Graft versus Host Disease, Keratitis punctata superficialis eingesetzt, als auch bei neurotropher Keratopathie, rezidivierenden Erosiones der Kornea und therapieresistenten Epitheldefekten der Kornea im Rahmen von Limbusstammzellinsuffizienz, penetrierender oder perforierender Hornhautverletzung, Verätzungen, Verbrennungen, immunologischen Erkrankungen, infektiösen Keratitiden und postchirurgischen Epitheldefekten.

Im Verlauf der Jahre wurde ebenfalls in Studien die Wirkung von den Einzelkomponenten der Träne und des autologen Serums auf die Epithelheilung untersucht. Bei den Hauptkomponenten des autologen Serums und der Träne handelt es sich u.a. um Albumin, Lactoferrin, Lysozym, Vitamin A und Wachstumsfaktore <sup>17-23</sup>. Bei der Therapie mit Albumintropfen konnte in Studien ein positiver Effekt auf die Epithelheilung nachgewiesen

werden<sup>18-20</sup>. Die lokale Therapie mit rekombinantem humanem Nervenwachstumsfaktor (rhNGF), Cenegermin stellt auch eine Therapieoption dar. Im Juli 2017 wurde Cenegermin in Europa, sowie im August 2018 in den Vereinigten Staaten bei persistierenden Epitheldefekten bei neurotropher Keratopathie zugelassen. Vereinzelt vorläufige klinische Untersuchungen belegen die Sicherheit und Effektivität der Therapie mit Cenegermin bei persistierenden Epitheldefekten bei neurotropher Keratopathie<sup>24</sup>. Jedoch bleibt die Therapie mit Cenegermin durch die hohe Kosten und fragliche Langzeitwirkung umstritten<sup>25,26</sup>. Weitere klinische Erfahrung mit Cenegermin ist notwendig in Zukunft um die Wirksamkeit zu bestätigen.

Neben den autologen Serumaugentropfen sind auch weitere lokale Therapien zur Epithelheilung untersucht worden wie allogene Serumaugentropfen, Serumaugentropfen aus Nabelschnurblut, thrombozytenreiches Plasma und Plasma reich an Wachstumsfaktoren<sup>21,27-36</sup>. Keine von diesen lokalen Therapieoptionen hat sich bis jetzt in der Klinik gegenüber den autologen Serumaugentropfen durchgesetzt.

#### 2.4. Autologe Serumaugentropfentherapie in der Klinik für Augenheilkunde am UKS

Seit dem 19.07.2007 werden in der Klinik für Augenheilkunde am UKS autologe Serumaugentropfen in der Hornhautbank hergestellt.

Die Patienten werden ausschließlich stationär mit den in der Hornhautbank hergestellten autologen Serumaugentropfen behandelt. Die autologen Serumaugentropfen zählen zu den Arzneimitteln und Blutprodukten. Die Herstellungserlaubnis der autologen Serumaugentropfen muss von der zuständigen Landesbehörde erteilt werden. Eine Ausnahme von der Pflicht zur Herstellungserlaubnis stellt die sogenannte "Eine-Hand-Regelung" dar. Diese gilt wenn die Herstellung und Anwendung durch einen Arzt ausschliesslich unter dessen unmittelbaren fachlichen Verantwortung steht (§4a AMG). In der Klinik für Augenheilkunde am UKS ist Herr Prof. Dr. Berthold Seitz verantwortlich für die Herstellung und ausschliesslich stationäre Anwendung. Es besteht jedoch eine enge Zusammenarbeit mit dem Institut für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin. Ambulante Patienten können bei Bedarf hier zur Herstellung von autologen Serumaugentropfen vorgestellt werden, da das transfusionsmedizinische Institut seit 2007 über eine entsprechende Herstellungserlaubnis der zuständigen Landesbehörde verfügt und die autologen Serumaugentropfen für die Patienten herstellen und an sie abgeben darf.

Die Hauptindikationen für eine Therapie mit autologen Serumaugentropfen in unserer Klinik sind therapieresistente Epitheldefekte der Hornhaut. Hierbei handelt es sich entweder um Erosiones oder Ulcera ohne Heilungstendenz unter mehrwöchiger intensiver stationärer

lokaler und systemischer Therapie. Bei Epitheldefekten der Hornhaut wird je nach Schweregrad der Läsion zuerst eine Therapie mit Tränenersatzmitteln (unkonserviert) und eine lokale sowie systemische Therapie je nach Ätiologie begonnen (antibiotisch, antiviral, immunsuppressiv). Falls es unter dieser Therapie zu keiner Besserung kommt, besteht die Möglichkeit einer zusätzlichen Therapie durch autologe Serumaugentropfen, therapeutische Verbandskontaktlinse, Tarsorrhaphie, Amnionmembrantransplantation (Patch, Graft oder Sandwich) und zuletzt einer Hornhauttransplantation.

Hauptätiologien im Rahmen dieser Auswertung sind die postoperative, postinfektiöse Defekte sowie perforierende Hornhautverletzungen, Defekte nach Verätzung und nach Verbrennung. Schwere Limbusstammzellinsuffizienzen wie bei der kongenitalen Aniridie wurden in diese Auswertungen nicht mit eingeschlossen.

Einer der Schwerpunkte unserer Klinik für Augenheilkunde am UKS ist das gesamte Spektrum der Hornhautchirurgie. Im Jahre 2021 wurden 676 Hornhauttransplantationen durchgeführt, davon 387 perforierende Hornhauttransplantationen und 288 lamelläre Hornhauttransplantationen. Somit behandeln wir nicht nur Patienten mit persistierenden Epitheldefekten der eigenen Hornhaut (Abbildung 1. und 2.) sondern auch viele Patienten mit persistierenden Epitheldefekten auf dem Transplantat (Abbildung 3.).

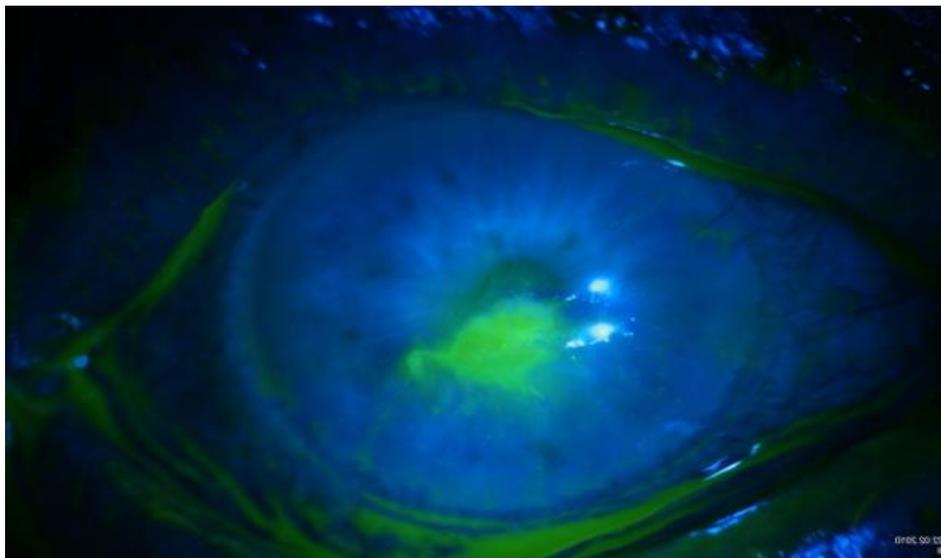


Abbildung 1. Hornhauterosio bei neurotropher Keratitis auf der eigenen Hornhaut, Blaufilter, Fluoreszeinfärbung.

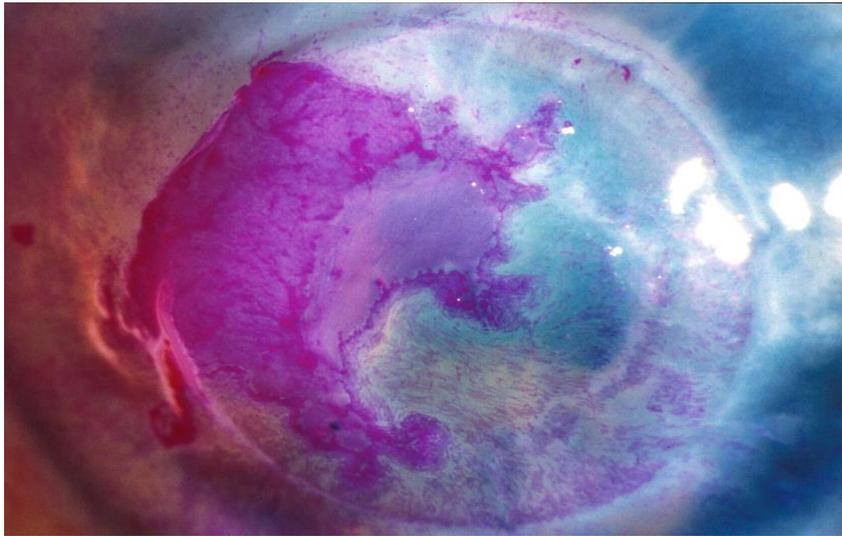


Abbildung 2. Geographische Hornhauterosio bei Herpeskeratitis, Bengalrosafärbung, Z.n. Keratoplastik.

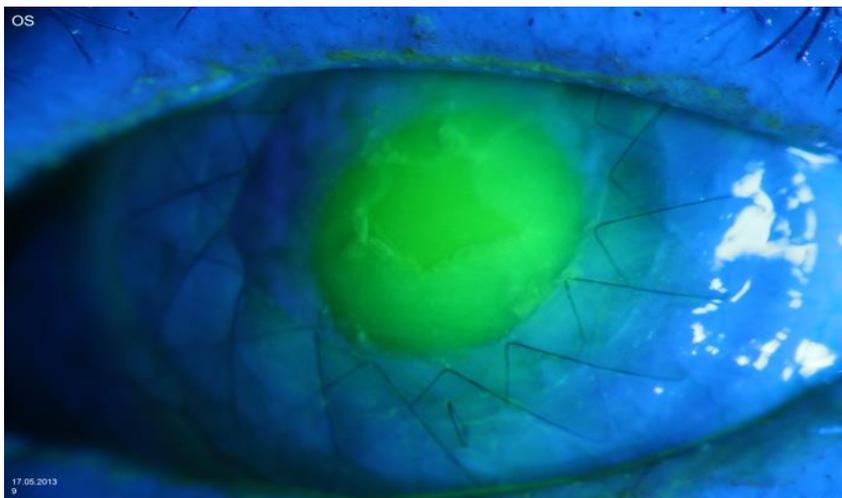


Abbildung 3. Postoperative Hornhauterosio nach perforierender Keratoplastik, Blaufilter, Fluoreszeinfärbung.

## 2.5. Charakteristika der autologen Serumaugentropfen

Autologe Serumaugentropfen werden durch eine Blutentnahme von peripher-venösem Blut und einer darauffolgenden Zentrifugation sowie eventuellen Verdünnung hergestellt.

Die autologen Serumaugentropfen stellen einen natürlichen Ersatz für die Tränen dar, da die biomechanischen und biochemischen Eigenschaften der autologen Serumaugentropfen sich denen der natürlichen Träne annähern<sup>17,18</sup>. Die Hauptkomponenten des Serums sind Proteine, Wachstumsfaktoren und Vitamine (Tabelle 1).

Die Eigenschaften der autologen Serumaugentropfen und Tränen sind in Tab.1. gegenüber gestellt.

	Serum	Träne
Osmolalität	296	298 +/- 10
pH	7,2-7,4	7,2-7,4
Lysozym	5-10,2 (µg/ml)	2,36 (mg/ml)
Lactoferrin	0,17-0,28 (mg/ml)	1,84 (mg/ml)
Albumin	41-51 (mg/ml)	1,3 (mg/ml)
IgA	0,93-3,93 (mg/ml)	0,30 (mg/ml)
EGF (epidermal growth factor)	0,72 (ng/ml)	1,66 (ng/ml)
TGF-β (transforming growth factor)	6-33 (ng/ml)	2-10 (ng/ml)
Vitamin A	200-500 (ng/ml)	16 (ng/ml)

Tabelle 1. Vergleich der Hauptkomponenten im Serum und in der Träne<sup>17</sup>.

Osmolalität und pH-Wert sind in der Tränenflüssigkeit und im Serum fast identisch.

Die Konzentration der gesamten Proteine ist im Serum um 10% höher als in der Träne.

Higuchi *et al.*<sup>19</sup> konnten an einem Rattenmodell nachweisen, dass Albumintropfen einen positiven Effekt auf die Heilung von Hornhauterosiones haben, am ehesten durch die Suppression der Apoptose. Shimmura *et al.*<sup>20</sup> zeigten, dass Albumin, ein globuläres Protein, die klinischen Symptome vom schweren trockenen Auge bei Patienten mit Sjögren-Syndrom

reduziert. In einem Tiermodell mit Ratten heilten oberflächliche Epitheldefekte der Hornhaut mit 10% Albumintropfen signifikant schneller als mit Natriumhyaluronat <sup>20</sup>.

Lysozym, zusammen mit Lactoferrin und Albumin, stellen die Hauptproteine im Serum dar. Lysozym hat eine antiinfektiöse, antimikrobielle Rolle und schützt dadurch die Hornhaut gegen Infektionen.

Lactoferrin gehört zur Proteinfamilie der Transferrine. Es handelt sich um ein eisenbindendes Glykoprotein und ermöglicht den Transport von Eisen in die Hornhaut. Lactoferrin besitzt ebenfalls antivirale, antimikrobielle und antioxidative Eigenschaften <sup>17</sup>.

Die Wachstumsfaktoren (EGF, TGF- $\beta$ ) in der Tränenflüssigkeit und im Serum fördern die Proliferation, Differenzierung und Migration der Epithelzellen der Hornhaut sowie der Bindehaut <sup>17</sup>. Die effiziente Wirkung der Wachstumsfaktoren bei schwerem trockenem Auge wurde in mehreren klinischen Studien bestärkt, in denen eine lokale Therapie mit Serum aus Nabelschnurblut und thrombozytenreichem Plasma bei schwerem trockenem Auge durchgeführt wurde <sup>21,22</sup>. Neben EGF und TGF- $\beta$  findet man noch weitere Wachstumsfaktoren im humanen Serum wie NGF (nerve growth factor), IGF (insulin-like growth factor) sowie PDGF (platelet derived growth factor) <sup>23</sup>.

Vitamin A ermöglicht durch seine antioxidative Wirkung, die Funktion von Bindehaut und Hornhaut zu erhalten und fördert die Differenzierung der Bindehautepithelzellen <sup>17</sup>.

Da die autologen Serumaugentropfen keine Stabilisatoren und Konservierungsmittel enthalten, sind sie gut verträglich, prinzipiell nicht allergen und dadurch weniger toxisch als pharmazeutische Tränenersatzmittel.

Die Konzentration der autologen Serumaugentropfen variiert in Studien von 5%-100%. Zur Zeit gibt es keine einheitliche Herstellungsart.

Es gibt verschiedene Ansätze zur Verdünnung des autologen Serums mit physiologischer Kochsalzlösung.

In der Studie von Liu *et al.* (2005) <sup>37</sup> konnte *in vitro* nachgewiesen werden, dass Serum das mit BSS (Balanced salt solution) verdünnt wurde, einen besseren Effekt auf die Proliferation der kornealen Epithelzellen hat als Serum, das mit NaCl verdünnt wurde.

Zusätzlich konnten Liu *et al.* <sup>38</sup> *in vitro* nachweisen, dass unterschiedliche Konzentrationen von autologem Serum unterschiedliche Wirkung auf die Migration und Proliferation der kornealen Epithelzellen haben. Die höchste Proliferationsrate der kornealen Epithelzellen wurde bei einer Konzentration von 12,5-25% festgestellt. Einige Wachstumsfaktoren erreichen hier womöglich die optimale Konzentration zur Zellstimulation. Die Migrationsrate lag höher bei 100% Serum als bei 25% Serum. Dies scheint auf die höhere Konzentration von Fibronectin zurückzuweisen sein. Liu *et al.* empfehlen somit einen Therapiebeginn mit 25%

Serum. Falls es unter dieser Konzentration zu keiner Wirkung kommen sollte, wird empfohlen die Konzentration zu erhöhen oder das Serum unverdünnt (100%) anzuwenden.

In der Homburger Studie von Wu *et al.* 2017<sup>39</sup> wurde die Wirkung von unterschiedlichen Konzentrationen auf die Viabilität, Proliferation und Migration der Epithelzellen der Hornhaut analysiert. Schlussfolgernd ist die Viabilität und Migration der Epithelzellen der Hornhaut am besten mit 30 % autologem Serum und die Proliferation mit 15 % autologem Serum. Weitere Studien haben die verschiedenen Konzentrationen von autologem Serum und die Wirkung auf das Hornhautepithel untersucht<sup>6,7,9,40,41</sup>.

In unserer Klinik für Augenheilkunde am UKS werden die autologen Serumaugentropfen unverdünnt mit Hilfe von einem Einmalfilter in Einmalflaschen von 5 ml gefüllt. Somit versuchen wir eine eventuelle Kontamination mit Keimen zu verhindern. Appliziert werden die autologen Serumaugentropfen abwechselnd mit Tränenersatzmitteln in unterschiedlichen Schemata, um eine "Verdünnung in situ" zu erreichen.

## 2.6. Komplikationen der autologen Serumaugentropfen

Komplikationen im Zusammenhang mit der lokalen Therapie von autologen Serumaugentropfen sind nur vereinzelt in der Literatur beschrieben worden.

Es liegen Einzelfall-Berichte vor über eine Skleritis bei Patienten mit rheumatoider Arthritis<sup>5</sup>, über Immunkomplexablagerungen nach stündlicher Gabe von 100% autologen Serumaugentropfen<sup>7</sup>, sowie über eine temporäre bakterielle Infektion der Augenlider, der Konjunktiva und der Hornhaut<sup>12,13,42</sup>.

Hierbei kann jedoch nicht sicher geklärt werden, ob es sich bei den Nebeneffekten um Komplikationen der autologen Serumaugentropfen oder um Folgen der vorliegenden Grunderkrankungen handelt.

Die hohe Sicherheit der Therapie mit autologen Serumaugentropfen und die sehr gute Verträglichkeit wurden ebenfalls von Kasper *et al.*<sup>43</sup> beschrieben. In der Publikation aus dem Jahr 2008 wurden 2600 Behandlungen mit autologen Serumaugentropfen mit Hilfe eines Fragebogens analysiert (unter den Mitgliedern der Sektion Kornea der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft). Hier wurde nur eine unerwünschte Nebenwirkung beschrieben in Form von Fibrinablagerungen. Es kam weder zu irreversiblen noch zu systemischen Komplikationen.

In unserer Klinik für Augenheilkunde am UKS wurden bis zum heutigen Zeitpunkt keine negativen Nebeneffekte durch die lokale Verabreichung von 100% autologen Serumaugentropfen festgestellt.

Um eine mikrobielle Kontamination zu verhindern, wird in der Hornhautbank das autologe Serum unverdünnt, 100% hergestellt. Außerdem spielen die korrekte Lagerung und Aufbewahrung der autologen Serumaugentropfen eine wichtige Rolle um eine Kontamination zu vermeiden. Die autologen Serumaugentropfen werden nach der Herstellung tiefgefroren bei -20°C im Dunkeln gelagert. Somit sind sie unangebrochen 3 Monate haltbar.

Nach Öffnen, kann die Tropfflasche 24 Stunden lang im Kühlschrank (+7°C) aufbewahrt werden. Sauer *et al.*<sup>44</sup> konnten sogar nachweisen, dass bis zum vierten Anwendungstag eine sichere Applikation ohne Kontaminationsrisiko erfolgen kann. Dies ist jedoch nur möglich wenn die Tropfflaschen korrekt gelagert werden und die Applikation durch geschultes Personal erfolgt.

## 2.7. Herstellung der autologen Serumaugentropfen

Die autologen Serumaugentropfen zählen zu den Arzneimitteln und Blutprodukten.

Die Arzneimittelherstellungserlaubnis wird von der zuständigen Landesbehörde erteilt.

Im Arzneimittelgesetz (AMG) §13-20d, im dritten Abschnitt "Herstellung von Arzneimitteln", sind die notwendigen Voraussetzungen zur Erteilung einer Herstellungserlaubnis aufgeführt.

Die Voraussetzungen beinhalten unter anderem das Vorhandensein von <sup>45</sup>:

- einer sachkundigen Person, die für die Abläufe der Herstellung und die Freigabe des Arzneimittelproduktes verantwortlich ist (§14 AMG).
- einem Leiter der Herstellung, verantwortlich für die Herstellung der Arzneimittel.
- einem Leiter der Qualitätskontrolle, verantwortlich für die Qualitätskontrolle der Arzneimittel.
- einem Stufenplanbeauftragten, verantwortlich für die Rückverfolgungsverfahren.
- geeigneten Räumen und Einrichtungen.
- der Erfüllung der Bestimmungen der Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung und der guten Herstellungspraxis (AMWHV).

Das Institut für klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin hat zusammen mit der Klinik für Augenheilkunde am UKS am 01.06.2007 die Herstellungserlaubnis für autologe Serumaugentropfen beantragt. Am 19.07.2007 wurde daraufhin die Herstellungserlaubnis für autologen Serumaugentropfen erteilt und am 27.03.2008 weiter ergänzt.

Eine Ausnahme von der Pflicht zur Herstellungserlaubnis stellt die sogenannte "Eine-Hand-Regelung" dar. Das heißt, wenn ein Arzt die autologen Serumaugentropfen selber herstellt und eigenhändig seinem Patienten verabreicht, ist eine Herstellungserlaubnis nicht erforderlich <sup>45</sup>. Die Herstellung und Anwendung steht unter der unmittelbaren fachlichen Verantwortung des Arztes und das Arzneimittel darf nur angewendet, jedoch nicht in den

Verkehr gebracht werden (§13 Abs. 2b Satz1 AMG). In der Klinik für Augenheilkunde am UKS ist Herr Prof. Dr. Berthold Seitz verantwortlich für die Herstellung und damit ausschliesslich stationäre Anwendung der in der Hornhautbank hergestellten autologen Serumaugentropfen. Die autologen Serumaugentropfen werden nach sogenannten "standard operating procedures", d.h. Standardanweisungen zur Herstellung, vom geschulten Fachpersonal der Hornhautbank hergestellt.

Bei Bedarf einer lokalen Therapie mit autologen Serumaugentropfen wird der Patient stationär aufgenommen und wird ausführlich über die Therapie mit autologen Serumaugentropfen aufgeklärt. Die autologen Serumaugentropfen werden nur stationär verabreicht und nicht an den Patienten abgegeben.

Falls der Patient eine längerfristige Therapie mit autologen Serumaugentropfen benötigt, werden diese vom Institut für Hämostaseologie zusätzlich hergestellt und dem Patienten ausgehändigt, damit der Patient die lokale Therapie auch zu Hause applizieren kann.

In der Literatur wurden bereits verschiedene Protokolle zur Herstellung von autologen Serumaugentropfen publiziert, aber bis zum jetzigen Zeitpunkt gibt es keine Standardisierung für die Herstellung von autologen Serumaugentropfen <sup>37,39</sup>.

Die Herstellung der autologen Serumaugentropfen beinhaltet in der Regel mehrere Schritte :

- Blutentnahme
- Gerinnungsphase
- Zentrifugation
- Sterilisation durch Filtration
- Verdünnung und Aufbewahrung
- Lagerung

Die genaue Herstellung der autologen Serumaugentropfen, wie sie bei uns in der Klinik für Augenheilkunde am UKS erfolgt, wird im Kapitel 3. Material und Methodik erläutert.

## 2.8. Zielsetzung

Ziel dieser Arbeit war es, die Wirkung von 100% autologen Serumaugentropfen bei therapieresistenten Epitheldefekten auf der eigenen Hornhaut und auf dem Transplantat zu vergleichen.

Als therapieresistente Epitheldefekte wurden Defekte der Hornhaut beschrieben, die unter intensiver lokaler und systemischer Therapie (Tränenersatzmitteln und/oder immunsuppressiver und/oder antiviraler und/oder antibakterieller und/oder antimykotischer Therapie) keine Heilungstendenz zeigten.

Zwei Hauptzielgrößen waren der komplette Epithelschluss innerhalb von 28 Tagen Therapie (4 Wochen) mit autologen Serumaugentropfen (=Erfolg). Bei allen Behandlungen von therapieresistenten Epitheldefekten mit autologen Serumaugentropfen wurde in der Microsoft Access Datenbank die Zeit bis zum Epithelschluss dokumentiert. Zum Zweiten wurde die Rezidivrate nach primärem Erfolg notiert (=Rezidiv).

Die Haupteinflussfaktoren wie Schwere der Läsion (Hornhauterosio (oberflächlicher Defekt) vs. Hornhautulkus (tiefer Defekt)), die Ätiologie des Epitheldefektes sowie das Tropfschema wurden untersucht.

## 3. PATIENTEN UND METHODIK

### 3.1. Patienten

In einer retrospektiven Studie von 2007-2014 wurden 364 Behandlungen mit unverdünnten autologen Serumaugentropfen bei 303 Augen von 255 Patienten mit therapieresistenten Epitheldefekten untersucht. Unterschieden wurde bei den Auswertungen ob der Patient hornhauttransplantiert war oder ob der Epitheldefekt sich auf seiner eigenen Hornhaut befand. Von den Epitheldefekten waren 175 (48,1%) auf einem Hornhauttransplantat, 189 (51,9 %) befanden sich auf der eigenen Hornhaut.

### 3.2. Ausschlusskriterien

Im Zeitraum von 2007-2014 wurden in der Klinik für Augenheilkunde am UKS deutlich mehr Therapien mit autologen Serumaugentropfen durchgeführt (Gesamtzahl aller von der Hornhautbank vorbereiteten Therapien: 882).

Patientenakten ohne lückenlose Dokumentation wurden nicht in die Auswertungen mit einbezogen.

Ausserdem wurden nur Behandlungen in die Microsoft Access Datenbank mit aufgenommen wo alle notwendigen Behandlungskriterien erfüllt waren (z.B. wurden Patienten bei Sicca Problemen mit autologen Serumaugentropfen therapiert. Hierbei handelt es sich nicht um einen therapieresistenten Epitheldefekt. Diese Behandlungen wurden daher nicht in unsere Studie mit eingeschlossen).

Bei 93 Patienten wurde bei verzögerter Heilung eine Amnionmembran-Transplantation durchgeführt (Abbildung 4. und Abbildung 5.). Hierbei handelte es sich entweder um einen Amnion-Patch oder ein Amnion-Graft. Beim Amnion-Patch handelt es sich um eine Onlay-Technik bei der die Amnionmembran wie eine "natürliche" Kontaktlinse temporär auf die Augenoberfläche aufgenäht wird. Beim Amnion-Graft handelt es sich um eine Inlay-Technik, das heisst die Amnionmembran wird als permanenter Basalmembranersatz eingesetzt.

Diese Patienten wurden in die aktuelle Auswertung nicht eingeschlossen da im Falle einer zusätzlichen Amnionmembrantransplantation die isolierte Wirkung der autologen Serumaugentropfen nicht mehr ausgewertet werden konnte.

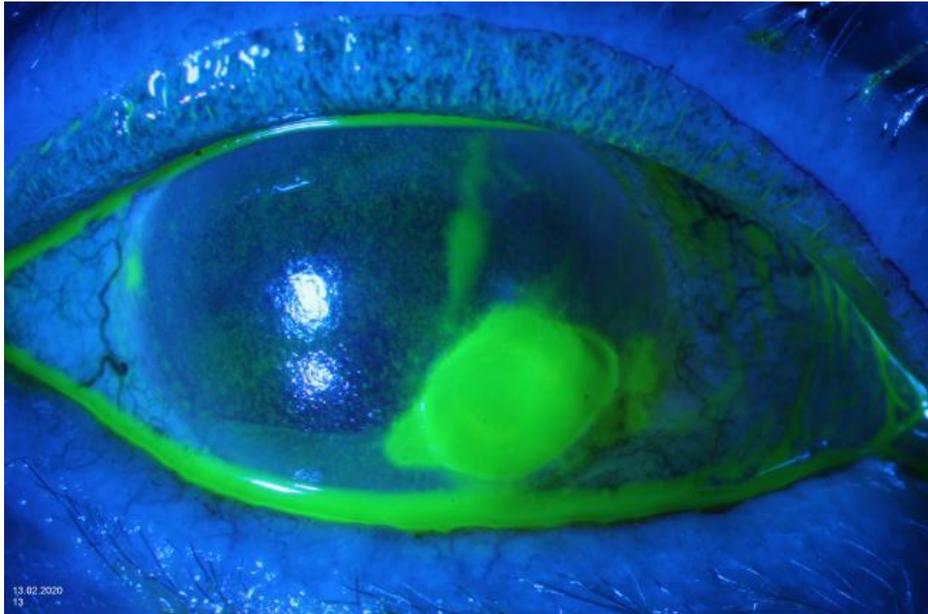


Abbildung 4. Neurotrophes Hornhautulkus, Blaufilter, Fluoreszeinfärbung.

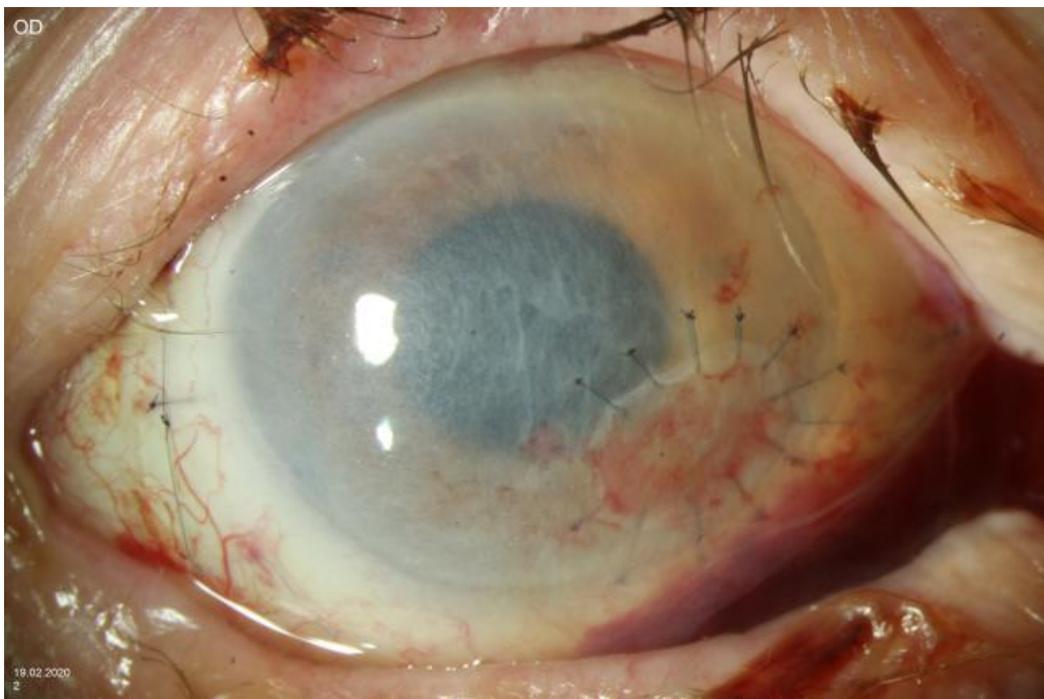


Abbildung 5. Single Graft Sandwich (Amniongraft mit Amnionpatch).

### 3.3. Rekrutierung

Die notwendigen Daten wurden retrospektiv aus den Patientenakten (Papierakte sowie elektronische Patientenakte (FIDUS seit 2016)) der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes in Homburg/Saar entnommen. Hierbei handelte es sich um Patienten, die zwischen den Jahren 2007 bis 2014 mit autologen Serumaugentropfen bei therapieresistenten Epitheldefekten der Kornea behandelt wurden.

Die Daten wurden in eine Microsoft Access Datenbank eingegeben.

### 3.4. Herstellung der autologen Serumaugentropfen in der Klinik für Augenheilkunde am UKS

Die Herstellung von autologen Serumaugentropfen findet im Institut für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin und bei besonderer Dringlichkeit in der Hornhautbank der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes statt.

Das Institut für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin besitzt seit dem 19.07.2007 die Herstellungserlaubnis für autologe Serumaugentropfen. Die Herstellung in der Hornhautbank und stationäre Applikation der autologen Serumaugentropfen erfolgt unter der unmittelbaren fachlichen Verantwortung des Direktors der Klinik. Die autologen Serumaugentropfen werden nach sogenannten "standard operating procedures" vom geschulten Fachpersonal der Hornhautbank hergestellt ("Eine-Hand-Regel", s.u.).

#### 3.4.1. Blutentnahme

Auf Station wird durch den Stationsarzt oder das Pflegepersonal nach schriftlicher Anordnung des Stationsarztes und Einholen des Patienteneinverständnisses eine Blutentnahme durchgeführt (üblicherweise 10 Serumröhrchen). Eine Blutentnahme von 10 Serumröhrchen ist in den meisten Fällen ausreichend, um eine lokale Therapie von mindestens einem Monat zu ermöglichen. Vor der Entnahme des Eigenblutes wird der zu behandelnde Patient ausführlich mündlich über die lokale Therapie aufgeklärt (Indikation, Wirksamkeit, Herstellungsweise, Tropfschema, Risiken). Zusätzlich muss der Patient ein Einverständnis für die Zusatzuntersuchung auf eine HIV-Erkrankung unterzeichnen. Neben einer Testung auf eine HIV-Infektion, erfolgt eine Testung auf Hepatitis B/C sowie CMV und Syphilis.

Das Personal der Hornhautbank wird telefonisch über die herzustellenden autologen Serumaugentropfen informiert, so dass sich das Personal der Hornhautbank auf die Herstellung bereits vorbereiten kann. Das Eigenblut wird dann sofort zusammen mit den

Etiketten des Patienten vom Pflegepersonal der Station in die Hornhautbank der Augenheilkunde gebracht. Dort wird das Eigenblut vom Personal der Hornhautbank persönlich in Empfang genommen.

### 3.4.2. Gerinnungsphase

Das Eigenblut wird bei Raumtemperatur für 60 bis 80 Minuten senkrecht gelagert.

### 3.4.3. Zentrifugation

Danach erfolgt eine 15-minütige Zentrifugation bei 3000 Umdrehungen pro Minute (Zentrifugationsgerät Z206A Firma HERMLE-Labortechnik) (Abbildung 6. und Abbildung 7.).



Abbildung 6. Zentrifugation des entnommenen venösen Blutes.



Abbildung 7. Zentrifugiertes venöses Blut.

#### 3.4.4. Sterilisation und Filtration

Die weiteren Arbeitsschritte erfolgen unter der Sterilbank.

Das Serum wird mit Hilfe einer Transferpipette in ein steriles Einmalgefäß abpipettiert (Abbildung 8.).



Abbildung 8. Autologes Serum.

Dann wird das Serum mit einer 10 ml Luer-Lock Spritze und einer 18g Einmal-Kanüle aufgezogen (Abbildung 9.), die Spritze wird entlüftet.

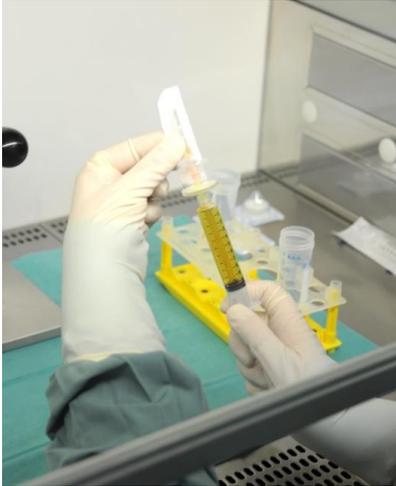


Abbildung 9. Einmalfilter.

Zusätzlich wird ein Einmalfilter mit einer neuen 18g Kanüle aufgesetzt und die Spritze erneut entlüftet.

1,5-2 ml Serum werden dann in eine 5 ml Einmalflasche mit Sano-Tropfer eingespritzt (5ml Augentropfflasche von Braun) (Abbildung 10.).



Abbildung10. Abfüllen des autologen Serum in Einmalflaschen.

Der Bubble-Point Test wird zur Überprüfung des Filters durchgeführt: Falls unter Druck keine Blasen im Wassergefäß austreten, ist der Filter intakt.

### 3.4.5. Verdünnung

Die autologen Serumaugentropfen werden bei der Herstellung in unserer Hornhautbank nicht verdünnt. Es handelt sich also um primär 100% autologe Serumaugentropfen. Damit versuchen wir das Kontaminationsrisiko durch Verdünnung mit BSS während der Herstellung der autologen Serumaugentropfen zu reduzieren.

### 3.4.6. Aufbewahrung

Die 5 ml Flaschen werden dann mit dem Sano-Tropfer mittels einer Verschlussstanze verschlossen (Abbildung 11. und Abbildung 12.).



Abbildung 11. Autologes Serum in 5 ml Einmalflasche.



Abbildung 12. Verschluss der Einmalflasche mit Sano-Tropfer mittels einer Verschlussstanze.

Jede Flasche wird mit der Art der Medikamentenzubereitung, Namen des Patienten, Herstellungs- und Verfallsdatum sowie Kennung der Gewebebank beschriftet.

Als letzter Schritt erfolgt eine ausführliche Dokumentation der Laborbefunde, Herstellung, Abgabe, etc. in einer separaten Akte.

### 3.5. Lagerung der autologen Serumaugentropfen

Die autologen Serumaugentropfen müssen tiefgekühlt bei -20°C gelagert werden. Sie sollten im Dunkeln gelagert werden, um den Abbau von Vitamin A zu verhindern.

In der Hornhautbank der Klinik für Augenheilkunde am UKS werden die autologen Serumaugentropfen unangebrochen bis zu 3 Monate aufbewahrt.

Sobald die autologen Serumaugentropfen angebrochen sind, empfehlen wir, das Serum nach 24 Stunden zu verwerfen. Da die autologen Serumaugentropfen keine Konservierungsmittel beinhalten, ist ihre Haltbarkeit limitiert. Eine Tropfflasche sollte demnach innerhalb von einem Tag verwendet werden und sollte während dieser Zeitspanne im Kühlschrank (+7°C) in dunkler Umgebung (zur Vermeidung der Vitamin-A-Zersetzung) aufbewahrt werden. Somit wird das Risiko einer eventuellen Kontaminierung durch Bakterien, Viren oder Pilze reduziert. In einer Studie von Sauer *et al.* <sup>44</sup> konnte nachgewiesen werden, dass eine Kontaminationsfreiheit sogar bis zum vierten Anwendungstag gewährleistet werden kann, wenn die Lagerungsbedingungen eingehalten werden und die Applikation durch geschultes Personal erfolgt. Die Tropfflaschen müssen für Fremde und Kinder unzugänglich aufbewahrt werden.

In einer 2021 publizierten Studie von Anitua *et al.* <sup>46</sup> die die Haltbarkeit von "Plasma reich an Wachstumsfaktoren" untersuchte, zeigte sich dass bei -20°C Lagerung von sogar 9-12 Monaten alle Wachstumsfaktoren erhalten blieben und es zu keiner Kontamination gekommen ist. Zusätzlich konnte nachgewiesen werden dass sogar nach Auftauen und Aufbewahrung bei Raumtemperatur oder 4°C die Haltbarkeit des Plasma garantiert werden konnte.

### 3.6. Applikation der autologen Serumaugentropfen

Die Behandlung mit den in der Hornhautbank durch Fachpersonal hergestellten autologen Serumaugentropfen wird ausschließlich stationär durchgeführt. Es erfolgt keine Abgabe der Tropfen an ambulante Patienten.

Es besteht eine sehr enge Zusammenarbeit mit dem Institut für klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin am Universitätsklinikum des Saarlandes. Das transfusionsmedizinische Institut verfügt seit 2007 über die Herstellungserlaubnis von autologen Serumaugentropfen. Dies ermöglicht den ambulanten Patienten, die autologen Serumaugentropfen auch außerhalb des stationären Aufenthaltes zu erhalten.

Auf Station werden die Tropfen durch das assistierende Personal (Stationsarzt oder Pflegepersonal) dem Patienten verabreicht.

Die Patienten wurden mit unverdünnten 100% autologen Serumaugentropfen behandelt. Unterschieden wird zwischen drei verschiedenen Tropfschemata:

- 8 Applikationen von jeweils einem Tropfen pro Tag (n=26).
- 12 Applikationen von jeweils einem Tropfen pro Tag (stündlich) (n=218).
- 24 Applikationen von jeweils einem Tropfen pro Tag (halbstündlich) (n=4).

Zusätzlich zu den autologen Serumaugentropfen werden hyaluronsäurehaltige Tränenersatzmittel sowie je nach Ätiologie antiinfektiöse und/oder kortisonhaltige Tropfen appliziert. Bevorzugt werden in jedem Fall konservierungsmittelfreie Tropfen.

### 3.7. Variablen

In der Microsoft Access Datenbank wurden retrospektiv die Daten von 364 Behandlungen mit autologen Serumaugentropfen erhoben.

Untersucht wurde, ob es sich beim behandelten Gewebe um eigenes Hornhautgewebe oder transplantiertes Gewebe handelte.

Die Schwere der Läsion wurde analysiert, d.h. ob es sich um eine Hornhauterosio oder ein Hornhautulkus handelte.

Die Ätiologie des therapieresistenten Hornhautdefektes wurde untersucht. Bei den häufigsten Ätiologien handelte es sich um postinfektiöse (Viren, Bakterien, Pilze, Akanthamöben) und postoperative Epitheldefekte sowie Epitheldefekte nach penetrierendem/perforierendem Hornhauttrauma.

Zusätzlich wurde die Häufigkeit der Applikation der autologen Serumaugentropfen notiert. Unterschieden wurde zwischen drei Tropfschemata: 8 Applikationen pro Tag, 12 Applikationen pro Tag und 24 Applikationen pro Tag.

Neben den autologen Serumaugentropfen wurden ebenfalls die zusätzliche lokale Therapie (antiinfektiöse, immunsuppressive, hyaluronsäurehaltige Augentropfen) sowie systemische Therapie (antiinfektiöse, immunsuppressive Therapie) in die Microsoft Access Datenbank eingetragen.

### 3.8. Zielgrößen

Zielgrößen waren 1) der komplette Epithelschluss des Hornhautdefektes nach 28 kontinuierlichen Behandlungstagen mit unverdünnten autologen Serumaugentropfen sowie 2) die Rezidivrate nach erfolgreicher Therapie. Nach 1 Woche, 2 Wochen, 3 Wochen und 4 Wochen (28 Tage) Behandlung wurde jeweils der Prozentsatz an zugeheilten Epitheldefekten ausgewertet und die mittlere Zeit bis zur Heilung ausgewertet. Der Epithelschluss innerhalb von 28 Tagen Therapie mit autologen Serumaugentropfen wurde als Erfolg der Therapie definiert.

Ein Epithelschluss nach mehr als 28 Tagen Tropftherapie wurde als Misserfolg angesehen.

### 3.9. Statistische Methoden

Die Daten wurden in einer Microsoft Access Datenbank erhoben und im IBM SPSS Statistik für Windows Programm (Version 20) ausgewertet. Die Daten wurden deskriptiv mittels Mittelwert, Median, Standardabweichung, Minimum und Maximum dargestellt. Der Chi-Quadrat-Test arbeitete die Signifikanz heraus. Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert < 0,05 definiert. Die Ergebnisse wurden anhand von einer Kaplan-Meier-Kurve dargestellt. Auf der X-Achse wurde der Beobachtungsintervall in Tagen eingezeichnet und auf der Y-Achse der Anteil der zugeheilten Epitheldefekte. Zum Vergleich zweier Gruppen wurde der Log Rank Test durchgeführt.

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1. Allgemein

In einer retrospektiven Studie von über 7 Jahre wurden 364 Behandlungen mit autologen 100% Serumaugentropfen bei 303 Augen von 255 Patienten durchgeführt. Behandelt wurden Patienten zwischen 0 und 93 Jahren mit einem Durchschnittsalter von 64 Jahren. Von den therapieresistenten Epitheldefekten waren 175 (48,1%) auf einem Hornhauttransplantat und 189 (51,9%) auf der eigenen Hornhaut.

Bei einigen Patienten kam es zu einer oder mehreren Rezidiven des Epitheldefektes so dass mehrere Behandlungen bei diesen Patienten über die Jahre erfolgten und untersucht wurden. Der Zeitraum des Rezidivs des Epitheldefektes war von Patient zu Patient sehr unterschiedlich und variierte von einigen Wochen nach Absetzen der autologen

Serumaugentropfen bis zu mehreren Monaten oder Jahren. Insgesamt wurde während des Beobachtungszeitraumes von 2007-2014 (von 364 Patienten) ein Patient 7x mit autologen Serumaugentropfen therapiert, bei einem Patienten kam es zu 3 Rezidiven, bei sieben Patienten zu 2 Rezidiven und bei 25 Patienten zu 1 Rezidiv des Epitheldefektes.

Patienten mit unvollständiger Aktendokumentation sowie Patienten die innerhalb der 28 Behandlungstage eine Amnionmembrantransplantation bekamen (n=93) wurden ausgeschlossen, da dies eine Auswertung der Wirkung der autologen Serumaugentropfen unmöglich machte.

#### 4.2. Erfolgreicher Epithelschluss

Bei 88,2% der untersuchten Behandlungen (n=263) mit autologen Serumaugentropfen von therapieresistenten Epitheldefekten kam es zu einer vollständigen Heilung des Epitheldefektes bis zu Tag 28 nach Beginn der Therapie.

Am 7. Behandlungstag waren bereits 65,4% der Epitheldefekte zugeheilt. Am 14. Behandlungstag waren 73,8% zugeheilt und am 21. Behandlungstag waren 80,6% der Epitheldefekte zugeheilt.

Nach 5,0 +/- 0,2 Tagen waren 50% der Epitheldefekte zugeheilt.

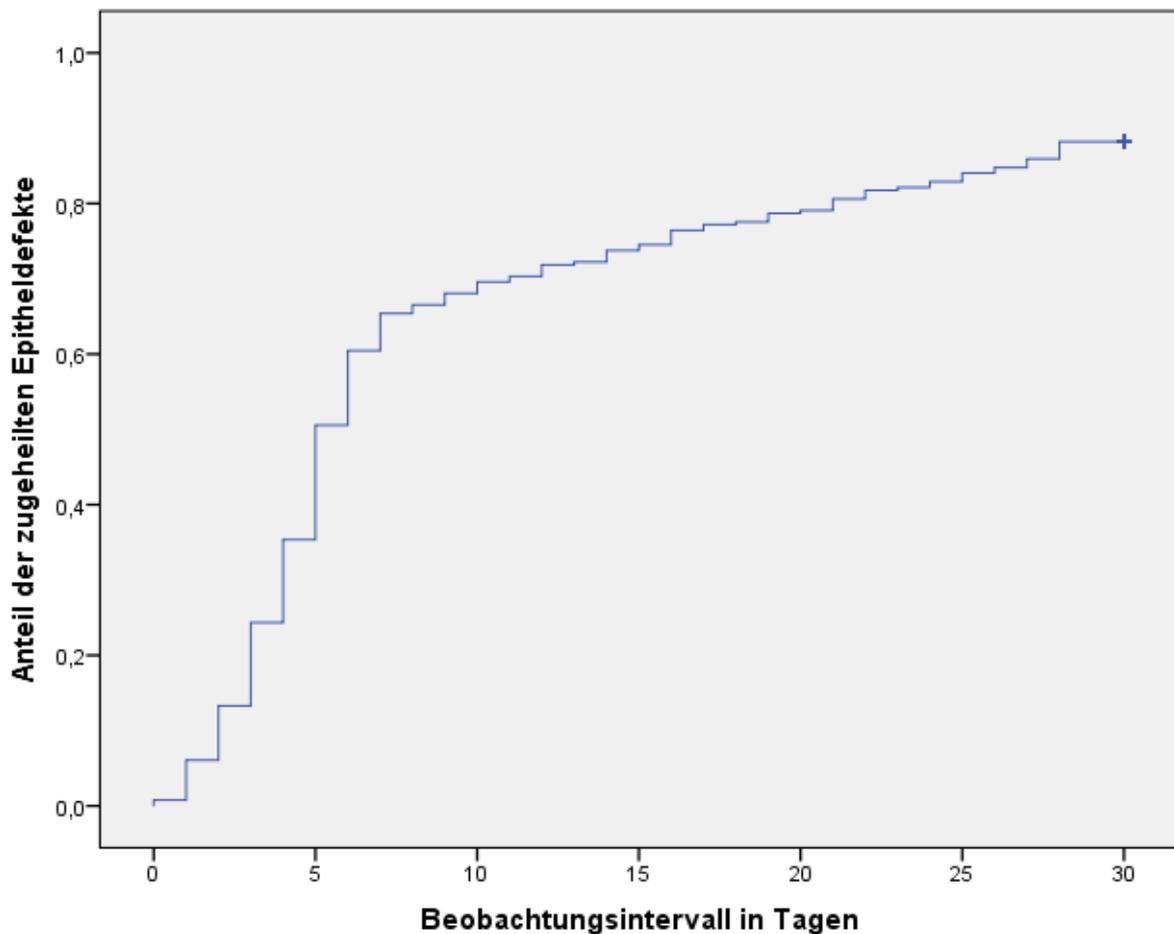


Abbildung 13. Heilungstendenz der Epitheldefekte innerhalb von 28 Tagen (n=263).

Bei 12 (5,1%) behandelten und erfolgreich geschlossenen Defekten kam es nach Abschluss der 1-monatigen Therapie zur Rezidive des Epitheldefektes, so dass eine erneute Therapie notwendig war.

#### 4.3. Behandeltes Gewebe (transplantierte Hornhaut vs. eigene Hornhaut)

Bei der Behandlung von transplantierten Hornhäuten (n=132) lag die Erfolgsrate bei 88,6% am 28. Behandlungstag. Am 7. Behandlungstag waren 67,4% der Epitheldefekte zugeheilt, am 14. Behandlungstag 77,2% und am 21. Behandlungstag 83,3% zugeheilt. Nach  $5,0 \pm 0,3$  Tagen waren 50% der Epitheldefekte zugeheilt. Bei der eigenen Hornhaut (n=131) lag die Erfolgsrate bei 87,8% am 28. Behandlungstag. Am 7. Behandlungstag waren 63,3% der Epitheldefekte zugeheilt, am 14. Behandlungstag 70,2% und am 21. Behandlungstag 77,8% zugeheilt. Nach  $6,0 \pm 0,2$  Tagen waren 50% der Epitheldefekte zugeheilt.

Bei der Therapie von Epitheldefekten auf dem Hornhauttransplantat zeigte sich eine geringfügig schnellere Heilungstendenz als bei der Heilung von Defekten auf der eigenen Hornhaut, jedoch gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied ( $p=0,137$ ).

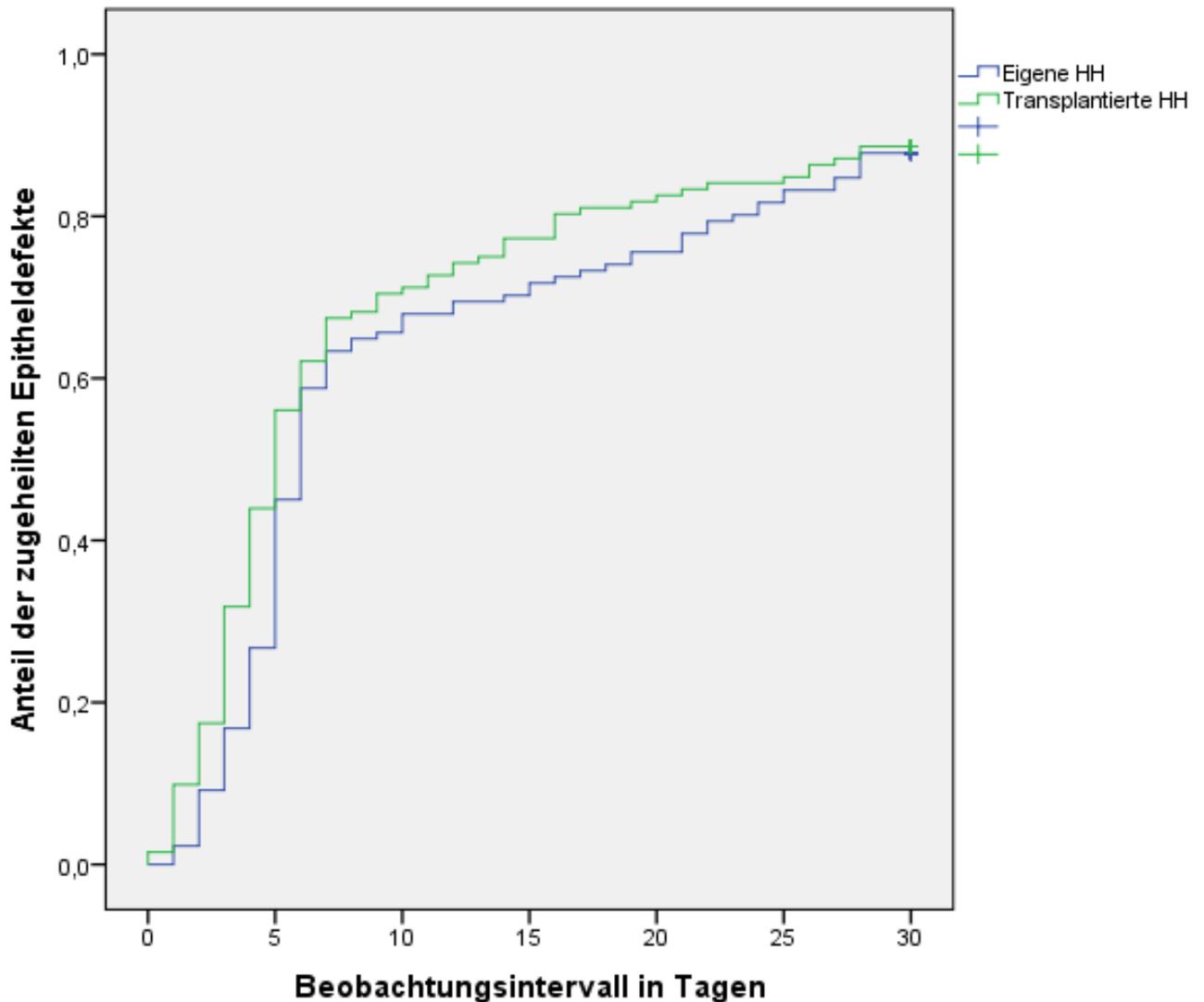


Abbildung 14. Heilungstendenz von Epitheldefekten der eigenen Hornhaut ( $n=131$ ) im Vergleich zu Epitheldefekten auf einer transplantierten Hornhaut ( $n=132$ ) (Grün = transplantierte Hornhaut, Blau = eigene Hornhaut,  $p=0,137$ , Logrank-Test).

Bei der eigenen Hornhaut rezidierten nach erfolgreichem Epithelschluss 2 Epitheldefekte (1,7%), bei transplantiertem Hornhaut rezidierten nach erfolgreichem Epithelschluss 10 Epitheldefekte (6,4%).

#### 4.4. Schwere der Läsion

Von den untersuchten therapieresistenten Epitheldefekten (n=258) waren 227 (87,9%) Erosiones und 31 (12,0%) Ulcera.

Bei den Erosiones waren nach 7 Tagen 69,2% zugeheilt, nach 14 Tagen 78,0%, nach 21 Tagen 83,7% und nach 28 Tagen 90,3% zugeheilt.

Bei den Ulcera waren nach 7 Tagen 35,5% zugeheilt, nach 14 Tagen 41,9%, nach 21 Tagen 58,1% und nach 28 Tagen 74,2% zugeheilt.

Somit zeigte sich bei den Ulcera eine deutlich geringere Heilungstendenz ( $p=0,001$ ).

Der Heilungsprozess war bei den Hornhautulcera signifikant langsamer (20 +/- 3,8 Tage bis 50% Epithelschluss) als bei den Erosiones (5,0 +/- 0,2 Tage bis 50% Epithelschluss) ( $p=0,001$ ).

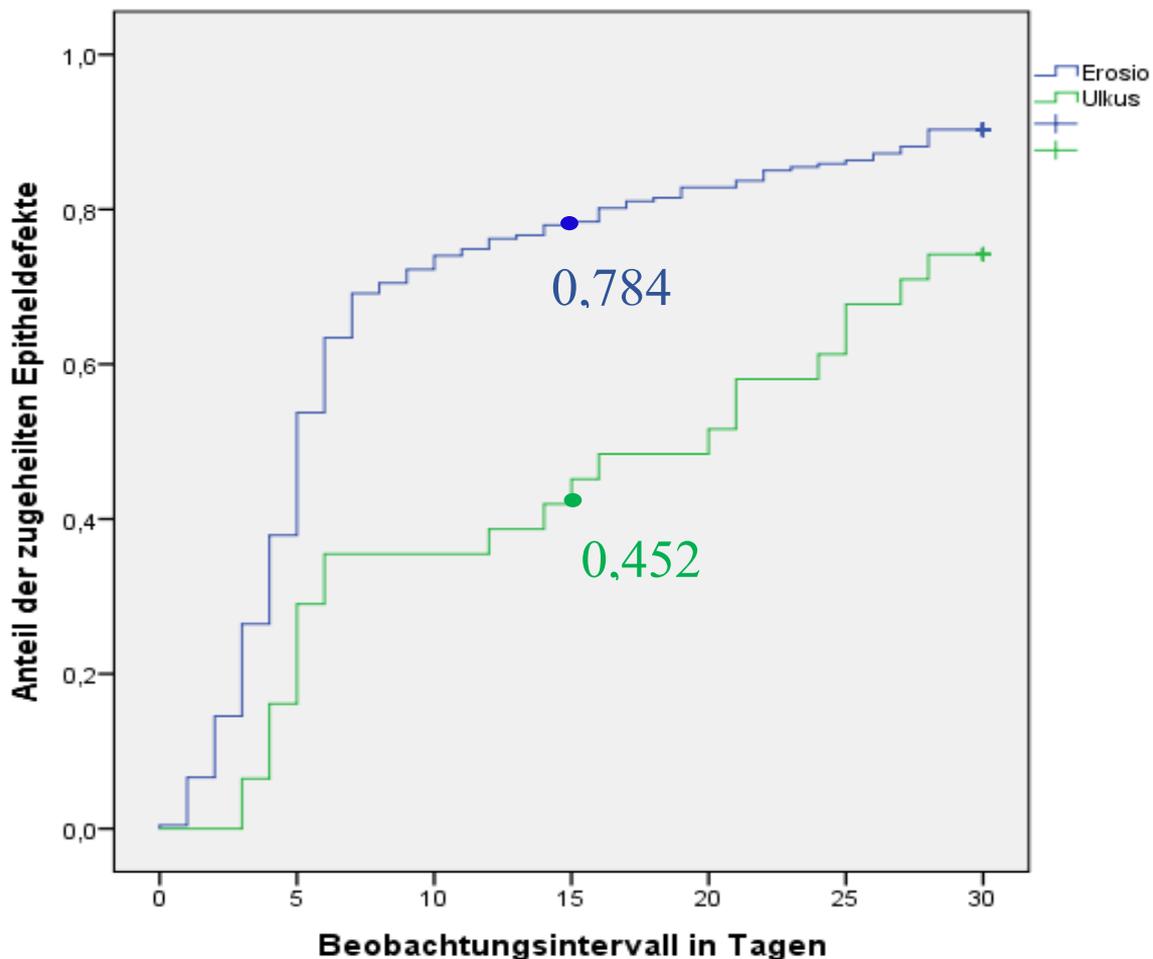


Abbildung 15. Signifikant schnellere Heilungstendenz von Erosiones (n=227) im Vergleich zu Ulcera (n=31) innerhalb von 28 Tagen (Grün = Ulcera, Blau = Erosiones,  $p=0,001$ , Logrank-Test).

11 Erosiones (4,4%) und 1 Ulkus (4,3%) die geschlossen waren sind nach 31 Tagen wieder rezidiert und benötigten einer erneute Therapie.

#### 4.5. Ätiologie des therapieresistenten Epitheldefektes

Untersucht wurden eine große Anzahl an Ätiologien.

Die häufigsten Ätiologien für therapieresistente Epitheldefekte wurden statistisch ausgewertet. Ätiologien wie Limbusstammzellinsuffizienz bei kongenitaler Aniridie oder Verätzung wurden wegen einer zu kleinen Anzahl an Patienten nicht berücksichtigt.

Bei der Genese des therapieresistenten Epitheldefektes wurde unterschieden zwischen

- Postinfektiös (n=71) (Viren, Bakterien, Pilze und Akanthamoeben).
- Postoperativ (n=185) (davon perforierende Hornhauttransplantation (n=133)).
- Z.n. perforierender oder penetrierender Hornhautverletzung (n=1).

Die postinfektiösen Epitheldefekten zeigten unter lokaler Therapie mit autologen Serumaugentropfen eine signifikant ( $p=0,011$ ) schlechtere Heilungstendenz als bei postoperativen oder posttraumatischen Epitheldefekten.

Bei Epitheldefekten durch einen vorangegangenen operativen Eingriff oder Trauma ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Heilungstendenz.

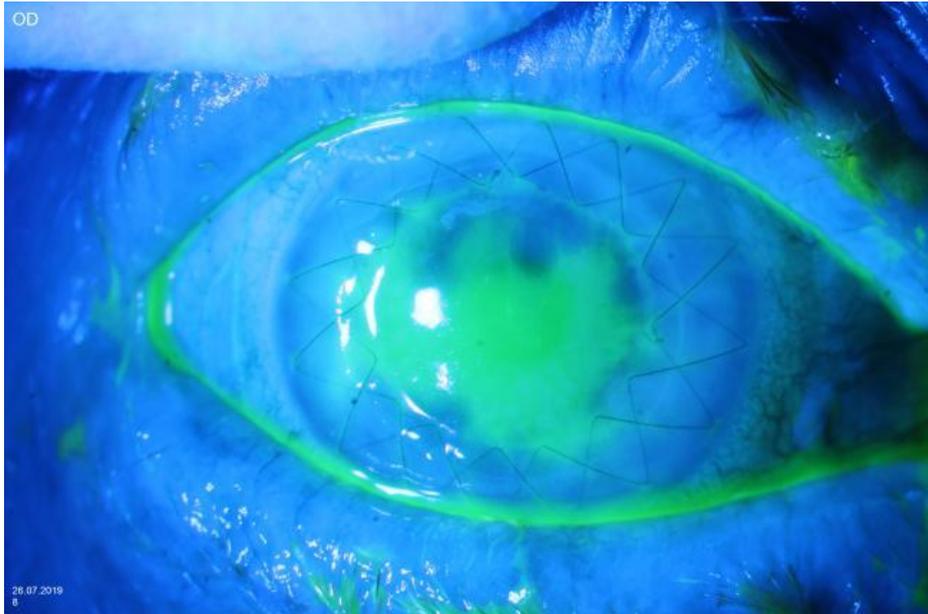


Abbildung 16. Postoperative Erosio auf dem Transplantat, Blaufilter, Fluoreszeinfärbung.

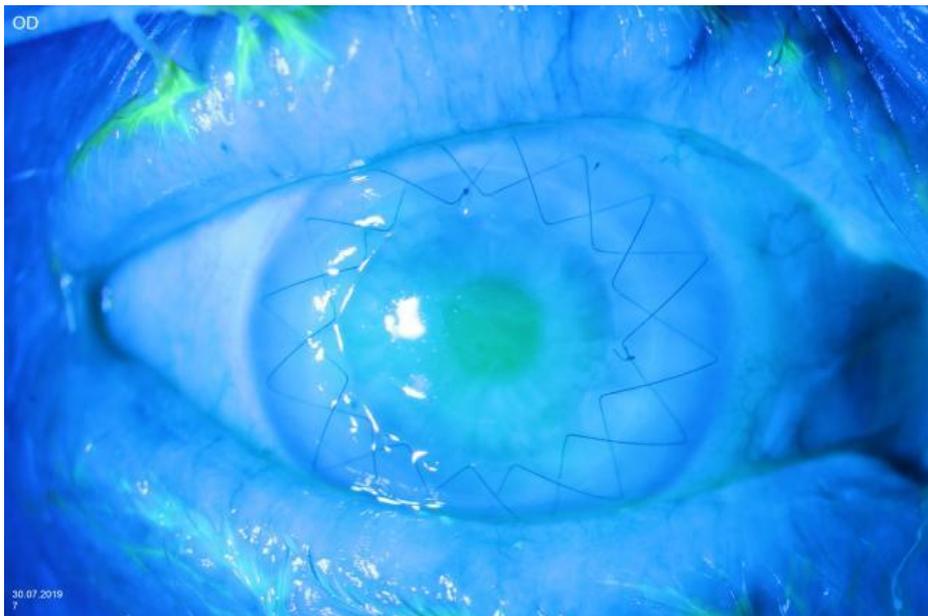


Abbildung 17. Geschlossene Erosio sieben Tage nach Therapie mit autologen Serumaugentropfen, Blaufilter, Fluoreszeinfärbung.

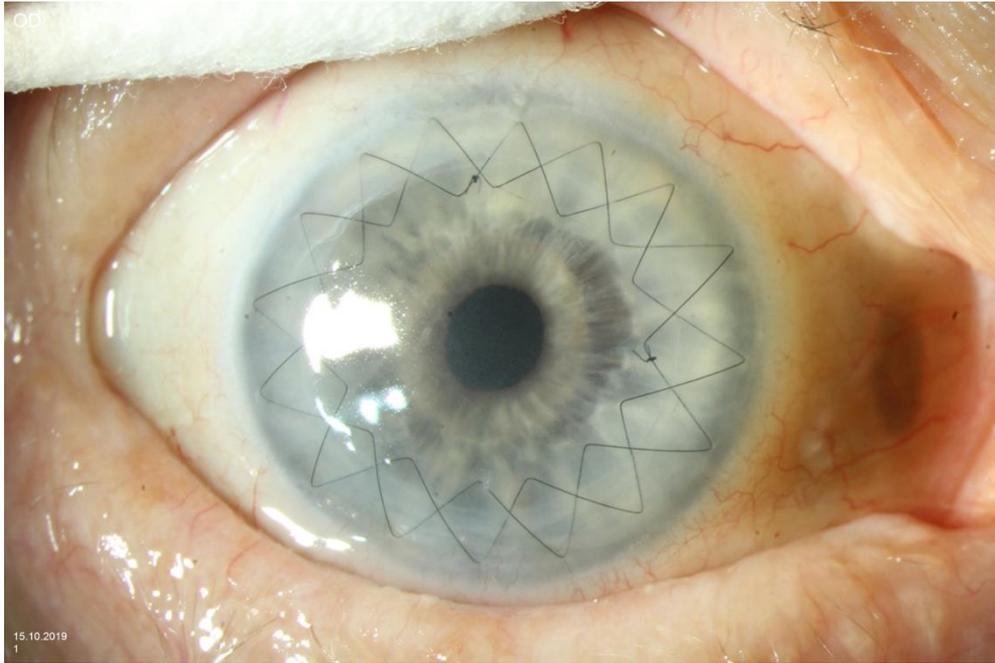


Abbildung 18. Geschlossene Erosio sieben Tage nach Therapie mit autologen Serumaugentropfen.

#### 4.6. Therapieschema

Appliziert wurden 100% autologe Serumaugentropfen in 3 verschiedenen Haupt-Tropfschemen:

- 8x/Tag (alle 1,5 Stunden) (n=26).
- 12x/Tag (stündlich) (n=218).
- 24x/Tag (halbstündlich) (n=4).

Bei dem Tropfschema 8x/Tag waren nach 7 Tagen 53,8% zugeheilt, nach 14 Tagen 57,7%, nach 21 Tagen 61,5% und nach 28 Tagen 73,1% zugeheilt.

Bei dem Tropfschema 12x/Tag waren nach 7 Tagen 67,9% zugeheilt, nach 14 Tagen 76,6%, nach 21 Tagen 83,9% und nach 28 Tagen 99,2% zugeheilt.

Bei dem Tropfschema 24x/Tag (n=4) waren nach 7 Tagen sowie nach 28 Tagen 75% (3 von 4 Epitheldefekten) zugeheilt. 1 Epitheldefekt heilte nicht zu.

Hierbei zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den 3 Tropfschemata ( $p=0,1$ ). Bei der intensiveren Applikation von 24x/Tag waren nach  $3,0 \pm 1,5$  Tagen bis zu 50% der Epitheldefekte zugeheilt, bei dem Tropfschema 12x/Tag zeigten sich nach  $5,0 \pm 0,2$  Tagen bis zu 50% Epithelschluss, bei 8x/Tag waren nach  $6,0 \pm 3,3$  Tage bis zu 50% der Epitheldefekte zugeheilt.

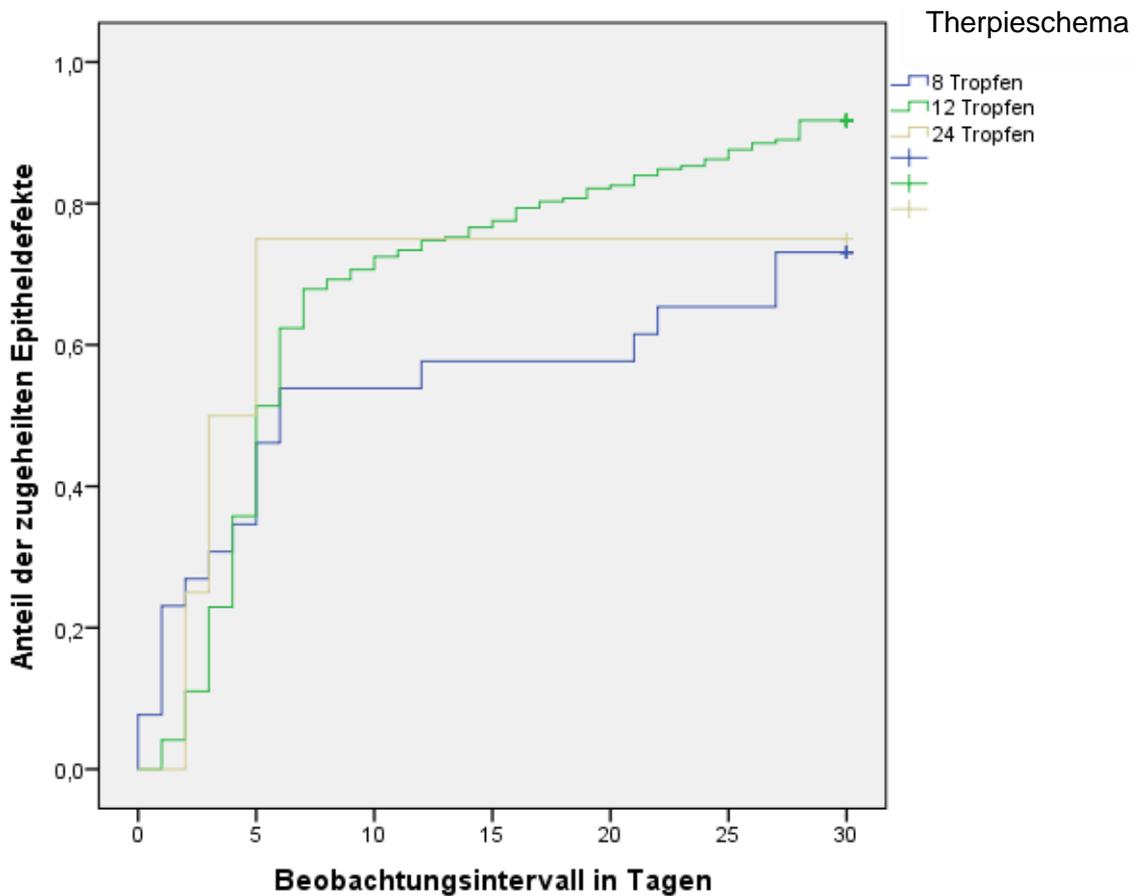


Abbildung 19. Heilungstendenz von Epitheldefekten mit einem Tropfschema von 8x/Tag im Vergleich zu 12x/Tag und 24x/Tag (Grau = Applikation der autologen Serumaugentropfen 24x/Tag, Grün = Applikation der autologen Serumaugentropfen 12x/Tag, Blau = Applikation der autologen Serumaugentropfen 8x/Tag,  $p=0,1$ , Logrank-Test).

#### 4.7. Komplikationen der Therapie mit autologen Serumaugentropfen

Bei keinem der behandelten Patienten kam es zu Komplikationen durch die Applikation von autologen Serumaugentropfen. Weder Fibrinablagerung wie von Kasper *et al.*<sup>43</sup> beschrieben, noch infektiöse Komplikationen traten auf.

Eine Kontamination der autologen Serumaugentropfen wurde dadurch vermieden, dass die Tropfen nicht verdünnt wurden, sowie durch die adäquate Lagerung und Aufbewahrung und Entsorgung des Tropfbehälters am Ende des Tages.

## 5. DISKUSSION

Die lokale Therapie mit autologen Serumaugentropfen kann sowohl bei Patienten mit schwerer therapierefraktärer Keratokonjunktivitis sicca als auch bei Patienten mit persistierenden Epitheldefekten der Hornhaut angewendet werden.

Das trockene Auge entsteht entweder durch einen Defizit der wässrigen Phase des Tränenfilms oder durch eine Lipidstörung des Tränenfilms. Die Ätiologie der Keratokonjunktivitis sicca ist multifaktoriell. Hauptursache sind Autoimmunerkrankungen wie das Sjögren Syndrom, Diabetes mellitus, die Einnahme von Medikamenten (z.B. Antidepressiva,  $\beta$ -Blocker) aber auch Umweltfaktoren wie lange Bildschirmarbeit. Das trockene Auge ist oft eine chronische Erkrankung, die das Leben der Patienten sehr beeinträchtigen kann. Die Patienten stellen sich mit einer grossen Bandbreite an Symptomen vor (Tränendes Auge, Brennen, Stechen,...). Die Benutzung von autologen Serumaugentropfen bei Patienten mit schwerer Sicca Symptomatik wurde erstmalig 1975 von Ralph *et al*<sup>10</sup> beschrieben. Ab 1985 setzten sich die autologen Serumaugentropfen dann mit der Publikation von Fox *et al.*<sup>5</sup> als Therapie bei schwerem trockenem Auge durch. Über die Jahre wurde die effiziente Wirkung der autologen Serumaugentropfen bei Keratokonjunktivitis sicca in weiteren Studien bestärkt<sup>5,7,11-14,16,18,42,47-56</sup>. Die autologen Serumaugentropfen werden bei schwerem trockenem Auge zusätzlich zu der weiteren Sicca Therapie appliziert. Diese besteht hauptsächlich aus künstlichen Tränenersatzmitteln ohne Konservierungsstoffe, entzündungshemmenden Tropfen (Kortison und Ciclosporin A), Tetrazykline, sowie Verbandskontaktlinsen und Punctum Plugs. In der Klinik für Augenheilkunde am UKS besteht bei schwerer therapierefraktärer Siccasympptomatik die Möglichkeit einer ambulanten Therapie mit Herstellung und Abgabe der autologen Serumaugentropfen durch das Institut für klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin. Die Patienten werden in diesem Fall nicht stationär behandelt.

Wir haben in unserer retrospektiven Studie die Wirkung von autologen Serumaugentropfen bei Epitheldefekten wie Erosiones oder Ulcera untersucht. Hierbei handelt es sich um Patienten mit einem persistierenden Hornhautdefekt trotz intensiver lokaler und systemischer Therapie über mehrere Wochen. Therapiert wird mit unkonservierten Tränenersatzmitteln, je nach Ätiologie antibakteriellen, antiviralen, antimykotischen, immunsuppressiven Tropfen sowie systemischer Therapie. Bei bakterieller Ätiologie werden hauptsächlich Fluorchinolone wie Floxal® (Ofloxacin) und Vigamox® (Moxifloxacin), sowie weitere Breitband Antibiotika wie Polyspectran® (Polymixin B, Neomycin, Gramicidin) und das Antimykotikum Natamycin appliziert. Bei Aminoglycosiden wie Gentamicin und Neomycin muss auf die Epitheltoxizität geachtet werden. Bei viraler Keratitis wird mit Virgan® (Ganciclovir) oder Aciclovir® AS

(Aciclovir) therapiert. Bei mykotischen Epitheldefekten wird Voriconazol 2% appliziert. Lokale Steroide sollten bei persistierenden Epitheldefekten nie alleine sondern immer in Kombination mit antibakteriellen, antiviralen oder antimykotischen Tropfen appliziert werden. Die systemische Therapie wird ebenfalls an die Ätiologie angepasst: Systemische Antibiotika bei bakterieller Keratitis, V-Fend® (Voriconazol) bei mykotischer Keratitis, Aciclovir, Valaciclovir oder Ganciclovir bei viraler Ätiologie, sowie bei Bedarf Steroide oder weitere immunsuppressive orale Medikamente. Selbstverständlich erfolgt im Verlauf der Behandlung eine Anpassung der Therapie an die Resultate der Proben die entnommen wurden durch Bindehautabstrich, Hornhautabstrich, Abkratzpräparate der Hornhaut, Biopsie der Hornhaut, Kammerwasseruntersuchung mittels PCR.

Bei fehlender Heilungstendenz werden die Patienten stationär aufgenommen und es wird nach Eradikation des infektiösen Erregers zusätzlich eine Therapie mit autologen Serumaugentropfen gestartet. Diese erfolgt ausschließlich stationär.

Bei den therapieresistenten Epitheldefekten findet man in der Literatur eine große Anzahl von Studien, die die Therapieerfolge vom autologen Serum darstellen <sup>6-9,11,15,43,50,57-65</sup>.

Dies konnten wir in unserer retrospektiven Studie bestätigen. Nach 1 Woche kontinuierlicher Therapie mit autologen Serumaugentropfen waren bereits 65,4% der Epitheldefekte zugeheilt. Nach 2 Wochen waren 73,8% zugeheilt und nach 3 Wochen waren 80,6% der Epitheldefekte zugeheilt. Nach 28 Tagen waren 88,2% der Epitheldefekt komplett verheilt.

## 5.1. Eigene Hornhaut versus Transplantat

Es konnte kein signifikanter Unterschied in der Heilungstendenz zwischen Defekten auf der eigenen Hornhaut und Defekten auf transplantiertem Gewebe festgestellt werden. Innerhalb von 28 Tagen kam es bei 88,2% zu einem kompletten Epithelschluss der Hornhaut.

Dieses Resultat ist überraschend, da in mehreren Studien nachgewiesen werden konnte, dass die Anatomie von transplantiertem Hornhautgewebe auch Monate nach der Transplantation noch nicht der initialen Anatomie einer Hornhaut entspricht. Der subbasale Nervenplexus, der anhand von konfokaler in vivo Mikroskopie untersucht werden kann, ist auch Monate nach einer Transplantation zentral noch nicht komplett regeneriert <sup>66</sup>. In einer klinischen Studie konnten Darwish T *et al.* <sup>67</sup> nachweisen dass erst im Schnitt 12 Monate nach einer Hornhauttransplantation die Hornhautsensibilität wieder retabliert und somit auch der subbasale Nervenplexus wiederhergestellt war. Patel *et al.* <sup>68</sup> beschreiben jedoch, dass sogar 30 Jahre postoperativ der Nervenplexus nicht komplett regeneriert ist. In einer Studie von Niederer *et al.* <sup>69</sup> sind es sogar 40 Jahre nach perforierender Keratoplastik.

In einer prospektiven Studie von Ferreira de Souza *et al.*<sup>9</sup> wurden 70 Augen mit 100% autologen Serumaugentropfen therapiert. Von den 70 Augen bestand bei 45 Augen der Epitheldefekt nach perforierender Hornhauttransplantation, bei den restlichen 25 Augen war der Epitheldefekt auf der eigenen Hornhaut. Hier zeigte sich dass die Epitheldefekte nach perforierender Keratoplastik eine bessere Heilungstendenz mit weniger Misserfolg hatten als Epitheldefekte auf der eigenen Hornhaut. Die Misserfolgsrate nach perforierender Keratoplastik lag bei nur 13%, wohingegen sie bei den Augen ohne vorherige Keratoplastik bei 28% lag. In unserer Studie zeigte sich ebenfalls bei Epitheldefekten auf dem Hornhauttransplantat eine schnellere Heilungstendenz als bei der Heilung von Defekten auf der eigenen Hornhaut, jedoch gab es keinen statistisch signifikanten Unterschied ( $p=0,137$ ).

Die Wachstumsfaktoren der autologen Serumaugentropfen fördern die Proliferation, Differenzierung und Migration der Epithelzellen der Hornhaut sowie der Bindehaut.

Die Limbusstammzellen spielen eine wichtige Rolle in der Epithelheilung, da von den Limbusstammzellen aus die Zellen in die Kornea migrieren und sich dort zu Epithelzellen umbilden. Bei unseren Patienten lag keine Limbusstammzellinsuffizienz vor, da wir Patienten mit kongenitaler Aniridie von der Studie ausgeschlossen haben. Ebenfalls haben wir keine Patienten mit Limbusstammzellinsuffizienz nach Verätzung in unsere Studie eingeschlossen. Dies könnte erklären, dass der Heilungsprozess der eigenen Hornhaut im Vergleich zu transplantiertem kornealem Gewebe keinen signifikanten Unterschied aufweist.

## 5.2. Hornhauterosio versus Hornhautulcera

Bei der Therapieindikation unterschieden wir zwischen Erosiones und Ulcera. Bei den Hornhautulcera zeigte sich eine deutlich geringere und signifikant langsamere Heilungstendenz als bei den Erosiones. Bei den Erosiones waren nach 7 Tagen 69,2% zugeheilt, nach 14 Tagen 78,0%, nach 21 Tagen 83,7% und nach 28 Tagen 90,3% zugeheilt. Bei den Ulcera waren nach 7 Tagen 35,5% zugeheilt, nach 14 Tagen 41,9%, nach 21 Tagen 58,1% und nach 28 Tagen 74,2% zugeheilt. Dieses Resultat war zu erwarten, da bei den Ulcera ein zusätzlicher stromaler Defekt besteht und der Heilungsprozess dadurch verlängert wird. Wir empfehlen die autologen Serumaugentropfen bei Ulcera als zusätzliche lokale nicht invasive Therapie anzuwenden.

In den bestehenden Studien sind die Keratokonjunktivitis sicca sowie persistierende Epitheldefekte die Haupttherapieindikationen für eine Therapie mit autologen Serumaugentropfen. Jedoch wurde in keiner der analysierten Studien ein direkter Vergleich zwischen der Heilungstendenz von Erosiones und der Heilungstendenz von Ulcera mit

autologen Serumaugentropfen untersucht. In der Studie von Poon *et al.* <sup>7</sup> wurden die persistierenden Epitheldefekte ausgemessen, jedoch nur die Breite und Höhe aber nicht die Tiefe des Defekts. Ferreira de Souza *et al.* <sup>9</sup> schlussfolgerten dass die Defektgrösse keine direkte Korrelation mit der Epithelheilungstendenz hat. Jedoch vermuteten sie dass tiefe Hornhautdefekte, Ulcera, weniger gut auf die Therapie mit autologen Serumaugentropfen ansprechen als oberflächliche Defekte ohne Bowman-Defekt.

### 5.3. Ätiologie des Epitheldefektes

Bei der Ätiologie des Epitheldefektes konnten wir in unserer retrospektiven Studie nachweisen, dass bei postinfektiösen Epitheldefekten die Heilungstendenz signifikant schlechter war als bei den postoperativen beziehungsweise den Defekten nach perforierender oder penetrierender Verletzung. Wir empfehlen jedoch weiterhin die autologe Serumaugentropfentherapie auch bei postinfektiösen therapieresistenten Epitheldefekten sobald der infektiöse Agent eliminiert ist. In den aktuellen Studien wurden die autologen Serumaugentropfen hauptsächlich bei persistierenden Epitheldefekten nach photorefraktiver Keratektomie, bei rezidivierenden Erosiones und bei postoperativen Epitheldefekten nach perforierender Keratoplastik eingesetzt. Ferreira de Souza *et al.* <sup>9</sup> zeigten dass insbesondere postoperative Epitheldefekte nach perforierender Keratoplastik gut auf die lokale Therapie mit autologen Serumaugentropfen reagierten. Weitere Studien sind hier noch notwendig, um den Zusammenhang zwischen Ätiologie und Heilungstendenz zu untersuchen. Zusätzlich zu den autologen Serumaugentropfen sollte bei der Therapie von persistierenden Epitheldefekten konsequent die Grunderkrankung des Epitheldefektes mitbehandelt werden, sowohl lokal als auch systemisch, insbesondere auch Lidfehlstellungen.

### 5.4. Tropfschema

Das Tropfschema spielt ebenfalls eine wichtige Rolle in der Heilung der Epitheldefekte. Wir konnten jedoch in dieser Studie nachweisen, dass kein statistisch signifikanter Unterschied bei den verschiedenen Tropfschemen besteht (8x/Tag, 12x/Tag, 24x/Tag). Zwischendurch wurden zusätzlich unkonservierte Tränenersatzmittel verabreicht sowie je nach Ätiologie des Defektes weitere lokale oder systemische Therapeutika.

Zur Zeit findet sich keine weitere Studie die die verschiedenen Tropfschemen und die daraus resultierende Heilungstendenz miteinander vergleicht. In den meisten Studien werden die autologen Serumaugentropfen zwischen 6x/Tag und 12x/Tag appliziert <sup>8,9,21,63</sup>.

Um in der Zukunft die Wirkung von autologen Serumaugentropfen noch besser zu untersuchen, ist ein standardisiertes Tropfschema empfehlenswert.

## 5.5. Herstellung und Lagerung

Der Heilungsprozess variiert ausserdem je nach Herstellungsart der autologen Serumaugentropfen. Geerling *et al.* zeigten 2001<sup>41</sup> in einem in-vitro-Zellkulturmodell, dass eine 50% und 100% Konzentration von autologem Serum sich toxisch auf die humanen kornealen Epithelzellen auswirkt.

Laut der Publikation von Liu *et al.* von 2005<sup>37</sup> spielen die Dilution aber auch die Zentrifugation eine Rolle in der Wirkung der autologen Serumaugentropfen auf das Hornhautepithel. Liu *et al.* konnten in einer in vitro Studie beweisen, dass eine längere Gerinnungsphase (> oder = 120 min) und eine höhere Anzahl von Umdrehungen pro Minute (3000 Umdrehungen pro Minute für eine Dauer von insgesamt 15 Minuten) sowie eine Dillution mit BSS die besten Ergebnisse bei der Proliferation, Migration und Differenzierung der Epithelzellen der Hornhaut zeigten.

In einer späteren Studie von Liu *et al.*<sup>38</sup> im Jahr 2006 wurde gezeigt, dass das relative Zellwachstum der humanen kornealen Epithelzellen am höchsten ist bei Applikation von 12% humanem Serum.

Akyol-Salman<sup>40</sup> konnte im selben Jahr nachweisen, dass 100% autologe Serumaugentropfen die korneale Wundheilung signifikant beschleunigen im Gegensatz zu 20% autologen Serumaugentropfen.

Wu *et al.*<sup>39</sup> konnten 2016 in einer Homburger Studie nachweisen, dass die Viabilität und Migration der Epithelzellen der Hornhaut am besten mit 30 % autologem Serum und die Proliferation mit 15 % autologem Serum ist.

Es gibt also bis heute verschiedene Ansätze zur Konzentration der autologen Serumaugentropfen. Sowohl mit unverdünnten autologen Serumaugentropfen als auch mit diluierten Tropfen konnte in klinischen Studien eine gute Wirkung auf die Epithelheilung nachgewiesen werden.

In einer prospektiven Studie von Ferreira de Souza *et al.*<sup>9</sup> heilten 70 beobachtete Epitheldefekte im Durchschnitt nach 50 Tagen unter stündlicher Gabe von 100% autologem Eigenserum zu. Poon AC *et al.*<sup>7</sup> konnten nachweisen dass unter Therapie mit 50-100% autologen Serum in 9 von 15 Fällen eine Epithelheilung innerhalb von 2 Wochen begann und durchschnittlich nach 3,6 Wochen abgeschlossen war. Aber ebenfalls mit 20% autologen Serum konnten Tsubota K *et al.*<sup>6</sup> nachweisen dass 10 von 16 therapierefraktären Epitheldefekten innerhalb von 4 Wochen zuheilen.

In unserer klinischen Studie betrug die Gerinnungsphase bei der Herstellung 60-80 Minuten, eine 15-minütige Zentrifugation erfolgte bei 3000 Umdrehungen pro Minute. Um das Kontaminationsrisiko zu mindern wurden die Tropfen nicht diluiert.

Wir konnten in der Klinik für Augenheilkunde am UKS mit den 100% autologen Serumaugentropfen deutliche Heilungserfolge nachweisen. Mit dem 100% autologen Serum waren nach 28 Tagen 88,2% der Hornhautdefekte zugeheilt.

Weitere Studien sind jedoch noch notwendig, um herauszufinden, welche Konzentration des autologen Serums die besten Ergebnisse auf die Migration und Proliferation hat, um somit eine Standardisierung in der Herstellung der autologen Serumaugentropfen festzulegen und eine einheitliche Ergebnisgrundlage zu schaffen.

Beachtet werden sollte auch, dass die Konzentrationen von Wachstumsfaktoren im autologen Serum je nach Patient variieren können und es dadurch auch individuell unterschiedliche Wirkungen geben kann.

Die autologen Serumaugentropfen werden in der Klinik für Augenheilkunde am UKS maximal 3 Monate bei -20°C gelagert. Nach Anbruch werden die autologen Serumaugentropfen im Kühlschrank (+ 7°C) aufbewahrt und nach 24 Stunden verworfen um eine Kontamination zu verhindern.

Sauer *et al.* <sup>44</sup> konnten in einer 2004 publizierten Studie nachweisen dass eine Kontaminationsfreiheit bis zum vierten Anwendungstag gewährleistet werden kann, wenn die Lagerungsbedingungen eingehalten werden und die Applikation durch geschultes Personal erfolgt. Eine Applikation bis zum siebten Anwendungstag ist sogar möglich wenn gleichzeitig prophylaktisch antibiotische Augentropfen administriert werden um eine Kontamination zu verhindern.

Anitua *et al.* <sup>70</sup> konnten in einer 2021 erschienen Studie zeigen dass die Haltbarkeit von an Wachstumsfaktorreichem Plasma nach einer Lagerung bei -20°C von 9-12 Monaten garantiert werden konnte, die Wachstumsfaktoren blieben erhalten und es kam zu keiner Kontamination. Zusätzlich konnte nachgewiesen werden, dass sogar nach Auftauen und Aufbewahrung bei Raumtemperatur oder 4°C die Haltbarkeit des Plasma garantiert werden konnte.

Neben der Lagerung im Gefrierschrank bei -20°C gibt es auch Ansätze zur Aufbewahrung von autologen Serumaugentropfen durch Gefriertrocknen. Sriwidodo *et al.* <sup>71</sup> publizierten 2020 eine Studie die bestätigte, dass gefriergetrocknetes autologes Serum bis zu 3 Monate bei 4°C gelagert werden kann. Die Methode des Gefriertrocknens wurde ebenfalls in einer Publikation von Anitua *et al.* <sup>46</sup> bekräftigt. Hier wurde an Wachstumsfaktorenreichem Plasma gefriergetrocknet und 3 Monate lang bei 4°C gelagert. Die Hauptwachstumsfaktoren blieben erhalten.

Durch die verschiedenen Herstellungsmethoden und Lagerungen können nur die Studien miteinander verglichen werden, die eine exakt gleiche Vorgehensweise in der Herstellung und

Lagerung haben. Dies bleibt jedoch bis heute ein einschränkender Faktor wenn es um die Auswertung und den Vergleich von verschiedenen Studien mit autologen Serumaugentropfen geht.

## 5.6. Therapiedauer bis zum Epithelschluss

Im Durchschnitt betrug die Behandlungsdauer von therapieresistenten Epitheldefekten mit autologen Serumaugentropfen in den analysierten Studien 4 Wochen <sup>6,7</sup>. Ein fehlender Epithelschluss nach 1 Monat kontinuierlicher Therapie wurde als Misserfolg definiert.

Tsubota *et al.* <sup>6</sup> therapierten die Patienten während 4 Wochen mit 20% autologen Serumaugentropfen. Nach einem Monat waren 62,5% der Epitheldefekte zugeheilt.

Bei Ferreira de Souza *et al.* <sup>9</sup> erfolgte eine Behandlungsdauer mit 100% autologen Serumaugentropfen von insgesamt 45 Tagen. Innerhalb dieser 45 Behandlungstagen kam es zu einer Epithelschlussrate von 81%. In den Verlaufskontrollen nach 45 Behandlungstagen konnten Ferreira *et al.* nachweisen dass sogar 84% der geschlossenen Hornhäute  $12 \pm 4$  Monate rezidivfrei blieben.

In der prospektiven Studie von Lekhanont *et al.* <sup>62</sup> war keine Behandlungsdauer festgesetzt. Die postoperativen Epitheldefekte wurden mit 100% autologen Serumaugentropfen behandelt. Bereits innerhalb von 4 Tagen waren 93% der postoperativen Epitheldefekten zugeheilt. Hier muss man betonen dass es sich ausschliesslich um postoperative Epitheldefekte handelte. Wie bereits erwähnt, konnten Ferreira de Souza *et al.* <sup>9</sup> nachweisen, dass insbesondere postoperative Epitheldefekte nach perforierender Keratoplastik gut auf die lokale Therapie mit autologen Serumaugentropfen reagierten.

Wir konnten zwischen Tag 0 und Tag 28 der Behandlung eine Epithelschlussrate von 88,2% der Epitheldefekten nachweisen. Innerhalb von 4 Tagen waren in unserer retrospektiven Studie 35,4% der Epitheldefekte geschlossen. Wir untersuchten jedoch nicht nur postoperative therapieresistente Epitheldefekte sondern auch postinfektiöse und posttraumatische Defekte.

Wir stufen eine fehlende Heilungstendenz nach 28 Tagen kontinuierlicher Behandlung als Misserfolg ein. Um das Infektionsrisiko und weitere Komplikationen bei fehlendem Epithelschluss zu vermeiden (z.B. Ulcus serpens mit Hypopyon, Durchwanderungsendophthalmitis, Vernarbung und Vaskularisation, Perforation), wurden weitere therapeutische Maßnahmen durchgeführt (z.B. Amnionmembrantransplantation).

## 5.7. Rezidivrate

Wir untersuchten die Rezidivrate nach erfolgreichem Epithelschluss. Bei 5,1% der erfolgreich geschlossenen Epitheldefekten kam es zu einer Rezidive so dass eine erneute Therapie notwendig war. Bei Defekten auf transplantiert Hornhaut kam es zu mehr Rezidiven (6,4%) als bei eigener Hornhaut (1,7%). Trotzdem blieb die Rezidivrate gering, so dass der Epithelschluss und der weitere Verlauf unter autologen Serumaugentropfen als positiv bewertet werden kann. Hinzu kommt dass bei Rezidiven die autologen Serumaugentropfen ohne Nebenwirkungen erneut appliziert werden können. Eine Therapieresistenz nach mehrfacher Therapie wurde in den bis zum heutigen Zeitpunkt erschienenen Studien nicht beschrieben. Der genaue Zeitpunkt des Auftretens der Rezidive konnte in unserer Studie nicht ausgewertet werden.

## 5.8. Limitationen und Alternativen

Wir haben in unserer retrospektiven Studie sehr gute Resultate mit den autologen Serumaugentropfen erzielt. Innerhalb von 28 Tagen kam es bei 88,2% zu einem kompletten Epithelschluss der Hornhaut. Zielgröße war der komplette Epithelschluss innerhalb von 28 Tagen. Eine eventuelle Schwachstelle in unserer retrospektiven Studie stellen die Epithelschlüsse dar, die bereits innerhalb der ersten 5 Tage auftraten. Hier kann man nicht ausschließen, dass es sich um eine spontane Heilung handelt, unabhängig von den autologen Serumaugentropfen. Wir haben diese Epithelschlüsse jedoch auch in unserer Studie als Erfolg angesehen, da eine schnellere Heilungstendenz durch die autologen Serumaugentropfen nicht auszuschließen ist.

Bei 93 von den insgesamt 364 initialen Behandlungen mit autologen Serumaugentropfen kam es innerhalb der 28 Tage zu einer zusätzlichen operativen Therapie mit einer Amnionmembrantransplantation (Amnionpatch, Amniongraft, Amnionsandwich). Hierbei handelte es sich um Patienten, bei denen in den ersten Behandlungstagen mit den autologen Serumaugentropfen keine Heilungstendenz sichtbar war. Die Epitheldefekte wurden zur Verlaufskontrolle regelmäßig ausgemessen. Die Patienten, die innerhalb der 28 Behandlungstage eine Amnionmembrantransplantation erhielten, wurden in unsere Microsoft Access Datenbank eingefügt, jedoch nicht in die Auswertungen mit einbezogen, da die alleinige Wirkung der autologen Serumaugentropfen nicht beurteilt werden konnten.

Die Amnionmembrantransplantation bietet bei persistierenden Epitheldefekten ohne Heilungstendenz mit autologen Serumaugentropfen eine gute zusätzliche Therapieoption

durch das mechanische Abdecken des Epitheldefektes<sup>72</sup>, aber auch die enthaltenen Wirkstoffe. Die Amnionmembran beinhaltet ebenso wie die autologen Serumaugentropfen Wachstumsfaktoren und Proteine, die für die Migration und Proliferation der Epithelzellen fördernd sind. Bei der Amnionmembrantransplantation handelt es sich jedoch im Gegensatz zur Therapie mit autologen Serumaugentropfen um einen invasiven Eingriff.

Stachon *et al.*, Bischoff *et al.* sowie Wu *et al.* haben in Publikationen weitere nicht invasive Ansätze zur Förderung der Epithelheilung wie den Einsatz von einer Amnionmembransuspension als Tropfentherapie vorgeschlagen<sup>23,73-75</sup>. Hier sind jedoch weitere *in vitro* Studien sowie klinische Anwendungen und Beobachtungen notwendig.

Weitere Studien werden in unserer Klinik für Augenheilkunde am UKS erfolgen mit dem Ziel, die Zusammenwirkung von Amnionmembrantransplantation und autologen Serumaugentropfen zu untersuchen.

Zusätzlich ist wichtig zu erwähnen, dass die autologen Serumaugentropfen immer zusammen mit anderen lokalen Augentropfen sowie systemischer Therapie verabreicht wurde. Bei den zusätzlichen Augentropfen handelte es sich hauptsächlich um unkonservierte Tränenersatzmittel (Tropfen und/oder Salben), antiinfektiöse Tropfen oder immunsuppressive Tropfen. Die systemische Therapie bestand aus antiinfektiösen sowie immunsuppressiven Wirkstoffen. Diese Zusatztherapie beeinflusst auch den Heilungsprozess der Epitheldefekte. Die Auswertung der Wirkung von verschiedenen Wirkstoffen ist sehr komplex und benötigt weitere Analysen.

Die Herstellung und Verfügbarkeit der autologen Serumaugentropfen stellt bis heute einen limitierenden Faktor in der Therapie mit autologen Serumaugentropfen dar. Die mit der Herstellung (Material, Mitarbeiter) verbundenen gesetzlichen, logistischen Bedingungen sowie Kosten ermöglichen es nicht jeder Einrichtung, die autologen Serumaugentropfen herzustellen<sup>76</sup>.

Hinzu kommt, dass eine Blutentnahme von 10 Serumröhrchen (benötigte Quantität zur Herstellung der autologen Serumaugentropfen) bei verschiedenen Patienten (Kleinkinder, ältere Patienten) nicht immer möglich ist. Oft ist die Blutentnahme schwierig durchzuführen oder das geplante Entnahmevolumen ist zu hoch und gefährdet die Gesundheit des Patienten (z.B. bei Patienten mit Herzinsuffizienz). Weitere absolute Kontraindikationen der Eigenblutspende wie z.B. eine manifeste bakterielle Infektion oder virale Infektionen müssen beachtet werden .

Allogene Serumaugentropfen könnten eine Alternative bei Patienten sein, die mehrere Komorbiditäten vorweisen sowie bei Kleinkindern und älteren Patienten, bei denen eine Blutentnahme für die Herstellung der autologen Serumaugentropfen der limitierende Faktor

ist <sup>27,28</sup>. Insbesondere bei Patienten mit entzündlichen Grunderkrankungen wie das Sjögren Syndrom könnten allogene Serumaugentropfen ein Vorteil darstellen, da bei diesen Patienten die autologen Serumaugentropfen hohe Konzentrationen an schädlichen proinflammatorischen Mediatoren enthalten<sup>21,78</sup>. Hung *et al.* <sup>28</sup> konnten 2018 in einer retrospektiven Studie nachweisen, dass allogene Serumaugentropfen eine vergleichsweise gute Tolerierbarkeit sowie Wirkung auf die Epithelheilung haben wie autologe Serumaugentropfen. Jedoch werden noch weitere klinische Studien notwendig sein, in denen ein direkter Vergleich von autologen und allogenen Serumaugentropfen erfolgt.

Eine weitere Therapieoption stellt das Nabelschnurblut dar. Nabelschnurblut hat sowohl bei der Therapie von trockenem Auge als auch rezidivierenden und persistierenden Epitheldefekten eine positive Wirkung gezeigt <sup>21,29–32,79</sup>. Der Vorteil vom Nabelschnurblut besteht darin, dass eine grössere Menge an Blut bei der Entnahme gewonnen werden kann und dadurch mehrere Patienten von der Therapie profitieren können, ebenfalls Patienten bei denen eine autologe Serumtherapie auf Grund der Komorbiditäten kontraindiziert ist. Yoon *et al.* <sup>33</sup> haben in einer Studie 2007 die Wirkung von autologen Serumaugentropfen und von Nabelschnurblut bei schwerem trockenem Auge verglichen. Es konnte belegt werden, dass die Nabelschnurbluttherapie sich besser auf die Symptome des trockenen Auges auswirkte als die autologen Serumaugentropfen. Die Nabelschnurbluttherapie wird vorraussichtlich in Zukunft noch mehr an Bedeutung gewinnen bei der Therapie von therapieresistenten Epitheldefekten.

Neben den allogenen Serumaugentropfen und dem Nabelschnurblut haben Albumintropfen einen positiven Effekt auf die Epithelheilung gezeigt <sup>18–20</sup>. Sie wirken durch Suppression der Apoptose, höchstwahrscheinlich auch antientzündlich und antioxidativ. Shimmura *et al.* <sup>20</sup> konnten in Tiermodellen mit Ratten eine schnellere Wundheilung mit Hilfe von Albumintropfen nachweisen. Bei Patienten mit Sjögren Syndrom zeigte sich durch die Albumintropfen eine Stabilisierung des Tränenfilms und somit eine Besserung der Sicca Symptomatik. Man kann schlussfolgern dass Albuminaugentropfen eine stabilisierende Wirkung auf den Tränenfilm haben. Jedoch sind noch weitere Studien notwendig insbesondere bei Patienten mit persistierenden Epitheldefekten und nicht nur Sicca Symptomatik.

Weitere Blutderivate wie Augentropfen aus Thrombozytenreichem Plasma (E-PRP, eye Platelet-rich-plasma) haben ebenfalls einen positiven Einfluss auf die Epithelheilung <sup>18,34,35</sup>. Durch die höhere Konzentration an Thrombozyten ist auch die Konzentration an Wachstumsfaktoren erhöht. Die Wachstumsfaktoren aus dem E-PRP stimulieren die Angiogenese und die Zellreparatur und aktivieren die Makrophagen.

Ein weiteres blutderiviertes Produkt ist das an Wachstumsfaktorenreichem Plasma (PRGF, Plasma rich in growth factors) <sup>18,36</sup>. Lopez-Plandolit *et al.* <sup>36</sup> therapierten 16 Patienten mit

schwerem trockenem Auge mit PRGF Tropfen. Bei 75% der Patienten kam es zu einer Besserung der Symptome unter lokaler Therapie mit PRGF Tropfen.

Neben den autologen Serumaugentropfen gibt es also weitere neue Ansätze für die Therapie von schweren trockenen Augen und therapieresistenten Epitheldefekten.

Jedoch werden auch hier in Zukunft weitere Studien benötigt mit festen Herstellungs-, Aufbewahrungs- und Applikationsstandards, um die verschiedenen Therapien miteinander zu vergleichen sowie die Sicherheit und Effektivität der Blutderivate zu untersuchen<sup>18,80,81</sup>.

Ein weiterer neuer vielversprechender Therapieansatz stellt die Applikation von lokalen Insulintropfen bei persistierenden Epitheldefekten dar<sup>82,83</sup>. Die lokale Insulintherapie ist eine gute Alternative wenn sich die Gewinnung von autologen Serumaugentropfen als schwierig erweist (z.B. bei älteren Patienten mit schlechtem Venenstatus).

## 5.9. Schlussfolgerungen

Zusammenfassend gibt es bei der Heilungstendenz unter lokaler Therapie mit 100% autologen Serumaugentropfen keinen signifikanten Unterschied zwischen eigenem Gewebe und transplantiertem Hornhautgewebe. Bei persistierenden Epitheldefekten nach Hornhauttransplantation ist die autologe Serumaugentropfentherapie weiterhin eine sinnvolle Therapieoption.

Auch wenn bei persistierenden Hornhautulcera die Therapie mit autologen Serumaugentropfen signifikant schlechter wirkte als bei den Erosiones empfehlen wir trotzdem die autologen Serumaugentropfen bei persistierenden Ulcera zusammen mit weiteren Therapieoptionen anzuwenden, da keine negativen Effekte der autologen Serumaugentropfen dokumentiert wurden.

Bis auf die infektiöse Ätiologie konnte bei den anderen Ätiologien für die Epitheldefekte kein signifikanter Unterschied im Bezug auf die Heilungstendenz festgestellt werden. Auch wenn bei postinfektiösen Epitheldefekten die Heilungstendenz schlechter war als bei den postoperativen, sowie posttraumatischen Epitheldefekten, empfehlen wir weiterhin, die autologen Serumaugentropfen auch bei postinfektiösen Epitheldefekten zu applizieren.

Da sich zwischen den verschiedenen Tropfschemen kein statistisch signifikanter Unterschied in der Heilungstendenz zeigte, empfehlen wir eine Applikation von  $\geq 8x/Tag$ .

Bei 88,2% der behandelten Defekte kam es innerhalb von den 28 Behandlungstagen zu einem kompletten Epithelschluss. Dies bestätigt, dass die autologen Serumaugentropfen weiterhin eine gute, nicht invasive und sichere Therapiealternative bei therapieresistenten

Epitheldefekten darstellen, dies sowohl bei Epitheldefekten auf der eigenen Hornhaut sowie auf dem Transplantat.

In den bisherigen Studien variieren die Therapieerfolge nach Indikation, Anwendungsart und Herstellungsart der autologen Serumaugentropfen. Daher sind in Zukunft noch weitere Studien notwendig mit einheitlichen Anwendungs- und Herstellungsprozessen um den Nutzen der autologen Serumaugentropfen als alleinige Therapie oder Zusatztherapie bei therapieresistenten Epitheldefekten zu bekräftigen.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS

1. Resch MD, Schlötzer-Schrehardt U, Hofmann-Rummelt C, et al. Adhesion structures of amniotic membranes integrated into human corneas. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(5):1853–61.
2. Seitz B. Amnionmembrantransplantation. Eine unverzichtbare Therapieoption bei persistierenden kornealen Epitheldefekten. *Ophthalmol Z Dtsch Ophthalmol Ges* 2007;104(12):1075–9.
3. Resch MD, Schlötzer-Schrehardt U, Hofmann-Rummelt C, et al. Integration patterns of cryopreserved amniotic membranes into the human cornea. *Ophthalmology* 2006;113(11):1927–35.
4. Seitz B, Grüterich M, Cursiefen C, Kruse FE. Konservative und chirurgische Therapie der neurotrophen Keratopathie. *Ophthalmol Z Dtsch Ophthalmol Ges* 2005;102(1):15–26.
5. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE. Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum* 1984;27(4):459–61.
6. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J. Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology* 1999;106(10):1984–9.
7. Poon AC, Geerling G, Dart JK, Fraenkel GE, Daniels JT. Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol* 2001;85(10):1188–97.
8. Geerling G, MacLennan S, Hartwig D. Autologous serum eye drops for ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 2004;88(11):1467–74.
9. Ferreira de Souza R, Kruse FE, Seitz B. Autologes Serum bei sonst therapieresistenten Hornhautepitheldefekten - Prospektive Studie an den ersten 70 Augen. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2001;218(11):720–6.
10. Ralph RA, Doane MG, Dohlman CH. Clinical experience with a mobile ocular perfusion pump. *Arch Ophthalmol Chic Ill* 1960 1975;93(10):1039–43.
11. Geerling G, Unterlauff JD, Kasper K, Schrader S, Opitz A, Hartwig D. [Autologous serum and alternative blood products for the treatment of ocular surface disorders]. *Ophthalmol Z Dtsch Ophthalmol Ges* 2008;105(7):623–31.
12. Ogawa Y, Okamoto S, Mori T, et al. Autologous serum eye drops for the treatment of severe dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 2003;31(7):579–83.
13. Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, et al. Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Cornea* 2001;20(8):802–6.
14. Takamura E, Shinozaki K, Hata H, Yukari J, Hori S. Efficacy of autologous serum treatment in patients with severe dry eye. *Adv Exp Med Biol* 2002;506(Pt B):1247–50.
15. Shtein RM, Shen JF, Kuo AN, Hammersmith KM, Li JY, Weikert MP. Autologous Serum-Based Eye Drops for Treatment of Ocular Surface Disease: A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology* 2020;127(1):128–33.
16. Tsubota K, Goto E, Fujita H, et al. Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 1999;83(4):390–5.

17. Higuchi A. Autologous Serum and Serum Components. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(14):DES121–9.
18. Drew VJ, Tseng C-L, Seghatchian J, Burnouf T. Reflections on Dry Eye Syndrome Treatment: Therapeutic Role of Blood Products. *Front Med* 2018;5:33.
19. Higuchi A, Ueno R, Shimmura S, Suematsu M, Dogru M, Tsubota K. Albumin rescues ocular epithelial cells from cell death in dry eye. *Curr Eye Res* 2007;32(2):83–8.
20. Shimmura S, Ueno R, Matsumoto Y, et al. Albumin as a tear supplement in the treatment of severe dry eye. *Br J Ophthalmol* 2003;87(10):1279–83.
21. Giannaccare G, Versura P, Buzzi M, Primavera L, Pellegrini M, Campos EC. Blood derived eye drops for the treatment of cornea and ocular surface diseases. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis* 2017;56(4):595–604.
22. Alio JL, Rodriguez AE, Ferreira-Oliveira R, Wróbel-Dudzińska D, Abdelghany AA. Treatment of Dry Eye Disease with Autologous Platelet-Rich Plasma: A Prospective, Interventional, Non-Randomized Study. *Ophthalmol Ther* 2017;6(2):285–93.
23. Stachon T, Wu M-F, Bischoff M, et al. [Amniotic Membrane Suspension and Autologous Serum - Are they Important for Wound Healing?]. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2017;234(8):1015–8.
24. Sheha H, Tighe S, Hashem O, Hayashida Y. Update On Cenegermin Eye Drops In The Treatment Of Neurotrophic Keratitis. *Clin Ophthalmol Auckl NZ* 2019;13:1973–80.
25. Deeks ED, Lamb YN. Cenegermin: A Review in Neurotrophic Keratitis. *Drugs* 2020;80(5):489–94.
26. Fleeman N, Mahon J, Nevitt S, et al. Cenegermin for Treating Neurotrophic Keratitis: An Evidence Review Group Perspective of a NICE Single Technology Appraisal. *Pharmacoeconomics - Open* 2019;3(4):453–61.
27. Espinosa A, Hjorth-Hansen H, Aasly K, Teigum I, Sivertsen G, Seghatchian J. Implementation of a standardised method for the production of allogeneic serum eye drops from regular blood donors in a Norwegian University Hospital: Some methodological aspects and clinical considerations. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis* 2015;53(1):88–91.
28. Hung Y, Elder MJ, Rawstron JA, Badami KG. A retrospective crossover study of autologous and allogeneic serum eye drops for the management of ocular surface disease. *Transfus Med Oxf Engl* 2019;29(1):69–71.
29. Yoon KC. Use of umbilical cord serum in ophthalmology. *Chonnam Med J* 2014;50(3):82–5.
30. Yoon K-C, You I-C, Im S-K, Jeong T-S, Park Y-G, Choi J. Application of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 2007;114(9):1637–42.
31. Yoon K-C, Heo H, Jeong I-Y, Park Y-G. Therapeutic effect of umbilical cord serum eyedrops for persistent corneal epithelial defect. *Korean J Ophthalmol KJO* 2005;19(3):174–8.
32. Yoon K-C, Im S-K, Park Y-G, Jung Y-D, Yang S-Y, Choi J. Application of umbilical cord serum eyedrops for the treatment of dry eye syndrome. *Cornea* 2006;25(3):268–72.
33. Yoon K-C, Heo H, Im S-K, You I-C, Kim Y-H, Park Y-G. Comparison of autologous serum and umbilical cord serum eye drops for dry eye syndrome. *Am J Ophthalmol* 2007;144(1):86–92.

34. Alio JL, Rodriguez AE, WróbelDudzińska D. Eye platelet-rich plasma in the treatment of ocular surface disorders. *Curr Opin Ophthalmol* 2015;26(4):325–32.
35. Alio JL, Arnalich-Montiel F, Rodriguez AE. The role of “eye platelet rich plasma” (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1257–65.
36. López-Plandolit S, Morales M-C, Freire V, Grau AE, Durán JA. Efficacy of plasma rich in growth factors for the treatment of dry eye. *Cornea* 2011;30(12):1312–7.
37. Liu L, Hartwig D, Harloff S, Herminghaus P, Wedel T, Geerling G. An optimised protocol for the production of autologous serum eyedrops. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 2005;243(7):706–14.
38. Liu L, Hartwig D, Harloff S, et al. Corneal epitheliotropic capacity of three different blood-derived preparations. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2006;47(6):2438–44.
39. Wu M-F, Stachon T, Seitz B, Langenbucher A, Szentmáry N. Effect of human autologous serum and fetal bovine serum on human corneal epithelial cell viability, migration and proliferation in vitro. *Int J Ophthalmol* 2017;10(6):908–13.
40. Akyol-Salman I. Effects of autologous serum eye drops on corneal wound healing after superficial keratectomy in rabbits. *Cornea* 2006;25(10):1178–81.
41. Geerling G, Daniels JT, Dart JK, Cree IA, Khaw PT. Toxicity of natural tear substitutes in a fully defined culture model of human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(5):948–56.
42. Rocha EM, Pelegrino FS, de Paiva CS, Vigorito AC, de Souza CA. GVHD dry eyes treated with autologous serum tears. *Bone Marrow Transplant* 2000;25(10):1101–3.
43. Kasper K, Godenschweger L, Hartwig D, Unterlauff JD, Seitz B, Geerling G. Zum Stand der Anwendung von Eigenserum-Augentropfen in Deutschland. Ergebnisse einer Umfrage unter den Mitgliedern der Sektion Kornea in der DOG. *Ophthalmol Z Dtsch Ophthalmol Ges* 2008;105(7):644–9.
44. Sauer R, Blüthner K, Seitz B. Sterilitätskontrolle von unkonservierten Eigenserumtropfen bei therapieresistenten Hornhautepitheldefekten. *Ophthalmol Z Dtsch Ophthalmol Ges* 2004;101(7):705–9.
45. Geerling G, Grus F, Seitz B, Hartwig D, Schirra F. Arzneimittelrechtliche Erlaubnis bei der Herstellung von Serum-Augentropfen. Wann ist sie erforderlich und wie kann sie umgesetzt werden? *Ophthalmol Z Dtsch Ophthalmol Ges* 2008;105(7):632–8.
46. Anitua E, de la Fuente M, Muruzábal F, Merayo-Llodes J. Stability of freeze-dried plasma rich in growth factors eye drops stored for 3 months at different temperature conditions. *Eur J Ophthalmol* 2021;31(2):354–60.
47. Hussain M, Shtein RM, Sugar A, et al. Long-term use of autologous serum 50% eye drops for the treatment of dry eye disease. *Cornea* 2014;33(12):1245–51.
48. Yoon CH, Lee HJ, Park HY, et al. Effects of topical autologous serum on the ocular surface in patients with toxic corneal epitheliopathy induced by anti-glaucoma drugs. *Int Ophthalmol* 2020;40(3):547–52.

49. Abedi F, Hamrah P. Corneal Subbasal Nerve Recovery in an Acute Case of Ultraviolet Keratitis Treated with Autologous Serum Eye Drops. *J Ophthalmol* 2018;2018:4905487.
50. Ali TK, Gibbons A, Cartes C, et al. Use of Autologous Serum Tears for the Treatment of Ocular Surface Disease From Patients With Systemic Autoimmune Diseases. *Am J Ophthalmol* 2018;189:65–70.
51. Than J, Balal S, Wawrzynski J, et al. Fingerprick autologous blood: a novel treatment for dry eye syndrome. *Eye Lond Engl* 2017;31(12):1655–63.
52. Azari AA, Karadag R, Kanavi MR, et al. Safety and efficacy of autologous serum eye drop for treatment of dry eyes in graft-versus-host disease. *Cutan Ocul Toxicol* 2017;36(2):152–6.
53. Semeraro F, Forbice E, Nascimbeni G, et al. Effect of Autologous Serum Eye Drops in Patients with Sjögren Syndrome-related Dry Eye: Clinical and In Vivo Confocal Microscopy Evaluation of the Ocular Surface. *Vivo Athens Greece* 2016;30(6):931–8.
54. Al-Saedi Z, Zimmerman A, Bachu RD, et al. Dry Eye Disease: Present Challenges in the Management and Future Trends. *Curr Pharm Des* 2016;22(28):4470–90.
55. Sy A, O'Brien KS, Liu MP, et al. Expert opinion in the management of aqueous Deficient Dry Eye Disease (DED). *BMC Ophthalmol* 2015;15:133.
56. Liu Y, Hirayama M, Cui X, Connell S, Kawakita T, Tsubota K. Effectiveness of Autologous Serum Eye Drops Combined With Punctal Plugs for the Treatment of Sjögren Syndrome-Related Dry Eye. *Cornea* 2015;34(10):1214–20.
57. Akagun N, Ozer PA, Gazyagci S. Rapid healing of a persistent corneal epithelial defect (PCED) with autologous serum treatment. *Niger J Clin Pract* 2020;23(1):123–5.
58. Jeng BH, Dupps WJ. Autologous serum 50% eyedrops in the treatment of persistent corneal epithelial defects. *Cornea* 2009;28(10):1104–8.
59. Semeraro F, Forbice E, Braga O, Bova A, Di Salvatore A, Azzolini C. Evaluation of the efficacy of 50% autologous serum eye drops in different ocular surface pathologies. *BioMed Res Int* 2014;2014:826970.
60. Balal S, Nitiahpapand R, Hassan A, et al. Finger-Prick Autologous Blood in the Treatment of Persistent Corneal Epithelial Defects. *Cornea* 2020;39(5):594–7.
61. Geerling G, Hartwig D. [Autologous serum-eye-drops for ocular surface disorders. A literature review and recommendations for their application]. *Ophthalmol Z Dtsch Ophthalmol Ges* 2002;99(12):949–59.
62. Lekhanont K, Jongkhajornpong P, Choubtum L, Chuckpaiwong V. Topical 100% serum eye drops for treating corneal epithelial defect after ocular surgery. *BioMed Res Int* 2013;2013:521315.
63. Akcam HT, Unlu M, Karaca EE, Yazici H, Aydin B, Hondur AM. Autologous serum eye-drops and enhanced epithelial healing time after photorefractive keratectomy. *Clin Exp Optom* 2018;101(1):34–7.
64. Yeh S-I, Chu T-W, Cheng H-C, Wu C-H, Tsao Y-P. The Use of Autologous Serum to Reverse Severe Contact Lens-induced Limbal Stem Cell Deficiency. *Cornea* 2020;39(6):736–41.

65. Yoon CH, Lee HJ, Park HY, et al. Effects of topical autologous serum on the ocular surface in patients with toxic corneal epitheliopathy induced by anti-glaucoma drugs. *Int Ophthalmol* 2020;40(3):547–52.
66. Stachs O, Zhivov A, Kraak R, Hovakimyan M, Wree A, Guthoff R. Structural-functional correlations of corneal innervation after LASIK and penetrating keratoplasty. *J Refract Surg Thorofare NJ* 1995 2010;26(3):159–67.
67. Darwish T, Brahma A, Efron N, O'Donnell C. Subbasal nerve regeneration after penetrating keratoplasty. *Cornea* 2007;26(8):935–40.
68. Patel SV, Erie JC, McLaren JW, Bourne WM. Keratocyte and subbasal nerve density after penetrating keratoplasty. *Trans Am Ophthalmol Soc* 2007;105:180–9; discussion 189-190.
69. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CNJ. Corneal innervation and cellular changes after corneal transplantation: an in vivo confocal microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(2):621–6.
70. Anitua E, de la Fuente M, Muruzábal F, Merayo-Llodes J. Short- and Long-Term Stability of Plasma Rich in Growth Factors Eye Drops. *Cornea* 2021;40(1):107–12.
71. Sriwidodo S, Kurniawan Syah IS, Maksum IP, Subroto T, Zasvia U, Umar AK. Stabilization of eye drops containing autologous serum and recombinant human epidermal growth factor for dry eye syndrome. *J Adv Pharm Technol Res* 2020;11(4):184–8.
72. Walkden A. Amniotic Membrane Transplantation in Ophthalmology: An Updated Perspective. *Clin Ophthalmol Auckl NZ* 2020;14:2057–72.
73. Wu M-F, Stachon T, Langenbacher A, Seitz B, Szentmáry N. Effect of Amniotic Membrane Suspension (AMS) and Amniotic Membrane Homogenate (AMH) on Human Corneal Epithelial Cell Viability, Migration and Proliferation In Vitro. *Curr Eye Res* 2017;42(3):351–7.
74. Bischoff M, Stachon T, Seitz B, et al. Growth Factor and Interleukin Concentrations in Amniotic Membrane-Conditioned Medium. *Curr Eye Res* 2017;42(2):174–80.
75. Stachon T, Bischoff M, Seitz B, et al. Wachstumsfaktoren und Interleukine in Amniongewebemhomogenat. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 2015;232(7):858–62.
76. Marchand M, Harissi-Dagher M, Germain M, Thompson P, Robert M-C. Serum drops for ocular surface disease: national survey of Canadian cornea specialists. *Can J Ophthalmol J Can Ophtalmol* 2018;53(3):266–71.
77. Dietrich T, Weisbach V, Seitz B, et al. Herstellung von Eigenserumaugentropfen zur ambulanten Therapie. Kooperation von Augenlinik und transfusionsmedizinischer Abteilung. *Ophthalmol Z Dtsch Ophthalmol Ges* 2008;105(11):1036–8, 1040–2.
78. Stenwall P-A, Bergström M, Seiron P, et al. Improving the anti-inflammatory effect of serum eye drops using allogeneic serum permissive for regulatory T cell induction. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 2015;93(7):654–7.
79. Yoon K-C, Choi W, You I-C, Choi J. Application of umbilical cord serum eyedrops for recurrent corneal erosions. *Cornea* 2011;30(7):744–8.

80. Seghatchian J, Espinosa A, Burnouf T. Quality, safety and sustained therapeutic efficacy of blood-derived serum eye drops to treat dry eye syndrome: R&D road map for future progress. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis* 2016;54(1):168–9.
81. van der Meer PF, Seghatchian J, Marks DC. Quality standards, safety and efficacy of blood-derived serum eye drops: A review. *Transfus Apher Sci Off J World Apher Assoc Off J Eur Soc Haemapheresis* 2016;54(1):164–7.
82. Diaz-Valle D, Burgos-Blasco B, Gegundez-Fernandez JA, et al. Topical insulin for refractory persistent corneal epithelial defects. *Eur J Ophthalmol* 2021;31(5):2280–6.
83. Diaz-Valle D, Burgos-Blasco B, Rego-Lorca D, et al. Comparison of the efficacy of topical insulin with autologous serum eye drops in persistent epithelial defects of the cornea. *Acta Ophthalmol (Copenh)* 2022;100(4):e912–9.

## 7. DANK

Meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Berthold Seitz, Direktor der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes, gebührt mein verbindlichster Dank für seine kontinuierliche unermüdliche Unterstützung und Motivation sowohl bei der Erstellung der Doktorarbeit als auch bei der alltäglichen Arbeit als Assistenzärztin. Herr Professor Dr. Berthold Seitz war jederzeit erreichbar und für ein konstruktives Gespräch bereit. Herr Professor Dr. Berthold Seitz hat mich an das Fachgebiet der Augenheilkunde herangeführt und über die Jahre meine Begeisterung für die Augenheilkunde stets bestärkt.

Frau Professor Dr. Nora Szentmary, Oberärztin an der Klinik für Augenheilkunde und Betreuerin meiner Arbeit, möchte ich für Ihre stets freundliche Unterstützung sowie lehrreiche Anregungen danken.

Herrn Professor Dr. Achim Langenbacher, Experimentelle Ophthalmologie an der Universität des Saarlandes, danke ich besonders für die grosse Unterstützung bei der Auswertung der Statistik in SPSS.

Jedem einzelnen Mitarbeiter der Augenklinik danke ich für die stetige Hilfsbereitschaft und das angenehme Arbeitsklima.

Meinen Eltern und meiner Schwester Claire danke ich dafür, dass sie mir immer die Möglichkeit gegeben haben, meine Ziele zu erreichen und mich während meines gesamten Medizinstudiums sowie meiner Facharztausbildung und dem Erstellen meiner Dissertation unterstützt und motiviert haben.

Meinem Mann Paul und meiner gesamten Familie danke ich, dass sie mir immer Kraft, Ansporn, Rückhalt und Ausgleich gaben.

Meiner Kollegin Lenke und meinem Kollege Elias danke ich im Besonderen für die kontinuierliche Unterstützung sowohl bei der Erstellung der Doktorarbeit als auch bei der Arbeit als Assistenzärztin und die tolle Teamarbeit während der Facharztausbildung.

Meinem Kollegen Elias danke ich ebenfalls für die kritische und gewissenhafte Durchsicht der Dissertation.

## **8. LEBENSLAUF**

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

**Tag der Promotion: 20. Dezember 2022**

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

**Berichterstatter: 1. Prof. Dr. med. Berthold Seitz, 2. Prof. Dr. med. Ulrich Boehm**



