

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

**Autologe Serumaugentropfen bei therapieresistenten Epitheldefekten der
Kornea – Einfluss einer simultanen Amnionmembrantransplantation,
des verwendeten Tränenersatzmittels sowie der Grunderkrankung
bei 990 Anwendungen**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät**

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2022

vorgelegt von: Laura Weischnur

geboren am: 15.10.1995 in Langen (Hessen)

Tag der Promotion:

28. März 2023

Dekan:

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

Berichterstatter:

Prof. Dr. med. Berthold Seitz

Prof. Dr. med. Thomas Vogt

Für meine Familie

Große Teile der vorliegenden medizinischen Dissertation wurden am 23.06.2022 in dem Journal „Die Ophthalmologie“ veröffentlicht [125].

Inhaltsverzeichnis

1. Glossar	5
2. Zusammenfassung	6
2.1 Zusammenfassung.....	6
2.2 Summary	7
3. Einleitung	9
3.1 Anatomie und Physiologie der Hornhaut.....	9
3.2 Therapieresistente Hornhautepitheldefekte.....	12
3.3 Therapieoptionen bei persistierenden Hornhautepitheldefekten.....	15
3.4 Hintergrund der Therapie mit autologen Serumaugentropfen	17
3.5 Eigenschaften und Wirkungsweise der autologen Serumaugentropfen.....	19
3.6 Komplikationen in der Therapie mit autologen Serumaugentropfen.....	21
3.7 Rechtliche Grundlagen und Einschränkungen der autologen Serumaugentropfen..	22
3.8 Amnionmembrantransplantation.....	24
3.9 Fragestellungen	26
4. Patienten und Methoden	27
4.1 Studienaufbau.....	27
4.2 Herstellung der autologen Serumaugentropfen.....	27
4.3 Lagerung der autologen Serumaugentropfen	33
4.4 Anwendung der autologen Serumaugentropfen.....	33
4.5 Datenrekrutierung.....	34
4.6 Einflussgrößen.....	35
4.7 Zielgrößen	35
4.8 Statistische Methoden	35
5. Ergebnisse	37
5.1 Beschreibung des Studienkollektivs.....	37

5.2	Therapieerfolg der Gesamtpopulation.....	41
5.3	Vergleich von Erosio vs. Ulkus.....	42
5.4	Einfluss einer simultanen Amnionmembrantransplantation	44
5.5	Vergleich von eigener Hornhaut vs. Transplantat.....	47
5.6	Vergleich der verwendeten Tränenersatzmittel.....	51
5.7	Einfluss der Grunderkrankung	54
6.	Diskussion	59
6.1	Therapieerfolg der Gesamtpopulation.....	59
6.2	Vergleich von Erosio vs. Ulkus.....	61
6.3	Einfluss einer simultanen Amnionmembrantransplantation	62
6.4	Vergleich von eigener Hornhaut vs. Transplantat.....	63
6.5	Vergleich der verwendeten Tränenersatzmittel.....	65
6.6	Einfluss der Grunderkrankung	68
6.7	Limitationen der Studie	69
6.8	Schlussfolgerungen	70
7.	Abbildungsverzeichnis	72
8.	Tabellenverzeichnis	75
9.	Literaturverzeichnis	76
10.	Publikationsverzeichnis	88
11.	Danksagung.....	89
12.	Lebenslauf.....	90

1. Glossar

1.	AMT	Amnionmembrantransplantation
2.	AAK	Aniridie-assoziierte Keratopathie
3.	AMWHV	Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung
4.	AMG	Arzneimittelgesetz
5.	AS	autologe Serum
6.	BSS	Balanced Salt Solution
7.	DOG	Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft
8.	dpt	Dioptrien
9.	EGF	epidermal growth factor
10.	e-PTK	„Excimerlaser Phototherapeutische Keratektomie“
11.	FGF	fibroblast growth factor
12.	HGF	hepatocyte growth factor
13.	HH	Hornhaut
14.	HIV	Humane Immundefizienz-Virus
15.	IGF-1	Insulin-like growth factor-1
16.	IL-1	Interleukin-1
17.	KGF	keratocyte growth factor
18.	KI	Konfidenzintervall
19.	NGF	nerve growth factor
20.	PKP	perforierende Keratoplastik
21.	PDGF	platelet-derived growth factor
22.	rhNGF	“recombinant human nerve growth factor”
23.	SOP	standard operating procedures
24.	SD	Standardabweichung / standard deviation
25.	T β 4	Thymosin β 4
26.	TGF- β	transforming growth factor- β
27.	TFG	Transfusionsgesetz
28.	TNF- α	tumor necrosis factor- α
29.	UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes
30.	CMV	Zytomegalievirus

2. Zusammenfassung

2.1 Zusammenfassung

Einleitung:

Therapieresistente Hornhautepitheldefekte erweisen sich trotz zahlreicher Therapiemöglichkeiten bis heute als eine Herausforderung. Ziel der Studie war es, den Einfluss einer simultanen Amnionmembrantransplantation, des Hornhautstatus (eigene Hornhaut vs. Transplantat), des verwendeten Tränenersatzmittels und der Grunderkrankung auf die Erfolgs- und Rezidivraten des autologen Serums bei therapieresistenten Epitheldefekten mit oder ohne Defekt der Bowman'schen Lamelle zu evaluieren.

Patienten und Methoden:

Von 2007 bis 2019 wurden 990 Behandlungen mit autologem Serum an 703 Augen von 645 Patienten retrospektiv untersucht. Erfasst wurde das Vorliegen einer Erosio oder zusätzlichen Defekts der Bowman'schen Lamelle (Ulkus), die Verwendung einer simultanen Amnionmembrantransplantation, der Hornhautstatus, das im Wechsel mit autologem Serum applizierte Tränenersatzmittel (HYLO® GEL, URSAPHARM Arzneimittel GmbH, Saarbrücken, Deutschland vs. Comfort Shield®, i.com medical GmbH, München, Deutschland) und die Grunderkrankung. Zielgrößen waren die Epithelschlussrate innerhalb 4 Wochen und die Rezidivrate nach erfolgtem Epithelschluss. Die mediane Beobachtungsdauer betrug 50 Monate. Zur statistischen Analyse wurden Chi-Quadrat-Tests und Kaplan-Meier-Verfahren mit Log-Rank-Test verwendet mit einem Signifikanzniveau von 5%.

Ergebnisse:

Ein Epithelschluss zeigte sich bei insgesamt 73,6% und ein Rezidiv bei 27,4% der Anwendungen. Es bestand kein Unterschied zwischen Erosionen und Ulzera in der Epithelschlussrate ($p = 0,27$), jedoch zeigten die Ulzera eine signifikant langsamere Heilungstendenz ($p < 0,001$). Eine simultane Amnionmembrantransplantation wurde signifikant häufiger bei Ulzera ($p < 0,001$) und Rezidiven ($p = 0,048$) angewandt. Ohne simultane Amnionmembrantransplantation ergab sich eine signifikant höhere Epithelschlussrate ($p < 0,001$) und schnellere Heilungstendenz ($p < 0,001$). Es bestand kein Unterschied zwischen der eigenen und transplantierten Hornhaut in der Epithelschlussrate ($p = 0,47$), jedoch zeigte die transplantierte Hornhaut eine signifikant höhere Rezidivrate

Zusammenfassung

($p = 0,004$) und ein schnelleres Rezidivaufreten ($p = 0,03$), v.a. in den ersten 6 Monaten nach Epithelschluss. Das Tränenersatzmittel Comfort Shield® zeigte eine signifikant geringere Epithelschlussrate als HYLO® GEL ($p = 0,03$), v.a. die Kombination aus Comfort Shield® und einer simultanen Amnionmembrantransplantation ($p < 0,001$), jedoch bestand kein Unterschied in der Rezidivrate ($p = 0,28$). Die Grunderkrankungen zeigten einen signifikanten Unterschied in der Epithelschluss- ($p = 0,02$) und Rezidivrate ($p < 0,001$) mit höchster Erfolgsrate bei Hornhautdystrophien und geringster bei kongenitaler Aniridie.

Schlussfolgerungen:

Das autologe Serum stellt eine effektive Therapieoption bei therapieresistenten Epitheldefekten dar. Bei tieferen Defekten, den Ulzera, zeigt es gute Therapieerfolge trotz einer insgesamt langsameren Heilungstendenz. Auf dem Transplantat zeigt es eine hohe Erfolgsrate bei gleichzeitig höherer Neigung zur Ausbildung von Rezidiven, v.a. im ersten halben Jahr nach Epithelschluss. Auch bei indizierter simultaner Amnionmembrantransplantation muss – wahrscheinlich aufgrund der erhöhten Komplexität des zugrunde liegenden Problems – mit einer geringeren Erfolgsrate gerechnet werden. In Kombination mit autologem Serum ist bevorzugt das Tränenersatzmittel HYLO® GEL anzuwenden. Das autologe Serum ist zudem bei verschiedenen Grunderkrankungen erfolgreich einsetzbar, zeigt jedoch deutliche Limitationen bei der kongenitalen Aniridie.

2.2 Summary

Introduction:

Despite numerous treatment options, therapy-resistant corneal epithelial defects still prove to be a challenge. The purpose of this study was to evaluate the impact of simultaneous amniotic membrane transplantation, status of the cornea (own cornea vs. graft), tear substitute applied and underlying disease on the success and recurrence rates of autologous serum in therapy-resistant epithelial defects with or without defect of Bowman's layer.

Patients and methods:

Between 2007 and 2019, a total of 990 treatments with autologous serum in 703 eyes of 645 patients were retrospectively examined. The presence of an erosion or additional defect of Bowman's layer (ulcer), the use of simultaneous amniotic membrane transplantation, the status of the cornea, the tear substitute applied in alternation with autologous serum (HYLO® GEL, URSAPHARM Arzneimittel GmbH, Saarbrücken, Germany vs. Comfort Shield®, i.com

Zusammenfassung

medical GmbH, Munich, Germany) and the underlying disease were recorded. Epithelial closure rate within 4 weeks and recurrence rate after epithelial closure were main outcome measures. The median observation period was 50 months. For statistical analysis, chi-square tests and Kaplan-Meier curves with log-rank test were used with a significance level of 5%.

Results:

Overall epithelial closure was seen in 73.6% and recurrence in 27.4% of the therapies. There was no difference between erosions and ulcers in epithelial closure rate ($p = 0.27$), but ulcers showed a significantly slower healing tendency ($p < 0.001$). Simultaneous amniotic membrane transplantation was used significantly more often for ulcers ($p < 0.001$) and recurrences ($p = 0.048$). Without simultaneous amniotic membrane transplantation, there was a significantly higher epithelial closure rate ($p < 0.001$) and faster healing tendency ($p < 0.001$). There was no difference between own corneas and grafts with respect to epithelial closure rate ($p = 0.47$), but grafts showed a significantly higher recurrence rate ($p = 0.004$) and faster recurrence ($p = 0.03$), especially in the first 6 months after epithelial closure. The tear substitute Comfort Shield® showed a significantly lower epithelial closure rate than HYLO® GEL ($p = 0.03$), especially the combination of Comfort Shield® and simultaneous amniotic membrane transplantation ($p < 0.001$), but there was no difference in the recurrence rate ($p = 0.28$). The underlying diseases showed a significant difference in epithelial closure ($p = 0.02$) and recurrence rate ($p < 0.001$) with highest success rate in corneal dystrophies and lowest in congenital aniridia.

Conclusions:

Autologous serum is an effective therapeutic option for therapy-resistant epithelial defects. For deeper defects, the ulcers, it shows good therapeutic success despite an overall slower healing tendency. There was also a high success rate for grafts but with a higher tendency to develop recurrences, especially in the first 6 months after epithelial closure. Even in case of indicated simultaneous amniotic membrane transplantation a reduced success rate has to be expected, presumably because of the higher complexity of the given situation. In combination with autologous serum, the tear substitute HYLO® GEL is preferred. In addition, autologous serum can be used successfully in various underlying diseases, but shows major limitations in case of congenital aniridia.

3. Einleitung

3.1 Anatomie und Physiologie der Hornhaut

Zum Verständnis der Pathophysiologie von Hornhautepitheldefekten sind grundlegende Kenntnisse über die Anatomie und Physiologie der Hornhaut (HH) erforderlich.

Die HH (englisch: Cornea) nimmt als optische Struktur des menschlichen Auges für unser Sehen einen herausragenden Stellenwert ein. Sie ist ein transparentes und avaskuläres Gewebe, welches zirkulär am Limbus corneae an die Sklera grenzt. Mit der Sklera zusammen bildet sie die äußere Hülle des Auges und dient damit als infektiöse und strukturelle Barriere gegen äußere Einflüsse [23,40].

Die HH ist horizontal elliptisch geformt (Durchmesser horizontal: 11-12 mm; vertikal: 9-11 mm) sowie sphärisch gekrümmt (Vorderflächenradius: 7,8 mm; Rückflächenradius: 6,5 mm) [108]. Sie ist im Zentrum dünner (ca. 551-565 μm) als in der Peripherie (ca. 612-640 μm), was auf einen höheren Gehalt an Kollagenfasern im peripheren Stroma zurückzuführen ist [31,108]. Durch ihre Krümmung sowie durch den Unterschied der Brechungsindizes von Luft (1,0) und HH (1,33) entsteht die hohe Brechkraft der HH von insgesamt 43 Dioptrien (dpt). Damit trägt sie von allen Strukturen des Auges den größten Anteil (ca. 70%) zur Gesamtbrechkraft des Auges (ca. 60 dpt) bei und unterstreicht ihre Bedeutung für das scharfe Abbilden von Gegenständen auf der Netzhaut [40,108].

Im vorderen Bereich des Augapfels werden die HH und die Sklera mit Tränenflüssigkeit benetzt. Diese setzt sich aus einer äußeren Lipidschicht, mittleren wässrigen Schicht und inneren Muzinschicht zusammen. Die Tränenflüssigkeit besitzt eine ernährende Funktion, indem sie zusammen mit dem Kammerwasser und dem Randschlingennetz der Bindehautgefäße die avaskuläre HH über Diffusion mit Nährstoffen versorgt. Des Weiteren beteiligt sie sich durch ihre antimikrobiellen und epitheliotrophen Komponenten an der Immunabwehr und Regeneration der HH. Durch das Erzeugen einer glatten Hornhautoberfläche ist sie zudem an ihrer optischen Funktion beteiligt [40,116].

Der Aufbau der HH lässt sich von außen nach innen in folgende Schichten gliedern: Epithel, Bowman'sche Lamelle, Stroma, Descemet-Membran und Endothel [108]. Die Schichtung der HH ist in der **Abbildung 1** veranschaulicht. Im Jahre 2013 wurde von dem englischen Ophthalmologen Harminder S. Dua eine weitere 6-15 μm dicke Dua-Schicht zwischen Stoma

Einleitung

und Descemet-Membran beschrieben [27]. Sie besteht hauptsächlich aus Kollagenfibrillen und charakterisiert sich durch eine hohe Belastbarkeit [27,108]. Ihre Existenz wird bislang in der Literatur kontrovers diskutiert, weshalb sie in der **Abbildung 1** nicht mit aufgeführt ist.

Die Epithelschicht besteht aus einem gleichmäßig angeordneten, mehrschichtigen, nicht verhornenden Plattenepithel von ca. 50 μm Dicke und formiert sich aus 4-6 Zellreihen. Sie bildet die erste protektive Barriere gegen äußere Einflüsse [23]. Außerdem sorgt sie in Interaktion mit dem Tränenfilm für eine glatte Hornhautoberfläche, welche essenziell für die korneale Brechkraft und damit für das ideale Sehvermögen ist [66]. Aufgrund einer durchschnittlichen Lebensdauer der Epithelzellen von 5-10 Tagen regeneriert sich die gesamte Epithelschicht wöchentlich neu [41]. Dabei wandern die zur Mitose fähigen

tiefen Basalzellen in Richtung Oberfläche, wobei sie sich erst zu Flügelzellen und dann zu Schuppenzellen entwickeln [23]. Für die notwendige Stabilität der Epithelschicht sind die Epithelzellen untereinander über Desmosomen verbunden sowie die basale Schicht über Hemidesmosomen fest in der Basalmembran verankert. In der peripheren Epithelschicht befinden sich zudem Langerhanszellen, die der avaskulären HH zusätzlich zur Immunabwehr dienen [108]. Kommt es zu Verletzungen des Epithels, regeneriert es sich normalerweise innerhalb weniger Stunden bis Tage neu. Dabei decken binnen Minuten randständige Epithelzellen den Defekt durch Migration ab und weisen hierbei eine Geschwindigkeit von 60-80 μm pro Stunde auf. Anschließend beginnen nach ca. 24-30 Stunden die Basalzellen sowie bei größeren Defekten auch die Stammzellen der Limbusregion die Epithelschicht durch Mitose und Proliferation wiederherzustellen [23,66].

Die vor dem Stroma befindliche Bowman'sche Lamelle weist eine Dicke von 12 μm auf. Sie besteht aus Kollagen und Proteoglykanen und hilft der HH ihre Form zu bewahren. Bei

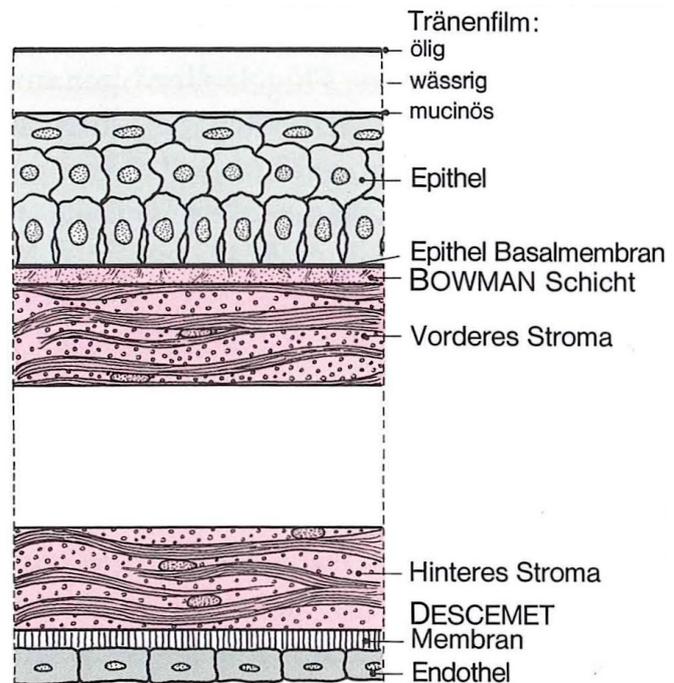


Abbildung 1: Histologischer Aufbau der Hornhaut

Bildquelle: Naumann GOH (1997) Pathologie des Auges I. 2. edition. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg

Einleitung

Verletzungen ist sie nicht regenerationsfähig und heilt unter Narbenbildung aus [108].

Das Stroma macht mit 400-500 μm ca. 80-85% der Dicke der gesamten HH aus. Es kennzeichnet sich durch seine hohe Transparenz und mechanische Festigkeit. Diese werden durch eine präzise gitterartige Anordnung von Kollagenfibrillen erreicht. Neben den Kollagenfibrillen besteht das Stroma hauptsächlich aus Glykosaminoglykanen, Proteoglykanen, Wasser und zu einem geringeren Anteil aus Keratozyten [108].

Die Descemet-Membran ist die Basalmembran des Endothels und setzt sich überwiegend aus elastischen Fasern (Kollagen und Laminin) zusammen, welche ihr eine hohe mechanische Widerstandsfähigkeit geben. Im Erwachsenenalter besitzt sie eine Dicke von ca. 10-12 μm , wobei sie im Laufe des Lebens an Dicke zunimmt [22,40].

Das Endothel ist eine einschichtige, 5 μm dicke und der mit Kammerwasser gefüllten vorderen Augenkammer zugewandte Schicht aus metabolisch aktiven hexagonalen Zellen. Über seine Pumpfunktion reguliert es den Wassergehalt der HH, indem es das Stroma entquellt und dadurch die Transparenz der HH aufrecht erhält [40,108]. Die Zelldichte des Endothels nimmt vom zweiten bis achten Lebensjahrzehnt von 3000-4000 Zellen/ mm^2 auf etwa 2600 Zellen/ mm^2 ab [128]. Die mittlere Abnahme der zentralen Endothelzelldichte beträgt dabei 0,6% pro Jahr mit allmählicher Zunahme von Polymegalismus (Variation in der Zellgröße) und Pleomorphismus (Variation in der Zellform) [15]. Sinkt die Endothelzelldichte unter 700 Zellen/ mm^2 , reicht die Pumpfunktion nicht mehr aus und es kommt zur Quellung und folglich Trübung der HH [40].

Neben dem mechanischen Schutz durch die Lider bei Lidschluss, verfügt die HH als weiteren Schutzmechanismus über eine sehr stark ausgeprägte sensible Innervation. Hierfür ist der 1. Ast des Nervus Trigemini (Nervus ophthalmicus) zuständig [40]. Seine Nervenfasern treten von der Peripherie der HH radial in das mittlere Stroma ein und erstrecken sich anschließend nach lateral und anterior, wodurch sie auf verschiedenen Ebenen des Stromas plexiforme Anordnungen bilden. Nachfolgend perforieren sie die Bowman'sche Lamelle und bilden einen dichten Nervenplexus unter der basalen Epithelschicht. Dieser subbasale Nervenplexus ist für die sensible Innervation der Epithelschicht verantwortlich [77].

3.2 Therapieresistente Hornhautepitheldefekte

Ein therapieresistenter Hornhautepitheldefekt ist per Definition ein in der Regel mehr als 10-14 Tage persistierender Epitheldefekt, welcher trotz intensiver Standardtherapie keine ausreichende Heilungstendenz aufweist [121]. Unter normalen Bedingungen durchläuft die Epithelschicht nach einer Verletzung innerhalb von 7-14 Tagen einen aktiven Regenerationsprozess. Dieser umfasst eine hochgradig regulierte Kaskade aus Wachstumsfaktoren und zellulären Signalen, welche die Proliferation und Migration von Epithelzellen und damit die epitheliale Wundheilung bewirken, sowie aus einem zusätzlichen Umbau der extrazellulären Matrix. Zu den beteiligten Wachstumsfaktoren zählen der epidermal growth factor (EGF), transforming growth factor- β (TGF- β), fibroblast growth factor (FGF), hepatocyte growth factor (HGF), keratocyte growth factor (KGF), nerve growth factor (NGF), platelet-derived growth factor (PDGF) und der Insulin-like growth factor-1 (IGF-1). Zu den Zytokinen gehören unter anderem der tumor necrosis factor- α (TNF- α) und das Interleukin-1 (IL-1), welche die Produktion der Wachstumsfaktoren initiieren [63,66,121]. Beim Vorliegen verschiedener grundlegender Erkrankungen und Risikofaktoren kann jede Störung des Regenerationsprozesses zu einer ungewöhnlich langsamen Heilung mit persistierenden Hornhautepitheldefekten führen [121].

Obwohl es inzwischen einige Therapieoptionen gibt und immer mehr neue Ansätze entwickelt werden, stellt die Behandlung von therapieresistenten Hornhautepitheldefekten bis heute eine Herausforderung für den behandelnden Augenarzt dar. Des Weiteren verursacht die Behandlung nicht selten einen mehrwöchigen stationären Aufenthalt für den Patienten [32]. Bei unzureichender Behandlung wird das Auge durch die Störung der schützenden Epithel- und Stromaschichten anfällig für Komplikationen wie Infektionen, Ulzerationen, Narbenbildung, Vaskularisation, Perforationen bis hin zum Verlust des Augenlichtes [32,121].

3.2.1 Erosio vs. Ulkus

Unterschieden wird zwischen Epitheldefekten ohne Defekt der Bowman'schen Lamelle, den Erosionen, und tiefer liegenden Defekten mit zusätzlichem Defekt der Bowman'schen Lamelle und Beteiligung des oberflächlichen Stromas, den Ulzera [40]. Gerade Letztere kennzeichnen sich durch eine langsame Heilungstendenz mit mehrwöchigen Liegezeiten sowie der Gefahr von Narbenbildungen und sekundären Komplikationen [32,121].

3.2.2 Ätiologie

Eine Vielzahl verschiedener okulärer und systemischer Erkrankungen können eine Wundheilungsstörung des Hornhautepithels verursachen. Zu den grundlegenden Ätiologien von persistierenden Epitheldefekten zählen [7,8,12,90,98,106,121]:

- Infektiöse Ursachen: Viren (v.a. Herpesviren: Herpes-Simplex-Virus-1, Varizella-Zoster-Virus), Bakterien, Pilze, Akanthamöben
- Neurotrophe Ursachen: Trigeminiisläsionen, Diabetes mellitus, Herpeskeratitis, Keratokonjunktivitis sicca, Lokalanästhetikaabusus
- Traumatische Ursachen: Säure- und Laugenverätzungen, Verbrennungen
- Hereditäre Erkrankungen: kongenitale Aniridie, epitheliale und stromale Hornhautdystrophien
- Immunologische Ursachen: Graft-versus-Host-Disease, Sjögren-Syndrom, Rosazea, Kollagenosen, Steven-Johnson-Syndrom, Lyell-Syndrom, Rheumatoide Arthritis
- Postchirurgische Defekte: nach phototherapeutischer Keratektomie, Pannektomie, EDTA-Touchierung, Pterygium-Operation, Pars-plana-Vitrektomie
- Mechanische Ursachen: Lagophthalmus, Entropium, Ektropium, Trichiasis
- Weitere: Salzmann'sche Hornhautdegeneration, Band-Keratopathie, bullöse Keratopathie, Limbusstammzellinsuffizienz

3.2.3 Symptomatik

Die Beschwerdesymptomatik der Patienten umfasst Schmerzen, Fremdkörpergefühl, starken Tränenfluss, Augenrötung, Lichtscheu, Lidkrampf, Schleiersehen und Visusminderung. Bei Patienten mit neurotropher Keratopathie kann aufgrund der herabgesetzten Hornhautsensibilität und der daraus folgenden eingeschränkten Schmerzempfindung eine geringere Symptomatik vorhanden sein [8,20,40,98].

3.2.4 Diagnostik

Diagnostisch wird beim Vorliegen eines Hornhautepitheldefekts eine ausführliche Patientenanamnese erhoben, eine Visusprüfung durchgeführt und der vordere Augenabschnitt

Einleitung

sorgfältig mit der Spaltlampe inspiziert. Geachtet wird hierbei insbesondere auf das Bestehen einer akuten Entzündung mit Infiltraten der HH sowie Zellen und Eiteransammlung in der Vorderkammer (Hypopyon). Zudem können etwaige Narbenbildungen, Vaskularisationen, retrokorneale Beschläge und Trübungen der HH detektiert werden. Das Vorliegen eines Bindehaut- oder Hornhautfremdkörpers sollte ausgeschlossen werden. Untersucht wird außerdem das Vorhandensein von Lidabnormalitäten (Fehlstellungen, Vernarbungen, Blepharitis, Trichiasis) oder eines inkompletten Lidschlusses (Lagophthalmus). Um die genaue Lokalisation, Größe und Tiefe (Erosio vs. Ulkus) des Hornhautdefekts zu beurteilen, erfolgt eine Anfärbung der Hornhautoberfläche mittels der Farbstofflösung Fluoreszein. Das Fluoreszein wird in Tropfenform appliziert und verteilt sich mit dem Blinzeln auf der Hornhautoberfläche. Während es auf der intakten HH über die Lider wieder entfernt wird, färbt es die Hornhautdefekte durch Eindringen in den interzellulären Raum gut sichtbar in grüner Farbe an [40,98,121]. Zusätzlich erfolgt meist eine Fotodokumentation des Befundes. Beispiele hierzu sind in den **Abbildungen 2-4** dargestellt. Weitere Untersuchungen umfassen unter anderem eine Messung des Augeninnendrucks, eine Anästhesiometrie im Seitenvergleich zum Detektieren einer neurotrophen Keratopathie sowie eine Überprüfung der Tränenproduktion mittels Schirmer-Test und der Benetzung mittels Tränenfilmaufreißzeit („Tear break-up time“). Bei dem Verdacht auf eine infektiöse Ursache des Hornhautepitheldefekts wird ein Erregerabstrich durchgeführt. Notwendig ist eine tägliche Verlaufskontrolle der stationär behandelten Patienten mit einer Visusüberprüfung, Augeninnendruck-Messung, Untersuchung an der Spaltlampe und Anfärbung des Defekts mit Fluoreszein. Hierbei erfolgt eine Überprüfung der Regredienz oder Progredienz des Defekts sowie des Auftretens von sekundären Komplikationen [40,98,121].

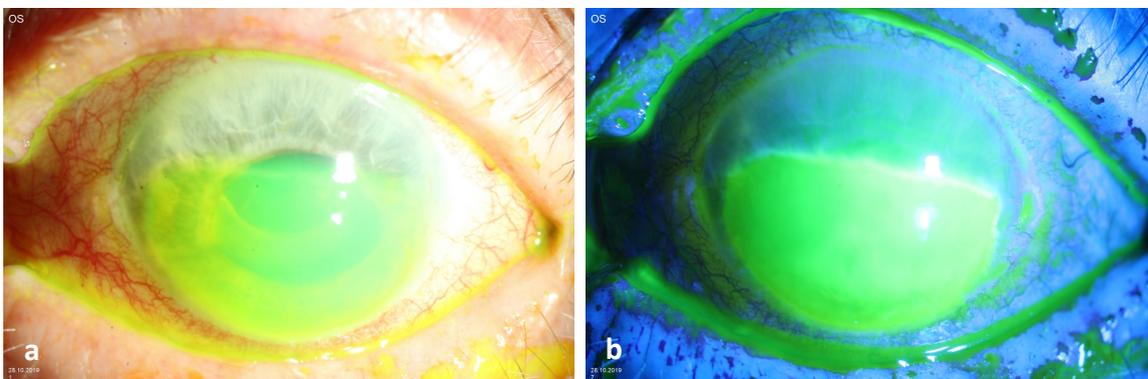


Abbildung 2: Großflächige Hornhauterosio bei neurotropher Keratopathie, mit Fluoreszein grün angefärbt. **a** Fluoreszeinfärbung ohne Blaufilter. **b** Fluoreszeinfärbung mit Blaufilter (eigene Bilder)

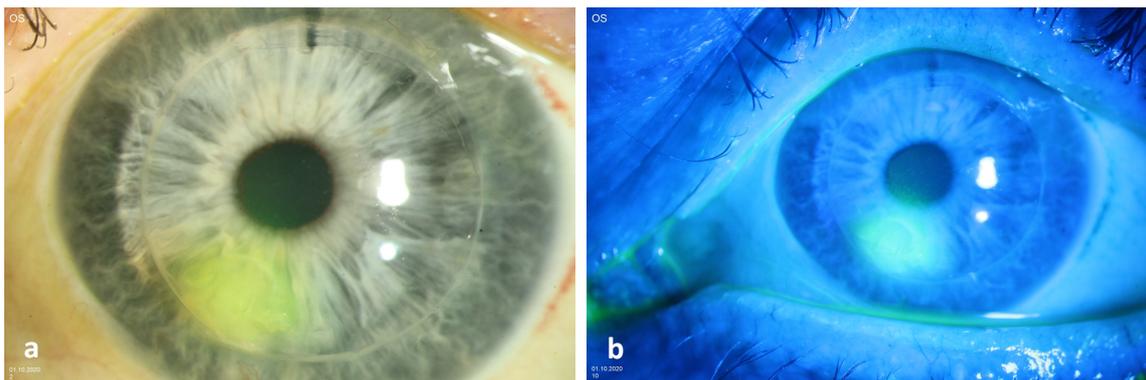


Abbildung 3: Hornhautulkus bei Rezidiv einer Herpesinfektion auf der transplantierten Hornhaut, mit Fluoreszein grün angefärbt. **a** Fluoreszeinfärbung ohne Blaufilter. **b** Fluoreszeinfärbung mit Blaufilter (eigene Bilder)

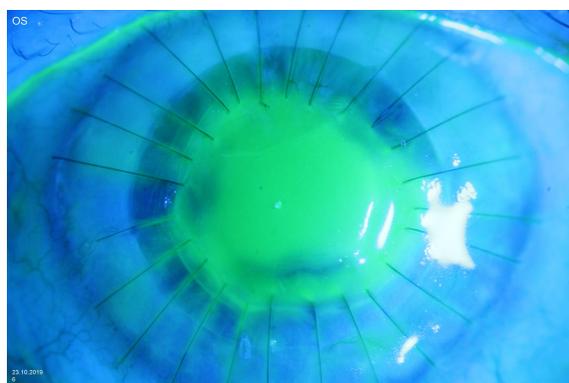


Abbildung 4: Persistierende Erosio auf dem Transplantat nach perforierender Keratoplastik, mit Fluoreszein und Blaufilter grün angefärbt (eigenes Bild)

3.3 Therapieoptionen bei persistierenden Hornhautepitheldefekten

In der Therapie von persistierenden Hornhautepitheldefekten können eine Reihe verschiedener medikamentöser und chirurgischer Therapiemodalitäten unterschiedlicher Invasivität zum Einsatz kommen. Das Ziel der Behandlung besteht darin, eine für die Migration und Proliferation der sich regenerierenden Epithelzellen förderliche Umgebung zu schaffen [121].

Zu Beginn der Therapie sollte die Ursache des Epitheldefekts festgestellt werden und die Grunderkrankung entsprechend therapiert werden (z. B. optimale Blutzuckereinstellung bei diabetischer Keratopathie oder antivirale Therapie bei Herpeskeratitis) [121]. Epitheltoxische Medikamente sollten, wenn möglich, abgesetzt und von der Therapie ausgeschlossen werden. Wegen der potentiell epitheltoxischen Wirkung von Konservierungsmitteln sollten zudem bevorzugt konservierungsmittelfreie Augentropfen verwendet werden [36,98].

3.3.1 Medikamentöse Therapieoptionen

Zur konservativ medikamentösen Therapie werden unkonservierte künstliche Tränen, pflegende Gele und Salben sowie Verbandskontaktlinsen eingesetzt. Zusätzlich sollte aufgrund des Superinfektionsrisikos eine antibiotische Prophylaxe mit Fluorchinolonen, beispielsweise Ofloxacin, verabreicht werden [8,32]. Aminoglycoside, wie beispielsweise Gentamicin, sind aufgrund ihrer epitheltoxischen Wirkung zu vermeiden [95]. Auch nichtsteroidale Antiphlogistika und Kortikosteroide sind in der Regel vor allem initial von der Anwendung auszuschließen [32,46,96]. Als weitere medikamentös konservative Therapiemöglichkeit steht das autologe Serum (AS) zur Verfügung. Durch seine biomechanische und biochemische Zusammensetzung hat es eine starke Ähnlichkeit zur physiologischen Tränenflüssigkeit. Neben einem fast identischen pH-Wert und osmotischen Druck besitzt es zahlreiche gleichartig in der Tränenflüssigkeit vorkommende Komponenten wie Wachstumsfaktoren, Proteine und Vitamine, welchen insgesamt ein wundheilungsfördernder Effekt zugeschrieben wird [38,44].

3.3.2 Chirurgische Therapieoptionen

Zu den chirurgischen Therapiemöglichkeiten zählen die Korrektur von Lidfehlstellungen (Entropium/Ektropium) und die Behandlung einer Trichiasis. Zudem kann ein Verschluss des Tränenpünktchens (Punctum lacrimale) entweder temporär (reversibel) mit einem Silikonstöpsel („Punctum plug“) oder permanent mittels Tränenpünktchenverödung erfolgen. Tritt weiterhin keine Verbesserung ein, kann als „körpereigener Verband“ eine temporäre oder permanente laterale Tarsorrhaphie durchgeführt oder eine temporäre iatrogene Ptosis mittels Botulinumtoxin-Injektion induziert werden [32,71,98]. Außerdem besteht die Möglichkeit mit einer minimalinvasiven „Excimerlaser Phototherapeutischen Keratektomie“ (e-PTK) die Epithelheilung zu unterstützen [97]. Eine weitere Therapieoption stellt die ein- oder mehrlagige Amnionmembrantransplantation (AMT) dar. Ihr wundheilungsfördernder Effekt resultiert neben dem mechanischen Schutz aus der Freisetzung von Wachstumsfaktoren und antiinflammatorischen Faktoren [8,33,99]. Weitere Therapiemöglichkeiten bilden die Durchführung einer tektonischen perforierenden Keratoplastik (PKP) à chaud, das Einsetzen einer Boston-Keratoprothese, die Limbusstammzelltransplantation, der Wundverschluss mittels Cyanoacrylatkleber bei Perforation und als ultima ratio die Bindehautdeckung [78,98,117,121].

3.3.3 Neuere und in der Entwicklung befindliche Therapieansätze

Zu den aktuell neueren Therapien zählt die topische Applikation des „recombinant human nerve growth factor“ (rhNGF, rekombinater humaner Nervenwachstumsfaktor) Cenegermin, welcher in Studien eine effektive Wirkung auf die Heilung von Epitheldefekten, vor allem den Ulzera, bewiesen hat [13,58]. Er wurde im Jahr 2017 zur Therapie der mittelschweren bis schweren neurotrophen Keratopathie in Europa und seit 2018 ebenfalls in den USA zugelassen [104]. Des Weiteren zeigte die topische Applikation von Insulin-Augentropfen in klinischen Studien vielversprechende Ergebnisse mit einer beschleunigten Reepithelisierung von Hornhautepitheldefekten [24,25,29]. Weitere aktuell noch in der Entwicklung befindliche Therapieansätze bilden unter anderem die topische Applikation von ebenfalls epitheliotropen Komponenten der Tränenflüssigkeit und des Serums wie beispielsweise Fibronektin, Thymosin β 4 (T β 4), Albumin, EGF sowie der Kombination aus IGF-1 und Substanz P [69,73,75,93,121,129]. Um den positiven Effekt auf die epitheliale Wundheilung der Amnionmembran, wie bei einer AMT, zu generieren und gleichzeitig ein chirurgisches Trauma durch die Fixation der Amnionmembran auf der Augenoberfläche durch eine Naht zu vermeiden, könnte die Applikation einer Amnionmembransuspension eine sinnvolle Alternative darstellen [109,121]. Außerdem stellen nahtlos fixierte Amnionmembranen, welche eingespannt in ein Ringsystem auf der Augenoberfläche aufgebracht werden, wie Aminoclip-plus (Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation gGmbH, Hannover, Deutschland) oder ProKera[®] (Bio-Tissue, Inc., Miami, Florida, USA) eine mögliche Therapieoptionen dar [53]. Weitere vielversprechende Ergebnisse ergab zudem die Anwendung von autologem Fingerprick Vollblut [115].

3.4 Hintergrund der Therapie mit autologen Serumaugentropfen

Als AS bezeichnet man Augentropfen, die aus dem Vollblut des Patienten gewonnen und zu Serumaugentropfen weiterverarbeitet werden. Hierbei wird nach einer Gerinnungsphase und Zentrifugation des frisch abgenommenen Blutes der proteinreiche und zellarme Überstand (Serum) in sterile Tropfflaschen ohne Konservierungsmittel gefüllt und zur Applikation bei verschiedenen Erkrankungen der Augenoberfläche angewandt. Das AS kann unverdünnt (100%ig) oder über Nutzung eines Verdünnungsmittels (Balanced Salt Solution (BSS) oder physiologische Kochsalzlösung) in einer niedrigeren Konzentration verabreicht werden [37,38].

Einleitung

Über die Verwendung von AS bei Erkrankungen der Augenoberfläche wurde erstmalig im Jahre 1975 in einer Studie von Ralph et al. berichtet, in der das Serum über eine mobile Augenperfusionspumpe kontinuierlich an die Augenoberflächen von 12 Patienten appliziert wurde [84]. Später im Jahre 1984 beschrieben Fox et al. zum ersten Mal die Wirksamkeit von autologen Serumaugentropfen bei Patienten mit Keratokonjunktivitis sicca. Hierbei wurden erfolgreich 15 Patienten mit 30%igem AS behandelt, welche zuvor unter der Therapie mit pharmazeutischen Tränenersatzmitteln keine Besserung der Symptomatik aufwiesen [34]. Hintergrund der Anwendung des AS war die Suche nach einem unkonservierten Tränenersatzmittel, welches nicht nur, wie pharmazeutische Tränenersatzmittel, die mechanische Funktion, sondern gleichzeitig durch seine biochemischen Komponenten die antimikrobiellen und epitheliotropen Eigenschaften der natürlichen Träne ersetzt [34,37]. Tsubota et al. beobachteten daraufhin im Jahre 1999 in klinischen Studien die effektive Wirkung von 20%igem AS bei Patienten mit Sjögren-Syndrom und auch erstmalig bei Patienten mit persistierenden Hornhautepitheldefekten. Zudem konnten sie in vitro nachweisen, dass die Applikation von AS die Muzinexpression konjunkivaler Epithelzellen vermehrt sowie die Migration der kornealen Epithelzellen dosisabhängig beschleunigt [118,119]. Weitere experimentelle Studien ergaben einen besseren Erhalt der Vitalität der Hornhautepithelzellen bei der Applikation von AS im Vergleich zu pharmazeutischen Tränenersatzmitteln, indem das AS die Morphologie der Epithelzellen im Kulturmedium erhält und ihre Stoffwechselfunktion fördert [36,83]. Ebner et al. fanden zudem eine erhöhte Transkription der RNA für NGF- und TGF- β -Rezeptoren durch humane Keratozyten im Kulturmedium nach Inkubation mit unverdünntem AS [28]. Damit erklärt sich die epitheliotrope Wirkung neben dem primären Gehalt an Wachstumsfaktoren im Serum ebenso durch die Vermehrung der Wachstumsfaktorrezeptoren [28]. Der positive Effekt des AS auf die Proliferation und Migration der Epithelzellen und daraus folgend auf die epitheliale Wundheilung wurde in weiteren In-vitro-Studien beobachtet [109,112,127]. Neben den experimentellen Studien wurde zudem im Verlauf der letzten Jahre die erfolgreiche Therapie mit AS bei verschiedenen Erkrankungen der Augenoberfläche und vor allem die Wirksamkeit auf die Epithelheilung bei persistierenden Epitheldefekten in zahlreichen klinischen Studien bestätigt [4,19,32,38,60,79,103,105,122].

Insgesamt zählen zu den häufigsten Indikationen in der Therapie mit autologen Serumaugentropfen persistierende Hornhautepitheldefekte, das Ulcus corneae, die Keratokonjunktivitis sicca, Epitheldefekte nach PKP und Traumata (Verätzungen und

Einleitung

Verbrennungen) [49]. Ein weiteres häufiges Anwendungsgebiet stellt die neurotrophe Keratopathie dar [8,98].

Bei Patienten mit dem Vorliegen einer systemischen Infektionskrankheit wie dem Humanen Immundefizienz-Virus (HIV), Hepatitis B, Hepatitis C, Zytomegalievirus (CMV) oder Syphilis ist die Therapie mit AS kontraindiziert [38]. Hierbei besteht ein zu hohes Ansteckungsrisiko für den Patienten bei einer versehentlichen Verwechslung der Tropfflaschen und zusätzlich für das Pflegepersonal bei der Verabreichung der Tropfen [49,124]. Zudem sind Patienten mit einem schlechten Allgemeinzustand, stark beeinträchtigten Venenverhältnissen oder einer aktiven bakteriellen Infektion nicht für die Therapie geeignet [38]. Zusätzlich konnte nachgewiesen werden, dass im Serum von Patienten mit entzündlichen Erkrankungen, wie einem Sjögren-Syndrom oder einer Graft-versus-Host-Disease, hohe Konzentrationen an entzündungsfördernden Zytokinen enthalten sind, welche das Ergebnis der Therapie eher negativ beeinflussen können [111]. In solchen Fällen stellen alternative Blutprodukte allogenen Ursprungs wie das Serum aus dem Vollblut oder Nabelschnurblut eines Fremdspenders, plättchenreiches Plasma, isoliertes Humanalbumin oder eine Thrombozytensuspension eine hilfreiche Therapieoption dar. Der Vorteil liegt darin, dass Blutprodukte allogenen Ursprungs in größeren Mengen für jeden zugänglich hergestellt werden können [38]. Trotz vielversprechender Ergebnisse in Studien konnten sie sich jedoch aufgrund einer noch eingeschränkten Evidenzlage, eines umständlichen Beschaffungsprozesses und hoher Lieferkosten bislang nicht in der Praxis etablieren [38,107].

In verschiedenen Studien der letzten Jahre wurde außerdem die Effektivität der Substitution von Einzelkomponenten des Serums und der Tränenflüssigkeit wie beispielsweise Fibronectin oder EGF zur Therapie bei Erkrankungen der Augenoberfläche untersucht. Aufgrund der eher limitierten Wirksamkeit in klinischen Studien konnten sie sich – mit Ausnahme des NGF (Cenegermin) – ebenfalls bislang nicht in der Standardtherapie durchsetzen [13,37].

3.5 Eigenschaften und Wirkungsweise der autologen Serumaugentropfen

Autologe Serumaugentropfen besitzen die Besonderheit, dass sie mit ihrer biomechanischen und biochemischen Zusammensetzung eine starke Ähnlichkeit zur natürlichen Tränenflüssigkeit aufweisen [37,44]. Zum einen verfügen sie über einen identischen pH-Wert (beide 7,4) und osmotischen Druck (298 ± 10 mOsmol/l in der Tränenflüssigkeit; 296 mOsmol/l im Serum) [37]. Zum anderen enthalten sie gleichartige, biologisch aktive Komponenten, die

Einleitung

über antiinfektiöse, antioxidative und epitheliotrophe Eigenschaften die Erhaltung und Regeneration der Augenoberfläche unterstützen. Die hierfür verantwortlichen Hauptkomponenten des Serums und der Träne sind höhermolekulare Proteine, Wachstumsfaktoren und Vitamine. Teilweise liegen die Komponenten im Serum sogar in höheren Konzentrationen als in der Tränenflüssigkeit vor [37,44]. In **Tabelle 1** sind die Konzentrationen der einzelnen Komponenten gegenübergestellt.

Tabelle 1: Vergleich der Konzentrationen der Hauptkomponenten des Serums und der Tränenflüssigkeit [37,44]

Komponenten	Konzentration Serum	Konzentration Tränenflüssigkeit
Proteine		
Proteine insgesamt	66-81 mg/ml	7,51 mg/ml
Albumin	41-51 mg/ml	1,3 mg/ml
Lysozym	5-10,2 µg/ml	2,36 mg/ml
Lactoferrin	0,17-0,28 mg/ml	1,84 mg/ml
IgG	8,61-17,41 mg/ml	0,126 mg/ml
IgA	0,93-3,93 mg/ml	0,30 mg/ml
Fibronectin	205 µg/ml	21 µg/ml
Wachstumsfaktoren		
Epidermal growth factor (EGF)	0,72 ng/ml	1,66 ng/ml
Transforming growth factor-β (TGF-β)	6-33 ng/ml	2-10 ng/ml
Vitamine		
Vitamin A	200-500 ng/ml	16 ng/ml
Vitamin C	5-9 µg/ml	117 µg/ml

Die Gesamtproteinkonzentration des Serums ist etwa 10% höher als die der Tränenflüssigkeit. Während der Hauptteil der Tränenproteine aus Lysozym, Lactoferrin und Albumin besteht, dominieren im Serum vor allem Albumin und IgG [44]. Albumin ist zu einem deutlichen höheren Anteil im Serum als in der Träne vorhanden. Higuchi et al. konnten in einem Tiermodell nachweisen, dass Albumin die Apoptose von Epithelzellen supprimiert und damit die epitheliale Wundheilung fördert [43]. Auch klinische Studien zeigten gute Ergebnisse bei der Anwendung von Albumin-Augentropfen bei persistierenden Hornhautepitheldefekten und erwiesen eine Reduktion der Rezidivrate bei kornealen Ulzera [93]. Die ebenfalls vermehrt im Serum enthaltenen Immunglobuline (IgG und IgA) sowie auch Lysozym schützen das Hornhautepithel über antimikrobielle Funktionen vor Infektionen. Lactoferrin ist ein eisenbindendes Glykoprotein, welches den Transport von Eisen in die HH ermöglicht. Über seine antioxidativen Eigenschaften bewahrt es das Hornhautepithel vor oxidativem Stress wie z. B. der Einwirkung von UV-Strahlung [37,44]. Das disulfidhaltige Glykoprotein Fibronectin

Einleitung

ist in seiner Aktivität als Bindemittel vor allem für die Zelladhäsion verantwortlich. Es befindet sich ebenso in einer höheren Konzentration im Serum als in der Träne und spielt zudem eine Rolle bei der Organisation des Zytoskeletts, der Zellmigration und damit bei der epithelialen Wundheilung. Auch in klinischen Studien konnte seine Effektivität in der Therapie von persistierenden Hornhautepitheldefekten nachgewiesen werden [69,73].

Neben EGF und TGF- β beinhaltet das Serum zahlreiche weitere Wachstumsfaktoren wie z. B. NGF, IGF-1 und PDGF. Insgesamt fördern diese über ihre antiapoptotischen und epitheliotropen Eigenschaften dosisabhängig die Viabilität, Migration, Proliferation und Differenzierung der Epithelzellen und tragen damit einen wesentlichen Anteil zur Wundheilung des Hornhautepithels bei [109,112,127].

Die Vitamine A, C und E besitzen ebenfalls antioxidative Eigenschaften, worüber sie die HH vor oxidativem Stress schützen und ihre Funktion aufrechterhalten. Vitamin A ist zu einem bedeutend höheren Anteil im Serum als in der Träne vorhanden und beeinflusst zusätzlich die Zellregulation und -differenzierung. Ein Mangel an Vitamin A führt zur Keratomalazie mit einem Verlust von Becherzellen, einer verstärkten epidermalen Keratinisierung und squamösen Metaplasie der Hornhaut- und Bindehautzellen [44].

3.6 Komplikationen in der Therapie mit autologen Serumaugentropfen

Ein weiterer Vorteil des AS gegenüber pharmazeutischen Tränenersatzmitteln besteht darin, dass die Augentropfen aus AS als natürliches Tränenersatzmittel autologen Ursprungs grundsätzlich nicht allergen sind. Darüber hinaus ist die Gefahr einer epitheltoxischen Wirkung aufgrund ihrer unkonservierten Aufbewahrung eher gering [37]. Hervorzuheben ist außerdem, dass bislang in der Literatur nur wenige Einzelfälle beschrieben wurden, die während der Therapie mit AS eine Komplikation aufzeigten [76,83,88,92,114]. In der Regel zeigt sich die Therapie frei von Komplikationen [37]. Es existiert ein Bericht von einem Pateinten mit Immunkomplexablagerungen bei stündlicher Applikation von unverdünntem Serum sowie von einem Patienten mit kornealer Infiltration und Ulzeration nach 1-tägiger Behandlung mit AS [83,92]. Weitere Beobachtungen sind Einzelfälle von Patienten mit bakterieller Konjunktivitis, Keratitis oder Lidexzem [76,88,114]. Diese Komplikationen könnten jedoch auch im natürlichen Verlauf der Erkrankung oder aufgrund anderer Risikofaktoren und nicht durch die Therapie mit AS entstanden sein [37]. Zudem führten Kasper et al. eine Umfrage unter den Mitgliedern der Sektion Kornea der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) durch

Einleitung

und fanden bei einer Gesamtzahl von 2600 Patienten bei nur einem Patienten eine Fibrinablagerung als Folge der Therapie mit AS. Insgesamt wurde über keine irreversiblen oder systemischen Folgeerscheinungen berichtet, was die gute Verträglichkeit und hohe Sicherheit der Anwendung von autologen Serumaugentropfen unterstreicht [49].

Unkonservierte Blutprodukte bieten jedoch prinzipiell einen guten Nährboden für Mikroorganismen (vor allem Bakterien). Bei einer Kontamination der Serumaugentropfen könnten sie theoretisch in schweren Fällen eine intraokuläre Infektion verursachen oder bei Applikation nach PKP zu einem Transplantatversagen führen [91]. Daher führten Sauer et al. eine Sterilitätskontrolle an unkonserviertem, unverdünnten AS von 30 stationären Patienten mit therapieresistenten Epitheldefekten durch. Es zeigten sich erst am 7. Tag 3 von 40 Proben bakteriell kontaminiert, wobei während der Behandlung und in den folgenden Monaten kein Patient eine infektiöse Symptomatik entwickelte. Somit wurde die Anwendung des AS aus einer kühl gelagerten Tropfflasche und in Kombination mit einem lokalen Antibiotikum bis zum 7. Tag als unbedenklich eingestuft [91]. In einer Sterilitätskontrolle von Lagnado et al. wurde dagegen die Verwendung einer Tropfflasche für lediglich 24 Stunden und daraus folgend die tägliche Verwendung einer neuen Flasche als sicher eingeordnet [57]. Bislang wurden trotz der bakteriellen, viralen und fungalen Kontaminationsgefahr bei unkonservierter Aufbewahrung des AS in der Literatur keine intraokulären Infektionen im Rahmen der Anwendung beschrieben [98].

3.7 Rechtliche Grundlagen und Einschränkungen der autologen Serumaugentropfen

Nachteile der Therapie mit autologen Serumaugentropfen bilden die für die Herstellung notwendige Blutentnahme, der Ausschluss von der Therapie der Patienten mit Kontraindikationen (wie einer systemischen Infektionskrankheit) sowie die arbeitsintensive Herstellung unter strikt sterilen Bedingungen. Des Weiteren unterliegt die Herstellung von autologe Serumaugentropfen strengen gesetzlichen Vorschriften. Grundsätzlich handelt es sich bei Augentropfen aus AS um ein Arzneimittel und um ein Blutprodukt. Damit ist in Deutschland die Herstellung an die Regelungen des Arzneimittelgesetzes (AMG) sowie des Transfusionsgesetzes (TFG) gebunden. Nach § 13 AMG, Absatz 1 ist für die Herstellung eines Arzneimittels zur Abgabe an andere eine landesbehördliche Herstellungserlaubnis notwendig. Hierbei unterscheidet sich die ambulante von der stationären Behandlung [26,39].

Einleitung

Bei der ambulanten Behandlung werden die autologen Serumaugentropfen „in den Verkehr gebracht“ (§ 4 AMG, Absatz 17), d.h. an den Patienten abgegeben. Hersteller und Anwender sind nicht die gleiche Person. Nach dem Gesetz ist demnach eine behördliche Herstellungserlaubnis notwendig. Zum Erlangen der Erlaubnis müssen einige Voraussetzungen erfüllt sein. Es benötigt eine für alle Abläufe der Herstellung zuständige „sachkundige Person“ nach § 14 AMG, einen Leiter der Herstellung und der Qualitätskontrolle sowie geeignete Räumlichkeiten. Beachtet werden muss zudem die Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung und „Gute Herstellungspraxis“ (AMWHV). Außerdem sollte die Herstellung unter Standardanweisungen („standard operating procedures“ [SOP]) und mit Herstellungsprotokollen erfolgen sowie Mitarbeiterschulungen durchgeführt werden [26,39].

Im Vergleich dazu gilt bei der stationären Behandlung eine Ausnahmeregelung. Hier erfolgt die Anwendung der Serumaugentropfen durch den herstellenden Arzt selbst oder über seinen direkten Einwirkungsbereich. Damit unterscheiden sich Hersteller und Anwender nicht und es erfolgt keine Abgabe der Serumaugentropfen an den Patienten und somit kein „Inverkehrbringen“ des hergestellten Arzneimittels nach § 4 AMG, Absatz 17. Bei diesem sogenannten „Einhandverfahren“ im stationären Bereich greift der § 13 AMG, Absatz 1 daher nicht und eine behördliche Herstellungserlaubnis ist nicht notwendig. Für die Gültigkeit der Ausnahmeregelung muss beachtet werden, dass die Herstellung und Anwendung der Serumaugentropfen der „unmittelbaren fachlichen Verantwortung“ des anwendenden Arztes unterliegen. Dafür muss er seine Mitarbeiter mit hoher Sorgfältigkeit auf Zuverlässigkeit und Qualifikation prüfen, sie angemessen ausbilden und ausführliche Überwachungen in Form von Endkontrollen durchführen. Delegieren darf er lediglich die Tätigkeit selber, jedoch nicht seine Verantwortung [26,39].

Zusammengefasst ist die Herstellung der autologen Serumaugentropfen – insbesondere für den ambulanten Bereich – an strikte Vorschriften gebunden, was sie aufwändig und in vielen Kliniken nicht möglich macht [49,67,82,113]. Im ambulanten Bereich erfolgt häufig eine institutionelle Herstellung (z. B. in transfusionsmedizinischen Abteilungen), da hier die Räumlichkeiten sowie Qualifikationen und Kenntnisse der Mitarbeiter in der Regel vorliegen [39,49,113]. Die Kosten für die Therapie mit AS sind im Einhandverfahren überschaubar, jedoch im ambulanten Bereich recht hoch und belaufen sich auf ca. 300€ für eine 2-3 monatige Therapie [26,37,38].

Einleitung

Die Herstellung der autologen Serumaugentropfen umfasst vereinfacht die folgenden Schritte: Gerinnungsphase des abgenommenen Blutes, Zentrifugation des Blutes, steriles Abfüllen des Serums unter Filtration in Tropfflaschen und etwaige Verdünnung der Tropfen. Bislang sind die einzelnen Herstellungsschritte sowie die Anwendung der Tropfen (Applikationsschema) nicht standardisiert. Dabei konnte nachgewiesen werden, dass z. B. eine unterschiedlich angewandte Zentrifugationskraft und -dauer oder Verdünnung der Tropfen einen Einfluss auf die Zusammensetzung und den epitheliotropen Effekt des Serum haben [38,42,62,109,127]. Es wurden in den letzten Jahren optimierte Protokolle zur Herstellung von Serumaugentropfen publiziert, dennoch hat sich bislang keine universal einheitliche Herstellungsweise durchgesetzt [62,68,86,105].

3.8 Amnionmembrantransplantation

Kryokonservierte humane Amnionmembranen werden seit Ende der 1990 Jahre erfolgreich in der Behandlung von therapieresistenten Hornhautepitheldefekten eingesetzt [99]. Bei der Amnionmembran handelt es sich um die innerste, dem Fötus zugewandte Schicht der mütterlichen Plazenta, die zur Therapie bei Erkrankungen der Augenoberfläche nach einer Kaiserschnittgeburt steril aufbereitet und bei bis zu -85°C kryokonserviert gelagert wird. Sie setzt sich aus einem einschichtigen kubischen Epithel, einer dicken Basalmembran (200-300 nm) und einem avaskulären Stroma aus lockerem kollagenen Bindegewebe mit vereinzelt Fibroblasten zusammen [98,99]. Ihr wundheilungsfördernder Effekt lässt sich neben dem mechanischen Schutz bei Abdeckung der Defekte auf eine Förderung der Reepithelialisierung sowie auf antiinfektiöse, antiinflammatorische und immunomodulatorische Eigenschaften zurückführen. Zudem wird durch ihre Anwendung die Narbenbildung und Neovaskularisation gehemmt und die Reinnervation der HH unterstützt [99]. In einigen Studien konnte ihre klinische Wirksamkeit bei verschiedenen Erkrankungen der Augenoberfläche wie den therapieresistenten Hornhautepitheldefekten, vor allem den Ulzera, aber auch bei Epitheldefekten nach PKP sowie bei neurotroper Keratopathie belegt werden [33,61,89,99,100,123].

Es lassen sich 3 verschiedene Anwendungstechniken der AMT unterscheiden: Patch, Graft oder Sandwich [99].

Bei einem Patch (Overlay) wird eine relativ große Amnionmembran (meist 16 mm) über einem Epitheldefekt mit 4 Einzelknüpfnähten und einer einfachen, fortlaufenden Kreuzstichnaht mit

Einleitung

nicht resorbierbaren 10-0-Nylon-Fäden episkleral zirkulär fixiert. Damit dient die Amnionmembran als natürlicher Verband, unter der sich das Epithel schließt [99].

Bei einem Graft (Inlay) wird bei zusätzlichem Defekt der Bowman'schen Lamelle und des Stromas eine Amnionmembran ein- oder mehrlagig in den Ulkusgrund gelegt. Nur die oberste Schicht wird mit mehreren Einzelknüpfnähten (10-0-Nylon) im kornealen Stroma fixiert. Die Amnionmembran fungiert als neue Basalmembran, über der sich die Epithelschicht durch Migration wieder aufbaut. Sie wird also in der HH integriert und ist teilweise Jahre später noch nachweisbar [99].

Die Sandwich-Technik ist eine Kombination aus einem ein- oder mehrlagigen Graft und einem Patch. Durch ein zusätzliches Aufbringen eines Patch über einem Graft wird zum einen das Inlay als auch das sich regenerierende Epithel geschützt. Gerade bei dieser Technik zeigten sich hohe Erfolgsraten mit einer geringeren Rezidivrate [99]. Eine Fotodokumentation der angewandten Sandwich-Technik (als „Triple Graft-Sandwich“ = 3 Lagen Grafts und 1 Patch) ist als Beispiel in der **Abbildung 5** zu sehen.

Bei jeder der AMT-Techniken wird zusätzlich eine Verbandskontaktlinse (17 mm) verwendet, um ein zu frühes Ablösen der Amnionmembran zu verhindern [98]. Zudem werden standardmäßig eine topische Antibiose, möglichst phosphatfreie, unkonservierte Tränenersatzmittel, Zykloplegika sowie gegebenenfalls, je nach Indikation, lokale Virostatika oder Steroide verabreicht. Die simultane Anwendung der autologen Serumaugentropfen dient zudem der weiteren Unterstützung der Reepithelialisierung [99].

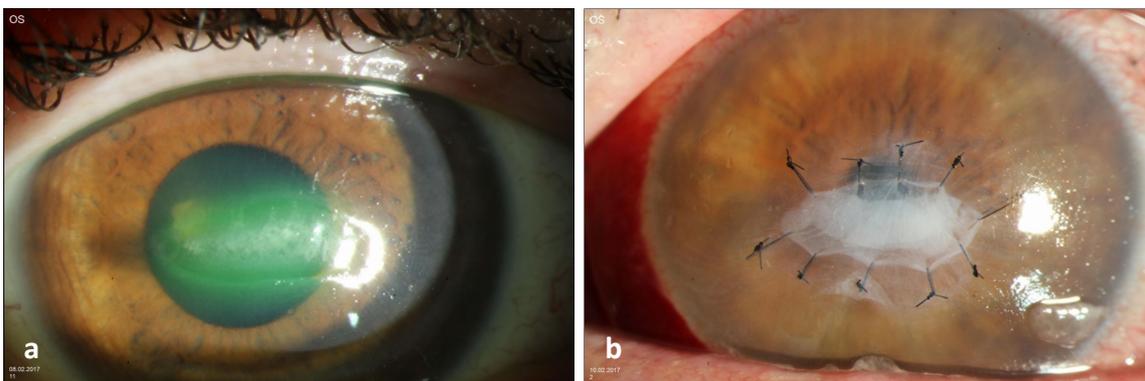


Abbildung 5: Zentraler neuroparalytischer Hornhautulkus. **a** Fluoreszenzfärbung des Ulkus 1 Tag vor einer Amnionmembrantransplantation (AMT). **b** 1. Tag postoperativ nach AMT als „Triple Graft-Sandwich“ = 3 Grafts + 1 Patch (eigene Bilder)

3.9 Fragestellungen

Vor dem Hintergrund, dass die Behandlung von therapieresistenten Hornhautepitheldefekten bis heute eine Herausforderung darstellt und die unzureichende Behandlung weitreichende Folgen und Einschränkungen für den Patienten mit sich bringen kann, wurde in dieser Studie das bereits etablierte Therapieverfahren der autologen Serumaugentropfen hinsichtlich seiner Erfolgs- und Rezidivraten untersucht. Dafür wurden über einen Zeitraum von 13 Jahren (2007-2019) insgesamt 990 Behandlungen mit AS an der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes (UKS) in Homburg/Saar retrospektiv in einer Datenbank erfasst und anschließend hinsichtlich verschiedener Einflussfaktoren analysiert. Als Zielgrößen wurden die Epithelschlussrate innerhalb 4 Wochen und die Rezidivrate nach erfolgreichem Epithelschluss im weiteren Beobachtungszeitraum definiert.

Die folgenden Fragestellungen wurden dabei in dieser Dissertation näher untersucht:

1. Wie war der Therapieerfolg der Gesamtpopulation?
2. Gab es Unterschiede zwischen Epitheldefekten ohne Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosionen) und mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Ulzera)?
3. Welchen Einfluss hatte eine simultane Amnionmembrantransplantation auf die Heilungstendenz?
4. Unterschied sich der Therapieerfolg der Anwendung des AS auf der eigenen HH von der Anwendung auf dem Transplantat?
5. Zeigten sich Unterschiede in der Erfolgsrate der verwendeten Tränenersatzmittel?
6. Welchen Einfluss hatte die Grunderkrankung auf den Therapieerfolg?

4. Patienten und Methoden

4.1 Studienaufbau

Die Datenerhebung der vorliegenden Studie erfolgte retrospektiv an 703 Augen von 645 Patienten, welche in der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar im Zeitraum der Jahre 2007 bis 2019 insgesamt 990 Behandlungen mit autologen Serumaugentropfen erhalten haben. Einschlusskriterium für die Aufnahme in die Studie war die Durchführung mindestens einer Therapie mit AS aufgrund eines therapieresistenten Hornhautepitheldefekts im oben genannten Zeitraum. Ausgeschlossen wurden Fälle, bei denen nach Erhalt des AS aufgrund von verfrühten Entlassungen aus dem stationären Aufenthalt oder durch ein Nichterscheinen zu Kontrolluntersuchungen der weitere Verlauf der Epithelheilung spaltlampenmikroskopisch nicht beobachtet werden konnte. Das Vorliegen eines inkompletten Datensatzes mit dem Fehlen von für die statistische Auswertung relevanten Daten bildete ein weiteres Ausschlusskriterium. Die Studie erfolgte nach Zustimmung durch die zuständige Ethikkommission (Kenn-Nr. 136/21) und gemäß der Deklaration von Helsinki von 1975.

4.2 Herstellung der autologen Serumaugentropfen

Die verabreichten autologen Serumaugentropfen wurden für die in dieser Studie stationär behandelten Patienten nach Standardmethode („standard operating procedures“) der klinikinternen Hornhautbank, dem Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. *LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz*, von geschultem Fachpersonal hergestellt. Die Klinik für Augenheilkunde am UKS arbeitete in enger Kooperation mit dem Institut für Klinische Hämostaseologie und Transfusionsmedizin am UKS, welchem seit 19.07.2007 die landesbehördliche Herstellungserlaubnis für die Herstellung von autologen Serumaugentropfen erteilt wurde. Dabei erfolgte die Herstellung des AS in der klinikinternen Hornhautbank ausschließlich für stationäre Patienten und unterlag der „unmittelbaren fachlichen Verantwortung“ des Direktors der Klinik für Augenheilkunde (Herstellung im Einhandverfahren) [39].

4.2.1 Patientenaufklärung, Blutentnahme und Blutuntersuchung

Die ersten Schritte vor der Herstellung der autologen Serumaugentropfen waren eine Prüfung der Indikation und Kontraindikationen für die Behandlung mit AS sowie eine durch den Stationsarzt durchgeführte mündliche Aufklärung der Patienten über die geplante Therapie. Es wurde ausführlich über die Art der Behandlung, ihre Hintergründe, die Anwendung der Augentropfen sowie über mögliche Risiken gesprochen. Es erfolgte ein Einholen eines schriftlichen Patienteneinverständnisses zur Blutentnahme und infektiologischen Blutuntersuchung inklusive Durchführung einer HIV-Testung. Zudem wurde die klinikinterne Hornhautbank im Voraus telefonisch über die geplante Therapie des Patienten informiert, damit sich das dortige Personal auf die Herstellung der autologen Serumaugentropfen vorbereiten konnte. Anschließend wurde durch den Stationsarzt oder das Pflegepersonal die Blutentnahme aus einer peripheren Vene unter aseptischen Bedingungen durchgeführt. Dazu wurden zuerst 2 Serummonovetten (jeweils 10 ml) zur infektiologischen Untersuchung des Patientenblutes abgenommen, welche neben der HIV-Testung eine Testung auf Hepatitis B, Hepatitis C, CMV und Syphilis umfasste. Weitere 10 Serummonovetten (insgesamt ca. 100 ml Vollblut) wurden für die Herstellung der autologen Serumaugentropfen abgenommen. Die Serummonovetten wurden einzeln etikettiert und mit einem Begleitschein in der Hornhautbank abgegeben. Dort wurden sie vom Personal persönlich in Empfang genommen.

4.2.2 Gerinnungsphase

In der Hornhautbank folgte anschließend eine Gerinnungsphase des frisch abgenommenen Vollblutes des Patienten. Dafür wurden die Serummonovetten senkrecht für ca. 60-80 Minuten bei Raumtemperatur gelagert und die Koagulation des Blutes abgewartet.

4.2.3 Zentrifugation

Anschließend erfolgte nach Ablauf der Gerinnungsphase eine Zentrifugation des koagulierten Vollblutes. Die Zentrifugationsschärfe betrug 3000 Umdrehungen pro Minute für eine Dauer von insgesamt 15 Minuten (siehe **Abbildung 6 und 7**).



Abbildung 6: 15-minütige Zentrifugation des Eigenblutes bei 3000 Umdrehungen pro Minute (eigenes Bild)



Abbildung 7: Eigenblut nach abgelaufener Zentrifugation (eigenes Bild)

4.2.4 Abfüllen des autologen Serums unter der Sterilbank

Die darauffolgenden Herstellungsschritte wurden unter strikt sterilen Bedingungen in einer Sterilbank durchgeführt. Dort wurden die zentrifugierten Serummonovetten geöffnet und der flüssige Überstand, das Serum des Patienten, mit Hilfe einer Transferpipette in ein steriles Einmalgefäß abpipettiert (siehe **Abbildung 8**).



Abbildung 8: Überführen des autologen Serums mittels einer Transferpipette in ein steriles Einmalgefäß (eigenes Bild)

Patienten und Methoden

Daraufhin wurde das abpipettierte Serum mit einer 10 ml Luer-Lock-Spritze und 18G Einmal-Kanüle aus dem Einmalgefäß aufgezogen (siehe **Abbildung 9**). Die Spritze wurde anschließend entlüftet.

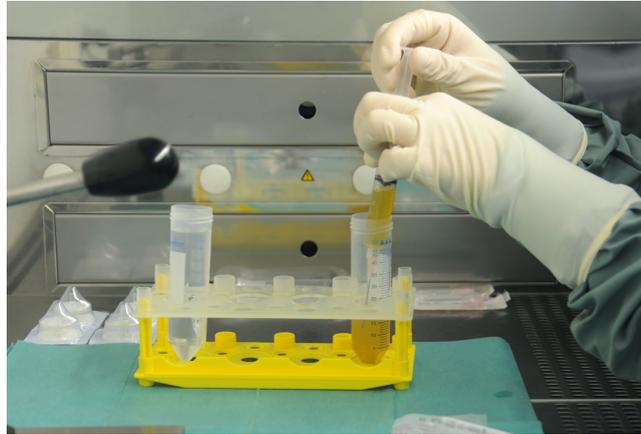


Abbildung 9: Aufziehen des autologen Serums mit einer 10 ml Luer-Lock-Spritze (eigenes Bild)

Es folgte das Aufsetzen eines Einmalfilters mit 0,2 μm Porengröße und einer neuen 18G Einmal-Kanüle sowie ein erneutes Entlüften der Spritze (siehe **Abbildung 10**). Die Filtration des Serums diente dazu, dass keine Blutgerinnsel oder Fibrinreste mit abgefüllt werden [37].



Abbildung 10: Aufsetzen eines Einmalfilter mit 0,2 μm Porengröße (eigenes Bild)

Patienten und Methoden

Schließlich wurden jeweils 1,5-2 ml des AS in 5 ml Einmalflaschen mit Sano-Tropfer filtriert abgefüllt (siehe **Abbildung 11**).



Abbildung 11: Abfüllen von 1,5-2 ml des autologen Serums in eine Einmalflasche (eigenes Bild)

Zur Überprüfung, ob der genutzte Filter intakt war, wurde eine Bubble-Point-Test durchgeführt. Wenn hierbei beim Entleeren der zuvor mit Luft aufgefüllten Spritze keine Blasen im Wassergefäß aufgestiegen sind, war der Test erfolgreich und der Filter zeigte sich intakt (siehe **Abbildung 12 und 13**).



Abbildung 12: Vorbereitung der Spritze zum Bubble-Point-Test (eigenes Bild)



Abbildung 13: Durchführung des Bubble-Point-Tests zur Überprüfung des Filters (eigenes Bild)

4.2.5 Verschluss der Tropfflaschen

Danach wurden die Sano-Tropfer auf die mit AS befüllten Einmalflaschen aufgesetzt und mit Hilfe einer Verschlussstanze verschlossen (siehe **Abbildung 14 und 15**).



Abbildung 14: Aufsetzen eines Sano-Tropfers auf eine Einmalflasche (eigenes Bild)

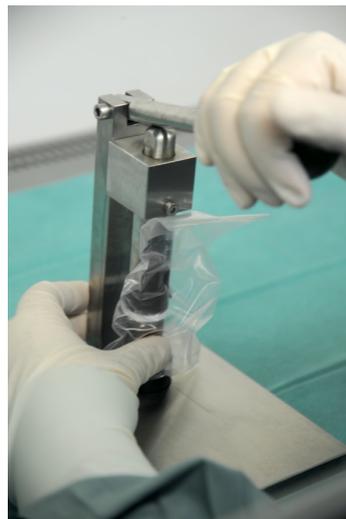


Abbildung 15: Verschluss der Tropfflasche mittels einer Verschlussstanze (eigenes Bild)

4.2.6 Beschriftung und Dokumentation

Als letzter Schritt wurde jede Flasche mit der Kennung der Gewebebank, dem Namen und Geburtsdatum des Patienten, der Art der Medikamentenzubereitung sowie dem Herstellungs- und Haltbarkeitsdatum (bei Lagerung bei -20°C) beschriftet (siehe **Abbildung 16**). Zudem erfolgte eine Dokumentation der Patientendaten, Ergebnisse der infektiologischen Untersuchung und Anzahl der Flaschen in einer eigenen Akte. Im Rahmen einer Herstellungsprozedur konnten durch die Entnahme von 10 Serumröhrchen Eigenblut (ca. 100 ml) in der Regel ca. 20-25 Tropfflaschen mit AS gewonnen werden.



Abbildung 16: Beschriftete Tropfflasche mit autologem Serum (eigenes Bild)

4.3 Lagerung der autologen Serumaugentropfen

Die autologen Serumaugentropfen wurden bis zum Anbruch der Flaschen tiefgefroren bei -20°C in der Hornhautbank gelagert. Durch die Lagerung der Tropfen in einer dunklen Umgebung wurde die Zersetzung von Vitamin A gering gehalten [91]. Die Tropfen waren tiefgefroren für maximal 3 Monate haltbar. Es wurde täglich eine Flasche der autologen Serumaugentropfen zur Behandlung an die Station abgegeben und dort im Kühlschrank bei $+4^{\circ}\text{C}$ gelagert. Nach Anbruch der Tropfflasche wurde sie für einen Tag verwendet und nach Ablauf der 24 Stunden verworfen. Demnach wurde täglich eine neue Flasche angebrochen. Da die Tropfen unkonserviert aufbewahrt wurden, diente diese Vorgehensweise der Vermeidung einer etwaigen mikrobiellen Kontamination durch Bakterien, Viren oder Pilze [91].

4.4 Anwendung der autologen Serumaugentropfen

Die autologen Serumaugentropfen wurden vom Stationsarzt oder Pflegepersonal in den Bindehautsack der Patienten eingetrofft. Dabei wurden sie allesamt unverdünnt (100%ig) verabreicht, um das Risiko einer mikrobiellen Kontamination durch eine Verdünnung gering zu halten [91]. Sie wurden im Wechsel mit einem hyaluronsäurebasierten Tränenersatzmittel HYLO® GEL (URSAPHARM Arzneimittel GmbH, Saarbrücken, Deutschland) oder Comfort Shield® (i.com medical GmbH, München, Deutschland) appliziert. Bei dem Großteil der Behandlungen wurde ein stündliches Applikationsschema mit insgesamt 12 Tropfen pro Tag verwendet. Alternativ wurde je nach Indikation und klinischem Befund unter anderem ein 1,5 stündliches Applikationsschema mit 8 Tropfen pro Tag oder ein halbstündliches Applikationsschema mit 24 Tropfen pro Tag angewandt. Je nach zugrunde liegender Erkrankung wurden ergänzend antiinfektiöse und/oder kortikoidhaltige Augentropfen verabreicht.

Die in einer Herstellungsprozedur gewonnenen Tropfflaschen (ca. 20-25 Stück) reichten für eine Therapiedauer von ca. 3-4 Wochen. Danach konnte bei weiterhin persistierendem Epitheldefekt gegebenenfalls eine erneute Herstellung erfolgen.

4.5 Datenrekrutierung

Die Datenrekrutierung der Studie erfolgte systematisch aus den Patientenakten der Patienten, welche in den Jahren 2007 bis 2019 eine Therapie mit AS in der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar erhalten haben. Alle für die Studie relevanten Parameter wurden in einer Microsoft-Access-Datenbank (Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) eingetragen (siehe **Abbildung 17**).

Erfasst wurden dabei unter anderem folgende patientenbezogene Daten: der Patientennamen, das Geburtsdatum und Geschlecht, das betroffene Auge (rechtes oder linkes Auge), das Datum des Therapiebeginns, das Applikationsschema der autologen Serumaugentropfen (Anzahl der Tropfen pro Tag), das zusätzlich verwendete Tränenersatzmittel, die Art des Epitheldefekts (Erosio vs. Ulkus), die Ursachen des Epitheldefekts, die erfolgten Voroperationen, die parallel durchgeführte medikamentöse und chirurgische Therapie, der Therapieerfolg 4 Wochen nach begonnener Therapie (Epithel geschlossen oder offen) mit Epithelschlussdatum sowie Rezidivhäufigkeit und Rezidivzeitpunkt.

The screenshot shows a Microsoft Access form with the following sections:

- Patienten-Identifikation:**
 - Patienten-Nummer, Nachname, Vorname, Geburtsdatum
 - Geschlecht: Weiblich, Männlich
 - Privat-Patient, Verstorben, Verstorben am, Studienauge
 - Auge: OS, OD
 - Buttons: Patient suchen, Neuer Patient, Zweites Auge hinzufügen
- Therapie-Details:**
 - ES Therapie, Voroperationen, Verlauf, Weitere Operationen (Tabs)
 - Lfd. OP-Nummer, ES Therapie-Datum, Perioperative AMT (0-5d), ES Tropfen/d, Operateur
 - Cyclophotokoagulation, EDTA-Touchierung, Kalkentfernung, Mytomicin-C, Pannektomie, Pterygium-OP, PTK, Symblepharolyse, Tarsorrhaphie, Tränenpunktverödung, Zirkuläre lam. Keratotomie
 - Infektion Virus, Infektion Bakterien, Infektion Pilze, Infektion Amöben, Allgemeinerkr., Trauma Contusion, Kontaktlinsenschaden, Frische KPL als Ursache, Ursache für KPL
 - Antibiotika, Antivirale, Steroide, Immunsuppressiva, Systemisch Antibiotika, Systemisch Antivirale, Systemisch Steroide, Systemisch Immunsuppressiva
 - Antibiotika, Antivirale, Steroide, Immunsuppressiva, Systemisch Antibiotika, Systemisch Antivirale, Systemisch Steroide, Systemisch Immunsuppressiva (with dosage fields)
 - Epithel nach 4 Wo, Epithelschlussdatum
 - Athalamie, Blut in VK, Fibrin in VK, Flache VK
 - Bindegewebsdefekt nasal/temporal, Defekt superior/inferior, Defektlänge/breite, Defekt von/bis, Verätzung Säure/Alkali
 - Infektion Pilze (with sub-section: Akanthamoeben, Pilze, Parasiten, Viral, Sonstige) and 'Welcher? bei Pilz/Bakterien/Viren'
 - pigmentierte/nichtpigmentierte/plaqueartige/andere Krankheiten, Vaskul. Pannus, HH-Dystrophie, HEED schmerzhaft, Dauer der Symptome vor AMT, Rheumat. Ursache für Epitheldefekt, Andere Ursache Epitheldefekt
 - Kontaktlinse / Verbandslinse

Abbildung 17: Ein Ausschnitt aus der Microsoft-Access-Datenbank der Studie

4.6 Einflussgrößen

Die für die statistische Auswertung relevanten Einflussgrößen waren dabei folgende:

- die Art des Epitheldefekts: das Vorliegen eines Epitheldefekts ohne Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio) oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Ulkus)
- die Anwendung einer simultanen AMT parallel zur Therapie mit AS
- das Auftreten des Epitheldefekts auf der eigenen HH oder dem Transplantat nach PKP
- das im Wechsel mit AS applizierte Tränenersatzmittel: HYLO® GEL oder Comfort Shield®
- die Ursachen des Epitheldefekts kategorisiert in 5 Grunderkrankungen:
 - 1) Neurotrophe Ursachen
 - 2) Infektionen (Viren, Bakterien, Pilze oder Akanthamöben)
 - 3) Traumata (Verätzungen oder Verbrennungen)
 - 4) Hornhautdystrophien
 - 5) Kongenitale Aniridie

4.7 Zielgrößen

Als Zielgrößen der Studie wurden die Folgenden definiert:

- die Epithelschlussrate: kompletter Epithelschluss innerhalb 4 Wochen nach begonnener Therapie mit AS
- die Rezidivrate: Auftreten von mindestens 1 Rezidiv im Nachbeobachtungszeitraum nach vorher detektiertem kompletten Epithelschluss
- die Zeitdauer in Tagen bis zum Epithelschluss
- die Zeitdauer in Monaten bis zum Rezidiv

Der mediane Nachbeobachtungszeitraum betrug insgesamt 50 Monate.

4.8 Statistische Methoden

Zur statistischen Analyse der Daten wurde das Programm SPSS Statistik für Windows, Version 27.0 (IBM Corporation, Armonk, NY, USA) verwendet.

Patienten und Methoden

Deskriptive Werte wie absolute und relative Häufigkeiten, arithmetischer Mittelwert, Standardabweichung (SD), Median, Minimum und Maximum wurden genutzt, um die Gesamtpopulation näher zu charakterisieren.

Bei nominalskalierten Daten, welche unter anderem bei der Berechnung der Epithelschlussraten und Rezidivraten vorlagen, wurden zum Vergleich der Häufigkeiten Chi-Quadrat-Tests verwendet. Hierbei wurden 2 dichotome Variablen (2×2-Kreuztabelle) mit dem Exakten Test nach Fisher und nicht-dichotome nominalskalierte Variablen mit dem Chi-Quadrat-Test nach Pearson auf Signifikanz getestet.

Das Kaplan-Meier-Verfahren wurde angewandt, um das zeitliche Auftreten des Epithelschlusses sowie der Rezidive in verschiedenen Gruppen zu untersuchen. Zum Vergleich mehrerer Kaplan-Meier-Kurven wurde der Log-Rank-Test verwendet. Daraus ließ sich auf unterschiedlich schnelle Heilungstendenzen und ein unterschiedlich schnelles Auftreten der Rezidive in verschiedenen Gruppen schließen.

Insgesamt wurde für alle statistischen Tests ein Signifikanzniveau (Alpha-Fehler) von 5% festgelegt. Dies entsprach einem p-Wert $< 0,05$.

5. Ergebnisse

5.1 Beschreibung des Studienkollektivs

In dieser Studie wurden insgesamt 990 Behandlungen mit AS an 703 Augen von 645 Patienten analysiert. Davon waren 297 (46%) weiblichen und 348 (54%) männlichen Geschlechts. Es wurden 347 (49,4%) linke und 356 (50,6%) rechte Augen eingeschlossen (siehe **Abbildung 18 und 19**).

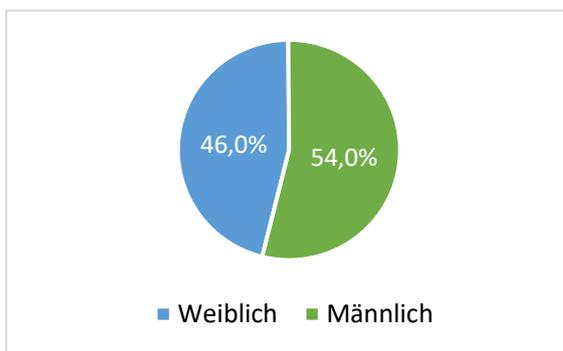


Abbildung 18: Prozentuale Verteilung des Geschlechts

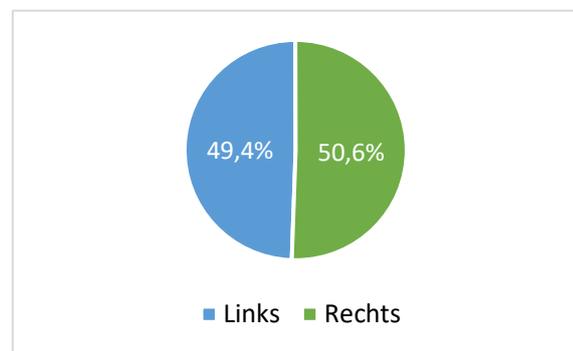


Abbildung 19: Prozentuale Verteilung der Augen (links/rechts)

Das Patientenalter des Studienkollektivs variierte zwischen 6 und 93 Jahren mit einem Mittelwert von $62,4 \pm 17,6$ (SD) Jahren. Der Median betrug 66 Jahre (siehe **Abbildung 20**).

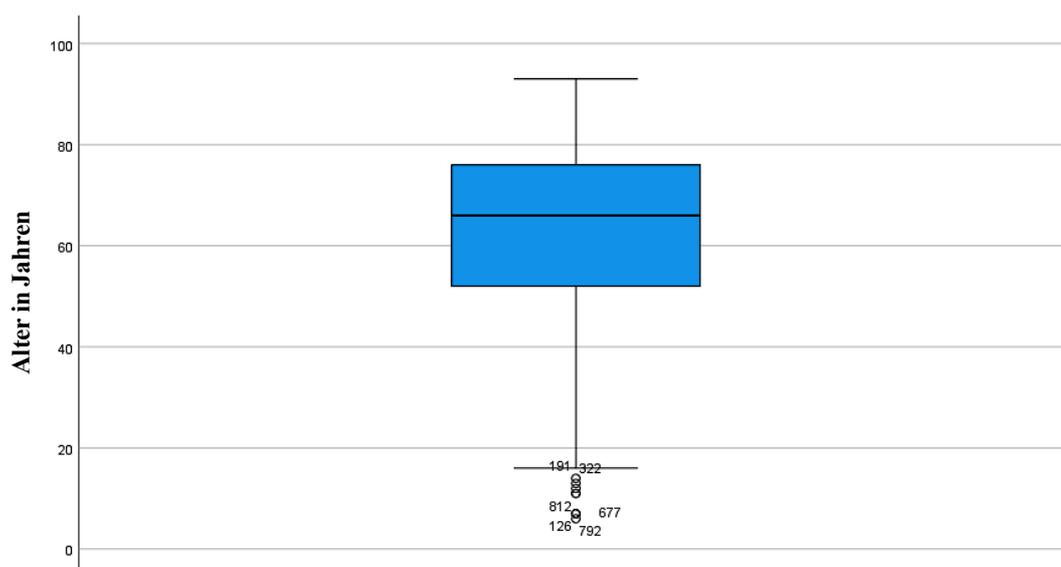


Abbildung 20: Boxplot zur Darstellung der Altersverteilung in Jahren

Ergebnisse

Bei 84,9% der Behandlungen (n = 841) lag ein Epitheldefekt ohne Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio) vor. Bei einem kleineren Anteil von 15,1% (n = 149) zeigte sich hingegen ein Epitheldefekt mit zusätzlichem Defekt der Bowman'schen Lamelle (Ulkus) (siehe **Abbildung 21**).

Insgesamt wurde bei 384 (38,8%) der Therapien mit AS eine simultane AMT durchgeführt (siehe **Abbildung 22**).

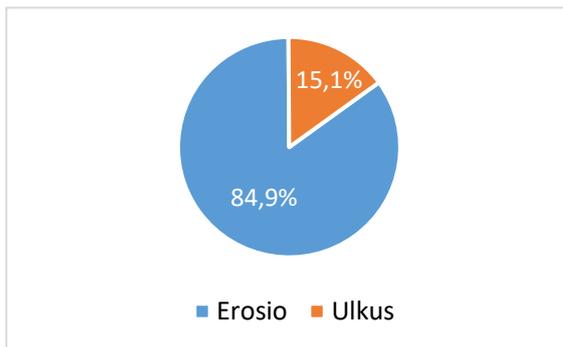


Abbildung 21: Prozentuale Verteilung der Art des Epitheldefekts (Erosio/Ulkus)

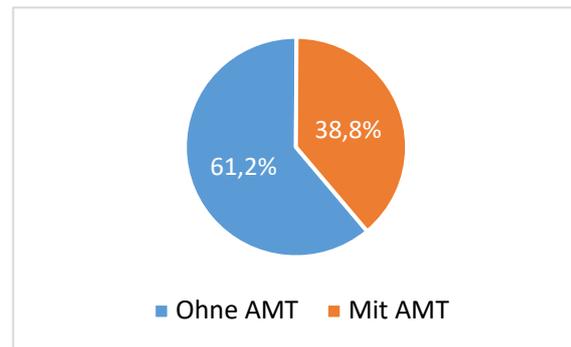


Abbildung 22: Prozentuale Verteilung der Therapien ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT)

Bei 43,5% (n = 431) der Therapien wurde das AS auf der eigenen HH und bei 56,5% (n = 559) auf der transplantierten HH nach PKP angewandt (siehe **Abbildung 23**).

Das im Wechsel mit AS applizierte Tränenersatzmittel war bei 500 Behandlungen (77,9%) HYLO® GEL und bei 142 Behandlungen (22,1%) Comfort Shield® (siehe **Abbildung 24**).

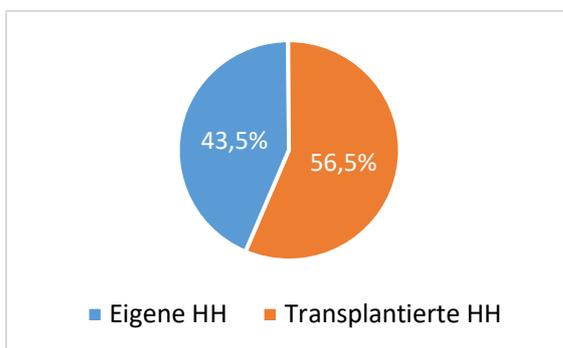


Abbildung 23: Prozentuale Verteilung der Therapien auf der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH)

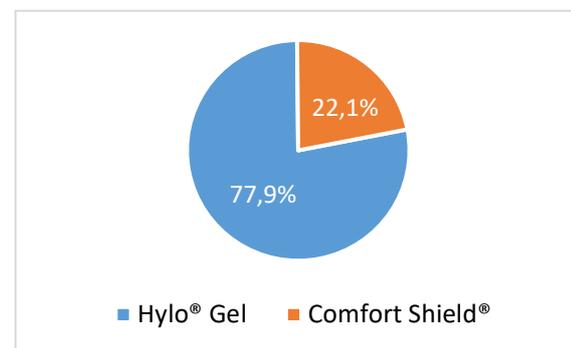


Abbildung 24: Prozentuale Verteilung der Tränenersatzmittel (HYLO® GEL/Comfort Shield®)

Ergebnisse

661 Behandlungen (66,8%) bildeten die Gruppe der 5 Grunderkrankungen ab. Die restlichen 329 (33,2%) hatten sonstige Ursachen. Darunter waren unter anderem postchirurgische Patienten nach Pannektomie, EDTA-Touchierung, e-PTK oder Pterygium-Operation sowie Patienten mit Kollagenosen, Graft-versus-Host-Disease, Sjögren-Syndrom, Rosazea, Stevens-Johnson-Syndrom, Lyell-Syndrom oder Salzmann'scher Hornhautdegeneration.

In **Tabelle 2** ist die absolute und relative Häufigkeitsverteilung der 5 Grunderkrankungen innerhalb der Gesamtpopulation zu entnehmen. Dabei ist zu beachten, dass bei einem Großteil von 83,7% nur eine zugrunde liegende Pathologie für den Epitheldefekt vorlag, während in 108 (16,3%) der 661 Fälle mehrere der genannten Pathologen gleichzeitig vorlagen.

Tabelle 2: Absolute und relative Häufigkeitsverteilung der Grunderkrankungen

Grunderkrankung	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit
Neurotrophe Ursachen	290	37,5%
Infektionen	228	29,5%
Hornhautdystrophien	93	12,0%
Traumata	88	11,4%
Kongenitale Aniridie	74	9,6%

Hierbei wurde ersichtlich, dass die neurotrophen Ursachen mit 37,5% (n = 290) den insgesamt größten Anteil einnahmen, gefolgt von den Infektionen mit 29,5% (n = 228). Zu einem geringeren Anteil kamen Hornhautdystrophien mit 12,0% (n = 93) und Traumata mit 11,4% (n = 88) vor. Einen noch kleineren Anteil nahm die kongenitale Aniridie mit 9,6% (n = 74) ein. Die **Abbildung 25** stellt die prozentuale Verteilung der Grunderkrankungen dar:

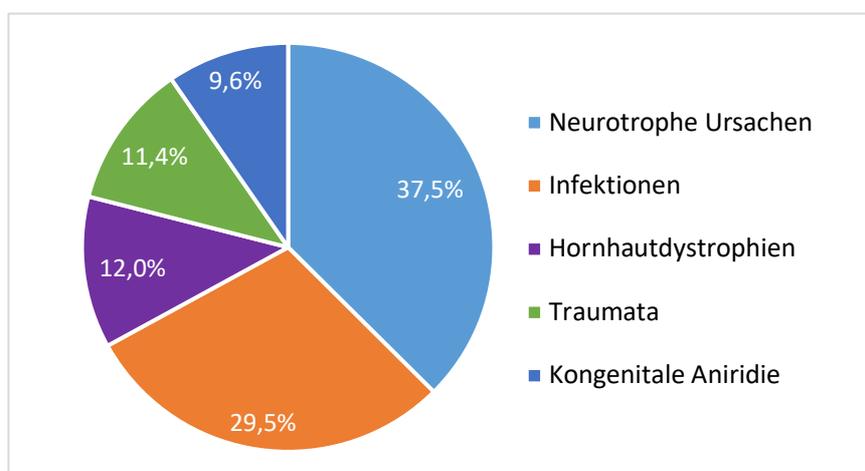


Abbildung 25: Prozentuale Verteilung der Grunderkrankungen

Ergebnisse

Die Gruppe der Infektionen konnte in Hornhautepitheldefekte ausgelöst durch Viren, Bakterien, Pilze oder Akanthamöben unterteilt werden. Die viralen Infektionen kamen mit 53,6% (n = 133) am weitaus häufigsten vor, hier lagen in der Regel Infektionen durch Herpesviren (Herpes-Simplex-Virus-1, Varizella-Zoster-Virus) vor. Bakterielle Infektionen bildeten mit 19,8% den zweitgrößten Anteil (n = 49), gefolgt von Pilzinfektionen (13,7%, n = 34) und Infektionen durch Akanthamöben (12,9%, n = 32). In der **Abbildung 26** ist die prozentuale Verteilung der Infektionen dargestellt. Auch innerhalb der Gruppe der Infektionen gab es wenige Fälle mit dem Vorliegen von 2 Infektionen gleichzeitig.

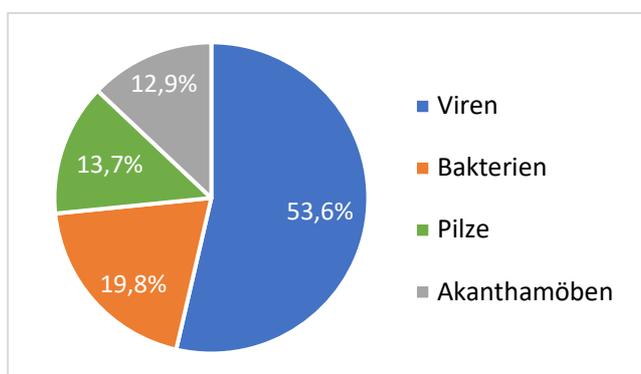


Abbildung 26: Prozentuale Verteilung der Infektionen

Die Gruppe der Traumata konnte in Verbrennungen und Verätzungen unterteilt werden. Hier lagen mit 64,8% (n = 57) mehr Verbrennungen als Verätzungen (35,2%, n = 31) vor. Die prozentuale Verteilung ist der **Abbildung 27** zu entnehmen.

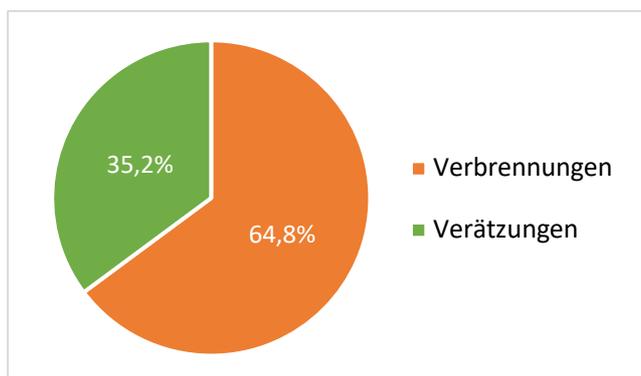


Abbildung 27: Prozentuale Verteilung der Traumata

5.2 Therapieerfolg der Gesamtpopulation

Bei 729 (73,6%) der Hornhautepitheldefekte kam es innerhalb 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologen Serumaugentropfen zum erfolgreichen Epithelschluss. Bei 719 (72,6%) blieb der Epitheldefekt langfristig geschlossen und bei 271 (27,4%) ereignete sich mindestens 1 Rezidiv im gesamten Nachbeobachtungszeitraum. Die prozentuale Verteilung der Epithelschlussrate und Rezidivrate der Gesamtpopulation ist in der **Abbildung 28** dargestellt.

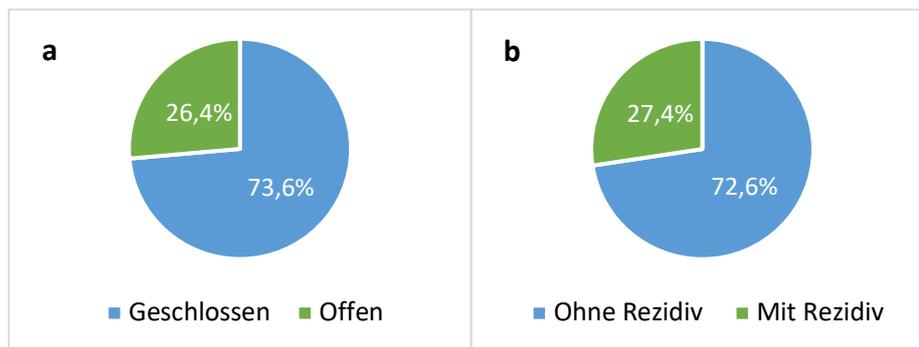


Abbildung 28: Relative Verteilung des Therapieerfolgs der Gesamtpopulation. **a** Epithelschlussrate 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum. **b** Rezidivrate unterteilt in Verläufe ohne oder mit mindestens 1 aufgetretenem Rezidiv.

Der Nachbeobachtungszeitraum lag zwischen 1 Monat (Minimum) und 164 Monaten (Maximum) mit einem Mittelwert von $58,0 \pm 42,0$ (SD) Monaten. Der mediane Beobachtungszeitraum betrug 50 Monate.

Innerhalb der Rezidivgruppe lag die Anzahl der Rezidive zwischen 1 Rezidiv (Minimum) und 10 Rezidiven (Maximum) mit einer mittleren Anzahl von $3,6 \pm 2,6$ (SD) Rezidiven. Die mediane Rezidivanzahl lag bei 3 Rezidiven.

Der Zeitraum bis zum Eintritt der Rezidive betrug zwischen 1 Monat (Minimum) und 95 Monaten (Maximum) mit einem mittleren Zeitraum von $17,6 \pm 21,7$ (SD) Monaten. Der mediane Zeitraum bis zum Auftreten der Rezidive lag bei 9 Monaten.

Es wurden keine fatalen Verläufe mit schwerer intraokulärer Infektion oder Verlust des Auges beobachtet.

5.3 Vergleich von Erosio vs. Ulkus

5.3.1 Therapieerfolg Erosio vs. Ulkus

Es wurde der Therapieerfolg des AS bei Hornhautepitheldefekten ohne vs. mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus) verglichen. Hierbei zeigte sich das Epithel bei 74,3% der Erosionen ($n = 625$) und 69,8% der Ulzera ($n = 104$) nach einem Behandlungszeitraum von 4 Wochen geschlossen. Die Gruppe der Ulzera erwies demnach eine geringere Heilungstendenz als die Gruppe der Erosionen. In der **Abbildung 29** ist die relative Verteilung des Therapieerfolgs der beiden Gruppen dargestellt.

Ein Exakter Test nach Fisher wurde zum Vergleich der Epithelschlussraten durchgeführt. Dieser ergab einen p-Wert von 0,27. Folglich bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen.

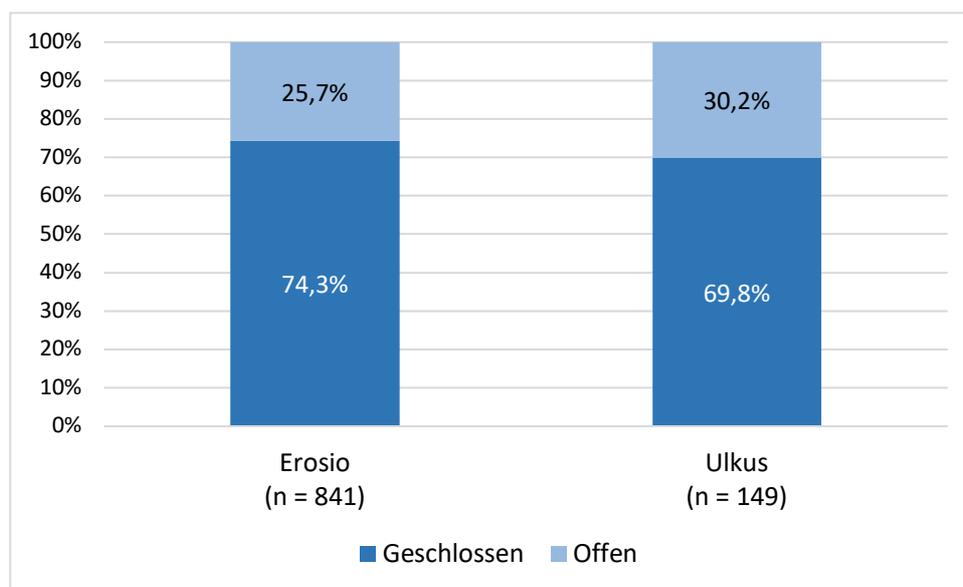


Abbildung 29: Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum verglichen an Epitheldefekten ohne und mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus).
Es besteht kein Unterschied ($p = 0,27$).

5.3.2 Kaplan-Meier-Analyse der Zeit bis zum Epithelschluss

Für die Analyse des zeitlichen Ablaufs der Epithelheilung im Vergleich der beiden Gruppen wurde das Kaplan-Meier-Verfahren verwendet (siehe **Abbildung 30**). Dabei wurde die Zeit in Tagen bis zum erreichten Epithelschluss betrachtet und eine Aufteilung in das Vorliegen einer

Ergebnisse

Erosio (blaue Kurve) oder eines Ulkus (grüne Kurve) vorgenommen. Der Anfangspunkt war der Beginn der Therapie mit AS.

Nach 2 Wochen (14 Tagen) waren bereits 60,9% der Erosionen erfolgreich geschlossen. Verglichen dazu zeigte sich zu diesem Zeitpunkt erst bei 35,0% der Ulzera ein Epithelschluss. Der mediane Zeitraum bis zum Epithelschluss betrug bei den Erosionen 7 Tage (95%-Konfidenzintervall (KI) [5,6-8,4]) und bei den Ulzera 22 Tage (95%-KI [16,6-27,4]). Hieraus wurde eine deutlich schnellere Epithelheilung in der Gruppe der Erosionen ersichtlich.

Zum statistischen Vergleich der Kurven untereinander wurde der Log-Rank-Test verwendet. Dieser bestätigte eine hoch signifikant schnellere Heilungstendenz der Erosionen im Vergleich zu den Ulzera ($p < 0,001$).

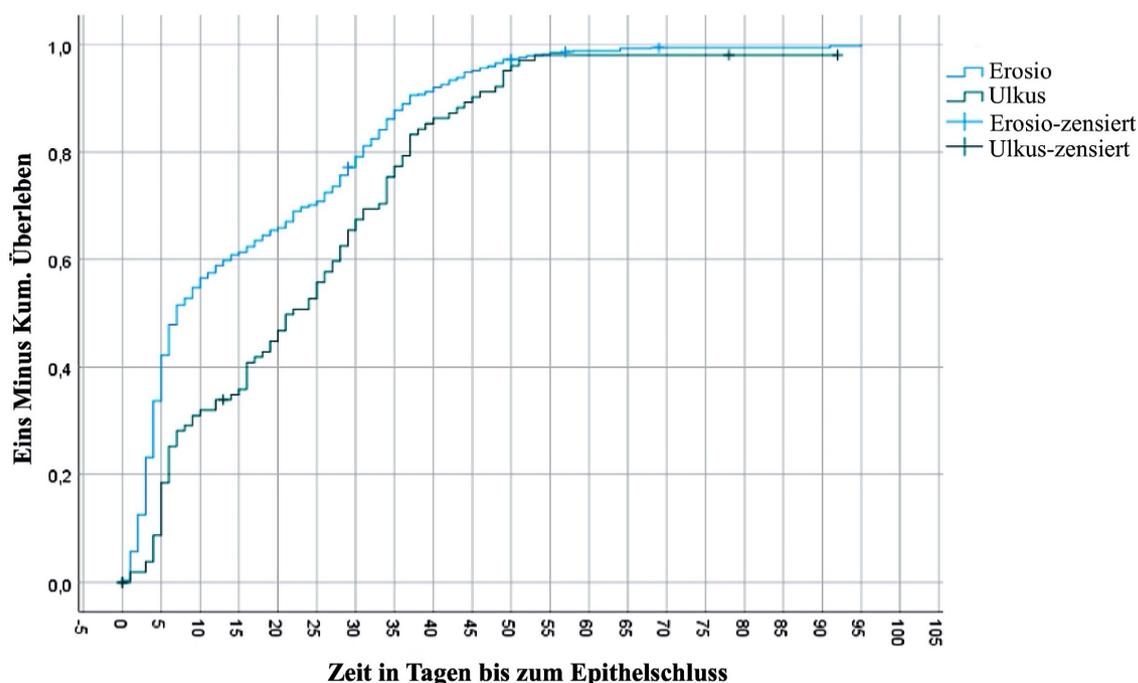


Abbildung 30: Kaplan-Meier-Analyse für die Zeit in Tagen bis zum erreichten Epithelschluss verglichen an Epitheldefekten ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus). Die Erosionen zeigen eine signifikant schnellere Heilungstendenz als die Ulzera ($p < 0,001$).

5.4 Einfluss einer simultanen Amnionmembrantransplantation

5.4.1 Verwendung einer Amnionmembrantransplantation

Untersucht man die Anwendung einer simultanen AMT bezogen auf einen unterschiedlichen Schweregrad des Krankheitsverlaufs, fiel deutlich eine signifikant häufigere Verwendung bei Patienten mit Ulzera als Erosionen auf. Patienten mit Ulzera erhielten bei 59,7% (n = 89) der Behandlungen eine simultane AMT und Patienten mit Erosionen nur in 35,1% (n = 295) der Fälle (siehe **Abbildung 31**). Eine Testung auf Signifikanz mittels Exaktem Fisher-Test lieferte beim Vergleich dieser Häufigkeiten einen zweiseitigen p-Wert von < 0,001.

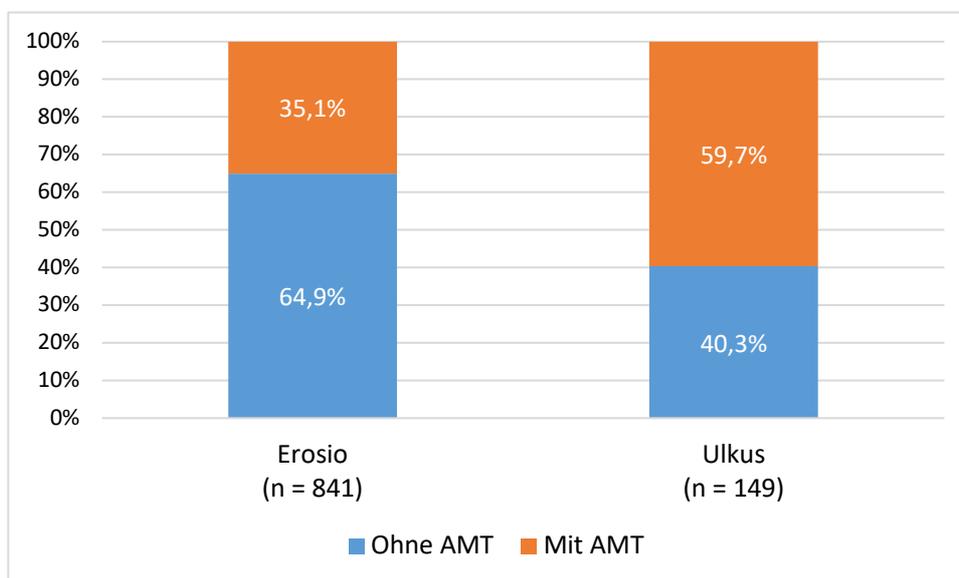


Abbildung 31: Relative Verteilung der Verwendung einer simultanen Amnionmembrantransplantation (AMT) verglichen an Epitheldefekten ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio/Ulkus). Signifikant häufigere Anwendung einer simultanen AMT bei Ulzera als bei Erosionen ($p < 0,001$).

Darüber hinaus fiel eine signifikant häufigere Verwendung einer simultanen AMT bei Verläufen mit mindestens 1 Rezidiv im Vergleich zu Verläufen ohne Rezidiv auf. Innerhalb der Rezidivgruppe erhielten 43,9% (n = 119) eine simultane AMT. Bei Verläufen ohne Rezidiv waren es lediglich 36,9% (n = 265, siehe **Abbildung 32**). Beim Vergleich dieser Häufigkeiten ergab die Testung auf Signifikanz mittels Exaktem Fisher-Test einen zweiseitigen p-Wert von 0,048.

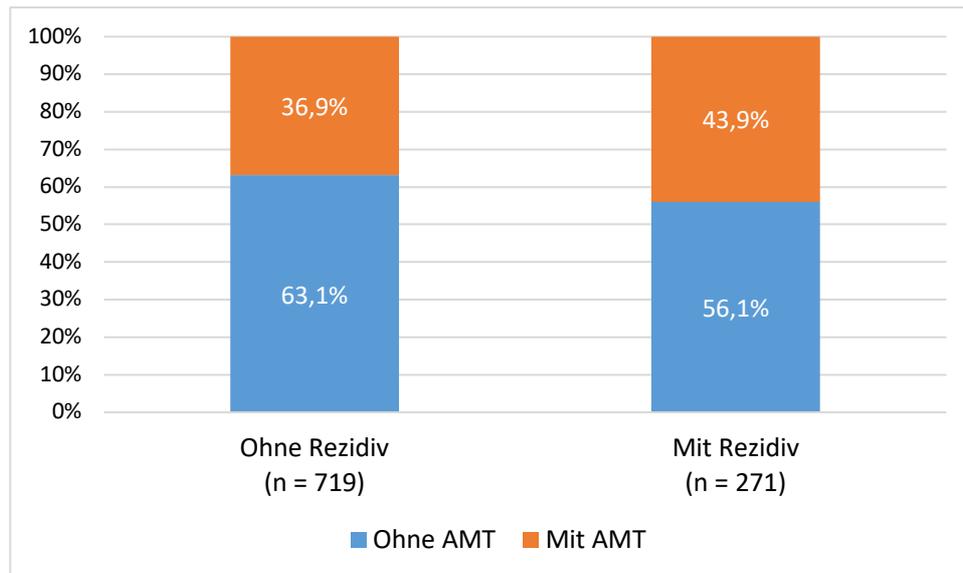


Abbildung 32: Relative Verteilung der Verwendung einer simultanen Amnionmembrantransplantation (AMT) verglichen an Verläufen ohne oder mit aufgetretenem Rezidiv. Signifikant häufigere Anwendung einer simultanen AMT bei Verläufen mit aufgetretenem Rezidiv als ohne Rezidiv ($p = 0,048$).

5.4.2 Therapieerfolg einer simultanen Amnionmembrantransplantation

Untersucht wurde zudem der Therapieerfolg des AS ohne simultane AMT im Vergleich zu Therapien mit simultaner AMT. Nach einem Behandlungszeitraum von 4 Wochen waren ohne simultane AMT 80,9% ($n = 490$) der Hornhautepitheldefekte geschlossen. Mit simultaner AMT lag die Erfolgsrate hingegen bei 62,2% ($n = 239$, siehe **Abbildung 33**).

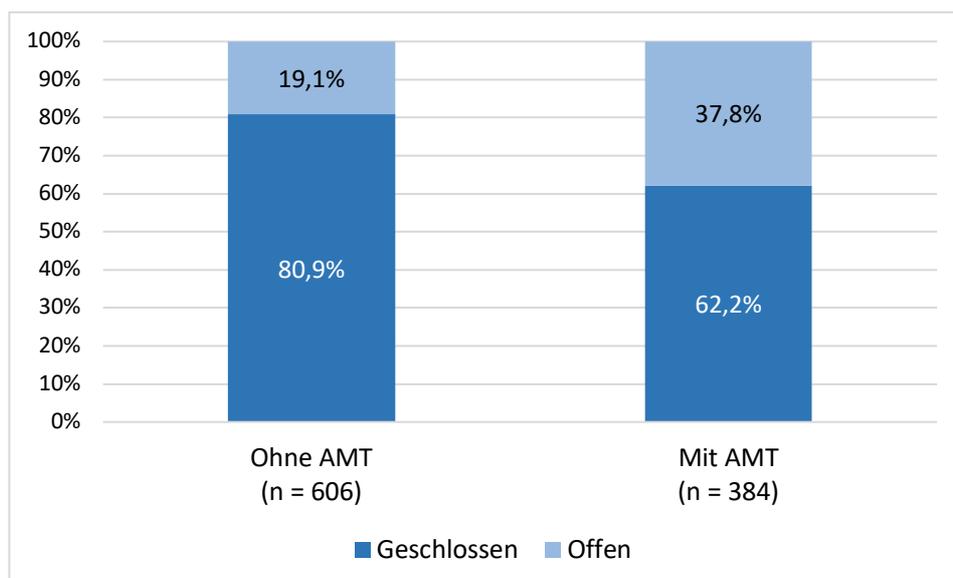


Abbildung 33: Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum unterteilt in Therapien ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT). Signifikant höhere Epithelschlussrate ohne simultane AMT als mit simultaner AMT ($p < 0,001$).

Ergebnisse

Ein Exakter Fisher-Test wurde zum Vergleich der Epithelschlussraten der beiden Gruppen durchgeführt. Mit einem zweiseitigen p-Wert von $< 0,001$ zeigte die Anwendung des AS ohne simultane AMT eine signifikant höhere Epithelschlussrate im Vergleich zu Therapien mit simultaner AMT.

5.4.3 Kaplan-Meier-Analyse der Zeit bis zum Epithelschluss

Um den zeitlichen Ablauf der Epithelheilung zu untersuchen, wurde das Kaplan-Meier-Verfahren genutzt (siehe **Abbildung 34**). Hierfür wurde erneut die Zeit in Tagen bis zum erreichten Epithelschluss beobachtet. Den Startpunkt bildete auch hier der Beginn der Therapie mit AS. Eine Unterteilung in das Vorliegen eines Epitheldefekts ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus) sowie Behandlung ohne oder mit simultaner AMT wurde vorgenommen. Daraus ergaben sich die in der **Abbildung 34** zu entnehmenden 4 Untergruppen: Erosio ohne AMT ($n = 546$), Erosio mit AMT ($n = 295$), Ulkus ohne AMT ($n = 60$) und Ulkus mit AMT ($n = 89$).

Nach 2 Wochen (14 Tagen) zeigten sich bereits 77,9% der Erosionen ohne simultane AMT (blaue Kurve) und lediglich 21,2% der Erosionen mit simultaner AMT (grüne Kurve) geschlossen. Bei den Ulzera waren es ohne simultane AMT 62% (rote Kurve) und mit simultaner AMT 9,4% (orangene Kurve). Bei den Erosionen ohne simultane AMT zeigte sich ein Median von 5 Tagen (95%-KI [4,6-5,4]) bis zum Epithelschluss und mit simultaner AMT ein Median von 28 Tagen (95%-KI [26,3-29,7]). Innerhalb der Ulkusgruppen betrug der mediane Zeitraum bis zum Epithelschluss ohne simultane AMT 7 Tage (95%-KI [4,2-9,8]) und mit simultaner AMT 30 Tage (95%-KI [24,9-35,1]).

Zum statistischen Vergleich der einzelnen Kurven untereinander wurde der Log-Rank-Test verwendet. Dieser ergab mit $p < 0,001$ einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Unabhängig davon ob ein Epitheldefekt mit oder ohne Defekt der Bowman'schen Lamelle vorlag, zeigte die Anwendung des AS ohne simultane AMT eine signifikant schnellere Heilungstendenz.

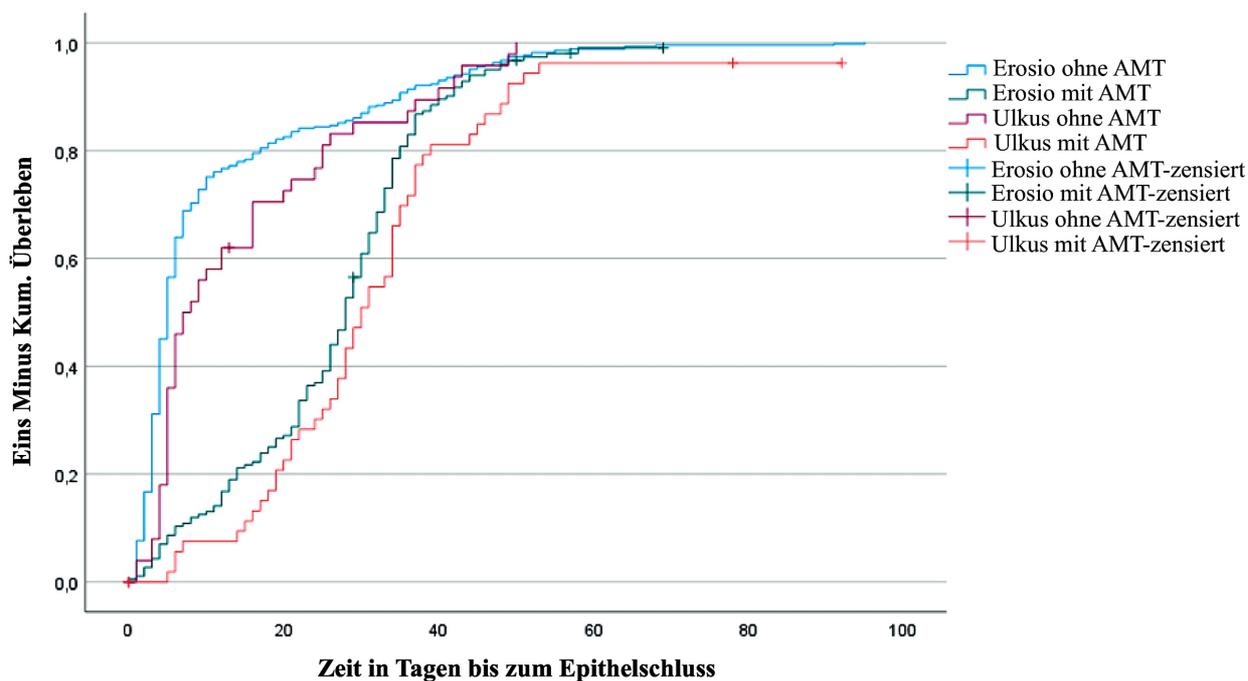


Abbildung 34: Kaplan-Meier-Analyse für die Zeit in Tagen bis zum erreichten Epithelschluss unterteilt in 4 Kategorien, je nach Vorliegen eines Epitheldefekts ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus) sowie Behandlungen ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT). Signifikant schnellere Heilungstendenz bei Anwendung des autologen Serums ohne simultane AMT als mit simultaner AMT ($p < 0,001$).

5.5 Vergleich von eigener Hornhaut vs. Transplantat

5.5.1 Therapieerfolg der eigenen Hornhaut vs. Transplantat

Im Folgenden wurde der Therapieerfolg der autologen Serumaugentropfen bei Anwendung auf der eigenen HH vs. dem Transplantat verglichen. Nach einem Behandlungszeitraum von 4 Wochen zeigte sich auf der eigenen HH ein Epithelschluss bei 72,4% ($n = 312$) und auf der transplantierten HH bei 74,6% ($n = 417$) der Therapien. Die relative Verteilung der Epithelschlussraten ist der **Abbildung 35** zu entnehmen.

Die Signifikanztestung mittels einem Exakten Test nach Fisher ergab beim Vergleich der Epithelschlussraten keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen ($p = 0,47$).

Ergebnisse

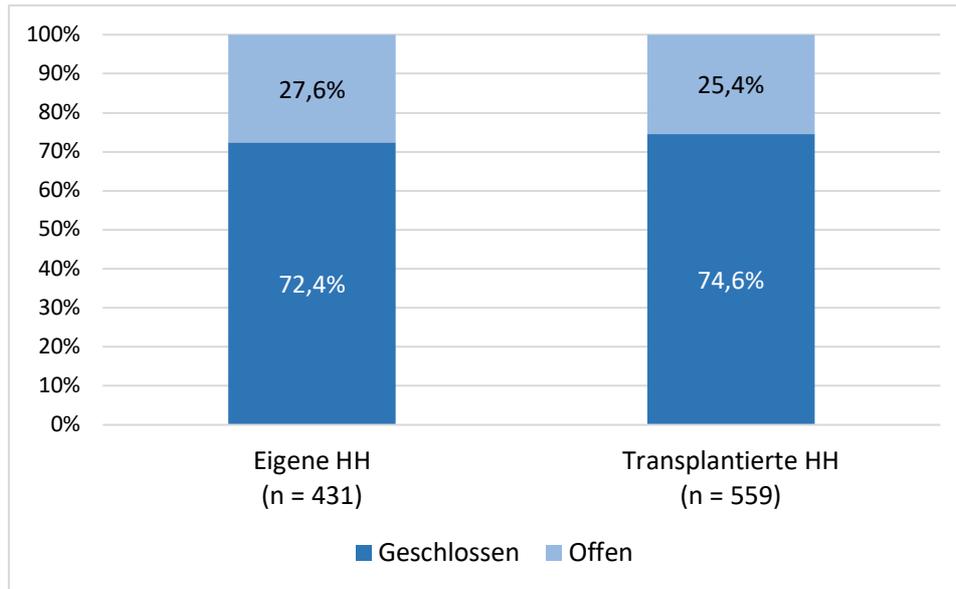


Abbildung 35: Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum verglichen an der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH). Es besteht kein Unterschied ($p = 0,47$).

Beim Vergleich der Rezidivraten der beiden Gruppen fiel eine signifikant höhere Rezidivrate auf dem Transplantat als auf der eigenen HH auf. Auf dem Transplantat zeigte sich bei insgesamt 30,9% der Behandlungen ($n = 173$) mindestens 1 Rezidiv im Nachbeobachtungszeitraum. Auf der eigenen HH trat dagegen nur in 22,7% der Fälle ($n = 98$) mindestens 1 Rezidiv im weiteren Verlauf auf (siehe **Abbildung 36**). Ein Exakter Test nach Fisher lieferte beim Vergleich der Rezidivraten einen zweiseitigen p-Wert von 0,004.

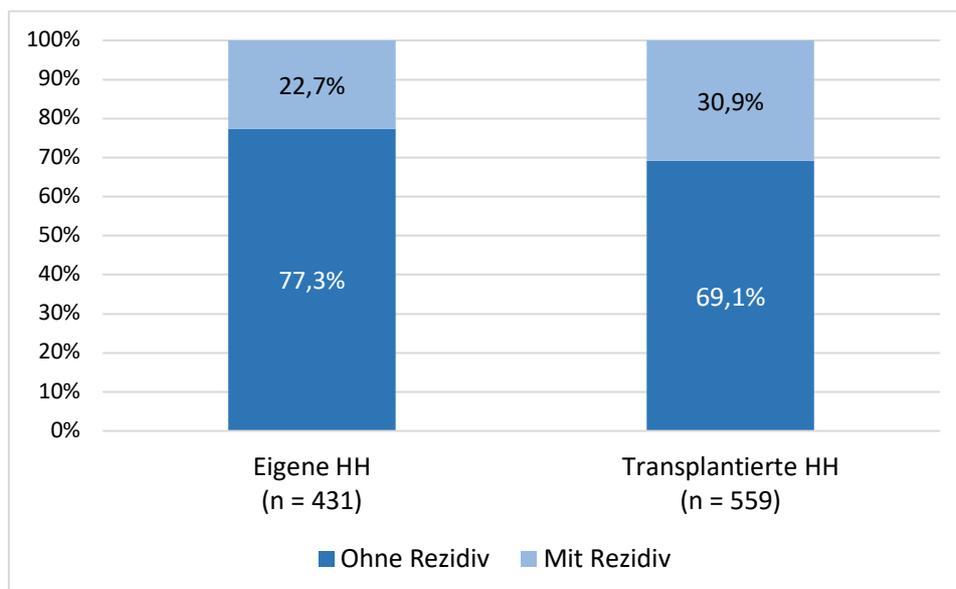


Abbildung 36: Relative Verteilung der Rezidivraten unterteilt in Verläufe ohne oder mit aufgetretenem Rezidiv verglichen an der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH). Signifikant höhere Rezidivrate auf der transplantierten HH als auf der eigenen HH ($p = 0,004$).

5.5.2 Kaplan-Meier-Analyse der Zeit bis zum Rezidiv

Für die Analyse des zeitlichen Auftretens der Rezidive in beiden Gruppen wurde das Kaplan-Meier-Verfahren genutzt (siehe **Abbildung 37**). Dabei wurde die Zeit in Monaten bis zum Eintritt der Rezidive beobachtet und eine Unterteilung in das Auftreten der Rezidive auf der eigenen HH (blaue Kurve) oder transplantierten HH (grüne Kurve) vorgenommen. Der Anfangspunkt der Beobachtung war der Zeitpunkt des vorherigen kompletten Epithelschluss.

Nach 2 Monaten waren 23,7% der Rezidive auf der transplantierten HH und erst 15,3% auf der eigenen HH aufgetreten. Nach 6 Monaten waren es bereits 48,6% auf der transplantierten HH und 34,7% auf der eigenen HH sowie nach einem Jahr 66,5% auf der transplantierte HH und 55,1% auf der eigenen HH. Der mediane Zeitraum bis zum Eintritt der Rezidive betrug auf der transplantierten HH 7 Monate (95%-KI [5,2-8,8]) und auf der eigenen HH 11 Monate (95%-KI [9,1-12,9]). Insgesamt wurde daraus ein schnelleres Auftreten der Rezidive auf der transplantierten HH erkennbar.

Ein Log-Rank-Test wurde zum Vergleich der beiden Kurven verwendet und bestätigte mit $p = 0,03$ ein signifikant schnelleres Auftreten der Rezidive auf der transplantierten HH als auf der eigenen HH.

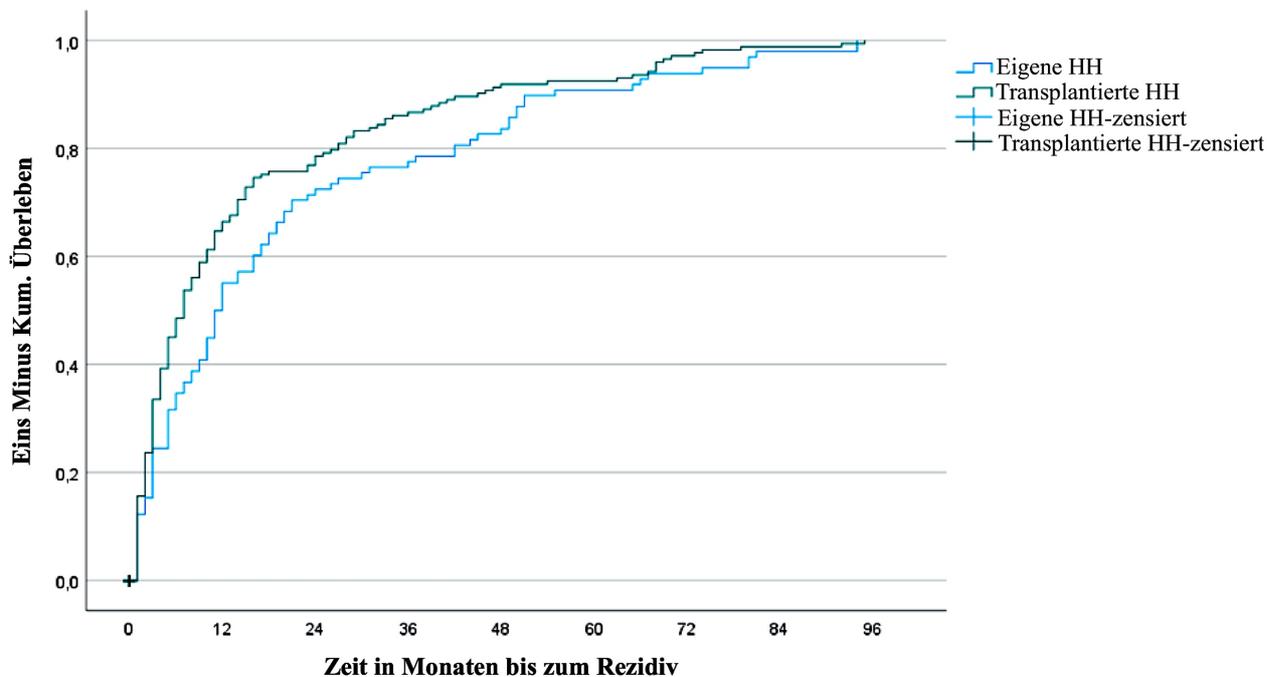


Abbildung 37: Kaplan-Meier-Analyse für die Zeit in Monaten bis zum Eintritt der Rezidive verglichen an der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH). Signifikant schnelleres Auftreten der Rezidive auf der transplantierten HH als auf der eigenen HH ($p = 0,03$).

5.5.3 Rezidivanzahl im zeitlichen Verlauf

Auf der eigenen HH traten insgesamt 98 Rezidive (22,7%) und auf der transplantierten HH 173 Rezidive (30,9%) auf. In der **Abbildung 38** ist die prozentuale Verteilung der Anzahl der aufgetretenen Rezidive im zeitlichen Verlauf im Vergleich der beiden Gruppen dargestellt:

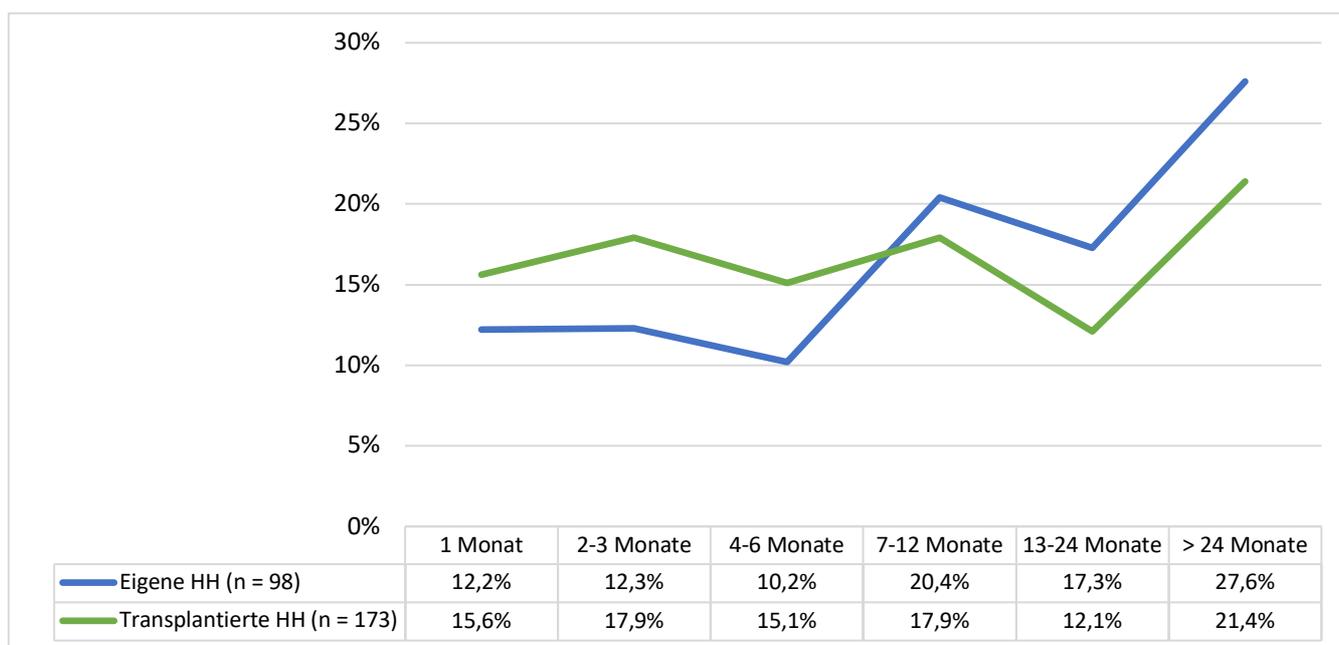


Abbildung 38: Prozentuale Verteilung der Anzahl der aufgetretenen Rezidive im zeitlichen Verlauf verglichen an der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH).

Erkennbar wurde dabei in den ersten 6 Monaten eine höhere Anzahl an Rezidiven auf der transplantierten HH (grüne Kurve) und in den darauffolgenden Monaten eine höhere Anzahl auf der eigenen HH (blaue Kurve).

Auf der transplantierten HH traten in den ersten 6 Monaten insgesamt 48,6% (n = 84) und in den folgenden Monaten (≥ 7 Monate) 51,4% (n = 89) der Rezidive auf. Auf der eigenen HH waren es hingegen in den ersten 6 Monaten lediglich 34,7% der Rezidive (n = 34) und in den darauffolgenden Monaten (≥ 7 Monate) schließlich 65,3% der Rezidive (n = 64).

Hieraus ergab sich deckend zu den Ergebnissen aus der Kaplan-Meier-Analyse (Kapitel 5.5.2, S. 49) ein gerade im ersten halben Jahr nach Epithelschluss verstärktes Auftreten von Rezidiven auf der transplantierten HH.

5.6 Vergleich der verwendeten Tränenersatzmittel

In der Datenbank wurden die im Wechsel mit AS applizierten Tränenersatzmittel HYLO® GEL und Comfort Shield® erst seit dem Jahr 2015 erfasst, weshalb 348 Therapien ohne Eintrag zum dazugegebenen Tränenersatzmittel vorlagen. Zudem wurde HYLO® GEL über den gesamten Beobachtungszeitraum verwendet, wohingegen Comfort Shield® erst seit März 2019 angewandt wurde. Deshalb ergaben sich in dieser Anwendungsgruppe eine geringere Anzahl an Behandlungen (n = 142, 22,1%) als in der Vergleichsgruppe HYLO® GEL (n = 500, 77,9%).

5.6.1 Therapieerfolg HYLO® GEL vs. Comfort Shield®

Untersucht wurde der Therapieerfolg der im Wechsel mit AS applizierten Tränenersatzmittel. In der Gruppe der Behandlungen mit HYLO® GEL zeigten sich nach einem Zeitraum von 4 Wochen 69,6% der Epitheldefekte (n = 348) geschlossen. In der Gruppe der Behandlungen mit Comfort Shield® waren es hingegen 59,2% (n = 84). Die prozentuale Verteilung der Epithelschlussraten ist der **Abbildung 39** zu entnehmen.

Mittels einem Exakten Test nach Fisher wurden die Epithelschlussraten der beiden Gruppen verglichen. Dieser ergab mit einem zweiseitigen p-Wert von 0,03 und eine signifikant höhere Epithelschlussrate bei Behandlungen mit HYLO® GEL als mit Comfort Shield®.

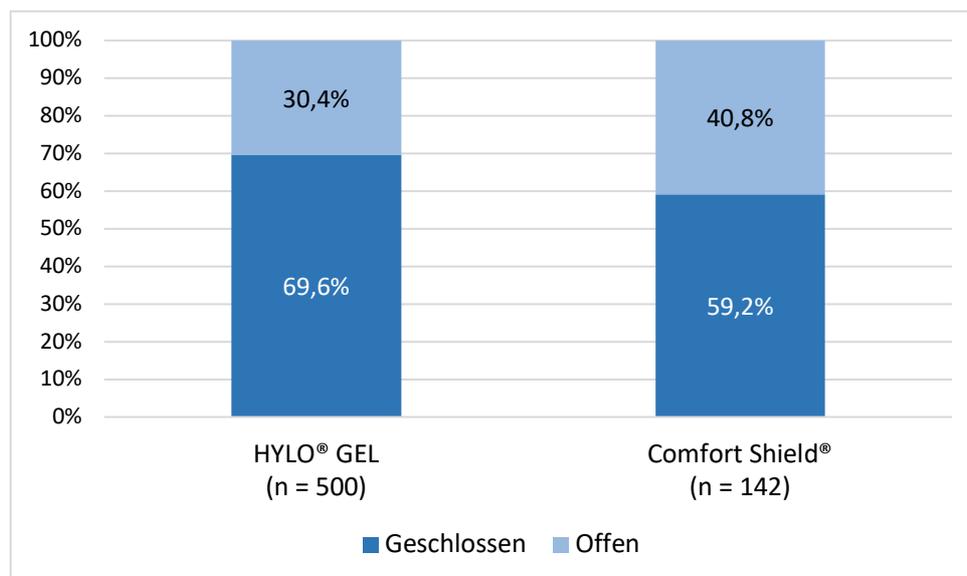


Abbildung 39: Relative Verteilung der Epithelschlussraten der zusätzlich verwendeten Tränenersatzmittel (HYLO® GEL vs. Comfort Shield®) 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum. Signifikant höhere Epithelschlussrate bei HYLO® GEL als Comfort Shield® ($p = 0,03$).

Ergebnisse

Des Weiteren wurden die Rezidivraten der beiden Gruppen verglichen. Bei Behandlungen mit HYLO® GEL traten in 35,0% (n = 175) der Fälle mindestens 1 Rezidiv im Nachbeobachtungszeitraum auf. Bei Behandlungen mit Comfort Shield® ereignete sich hingegen mindestens 1 Rezidiv bei 40,1% (n = 57) der Fälle (siehe **Abbildung 40**). Demnach zeigte das im Wechsel mit AS applizierte Tränenersatzmittel HYLO® GEL insgesamt eine geringere Neigung zur Ausbildung von Rezidiven als das Tränenersatzmittel Comfort Shield®.

Eine Testung auf Signifikanz mittels einem Exakten Fisher-Test ergab beim Vergleich der Rezidivraten einen zweiseitigen p-Wert von 0,28. Demzufolge bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

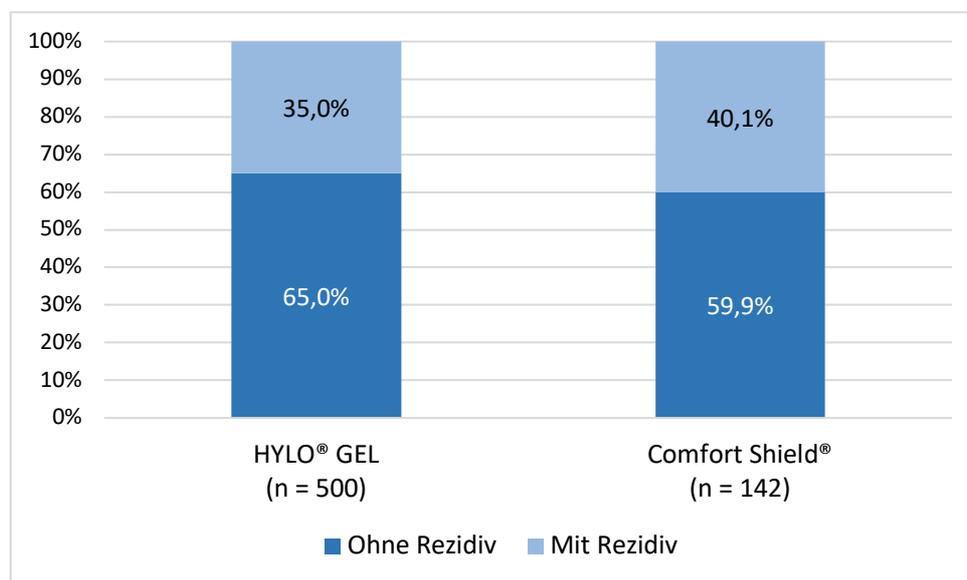


Abbildung 40: Relative Verteilung der Rezidivraten der zusätzlich verwendeten Tränenersatzmittel (HYLO® GEL vs. Comfort Shield®) unterteilt in Verläufe ohne oder mit aufgetretenem Rezidiv. Es besteht kein Unterschied ($p = 0,28$).

5.6.2 Therapieerfolg bei Einfluss einer simultanen Amnionmembrantransplantation

Analysiert wurde zudem der Therapieerfolg der im Wechsel mit AS applizierten Tränenersatzmittel (HYLO® GEL vs. Comfort Shield®) mit zusätzlichem Einfluss einer simultanen AMT. Hierbei wurden die in den **Abbildungen 41 und 42** ersichtlichen 4 Untergruppen verglichen: HYLO® GEL ohne AMT (n = 254), Comfort Shield® ohne AMT (n = 86), HYLO® GEL mit AMT (n = 246) und Comfort Shield® mit AMT (n = 56).

Die höchste Erfolgsrate zeichnete sich mit einer Epithelschlussrate von 76,0% (n = 193) in der Gruppe der Behandlungen mit HYLO® GEL ohne simultane AMT ab. Die zweithöchste Erfolgsrate ergaben mit 68,8% (n = 59) die Behandlungen mit Comfort Shield® ohne simultane

Ergebnisse

AMT, gefolgt von der Gruppe HYLO[®] GEL mit simultaner AMT (63,0%, n = 155). Die weitaus geringste Erfolgsrate zeigte sich mit 44,6% (n = 25) bei Behandlungen mit Comfort Shield[®] und simultaner AMT. Die prozentuale Verteilung der Epithelschlussraten ist in der **Abbildung 41** dargestellt.

Zum Vergleich der Epithelschlussraten der Gruppen wurde ein Chi-Quadrat-Test nach Pearson durchgeführt. Dieser lieferte mit $p < 0,001$ einen hoch signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Die signifikant höchste Erfolgsrate zeigte sich in der Gruppe HYLO[®] GEL ohne simultane AMT. Die Kombination aus Comfort Shield[®] und einer simultanen AMT ergab hingegen einen signifikant geringeren Therapieerfolg als die restlichen Gruppen.

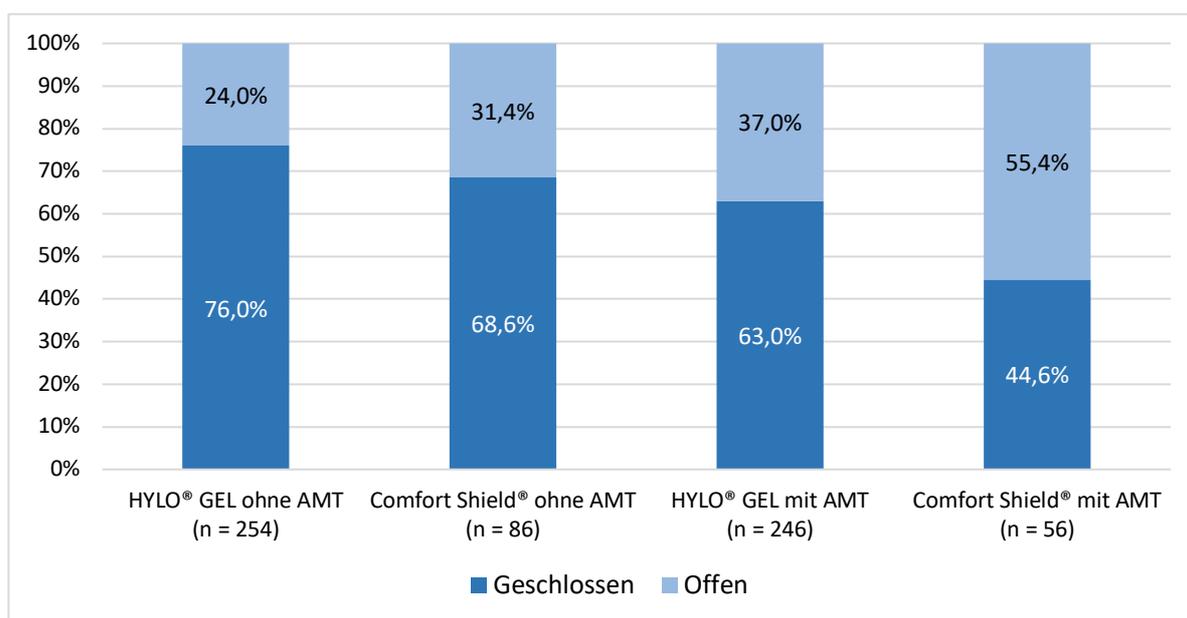


Abbildung 41: Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum unterteilt in 4 Kategorien, je nach zusätzlich verwendetem Tränenersatzmittel (HYLO[®] GEL vs. Comfort Shield[®]) und Behandlungen ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT). Signifikant höhere Epithelschlussrate bei HYLO[®] GEL ohne AMT und signifikant geringere Epithelschlussraten bei Comfort Shield[®] mit AMT ($p < 0,001$).

Betrachtet man zudem die Rezidivraten der oben genannten 4 Untergruppen, zeigte die Gruppe HYLO[®] GEL ohne simultane AMT mit 33,9% (n = 86) die geringste Rezidivrate, gefolgt von der Gruppe HYLO[®] GEL mit simultaner AMT (36,2%, n = 89). Etwas höhere Rezidivraten ergab sich in den Gruppen Comfort Shield[®] mit simultaner AMT (39,3%, n = 22) und Comfort Shield[®] ohne simultane AMT (40,7%, n = 35). Die prozentuale Verteilung der Rezidivraten ist der **Abbildung 42** zu entnehmen.

Ergebnisse

Zum Vergleich der Gruppen wurde auch hier ein Chi-Quadrat-Test nach Pearson genutzt. Mit einem p-Wert von 0,66 ergab dieser keinen statistischen Unterschied zwischen den Gruppen. Unabhängig davon, ob eine simultane AMT angewandt wurde, ließ sich jedoch wie auch im vorherigen Kapitel 5.6.1, S. 51-52 eine etwas höhere Neigung zur Ausbildung von Rezidiven in der Comfort Shield®-Gruppe erkennen.

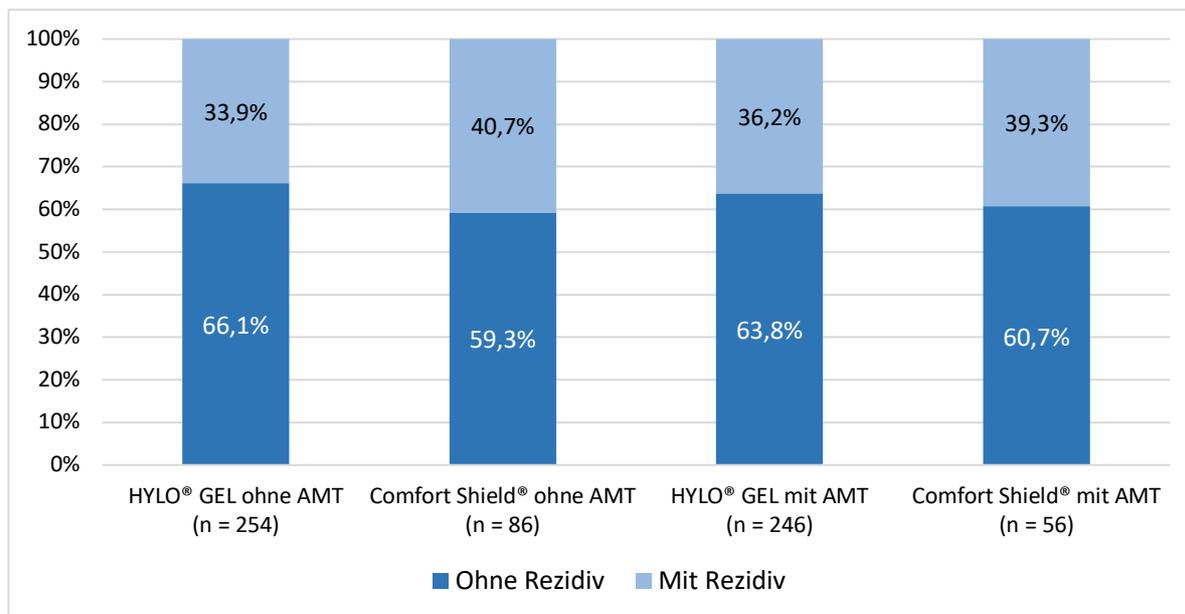


Abbildung 42: Relative Verteilung der Rezidivraten unterteilt in 4 Kategorien, je nach zusätzlich verwendetem Tränenersatzmittel (HYLO® GEL vs. Comfort Shield®) und Behandlungen ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT). Es besteht kein Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,66$).

5.7 Einfluss der Grunderkrankung

Wie in Kapitel 5.1, S. 39 beschrieben lagen in 108 (16,3%) der 661 Fälle an ursächlichen Grunderkrankungen mehrere Pathologien gleichzeitig vor. Diese Gruppe wurde zum präzisen statistischen Vergleich der Erfolgsraten der einzelnen Grunderkrankungen untereinander in einer Gruppe „mehrere Ursachen“ zusammengefasst. Die daraus folgenden restlichen Grunderkrankungsgruppen bildeten nun Fälle mit dem Vorliegen lediglich einer zugrunde liegenden Pathologie. Hieraus ergaben sich schließlich 201 neurotrophe Ursachen (30,4%), 164 Infektionen (24,8%), 69 Traumata (10,4%), 62 Hornhautdystrophien (9,4%) und 57 kongenitale Aniridien (8,6%). Diese Häufigkeitsverteilung ist in der **Tabelle 3** und **Abbildung 43** dargestellt.

Tabelle 3: Absolute und relative Häufigkeitsverteilung der Grunderkrankungen unter Separierung der Fälle mit „mehreren Ursachen“

Grunderkrankung	Absolute Häufigkeit	Relative Häufigkeit
Neurotrophe Ursachen	201	30,4%
Infektionen	164	24,8%
Mehrere Ursachen	108	16,3%
Traumata	69	10,4%
Hornhautdystrophien	62	9,4%
Kongenitale Aniridie	57	8,6%

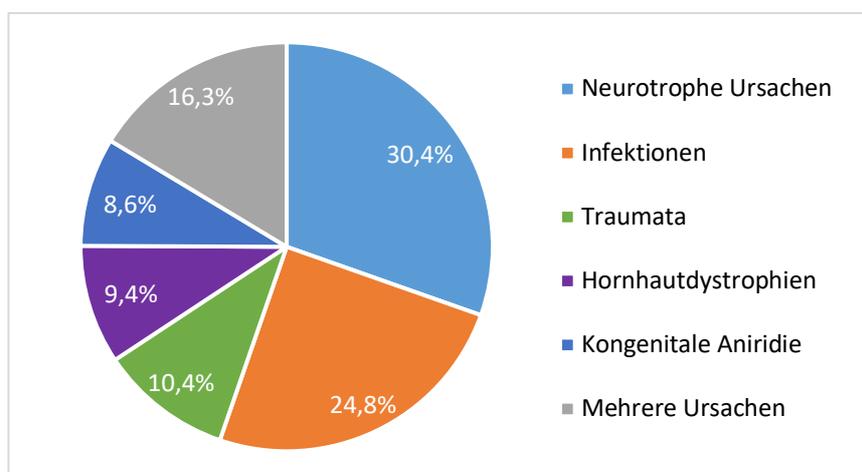


Abbildung 43: Prozentuale Verteilung der Grunderkrankungen unter Separierung der Fälle mit „mehreren Ursachen“

5.7.1 Therapieerfolg der Grunderkrankungen

Untersucht wurde nun der Therapieerfolg des AS verglichen an den 5 ursächlichen Grunderkrankungen. Dabei ergab sich die höchste Epithelschlussrate innerhalb 4 Wochen mit 83,9% (n = 52) in der Gruppe der Hornhautdystrophien. Die zweithöchste Epithelschlussrate zeigte die Gruppe der Traumata mit 81,2% (n = 56). In der Gruppe mit „mehreren Ursachen“ ergab sich eine Epithelschlussrate von 74,1% (n = 80), gefolgt von den neurotrophen Ursachen mit 72,1% (n = 145) sowie den Infektionen mit 69,5% (n = 114). Die bei weitem geringste Epithelschlussrate zeigten Patienten mit kongenitaler Aniridie mit 57,9% (n = 33). Die relative Verteilung der Epithelschlussraten der einzelnen Grunderkrankungen ist in der **Abbildung 44** ersichtlich.

Es erfolgte ein Vergleich der Epithelschlussraten der verschiedenen Grunderkrankungsgruppen mit einem Chi-Quadrat-Test nach Pearson. Dieser ergab mit $p = 0,02$ einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Es zeigte sich insgesamt eine signifikant geringere

Ergebnisse

Epithelschlussrate bei Patienten mit kongenitaler Aniridie, während Patienten mit Hornhautdystrophien und Traumata die höchsten Epithelschlussraten aufwiesen.

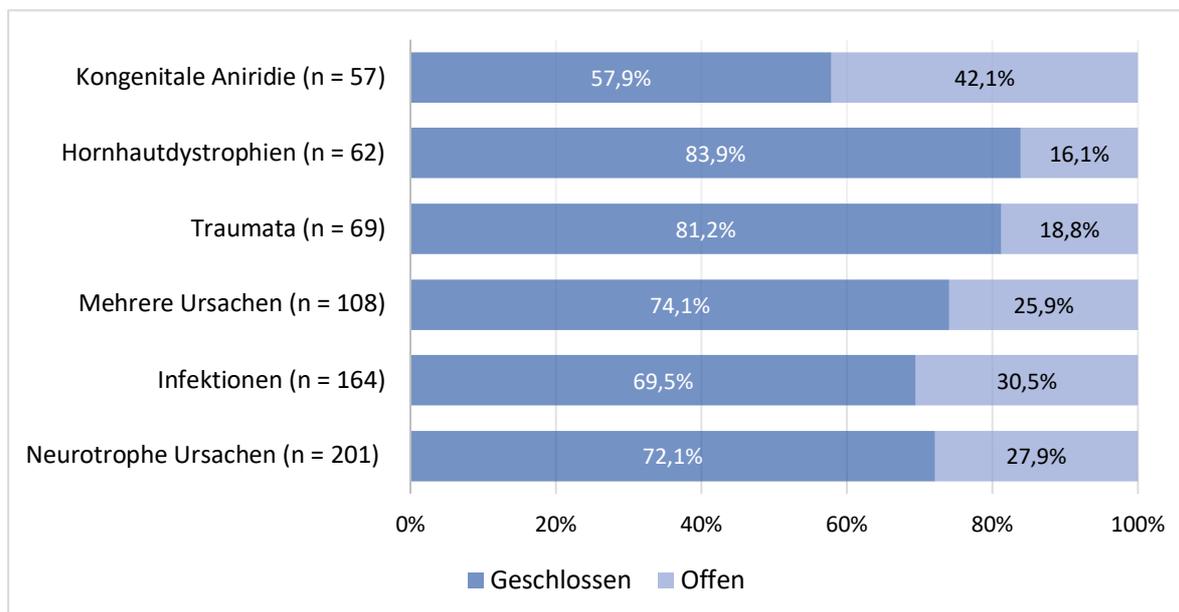


Abbildung 44: Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum unterteilt nach Grunderkrankung. Signifikant geringere Epithelschlussrate bei kongenitaler Aniridie und höhere Epithelschlussraten bei Hornhautdystrophien und Traumata ($p = 0,02$).

Anschließend wurden die Rezidivraten der einzelnen Grunderkrankungen miteinander verglichen. Die deutlich geringste Neigung zur Ausbildung von Rezidiven zeigte sich in der Gruppe der Hornhautdystrophien mit einer Rezidivrate von nur 8,1% ($n = 5$). Die Gruppe der Infektionen erwies eine Rezidivrate von 20,1% ($n = 33$), gefolgt von der Gruppe mit „mehreren Ursachen“ mit 25,0% ($n = 27$) sowie neurotrophen Ursachen mit 27,4% ($n = 55$). Die weitaus höchsten Rezidivraten zeigten sich in der Gruppe der kongenitalen Aniridie mit 42,1% ($n = 24$) sowie der Gruppe der Traumata mit 46,4% ($n = 32$). Die relative Verteilung der Rezidivraten ist in der **Abbildung 45** dargestellt.

Erneut wurde ein Chi-Quadrat-Test nach Pearson zum Vergleich der Rezidivraten der verschiedenen Grunderkrankungsgruppen durchgeführt. Mit einem p-Wert von $< 0,001$ lieferte dieser ebenfalls einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Demnach ergab sich eine signifikant höhere Neigung zur Ausbildung von Rezidiven bei Patienten mit Traumata und kongenitaler Aniridie, während Patienten mit Hornhautdystrophien die bei weitem geringste Rezidivneigung zeigten.

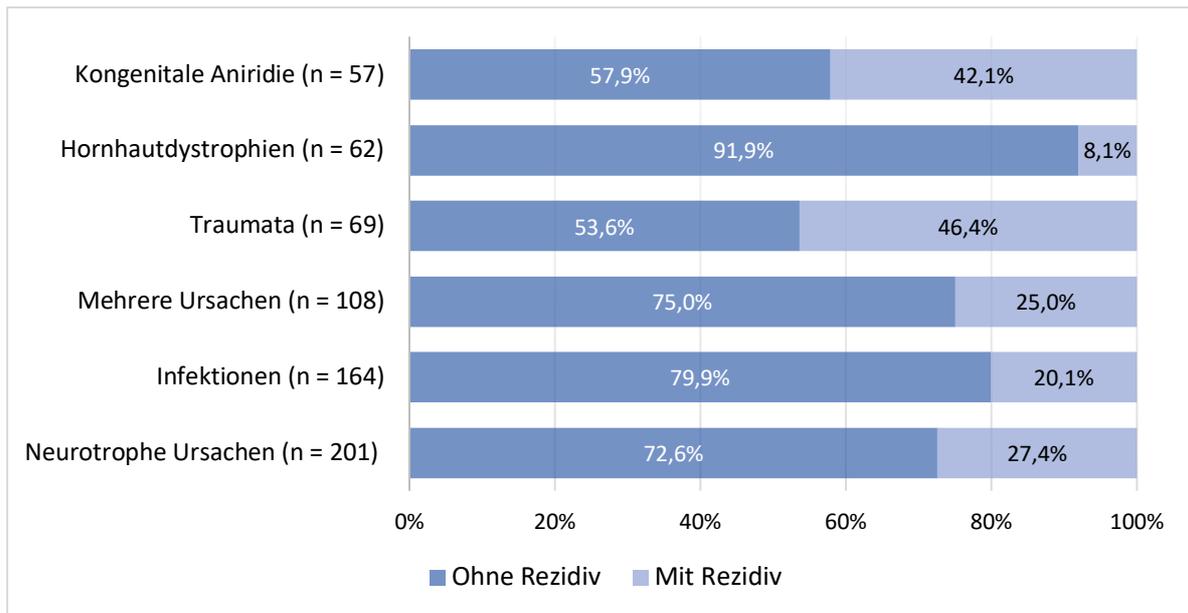


Abbildung 45: Relative Verteilung der Rezidivraten unterteilt nach Grunderkrankung. Signifikant höhere Rezidivraten bei Traumata und kongenitaler Aniridie und geringere Rezidivraten bei Hornhautdystrophien ($p < 0,001$).

5.7.2 Vorkommen von Erosio vs. Ulkus bei verschiedenen Grunderkrankungen

Untersucht wurde zudem das Vorkommen von Epitheldefekten ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus) in Bezug zu den verschiedenen Grunderkrankungen. Hierbei wurde einzeln jede Gruppe an Grunderkrankung mittels zweiseitigem Exakten Fisher-Test hinsichtlich der Häufigkeit des Vorliegens einer Erosio vs. Ulkus mit der übrigen Gesamtpopulation verglichen und auf Signifikanz getestet.

Daraus ergab sich ein signifikant häufigeres Vorkommen von Ulzera als Erosionen im Vergleich zur restlichen Gesamtpopulation in der Gruppe der Infektionen ($p < 0,001$), v.a. den viralen (Herpes-)Infektionen ($p < 0,001$) sowie in der Gruppe der neurotrophischen Ursachen ($p = 0,002$, siehe **Abbildung 46a-c**).

Hingegen dazu zeigte sich ein signifikant häufigeres Vorkommen von Erosionen als Ulzera innerhalb der Patientengruppe mit kongenitaler Aniridie ($p = 0,001$) sowie der Gruppe mit Hornhautdystrophien ($p = 0,03$, siehe **Abbildung 46d-e**).

Kein statistisch signifikanter Unterschied ($p = 0,88$) ergab sich in der Patientengruppe mit Traumata (siehe **Abbildung 46f**).

Ergebnisse

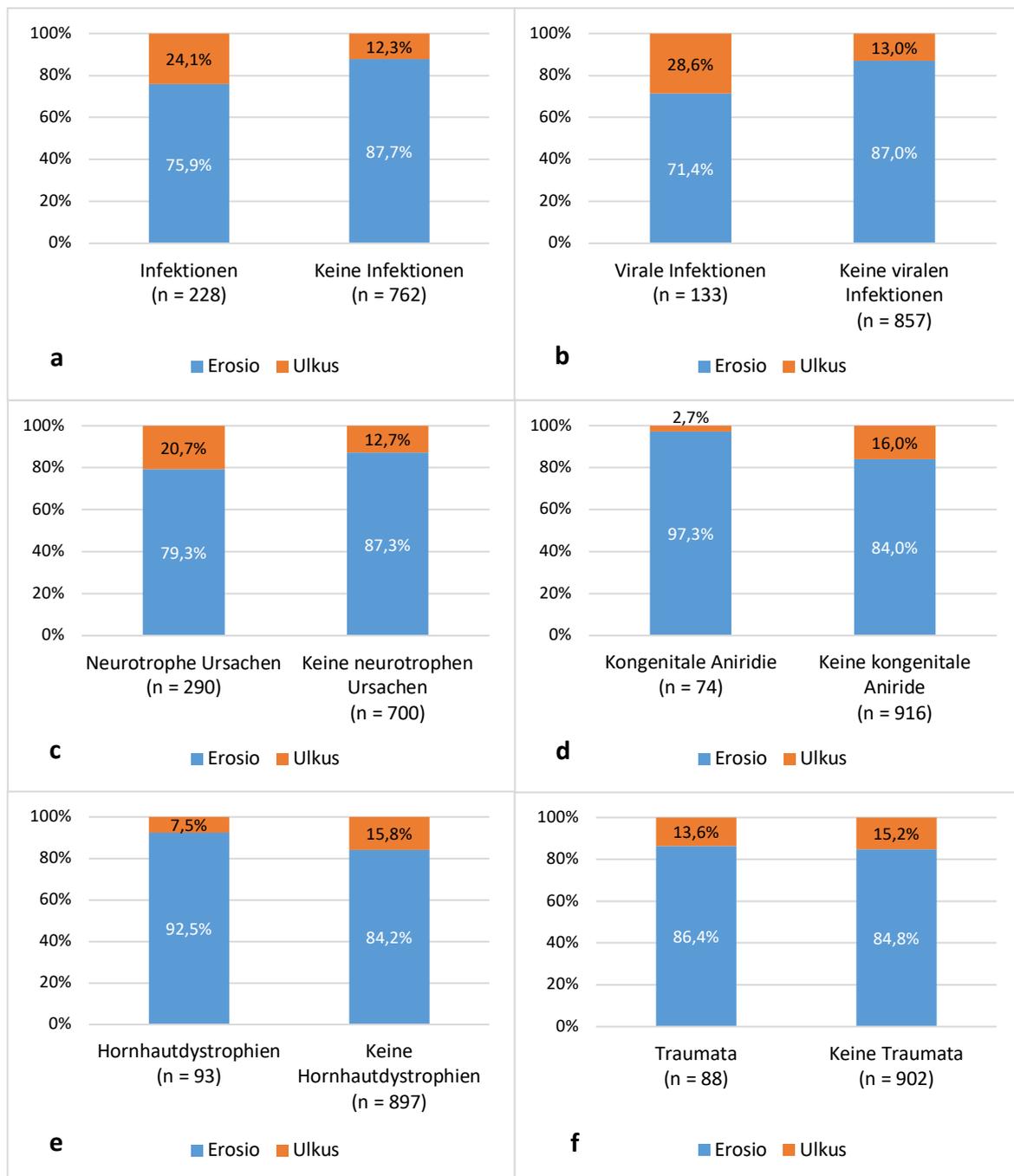


Abbildung 46: Relative Verteilung des Vorkommens der Epitheldefekte ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus) bezogen auf die einzelnen Grunderkrankungen. **a** Infektionen: Signifikant mehr Ulzera als Erosionen ($p < 0,001$). **b** Virale Infektionen: Signifikant mehr Ulzera als Erosionen ($p < 0,001$). **c** Neurotrophe Ursachen: Signifikant mehr Ulzera als Erosionen ($p = 0,002$). **d** Kongenitale Aniridie: Signifikant mehr Erosionen als Ulzera ($p = 0,001$). **e** Hornhautdystrophien: Signifikant mehr Erosionen als Ulzera ($p = 0,03$). **f** Traumata: Es besteht kein Unterschied ($p = 0,88$).

6. Diskussion

6.1 Therapieerfolg der Gesamtpopulation

In der vorliegenden Studie wurden über einen langen Zeitraum von 13 Jahren die Erfolgs- und Rezidivraten der autologen Serumaugentropfen bei Patienten mit therapieresistenten Epitheldefekten der Kornea untersucht, welche in der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar in den Jahren 2007 bis 2019 behandelt wurden. Hierbei ergaben die Untersuchungen eine Epithelschlussrate von 73,6% innerhalb 4 Wochen sowie eine Rezidivfreiheit bei 72,6% der insgesamt 990 Anwendungen mit AS bei einer medianen Nachbeobachtungszeit von 50 Monaten [125].

Dieser positive Effekt auf die epitheliale Wundheilung bei persistierenden Epitheldefekten der Kornea deckt sich mit den Ergebnissen einiger vorheriger publizierter Studien. Dabei zeigt sich in der Literatur eine Spanne der Erfolgsraten zwischen 56,2% und 100% [19,32,47,51,60,83,103,105,119,122]. Die Untersuchungen der hiesigen Studie lagen damit im mittleren Bereich dieser Ergebnisse [125]. Innerhalb der publizierten Studien lag der Beobachtungszeitraum des Therapieerfolges meistens ebenfalls bei ungefähr 4 Wochen [32,47,83,119,122]. In Ausnahmen wurde das AS über mehrere Monate hinweg in Folge appliziert [103]. Tsubota et al. beobachtete an 16 Augen mit persistierenden Epitheldefekten eine Erfolgsrate von 62,5% innerhalb eines Monats unter der Therapie mit 20%igem AS [119]. Poon et al. verwendeten 50%iges und 100%iges AS und erzielten eine Erfolgsrate von ca. 60% innerhalb eines Monats an 15 Augen und beobachteten zudem in 5 Fällen ein Rezidiv des Epitheldefekts nach Absetzen der Therapie [83]. In einer Studie von Ferreira de Souza et al. wurden 70 Augen mit unverdünntem 100%igem AS behandelt und eine Erfolgsrate von 81% innerhalb ca. 6 Wochen nach Therapiebeginn erzielt [32]. Lekhanont et al. nutzen ebenfalls 100%iges AS an 181 Augen mit persistierenden Epitheldefekten nach chirurgischen Eingriffen am Auge und berichteten über eine hohe Erfolgsrate von 93,9% innerhalb weniger Behandlungstage [60]. In einer schwedischen Studie an 16 Augen mit therapieresistenten Epitheldefekten beobachteten von Hofsten et al. zudem einen Therapieerfolg bei 56,2% mit 20%igem AS innerhalb eines Monats [122]. Semeraro et al. nutzen 50%iges AS und erzielten eine Erfolgsrate von 100% bei einer mehrmonatigen Therapie mit AS und berichteten gleichzeitig über ein Rezidiv in 18% der Fälle nach Beendigung der Therapie in einem Nachbeobachtungszeitraum von ca. 4 Monaten [103].

Diskussion

Bislang wurde die Rezidivrate nur in wenigen Studien über einen langen Zeitraum untersucht [32,125]. Ferreira de Souza et al., welche 70 Augen mit unverdünntem 100%igen AS behandelt haben und dabei eine Erfolgsrate von 81% erzielten, berichteten über eine Rezidivfreiheit bei 84% in einem Beobachtungszeitraum von ca. 12 Monaten, die Rezidive traten innerhalb der ersten 2 Monate auf [32]. Die mediane Nachbeobachtungszeit der vorliegenden Studie betrug 50 Monate und zeigte dennoch eine relativ hohe Rezidivfreiheit von 72,6% sowie ein Auftreten der Rezidive mit einem Median von 9 Monaten [125].

Insgesamt ist die Vergleichbarkeit der einzelnen Studien hinsichtlich ihrer Erfolgsraten eingeschränkt, da sie keine standardisierte Präparation und Anwendung der Tropfen aufwiesen. Zum einen zeigten sich große Variationen innerhalb der Studien bei der Herstellung der Tropfen mit unterschiedlichen Gerinnungszeiten, Zentrifugationskräften und -dauern sowie unterschiedlichen Verdünnungsverhältnissen und Verdünnungsmitteln (BSS, physiologische Kochsalzlösung oder Chloramphenicol). Zum anderen variierte das Applikationsschema der Tropfen zwischen 4 bis 12 Tropfen täglich [37,44,122].

Herminghaus et al. untersuchten die Auswirkung der Zentrifugation auf die epitheliotropen Eigenschaften des AS in einem Zellkulturmodell und fanden eine scharfe Zentrifugation (z. B. 3000 G) mit sauberer Trennung des Serums von korpuskulären Blutbestandteilen als am besten geeignet. Hierdurch würden die Apoptose-induzierenden Zellmembranreste vollständig entfernt werden [42]. Liu et al. testeten ebenfalls in einem Zellkulturmodell den Einfluss verschiedener Präparationsbedingungen auf die Konzentrationen und epitheliotropen Potenzen der Komponenten des Serums (Wachstumsfaktoren, Fibronectin und Vitamine) und fanden eine signifikant höhere Proliferation, Migration und Differenzierung von kornealen Epithelzellen bei einer langen Gerinnungszeit (≥ 120 min), einer scharfen Zentrifugation (3000 G für 15 min) und einer Verdünnung mit BSS [62].

Die Konzentrationen der Tropfen variierten innerhalb der beschriebenen Studien zwischen 20% und 100% [37,105]. Eine Verdünnung des Serums wurde erstmals von Tsubota et al. im Jahre 1999 befürwortet, da sich der Wachstumsfaktor TGF- β im Serum in deutlich höheren Konzentrationen als in der Tränenflüssigkeit befindet und ihm gleichzeitig antiproliferative Eigenschaften zugesprochen wurden, die eventuell die Wundheilung supprimieren könnten [118,122]. Durch die Verdünnung sollte sich das Serum der physiologischen Tränenflüssigkeit mehr angleichen und gleichzeitig in größeren Mengen für den Patienten vorhanden sein [118]. Eine In-vitro-Studie von Wu et al. konnte aufzeigen, dass die Migration und Viabilität der

Diskussion

Hornhautepithelzellen bei 30%igem AS und die Proliferation bei 15%igem AS am höchsten war [127]. In einer klinischen Studie von Cho et al. wurde bei Patienten mit Sjögren-Syndrom und persistierenden Epitheldefekten eine verringerte Symptomatik und ein schnellerer Epithelschluss bei 100%igem AS im Vergleich zu 50%igem AS nachgewiesen [19]. Eine weitere klinische Studie von Akyol-Salman konnte ebenfalls eine schnellere Epithelheilung bei mechanisch induzierten Ulzera an Kaninchenaugen durch die Applikation von unverdünntem 100%igem AS im Vergleich zu 20%igem AS aufzeigen [5]. Zudem erwies sich 100%iges AS in einer experimentellen Toxizitätsstudie von Geerling et al. als weniger toxisch auf die kornealen Epithelzellen als 50%iges AS, die Verdünnung mit Chloramphenicol erhöhte zusätzlich die Toxizität [36]. In dieser Studie wurde unverdünntes 100%iges AS verwendet, um eine etwaige mikrobielle Kontamination durch die Verdünnung zu vermeiden [91].

Die optimale Konzentration des AS für die epitheliale Wundheilung bleibt bislang unklar. Zudem muss bedacht werden, dass die individuellen Wachstumsfaktorkonzentrationen des Serums bei verschiedenen Patienten große Schwankungen aufweisen können [109]. An dieser Stelle sind weiterführende Untersuchungen notwendig, um die Herstellung und Anwendung der autologen Serumaugentropfen zukünftig zu standardisieren und dadurch die Vergleichbarkeit von klinischen Studien und letztendlich das Outcome der Therapien zu optimieren [37,44,122,125].

6.2 Vergleich von Erosio vs. Ulkus

In dem vorliegenden Studienkollektiv kamen mit 84,9% deutlich häufiger korneale Erosionen als Ulzera (15,1%) vor. Die Ulzerationen zeigten sich signifikant häufiger bei Patienten mit neurotrophen Ursachen und (viralen) Infektionen. Unsere Untersuchungen ergaben keinen signifikanten Unterschied zwischen den Erosionen und Ulzera hinsichtlich der Epithelschlussrate. Die Ulzera zeigten mit 69,8% lediglich eine geringere Heilungstendenz als die Erosionen mit 74,3%. Hinsichtlich der Geschwindigkeit der Epithelheilung konnte jedoch eine signifikant langsamere Heilung der Ulzera im Vergleich zu den Erosionen beobachtet werden.

In der Literatur liegen aktuell keine Studien vor, welche die Epithelschlussrate oder Geschwindigkeit der Epithelheilung zwischen Erosionen und Ulzera durch die Therapie mit AS verglichen haben. In einer Studie von Ferreira de Souza et al. konnte keine Korrelation zwischen der Defektgröße (Länge und Breite) und Defektlokalisierung gezeigt werden, jedoch

Diskussion

wurde schon hier ein weniger gutes Ansprechen der Behandlung mit AS bei Ulzera im Vergleich zu Erosionen vermutet [32]. Auch andere Studien führten lediglich eine Erhebung der Defektlänge und Defektbreite durch, jedoch kein Ausmessen der Defekttiefe [83]. Die langsamere Heilungstendenz der Ulzera erschließt sich logisch, da verglichen zu den Erosionen bei kornealen Ulzera ein tiefer liegender Defekt mit zusätzlichem Defekt der Bowman'schen Lamelle und des Stromas vorliegt, der vermutlich eine längere Zeit zur Regeneration der einzelnen Schichten und Wiederaufbau des Epithels benötigt.

Da sich insgesamt kein signifikanter Unterschied in der Epithelschlussrate innerhalb 4 Wochen zwischen den beiden Gruppen gezeigt hat, scheint das AS sowohl bei Erosionen als auch bei Ulzera eine effektive Therapieoption darzustellen und kann eventuell das Fortschreiten eines tiefen Defekts bis hin zur Perforation verhindern.

6.3 Einfluss einer simultanen Amnionmembrantransplantation

Eine simultane AMT wurde bei 38,8% der Behandlungen mit autologen Serumaugentropfen durchgeführt. Sie wurde signifikant häufiger bei Ulzera als Erosionen sowie signifikant häufiger bei Verläufen mit Rezidiven als ohne Rezidive angewandt. Betrachtet man den Einfluss der simultan angewandten AMT auf die epitheliale Wundheilung, zeigten die Untersuchungen eine signifikant geringere Epithelschlussrate und signifikant langsamere Heilungstendenz bei Therapien mit simultaner AMT im Vergleich zu Therapien ohne AMT [125].

Diese Ergebnisse decken sich nicht mit den Beobachtungen zahlreicher Studien, welche der AMT eine große Rolle in der Heilung von persistierenden Epitheldefekten zuweisen [17,33,50,54,61,94,99,100,123]. Vor allem die Anwendung einer AMT bei tiefen stromalen Defekten, den Ulzera, wurde mehrfach untersucht und erzielte gute Therapieerfolge [17,33,50,54,61,94]. Der positive Effekt auf die Epithelheilung erwies sich zudem in einer klinischen Studie von Seitz et al. an 24 Augen mit Epitheldefekten auf dem Transplantat nach PKP, welche durch die Anwendung einer AMT innerhalb 4 Wochen eine 70%ige Epithelschlussrate aufzeigten [100]. Zudem zeigte eine simultane AMT bei Hochrisiko-Keratoplastiken mit postoperativen Epithelheilungsstörungen eine prognoseverbessernde Wirkung [101]. Auch bei weiteren Erkrankungen der Augenoberfläche wie beispielsweise rezidivierenden Erosionen oder einem schweren trockenen Auge konnte die heilungsfördernde Wirkung einer AMT nachgewiesen werden [123]. Zudem konnten sich die in der

Diskussion

Amnionmembran enthaltenen wundheilungsfördernden Faktoren und auch der hohe Gehalt an NGF als vorteilhaft in der Therapie der neurotrophen Keratopathie erweisen, welche nicht selten mit Epithelheilungsstörungen und Ulzerationen einhergeht [8,17,50,89,98]. In einer klinischen Studie von Turkoglu et al. an 42 Augen zeigte eine mehrlagige AMT in der Therapie von neurotrophen Hornhautulzera eine vergleichsweise höhere Wirksamkeit als AS [120]. Anzumerken ist, dass in der vorliegenden Studie die Epithelschlussrate innerhalb 4 Wochen erhoben wurde, während der Beobachtungszeitraum des Therapieerfolges der einzelnen publizierten Studien von mindestens 4 Wochen bis hin zu einigen Monaten variierte [17,33,50,54,61,94,99,100,125].

Die langsamere Heilungstendenz der simultanen AMT in den hiesigen Untersuchungen ist möglicherweise durch die Tatsache erklärbar, dass sich die aufgebrachte Amnionmembran, welche zusätzlich mit einer Verbandskontaktlinse fixiert wurde, erst nach 3 bis 4 Wochen aufgelöst hatte und der Epithelschluss demnach vorher spaltlampenmikroskopisch nicht eindeutig erkennbar war [125]. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass in dieser Studie bevorzugt Patienten mit Ulzera und mit Rezidiven eine AMT erhalten haben. Daraus schließend wurden vermehrt Patienten mit einem schwerwiegenderen Krankheitsverlauf mit einer simultanen AMT behandelt. Dem zufolge waren beide Gruppen statistisch nur schwer vergleichbar, was eine mögliche Verzerrung der Ergebnisse erklärt [125].

In einer retrospektiven Studie von Schuerch et al. an 149 Patienten mit therapierefraktären Ulzera wurde eine Epithelschlussrate von 70% innerhalb 6 Monaten nach einmaliger Anwendung der AMT beobachtet, jedoch wurde gleichzeitig lediglich eine Epithelschlussrate von 21% innerhalb der ersten 4 Wochen erreicht [94]. Die Studie unterstreicht damit die Vermutung einer geringeren Epithelschlussrate innerhalb 4 Wochen bei schwerwiegenden Verläufen [94,125].

6.4 Vergleich von eigener Hornhaut vs. Transplantat

Bei 43,5% der Behandlungen wurde das AS auf der eigenen HH und bei 56,5% auf dem Transplantat nach PKP angewandt. Die hohe Anzahl von insgesamt 559 Anwendungen auf der transplantierten HH in dieser Studie ist zum einen durch die Spezialisierung der Klinik für Augenheilkunde am UKS in Homburg/Saar auf das gesamte Spektrum der Hornhautchirurgie erklärbar, wobei jährlich eine hohe Anzahl an Keratoplastiken durchgeführt wurden. Allein im Jahr 2021 waren es insgesamt 676 Keratoplastiken. Zum anderen erklärt es sich durch die

Diskussion

bereits früh postoperative Anwendung von AS bei Epitheldefekten auf dem Transplantat in kritischen Situationen, beispielsweise bei Patienten mit kongenitaler Aniridie [125].

Die Beobachtungen der Studie ergaben keinen signifikanten Unterschied in der Epithelschlussrate zwischen der eigenen HH und dem Transplantat nach PKP. Die transplantierte HH zeigte mit 74,6% eine minimal höhere Heilungstendenz als die eigene HH mit 72,4% [125].

Ferreira de Souza et al. beobachteten ebenfalls ein gutes Ansprechen des AS bei Epitheldefekten nach PKP und fanden eine rasche Applikation auf dem Transplantat als sinnvoll, da lange bestehende Defekte das Risiko von Narbenbildungen, Infektionen, immunologischen Abstoßungsreaktionen und letztendlich eines Transplantatversagens erhöhen könnten [32]. Zusätzlich könnten durch die Applikation von AS invasivere Eingriffe wie eine Botulinumtoxin-Injektion zur temporären Ptosis oder eine Re-Keratoplastik verhindert werden [32]. Eine hohe Erfolgsrate des AS auf der transplantierten HH zeigte sich auch in einer klinischen Studie von Lekhanont et al. an 181 Augen mit Epitheldefekten infolge chirurgischer Eingriffe am Auge, davon 83,4% nach PKP [60]. Hierbei erfolgte ein kompletter Epithelschluss bei 93,9% in einem medianen Zeitraum von 4 Tagen [60]. Kamble et al. fanden zudem in einer randomisierten kontrollierten Studie an 105 Augen eine schnellere Reepithelialisierung von postkeratoplastischen Epitheldefekten durch die Applikation von AS im Vergleich zu künstlichen Tränenersatzmitteln [48]. Auch in einer prospektiven Studie von Chen et al. an 165 Augen wurde die schnelle Reepithelialisierung bei Defekten auf dem Transplantat durch die Therapie mit AS belegt [18]. Insgesamt bestätigen diese Ergebnisse die Beobachtungen der vorliegenden Studie. Das AS scheint demnach bei Epitheldefekten auf dem Transplantat eine effektive und prognoseverbessernde Therapieoption darzustellen [125].

Weitere Untersuchungen der hiesigen Studie ergaben eine signifikant höhere Rezidivrate auf dem Transplantat als auf der eigenen HH. Zudem ereigneten sich die Rezidive auf dem Transplantat signifikant schneller und verstärkt in den ersten 6 Monaten nach primärer Ausheilung der Defekte [125].

Die PKP ist ein großer chirurgischer Eingriff, bei dem intraoperativ alle Nervenfasen, die von der Peripherie der HH radial zum Zentrum verlaufen, durchtrennt werden [6]. Dies führt zu einer eingeschränkten Hornhautinnervation mit Sensibilitätsverlust und resultiert in einem Fehlen von natürlichen Schutzmechanismen. Als Folge wird die denervierte HH anfällig für die Ausbildung von Epitheldefekten und Wundheilungsstörungen [21]. In verschiedenen Studien

Diskussion

konnte mittels konfokaler In-vivo-Mikroskopie aufgezeigt werden, dass der subbasale Nervenplexus noch einige Monate bis Jahre postoperativ nicht vollständig regeneriert ist [6,21,45,87]. In einer Studie von Hollingsworth et al. wurden mutmaßlich dünne Nervenfasern auf der Ebene der Bowman'schen Lamelle ein Jahr postoperativ detektiert [45]. Richter et al. fanden in einer Längsschnittstudie eine Reinnervation des zentralen oberflächlichen Stromas nach 7 Monaten und des zentralen subbasalen Plexus nach 2 Jahren postoperativ [87]. Zudem wurde in Studien die langfristige Auswirkung der PKP auf den subbasalen Nervenplexus untersucht und dabei eine veränderte neuroanatomische Architektur des Nervenplexus noch Monate bis Jahrzehnte nach der Operation mit dünneren, stärker gewundenen und desorientierten Nervenfasern sowie einer geringeren Nervenfaserdichte beobachtet [72,80,110].

In der klinischen Studie von Darwish et al. an 20 postoperativen Patienten konnte die Restitution der zuvor nach PKP signifikant verringerten Hornhautsensibilität frühestens nach 12 Monaten nachgewiesen werden [21]. In einem Fallbericht von Abedi et al. konnte mittels konfokaler In-vivo-Mikroskopie eine Regeneration des im Rahmen einer UV-Keratitis stark beschädigten subbasalen Nervenplexus durch die Applikation von AS aufgezeigt werden [1]. In weiteren klinischen Studien von Aggarwal et al. wurde bei Patienten mit neurotropher Keratopathie und in der konfokalen In-vivo-Mikroskopie nachgewiesener Nervenschädigung ebenfalls eine Regeneration des subbasalen Plexus durch die Behandlung mit AS beobachtet [2,3].

Zusammenfassend erklärt die postoperativ für einige Monate eingeschränkte Hornhautsensibilität möglicherweise die gerade in den ersten 6 Monaten verstärkt auftretenden Rezidive des Epitheldefekts auf der transplantierten HH [125]. Die Applikation von AS scheint bei der Restitution des subbasalen Nervenplexus unterstützend zu wirken [1–3]. Es empfiehlt sich somit im ersten halben Jahr nach Abheilung der Defekte auf dem Transplantat eine konsequente Nachbeobachtung durchzuführen und im Falle eines Rezidivs das AS zügig erneut zu applizieren [1–3,21,125].

6.5 Vergleich der verwendeten Tränenersatzmittel

Die autologen Serumaugentropfen wurden im Wechsel mit einem hyaluronsäurebasierten Tränenersatzmittel HYLO® GEL oder Comfort Shield® verabreicht. Dabei zeigte sich in der

Diskussion

Comfort Shield®-Gruppe mit 22,1% eine geringere Anzahl an Anwendungen im Vergleich zur HYLO® GEL-Gruppe (77,9%), da es erst später ab März 2019 verabreicht wurde.

Die Applikation von AS im Wechsel mit HYLO® GEL erwies eine signifikant höhere Epithelschlussrate innerhalb 4 Wochen als die Applikation von AS im Wechsel mit Comfort Shield®. Hinsichtlich der Rezidivrate ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Die Comfort Shield®-Gruppe zeigte lediglich eine höhere Neigung zur Ausbildung von Rezidiven. Betrachtet man zusätzlich den Einfluss einer simultanen AMT zeigte die Kombination aus Comfort Shield® (im Wechsel mit AS) und einer simultanen AMT eine signifikant geringere Epithelschlussrate innerhalb 4 Wochen als die restlichen Gruppen. Eine simultane AMT übte jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Rezidivrate aus. Unabhängig von einer simultanen AMT zeigte sich nur erneut eine höhere Rezidivneigung in der Comfort Shield®-Gruppe.

Bei dem Inhaltsstoff der beiden Tränenersatzmittel handelt es sich um eine Hyaluronsäure. Die Hyaluronsäure ist ein langkettiges, lineares Polysaccharid, welches als Verdickungsmittel im menschlichen Körper (z. B. in der Synovialflüssigkeit oder dem Glaskörper) vorkommt. Durch ihre wasserbindenden Eigenschaften besitzt die Hyaluronsäure eine hohe Viskosität und dient in Form von Augentropfen als Befeuchtungs- und Gleitmittel der Augenoberfläche [59,81]. Darüber hinaus scheint sie pharmakologisch aktiv auf die Epithelzellen zu wirken, da verschiedene Hyaluronsäurerezeptoren auf den kornealen und konjunktivalen Epithelzellen beobachtet wurden und das lösliche Rezeptor-Äquivalent im Tränenfilm detektiert wurde [35]. Es konnte in Studien gezeigt werden, dass die Hyaluronsäure unter anderem die Zellmigration, Immunreaktion und Angiogenese beeinflussen kann [59,81]. Ihr epithelproliferativer und damit wundheilungsfördernder Effekt auf die Epithelheilung konnte in weiteren klinischen und experimentellen Studien belegt werden [16,74,126]. Positive Effekte zeigten sich vor allem bei einer Hyaluronsäure-Konzentration von 0,2% bis 0,3% sowie bei einer hochmolekularen im Vergleich zu einer niedermolekularen Hyaluronsäure [16,74,126]. Als Augenbefeuchtungsmittel zeigte die Hyaluronsäure in klinischen Studien eine subjektive und objektive Befundverbesserung bei Patienten mit trockenem Auge sowie bei Epithelheilungsstörungen nach chirurgischen Eingriffen am Auge wie der PKP [14,70,81].

In einer Studie von López-García et al. erwies sich die Hyaluronsäure als optimales Verdünnungsmittel von AS, da sie zu einer langsameren und allmählichen Freisetzung von Wachstumsfaktoren und damit einer erhöhten Wirkungsdauer des AS auf der Augenoberfläche

Diskussion

fürte [65]. Um diesen positiven Effekt der Hyaluronsäure auf die Wirksamkeit von AS zu erreichen, wurde in dieser Studie das unverdünnte AS im Wechsel mit einem hyaluronsäurebasierten Tränenersatzmittel verabreicht.

Bei HYLO® GEL handelt es sich um ein unkonserviertes und phosphatfreies Tränenersatzmittel mit einer hochviskösen, langkettigen Hyaluronsäure in einer Konzentration von 0,2%. In einer Studie von Pattmöller et al. an 51 Augen nach PKP wurde eine deutliche subjektive und objektive Befundverbesserung durch die Therapie mit HYLO® GEL als postoperatives Befeuchtungsmittel auf dem Transplantat nachgewiesen [81].

Bei Comfort Shield® handelt es sich um ein unkonserviertes und phosphathaltiges Tränenersatzmittel mit einer sehr langkettigen Hyaluronsäure (Hylan A) in einer Konzentration von 0,15%. In einer Studie von Beck et al. wurde die Therapie des trockenen Auges durch AS mit der alleinigen Therapie von Comfort Shield® verglichen [10]. Die insgesamt 4 Patienten der Comfort Shield®-Gruppe zeigten durch eine 8-wöchige Therapie keine signifikante Befundverschlechterung im Vergleich zur AS-Gruppe, weshalb Comfort Shield® laut den Autoren eine effektive Alternative zu AS in der Therapie des trockenen Auges darstellen würde [10].

Die Ergebnisse dieser Studie ergaben einen signifikant höheren Therapieerfolg durch die Anwendung von HYLO® GEL im Vergleich zu Comfort Shield®. In einigen Tränenersatzmitteln – wie auch Comfort Shield® – wird Phosphat als Puffersubstanz zur Stabilisierung des pH-Werts verwendet [81]. In Studien konnte gezeigt werden, dass die Anwendung von phosphathaltigen Augentropfen, insbesondere bei Epitheldefekten, zu kornealen Kalzifikationen führen kann [9,11]. Womöglich begünstigt eine erhöhte Ca^{2+} -Ionenkonzentration, welche auch im Rahmen von Epitheldefekten vorliegen kann, die Bindung von Phosphat und somit die Ausbildung von Calciumphosphat-Kristallen [11,81]. Hierbei hat HYLO® GEL durch seine phosphatfreie Zubereitung einen Vorteil gegenüber Comfort Shield®. In einer Studie von Anderson et al. zeigte sich zudem ein erhöhtes korneales Kalzifikationsrisiko der HH nach einer AMT unter Verwendung eines phosphathaltigen Hyaluronsäurepräparates [9]. Auch in dieser Studie zeigte insbesondere die Kombination aus Comfort Shield® und einer AMT signifikant schlechtere Therapieerfolge.

Fraglich ist zudem, ob die unterschiedlichen Konzentrationen, Molekülstrukturen oder Kettenlängen der Hyaluronsäure einen Einfluss auf den Erfolg der Therapie geliefert haben.

Diskussion

Camillieri et al. verglichen den Einfluss verschiedener Konzentrationen und Molekulargewichte der Hyaluronsäure auf die epitheliale Wundheilung und fanden eine dosisabhängige Steigerung des heilungsfördernden Effekts mit einer maximalen Wirkung bei 0,2%iger Hyaluronsäure [16]. Eine weitere Steigerung der Dosis auf 0,4% zeigte keine Verbesserung [16]. Zudem schien eine hochmolekulare Hyaluronsäure im Vergleich zu einer niedermolekularen Hyaluronsäure bessere Ergebnisse zu erzielen, innerhalb der hochmolekularen Hyaluronsäuren (800-2600 kDa) zeigte sich jedoch kein Unterschied [16]. HYLO® GEL besitzt mit einer 0,2%igen Konzentration eine noch visköser Konsistenz und höhere Konzentration an Hyaluronsäure als Comfort Shield® mit 0,15%. Dies könnte eventuell ebenfalls den Therapieerfolg beeinflusst haben [16].

Es liegen in der Literatur aktuell noch keine Studien vor, die den Therapieerfolg der Anwendung von HYLO® GEL und Comfort Shield® miteinander verglichen haben. Angesichts der Beobachtungen dieser Studie ist die Anwendung von AS im Wechsel mit HYLO® GEL – insbesondere bei einer simultanen AMT – der Anwendung von AS im Wechsel mit Comfort Shield® bei therapieresistenten Hornhautepitheldefekten vorzuziehen.

6.6 Einfluss der Grunderkrankung

In der vorliegenden Studie bildeten neurotrophe Ursachen (37,5%) und Infektionen (29,5%) die häufigsten Ätiologien der therapieresistenten Epitheldefekte. Einen kleineren Anteil nahmen Patienten mit Hornhautdystrophien (12,0%), Traumata (11,4%) und kongenitaler Aniridie (9,6%) ein. Bemerkenswert ist dennoch die relativ hohe Anzahl von insgesamt 74 Behandlungen an Patienten mit kongenitaler Aniridie, da es sich hierbei um eine sehr seltene hereditäre Erkrankung mit einer Inzidenz von 1:64.000 bis 1:100.000 handelt [102]. Auch die heterogenen Gruppen an Hornhautdystrophien mit individuell unterschiedlichen Prävalenzen gelten insgesamt als seltene hereditäre Erkrankungen der HH [52].

Die Untersuchungen der Studie zeigten ein gutes Ansprechen der Therapie mit AS bei Patienten mit Hornhautdystrophien, neurotrophen Ursachen und Infektionen, auch wenn sich bei Patienten mit neurotropher Keratopathie und (viralen) Infektionen vermehrt Ulzerationen zeigten. Während Patienten mit Traumata mit 81,2% eine hohe Epithelschlussrate aufwiesen, zeigten sie gleichzeitig eine sehr hohe Rezidivrate (46,4%). Der vergleichsweise geringste

Diskussion

Therapieerfolg ergab sich bei Patienten mit kongenitaler Aniridie. Hier lag die Epithelschlussrate bei 57,9% und die Rezidivrate bei 42,1% [125].

Die kongenitale Aniridie ist meistens ausgelöst durch eine heterozygote Mutation des PAX6-Gens auf dem Chromosom 11p13 und wird zu zwei Drittel autosomal-dominant vererbt. Neben dem Vorliegen einer beidseitigen Irishypoplasie oder -aplasie sind bei der kongenitalen Aniridie eine Vielzahl an weiteren okulären Strukturen pathologisch betroffen, wie auch die Augenoberfläche mit einer sogenannten Aniridie-assoziierten Keratopathie (AAK) [102]. Die AAK wird ausgelöst durch eine Kombination aus einer Limbusstammzellinsuffizienz und einer Anomalie im Bereich der Stammzellnische, welche sich durch einen abnormalen Metabolismus der extrazellulären Matrix, eine abnormale Epitheldifferenzierung und eine verringerte Zelladhäsion äußert [85]. Sie führt zu einer Konjunktivalisierung, fibrovaskulären Pannusbildung und Reduktion der Nervenfaserdichte der HH sowie zu rezidivierenden Epitheldefekten und mit zunehmendem Stadium zu kornealen Ulzerationen [85,102]. Lagali et al. untersuchten 92 Augen von 46 Patienten mit kongenitaler Aniridie und beobachteten einen Einfluss des Mutationsstatus des PAX6-Gens auf den Phänotyp der AAK [55,56]. Zudem fanden sie unabhängig vom Mutationsstatus bei allen Patienten eine verminderte Hornhautsensibilität, erhöhte Hornhautdicke und verstärkte korneale Invasion dendritischer Zellen [55,56].

In einer Studie von López-García et al. an 26 Augen von 13 Patienten mit kongenitaler Aniridie konnte eine subjektive und objektive Verbesserung der AAK durch die Applikation von AS erwiesen werden [64]. Auch nach PKP, welche bei AAK-Patienten als Hochrisikokeratoplastik eingestuft wird, konnte in einer Studie von Farah et al. die Applikation von unverdünntem 100%igen AS in Kombination mit einer simultanen AMT, Verbandskontaktlinse, temporärer lateraler Tarsorrhaphie und systemischer Immunsuppression eine geringere postoperative Komplikationsrate bewirken [30].

Das AS scheint somit auch bei dieser Patientengruppe hilfreich in der Behandlung von therapieresistenten Epitheldefekten zu sein, wenn auch mit einer limitierten Prognose [125].

6.7 Limitationen der Studie

Die Limitationen der vorgestellten Studie ergaben sich aus dem retrospektiven Design der Studie. Dadurch konnten nicht alle Patienten, die während des Untersuchungszeitraums eine

Diskussion

Therapie mit AS in der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar erhalten haben, in das Studienkollektiv eingeschlossen werden, da teilweise nicht alle Einschlusskriterien erfüllt waren. Somit ergaben sich in manchen Gruppen, wie beispielsweise bei den Gruppen an Grunderkrankungen, verringerte Fallzahlen, welche eventuell zu einer Verzerrung von Ergebnissen geführt haben könnten. Des Weiteren wurde die Therapie mit AS parallel mit weiteren medikamentösen und chirurgischen Therapiemodalitäten angewandt, wie beispielsweise künstlichen Tränenersatzmitteln, einer Verbandskontaktlinse oder einen temporären lateralen Tarsorrhaphie. Demnach konnte der alleinige Effekt des AS auf die epitheliale Wundheilung nicht ausreichend dokumentiert werden. Auch der Versuch den isolierten Effekt des AS im Vergleich zur AMT bzw. der Kombination von beidem aufzuzeigen, erwies Einschränkungen, da keine Randomisierung der Studie vorlag. Hierdurch befanden sich in der AMT-Gruppe nachweislich mehr Patienten mit einem schwerwiegenderen Krankheitsverlauf, was vermutlich zu einer Verzerrung der Ergebnisse geführt hat. Um eine solche Ergebnisverzerrung zu vermeiden, sind zukünftige prospektive randomisierte Studien von großem klinischen Interesse [125].

6.8 Schlussfolgerungen

In der vorliegenden Studie konnte belegt werden, dass die autologen Serumaugentropfen eine effektive Therapieoption in der Behandlung von therapieresistenten Epitheldefekten darstellen. Die Langzeitbeobachtungen der Studie ergaben eine Epithelschlussrate von 73,6% innerhalb 4 Wochen sowie eine Rezidivrate von 27,4% nach vorherigem Epithelschluss.

Das AS ist sowohl bei Erosionen als auch bei tieferen Defekten mit zusätzlichem Defekt der Bowman'schen Lamelle, den Ulzera, mit gutem Erfolg anwendbar und kann womöglich das Fortschreiten eines tiefer liegenden Defekts bis hin zur Perforation verhindern. Bei den Ulzera kann jedoch von einer insgesamt langsameren Heilungsgeschwindigkeit ausgegangen werden. Zudem zeigt das AS auf der transplantierten HH nach PKP eine hohe Erfolgsrate bei gleichzeitig höherer Neigung zur Ausbildung von Rezidiven, vor allem im ersten halben Jahr nach vorherigem Epithelschluss. Es scheint damit eine effektive und prognoseverbessernde Therapieoption bei Epithelheilungsstörungen nach PKP darzustellen, jedoch empfiehlt sich zusätzlich eine konsequente Nachbeobachtung durchzuführen und das AS im Falle eines Rezidivs zügig erneut zu applizieren. Angesichts der Beobachtungen dieser Studie ist bei der Auswahl des im Wechsel mit AS applizierten hyaluronsäurebasierten Tränenersatzmittels das

Diskussion

Präparat HYLO® GEL dem Präparat Comfort Shield® vorzuziehen, da sich in der HYLO® GEL-Gruppe eine vergleichsweise höhere Erfolgsrate zeigte. Das AS ist zudem bei verschiedenen Grunderkrankungen wie den Hornhautdystrophien, der neurotrophen Keratopathie, den Infektionen und Traumata (Verätzungen, Verbrennungen) erfolgreich anwendbar, zeigt jedoch deutliche Limitationen bei der kongenitalen Aniridie. Auch bei indizierter simultaner AMT ist aufgrund der erhöhten Komplexität des zugrunde liegenden Problems mit einer geringeren Erfolgsrate zu rechnen. An dieser Stelle sind randomisierte kontrollierte Studien notwendig, um offene Fragen wie den isolierten Effekt des AS im Vergleich zur AMT bzw. der Kombination aus beidem zu klären.

Zudem wäre es erstrebenswert in randomisierten kontrollierten Studien die optimalen Herstellungsbedingungen, Serumkonzentrationen und Applikationsschemata der autologen Serumaugentropfen zu bestimmen, um die Herstellung und Anwendung der Therapie zukünftig zu standardisieren. Dadurch könnte die Wirksamkeit der autologen Serumaugentropfen in Studien besser bewertet sowie das Outcome der Behandlung insgesamt optimiert werden. Wünschenswert wäre zudem durch weitere Forschungsarbeiten die Zugänglichkeit von autologen Serumaugentropfen für zahlreiche Kliniken zu erhöhen und damit die Verfügbarkeit für eine größere Anzahl an Patienten zu erreichen.

7. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	<i>Histologischer Aufbau der Hornhaut</i>	10
Abbildung 2:	<i>Großflächige Hornhauterosio bei neurotropher Keratopathie, mit Fluoreszein grün angefärbt. a Fluoreszeinfärbung ohne Blaufilter. b Fluoreszeinfärbung mit Blaufilter (eigene Bilder)</i>	14
Abbildung 3:	<i>Hornhautulkus bei Rezidiv einer Herpesinfektion auf der transplantierten Hornhaut, mit Fluoreszein grün angefärbt. a Fluoreszeinfärbung ohne Blaufilter. b Fluoreszeinfärbung mit Blaufilter (eigene Bilder)</i>	15
Abbildung 4:	<i>Persistierende Erosio auf dem Transplantat nach perforierender Keratoplastik, mit Fluoreszein und Blaufilter grün angefärbt (eigenes Bild)</i>	15
Abbildung 5:	<i>Zentraler neuroparalytischer Hornhautulkus. a Fluoreszeinfärbung des Ulkus 1 Tag vor einer Amnionmembrantransplantation (AMT). b 1. Tag postoperativ nach AMT als „Triple Graft-Sandwich“ = 3 Grafts + 1 Patch (eigene Bilder)</i>	25
Abbildung 6:	<i>15-minütige Zentrifugation des Eigenblutes bei 3000 Umdrehungen pro Minute (eigenes Bild)</i>	29
Abbildung 7:	<i>Eigenblut nach abgelaufener Zentrifugation (eigenes Bild)</i>	29
Abbildung 8:	<i>Überführen des autologen Serums mittels einer Transferpipette in ein steriles Einmalgefäß (eigenes Bild)</i>	29
Abbildung 9:	<i>Aufziehen des autologen Serums mit einer 10 ml Luer-Lock-Spritze (eigenes Bild)</i>	30
Abbildung 10:	<i>Aufsetzen eines Einmalfilter mit 0,2 µm Porengröße (eigenes Bild)</i>	30
Abbildung 11:	<i>Abfüllen von 1,5-2 ml des autologen Serums in eine Einmalflasche (eigenes Bild)</i>	31
Abbildung 12:	<i>Vorbereitung der Spritze zum Bubble-Point-Test (eigenes Bild)</i>	31
Abbildung 13:	<i>Durchführung des Bubble-Point-Tests zur Überprüfung des Filters (eigenes Bild)</i>	31
Abbildung 14:	<i>Aufsetzen eines Sano-Tropfers auf eine Einmalflasche (eigenes Bild)</i>	32
Abbildung 15:	<i>Verschluss der Tropfflasche mittels einer Verschlussstanze (eigenes Bild)</i>	32
Abbildung 16:	<i>Beschriftete Tropfflasche mit autologem Serum (eigenes Bild)</i>	32
Abbildung 17:	<i>Ein Ausschnitt aus der Microsoft-Access-Datenbank der Studie</i>	34
Abbildung 18:	<i>Prozentuale Verteilung des Geschlechts</i>	37
Abbildung 19:	<i>Prozentuale Verteilung der Augen (links/rechts)</i>	37
Abbildung 20:	<i>Boxplot zur Darstellung der Altersverteilung in Jahren</i>	37
Abbildung 21:	<i>Prozentuale Verteilung der Art des Epitheldefekts (Erosio/Ulkus)</i>	38
Abbildung 22:	<i>Prozentuale Verteilung der Therapien ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT)</i>	38
Abbildung 23:	<i>Prozentuale Verteilung der Therapien auf der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH)</i> .	38
Abbildung 24:	<i>Prozentuale Verteilung der Tränenersatzmittel (HYLO® GEL/Comfort Shield®)</i>	38
Abbildung 25:	<i>Prozentuale Verteilung der Grunderkrankungen</i>	39
Abbildung 26:	<i>Prozentuale Verteilung der Infektionen</i>	40
Abbildung 27:	<i>Prozentuale Verteilung der Traumata</i>	40

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 28:	<i>Relative Verteilung des Therapieerfolgs der Gesamtpopulation. a Epithelschlussrate 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum. b Rezidivrate unterteilt in Verläufe ohne oder mit mindestens 1 aufgetretenem Rezidiv.....</i>	41
Abbildung 29:	<i>Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum verglichen an Epitheldefekten ohne und mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus). Es besteht kein Unterschied ($p = 0,27$).</i>	42
Abbildung 30:	<i>Kaplan-Meier-Analyse für die Zeit in Tagen bis zum erreichten Epithelschluss verglichen an Epitheldefekten ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus). Die Erosionen zeigen eine signifikant schnellere Heilungstendenz als die Ulzera ($p < 0,001$).....</i>	43
Abbildung 31:	<i>Relative Verteilung der Verwendung einer simultanen Amnionmembrantransplantation (AMT) verglichen an Epitheldefekten ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio/Ulkus). Signifikant häufigere Anwendung einer simultanen AMT bei Ulzera als bei Erosionen ($p < 0,001$).</i>	44
Abbildung 32:	<i>Relative Verteilung der Verwendung einer simultanen Amnionmembrantransplantation (AMT) verglichen an Verläufen ohne oder mit aufgetretenem Rezidiv. Signifikant häufigere Anwendung einer simultanen AMT bei Verläufen mit aufgetretenem Rezidiv als ohne Rezidiv ($p = 0,048$).</i>	45
Abbildung 33:	<i>Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum unterteilt in Therapien ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT). Signifikant höhere Epithelschlussrate ohne simultane AMT als mit simultaner AMT ($p < 0,001$).</i>	45
Abbildung 34:	<i>Kaplan-Meier-Analyse für die Zeit in Tagen bis zum erreichten Epithelschluss unterteilt in 4 Kategorien, je nach Vorliegen eines Epitheldefekts ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus) sowie Behandlungen ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT). Signifikant schnellere Heilungstendenz bei Anwendung des autologen Serums ohne simultane AMT als mit simultaner AMT ($p < 0,001$).....</i>	47
Abbildung 35:	<i>Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum verglichen an der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH). Es besteht kein Unterschied ($p = 0,47$).</i>	48
Abbildung 36:	<i>Relative Verteilung der Rezidivraten unterteilt in Verläufe ohne oder mit aufgetretenem Rezidiv verglichen an der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH). Signifikant höhere Rezidivrate auf der transplantierten HH als auf der eigenen HH ($p = 0,004$).</i>	48
Abbildung 37:	<i>Kaplan-Meier-Analyse für die Zeit in Monaten bis zum Eintritt der Rezidive verglichen an der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH). Signifikant schnelleres Auftreten der Rezidive auf der transplantierten HH als auf der eigenen HH ($p = 0,03$).....</i>	49
Abbildung 38:	<i>Prozentuale Verteilung der Anzahl der aufgetretenen Rezidive im zeitlichen Verlauf verglichen an der eigenen und transplantierten Hornhaut (HH).....</i>	50

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 39:	<i>Relative Verteilung der Epithelschlussraten der zusätzlich verwendeten Tränenersatzmittel (HYLO® GEL vs. Comfort Shield®) 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum. Signifikant höhere Epithelschlussrate bei HYLO® GEL als Comfort Shield® ($p = 0,03$).</i>	51
Abbildung 40:	<i>Relative Verteilung der Rezidivraten der zusätzlich verwendeten Tränenersatzmittel (HYLO® GEL vs. Comfort Shield®) unterteilt in Verläufe ohne oder mit aufgetretenem Rezidiv. Es besteht kein Unterschied ($p = 0,28$).</i>	52
Abbildung 41:	<i>Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum unterteilt in 4 Kategorien, je nach zusätzlich verwendetem Tränenersatzmittel (HYLO® GEL vs. Comfort Shield®) und Behandlungen ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT). Signifikant höhere Epithelschlussrate bei HYLO® GEL ohne AMT und signifikant geringere Epithelschlussraten bei Comfort Shield® mit AMT ($p < 0,001$).</i>	53
Abbildung 42:	<i>Relative Verteilung der Rezidivraten unterteilt in 4 Kategorien, je nach zusätzlich verwendetem Tränenersatzmittel (HYLO® GEL vs. Comfort Shield®) und Behandlungen ohne oder mit simultaner Amnionmembrantransplantation (AMT). Es besteht kein Unterschied zwischen den Gruppen ($p = 0,66$).</i>	54
Abbildung 43:	<i>Prozentuale Verteilung der Grunderkrankungen unter Separierung der Fälle mit „mehreren Ursachen“</i>	55
Abbildung 44:	<i>Relative Verteilung der Epithelschlussraten 4 Wochen nach Beginn der Therapie mit autologem Serum unterteilt nach Grunderkrankung. Signifikant geringere Epithelschlussrate bei kongenitaler Aniridie und höhere Epithelschlussraten bei Hornhautdystrophien und Traumata ($p = 0,02$).</i>	56
Abbildung 45:	<i>Relative Verteilung der Rezidivraten unterteilt nach Grunderkrankung. Signifikant höhere Rezidivraten bei Traumata und kongenitaler Aniridie und geringere Rezidivraten bei Hornhautdystrophien ($p < 0,001$).</i>	57
Abbildung 46:	<i>Relative Verteilung des Vorkommens der Epitheldefekte ohne oder mit Defekt der Bowman'schen Lamelle (Erosio vs. Ulkus) bezogen auf die einzelnen Grunderkrankungen. a Infektionen: Signifikant mehr Ulzera als Erosionen ($p < 0,001$). b Virale Infektionen: Signifikant mehr Ulzera als Erosionen ($p < 0,001$). c Neurotrophe Ursachen: Signifikant mehr Ulzera als Erosionen ($p = 0,002$). d Kongenitale Aniridie: Signifikant mehr Erosionen als Ulzera ($p = 0,001$). e Hornhautdystrophien: Signifikant mehr Erosionen als Ulzera ($p = 0,03$). f Traumata: Es besteht kein Unterschied ($p = 0,88$).</i>	58

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	<i>Vergleich der Konzentrationen der Hauptkomponenten des Serums und der Tränenflüssigkeit [37,44].....</i>	<i>20</i>
Tabelle 2:	<i>Absolute und relative Häufigkeitsverteilung der Grunderkrankungen.....</i>	<i>39</i>
Tabelle 3:	<i>Absolute und relative Häufigkeitsverteilung der Grunderkrankungen unter Separierung der Fälle mit „mehreren Ursachen“</i>	<i>55</i>

9. Literaturverzeichnis

1. Abedi F, Hamrah P (2018) Corneal subbasal nerve recovery in an acute case of ultraviolet keratitis treated with autologous serum eye drops. *J Ophthalmol* 2018:4905487
2. Aggarwal S, Kheirkhah A, Cavalcanti BM, Cruzat A, Colon C, Brown E, Borsook D, Prüss H, Hamrah P (2015) Autologous serum tears for treatment of photoallodynia in patients with corneal neuropathy: Efficacy and evaluation with in vivo confocal microscopy. *Ocul Surf* 13:250–262
3. Aggarwal S, Colon C, Kheirkhah A, Hamrah P (2019) Efficacy of autologous serum tears for treatment of neuropathic corneal pain. *Ocul Surf* 17:532–539
4. Akagun N, Ozer P, Gazyagci S (2020) Rapid healing of a persistent corneal epithelial defect (PCED) with autologous serum treatment. *Niger J Clin Pract* 23:123–124
5. Akyol-Salman I (2006) Effects of autologous serum eye drops on corneal wound healing after superficial keratectomy in rabbits. *Cornea* 25:1178–1181
6. Al-Aqaba MA, Dhillon VK, Mohammed I, Said DG, Dua HS (2019) Corneal nerves in health and disease. *Prog Retin Eye Res* 73:100762
7. Al-Hinai AS (2017) Corneal epithelial defect after pars plana vitrectomy. *Oman J Ophthalmol* 10:162–166
8. Alder J, Mertsch S, Menzel-Severing J, Geerling G (2019) Aktuelle und experimentelle Therapieansätze bei neurotropher Keratopathie. *Ophthalmologie* 116:127–137
9. Anderson SB, Ferreira De Souza R, Hofmann-Rummelt C, Seitz B (2003) Corneal calcification after amniotic membrane transplantation. *Br J Ophthalmol* 87:587–591
10. Beck R, Stachs O, Koschmieder A, Mueller-Lierheim WGK, Peschel S, van Setten G-B (2020) Hyaluronsäure- als Alternative zu Eigenserum-Augentropfen: Erste klinische Ergebnisse zu Augentropfen mit langkettiger Hyaluronsäure. *Kompass Ophthalmol* 6:104–110
11. Bernauer W, Thiel MA, Kurrer M, Heiligenhaus A, Rentsch KM, Schmitt A, Heinz C, Yanar A (2006) Corneal calcification following intensified treatment with sodium

- hyaluronate artificial tears. *Br J Ophthalmol* 90:285–288
12. Bonini S, Rama P, Olzi D, Lambiase A (2003) Neurotrophic keratitis. *Eye* 17:989–995
 13. Bonini S, Lambiase A, Rama P, Sinigaglia F, Allegretti M, Chao W, Mantelli F (2018) Phase II randomized, double-masked, vehicle-controlled trial of recombinant human nerve growth factor for neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 125:1332–1343
 14. Borderie VM, Touzeau O, Bourcier T, Allouch C, Laroche L (2006) Graft reepithelialization after penetrating keratoplasty using organ-cultured donor tissue. *Ophthalmology* 113:2181–2186
 15. Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO (1997) Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38:779–782
 16. Camillieri G, Bucolo C, Rossi S, Drago F (2004) Hyaluronan-induced stimulation of corneal wound healing is a pure pharmacological effect. *J Ocul Pharmacol Ther* 20:548–553
 17. Chen HJ, Pires RTF, Tseng SCG (2000) Amniotic membrane transplantation for severe neurotrophic corneal ulcers. *Br J Ophthalmol* 84:826–833
 18. Chen YM, Hu FR, Huang JY, Shen EP, Tsai TY, Chen WL (2010) The effect of topical autologous serum on graft re-epithelialization after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 150:352–359
 19. Cho YK, Huang W, Kim GY, Lim BS (2013) Comparison of autologous serum eye drops with different diluents. *Curr Eye Res* 38:9–17
 20. Cursiefen C, Seitz B, Kruse FE (2005) Neurotrophe Keratopathie. Pathogenese, Klinik und Diagnostik. *Ophthalmologe* 102:7–14
 21. Darwish T, Brahma A, Efron N, O'Donnell C (2007) Subbasal nerve regeneration after penetrating keratoplasty. *Cornea* 26:935–940
 22. De Oliveira RC, Wilson SE (2020) Descemet's membrane development, structure, function and regeneration. *Exp Eye Res* 197:108090
 23. DelMonte DW, Kim T (2011) Anatomy and physiology of the cornea. *J Cataract Refract Surg* 37:588–598
 24. Diaz-Valle D, Burgos-Blasco B, Gegundez-Fernandez JA, Garcia-Caride S, Puebla-

- Garcia V, Peña-Urbina P, Benitez-del-Castillo JM (2021) Topical insulin for refractory persistent corneal epithelial defects. *Eur J Ophthalmol* 31:2280–2286
25. Diaz-Valle D, Burgos-Blasco B, Rego-Lorca D, Puebla-Garcia V, Perez-Garcia P, Benitez-del-Castillo JM, Herrero-Vanrell R, Vicario-de-la-Torre M, Gegundez-Fernandez JA (2022) Comparison of the efficacy of topical insulin with autologous serum eye drops in persistent epithelial defects of the cornea. *Acta Ophthalmol* 100:912–919
 26. Dietrich T, Weisbach V, Seitz B, Jacobi C, Kruse FE, Eckstein R, Cursiefen C (2008) Herstellung von Eigenserumaugentropfen zur ambulanten Therapie. Kooperation von Augenklinik und transfusionsmedizinischer Abteilung. *Ophthalmologe* 105:1036–1042
 27. Dua HS, Faraj LA, Said DG, Gray T, Lowe J (2013) Human corneal anatomy redefined: a novel pre-Descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology* 120:1778–1785
 28. Ebner S, You L, Völcker HE, Kruse FE (2001) Effekt von autologem Serum auf die Heilung nicht-infektiöser Hornhautulcera und Expression von Wachstumsfaktor-Rezeptoren in der Kornea. *Ophthalmologe* 98:27
 29. Fai S, Ahem A, Mustapha M, Mohd Noh UK, Bastion MLC (2017) Randomized controlled trial of topical insulin for healing corneal epithelial defects induced during vitreoretinal surgery in diabetics. *Asia-Pacific J Ophthalmol* 6:418–424
 30. Farah CJ, Fries FN, Latta L, Käsmann-Kellner B, Seitz B (2021) An attempt to optimize the outcome of penetrating keratoplasty in congenital aniridia-associated keratopathy (AAK). *Int Ophthalmol* 41:4091–4098
 31. Feizi S, Jafarinasab MR, Karimian F, Hasanpour H, Masudi A (2014) Central and peripheral corneal thickness measurement in normal and keratoconic eyes using three corneal pachymeters. *J Ophthalmic Vis Res* 9:296–304
 32. Ferreira de Souza R, Kruse FE, Seitz B (2001) Autologes Serum bei sonst therapieresistenten Hornhautepitheldefekten - Prospektive Studie an den ersten 70 Augen. *Klin Monbl Augenheilkd* 218:720–726
 33. Ferreira de Souza R, Hofmann-Rummelt C, Kruse FE, Seitz B (2001) Mehrlagige Amnionmembran-Transplantation bei therapieresistentem Hornhautulkus - eine prospektive Studie des Zustandes von Hornhaut und Amnionmembran im Verlauf. *Klin*

- Monbl Augenheilkd 218:528–534
34. Fox RI, Chan R, Michelson JB, Belmont JB, Michelson PE (1984) Beneficial effect of artificial tears made with autologous serum in patients with keratoconjunctivitis sicca. *Arthritis Rheum* 27:459–461
 35. García-Posadas L, Contreras-Ruiz L, López-García A, Villarón Álvarez S, Maldonado MJ, Diebold Y (2012) Hyaluronan receptors in the human ocular surface: A descriptive and comparative study of RHAMM and CD44 in tissues, cell lines and freshly collected samples. *Histochem Cell Biol* 137:165–176
 36. Geerling G, Daniels JT, Dart JK, Cree IA, Khaw PT (2001) Toxicity of natural tear substitutes in a fully defined culture model of human corneal epithelial cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 42:948–956
 37. Geerling G, Hartwig D (2002) Autologe Serum-Augentropfen zur Therapie der Augenoberfläche. Eine Übersicht zur Wirksamkeit und Empfehlungen zur Anwendung. *Ophthalmologie* 99:949–959
 38. Geerling G, Unterlauff JD, Kasper K, Schrader S, Opitz A, Hartwig D (2008) Eigenserum und alternative Blutprodukte zur Behandlung von Augenoberflächenerkrankungen. *Ophthalmologie* 105:623–631
 39. Geerling G, Grus F, Seitz B, Hartwig D, Schirra F (2008) Arzneimittelrechtliche Erlaubnis bei der Herstellung von Serum-Augentropfen. Wann ist sie erforderlich und wie kann sie umgesetzt werden? *Ophthalmologie* 105:632–638
 40. Grehn F (2012) *Augenheilkunde*. 31. edition. Springer, Berlin, Heidelberg
 41. Hanna C, Bicknell DS, O'brien JE (1961) Cell turnover in the adult human eye. *Arch Ophthalmol* 65:695–698
 42. Herminghaus P, Geerling G, Hartwig D, Wedel T, Dibbelt L (2004) Epitheliotrophe Kapazität von Serum- und Plasmaaugentropfen. Einfluss der Zentrifugation. *Ophthalmologie* 101:998–1005
 43. Higuchi A, Ueno R, Shimmura S, Suematsu M, Dogru M, Tsubota K (2007) Albumin rescues ocular epithelial cells from cell death in dry eye. *Curr Eye Res* 32:83–88
 44. Higuchi A (2018) Autologous serum and serum components. *Invest Ophthalmol Vis Sci*

- 59:121–129
45. Hollingsworth JG, Efron N, Tullo AB (2006) A longitudinal case series investigating cellular changes to the transplanted cornea using confocal microscopy. *Cont Lens Anterior Eye* 29:135–141
 46. Hossain P (2012) The corneal melting point. *Eye* 26:1029–1030
 47. Jeng BH, Dupps WJ (2009) Autologous serum 50% eyedrops in the treatment of persistent corneal epithelial defects. *Cornea* 28:1104–1108
 48. Kamble N, Sharma N, Maharana PK, Bandivadekar P, Nagpal R, Agarwal T, Velpandian T, Mittal S, Vajpayee RB (2017) Evaluation of the role of umbilical cord serum and autologous serum therapy in reepithelialization after keratoplasty: A randomized controlled clinical trial. *Eye Contact Lens* 43:324–329
 49. Kasper K, Godenschweger L, Hartwig D, Unterlauff JD, Seitz B, Geerling G (2008) Zum Stand der Anwendung von Eigenserum-Augentropfen in Deutschland. Ergebnisse einer Umfrage unter den Mitgliedern der Sektion Kornea in der DOG. *Ophthalmologie* 105:644–649
 50. Khokhar S, Natung T, Sony P, Sharma N, Agarwal N, Vajpayee RB (2005) Amniotic membrane transplantation in refractory neurotrophic corneal ulcers: a randomized, controlled clinical trial. *Cornea* 24:654–660
 51. Kim KM, Shin YT, Kim HK (2012) Effect of autologous platelet-rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. *Jpn J Ophthalmol* 56:544–550
 52. Klintworth GK (2009) Corneal dystrophies. *Orphanet J Rare Dis* 4:1–38
 53. Kotomin I, Valtink M, Hofmann K, Frenzel A, Morawietz H, Werner C, Funk RHW, Engelmann K (2015) Sutureless fixation of amniotic membrane for therapy of ocular surface disorders. *PLoS One* 10:0125035
 54. Kruse FE, Rohrschneider K, Völcker HE (1999) Multilayer amniotic membrane transplantation for reconstruction of deep corneal ulcers. *Ophthalmology* 106:1504–1511
 55. Lagali N, Wowra B, Fries FN, Latta L, Moslemani K, Utheim TP, Wylegala E, Seitz B,

- Käsmann-Kellner B (2020) PAX6 mutational status determines aniridia-associated keratopathy phenotype. *Ophthalmology* 127:273–275
56. Lagali N, Wowra B, Fries FN, Latta L, Moslemani K, Utheim TP, Wylegala E, Seitz B, Käsmann-Kellner B (2020) Early phenotypic features of aniridia-associated keratopathy and association with PAX6 coding mutations. *Ocul Surf* 18:130–140
57. Lagnado R, King AJ, Donald F, Dua HS (2004) A protocol for low contamination risk of autologous serum drops in the management of ocular surface disorders. *Br J Ophthalmol* 88:464–465
58. Lambiase A, Manni L, Rama P, Bonini S (2003) Clinical application of nerve growth factor on human corneal ulcer. *Arch Ital Biol* 141:141–148
59. Laurent TC, Laurent UBG, Fraser JR (1995) Functions of hyaluronan. *Ann Rheum Dis* 54:429–432
60. Lekhanont K, Jongkhajornpong P, Choubtum L, Chuckpaiwong V (2013) Topical 100% serum eye drops for treating corneal epithelial defect after ocular surgery. *Biomed Res Int* 2013:521315
61. Liu J, Li L, Li X (2019) Effectiveness of cryopreserved amniotic membrane transplantation in corneal ulceration: A meta-analysis. *Cornea* 38:454–462
62. Liu L, Hartwig D, Harloff S, Herminghaus P, Wedel T, Geerling G (2005) An optimised protocol for the production of autologous serum eyedrops. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 243:706–714
63. Ljubimov AV, Saghizadeh M (2015) Progress in corneal wound healing. *Prog Retin Eye Res* 49:17–45
64. Lõpez-García JS, Rivas L, García-Lozano I, Murube J (2008) Autologous serum eyedrops in the treatment of aniridic keratopathy. *Ophthalmology* 115:262–267
65. Lõpez-García JS, García-Lozano I, Rivas L, Ramírez N, Raposo R, Méndez MT (2014) Autologous serum eye drops diluted with sodium hyaluronate: clinical and experimental comparative study. *Acta Ophthalmol* 92:22–29
66. Lu L, Reinach PS, Winston WYK (2001) Corneal epithelial wound healing. *Exp Biol Med* 226:653–664

67. Marchand M, Harissi-Dagher M, Germain M, Thompson P, Robert MC (2018) Serum drops for ocular surface disease: national survey of Canadian cornea specialists. *Can J Ophthalmol* 53:266–271
68. Marks DC, van der Meer PF (2017) Serum eye drops: a survey of international production methods. *Vox Sang* 112:310–317
69. McCulley JP, Horowitz B, Hussein ZM, Horowitz M, Sheets JH, Odrich M, Feldman ST, Smith RE, Tauber J, Bowman W, O'Day DM, Forster R (1993) Topical fibronectin therapy of persistent corneal epithelial defects. Fibronectin study group. *Trans Am Ophthalmol Soc* 91:367–390
70. McDonald CC, Kaye SB, Figueiredo FC, Macintosh G, Lockett C (2002) A randomised, crossover, multicentre study to compare the performance of 0.1% (w/v) sodium hyaluronate with 1.4% (w/v) polyvinyl alcohol in the alleviation of symptoms associated with dry eye syndrome. *Eye* 16:601–607
71. Merté RL, Lanzl IM (2007) Botulinumtoxin-Injektionen zur Erzeugung einer Ptosis. *Ophthalmologie* 104:767–770
72. Niederer RL, Perumal D, Sherwin T, McGhee CNJ (2007) Corneal innervation and cellular changes after corneal transplantation: an in vivo confocal microscopy study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 48:621–626
73. Nishida T, Ohashi Y, Manabe R, Awata T (1983) Fibronectin. A new therapy for corneal trophic ulcer. *Arch Ophthalmol* 101:1046–1048
74. Nishida T, Nakamura M, Mishima H, Otori T (1991) Hyaluronan stimulates corneal epithelial migration. *Exp Eye Res* 53:753–758
75. Nishida T, Chikama TI, Morishige N, Yanai R, Yamada N, Saito J (2007) Persistent epithelial defects due to neurotrophic keratopathy treated with a substance p-derived peptide and insulin-like growth factor 1. *Jpn J Ophthalmol* 51:442–447
76. Ogawa Y, Okamoto S, Mori T, Yamada M, Mashima Y, Watanabe R, Kuwana M, Tsubota K, Ikeda Y, Oguchi Y (2003) Autologous serum eye drops for the treatment of severe dry eye in patients with chronic graft-versus-host disease. *Bone Marrow Transplant* 31:579–583
77. Oliveira-Soto L, Efron N (2001) Morphology of corneal nerves using confocal

- microscopy. *Cornea* 20:374–384
78. Oostra TD, Mauger TF (2020) Conjunctival flaps: a case series and review of the literature. *Eye Contact Lens* 46:70–73
79. Özbek-Uzman S, Yalnız-Akkaya Z, Şingar Özdemir E, Burcu A (2021) Treatment of persistent epithelial defects with single-dose autologous serum eye drops. *Eur J Ophthalmol* 32:2159–2165
80. Patel SV, Erie JC, McLaren JW, Bourne WM (2007) Keratocyte density and recovery of subbasal nerves after penetrating keratoplasty and in late endothelial failure. *Arch Ophthalmol* 125:1693–1698
81. Pattmöller M, Szentmáry N, Eppig T, Groß D, Seitz B (2018) Verträglichkeit von Hyaluronsäure zur Oberflächenpflege nach perforierender Keratoplastik. *Klin Monbl Augenheilkd* 235:64–72
82. Petrescu V, Radojska S, Tahmaz V, Steven P, Störmer M, Cursiefen C, Gathof BS (2014) Besonderheiten der Herstellung von autologen Serum-Augentropfen. *Transfusionsmedizin* 4:139–142
83. Poon AC, Geerling G, Dart JKG, Fraenkel GE, Daniels JT (2001) Autologous serum eyedrops for dry eyes and epithelial defects: clinical and in vitro toxicity studies. *Br J Ophthalmol* 85:1188–1197
84. Ralph RA, Doane MG, Dohlman CH (1975) Clinical experience with a mobile ocular perfusion pump. *Arch Ophthalmol* 93:1039–1043
85. Ramaesh K, Ramaesh T, Dutton GN, Dhillon B (2005) Evolving concepts on the pathogenic mechanisms of aniridia related keratopathy. *Int J Biochem Cell Biol* 37:547–557
86. Rauz S, Koay SY, Foot B, Kaye SB, Figueiredo F, Burdon MA, Dancey E, Chandrasekar A, Lomas R (2018) The Royal College of Ophthalmologists guidelines on serum eye drops for the treatment of severe ocular surface disease: executive summary. *Eye* 32:44–48
87. Richter A, Slowik C, Somodi S, Vick HP, Guthoff R (1996) Corneal reinnervation following penetrating keratoplasty – correlation of esthesiometry and confocal microscopy. *Ger J Ophthalmol* 5:513–517

88. Rocha EM, Pelegrino F, De Paiva CS, Vigorito AC, De Souza CA (2000) GVHD dry eyes treated with autologous serum tears. *Bone Marrow Transplant* 25:1101–1103
89. Saad S, Abdelmassih Y, Saad R, Guindolet D, Khoury SE, Doan S, Cochereau I, Gabison EE (2020) Neurotrophic keratitis: Frequency, etiologies, clinical management and outcomes. *Ocul Surf* 18:231–236
90. Sacchetti M, Lambiase A (2017) Neurotrophic factors and corneal nerve regeneration. *Neural Regen Res* 12:1220–1224
91. Sauer R, Blüthner K, Seitz B (2004) Sterilitätskontrolle von unkonservierten Eigenserumtropfen bei therapieresistenten Hornhautepitheldefekten. Eine prospektive Studie. *Ophthalmologie* 101:705–709
92. Schanzlin DJ, Rao NA (1988) Immunoglobulin deposition in the cornea after application of autologous serum. *Arch Ophthalmol* 106:1423–1425
93. Schargus M, Kohlhaas M, Unterlauff JD (2015) Treatment of severe ocular surface disorders with albumin eye drops. *J Ocul Pharmacol Ther* 31:291–295
94. Schuerch K, Baeriswyl A, Frueh BE, Tappeiner C (2020) Efficacy of amniotic membrane transplantation for the treatment of corneal ulcers. *Cornea* 39:479–483
95. Seitz B, Hayashi S, Wee WR, LaBree L, McDonnell PJ (1996) In vitro effects of aminoglycosides and fluoroquinolones on keratocytes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37:656–65
96. Seitz B, Sorken K, LaBree LD, Garbus JJ, McDonnell PJ (1996) Corneal sensitivity and burning sensation. Comparing topical ketorolac and diclofenac. *Arch Ophthalmol* 114:921–924
97. Seitz B, Langenbacher A, Hafner A, Kus MM, Naumann GOH (2002) Phototherapeutische Keratektomie bei rezidivierender Erosio corneae (e-PTK). Bericht über 116 konsekutive Eingriffe. *Ophthalmologie* 99:703–708
98. Seitz B, Grüterich M, Cursiefen C, Kruse FE (2005) Konservative und chirurgische Therapie der neurotrophen Keratopathie. *Ophthalmologie* 102:15–26
99. Seitz B (2007) Amnionmembrantransplantation. Eine unverzichtbare Therapieoption bei persistierenden kornealen Epitheldefekten. *Ophthalmologie* 104:1075–1079

100. Seitz B, Das S, Sauer R, Mena D, Hofmann-Rummelt C (2009) Amniotic membrane transplantation for persistent corneal epithelial defects in eyes after penetrating keratoplasty. *Eye* 23:840–848
101. Seitz B, Das S, Sauer R, Hofmann-Rummelt C, Beckmann MW, Kruse FE (2011) Simultaneous amniotic membrane patch in high-risk keratoplasty. *Cornea* 30:269–272
102. Seitz B, Käsmann-Kellner B, Viestenz A (2014) Stadiengerechte Therapie der kongenitalen Aniridie. *Ophthalmologie* 111:1164–1171
103. Semeraro F, Forbice E, Braga O, Bova A, Di Salvatore A, Azzolini C (2014) Evaluation of the efficacy of 50% autologous serum eye drops in different ocular surface pathologies. *Biomed Res Int* 2014:826970
104. Sheha H, Tighe S, Hashem O, Hayashida Y (2019) Update on cenegermin eye drops in the treatment of neurotrophic keratitis. *Clin Ophthalmol* 13:1973–1980
105. Shtein RM, Shen JF, Kuo AN, Hammersmith KM, Li JY, Weikert MP (2020) Autologous serum-based eye drops for treatment of ocular surface disease: A report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology* 127:128–133
106. Singh P, Tyagi M, Kumar Y, Gupta K, Sharma P (2013) Ocular chemical injuries and their management. *Oman J Ophthalmol* 6:83–86
107. Soni NG, Jeng BH (2016) Blood-derived topical therapy for ocular surface diseases. *Br J Ophthalmol* 100:22–27
108. Sridhar MS (2018) Anatomy of cornea and ocular surface. *Indian J Ophthalmol* 66:190–194
109. Stachon T, Wu MF, Bischoff M, Huber M, Langenbacher A, Seitz B, Szentmáry N (2017) Amnionmembransuspension und autologes Serum – spielt der Inhalt eine Rolle für die Wundheilung? *Klin Monbl Augenheilkd* 234:1015–1018
110. Stachs O, Zhivov A, Kraak R, Hovakimyan M, Wree A, Guthoff R (2010) Structural-functional correlations of corneal innervation after LASIK and penetrating keratoplasty. *J Refract Surg* 26:148–152
111. Stenwall PA, Bergström M, Seiron P, Sellberg F, Olsson T, Knutson F, Berglund D (2015) Improving the anti-inflammatory effect of serum eye drops using allogeneic

- serum permissive for regulatory T cell induction. *Acta Ophthalmol* 93:654–657
112. Szentmáry N, Stachon T, Wu MF, Bischoff M, Huber M, Langenbucher A, Seitz B (2018) Wachstumsfaktorenkonzentration im Kulturüberstand von Keratozyten mit humanem Serum in vitro. *Klin Monbl Augenheilkd* 235:840–845
 113. Tahmaz V, Radojska S, Cursiefen C, Gathof B, Steven P (2017) SOP Autologe Serumaugentropfen – Indikation, Herstellung, Anwendung. *Augenheilkd up2date* 7:10–14
 114. Tananuvat N, Daniell M, Sullivan LJ, Yi Q, McKelvie P, McCarty DJ, Taylor HR (2001) Controlled study of the use of autologous serum in dry eye patients. *Cornea* 20:802–806
 115. Than J, Balal S, Wawrzynski J, Nesaratnam N, Saleh GM, Moore J, Patel A, Shah S, Sharma B, Kumar B, Smith J, Sharma A (2017) Fingerprick autologous blood: a novel treatment for dry eye syndrome. *Eye* 31:1655–1663
 116. Tiffany J (2008) The normal tear film. *Dev Ophthalmol* 41:1–20
 117. Tsai RJF, Li LM, Chen JK (2000) Reconstruction of damaged corneas by transplantation of autologous limbal epithelial cells. *N Engl J Med* 343:86–93
 118. Tsubota K, Goto E, Fujita H, Ono M, Inoue H, Saito I, Shimmura S (1999) Treatment of dry eye by autologous serum application in Sjögren's syndrome. *Br J Ophthalmol* 83:390–395
 119. Tsubota K, Goto E, Shimmura S, Shimazaki J (1999) Treatment of persistent corneal epithelial defect by autologous serum application. *Ophthalmology* 106:1984–1989
 120. Turkoglu E, Celik E, Alagoz G (2014) A comparison of the efficacy of autologous serum eye drops with amniotic membrane transplantation in neurotrophic keratitis. *Semin Ophthalmol* 29:119–126
 121. Vaidyanathan U, Hopping GC, Liu HY, Somani AN, Ronquillo YC, Hoopes PC, Moshirfar M (2019) Persistent corneal epithelial defects: A review article. *Med Hypothesis, Discov Innov Ophthalmol* 8:163–176
 122. von Hofsten J, Egardt M, Zetterberg M (2016) The use of autologous serum for the treatment of ocular surface disease at a Swedish tertiary referral center. *Int Med Case Rep J* 9:47–54

123. Walkden A (2020) Amniotic membrane transplantation in ophthalmology: An updated perspective. *Clin Ophthalmol* 14:2057–2072
124. Weisbach V, Dietrich T, Kruse FE, Eckstein R, Cursiefen C (2007) HIV and hepatitis B/C infections in patients donating blood for use as autologous serum eye drops. *Br J Ophthalmol* 91:1724–1725
125. Weischnur L, Xanthopoulou K, Munteanu C, Leonhard M, Daas L, Seitz B (2022) Autologe Serumaugentropfen bei therapieresistenten Epitheldefekten der Kornea. Einfluss der Grunderkrankung und einer simultanen Amnionmembrantransplantation bei 990 Anwendungen. *Ophthalmologie*. <https://doi.org/10.1007/s00347-022-01677-5>
126. Wu CL, Chou HC, Li JM, Chen YW, Chen JH, Chen YH, Chan HL (2013) Hyaluronic acid-dependent protection against alkali-burned human corneal cells. *Electrophoresis* 34:388–396
127. Wu MF, Stachon T, Seitz B, Langenbacher A, Szentmáry N (2017) Effect of human autologous serum and fetal bovine serum on human corneal epithelial cell viability, migration and proliferation in vitro. *Int J Ophthalmol* 10:908–913
128. Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF (1985) Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. *Curr Eye Res* 4:671–678
129. Yu FSX, Yin J, Xu K, Huang J (2010) Growth factors and corneal epithelial wound healing. *Brain Res Bull* 81:229–235

10. Publikationsverzeichnis

1. Weischnur L, Xanthopoulou K, Munteanu C, Leonhard M, Daas L, Seitz B (2022) Autologe Serumaugentropfen bei therapieresistenten Epitheldefekten der Kornea. Einfluss der Grunderkrankung und einer simultanen Amnionmembrantransplantation bei 990 Anwendungen. Ophthalmologie. <https://doi.org/10.1007/s00347-022-01677-5> (Online Vorveröffentlichung, noch nicht gedruckt)
2. Weischnur L, Xanthopoulou K, Munteanu C, Leonhard M, Daas L, Seitz B (2022) Autologe Serumaugentropfen bei therapieresistenten Epitheldefekten der Kornea – Einfluss der Grunderkrankung und einer simultanen Amnionmembrantransplantation bei 990 Anwendungen. Vortrag auf dem 120. DOG-Kongress, Berlin, 29.9.2022

11. Danksagung

Ein großer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Berthold Seitz, ML, FEBO (Direktor der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar) für die Überlassung des Promotionsthemas und die Möglichkeit an der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar zu promovieren. Ich bedanke mich für das entgegengebrachte Vertrauen die Studie durchzuführen, die exzellente wissenschaftliche Betreuung sowie investierte Zeit und Mühe.

Mein besonderer Dank gilt an dieser Stelle meiner Betreuerin Frau Cassandra Xanthopoulou, die mich geduldig und hilfsbereit während meiner gesamten Promotionsphase begleitet hat und damit wesentlich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat. Ich danke für die wertvolle fachliche Unterstützung und das gesamte Engagement.

Zudem danke ich Herrn Cristian Munteanu für seine Bereitschaft und Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Studienergebnisse, ohne den eine Auswertung in einem solchen Ausmaß nicht möglich gewesen wäre.

Ferner möchte ich meinen herzlichen Dank an alle Mitarbeiter der Klinik für Augenheilkunde am UKS in Homburg/Saar aussprechen, die mich während der Datenerhebung, Abfassung der Dissertation sowie bei allen anderen Anliegen zur Promotionsarbeit unterstützt haben.

Zuletzt danke ich meiner Familie, insbesondere meinen Eltern, und Freunden für die liebevolle und motivierende Begleitung während meiner gesamten Promotionsphase und Studienzeit. Ihr ermutigender Beistand hat einen wichtigen Teil zum Erfolg beigetragen. Ein besonderer Dank gebührt meiner Studienfreundin Nicola für die stete Hilfsbereitschaft und das mühevoll Korrekturlesen der Arbeit.

12. Lebenslauf

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