

Aus der Klinik für Augenheilkunde
am Universitätsklinikum des
Saarlandes UKS in Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. B. Seitz

**Nicht-invasive Quantifizierung der Endothelzellichten
vor und nach Transplantation der in toto vorpräparierten
DMEK-Rolle und der Einfluss von prä- und
intraoperativem Zellverlust auf die mittelfristigen,
postoperativen klinischen Ergebnisse**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2023

Von: Kolja Berg

Geboren am: 20.09.1991 in Bonn

Inhaltsverzeichnis

1	Glossar	3
2	Zusammenfassung.....	4
2.1	Zusammenfassung (Deutsche Version).....	4
2.2	Abstract (English version)	6
3	Einleitung.....	8
3.1	Beginn der Descemet Membrane Keratoplasty (DMEK) bis zum Goldstandard	8
3.2	Zunehmende Häufigkeit der DMEK	8
3.3	Aktueller Wissensstand zur DMEK.....	9
3.4	Bedeutung der Hornhautbank	11
3.4.1	Allgemeines	11
3.4.2	Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz.....	11
3.5	Neues Zählverfahren von DMEK-Röllchen nach Präparation	12
3.5.1	Einleitung der Vorversuche.....	12
3.5.2	Material und Methoden der Vorversuche.....	13
3.5.3	Ergebnisse der Vorversuche.....	15
3.5.4	Diskussion der Vorversuche	18
3.6	Endothelialer Zellverlust & DMEK.....	19
3.6.1	Die Crux des endothelialen Zellverlustes	19
3.6.2	Endothelialer Zellverlust bei der Präparation.....	20
3.6.3	Risikofaktoren für hohen endothelialen Zellverlust.....	20
3.7	Endothelzell-Morphologie & DMEK.....	20
3.8	Hornhautdicke/-dichte & DMEK	21
3.8.1	Hornhautdicke	21
3.8.2	Hornhautdichte.....	21
3.9	Unfolding & DMEK	21
3.10	Triple- DMEK vs. DMEK.....	22
3.11	Komplikationen & DMEK	22
3.11.1	Ablösung, Abstoßung und Transplantatversagen	22
3.11.2	Re-Bubbling	23
3.11.3	Re-DMEK.....	23
3.12	Fragestellungen.....	23
4	Patienten & Methoden.....	25
4.1	Studienaufbau.....	25
4.2	Untersuchungsmethoden	26
4.2.1	Präparation	26
4.2.2	Endothelzelldichten-Messung.....	27

4.2.3	Veränderung der Zellmorphologie	28
4.2.4	Erfassung der Densitometrie	28
4.2.5	Erfassung der Pachymetrie	29
4.2.6	Erfassung sonstiger Parameter	29
4.3	Statistische Methoden	30
5	Ergebnisse	31
5.1	Studienkollektiv	31
5.2	EZD/EZV Quantifikation im Follow-up	31
5.3	Endotheliale Zellmorphologie nach DMEK	33
5.4	Densitometrie vor und nach DMEK	34
5.5	Pachymetrie vor und nach DMEK	35
5.5.1	Pentacam	35
5.5.2	Vorderabschnitts-OCT	37
5.6	Visus vor und nach DMEK	38
5.7	Tensio vor und nach DMEK	39
5.8	Einfluss des prä-/perioperativem EZV auf postoperative, klinische Parameter	40
5.9	Einfluss des EZV auf postoperative Zellmorphologie	40
5.10	Einfluss der Präparationsdauer auf EZV bei DMEK	40
5.11	Einfluss der Entfaltungsdauer auf EZV bei DMEK	40
5.12	Triple-DMEK	41
5.13	Postoperative Komplikationen nach DMEK	41
6	Diskussion	43
6.1	EZD/EZV Quantifikation in Etappen	43
6.2	Endotheliale Zellmorphologie nach DMEK	45
6.3	Densitometrie vor und nach DMEK	46
6.4	Pachymetrie vor und nach DMEK	46
6.5	Triple-DMEK	47
6.6	Postoperative Komplikationen nach DMEK	48
6.6.1	Re-Bubbling	48
6.6.2	Schwere postoperative Komplikationen	49
6.7	Fehlerquellen der vorgestellten Studie	49
6.8	Fazit	50
7	Literaturverzeichnis	52
8	Publikationsverzeichnis	60
9	Danksagung	61
10	Lebenslauf	62

1 Glossar

1. CV	Coefficient of Variation
2. DM	Descemet-Membran
3. DMEK	Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty
4. dS	dünnste Stelle
5. DSAEK	Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty
6. DSEK	Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty
7. EZ	Endothelzelle
8. EZD	Endothelzelldichte
9. EZV	Endothelzellverlust
10. EDML	Endotheliale Descemet-Membran Lamelle
11. FECD	Fuchs-Endotheldystrophie
12. HD	Hornhautdicke
13. KSS	Korneoskleralscheibe
14. LKP	Lamelläre Keratoplastik
15. MTA	Medizinisch-technische AssistentIn
16. OCT	Optische Kohärenztomographie/Kohärenztomograph
17. OTA	Operationstechnische AssistentIn
18. PKP	Perforierende Keratoplastik
19. RB	Re-Bubbling
20. SD	Standardabweichung
21. UKS	Universitätsklinikum des Saarlandes

2 Zusammenfassung

2.1 Zusammenfassung (Deutsche Version)

Ziel:

Darstellung des Endothelzellverlustes (EZV), der veränderten Morphologie der Endothelzelle (EZ) im Verlauf einer Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK) von der Präparation der Korneoskleralscheibe (KSS) bis zur postoperativen 1-Jahres-Kontrolle, mit Hilfe einer nicht-invasiven Quantifizierung der Endothelzellichte (EZD) vor und nach Lagerung der *in toto* vorpräparierten endothelialen Descemet-Membran Lamelle (EDML) über Nacht und der Einfluss des prä- und intraoperativen, endothelialen Zellverlustes auf die mittelfristigen klinischen Ergebnisse nach DMEK.

Methodik:

Die EZD von 56 KSS wurden zunächst mit Hilfe eines invertierten Spiegelmikroskops gemessen ($T_{0\text{prä}}$). Die Messung wurde dann nicht-invasiv 3-5 Stunden nach der Präparation der EDML ($T_{0\text{post}}$) wiederholt. Einen Tag nach der Präparation erfolgte die DMEK bzw. Triple-DMEK. Postoperativ wurde die EZD mittels klinischer Spiegelmikroskopie nach 6 Wochen (T1), 6 Monaten (T2) und 1 Jahr (T3) gezählt. Aus der Differenz der erhobenen EZD wurde der EZV der einzelnen Etappen berechnet (EZV 1: Differenz EZD zum Zeitpunkt $T_{0\text{prä}}$ und $T_{0\text{post}}$, EZV 2: Differenz EZD $T_{0\text{post}}$ und T1, EZV 3: Differenz EZD T1 und T2, EZV 4: Differenz EZD T2 und T3). Die Verlustraten in Prozent beziehen sich dabei auf die jeweils unmittelbar vorherige EZD. Zudem wurde der Einfluss des prä- und intraoperativen EZV auf die postoperativen, klinischen Resultate (EZD, Visus und Pachymetrie) untersucht. Außerdem wurden die peri- und postoperativen Entwicklungen der Endothelzell-Morphologie in Form („6A“) und Größe („CV“), der Densitometrie, der Pachymetrie, des Visus und der Tensio dokumentiert. Im Anschluss wurden die Daten retrospektiv und statistisch ausgewertet.

Ergebnisse:

Die mittlere EZD zu den Zeitpunkten $T_{0\text{prä}}$, $T_{0\text{post}}$, T1, T2 und T3 betrug $2584 \pm 200 \text{ Z/mm}^2$, $2355 \pm 207 \text{ Z/mm}^2$, $1366 \pm 345 \text{ Z/mm}^2$, $1091 \pm 564 \text{ Z/mm}^2$ und $939 \pm 352 \text{ Z/mm}^2$. Daraus ergaben sich die mittleren EZV 1 von 229 Z/mm^2 (9%) ($p < 0,001$), EZV 2 von 989 Z/mm^2 (42%) ($p < 0,001$), EZV 3 von 275 Z/mm^2 (20%) ($p = 0,01$) und EZV 4 von 152 Z/mm^2 (14%) ($p = 0,12$). Der EZV 1 hatte keinen signifikanten Einfluss auf die postoperativen Messungen der klinischen Parameter nach 6 Monaten und 1 Jahr ($p > 0,11$). EZV 2 jedoch korrelierte signifikant mit der EZD und der Pachymetrie 1 Jahr postoperativ ($p < 0,02$). Eine signifikante Verkleinerung der EZ („CV“) von T1 zu T2 ($p = 0,001$) und von T1 zu T3 ($p = 0,008$) konnte bei der postoperativen Entwicklung der Zellmorphologie festgestellt werden. In der Densitometrie kam es im zentralen Bereich (0-2mm Radius) der Kornea im Zeitraum $T_{0\text{p}}$ bis T3 zu einem signifikanten Abfall ($p_{\text{total}} = 0,006$; $p_{\text{posterior}} < 0,001$). Peripher (2-6mm

Radius) konnte im gleichen Zeitraum keine signifikante Veränderung erfasst werden ($p_{\text{total}} = 0,255$; $p_{\text{posterior}} = 0,059$). In der Pachymetrie kam es von T0_p zu T3 im zentralen Bereich der Kornea zu einem signifikanten Abfall ($p_{\text{Pentacam0-6mm}} \leq 0,001$; $p_{\text{OCT}} < 0,001$). Einzig peripher (8mm Radius) konnte keine signifikante Änderung erfasst werden ($p = 0,197$). Der Visus (in logMAR) zeigte von T0_p zu T3 eine signifikante Verbesserung von 0,50 zu 0,06 ($p < 0,001$). Die Tensio war von T0_p zu T3 stabil.

Schlussfolgerungen:

Die nicht-invasive Endothelzellzählung ist an gerollten DMEK-Spender-EDML möglich. Allein durch die Präparation ist mit einem Endothelzellverlust von 9% zu rechnen. Auch im Zeitraum 6 Wochen bis 6 Monate postoperativ nahm die EZD weiter signifikant ab, stabilisierte sich jedoch bis zu einem Jahr postoperativ. Trotz eines geringen postoperativen Niveaus der EZD zeigen sich gute visuelle Ergebnisse bei physiologisch stabilem, intraokularem Druck und im Verlauf weiter abnehmender Pachymetrie.

2.2 Abstract (English version)

Purpose:

To present endothelial cell loss (ECL) and the changing morphology of endothelial cells (EC) during DMEK (Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty), from preparation of the corneoscleral donor disc (CDD) to 1-year post-operative control, using a non-invasive quantification of endothelial cell density (ECD) before and after storing of in toto prestripped endothelial Descemet Membrane lamellae (EDML) overnight and the impact of pre- and intraoperative ECL on the midterm clinical outcomes after DMEK.

Methods:

ECD of 56 CDD was first counted with an inverted specular microscope ($t_{0_{pre}}$). Three to five hours after preparation, ECD-count was non-invasively repeated ($t_{0_{post}}$). One day after preparation the implantation within the procedure of DMEK or triple-DMEK took place. Within 6 weeks (t_1), 6 months (t_2) and 1 year (t_3) consecutively controls stated the ECD by means of a clinical, specular microscope. By the difference of the raised data of ECD, ECL was calculated for each step (ECL 1: difference ECD before & after preparation; ECL 2: difference ECD after preparation & 6 weeks control; ECL 3: difference ECD 6 weeks & 6 months control; ECL 4: difference ECD 6 months & 1 year control). The loss rate in percent shows ECL from step to step. Furthermore, the impact of peri- and intraoperative ECL on postoperative, clinical outcomes (ECD, visual acuity and pachymetry) was investigated. In addition the development of peri- and postoperative morphology of EC by means of shape (‘6A’) and size (‘CV’), densitometry, pachymetry, visual acuity (VA) and intraocular pressure (IOP) were documented. Consequently data was statistically and retrospectively evaluated.

Results:

The average ECD at timepoints $t_{0_{pre}}$, t_0 , t_1 , t_2 & t_3 consecutively was 2584 ± 200 c/mm², 2355 ± 207 c/mm², 1366 ± 345 c/mm², 1091 ± 564 c/mm² & 939 ± 352 c/mm². Resulting in average ECL 1 of 229 c/mm² (9%) ($p < 0.001$), ECL 2 of 989 c/mm² (42%) ($p < 0.001$), ECL 3 of 275 c/mm² (20%) ($p = 0.01$) & ECL 4 of 152 c/mm² (14%) ($p = 0.12$). ECL 1 did not have any significant impact on the postoperative clinical outcomes after 6 months and 1 year ($p > 0.11$). However, ECL 2 correlated significantly with ECD and pachymetry 1 year postoperative ($p < 0.02$). A significant downsizing of EC (‘CV’) from t_1 to t_2 ($p = 0.001$) and from t_1 to t_3 ($p = 0.008$) was shown in the postoperative development of cell morphology. In densitometry, central, corneal parts (0-2mm radius) presented a significant decrease in the period of t_0_p to t_3 ($p_{total} = 0.006$; $p_{posterior} < 0.001$). Whereas in the periphery (2-6mm radius) no significant change could be found at the same period of time ($p_{total} = 0.255$; $p_{posterior} = 0.059$). In pachymetry, a significant decrease in central cornea was documented between t_0_p and t_3 ($p_{Pentacam0-6mm} \leq 0.001$; $p_{OCT} < 0.001$). Only peripheral (8mm radius) there was no significant

change ($p = 0.197$). VA (in logMAR) showed a significant improvement from 0.50 to 0.06 ($p < 0.001$) from t_0 to t_3 . IOP presented a stable level from t_0 to t_3 .

Conclusion:

Non-invasive counting of endothelial cells on rolled donor DMEK-EDML is possible. Only by preparation there is an endothelial cell loss of 9%. From 6 weeks to 6 months post-operative ECD continues to decline significantly, only to stabilize up to one-year post-operatively. Despite a rather low level of ECD postoperatively, good visual outcomes with physiologically stable IOP and further decreasing pachymetry during follow-up were found.

3 Einleitung

3.1 Beginn der Descemet Membrane Keratoplasty (DMEK) bis zum Goldstandard

Die Erfolgsgeschichte der Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK) begann im Jahr 2006 in der „Melles Hornhaut-Klinik“ in Rotterdam. Dort gelang es zum ersten Mal, einen 63-jährigen Patienten mittels DMEK zu therapieren. Sein Leiden an einer beidseitigen Fuchs-Endotheldystrophie (FECD) wurde nach einer Phakoemulsifikation zeitversetzt und erfolgreich an beiden Augen mit einer DMEK therapiert.¹ Zehn Jahre nach seinen Eingriffen zeigten sich vielversprechende Ergebnisse. Ein schnelles Wiedererlangen der Sehfähigkeit, keine intra- oder postoperativen Komplikationen und eine Langlebigkeit des Transplantats hatten zu einer hohen Patientenzufriedenheit beigetragen.¹

Erste Ergebnisse von Studien zeigten, dass die DMEK auch im Vergleich zur Descemet Stripping Endothelial Keratoplasty (DSEK) vor allem frühzeitig nach der Operation ein besseres Sehvermögen versprach. Doch die komplexe Operationstechnik, die hohe Rate an iatrogenen Verlusten von Transplantaten und die damit einhergehende Verschwendung, sprachen gegen das Verfahren. Hinzu kam lange das Fehlen von Langzeitdaten.² Andere Studien sind zu diesem Zeitpunkt bereits deutlich optimistischer und nennen erstmals die DMEK als möglichen Goldstandard, besonders um isolierte, endotheliale Erkrankungen der Hornhaut zu behandeln.³

Auch die Multicenter-Studie von Spaniol et al. 2022 in Deutschland bezeichnet die DMEK mittlerweile als den Goldstandard in der Behandlung von reinen endothelialen Erkrankungen der Hornhaut.⁴

3.2 Zunehmende Häufigkeit der DMEK

Die Bedeutung der DMEK als endotheliales Verfahren spiegelte sich auch in den zunehmenden Zahlen der Eingriffe über die Jahre wider.

So stieg nicht nur die Anzahl an Hornhauttransplantationen allgemein im Zeitraum von 2001 bis 2020 stark an. Seit 2014 hatten die lamellären Keratoplastiken die bis dato dominierende perforierende Keratoplastik (PKP) zahlenmäßig überholt. Auffallend war hierbei besonders der permanente Anstieg der DMEK-Eingriffe. 2016 war die Anzahl dieser Operations-Technik zwölf Mal höher als die der DSEK-Eingriffe.⁵

In Abbildung 1 wurde dieser Trend anhand der Übersicht der Eingriffe der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes (UKS) in Homburg/Saar graphisch dargestellt.

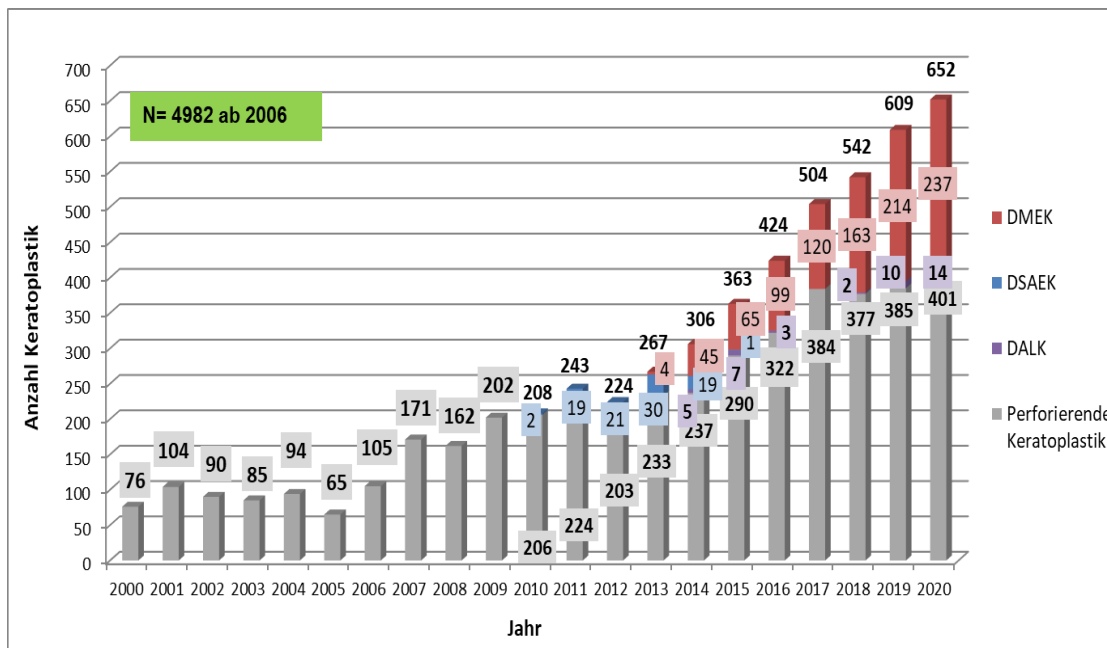


Abbildung 1: Überblick über kurative Hornhauteingriffe am UKS zwischen 2000 & 2020 ⁶

Zwar stellte die DMEK hier noch nicht die häufigste Operationstechnik dar, allerdings hatte sich ihre Anzahl im Zeitraum von 2013 bis 2020 fast versechzigfacht. Wohingegen die PKP im selben Zeitraum sich weniger als verdoppelt hatte.

Aber nicht nur in Deutschland zeigte sich die enorme Zunahme der DMEK. Auch in den USA beispielsweise stieg der Anteil der DMEK an allen Keratoplastiken rasant an.⁷ Im Jahr 2018 nannten Zentren weltweit die DMEK als häufigsten und beliebtesten Eingriff bei kornealen Pathologien.⁸⁻¹⁰

3.3 Aktueller Wissensstand zur DMEK

Um den großen Erfolg der DMEK zu verstehen, hilft es sich auf den aktuellen Wissensstand zu bringen und die Ergebnisse der verschiedenen Hornhauteingriffe gegenüberzustellen.

Im Vergleich von lamellären Keratoplastiken (LKP) allgemein zu PKP zeigt sich zunächst zwar kein Unterschied bezüglich der Langlebigkeit der Transplantate und der Endothelzelldicke (EZD). Allerdings weisen die LKP einen niedrigeren Grad an Astigmatismus und einen besseren Visus postoperativ auf.¹¹

Die DMEK einzeln betrachtet wiederum, führt deutlich seltener zu Transplantatversagen und/oder immunologischen Transplantatabstoßungen im Vergleich mit der PKP.¹² Auch nach nicht erfolgreicher PKP vermag die DMEK mit guten Langzeitergebnissen zu punkten.¹³

Ebenso im Vergleich zur Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty (DSAEK) weist die DMEK bessere Ergebnisse hinsichtlich der postoperativen Visusentwicklung, der Re-Bubblingrate und der Überlebensrate nach nicht geglückter PKP auf, obwohl die DMEK das intraoperativ kompliziertere Verfahren darstellt.¹⁴

Infolge einer Transplantatablösung oder -dislokation kann ein sogenanntes Re-Bubbling (RB) notwendig werden, welches eine erneute Gasfüllung der Vorderkammer zum Beispiel nach DMEK beschreibt und zu einem Wiederanliegen des Transplantates führen soll.¹⁵ Es wird in späteren Kapiteln noch detaillierter auf den Zusammenhang des RB mit der DMEK eingegangen.

Insgesamt ist die DMEK auch der DSAEK, vor allem den korrigierten Visus betreffend, postoperativ überlegen, besonders bei der FECD als Erstdiagnose.^{16,17}

Zwar erreichen beide Techniken im Langzeitvergleich ähnliche Ergebnisse, aber die schnelle Erholung auch bezüglich der Blendempfindlichkeit und des Kontrastsehens sprechen für die DMEK. Beide Verfahren führten postoperativ zu einem deutlichen Anstieg der Lebensqualität.¹⁸ Hinsichtlich der Kosten der jeweiligen Verfahren stellt sich die DMEK als billigere Variante im Vergleich zur DSAEK dar.¹⁹

Die DMEK ist ein komplexes Verfahren in mehreren Schritten. Bereits bei der Präparation des Transplantates können viele Fehler unterlaufen. Jedoch ist die Präparation gut zu erlernen, womit eine zunehmende Reduzierung von Endothelzellverlusten (EZV) und Verschwendung des Transplantat-Gewebes möglich ist.²⁰

Auch das Erlernen der eigentlichen Operation bedarf einer guten Schulung am besten durch einen erfahrenen Hornhaut-Chirurgen. Dann kann es zu guten visuellen Ergebnissen, auch im Hinblick auf postoperative Komplikationsraten und EZD, kommen.²¹ Grundsätzlich stellt die DMEK eine Operation mit guter Lernkurve dar; was ein Beispiel aus den Niederlanden zeigt.²² Hierbei wurde eine positive Entwicklung des Transplantatüberlebens nach DMEK im Laufe der Jahre nach Einführung der Technik festgestellt. DMEK-Chirurgen scheinen nach kurzer Zeit ein gewisses Level in Hinblick auf Visus und EZV Ergebnissen zu erlangen, welches dann stagniert. Nur die Komplikationsrate verringert sich dann konstant mit zunehmender Erfahrung, auch noch 5 Jahre nach erstmaligem Durchführen des Eingriffes.²³

Des Weiteren kann man eine hohe subjektive Zufriedenheit der Patienten und eine deutliche Verbesserung des Kontrast- bzw. des Farbsehens nach stattgehabter DMEK beobachten.²⁴

Das Resultat einer DMEK ist von vielen Faktoren abhängig.

Zunächst ist die postoperative Visusentwicklung entscheidend davon abhängig, ob bei dem Patienten extrakorneale Visuslimitationen bekannt sind. Falls ja, kommt es zwar zu einem Visusgewinn, allerdings ausschließlich bis zum sechsten, postoperativen Monat. Nur Augen ohne Vorerkrankungen entwickeln nach diesem Zeitpunkt noch einen besseren Visus.⁴

Bei Augen mit glaukomatöser Vorgeschichte und/oder Glaukom-Operationen zeigt die DMEK jedoch sehr geringe Überlebensraten und häufig Abstoßungen.²⁵

Deshalb sollte man die Behandlung eines Patienten mit einer DMEK vorsichtig anhand der Diagnosen abwägen. Bei Standard-Indikationen, wie etwa der FECD, stellt die DMEK die Methode der Wahl dar. Jedoch zur Behandlung von chronischen Ödemen, Narben oder irregulärem Astigmatismus wird die

PKP weiter genutzt. Auch nach diversen erfolglosen DMEKs gilt die PKP weiterhin als probates Mittel.²⁶

Ebenso gelingt es nach DMEK nicht an die Qualität gesunder Augen heranzukommen, wie eine Studie von Satue M et al. zeigen konnte.²⁷

Alles in allem jedoch fielen bereits die ersten Langzeitergebnisse von DMEK-Patienten überhaupt vielversprechend aus.²⁸ Und auch sonst ist man sich einig, dass die DMEK ein sicheres Verfahren zur Behandlung verschiedener kornealer Pathologien darstellt, mit niedrigen Komplikationsraten, ausgezeichneten Ergebnissen und einer sehr verlässlichen Langlebigkeit der Transplantate.²⁸⁻³⁰

3.4 Bedeutung der Hornhautbank

3.4.1 Allgemeines

Eine bedeutende Rolle für den Erfolg einer DMEK spielt die Hornhautbank und ihre MitarbeiterInnen. Bereits 2014 wurden 68% aller Transplantate in den USA, welche für lamelläre Keratoplastiken genutzt wurden, von Hornhautbanken bezogen.⁷ Dabei ist die gute Zusammenarbeit zwischen Chirurg und medizinisch-technischen Assistenten (MTA) entscheidend für zufriedenstellende Ergebnisse.³¹ Indem Abläufe der Präparation standardisiert werden und eine Auswahl adäquaten Gewebes getroffen wird, stellt die Hornhautbank ein wichtiges Mosaikstück im Rahmen der DMEK dar und trägt auch zu einer verkürzten Operationsdauer bei.^{8,9} Mögliche Risikofaktoren stellen hierbei auch die individuellen, manuellen Fähigkeiten und die Lernfortschritte einer jeden MTA dar, weshalb eine ausführliche und spezialisierte Ausbildung bzw. Einarbeitung essentiell ist.³²

Wie bei allen Transplantat-assoziierten Verfahren besteht auch bei der DMEK akuter Spendergewebe Mangel weltweit.³³ Unter anderem liegt dies daran, dass nicht jede Hornhaut zur Spende geeignet ist. Spender mit vor allem langjähriger, diabetischer Vorgeschichte, Hyperlipidämie oder Adipositas-Leiden führen erwiesenermaßen zu höheren Komplikationsraten bei einer DMEK und eignen sich somit nicht für die DMEK.³⁴ Aufgrund des Spendermangels ist es wichtig, eine möglichst große Menge, an potentiellen Spendern zu identifizieren. Unter diesen Umständen hilft die Erkenntnis, dass das Alter des Spenders nicht entscheidend für das Ergebnis einer Transplantation ist.³⁵ Es ist also eher gleichgültig, ob der Spender alt oder jung ist, wenn nur die Endothelzellzahl hoch genug ist.^{35,36}

3.4.2 Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz

Die oben genannten Punkte vereint die bereits im Jahr 2000 gegründete LIONS-Hornhautbank, zugehörig zum UKS in Homburg/Saar. Ihre Eröffnung diente dazu, dem Spendergewebe Mangel entgegenzuwirken und die Wartezeiten von Patienten auf eine Spenderhornhaut zu verkürzen.

So konnten in Homburg bis April 2022 6200 Transplantate verpflanzt werden. Allein im Jahr 2021 spendeten 298 Menschen nach ihrem Tod 596 Augenhornhäute und konnten hiermit zu 676 Hornhauttransplantationen verhelfen. Die gespendeten Hornhäute werden sowohl zu lamellären als auch perforierenden Keratoplastiken genutzt.

Anfang 2019 konnte die Einrichtung mit Hilfe von Spendengeldern zum „Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen, inkl. LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz“ erweitert werden. Mit nun neuem Labor in höchster Reinraum-Qualität, sowie drei permanenten Wetlabs mit 6 OP-Mikroskopen, verhilft die Einrichtung auch der DMEK weiter ihre Effizienz zu steigern.⁶



Abbildung 2 & 3: Bearbeitung und Lagerung von Hornhautscheiben im Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz⁶

3.5 Neues Zählverfahren von DMEK-Röllchen nach Präparation

3.5.1 Einleitung der Vorversuche

In der oben genannten Einrichtung wurde nun eine neue, reproduzierbare und nichtinvasive Methode zur Quantifizierung des EZV nach Präparation und während einer anschließenden, fünftägigen Lagerung von endothelialen Descemet-Membran Lamellen (EDML) erforscht.³⁷ Die Notwendigkeit hierfür bestand, da bis zum jetzigen Zeitpunkt noch keine standardisierte, nichtinvasive und verlässliche Methode existiert, um den EZV nach Präparation exakt und reproduzierbar darzustellen. Außerdem wurde überprüft, wie sich der EZV nach ein, zwei und fünf Tagen Lagerung nach Präparation verhält. Dies geschah, um die Möglichkeit des Versandes von vorbehandelten EDML in Kartuschen in Betracht zu ziehen.

Bislang existieren nur zwei Methoden, welche versuchen die EZV nach der Präparation möglichst genau zu kalkulieren.

Die erste Variante besteht darin, die Descemet-Membran (DM) zunächst frei zu präparieren und die gerollte EDML wieder aufzurollen. Im Anschluss wird dann mit Hilfe eines Lichtmikroskops und einer spezialisierten Software die EZD berechnet. Der große Nachteil dieser Methode besteht in ihrer invasiven Art. Es ist mit einem zusätzlichem EZV zu rechnen. Entsprechend ungenau bzw. unverlässlich mögen die Resultate sein. Auch eine standardisierte Wiederholung des Verfahrens

scheint nur bedingt denkbar. Dies spiegelt sich in der hohen Abweichung der EZV einzelner Studien wider, welche mit dieser Technik auftraten.³⁸⁻⁴¹

Bei der zweiten Variante wird die Descemet-Membran nur teilweise frei präpariert, während ein zentraler Part am Stroma verweilt. Zwar entfällt nun die Invasivität, allerdings entspricht dieses Verfahren auch nicht mehr der Realität, in welcher die gesamte Descemet-Membran vom restlichen Präparat getrennt wird. Die Ergebnisse verschiedener Studien mit vergleichbar sehr geringen EZV scheinen den tatsächlichen Verlust zu unterschätzen.⁴²⁻⁴⁴

3.5.2 Material und Methoden der Vorversuche

Auswahl der Präparate

Es wurden dreißig korneosklerale Spenderscheiben für die Forschung genutzt. Hierbei handelte es sich um Präparate, welche für eine Transplantation an Menschen ungeeignet waren. Ausschlusskriterien stellten eine positive Serologie oder das allgemeine Vorhandensein von chronischen Erkrankungen, eine zu niedrige EZD (< 1800 Zellen/mm²) oder endotheliale Vorerkrankungen dar. Die Spenderscheiben wurden zunächst in Organkultur „Medium I“ ohne Dextran gelagert.

Präparationsvorgang

Zunächst wurde die EZD mit Hilfe eines Spiegelmikroskops (Leica 090-135.001) unmittelbar vor der Präparation festgestellt.

Die eigentliche Präparation führte ein erfahrener Chirurg aus und nutzte die Technik, welche von Seitz et al., 2017 beschrieben wurde.⁴⁵

Zunächst wird die Spenderscheibe auf einen Saugblock („Hanna trephination system“) gelegt und eine Minute lang vorsichtig mit blauer Farbe (BCC) gefärbt. Im Anschluss wird diese durch Organkultur Medium ersetzt. Nun wird mit Hilfe des „Moria DSAEK trephination system“ eine Markierung mit einem Radius von 7,5 mm gesetzt. Anschließend kommt es zu einem hexagonalen Schnitt ein bis anderthalb Millimeter außerhalb der zuvor gesetzten Markierung. In einem weiteren Schritt wird nun mit einer kleinen, stumpfen Pinzette Stück für Stück die gesamte EDML von peripher nach zentral gelöst bis nur noch ein zentraler Rest am Stroma haften bleibt. Hierzu wird der untenliegende Saugblock immer wieder gedreht. Nun wird das Transplantat mit einem Rundmesser durch trepaniert. Danach ist es einfach, die EDML zu lösen und mit einer Pinzette in eine Well-Titerplatte mit Organkultur „Medium I“ ohne Dextran zu geben. Es wird kein Dextran-haltiges Medium genutzt, da dieses schädlich für das Endothel ist.⁴⁶

Unmittelbar nach der Präparation rollten die EDML sich zusammen, wie man in Abbildung 4 erkennen kann.



Abbildung 4: Endotheliale Descemet-Membran Lamelle in Röllchen Form in einer mit Organkultur „Medium I“ enthaltenen Well-Titerplatte ³⁷

Erfassung der Endothelzelldichte

Unmittelbar nach der Präparation und zur EZD-Messung wurde nun die EDML samt Well-Titerplatte unter das Spiegelmikroskop gelegt. Für jedes Transplantat wurde nun fünf Mal in Folge an je drei unterschiedlichen Stellen (zwei Mal peripher & einmal zentral) der EDML die EZD gemessen zu den Zeitpunkten direkt nach der Präparation, ein, zwei und fünf Tage nach Präparation. Dieser Umfang galt der Reproduzierbarkeit der Studie und um Verzerrungen vorzubeugen. Zum weiteren, besseren Verständnis ist dieser Ablauf noch einmal in Abbildung 5 graphisch dargestellt.

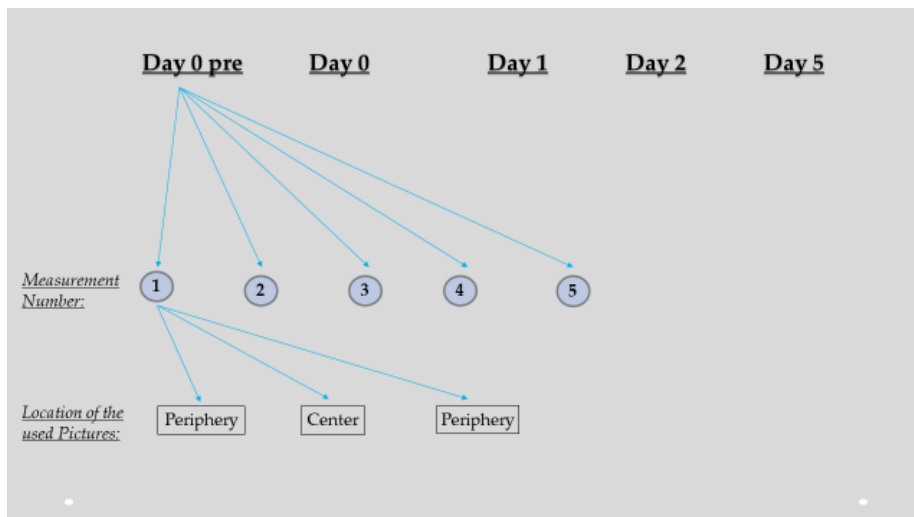


Abbildung 5: Schemata zur Erfassung der ECD für jede einzelne EDML ³⁷

Eine besondere Problematik aufgrund der gerollten Form der EDML stellte hierbei das Einstellen eines scharfen Bildes von Endothelzellen dar. Dies benötigte nicht nur Erfahrung, sondern gestaltete sich auch als zeitaufwendig. Sobald ein geeignetes Bild eingestellt war, wurde es zunächst automatisch von der Software analysiert, um in einem nächsten Schritt manuell von geschulten

Laboranten korrigiert zu werden. Anhand dieses Verfahrens konnte dann eine möglichst exakte Zahl an Endothelzellen (EZ) bestimmt werden (s. Abbildung 6).

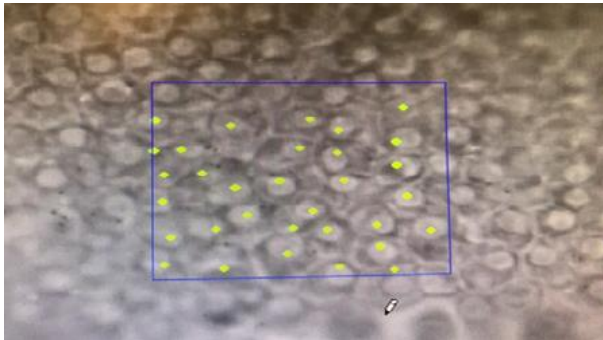


Abbildung 6: Darstellung von Endothelzellen auf der Descemet-Rolle im Software-Programm zur Zählung ³⁷

Nach Abschluss der Messungen wurden die Well-Titerplatten wieder im Inkubator gelagert. An den darauffolgenden Tagen (Tag 1, 2 & 5 post praeparationem) wurde die oben genannte Methode wiederholt.

3.5.3 Ergebnisse der Vorversuche

Der EZD Durchschnitt von allen 30 EDML vor der Präparation betrug 2292,8 Zellen/mm².

Endothelzellichte & -verlust nach Präparation und Lagerung

In Tabelle 1 und 2 werden jeweils die Durchschnittswerte der fünf Messungen aller Transplantate des jeweiligen Tages im Zentrum bzw. in der Peripherie gezeigt. Hierbei beschäftigt sich Tabelle 1 mit der EZD und Tabelle 2, mit den aus der EZD errechneten EZV-Werte. Außerdem werden Median, Standardabweichung, Minimal- und Maximalwerte dargestellt.

Hierbei präsentierten sich EZV von 11%, 19%, 22% und 23%, direkt nach Präparation, an Tag 1, 2 und 5. Die p-Werte, welche für jeden Tag gefunden wurden, wiesen allesamt statistische Signifikanz auf.

	Durchschnitt	Median	Minimum	Maximum
EZD Tag 0 prä* – peripher	2294,5	2241,1	1817,7	2766,7
EZD Tag 0 prä* – zentral	2286,9	2263,0	1795,8	2788,6
EZD Tag 0 – peripher	2032,3	2044,0	1671,7	2401,7
EZD Tag 0 – zentral	2047,8	2044,0	1693,6	2365,2
EZD Tag 1 – peripher	1831,4	1839,6	1204,5	2131,6
EZD Tag 1 – zentral	1847,2	1839,6	1284,8	2365,2
EZD Tag 2 – peripher	1768,9	1766,6	992,8	2029,4
EZD Tag 2 – zentral	1763,7	1766,6	992,8	2087,8
EZD Tag 5 – peripher	1702,7	1690,0	1467,3	1971,0
EZD Tag 5 – zentral	1719,8	1715,5	1489,2	2014,8

Tabelle 1: Durchschnitt der Endothelzelldichte (EZD) jeden Tag (prä* = vor Präparation) mit Median, Standardabweichung, Minimum, Maximum aller Werte dieses Tages³⁷

EZV Tag der Messung	Durchschnitts-EZV	Median	Minimum	Maximum	p-Wert EZV
nach Präparation – zentral	10,3%	10,7	0,68	24,2	<0,001
nach Präparation - peripher	11,1%	10,0	5,34	21,4	<0,001
Tag 1 - zentral	18,8%	17,0	6,6	45,3	<0,001
Tag 1 - peripher	19,4%	14,9	9,3	48,8	<0,001
Tag 2 – zentral	22,3%	19,7	10,3	57,8	<0,001
Tag 2 - peripher	22,1%	16,4	12,1	57,76	<0,001
Tag 5 – zentral	22,7%	19,5	13,2	43,7	<0,001
Tag 5 - peripher	22,9%	18,3	16,3	44,48	<0,001

Tabelle 2: Durchschnitt des endothelialen Zellverlustes (EZV) jedes Tages mit Median, Standardabweichung, Minimum, Maximum aller Werte dieses Tages. p-Wert der EZV jedes Tages⁴¹

Endothelzellichte -Vergleich Zentrum vs. Peripherie

Im Vergleich der EZD-Werte von Zentrum und Peripherie der EDML (s. Tabelle 3) konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede gefunden werden, außer eines klinisch nicht relevanten Unterschiedes an Tag 5.

	Unterschied der Messungen zwischen Peripherie und Zentrum				
Tag der Messung	0 prä	0	1	2	5
p-Wert	0,68	0,19	0,75	0,79	0,02*

Tabelle 3: Vergleich der Endothelzellichte von Zentrum und Peripherie der endothelialen Descemet-Membran Lamellen; *= statistische Signifikanz³⁷

Reproduzierbarkeit

Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurde das standardisierte Cronbach's alpha aller fünf Messungen jedes Tages und der gesamten EDML berechnet. Dabei zeigten sich Werte von $0,95 \pm 0,02$ in der Peripherie und $0,90 \pm 0,04$ im Zentrum (s. Tabelle 4).

	Peripherie	Zentrum
Tag 0 prä	0,95	0,91
Tag 0	0,93	0,88
Tag 1	0,93	0,85
Tag 2	0,95	0,89
Tag 5	0,98	0,97
Durchschnitt	0,95	0,90
SD	0,02	0,04

Tabelle 3: Standardisiertes Cronbach's alpha von Tag 0 vor der Präparation (day 0 pre), nach der Präparation (day 0), Tag 1, 2 und 5, dem Durchschnitt (average) und der Standardabweichung (SD)³⁷

3.5.4 Diskussion der Vorversuche

In dieser Forschungsarbeit ist es zum ersten Mal gelungen, die EZV mit Hilfe einer reproduzierbaren, nicht-invasiven Methode anhand der EZD nach vollständig erfolgter Präparation zu bestimmen. Bereits existierende Varianten konnten bis dato keine genauen Daten zum EZV im Rahmen der Präparation liefern. Da sie einerseits invasiv waren und den EZD überschätzten. Oder andererseits nicht die komplette Präparation widerspiegeln und folglich zur Unterschätzung des EZV beitragen.

Endothelzellichte & -verlust nach Präparation und Lagerung

Es erwies sich als ausgesprochen schwierig, publizierte Daten bezüglich der EZD bzw. des EZV miteinander zu vergleichen, da viele unterschiedliche Methoden zur Präparation und zur Messung der EZD genutzt wurden. Auch im Medium, welches zur Lagerung verwendet wurde und im Zeitrahmen zwischen Präparation und Messung der EZD unterschieden sich die existierenden Studien stark. So ist es wenig verwunderlich, dass verschiedene Studien sehr unterschiedliche Ergebnisse hinsichtlich des EZV im Rahmen der Präparation und der darauffolgenden Lagerung liefern.^{39-44,47,48}

Unsere Vorversuche konzentrierten sich nun besonders auf das detaillierte und einheitliche Vorgehen zur präzisen Messung der EZD. Dabei war es wichtig, möglichst realitätsnah die komplette Präparation der EDML durchzuführen.

Die erreichten Ergebnisse von 11% EZV nach Präparation und bis zu 23% nach 5 Tagen Lagerung scheinen akzeptabel und stimmen mit den Ergebnissen anderer Messmethoden überein. Laut unserer Vorversuche kommt es während der Lagerung der EDML von insgesamt 5 Tagen zu einem permanenten Verlust an EZ.

Ein möglicher Grund für den großen EZV nach Lagerung der EDML in der Studie könnte eine niedrige initiale EZD vor der Präparation sein.⁴⁹

Endothelzellichte - Vergleich Zentrum vs. Peripherie

Die Studie zeigte keine klinisch signifikanten Unterschiede zwischen der EZD zentral und peripher. Nur an Tag 5 wurde ein signifikanter Unterschied von 17 Zellen gemessen, mit einem p-Wert von 0,023. Dies könnte aber durch die kleinen EDML Durchmesser erklärt werden. Im Gegensatz zu den gefundenen Daten gibt es Studien, die einen Abstieg der EZD vom Zentrum der EDML in Richtung Peripherie gemessen haben.⁵⁰

Reproduzierbarkeit

Da es sich bei der Studie, um eine neue Methode der Erfassung der EZD auf den EDML nach Präparation und nachfolgender Lagerung im „Medium I“ ohne Dextran handelte, war es essenziell die Reproduzierbarkeit und Verlässlichkeit zu überprüfen. Mit besonderem Augenmerk auf ein striktes Messprotokoll mit fünf Wiederholungen pro EDML jeden Tag, Differenzierung von zentraler zu peripherer EZD, einer großen Anzahl an Stichproben und dem Vergleich der Ergebnisse zwischen zwei geschulten Laboranten wurde versucht, die Qualität der Methode möglichst objektiv zu bewerten. Anhand des folglich berechneten, standardisierten Cronbach's alpha für jeden Messtag schien dies gelungen zu sein. Denn dieses fiel sowohl für die peripheren (0,947 +/- 0,018), als auch für die zentralen (0,9 +/- 0,038) Gebiete sehr hoch aus, was für eine hohe Verlässlichkeit und Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sprach.⁵¹

Fazit

Zusammenfassend wurde in unseren Vorversuchen eine neue reproduzierbare Methode zur Erfassung der EZD am gerollten freischwimmenden Transplantat gefunden. Außerdem wurde, aufgrund des signifikanten EZV mit bis zu 23% nach 5 Tagen Lagerung, von einem Versand inklusive Lagerung von vorbehandelten EDML zur externen DMEK in Kartuschen abgeraten. Da dies schwere postoperative Folgen für den Patienten bedeuten könnte.

3.6 Endothelialer Zellverlust & DMEK

Im weiteren Verlauf wurde die nun vorgestellte, neue Messmethode der EZD auf EDML nach Präparation auch im klinischen Alltag und vor Transplantation bei DMEK eingesetzt. Besondere Aufmerksamkeit wurde hierbei auf den EZV in den einzelnen Etappen bei und nach DMEK gerichtet und dessen Einfluss auf die mittelfristigen klinischen Resultate wie Visus und Pachymetrie untersucht.⁵² Deswegen ist es wichtig die aktuellen Erkenntnisse zum EZV bei DMEK zunächst zu erläutern.

3.6.1 Die Crux des endothelialen Zellverlustes

Das allgemeine Problem des EZV ist, dass dieser außerordentlich schwer zwischen einzelnen Studien verglichen werden kann. Da es zahlreiche Unterschiede von Zentrum zu Zentrum gibt, mit welcher der EZV im Verlauf der DMEK erfasst wird. Dies spiegelt sich in der hohen Bandbreite der Ergebnisse einzelner Publikationen wider.^{30,53-56}

Deswegen wird sich hier auf einige allgemeine Faktoren konzentriert, die den EZV beeinflussen können.

3.6.2 Endothelialer Zellverlust bei der Präparation

Zuerst ist die vernünftige und ausführliche Schulung von jungen Chirurgen essenziell für die Lernkurve der Präparation und dem damit direkt assoziierten niedrigeren EZV.²⁰ Denn auch die Dauer der Präparation wirkt sich unmittelbar auf den EZV aus.⁵⁷

Des Weiteren können unterschiedliche Präparationstechniken zu ähnlich effizienten Ergebnissen auch in Bezug auf die EZV führen.⁵⁸ Jedoch scheint eine „No touch“-Technik anderen Methoden gegenüber zunehmend überlegen.⁵⁹

Auch die Lagerung der EDML nach Präparation hat einen großen Einfluss auf den EZV und sollte so kurz wie möglich gehalten werden.⁶⁰

Häufig wird die EZD nach Präparation auf den EDML von den Hornhautbanken überschätzt, aufgrund fehlerhafter bzw. ungenauer Zählmethoden. Dies führt zu einem größeren, initialen EZV, der aber nicht der Realität entspricht.^{61,62}

3.6.3 Risikofaktoren für hohen endothelialen Zellverlust

Bei einer der häufigsten Anlässe für DMEK, nämlich der FECD hängt die Höhe des EZV von der Ausprägung und dem Zeitpunkt der Therapie der Krankheit ab. Je fortgeschrittener das Stadium der FECD und je später der Eingriff mittels DMEK erfolgt, desto höher fällt der EZV postoperativ aus.^{63,64} Intraoperativ wirkt sich ein unkompliziertes Entfalten des Transplantates günstig auf den EZV aus.⁶⁵ Die postoperative Notwendigkeit eines Rebubbings (RB) wiederum wirkt sich negativ auf den EZV aus.⁶⁶ Sowohl die Entfaltung des Präparates, als auch RB werden, aufgrund ihrer Wichtigkeit, in folgenden Kapiteln detaillierter behandelt.

Ein niedriger EZV bedeutet aber nicht direkt einen erfolgreichen Eingriff, da meist die zentrale EZD gemessen wird. Diese fällt in der Regel höher aus, als jene parazentral bzw. in der Peripherie.⁵⁰ Auch die Höhe der präoperativ gemessenen EZD scheint einen Einfluss auf den postoperativen EZV zu haben.⁶⁷

3.7 Endothelzell-Morphologie & DMEK

Die EZ-Morphologie kann mit Hilfe eines Spiegelmikroskops und den sogenannten Parametern „Coefficient of Variance“ (CV) und „6A“ beurteilt werden. Dabei stellt „CV“ einen Gradmesser für die Größe der EZ in Prozent dar und dient somit der Beurteilung eines möglichen Polymegalismus der Zellen. Er sollte physiologisch möglichst gering ausfallen.⁶⁸ Bei gesunden Augen wurden Werte zwischen 26% und 28% gemessen.⁶⁹

Der Wert „6A“ gibt die Prozentzahl an 6-seitigen Zellen in der Hornhaut an.

Da man davon ausgeht, dass die physiologische Form der EZ hexagonal ausfällt, müsste in einer idealen Kornea der Wert bei 100%. Tatsächlich liegt er physiologisch um die 60%.⁶⁸

3.8 Hornhautdicke/-dichte & DMEK

Für das Ergebnis der DMEK spielen aber auch die Hornhautdicke und -dichte eine wichtige Rolle.

3.8.1 Hornhautdicke

Insbesondere bei Augen mit FECD sollte eine gewisse Hornhautdicke (HD) nicht überschritten werden, bevor es zu einer DMEK kommt. Sonst kann die Qualität der Ergebnisse erheblich leiden.⁶⁷ Durch eine DMEK kommt es zunächst zu einem Abfall der HD.⁷⁰ Langfristig kann es wieder zu einer Zunahme der HD kommen.⁴ Wobei es auch Studien gibt, die kaum Veränderung der HD sechs bis zwölf Monate postoperativ erfasst haben.⁷¹ Weitere wissenschaftliche Erkenntnisse scheinen notwendig.

3.8.2 Hornhautdichte

Der Wert der Hornhautdichte präoperativ korreliert mit dem korrigierten Visus nach DMEK. Somit kann man mittels der Densitometrie einen geeigneten Zeitpunkt zur Intervention ausmachen. Hierbei gilt, je früher desto besser.⁷²

Insgesamt kommt es durch eine DMEK zu einer deutlichen Reduktion der Hornhautdichte und folglich auch zu einer deutlichen Senkung an Lichtstreuung, was wiederum die guten Ergebnisse dieser Keratoplastik-Technik unterstreicht, solange es noch nicht zu stromalen Narben gekommen ist.^{73,74}

3.9 Unfolding & DMEK

Das Unfolding (zu Deutsch: das Entfalten) beschreibt den Vorgang der Ausbreitung der eingerollten DM inklusive Endothelium nach Einbringen in die Vorderkammer des Auges. Dieser Schritt im Rahmen der DMEK ist essenziell für das langfristige Resultat des Eingriffes. Insbesondere auf den EZV und postoperative Komplikationen wirkt sich das ungestörte Entfalten der Lamelle positiv aus. Die Entfaltung und Zentrierung des Gewebes sollte hierbei möglichst ohne Manipulation, beispielsweise mittels Kanüle, Spatel oder Pinzette, erfolgen.^{65,75} Aus Sicht des Chirurgen ist es dabei nicht entscheidend zu einer möglichst schnellen Entfaltung des Präparates beizutragen, sondern dafür zu sorgen, dass die DM samt Endothelzellen sicher und vorsichtig in die Vorderkammer des Auges eingebracht wird und sie zur Anlage an die Wirtshornhaut kommt. Auch das Spenderalter wirkt sich nicht auf die Entfaltungsdauer und somit auf das Resultat bei DMEK aus.⁷⁶

3.10 Triple- DMEK vs. DMEK

Die Triple-DMEK ist eine Kombination aus Katarakt-Operation und DMEK in einem Eingriff und wurde im Rahmen der Studie mit der einfachen DMEK verglichen, auch im Hinblick auf postoperative Komplikationen. Denn ein eindeutiger wissenschaftlicher Konsens besteht diesbezüglich noch nicht.

Laut früheren Publikationen scheint die Triple-DMEK der einfachen DMEK in Hinblick auf erzielten postoperativen Visus überlegen und dies trotz der längeren Operationsdauer und dem höheren Grad an Invasivität.⁷⁷

Jedoch kann es nach Triple-DMEK zu einem höheren EZV kommen.⁷⁸ Einige Zentren empfehlen deshalb und wegen höheren postoperativen Komplikationsraten eine Trennung von DMEK und Katarakt-Operation.⁷⁹

Andere Institutionen wiederum sehen in der Triple-DMEK eine effektive und langfristige Lösung für Patienten mit kornealen Erkrankungen und zeitgleich vorhandener Katarakt.⁸⁰

3.11 Komplikationen & DMEK

Komplikationen infolge eines DMEK-Eingriffes treten selten auf.³⁰ Dennoch können diese noch Jahre postoperativ auftreten. Je länger ein Chirurg die DMEK jedoch gewissenhaft durchführt, also je erfahrener er ist, desto mehr lassen sich diese Komplikationen reduzieren.²³ Hierbei handelt es sich vor allem um primäres Transplantatversagen, postoperative Abstoßung bzw. Ablösung des Transplantates, RB und selten auch einer Ablatio retinae.⁵⁴

3.11.1 Ablösung, Abstoßung und Transplantatversagen

Die Hauptursache des postoperativen Versagens einer DMEK liegt an einem primären Transplantatversagen und somit nicht wie bei anderen Keratoplastiken an ophthalmologischen Komorbiditäten oder autoimmunologischen Ursachen.⁸¹

Eine Abstoßungsreaktion immunologischer Ursache tritt nach DMEK selten auf. Anders verhält es sich mit den nicht-reversiblen primärem oder sekundärem Transplantatversagen. Hier bedarf es in ca. 5% aller behandelten Patienten eines abermaligen Eingriffes.¹²

Die Transplantatversagensrate kann reduziert werden, indem insbesondere junge Kollegen von erfahrenen Chirurgen während des Lernprozesses zur Durchführung einer DMEK gefördert und betreut werden.⁸² Zu vermehrten Ablösungen des Transplants kommt es infolge einer komplizierten Entfaltung der EDML intraoperativ.⁶⁵

3.11.2 Re-Bubbling

RB bezeichnet eine erneute Luft- oder Gasfüllung der Vorderkammer aufgrund einer Transplantatablösung oder -dislokation zum Beispiel nach DMEK.¹⁵

Das RB ist bei etwa 25% der Patienten nach erfolgreichem Eingriff notwendig mit einer großen Spannweite im Vergleich verschiedener Studien.⁴

Dabei hat die Anzahl der notwendigen RB keinen Einfluss auf das Endergebnis einer DMEK.⁸³ Auch der Visus oder die Rate der Transplantatverluste werden nicht durch RB beeinträchtigt.¹² Im Gegensatz hierzu fällt der EZV jedoch deutlich höher aus, was durch den zusätzlichen Eingriff und eine weitere Luft- oder Gasblase erklärt wird.^{84,85}

Ein intraoperativ nicht gut zentriertes Gewebe scheint ursächlich für die Indikation zu einem RB.⁸⁶ Dagegen wirken sich ein höheres Spenderalter, eine längere präoperative Lagerung des Transplantates und die Verwertung eines Transplantates eines Spender mit diabetischer Vorerkrankung nicht negativ auf die RB-Rate aus.⁸⁷ Der Einfluss einer geringen EZD präoperativ auf die RB-Rate ist nur widersprüchlich untersucht^{86,87}, weswegen eine weitere Klärung im Zusammenhang der hier verfassten Arbeit sinnvoll erscheint.

3.11.3 Re-DMEK

Als eine der letzten Optionen bei postoperativen Komplikationen der DMEK gilt die sog. re-DMEK. Sie ist gut geeignet bei Augen mit FECD. Augen mit kompliziertem Vorderabschnitt dagegen erscheinen nicht geeignet für den wiederholten Eingriff.⁸⁸ Hier sollte eine Re-pKp erwogen werden.²⁶ Die re-DMEK führt postoperativ zu ähnlich positiven Werten bezüglich Visus, EZV und HD.^{89,90}

3.12 Fragestellungen

Durch die Dominanz der DMEK als zunehmende Goldstandard-Therapie vieler endothelialer Keratopathien⁴ ist es wichtig diese im gesamten Verlauf immer weiter zu verstehen und zu optimieren. Deshalb beschäftigt sich folgende Arbeit retrospektiv mit einer neuen, nicht-invasiven und reproduzierbaren Zählmethode der EZ nach Präparation. Hiermit wird versucht den EZV möglichst genau in den einzelnen Schritten der Therapie von vor der Präparation bis hin zu transplantierten Augen nachzuverfolgen, um herauszufinden, welche Etappen im Rahmen der DMEK sich wie auf den postoperativen EZV auswirken und ob dieser Auswirkungen auf mittelfristige klinische Parameter und postoperative Komplikationen hat. Außerdem wird die Veränderung der Zellmorphologie im Rahmen der DMEK beleuchtet.

Die Dissertation beschäftigt sich also im Detail mit folgenden Fragen:

1. Wie verhält sich die EZD bzw. der EZV während der einzelnen Etappen der DMEK?
2. Führt die neueingeführte Zählmethode zu geringerem nominellen EZV?

3. Wie verändert sich die Zellmorphologie der EZ postoperativ?
4. Wie entwickelt sich die Dichte der Hornhaut vor und nach einer DMEK?
5. Wie verändert sich die Dicke der Hornhaut im gesamten Verlauf vor und nach einer DMEK?
6. Wie wirkt sich der prä-/intraoperative EZV auf EZD, Pachymetrie und Visus 6 Monate und 1 Jahr postoperativ aus?
7. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Präparationsdauer und dem EZV bei DMEK?
8. Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Entfaltungsdauer der EDML und dem EZV bei DMEK?
9. Gibt es einen Unterschied zwischen DMEK und Triple-DMEK im Hinblick auf den EZV?
10. Welche Komplikationen treten nach der DMEK am häufigsten auf?

4 Patienten & Methoden

4.1 Studienaufbau

Die Erfassung der Daten erfolgte retrospektiv und fand am UKS in Homburg/Saar statt. Hierbei wurden durch das *Klaus Faber Center für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz* von 43 Spendern im Alter zwischen 54 und 95 Jahren (Durchschnittsalter 75 Jahre) 56 KSS entnommen und 55 Empfängern in 56 Augen im Rahmen einer DMEK transplantiert. Die Studie folgte dem Grundsatz der Deklaration von Helsinki von 1964 und wurde durch die Ethik-Kommission der Ärztekammer des Saarlandes (Identifikations-Nummer: BU217/20) genehmigt. Die Operationen fanden zwischen Juli 2019 und Dezember 2019 statt und wurden von 3 erfahrenen Operateuren durchgeführt.

Eine KSS wurde nur zur Transplantation freigegeben, sofern bei dem Spender eine negative Serologie, keine allgemeinen, chronischen oder endothelialen Vorerkrankungen und eine ausreichende ECD (>2200 Zellen/mm²) nachgewiesen werden konnten. Die Lagerung der KSS erfolgte, wie in Abbildung 7 zu sehen, im Organkultur „Medium I“ (Biochrom AG, Berlin, Deutschland) ohne Dextran.



Abbildung 7: fixierte Hornhaut-Spenderscheibe in Organkultur Medium I ohne Dextran⁶

Zur Ermittlung des EZV wurde zunächst die EZD vor der Präparation auf der KSS ($T_{0_{\text{prä}}}$) und dann nach der Präparation auf der gerollten EDML ($T_{0_{\text{post}}}$) gezählt. Im Anschluss zu der DMEK erfolgten Nachkontrollen im Abstand von 6 Wochen (T_1), 6 Monaten (T_2) und 1 Jahr (T_3). Dabei wurde die EZD ebenfalls erfasst. Ebenso wurde die Veränderung der Zellmorphologie im Laufe der Nachkontrollen dokumentiert.

Außerdem wurden bei den behandelten Patienten sowohl präoperativ als auch in den oben genannten, postoperativen Nachkontrollen Visus, Tensio, densitometrische und pachymetrische Daten erhoben. Zudem wurden postoperative Komplikationen notiert. Intraoperativ wurden Operationsverfahren

(DMEK oder Triple-DMEK), Operateur, Operationsdauer und Entfaltungsdauer der EDML dokumentiert.

Des Weiteren wurde die jeweilige Dauer der Präparation der EDML berücksichtigt.

Eine Übersicht der Messungen zu den unterschiedlichen Zeitpunkten ist in Tabelle 5 dargestellt.

	T0_{prä}	T0	T0_p	T1	T2	T3
Visus			x	x	x	x
Tensio			x	x	x	x
EZD	x*	x**		x	x	x
CV				x	x	x
6A				x	x	x
Densitometrie			x	x	x	x
Pachymetrie (Pentacam)			x	x	x	x
Pachymetrie (OCT)			x	x	x	x

Tabelle 4: **Übersicht Messzeitpunkte einzelner Parameter**; T0_{prä}: vor der Präparation; T0: nach der Präparation; T0_p: präoperativ am Patienten; T1: Nachkontrolle am Patienten nach 6 Wochen; T2: Nachkontrolle am Patienten nach 6 Monaten; T3: Nachkontrolle am Patienten nach 1 Jahr; EZD: Endothelzelldichte; CV: Coefficient of Variation; 6A: Prozentanzahl von 6-seitigen Zellen; CV & 6A Parameter für Zellmorphologie; OCT: optische Kohärenztomographie

* Messung auf Korneoskleralscheibe

** Messung auf EDML (Endotheliale Descemet-Membran Lamelle)

4.2 Untersuchungsmethoden

4.2.1 Präparation

Ein erfahrener Chirurg führte die Präparation in einem Operationssaal durch und folgte dabei den Empfehlungen von Seitz et al.⁴⁵

Hierbei wird die KSS erst auf einem Saugblock („Hanna trephination system“, Moria Surgical, Antony, France) fixiert und zur besseren Sichtbarkeit 30 Sekunden mit BCC (blauer Farbe) (Croma GmbH, Leobendorf, Austria) angefärbt. Dies wird in Abbildung 8 veranschaulicht.



Abbildung 8: Hanna trephination system mit Hornhautspenderscheibe und BCC Färbung⁴⁵

Danach wird mit Organkultur „Medium I“ vorsichtig gespült. Im folgenden Schritt setzt man eine Markierung von 7,5 mm Radius mittels des „Moria DSAEK trephination system“. Anschließend kommt es zu einem Hexagon-förmigen Schnitt, welcher ein bis anderthalb Millimeter außerhalb der bereits markierten KSS erfolgt. Nun wird die gesamte EDML von peripher nach zentral präpariert mittels einer kleinen, stumpfen Pinzette und durch regelmäßiges Drehen des unterliegenden Saugblocks, Stück für Stück abgelöst. Am Ende verbleibt nur noch ein zentraler Anteil der EDML am Stroma. Hiernach erfolgt die komplette Trepanation mit Hilfe des 7,5 mm Trepens, resultierend in einem runden Rand der EDML. Nun werden drei asymmetrische, halbrunde Markierungen (Durchmesser 1 mm) am Rand der EDML gemäß Bachmann B et al. 2010⁹¹ gesetzt, um eine verkehrte, intraoperative Anlage des Transplantates („upside-down“) zu verhindern. Zuletzt wird auch der letzte zentral anheftende Teil der EDML am Stroma mit Hilfe einer weiteren größeren stumpfen Pinzette vorsichtig abgelöst und die EDML in eine Well-Titerplatte mit Organkultur „Medium I“ gelegt. Hier rollt sich die EDML zusammen (s. Abb.4).

4.2.2 Endothelzellichten-Messung

Die EZD auf den KSS wurde mit Hilfe eines Spiegelmikroskops (Model 090-135.001; Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland) (s. Abbildung 9) vor der Präparation ermittelt. Unmittelbar nach der Präparation wurde die gerollte EDML, welche sich im Organkultur „Medium I“ ohne Dextran in der Well-Titerplatte befand, erneut unter oben genanntes Spiegelmikroskop gelegt. Hier wurden nun ohne jegliche weitere Manipulation drei Aufnahmen je zwei in der gegenüberliegenden Peripherie und eine im Zentrum der EDML gemacht, um die EZD mittels einer spezialisierten Software zu ermitteln. Die Zählungen wurden von geschulten MTA getätigt. Dieses neue, nicht-invasive Zählverfahren war im Rahmen einer vorangegangenen Studie auf Reproduzierbarkeit, Effektivität und Präzision geprüft worden.³⁷

Bis zu der Transplantation verweilten die EDML dann wieder im Inkubator bei 36°C.

Einen Tag nach Präparation kam es dann zu der Implantation im Rahmen einer DMEK.

Postoperativ wurde nun die Endothelzellzahl mittels Endothel- Zell- Spiegelmikroskop („Tomey specular microscope EM-3000©; Tomey GmbH, Erlangen, Deutschland) (s. Abbildung 10) im Rahmen von Nachkontrollen nach 6 Wochen (T1), 6 Monaten (T2) und 1 Jahr (T3) ermittelt. Die Messungen wurden durch gut trainierte MTAs mit Hilfe von automatischen Zell Zählmethoden ohne manuelle Korrektur durchgeführt. Der EZV wurde in einem Folgeschritt aus den Differenzen der einzelnen Messzeitpunkte der EZD errechnet.

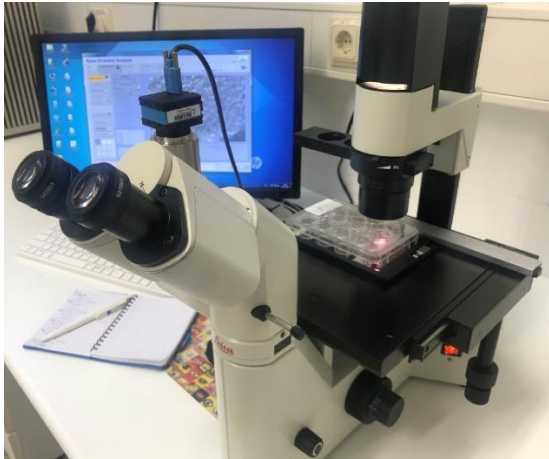


Abbildung 9: Spiegelmikroskop (Leica 090-135.001) mit Well-Titerplatte³⁷



Abbildung 10: Endothel-Zell-Biomikroskop („Tomey specular microscope EM-3000“) (Quelle:<http://www.tomeyusa.com/pdf/EM-3000.pdf>)

4.2.3 Veränderung der Zellmorphologie

Die Veränderung der Zellmorphologie wurde ebenso wie die EZD mit dem in Abbildung 10 dargestellten Endothel-Zell-Biomikroskop im Laufe der Nachkontrollen (T1-T3) dokumentiert. Hierbei konzentrierte man sich auf zwei aussagekräftige Werte.

Zum einen den „CV“-Wert, welcher ein Gradmesser für die Größenvariabilität der EZ in Prozent darstellt. Zum anderen den „6A“- Wert, welcher den Prozentsatz an 6-seitigen Zellen in der Hornhaut angibt.

4.2.4 Erfassung der Densitometrie

Die Densitometrie wurde mit Hilfe einer Pentacam (Oculus GmbH, Wetzlar, Deutschland) (s. Abbildung 11) einen Tag präoperativ (T_{0p}) und zu den Zeitpunkten T1-T3 bei den Patienten erfasst. Dabei wurden die Radien 0-2mm und 2-6mm der Hornhaut gemessen. Dies galt für die posterioren und die gesamten („total“), kornealen Schichten.



Abbildung 11: Pentacam (Oculus GmbH) zur Densitometrie und Pachymetrie (Quelle: <https://www.opthalmic.com.my/product/pentacam/>)

4.2.5 Erfassung der Pachymetrie

Die Pachymetrie wurde ein Tag präoperativ (T_{0p}) und an den Zeitpunkten T1-T3 sowohl mit der oben genannten Pentacam (s. Abbildung 11), als auch mit einem Vorderaugenabschnitts-OCT (optischer Kohärenztomograph) (CASIA2, Tomey GmbH, Erlangen, Deutschland) (s. Abbildung 12) in Mikrometern erfasst. Während bei der Pentacam die Radien 0-8mm erhoben wurden, maß man bei der OCT die Dicke an der dünnsten Stelle und am Apex der Hornhaut.



Abbildung 12: Vorderaugenabschnitts-OCT (CASIA2, Tomey) zur Pachymetrie (Quelle: <https://www.medilas.ch/de/product/tomey-casia2/>)

4.2.6 Erfassung sonstiger Parameter

Die Präparationsdauer der EDML, die Entfaltungsdauer der EDML nach Einsetzen in die Vorderkammer während der DMEK, die Dauer der Operation und der jeweilige Operateur wurden exakt von erfahrenen Operationstechnischen AssistentInnen (OTA) dokumentiert. Visus- und Tensio-

Messungen präoperativ und zu den Nachkontrollen (T1-T3), sowie postoperative Komplikationen wurden retrospektiv in der jeweiligen digitalen Patientenakte nachvollzogen. Der Visus wurde in logMAR umgerechnet. Der Augeninnendruck wurde mit der Applanations-Tonometrie nach Goldmann gemessen und wurde in mmHg angezeigt.

4.3 Statistische Methoden

Zur statistischen Auswertung der Daten wurde das Excel- Programm (*Microsoft, Redmond, Washington, USA*) und die SPSS-Software (*IBM, Armonk, New York, USA*) genutzt. Zunächst wurden alle Daten deskriptiv ausgewertet mit absoluten bzw. relativen Häufigkeiten, einem Mittelwert („mean“); einer Standardabweichung (SD) und einem Median. Diese deskriptiven Werte wurden jeweils zu unterschiedlichen Zeitpunkten, je nach gemessenem Parameter berechnet. Eine Übersicht hierzu findet sich in Tabelle 5.

Im Rahmen von Multivariate-Tests des Typus Friedman-Test wurden die gepaarten Stichproben im zeitlichen Verlauf miteinander auf eine Signifikanz verglichen. Dies geschah jeweils für die EZD, die Werte „6A“ und „CV“, die Pachymetrie (Pentacam & OCT), die Densitometrie (OCT), den Visus und die Tensio. Alle p-Werte wurden gemäß der Bonferroni-Korrektur angepasst und galten ab $p < 0,05$ als statistisch signifikant.

Die Rangkorrelation nach Spearman wurde zur Feststellung einer Korrelation von prä- und intraoperativem EZV mit der EZD, der Pachymetrie (Vorderabschnitts-OCT, dünnste Stelle) und dem Visus (logMAR) 6 Monate und 1 Jahr nach DMEK genutzt.

Mit Kreuztabellen wurde versucht einen Zusammenhang zwischen normaler DMEK oder Triple-DMEK im Hinblick auf den EZV darzustellen.

5 Ergebnisse

5.1 Studienkollektiv

Die Hauptdiagnose, welche in der Studie mit insgesamt 56 Augen eine DMEK indizierte, war die Fuchs'sche Endotheldystrophie (FECD). Außerdem wurden PEX-Keratopathien und Zustand nach bereits stattgefundenener, perforierender Keratoplastik behandelt (s. Abbildung 1).

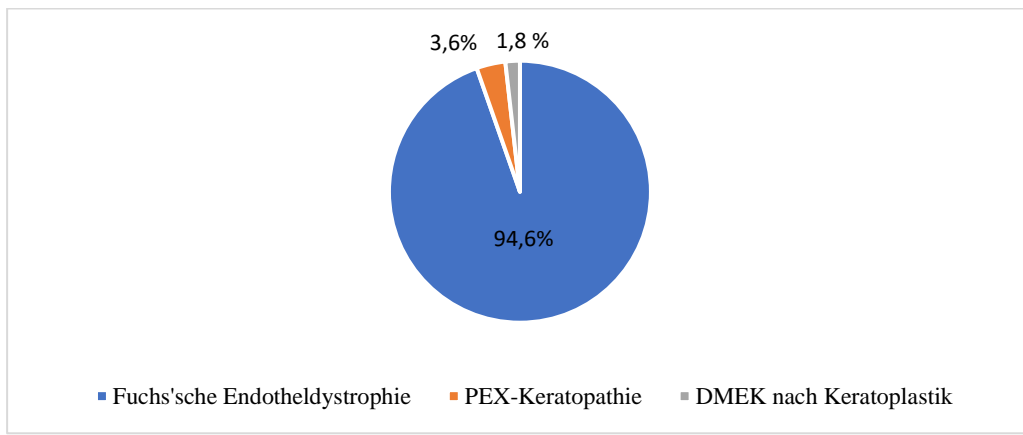


Abbildung 13: DMEK- Diagnosen

Hierbei wurden 38 DMEK, 16 Triple-DMEK und 2 Re-DMEK durchgeführt (s. Abbildung 2).

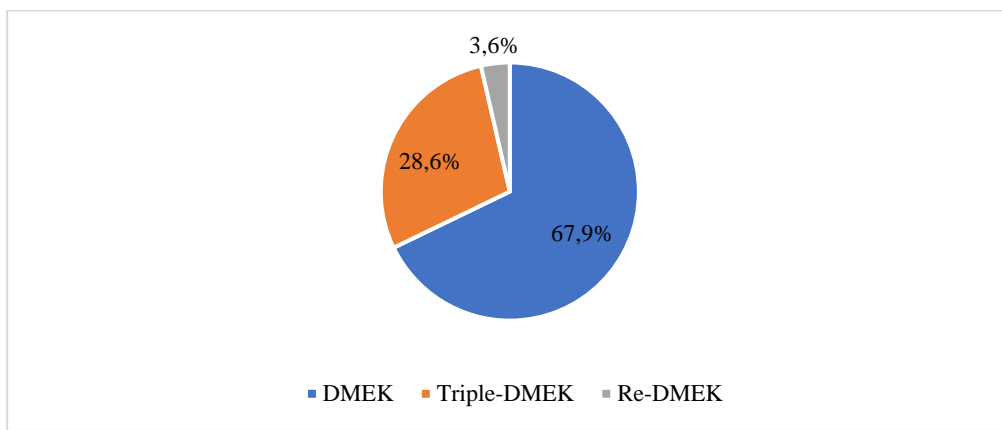


Abbildung 14: Operationstechniken

Im Schnitt dauerte die Operation der DMEK 24 min, die der Triple-DMEK 31 min und die der Re-DMEK 24 min.

5.2 EZD/EZV Quantifikation im Follow-up

Im Verlauf der Studie wurden 35 von insgesamt 56 Transplantaten jeweils von $T0_{\text{prä}}$ bis T3 auf ihre EZD überprüft. Die Mittelwerte der EZD mit ihrer jeweiligen SD und dem Median wird zu jedem Zeitpunkt in Tabelle 6 dargestellt. Der Mittelwert der präoperativen EZD betrug 2584 Z/mm².

Zeitpunkte	Mittelwert (Z/mm ²)	Standardabweichung (Z/mm ²)	Median (Z/mm ²)
T0 _{prä} *	2584	+/- 200	2555
T0 _{post} **	2355	+/- 207	2382
T1	1366	+/- 345	1283
T2	1091	+/- 564	1133
T3	939	+/- 352	808

Tabelle 6: Endotheliale Zelldichte in Zellen/mm² (Z/mm²) zu unterschiedlichen Zeitpunkten: T0_{prä}: vor der Präparation; T0_{post}: nach der Präparation; T1: 6 Wochen postoperativ; T2: 6 Monate postoperativ; T3: 1 Jahr postoperativ
* Messung auf Korneoskleralscheibe

** Messung auf EDML (Endotheliale Descemet-Membran Lamelle)

Der EZV wurde in jeder Etappe berechnet durch die Differenz der erhobenen EZD-Werte (EZV 1: Differenz EZD vor & nach Präparation; EZV 2: Differenz EZD nach Präparation & 6 Wochen-Kontrolle; EZV 3: Differenz EZD 6 Wochen- & 6 Monats- Kontrolle; EZV 4: Differenz EZD 6 Monats- & 1 Jahres-Kontrolle). Dabei bezieht sich die Verlustrate in Prozent jeweils auf die vorherige EZD. Alle Ergebnisse waren statistisch signifikant, außer für EZV 4, hier wurde keine Signifikanz festgestellt (p = 0,12) (Tabelle 7).

	EZV (Z/mm ²)	EZV (%)	p-Wert
EZV 1	229	9	< 0,001
EZV 2	989	42	< 0,001
EZV 3	275	20	0,01
EZV 4	152	14	0,12

Tabelle 7: Endothelialer Zellverlust (EZV) im Verlauf vor und nach DMEK; EZV 1: Differenz EZD vor & nach Präparation; EZV 2: Differenz EZD nach Präparation & 6 Wochen-Kontrolle; EZV 3: Differenz EZD 6 Wochen- & 6 Monats- Kontrolle; EZV 4: Differenz EZD 6 Monats- & 1 Jahres-Kontrolle

In Abbildung 15 werden die durchschnittlichen EZD-Werte mit SD im Zeitverlauf veranschaulicht.

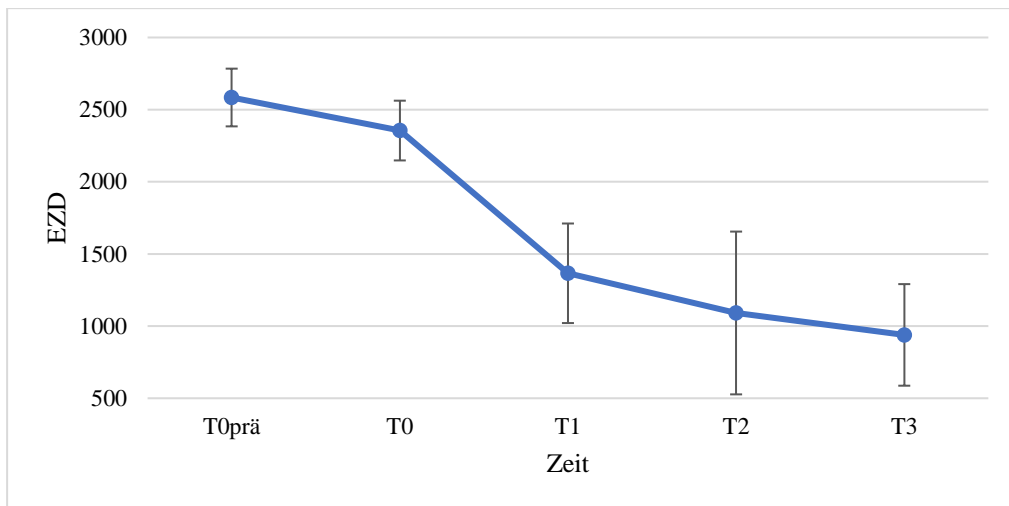


Abbildung 15: Endotheliale Zelldichte (EZD) mit Standardabweichung im Zeitverlauf

5.3 Endotheliale Zellmorphologie nach DMEK

Die postoperative Entwicklung der endothelialen Zellmorphologie wurde mit Hilfe der Werte CV und 6A (in %), jeweils zu den Zeitpunkten T1-T3 erhoben. Hierbei konnten 39 der insgesamt 56 Augen im gesamten zeitlichen Verlauf erhoben werden. Die Mittelwerte und SD sind in Tabelle 8 dargestellt.

Zeitpunkte	Mittelwert CV	SD CV	Median CV	Mittelwert 6A	SD 6A	Median 6A
T1	52,4	13	48,5	27,8	23	32
T2	42,6	12	41	30,7	13	35
T3	42,9	13	41	34,7	13	35

Tabelle 8: 'Coefficient of Variance'- (CV) und 6A-Mittelwerte mit Standardabweichung (SD) und Median in Prozent zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Follow-up: T1: 6 Wochen postoperativ; T2: 6 Monate postoperativ; T3: 1 Jahr postoperativ

Nach einer signifikanten Pillai's-Spur von 0,020 konnten im Rahmen von multivariaten Tests paarweise Vergleiche zwischen den einzelnen Zeitpunkten der beiden Parameter CV und 6A durchgeführt werden. Hierbei kam es nur bei CV zu einem signifikanten Abfall im Zeitraum von T1 zu T2 ($p = 0,001$) und T1 zu T3 ($p = 0,008$), die restlichen Vergleiche blieben nicht signifikant. Dies ist auch in den Abbildungen 16 und 17 gezeigt.

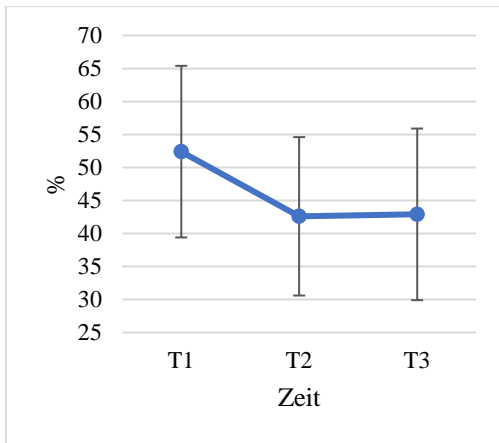


Abbildung 16: 'Coefficient of Variance' (CV)-Mittelwerte mit Standardabweichung im Zeitverlauf von T1 bis T3

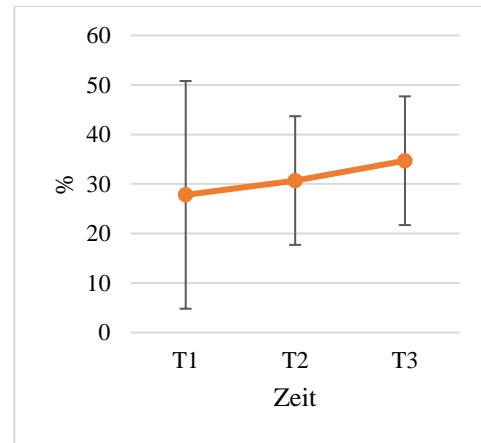


Abbildung 17: 6A-Mittelwerte mit Standardabweichung im Zeitverlauf von T1 bis T3

5.4 Densitometrie vor und nach DMEK

Die Densitometrie wurde in 2 Radien (0-2 mm & 2-6 mm) und jeweils in 2 unterschiedlichen Schichten (posterior und total) gemessen. Diese wurden zu den Zeitpunkten ein Tag vor dem Eingriff ($T0_p$) und in 3 Nachkontrollen (T1: 6 Wochen; T2: 6 Monate; T3: 1 Jahr) erfasst. Von den 56 Augen konnten 38 Messungen im gesamten Zeitverlauf erfasst werden. In Tabelle 9 sind die erhobenen Mittelwerte und Standardabweichungen (SD) des Radius 0-2mm für ‚posterior‘ und ‚total‘ gezeigt.

Zeitpunkte	Mw 0-2 mm post	0-2 mm post SD	M 0-2 mm post	Mw 0-2 mm tot	0-2mm tot SD	M 0-2 mm tot
$T0_p$	17,0	4	16,4	25,2	6	23,7
T1	13,2	4	12,3	24,5	9	22,0
T2	14,1	3	13,4	24,8	7	21,9
T3	13,6	3	13,0	23,2	9	20,2

Tabelle 9: Densitometrie im Radius 0-2 mm posterior (post) und total (tot) mit Mittelwerten (Mw), deren Standardabweichungen (SD) und Median (M) zu den Zeitpunkten $T0_p$: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

In Tabelle 10 sieht man analoge Ergebnisse für den Radius 2-6 mm.

Zeitpunkte	Mw 2-6 mm post	2-6 mm post SD	M 2-6 mm post	Mw 2-6 mm tot	2-6 mm tot SD	M 2-6 mm tot
$T0_p$	14,8	4	13,4	22,2	6	20,5
T1	13,8	4	12,4	23,7	8	21,2
T2	14,6	4	13,8	24,4	8	21,5
T3	14,0	4	13,4	22,8	9	20,4

Tabelle 10: Densitometrie im Radius 2-6 mm posterior (post) und total (tot) mit Mittelwerten (Mw), deren Standardabweichungen (SD) und Median (M) zu den Zeitpunkten $T0_p$: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

Bei paarweisen Vergleichen im Rahmen des Friedman-Tests kam es in der posterioren, kornealen Schicht im Radius von 0-2 mm im Zeitverlauf der einzelnen Kontrollen zu einem signifikanten Abfall von $T0_p$ zu T1 ($p < 0,001$). Im weiteren, zeitlichen Verlauf konnte keine signifikante Änderung der

Densitometrie mehr festgestellt werden. Einzig im Vergleich von $T0_p$ zu $T2$ ($p = 0,003$) und $T0_p$ zu $T3$ ($p < 0,001$) konnten ebenfalls ein signifikanter Abfall dargestellt werden. Diese Entwicklung ist in Abbildung 18 dargestellt.

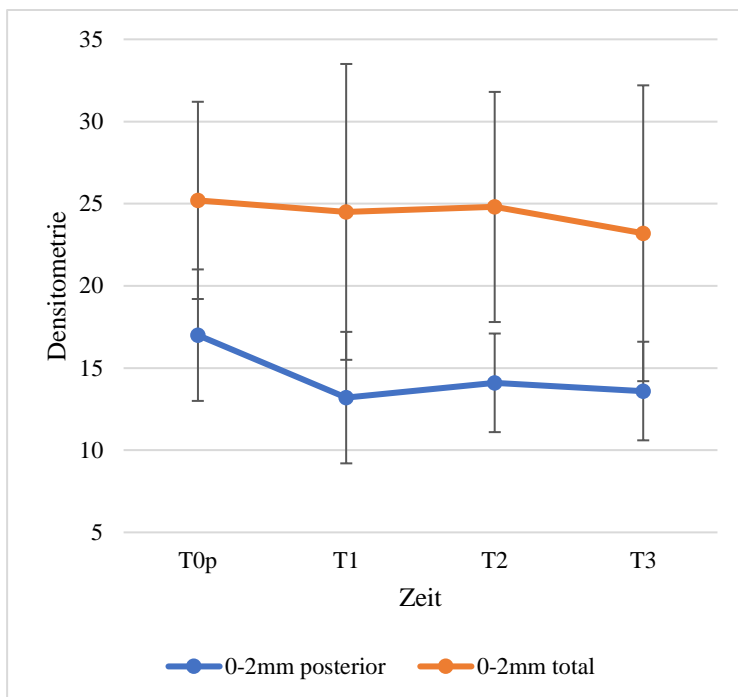


Abbildung 18: Densitometrie im Radius 0-2 mm in posterior und total mit Mittelwerten und Standardabweichungen zu den Zeitpunkten $T0_p$: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

Im zeitlichen Verlauf des Radius 0-2 mm bezogen auf die gesamte Kornea (,total‘) wurde ein signifikanter Abfall von $T0_p$ zu $T2$ ($p = 0,003$) und $T0_p$ zu $T3$ ($p = 0,006$) aufgezeigt. Sonstige Vergleiche blieben nicht signifikant. Dies ist ebenfalls in Abbildung 18 veranschaulicht.

Im Radius 2-6 mm konnte weder für die posteriore, noch die gesamten (,total‘) Schicht(en) der Hornhaut eine signifikante Veränderung der Densitometrie im zeitlichen Verlauf dokumentiert werden.

5.5 Pachymetrie vor und nach DMEK

Die Pachymetrie wurde einerseits mit der Pentacam zentral und im Abstand von 2/4/6/8 mm Radien gemessen und andererseits mit der OCT am Apex und an der dünnsten Stelle der Hornhaut. Dies erfolgte ein Tag vor DMEK ($T0_p$) und 6 Wochen (T1), 6 Monate (T2) und 1 Jahr (T3) nach DMEK.

5.5.1 Pentacam

Mit der Pentacam konnten zentral und im Abstand von 2/4/6 mm Radien 35 Augen der 56 in toto im gesamten zeitlichen Verlauf erhoben werden. Bei dem Radius 8 mm waren es 25 im gesamten

zeitlichen Verlauf. Mittelwerte plus jeweiliger Standardabweichung (SD) sind zu den einzelnen Zeitpunkten (T0_p-T3) in Tabelle 11 und 12 aufgeführt.

Zeitpunkte	Mw 0 mm	SD 0 mm	M 0 mm	Mw 2 mm	SD 2 mm	M 2 mm
T0 _p	597,6	43	603	609,4	43	615
T1	546,4	59	538	563,4	61	549
T2	540,3	70	523	555,2	73	533
T3	523,5	43	518	536,9	43	529

Tabelle 11: Pachymetrie der Pentacam in μm in den Radien 0 und 2 mm mit Mittelwerten (Mw), deren Standardabweichungen (SD) und Median (M) zu den Zeitpunkten: T0_p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

Zeitpunkte	Mw 4 mm	SD 4 mm	M 4 mm	Mw 6 mm	SD 6 mm	M 6 mm	Mw 8 mm	SD 8 mm	M 8 mm
T0 _p	639,9	47	643	683,5	56	678	733,9	52	731
T1	613,3	70	592	695,2	86	652	787,3	66	759
T2	596,4	79	569	667,2	93	626	744,7	53	715
T3	576,4	44	574	644,6	55	633	737,9	53	717

Tabelle 22: Pachymetrie der Pentacam in μm in den Radien 4-8 mm mit Mittelwerten (Mw), deren Standardabweichungen (SD) und Median (M) zu den Zeitpunkten: T0_p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

Im paarweisen Vergleich der einzelnen, zeitlichen Etappen des jeweiligen Radius stellte sich folgendes heraus. In den Radien 0-4 mm gab es einen signifikanten Abfall von T0_p zu T1 ($p_{0\&2\text{ mm}} < 0,001$; $p_{4\text{ mm}} = 0,024$). Im weiteren zeitlichen Verlauf kam es zu keinen weiteren, signifikanten Veränderungen. Bei 6mm Radius kam es zunächst zu einem nicht signifikanten Anstieg von prä- zu postoperativ ($p = 0,38$), wonach auch hier von T1 zu T2 ein signifikanter, pachymetrischer Rückgang ($p = 0,012$) zu beobachten war. Im weiteren zeitlichen Verlauf fanden sich ebenfalls keine signifikanten Veränderungen mehr. Die pachymetrische Entwicklung der einzelnen Radien ist in Abbildung 19 dargestellt.

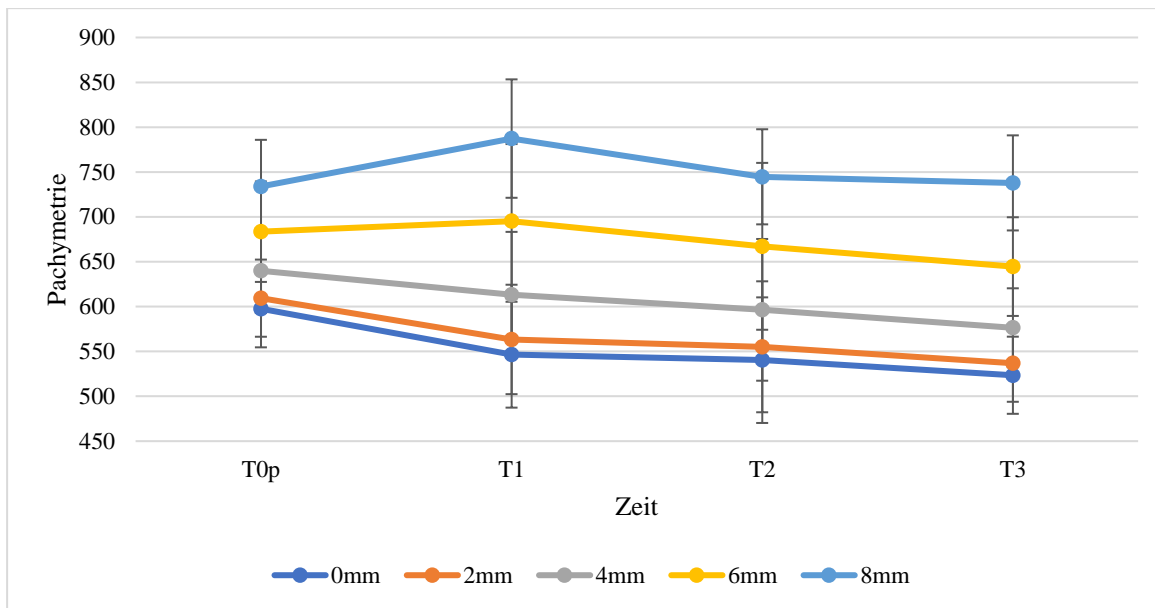


Abbildung 19: Pachymetrie der Pentacam in µm in den Radien 0-8 mm mit Mittelwerten und Standardabweichungen zu den Zeitpunkten T0p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

Im Radius 8 mm kam es von T0p zu T1 zu einem tendentiellen Anstieg, welcher allerdings nicht signifikant ausfiel ($p = 0,068$). Im weiteren Verlauf war ein signifikanter Abfall der Pachymetrie von T1 zu T2 ($p = 0,001$) und von T1 zu T3 ($p = 0,002$) zu beobachten. Alle restlichen paarweisen Vergleiche unterschieden sich nicht signifikant.

In den Radien 0-6 mm kam es von T0p zu T3 zu einem signifikanten Abfall ($p_{0-4mm} < 0,001$; $p_{6mm} = 0,001$), einzig im Radius 8 mm war keine signifikante Änderung in diesem Zeitraum zu sehen ($p_{8mm} = 0,197$).

5.5.2 Vorderabschnitts-OCT

Im Rahmen der OCT-Messungen der Pachymetrie konnten 32 Augen von 56 in toto im gesamten zeitlichen Verlauf erfasst werden. Die Resultate der dünnsten Stelle und des Apex der Hornhaut zu den bekannten Zeitpunkten werden in Tabelle 13 präsentiert.

Zeitpunkte	Mw dS	dS-SD	M dS	Mw A	A-SD	M A
T0p	597,3	63	581,0	622,8	71	601,5
T1	535,4	54	523,0	556,3	62	537,0
T2	538,5	74	509,5	555,0	78	522,5
T3	512,2	37	498,0	526,2	38	517,0

Tabelle 13: Pachymetrie der OCT "dünnste Stelle" (dS) & "Apex" (A) in µm mit Mittelwerten (Mw), deren Standardabweichungen (SD) und Median (M) zu den Zeitpunkten T0p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

Im zeitlichen Verlauf im Rahmen der paarweisen Vergleiche kam es sowohl am „Apex“- als auch an der „dünnsten Stelle“- Messung zu einem signifikanten Abfall von T0p zu T1 ($p < 0,001$). Ebenfalls konnte ein signifikanter Rückgang in der Zeit von T2 zu T3 bei beiden Messungen erfasst werden

($p_{\text{Apex}} = 0,019$; $p_{\text{ds}} = 0,022$). Dazwischen (T1-T2) stagnierten die pachymetrischen Werte ($p_{\text{Apex}} = 0,895$; $p_{\text{ds}} = 0,742$), welches im Diagramm 8 veranschaulicht wird.

Im Zeitraum T0_p zu T3 kam es bei beiden Messungen zu einem signifikanten Abfall ($p < 0,001$).

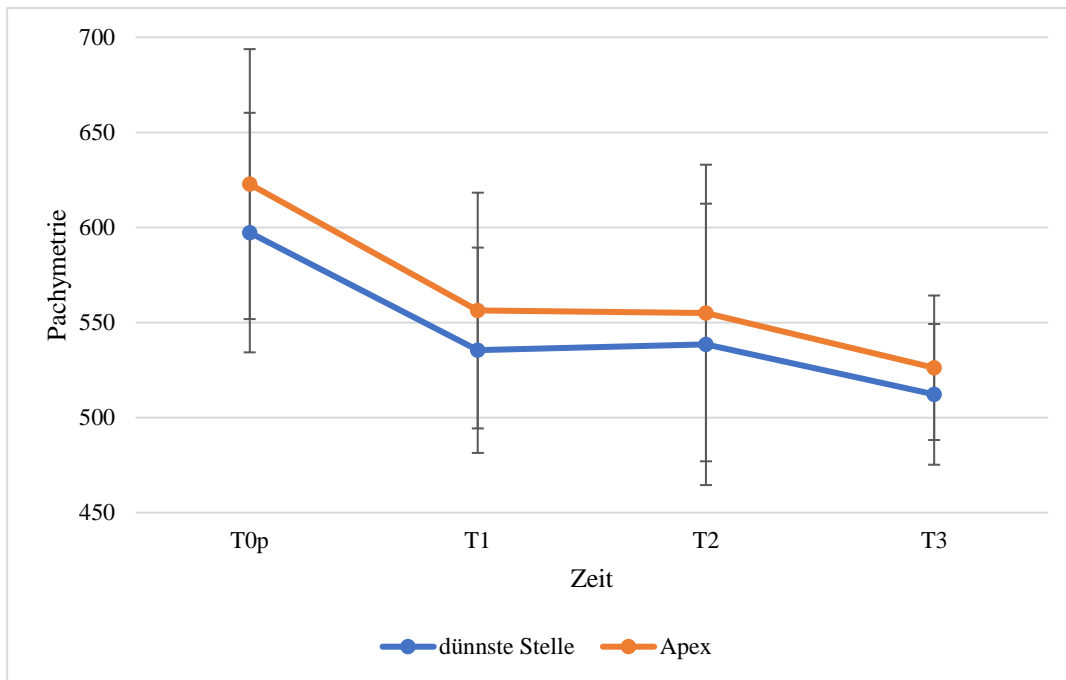


Abbildung 20: Pachymetrie der OCT "dünnste Stelle" & "Apex" in μm mit Mittelwerten und Standardabweichungen (SD) zu den Zeitpunkten T0_p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

5.6 Visus vor und nach DMEK

Der Visus wurde bei 30 Augen von insgesamt 56 im gesamten zeitlichen Verlauf zu den Zeitpunkten T0_p bis T3 jeweils gemessen, dabei ergaben sich, die in Tabelle 14 dargestellten Resultate.

Zeitpunkte	Mw Visus	SD	M Visus
T0 _p	0,50	0,3	0,52
T1	0,23	0,2	0,22
T2	0,16	0,1	0,15
T3	0,06	0,1	< 0,001

Tabelle 54: Visus in logMAR mit Mittelwerten (Mw), deren Standardabweichungen (SD) und Median (M) zu den Zeitpunkten T0_p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

Im paarweisen Vergleich, gemessen auf die Zeit, zeigten sich in jedem Schritt eine Verbesserung ($p_{\text{T0p/T1}} < 0,001$; $p_{\text{T2/T3}} = 0,003$), einzig von T1 zu T2 kam es zu keiner signifikanten Veränderung des Visus ($p = 0,23$). Der Verlauf ist nochmals in Abbildung 21 dargestellt.

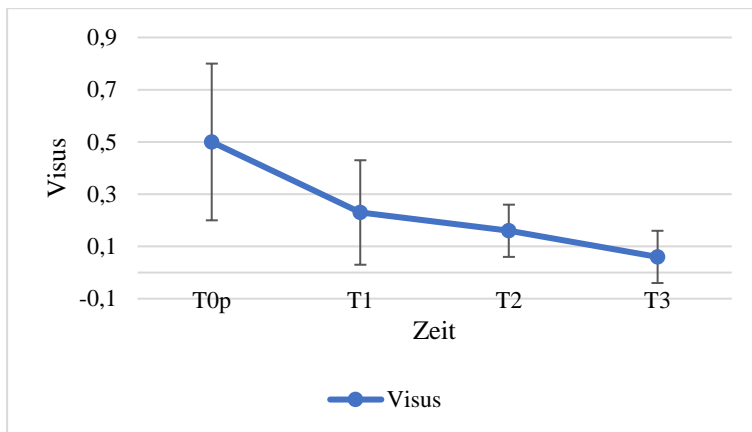


Abbildung 21: Visus in logMAR mit Mittelwerten und Standardabweichungen zu den Zeitpunkten T0_p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

5.7 Tensio vor und nach DMEK

Bei 41 der 56 Augen konnte der intraokulare Druck (IOP) im gesamten zeitlichen Verlauf von T0_p bis T3 erfasst werden. Die Ergebnisse sind in Tabelle 15 dargestellt.

Zeitpunkte	Mw IOP	SD	M IOP
T0 _p	13	3	13
T1	14	3	14
T2	15	5	14
T3	14	3	15

Tabelle 15: Tensio (IOP) in mmHg mit Mittelwerten (Mw), deren Standardabweichungen (SD) und Median (M) zu den Zeitpunkten T0_p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

IOP steigt im zeitlichen, paarweisen Vergleich signifikant an von T0_p zu T2 ($p = 0,008$) und von T0_p zu T3 ($p = 0,013$). Ansonsten konnten keine signifikanten Entwicklungen beobachtet werden, welches in Abbildung 22 veranschaulicht wird.

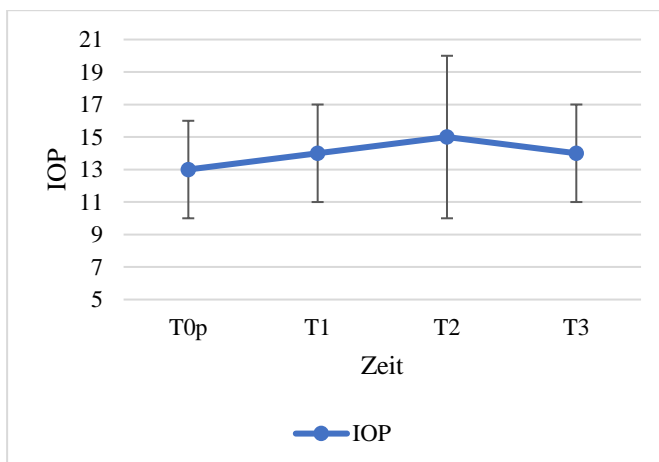


Abbildung 22: Tensio (IOP) in mmHg mit Mittelwerten und Standardabweichungen (SD) zu den Zeitpunkten T0_p: 1 Tag vor DMEK; T1: 6 Wochen nach DMEK; T2: 6 Monate nach DMEK; T3: 1 Jahr nach DMEK

5.8 Einfluss des prä-/perioperativem EZV auf postoperative, klinische Parameter

Der EZV 1, welcher den Verlust durch Präparation darstellt, war durchschnittlich 9%. Dieser korrelierte mit keiner der postoperativen, klinischen Parameter (EZD, Pachymetrie und Visus 6 Monate/1 Jahr postoperativ) ($p > 0.11$).

Der EZV 2, welcher den perioperativen Verlust darstellt, lag im Durchschnitt bei 42%. Er korrelierte signifikant mit der EZD 1 Jahr postoperativ ($p = 0,027$, s. Abbildung 23) und der Pachymetrie 1 Jahr postoperativ ($p = 0,019$, s. Abbildung 24).

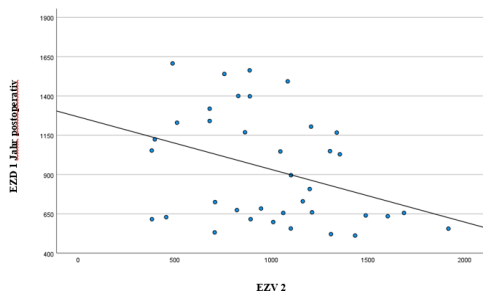


Abbildung 23: Signifikante Korrelation zwischen perioperativem Endothelzellverlust (EZV 2) und Endothelzell-dichte (EZD) 1 Jahr postoperativ ($p = 0.027$)

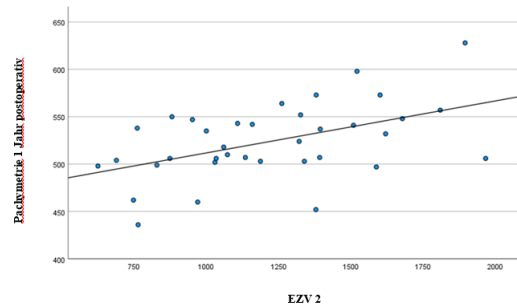


Abbildung 24: Signifikante Korrelation zwischen perioperativem Endothelzellverlust (EZV 2) und Pachymetrie 1 Jahr postoperativ ($p = 0,019$)

5.9 Einfluss des EZV auf postoperative Zellmorphologie

Es konnte eine signifikante inverse Korrelation zwischen dem EZV im Zeitraum 6 Monate und 1 Jahr postoperativ und dem „6A“- Wert 6 Monate postoperativ ($p = 0,037$) gezeigt werden. Woraus sich schließen lässt, je größer der Zellverlust ausfällt, desto weniger 6-seitige Endothelzellen lassen sich auf der Kornea finden.

5.10 Einfluss der Präparationsdauer auf EZV bei DMEK

Die Präparation der 56 EDML dauerte im Durchschnitt 8 min. Im Rahmen der zweiseitigen Pearson-Korrelation zwischen Präparationsdauer und dem EZV im Laufe der bekannten Zeitpunkte (T0-T3) konnte kein statistischer Zusammenhang gefunden werden.

5.11 Einfluss der Entfaltungsdauer auf EZV bei DMEK

Im Durchschnitt dauerte es 4 min, bis die EDML während der DMEK sich in den 56 erfassten Augen komplett entfaltete. Hierbei konnte kein statistischer Zusammenhang zu dem EZV im zeitlichen Verlauf und mit Hilfe einer zweiseitigen Pearson-Korrelation gefunden werden.

5.12 Triple-DMEK

Von den 16 insgesamt ausgeführten Triple-DMEK konnte bei 10 Operationen der EZV über die gesamte Zeitspanne (T_{0p} -T3) mitverfolgt werden. Hierbei fiel rein deskriptiv kein Unterschied der EZV im Vergleich zur herkömmlichen DMEK auf. Auch in multivariaten Tests konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden.

5.13 Postoperative Komplikationen nach DMEK

Bei den 56 behandelten Patienten kam es in 21 Fällen zu postoperativen Komplikationen, wie in Abbildung 25 zu sehen ist.

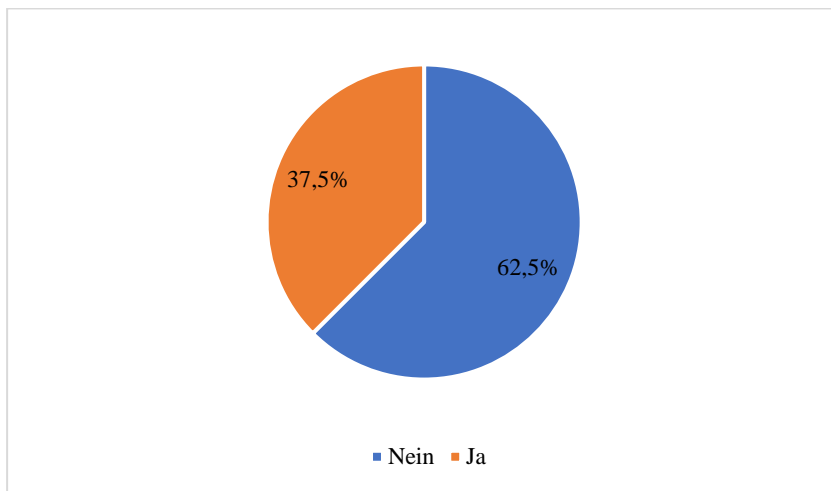


Abbildung 25: Auftreten postoperativer Komplikationen nach DMEK

Dazu zählten einmaliges oder mehrfaches Re-Bubbling; einmaliges oder mehrfaches Ablassen von Gas; im Verlauf benötigte Re-DMEK oder perforierende Keratoplastik; Fortecortin-Gabe; intraoperative Blutung und Epithelentfernung mit Hilfe einer Pinzette. Die Häufigkeit der genannten postoperativen Komplikationen nach DMEK ist in Abbildung 26 veranschaulicht.

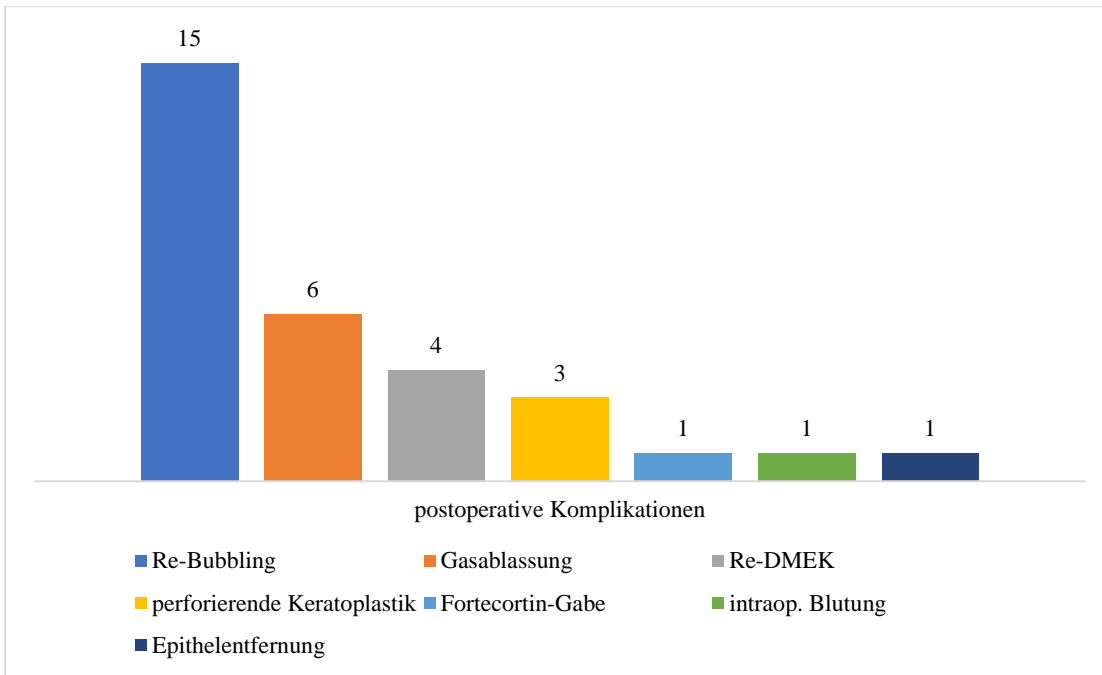


Abbildung 26: Aufteilung der postoperativen Komplikationen nach DMEK

Dabei traten einzelne Komplikationen auch aufeinanderfolgend auf. Einer Re-DMEK oder einer perforierenden Keratoplastik beispielsweise gingen immer zumindest ein Re-Bubbling voraus. Die verschiedenen Kombinationen von postoperativen Komplikationen werden in Abbildung 27 gezeigt.

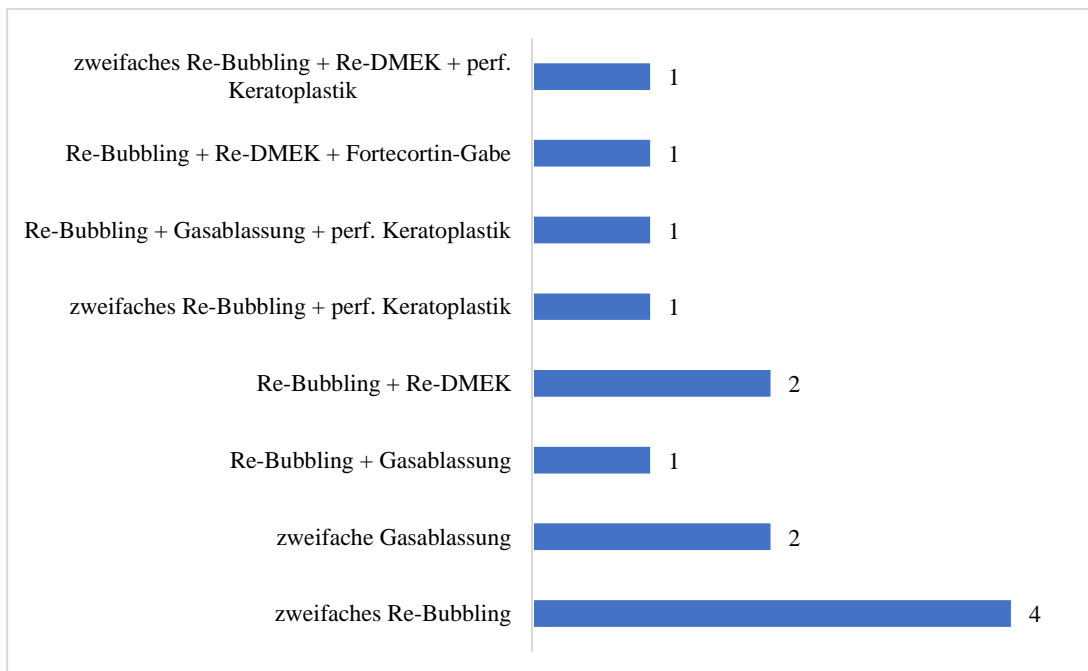


Abbildung 27: Kombination von postoperativen Komplikationen, aufgeführt jeweils in chronologischer Reihenfolge

6 Diskussion

6.1 EZD/EZV Quantifikation in Etappen

Mit Hilfe der von Safi et al. 2020³⁷ erstmals vorgestellten, Technik zur exakten, nicht-invasiven und reproduzierbaren Quantifikation der EZD auf EDML konnte im Rahmen dieser Studie⁵² zum ersten Mal der Verlust endothelialer Zellen im gesamten Verlauf einer DMEK von der Präparation bis hin zu einer postoperativen 1-Jahres-Kontrolle dargestellt werden. Hierbei interessierte besonders der EZV, welcher durch die einzelnen Etappen im klinischen Verlauf einer DMEK verursacht wurde. Dazu zählten nicht nur die peri- und postoperative Entwicklung der EZD, sondern auch der durch Präparation entstandene EZV. Jener fiel mit 9%, verglichen zu der initialen EZD auf der EDML signifikant aus ($p < 0,001$). Dies zeigt, dass bereits die Präparation einen entscheidenden Anteil an dem EZV während der gesamten DMEK beiträgt. Bereits Parekh et al. 2018²⁰ nannten die präzise Durchführung der Präparation durch einen erfahrenen Chirurgen als essentiell für den späteren Erfolg einer DMEK. Die Feststellung von Livny et al. 2017⁵⁹, dass eine sogenannte „No-touch“-Präparation besser für die langfristigen Ergebnisse einer DMEK ist, wird durch die nicht-invasive Zählmethode bestmöglich bestätigt. Aufgrund der erwiesenen, hohen Reproduzierbarkeit (Cronbach's alpha $> 0,9$) im Rahmen unserer Vorversuche³⁷ scheint der genannte EZV von 9% realitätsnah und möglichst exakt.

Im darauffolgenden Zeitraum von prä- zu 6 Wochen postoperativ kam es zu einem deutlichen Abfall der EZD. Mit einem EZV von 42% gehen hier, bezogen auf den Gesamtverlauf, laut unserer Ergebnisse, am meisten EZ verloren. Dieser Verlust ist gut in Abbildung 15 zu sehen. Der steile, perioperative Rückgang der EZD tritt auch in anderen, veröffentlichten Studien auf.^{30,53} Auch bei unseren Patienten flacht die Kurve des EZV bis 1 Jahr nach DMEK ab und zeigt somit einen grundsätzlich typischen Verlauf. Einzig die Höhe der Verlustrate scheint höher als bei anderen Veröffentlichungen. Basak et al. 2020⁵³ beispielsweise berichten lediglich über eine Verlustrate von 22,9% bis 3 Monate postoperativ. Bei einer durchschnittlichen EZD zu Beginn unserer Studie von 2584 Z/mm² auf den KSS und einer durchschnittlichen EZD von 2355 Z/mm² auf den EDML präoperativ scheint der starke Rückgang zunächst unwahrscheinlich. Denn auch bei ähnlichen Studien, wie der von Birbal et al. 2020³⁰ lag die initiale EZD bei 2530 Z/mm² und somit in einer vergleichbaren Größenordnung. Aber auch hier kam es lediglich zu einem Rückgang von 40% 6 Monate nach Eingriff. Bhogal et al. 2016⁶¹ nahmen an, dass es grundsätzlich zu einer Überschätzung der EZD durch die Hornhautbanken präoperativ kommt. Diese hänge damit zusammen, dass die EZD im zentralen Anteil der EDML im Allgemeinen höher sei als die EZD in der Peripherie. Präoperativ würde also vor allem die zentrale EZD berücksichtigt, wohingegen postoperativ die globale EZD gemessen würde. Folglich führte dies zu einem scheinbar höheren Verlust an Zellen perioperativ. Jedoch wurde in unserer Studie⁵² präoperativ der Durchschnitt der EZD aus zentralen und peripheren Anteilen der EDML gemessen, wodurch eine Überschätzung vor der DMEK unwahrscheinlich ist.

Aber auch andere Autoren wie Pipparelli et al. 2011⁶² gingen davon aus, dass es sich bei dem starken Abfall, um eine Überschätzung der lebensfähigen EZ durch die Hornhautbank handelte, eher als ein immenses Absterben der Zellen intraoperativ und perioperativ.

Deshalb lohnt der Blick auf die Erhebung der EZD nach erfolgter DMEK. Bei postoperativ eher niedrigen EZD-Durchschnitten von 1091 Z/mm² nach 6 Monaten und 939 Z/mm² nach 1 Jahr erscheinen die guten Ergebnisse von Visus und intraokularen Druck unserer Patienten erstaunlich. Der Visus (in logMAR) verbessert sich signifikant ($p < 0,001$) von präoperativ 0,50 auf 0,06 1 Jahr postoperativ. Auch der intraokulare Druck bleibt über die gesamte Zeit stabil im physiologischen Bereich. Dies stimmt mit der allgemeinen wissenschaftlichen Meinung überein, dass die DMEK zu exzellenten visuellen und klinischen Ergebnissen führt.³⁰ Unsere Ergebnisse weisen darauf hin, dass nicht allein die Höhe der EZD entscheidend für das klinische Resultat einer DMEK ist. Jedoch scheint die Höhe der initialen EZD auf den KSS ein Risikofaktor für mögliche postoperative Komplikationen darzustellen. Laut unserer deskriptiven Statistik zeigt sich, dass komplikationslose Verläufe anfangs eine EZD von durchschnittlich 2630 Z/mm² aufweisen, wohingegen die EZD bei Verläufen mit postoperativen Komplikationen nur bei 2436 Z/mm² liegt. Dies ist jedoch nur eine Tendenz, welche zumindest bei unseren Resultaten keine statistische Signifikanz zeigt. Allerdings wiesen Brockmann et al. 2019 ebenfalls nach, dass eine gewisse Untergrenze an initialer EZD, in deren Fall 2100 Z/mm², nicht unterschritten werden sollte, da sonst ein immenser Verlust an EZ drohe und es somit zu Komplikationen kommen könnte.

Das niedrige, postoperative EZD-Niveau könnte auch durch eine Ungenauigkeit des Messgerätes entstanden sein. Zur Messung wurde das EZ-Spiegelmikroskop „Tomey specular microscope EM-3000“ genutzt. Spiegelmikroskope sind bekannt dafür von Hersteller zu Hersteller sehr verschiedene Messergebnisse zu präsentieren. Bei dem Vergleich von zwei Messgeräten unterschiedlicher Marken konnte ein Unterschied von bis zu 525 Z/mm² festgestellt werden.⁹² Price et al. 2013⁹³ allerdings bescheinigten dem „EM-3000“ gute und vergleichbare Messwerte zu der manuellen EZ-Zählung. Auch wenn die Studie sich damals mit DSEK-Patienten und nicht mit DMEK behandelten Augen befasste, zeigt sie dennoch die Qualität des Gerätes bei korrekter Anwendung. Auch Huang et al. 2017⁹⁴ raten davon ab, sich vollständig auf Spiegelmikroskope in Sachen exakter EZD-Bestimmung zu verlassen. Dies wird begründet durch die Tatsache, dass frisch operierte Augen nach DMEK häufig Polymegalismus und/oder vergleichsweise große Endothelzellen aufweisen. Die niedrigen, postoperativen EZD Level könnten somit zumindest teilweise künstlich zustande kommen.

Zudem erweist sich die Durchlichtmikroskopie, welche in dieser Studie⁵² präoperativ genutzt wurde, als deutlich exakter als die postoperativ genutzten Spiegelmikroskope (Rickmann et al. 2019⁹⁵).

Des Weiteren könnte das niedrige EZD-Level nach DMEK mit der Tatsache erklärt werden, dass in unserer Statistik auch Verläufe mit postoperativen Komplikationen eingeflossen sind. Diese senken den Durchschnitt naturgemäß erheblich.

Diese Studie ⁵² konnte einen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen dem perioperativen EZV und der EZD 1 Jahr nach dem Eingriff feststellen.

Keinen Einfluss auf den EZV bzw. die EZD postoperativ dagegen haben die Präparationsdauer und die intraoperative Entfaltungsdauer der EDML. Laut unserer Resultate besteht kein signifikanter Zusammenhang zwischen den jeweiligen Parametern und dem Verlust an Zellen im Laufe der DMEK-Therapie und während der Follow-ups. Dies steht im Widerspruch zu der Ansicht, je länger die Präparation andauere, desto größer sei der EZV.⁵⁷ Auch in Sachen Entfaltungsdauer besagen unterschiedliche Studien, wie die von Gundlach et al. 2020 ⁷⁵, dass komplexeres Entfalten der Lamelle mit größerem EZV einhergeht. Jedoch wird hier besonders auf direkte Manipulation der Lamelle durch chirurgisches Werkzeug eingegangen und weniger die Dauer der Entfaltung.

6.2 Endotheliale Zellmorphologie nach DMEK

Zur Beurteilung der postoperativen Entwicklung der Zellmorphologie wurden die Parameter „CV“ und „6A“ zu den drei bekannten Nachkontrollen mit Hilfe des EZ-Spiegelmikroskops erhoben. Der „CV“-Wert zeigt dabei einen signifikanten Rückgang von 6 Wochen zu 6 Monaten ($p = 0,001$) bzw. von 6 Wochen zu 1 Jahr ($p = 0,008$) postoperativ. Dies spricht für eine Verkleinerung der Zelloberflächen und somit einer Regeneration im Rahmen des postoperativen Verlaufs. Mit Werten von durchschnittlich 42,9% nach einem Jahr liegen diese allerdings noch deutlich über den physiologischen Werten. Diese wurden von Doughty et al. 2008 ⁶⁹ in zwei unterschiedlichen Messmethoden bei gesunden Augen zwischen 26% und 28% gemessen. Dies spricht dafür, dass der Eingriff in Form einer DMEK zunächst zu einem Polymegalismus führt. Dieses Phänomen wurde bereits von McCarey et al. 2008 ⁶⁸ beschrieben. Die Regeneration der Zellen findet folglich noch lange (über ein Jahr) nach der Operation statt. Der Polymegalismus führt erwiesenermaßen auch zu ungenaueren EZD-Messungen ⁹⁶, was die zu niedrigen, postoperativen EZD-Zahlen erklären könnte. Die „6A“-Mittelwerte zeigen keine signifikante Veränderung über die Zeit. Man geht davon aus, dass eine EZ in hexagonaler Form auftritt und bei einer „idealen Kornea“ ein Wert von 100% bestehen würde. Eine physiologische Kornea jedoch zeigt in der Regel Werte um die 60%, je niedriger der Wert, desto pathologischer ist der Zustand der Kornea.⁶⁸ Verglichen hierzu, erscheinen die gefundenen Werte zwischen 28% und 35% sehr gering und sprechen für eine zeitweise Zunahme der deformierten bzw. nicht hexagonalen Zellen während und nach der DMEK. Deskriptiv gesehen allerdings, steigen die Werte von 27,8% nach 6 Wochen über 30,7% nach 6 Monaten bis hin zu 34,7% nach 1 Jahr. Dies könnte auch hier für eine Regeneration der EZ sprechen, die allerdings über ein Jahr anhalten würde. Eine statistisch signifikante Korrelation zwischen den Werten „CV“ bzw. „6A“ und postoperativen Komplikationen konnte nicht festgestellt werden. Jedoch zeigt sich im Rahmen der deskriptiven Statistik die Tendenz, dass Komplikationen eher bei postoperativen Verläufen auftreten, bei welchen der „CV“ zunächst auf hohem Niveau ($\geq 55\%$), also mit besonders großen Zellen beginnt (nach 6 Wochen postoperativ).

Allgemein lässt sich zusammenfassen, dass bei ausgeprägtem EZV eine Berechnung der morphologischen Parameter deutlich erschwert ist. Auch hier scheint weitere wissenschaftliche Forschung zu diesem Thema notwendig zu sein.

6.3 Densitometrie vor und nach DMEK

Die Densitometrie zeigte einen signifikanten Abfall im zentralen kornealen Bereich (Radius 0-2mm) von prä- zu 1 Jahr postoperativ. Dieser Rückgang betraf sowohl die posteriore Schicht der Hornhaut ($p < 0,001$), als auch die gesamte Kornea ($p = 0,006$). Dies stimmte mit der Meinung von Alnawaiseh et al. 2017⁷³ überein, gemäß deren Studie die zentrale Lichtstreuung der Kornea nach DMEK deutlich abnimmt. Es kam folglich zu einer deutlichen Verbesserung des Visus, welcher auch in unserer Studie⁵² eintrat. Des Weiteren fiel auf, dass es in der posterioren Schicht bereits nach 6 Wochen postoperativ zu einem signifikanten Rückgang im Vergleich zu präoperativ kommt ($p < 0,001$). Wohingegen sich in der gesamten Kornea ein signifikanter Unterschied erst nach 6 Monaten postoperativ zeigte ($p = 0,003$). Dieser Zeitversatz könnte für einen Heilungsverlauf der Kornea von posterior nach anterior sprechen.

In der Peripherie (Radius 2-6mm) der Hornhaut fand sowohl in der posterioren Schicht ($p = 0,059$) als auch in der gesamten Kornea ($p = 0,255$) im gesamten Zeitverlauf keine signifikante Veränderung bezüglich der Densitometrie statt. Besagte Ergebnisse decken sich, mit denen von Schaub et al. 2017⁷⁴, welche allerdings eine Veränderung von prä- zu postoperativ fanden. Jene fiel jedoch deutlich geringer aus als im zentralen Anteil der Hornhaut, was unsere Studie ebenfalls zeigt. Ein Rückgang der Lichtstreuung mit gleichzeitiger Verbesserung des Visus ist auch noch später als 1 Jahr belegt⁷⁴, weshalb weitere Folgekontrollen auch bei unseren Patienten Sinn ergäben.

6.4 Pachymetrie vor und nach DMEK

Die durchschnittliche, präoperative Pachymetrie zentral und im Abstand 2/4/6/8 mm, gemessen mit der Pentacam, lag in unserer Studie bei 652,9 μm . Dies entspricht fast identisch den Ergebnissen von Kwon et al. 2010⁷⁰, welche einen Durchschnitt von 656 μm vor einer DMEK fanden. Somit lag auch in unserer Studie die durchschnittliche Pachymetrie deutlich über der von gesunden Augen. Jene liegt bei ungefähr 542 μm ⁷⁰.

In der zuvor genannten Veröffentlichung wurden vor allem Augen, die an Fuchs'scher Endotheldystrophie erkrankten, beobachtet. Diese Diagnose fand sich auch in unserer Kohorte mit fast 95% am häufigsten als Indikation zu einer DMEK und erklärt die Ähnlichkeit der Ergebnisse. Einer Studie von Brockmann et al. 2019⁶⁷, wonach die präoperative Dicke von 625 μm zur Erhaltung guter postoperativer Ergebnisse bezüglich des Visus nicht überschritten werden sollte, widersprechen unsere

Resultate. Diese korrelierten, trotz eines höheren präoperativen Durchschnittes der Pachymetrie (652,9 μm), mit sehr guten visuellen Ergebnissen 1 Jahr nach DMEK (0,06 in logMAR im Durchschnitt). Perioperativ kam es im zentralen Anteil der Hornhaut zu einem signifikanten Abfall der Pachymetrie. Dies zeigten sowohl unsere Messungen der Pentacam ($p_{0\text{mm}} < 0,001$; $p_{2\text{mm}} < 0,001$; $p_{4\text{mm}} = 0,024$), als auch der Vorderabschnitts-OCT ($p < 0,001$). Dies deckt sich ebenfalls mit den Ergebnissen von Kwon et al. 2010⁷⁰. Mit einem Durchschnitt von 563 μm 6 Wochen nach unseren Eingriffen kommt es zu einer deutlichen Annäherung an die Pachymetrie gesunder Augen und unterstreicht die Wirksamkeit der DMEK-Therapie.

Ähnlich der Studie von Chamberlain et al. 2018⁷¹ kam es in der vorliegenden Studie⁵² zumindest zentral im weiteren zeitlichen Verlauf nun zu keinen signifikanten Veränderungen der Pachymetrie mehr.

Anders verhielt es sich mit den Daten der Peripherie (Abstand 6 & 8mm). Hier beobachtete man zunächst rein deskriptiv nach der DMEK ein Anstieg der Hornhautdicke. Dies könnte mit einer leichten perioperativen Schwellung, um die intraoperative Einschnittstelle erklärt werden. Eine andere mögliche Ursache ist die in der Regel im Vergleich zum Transplantat 0,5 mm größere Descemetorhexis. Ein Anstieg der Pachymetrie scheint unwahrscheinlich, wurde allerdings bereits von Spaniol et al. 2022⁴ beschrieben. Im gesamten zeitlichen Verlauf von präoperativ zu 1 Jahr postoperativ fand sich zentral und im Abstand 2/4 und 6 mm ein signifikanter Abfall der Pachymetrie ($p_{0\text{mm}} < 0,001$; $p_{2\text{mm}} < 0,001$; $p_{4\text{mm}} < 0,001$; $p_{6\text{mm}} = 0,001$), wohingegen der Radius 8 mm ($p = 0,197$) keine signifikante Veränderung zeigte. Dies erklärt sich möglicherweise mit dem Durchmesser des Transplantates, welcher nur 7,5 mm misst. In der Peripherie kommt es folglich zu keiner nennenswerten Veränderung der Hornhautdicke.

Die OCT-Messungen der Pachymetrie stimmten mit denen der Pentacam weitestgehend überein. Auch hier fiel ein signifikanter Rückgang im gesamten Verlauf von prä- zu 1 Jahr postoperativ auf ($p < 0,001$). Jedoch kam es im postoperativen Verlauf zwischen 6 Monaten und 1 Jahr nochmals zu signifikanten Veränderungen ($p_{\text{Apex}} = 0,019$; $p_{\text{ds}} = 0,022$), was der postoperativen Stagnation der Pachymetrie von Chamberlain et al. 2018⁷¹ widerspricht.

In der vorliegenden Studie⁵² konnte ein direkter, statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem perioperativem EZV und der Pachymetrie 1 Jahr nach DMEK festgestellt werden, je größer der Zellverlust ausfiel desto größer die Hornhautdicke 1 Jahr postoperativ.

Einen Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der Pachymetrie und postoperativen Komplikationen bestand dagegen nicht. Hierfür wurde beispielhaft die Ergebnisse der OCT-Messung des Apex der Hornhaut genommen.

6.5 Triple-DMEK

Die durchgeführten Triple-DMEK unterschieden sich bezüglich des EZV im Zeitverlauf von prä- zu 1 Jahr postoperativ nicht von den normalen DMEK und führten ebenfalls zu sehr guten visuellen

Resultaten. Dies stimmt mit Studien, wie der von Schwinde et al. 2019 ⁷⁷, überein, wonach beide Therapien zu gleichwertigen Ergebnissen führen. Laut dieser Studie kommt es bis zu 2 Jahre nach Eingriff zu Verbesserungen des Sehens. Zwar meinen auch Shahnazaryan et al. 2020 ⁷⁸, dass die Triple-DMEK eine gute Therapie-Option darstellt, jedoch fanden sie einen deutlich stärkeren EZV, welcher in unserer Studie nicht auftritt. Allerdings ist die Anzahl der auszuwertenden Eingriffe unserer Veröffentlichung sehr klein. Dasselbe gilt für die rein deskriptiven Tendenz, die sich in Kreuztabellen zeigt. Hierbei kam es nach Triple-DMEK bei 56% zu postoperativen Komplikationen. Bei normalen DMEK lag dieser Wert bei knapp 29%. Triple-DMEK könnten also ein Risikofaktor für das Auftreten von postoperativen Komplikationen sein. Leon et al. 2018 ⁷⁹ unterstützen diese These. Um tatsächlich statistisch aussagekräftige Feststellungen treffen zu können, müssten jedoch größere Fallstudien unsererseits durchgeführt werden.

6.6 Postoperative Komplikationen nach DMEK

Mit einer postoperativen Komplikationsrate von 37,5% lag der Durchschnitt unserer Studie hoch. Dabei ist die DMEK für seine geringe Rate an postoperativen Komplikationen bekannt. Dies wird in zahlreichen Studien belegt, wie z.B. der von Vasiliauskaitė et al. 2020 ²⁸, die unter anderem die Langlebigkeit des Transplantates nach DMEK-Therapie erklärt. Ähnlich diesen Studien jedoch kam es auch bei unseren Patienten zu sehr guten visuellen Ergebnissen im Verlauf bis zu 1 Jahr postoperativ. Aus diesem Widerspruch heraus lohnt es sich auf die einzelnen Komplikationen, welche bei unseren Patienten auftauchten, genauer zu schauen. Dazu gehörten banale „Komplikationen“ wie Re-Bubbling (einfach oder mehrfach), Ablassen von Gas (einfach oder mehrfach), Epithelentfernung mit Hilfe einer Pinzette und Fortecortin-Gabe; sowie schwere Komplikationen wie Transplantatabstoßung mit folgender Operation in Form von Re-DMEK oder perforierender Keratoplastik und intraoperativer Blutung, die nur bei 12,5% der gesamten Patienten auftraten.

6.6.1 Re-Bubbling

Zunächst wird das einfach oder mehrfach benötigte Re-Bubbling betrachtet. Mit einem Auftreten von knapp 27% unserer Augen lag es noch deutlich unter der Rate von Spaniol et al. 2022 ⁴, welche allein für einmaliges Re-Bubbling einen Wert von 25% aufwiesen. Dieser Wert lag in unserer Studie bei knapp 20%. Zudem kommen Siebelmann et al. 2020 ⁸³ zu dem Schluss, dass die Häufigkeit des Auftretens eines Re-Bubbings nicht im unmittelbaren Zusammenhang mit den visuellen Ergebnissen steht. Dies spiegelte sich auch in unserem durchschnittlich hohen Visus von 0,06 (in logMAR) 1 Jahr postoperativ wider. Jedoch sind sich verschiedene Studien, wie die von Hayashi et al. 2020 ⁶⁶ sicher, dass das Re-Bubbling ein Risikofaktor für einen hohen postoperativen EZV darstellt. Dies würde neben bereits genannten Gründen eine weitere Erklärung des geringen EZD-Niveaus nach DMEK in unseren Ergebnissen bieten. Auch Gundlach et al. 2020 ¹² kommen zu dem Schluss, dass das Risiko

eines stärkeren EZV nach erfolgtem Re-Bubbling, nicht die guten visuellen Resultate der DMEK im kurzfristigen Verlauf beeinflusst.

6.6.2 Schwere postoperative Komplikationen

Hier sollen die Abstoßungs-Reaktionen, in deren Folge es zu Re-DMEK oder perforierenden Keratoplastik kam, belichtet werden. Vor jedem dieser Eingriffe wurde zunächst mit Hilfe ein- oder mehrfachen Re-Bubbings versucht, das permanente Transplantatversagen zu verhindern. Bei 12,5% unserer DMEK-Eingriffe kam es dennoch zu permanentem Transplantatversagen und somit zur erneuten Operation. Im Vergleich zu Spaniol et al. 2022⁴, deren Transplantatversagen nach erfolgter DMEK bei 3% lag, erscheint unsere Rate mit 12,5% relativ hoch. Jedoch verglichen mit einem insgesamt 10-prozentigen Transplantatversagen, wie dem von Vasiliauskaité et al. 2020²⁸, wirken unsere Resultate im Rahmen. In der Studie von Birbal et al. 2020³⁰, kam es bei knapp 9% zu Vorfällen mit notwendigen Re-Keratoplastiken, auch das lässt unsere Quote, zwar weiterhin hoch, aber dennoch realistisch erscheinen. Die Veröffentlichungen mit unterschiedlichen Ergebnissen zeigen die große Spannweite der Wahrscheinlichkeit für das Benötigen eines erneuten operativen Eingriffs nach erstmaliger DMEK.

Die weiterhin guten visuellen Resultate am Ende unseres Beobachtungszeitraumes (1 Jahr postoperativ) könnten ein Hinweis auf die gute Wirksamkeit der Re-DMEK sein. Diese wird von Moura-Coelho et al. 2020⁸⁹ als sehr gute Therapieoption mit signifikanter Verbesserung des Visus beschrieben. Laut dieser Studie soll auch der EZV auf gleichem Niveau liegen, wie nach erstmaliger DMEK. Aber es soll zu vermehrtem Transplantatversagen nach Re-DMEK kommen. Unsere Resultate unterstreichen diese These, wenn auch nur tendenziell. In Folge von zwei der vier insgesamt stattgefundenen Re-DMEK, mussten weitere Maßnahmen erfolgen. Darunter fielen einmal eine perforierende Keratoplastik und einmal eine Fortecortin-Gabe. Eine weitere Erklärung für die Notwendigkeit erneuter Maßnahmen nach stattgefundener Re-DMEK könnte die Studie von Cohen et al. 2021⁸⁸ bieten. Sie besagt, dass es in Folge der operativen Behandlung von Augen mit komplizierten Vorderabschnitten mittels Re-DMEK häufiger zu Transplantatversagen kommt.

6.7 Fehlerquellen der vorgestellten Studie

Bei der betreffenden Studie⁵² wurden die Daten größtenteils retrospektiv erhoben, was einige Limitationen beinhaltet. Zunächst ist der Zeitraum der einzelnen Untersuchungstermine zu nennen. Die postoperativen Kontrollen konnten, unter anderem bedingt durch die zu dieser Zeit vorherrschende Covid-19-Pandemie, nicht immer exakt zu den angegebenen Zeitpunkten von 6 Wochen, 6 Monaten und 1 Jahr stattfinden. Letztlich wurden diese in einem Rahmen von plus/minus 3 Monate zum exakten Zeitpunkt durchgeführt. Dies könnte Verzerrungen vor allem der erhobenen

Endothelzellzahl bedeuten, aber auch andere Parameter beeinflussen. Zudem konnte beobachtet werden, dass die Erhebung der Endothelzellzahl mittels des Spiegelmikroskops stark untersucherabhängig ist und zu starken Schwankungen der Ergebnisse führen kann. So wurden teils höhere EZD im Vergleich zu einem früheren Zeitpunkt ermittelt, was rational auszuschließen ist. Außerdem gab es kein spezielles Randomisierungsverfahren in dieser Studie ⁵², was die Patientenauswahl und somit die Ergebnisse verfälschen könnte. Zuletzt konnten von den insgesamt 56 Augen nicht alle Untersuchungsparameter im gesamten Zeitraum verfolgt werden. Dies resultierte teilweise in unerwartet statistisch nicht signifikanten Aussagen.

6.8 Fazit

Trotz dem Status der DMEK als Goldstandard-Therapie bei Keratopathien, bestehen weiter Unklarheiten bezüglich wichtiger Einflussfaktoren. Besonders betrifft dies die präoperative Erhebung der Endothelzellichte und den Einfluss derselben auf den weiteren Verlauf bzw. die Resultate der Therapie. Bis zu der Einführung einer neuen, exakten, nicht-invasiven und reproduzierbaren Zählmethode des Endothelzellverlustes durch Präparation vor DMEK als Grundlage dieser Studie ⁵² durch unsere Klinik (Safi et al. 2020 ³⁷) gab es keine verlässliche Möglichkeit den gesamten Verlauf der Endothelzellichte exakt von prä- zu postoperativ festzustellen. Mit Hilfe weiterer Parameter wie der Veränderung der Endothelzell-Morphologie, der Pachymetrie, der Densitometrie, des Visus, der Tensio, der Entfaltungsdauer, der Präparationsdauer, sowie dem Auftreten von postoperativen Komplikationen konnte von prä- zu 1 Jahr postoperativ im Rahmen dieser retrospektiven Studie ⁵² hilfreiche Aussagen getroffen werden, welche zum weiteren Verständnis der DMEK-Therapie beitragen.

Zunächst ist es gelungen eine zuverlässige Zählung der Endothelzellen auf gerollten DMEK-Spender-EDML durchzuführen. Diese ergab, dass es bei Präparation vor DMEK zu einem durchschnittlichen Endothelzellverlust von bereits 9% kommt. Während des operativen Eingriffes kommt es zwar zum größten Rückgang der Endothelzellen, jedoch gehen auch im postoperativen Verlauf Zellen verloren. Nach 6 Monaten stabilisiert sich die Anzahl und es kommt im komplikationslosen Verlauf zu keinen weiteren signifikanten Veränderungen. Trotz einer hohen intraoperativen Verlustrate und somit eines niedrigen Levels an Endothelzellen postoperativ, zeigen unsere Patienten eine sehr gute visuelle, pachymetrische, sowie densitometrische Entwicklung. Auch der intraokulare Druck bleibt zu jedem Zeitpunkt im physiologischen Bereich.

Je höher der perioperative EZV ausfällt, desto niedriger fällt die EZD bzw. desto höher fällt die Pachymetrie 1 Jahr nach DMEK aus.

Im Rahmen der Endothelzell-Morphologie Veränderungen kann es bis zu ein Jahr postoperativ zur Erholung der Zellen kommen.

Aufgrund des teils widersprüchlichen und niedrigen postoperativen EZD-Niveaus sollte die weitere Erforschung neuartiger Methoden zur genaueren Quantifizierung von Endothelzellen nach DMEK angestrebt werden.

7 Literaturverzeichnis

1. Baydoun L, Mueller T, Lavy I, Parker J, Rodriguez-Calvo-de-Mora M, Liarakos V, Dapena I, Melles G. Ten-Year Clinical Outcome of the First Patient Undergoing Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea* 2017; 36:379–81.
2. Patel SV. Graft survival and endothelial outcomes in the new era of endothelial keratoplasty. *Exp Eye Res* 2012; 95:40–7.
3. Yoeruek E, Bayyoud T, Röck D, Szurman P, Bartz-Schmidt K-U. Klinische Ergebnisse nach Descemet-Membran-Endothelzelltransplantation. *Klein Monbl Augenheilkd* 2012; 229:615–20.
4. Spaniol K, Hellmich M, Borgardts K, et al. DMEK outcome after one year - Results from a large multicenter study in Germany. *Acta Ophthalmol* 2022; Sep 30. doi: 10.1111/aos.15257.
5. Flockerzi E, Maier P, Böhringer D, Reinshagen H, Kruse F, Cursiefen C, Reinhard T, Geerling G, Torun N, Seitz B. Trends in Corneal Transplantation from 2001 to 2016 in Germany: A Report of the DOG-Section Cornea and its Keratoplasty Registry. *Am J Ophthalmol* 2018; 188:91–8.
6. Die Augenklinik der Uni Homburg verfügt über eine eigene Hornhautbank, 2021. (<https://augenklinik-saarland.de/ueber-uns/kfzh-inkl-lions-hhb>).
7. Park CY, Lee JK, Gore PK, Lim C-Y, Chuck RS. Keratoplasty in the United States: A 10-Year Review from 2005 through 2014. *Ophthalmology* 2015; 122:2432–42.
8. Palma-Carvajal F, Morales P, Salazar-Villegas A, Figueroa-Vercellino JP, Spencer F, Peraza-Nieves J, Sabater N, Torras J. Trends in corneal transplantation in a single center in Barcelona, Spain. Transitioning to DMEK. *J Fr Ophtalmol* 2020; 43:1–6.
9. Kisilevsky E, Srikumaran D, Chew HF. Surgeon Preferences for Endothelial Keratoplasty in Canada. *Cornea* 2021; 40:1420-1425.
10. Iselin KC, Greenan E, Hynes C, Shaw S, Fulcher T, Power WJ, Quill B, Guerin M, Lee WH, Murphy CC. Changing trends in corneal transplantation: a national review of current practices in the Republic of Ireland. *Ir J Med Sci* 2020; 190(2):825-834.
11. Dickman M, Peeters JM, van den Biggelaar F, Ambergen T, van Dongen M, Kruit PJ, Nuijts R. Changing Practice Patterns and Long-term Outcomes of Endothelial Versus Penetrating Keratoplasty: A Prospective Dutch Registry Study. *Am J Ophthalmol* 2016; 170:133–42.
12. Gundlach E, Pilger D, Dietrich-Ntoukas T, Jousseaume AM, Torun N, Maier A-KB. Impact of Re-bubbling after Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty on Long-term Results. *Curr Eye Res* 2020; 46(6):784-788.
13. Schrittenlocher S, Schlereth SL, Siebelmann S, Hayashi T, Matthaei M, Bachmann B, Cursiefen C. Long-term outcome of Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) following failed penetrating keratoplasty (PK). *Acta Ophthalmol* 2020; 98: E901-906.
14. Kiel M, Bu JB, Gericke A, Vossmerbaeumer U, Schuster AK, Pfeiffer N, Wasilica-Poslednik J. Comparison of DMEK and DSAEK in Eyes With Endothelial Decompensation After Previous Penetrating Keratoplasty. *Cornea* 2021; 40:1218–24.

15. Maier P, Reinhard T, Cursiefen C. Hauchdünne Hornhauttransplantate – schnelle und gute Sehschärfenerholung. *Dtsch Ärztebl Int* 2013; 110(21): 365-71.
16. Matsou A, Pujari R, Sarwar H, Rana M, Myerscough J, Thomson S, Nandakumar G, Zhang J, Rajan M. Microthin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty Versus Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: A Randomized Clinical Trial. *Cornea* 2020; 40(9):1117-1125.
17. Chamberlain W, Lin CC, Austin A, Schubach N, Clover J, McLeod S, Porco T, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Descemet Endothelial Thickness Comparison Trial - A Randomized Trial Comparing Ultrathin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty with Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Ophthalmology* 2019; 126:19–26.
18. Dunker S, Dickman M, Wisse R, Nobacht S, Wijdh R, Bartels M, Tang M-L, van den Biggelaar F, Kruit P, Winkens B, Nuijts R. Quality of vision and vision-related quality of life after Descemet membrane endothelial keratoplasty: a randomized clinical trial. *Acta Ophthalmol* 2021; 99(7):E1127-1134.
19. Gibbons A, Leung E, Yoo S. Cost-Effectiveness Analysis of Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty Versus Descemet's Stripping Endothelial Keratoplasty in the United States. *Ophthalmology* 2019; 126:207–13.
20. Parekh M, Ruzza A, Romano V, Favaro E, Baruzzo M, Salvalaio G, Grassetto Andrea, Ferrari S, Ponzin D. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Learning Curve for Graft Preparation in an Eye Bank Using 645 Donor Corneas. *Cornea* 2018; 37:767–71.
21. Pereira NC, Pereira Gomes JA, Moriyama AS, Chaves LF, Forseto A. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Outcomes During the Initial Learning Curve of Cornea Fellows. *Cornea* 2019; 38:806–11.
22. Dunker SL, Veldman MHJ, Winkens B, van den Biggelaar F, Nuijts R, Kruit PJ, Dickman M. Real-World Outcomes of DMEK: A Prospective Dutch registry study. *Am J Ophthalmol* 2020; 222:218–25.
23. Schrittenlocher S, Schaub F, Hos D, Siebelmann S, Cursiefen C, Bachmann B. Evolution of Consecutive Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Outcomes Throughout a 5-Year Period Performed by Two Experienced Surgeons. *Am J Ophthalmol* 2018; 190:171–8.
24. Bayyoud T, Wilhelm H, Gelisken F, Martus P, Bartz-Schmidt KU, Thaler S. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: Development of Contrast Sensitivity and Color Vision in Patients With Fuchs Endothelial Corneal Dystrophy. *Cornea* 2020; 39:841–5.
25. Alshaker S, Mimouni M, Batawi H, Cohen E, Trinh T, Santaella G, Chan C, Slomovic A, Rootman D, Sorkin N. Four-Year Survival Comparison of Endothelial Keratoplasty Techniques in Patients With Previous Glaucoma Surgery. *Cornea* 2020; 40(10):1282-1289.
26. Seitz B, Daas L, Wykrota AA, Flockerzi E, Suffo S. Graft Failure after PKP and DMEK: What is the Best Option? *Klin Monbl Augenheilkd* 2022; 239(6):775-785.
27. Satue M, Idoipe M, Gavin A, Romero-Sanz M, Liarakos V, Mateo A, Garcia-Martin E, Blasco-Martinez A, Sanchez-Perez A. Early Changes in Visual Quality and Corneal Structure after DMEK: Does DMEK Approach Optical Quality of a Healthy Cornea? *J Ophthalmol* 2018; 2018:2012560.

28. Vasiliauskaite I, Oellerich S, Ham L. Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: Ten-Year Graft Survival and Clinical Outcomes. *Am J Ophthalmol* 2020; 217:114–20.
29. Basak SK, Basak S, Pradhan VR. Outcomes of Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (DMEK) Using Surgeon's Prepared Donor DM-Roll in Consecutive 100 Indian Eyes. *Open Ophthalmol J* 2018; 12:134–42.
30. Birbal R, Dhubhghaill SN, Bourgonje V, Hanco J, Ham L, Jager MJ, Bohringer S, Oellerich S, Melles G. Five-Year Graft Survival and Clinical Outcomes of 500 Consecutive Cases After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea* 2020; 39:290–7.
31. Boynton G, Woodward M. Eye-bank preparation of endothelial tissue. *Curr Opin Ophthalmol* 2014; 25:319–24.
32. Rand G, Gore P, Forest-Smith L, Livesay T, Chuck R. Factors Associated With Eye Bank Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Processing Damage. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60:3818.
33. Ong HS, Ang M, Mehta J. Evolution of therapies for the corneal endothelium: past, present and future approaches. *Br J Ophthalmol* 2021; 105(4):454-467.
34. Vianna L, Stoeger C, Galloway J, Terry M, Cope L, Belfort R, Jun A. Risk factors for eye bank preparation failure of Descemet membrane endothelial keratoplasty tissue. *Am J Ophthalmol* 2015; 159(5):829-34.e2.
35. Schaub F, Collmer M, Schrittenlocher S, Bachmann BO, Cursiefen C, Hos D. Outcome of Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Using Corneas from Donors ≥ 80 Years of Age. *Am J Ophthalmol* 2019; 211:200–6.
36. Schaub F, Enders P, Zachewicz J, Heindl L, Stanzel T, Cursiefen, C, Bachmann B. Impact of Donor Age on Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Outcome: Evaluation of Donors Aged 17-55 Years. *Am J Ophthalmol* 2016; 170:119–27.
37. Safi T, Seitz B, Berg K, Schulz K, Langenbacher A, Daas L. Reproducibility of Non-Invasive Endothelial Cell Loss Assessment of the Pre-Stripped DMEK Roll After Preparation and Storage. *Am J Ophthalmol* 2020; 221:17–26.
38. Altaan S, Gupta A, Sidney L, Elalfy M, Agarwal A, Dua H. Endothelial cell loss following tissue harvesting by pneumodissection for endothelial keratoplasty: an ex vivo study. *Br J Ophthalmol* 2015; 99:710–3.
39. Jardine G, Holiman J, Stoeger C, Chamberlain W. Imaging and quantification of endothelial cell loss in eye bank prepared DMEK grafts using trainable segmentation software. *Curr Eye Res.* 2014; 39:894–901.
40. Schallhorn J, Holiman J, Stoeger C, Chamberlain W. Quantification and Patterns of Endothelial Cell Loss Due to Eye Bank Preparation and Injector Method in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Tissues. *Cornea* 2016; 35:377–82.

41. Tran K, Dye P, Odell K, Galloway J, Stoeger C, Straiko M, Terry M. Evaluation and Quality Assessment of Prestripped, Preloaded Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Grafts. *Cornea* 2017; 36:484–90.
42. Menzel-Severing J, Walter P, Plum WJ, Kruse FE, Salla S. Assessment of Corneal Endothelium during Continued Organ Culture of Pre-Stripped Human Donor Tissue for DMEK Surgery. *Curr Eye Res* 2018; 43:1439–44.
43. Mayko Z, Benetz BA, Menegay H, Donovan C, Stoeger C, Terry M, Lass J. Donor Endothelial Cell Density Measurements Do Not Change Immediately After DMEK Preparation. *Cornea* 2016; 35:1556–61.
44. Muraine M, Gueudry J, He Z, Piselli S, Lefevre S, Toubeau D. Novel technique for the preparation of corneal grafts for descemet membrane endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2013; 156:851–9.
45. Seitz B, Daas L, Bischoff-Jung M, Szentmáry N, Suffo S, El-Husseiny M, Viestenz A, Milioti G. Anatomy-based DMEK Wetlab in Homburg/Saar: Novel aspects of donor preparation and host maneuvers to teach descemet membrane endothelial keratoplasty. *Clin Anat* 2017; 31:16–27.
46. Abdin A, Daas L, Pattmöller M, Suffo S, Langenbucher A, Seitz B. Negative impact of dextran in organ culture media for pre-stripped tissue preservation on DMEK (Descemet membrane endothelial keratoplasty) outcome. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018; 256:2135–42.
47. Downes K, Tran KD, Stoeger CG, Chamberlain W. Cumulative Endothelial Cell Loss in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Grafts From Preparation Through Insertion With Glass Injectors. *Cornea* 2018; 37:698–704.
48. Lie J, Birbal R, Ham L, van der Wees J, Melles G. Donor tissue preparation for Descemet membrane endothelial keratoplasty. *J Cataract Refract Surg* 2008; 34:1578–83.
49. Krabcova I, Studeny P, Jirsova K. Endothelial cell density before and after the preparation of corneal lamellae for Descemet membrane endothelial keratoplasty with a stromal rim. *Cornea* 2011; 30:1436–41.
50. Musayeva A, Livny E, Dragnea D, Ham L, Vasiliauskaite I, Ni Dhubhghaill S, van Dijk K, Oellerich S, Melles G. Endothelial Cell Density Changes in the Corneal Center Versus Paracentral Areas After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea* 2020; 39:1091–5.
51. Tavakol M, Dennick R. Making sense of Cronbach's alpha. *Int J Med Educ* 2011; 2:53–5.
52. Berg K, Safi T, Seitz B, et al. Non-invasive endothelial cell density measurement of in toto pre-stripped DMEK-roll – Impact of pre- and intraoperative endothelial cell loss on postoperative midterm clinical outcome. *Eye (Lond)*. 2023. doi: 10.1038/s41433-023-02450-x.
53. Basak SK, Basak S, Gajendragadkar N, Ghatak M. Overall clinical outcomes of Descemet membrane endothelial keratoplasty in 600 consecutive eyes: A large retrospective case series. *Indian J Ophthalmol* 2020; 68:1044–53.
54. Fajgenbaum M, Kopsachilis N, Hollick E. Descemet's membrane endothelial keratoplasty: surgical outcomes and endothelial cell count modelling from a UK centre. *Eye (Basingstoke)* 2018; 32:1629–35.

- 55.** Miron A, Bruinsma M, Ham L, Schaal SC, Baydoun L, Dapena I, Oellerich S, Melles G. In Vivo Endothelial Cell Density Decline in the Early Postoperative Phase After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea* 2018; 37:673–7.
- 56.** Peraza-Nieves J, Baydoun L, Dapena I, Ilyas A, Frank L, Luceri S, Ham L, Oellerich S, Melles G. Two-Year Clinical Outcome of 500 Consecutive Cases Undergoing Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea* 2017; 36:655–60.
- 57.** Borroni D, Gadhvi K, Wojcik G, Pennisi F, Vallabh N, Galeone A, Ruzza A, Arbabi E, Menassa N, Kaye S, Ponzin D, Ferrari S, Romano V. The Influence of Speed During Stripping in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Tissue Preparation. *Cornea* 2020; 39:1086–90.
- 58.** Arslan OS, Dogan C, Mergen B. Six-Month Results of Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty in 100 Eyes: First Clinical Results from Turkey. *Turk J Ophthalmol* 2019; 49:235–42.
- 59.** Livny E, Groeneveld-van Beek E, Lie J, Mangundap K, Bruinsma M, Birbal R, van der Wees J, Melles G. Minimizing Graft Preparation Failure in Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea* 2017; 36:1452–7.
- 60.** Rodríguez-Calvo de Mora M, Groeneveld-van Beek E, Frank L, van der Wees J, Oellerich S, Bruinsma M, Melles G. Association Between Graft Storage Time and Donor Age With Endothelial Cell Density and Graft Adherence After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *JAMA Ophthalmol* 2016; 134:91–4.
- 61.** Bhogal M, Balda M, Matter K, Allan B. Global cell-by-cell evaluation of endothelial viability after two methods of graft preparation in Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Br J Ophthalmol* 2016; 100:572–8.
- 62.** Pipparelli A, Thuret G, Toubeau D, He Z, Piselli S, Lefèvre S, Gain P, Muraine M. Pan-corneal endothelial viability assessment: application to endothelial grafts predissected by eye banks. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52:6018–25.
- 63.** Oellerich S, Ham L, Frank L, Gorges S, Bourgonje V, Baydoun L, van Dijk K, Melles G. Parameters Associated With Endothelial Cell Density Variability After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2020; 211:22–30.
- 64.** van Dijk K, Oellerich S, Lisanne H, Dhubhghaill S, Baydoun L, Melles G. Risk factors associated with high endothelial cell density decrease after Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2019; 60:3813.
- 65.** Maier A, Gundlach E, Schroeter J, Klamann M, Gonnermann J, Riechardt A, Bertelmann E, Jousen A, Torun N. Influence of the difficulty of graft unfolding and attachment on the outcome in Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2015; 253(6):895–900.
- 66.** Hayashi T, Schrittenlocher S, Siebelmann S, Le Hung VN, Matthaai M, Franklin J, Bachmann B, Cursiefen C. Risk factors for endothelial cell loss after Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK). *Sci Rep* 2020; 10(1):11086.

- 67.** Brockmann T, Pilger D, Brockmann C, Maier A-KB, Bertelmann E, Torun N. Predictive Factors for Clinical Outcomes after Primary Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty for Fuchs' Endothelial Dystrophy. *Curr Eye Res* 2019; 44:147–53.
- 68.** McCarey BE, Edelhauser HF, Lynn MJ. Review of corneal endothelial specular microscopy for FDA clinical trials of refractive procedures, surgical devices, and new intraocular drugs and solutions. *Cornea* 2008; 27:1–16.
- 69.** Doughty M, Aakre BM. Further analysis of assessments of the coefficient of variation of corneal endothelial cell areas from specular microscopic images. *Clin Exp Optom* 2008; 91:438–46.
- 70.** Kwon R, Price M, Price F, Ambrósio R, Belin M. Pentacam characterization of corneas with Fuchs dystrophy treated with Descemet membrane endothelial keratoplasty. *J Refract Surg* 2010; 26:972–9.
- 71.** Chamberlain W, Lin C, Austin A, Schubach N, Clover J, McLeod S, Porco T, Lietman T, Rose-Nussbaumer J. Descemet Endothelial Thickness Comparison Trial: A Randomized Trial Comparing Ultrathin Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty with Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Ophthalmology*, 2019; 126(1):19-26.
- 72.** Schaub F, Gerber F, Adler W, Enders P, Schrittenlocher S, Heindl L, Cursiefen C, Bachmann B. Corneal Densitometry as a Predictive Diagnostic Tool for Visual Acuity Results After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2019; 198:124–9.
- 73.** Alnawaiseh M, Rosentreter A, Prokosch V, Eveslage M, Eter N, Zumhagen L. Changes in Corneal Densitometry in Patients with Fuchs Endothelial Dystrophy after Endothelial Keratoplasty. *Curr Eye Res* 2017; 42:163–7.
- 74.** Schaub F, Enders P, Bluhm C, Bachmann B, Cursiefen C, Heindl L. Two-Year Course of Corneal Densitometry After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2017; 175:60–7.
- 75.** Gundlach E, Spiller N, Pilger D, Dietrich-Ntoukas T, Jousseaume A, Torun N, Maier AK. Impact of difficult unfolding and attachment of the graft lamella on the long-term outcome after Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2020; 258:2459–65.
- 76.** Sáles C, Terry M, Veldman P, Mayko Z, Straiko M. Relationship Between Tissue Unscrolling Time and Endothelial Cell Loss. *Cornea* 2016; 35:471–6.
- 77.** Schwinde J-H, Geerling G, Wojtecki L. Langzeitergebnisse nach Descemet-Membran Endothel Kerato-plastik (DMEK) und Triple-Descemet-Membran Endothel Keratoplastik (Triple-DMEK) im Vergleich. Düsseldorf: Universitäts- und Landesbibliothek der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2019.
- 78.** Shahnazaryan D, Sese AH, Hollick E. Endothelial Cell Loss After Descemet's Membrane Endothelial Keratoplasty for Fuchs' Endothelial Dystrophy: DMEK Compared to Triple DMEK. *Am J Ophthalmol* 2020; 218:1–6.
- 79.** Leon P, Parekh M, Nahum Y, Mimouni M, Giannaccare G, Sapigni L, Ruzza A, Busin M. Factors Associated With Early Graft Detachment in Primary Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2018; 187:117–24.

- 80.** Studeny P, Hlozankova K, Krizova D, Netukova M, Veith M, Mojzis P, Piñero D. Long-term Results of a Combined Procedure of Cataract Surgery and Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty With Stromal Rim. *Cornea* 2021; 40(5):628-634.
- 81.** Gómez-Benlloch A, Montesel A, Pareja-Aricò L, Mingo-Botín D, Michael R, Barraquer R, Alió J. Causes of corneal transplant failure: a multicentric study. *Acta Ophthalmol* 2021; 99(6):e922-e928.
- 82.** Koo EH, Pineda R, Afshari N, Eghrari A. Learning Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty: A Survey of US Corneal Surgeons. *Cornea* 2020; 39:590–3.
- 83.** Siebelmann S, Kolb K, Scholz P, Matthaei M, Franklin J, Händel A, Schrittenlocher S, Hayashi T, Guell J, Bachmann B, Cursiefen C. The Cologne rebubbling study: a reappraisal of 624 rebubbings after Descemet membrane endothelial keratoplasty. *Br J Ophthalmol* 2021; 105(8):1082-1086.
- 84.** Gerber-Hollbach N, Baydoun L, López EF, Frank L, Dapena I, Liarakos V, Schaal SC, Ham L, Oellerich S, Melles G. Clinical Outcome of Rebubbling for Graft Detachment After Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty. *Cornea* 2017; 36:771–6.
- 85.** Lazaridis A, Fydanaki O, Giallouros E, Georgalas I, Kymionis G, Sekundo W, Droutsas K. Recovery of Corneal Clarity After DMEK Followed by Rebubbling Versus Uneventful DMEK. *Cornea* 2018; 37:840–7.
- 86.** Mechels K, Greenwood M, Sudhagoni R, Berdahl J. Influences on rebubble rate in Descemet's membrane endothelial keratoplasty. *Clin Ophthalmol* 2017; 11:2139-2144.
- 87.** Straiko M, Bauer A, Straiko M, Potts L, Chen SY, Tran K, Terry M. Donor DMEK Tissue Characteristics: Association With Rebubble Rate and 6-Month Endothelial Cell Loss. *Cornea* 2020; 39:1267–73.
- 88.** Cohen E, Mimouni M, Sorkin N, Trinh T, Santaella G, Chan C, Rootman D. Risk Factors for Repeat Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty Graft Failure. *Am J Ophthalmol* 2021; 226:165-171.
- 89.** Moura-Coelho N, Manero F, Elies D, Amich N, Morral M, Gris O, Guell J. Repeat Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty for Failed Primary Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty at a Referral Center for Keratoplasty in Spain: DIMOEK Study. *Am J Ophthalmol* 2020; 215:49–55.
- 90.** Schmidt I, Schlötzer-Schrehardt U, Langenbucher A, Eppig T, Hager T, Zimpfer A, Seitz B. Ultrastructural findings in graft failure after Descemet membrane endothelial keratoplasty (DMEK) and new triple procedure. *Medicine (Baltimore)* 2019; 98:e15493.
- 91.** Bachmann B, Laaser K, Cursiefen C, Kruse F. A method to confirm correct orientation of descemet membrane during descemet membrane endothelial keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 2010; 149:922-925.e2.
- 92.** Jbara D, Achiron A, Antman G, Buhbut O, Hecht I, Tuuminen R, Bahar I, Elbaz U. Agreement of Corneal Endothelial Cell Analysis Between Konan-Noncon Robo SP-6000 and Tomey EM-3000 Specular Microscopes in Healthy Subjects. *Eye Contact Lens* 2020; 47:191–5.

- 93.** Price M, Fairchild K, Price F. Comparison of manual and automated endothelial cell density analysis in normal eyes and DSEK eyes. *Cornea* 2013; 32:567–73.
- 94.** Huang J, Maram J, Tepelus T, Modak C, Marion K, Sadda S, Chopra V, Lee O. Comparison of manual & automated analysis methods for corneal endothelial cell density measurements by specular microscopy. *J Optom* 2017; 11:182–91.
- 95.** Rickmann A, Boden K, Wahl S, Jung S, Boden K, Szurman P, Januschowski K. Significant differences between specular microscopy and corneal bank endothelial cell counts - a pilot study. *Acta Ophthalmol* 2019; 97:e1077-e1081.
- 96.** Doughty M. Further Analysis of the Predictability of Corneal Endothelial Cell Density Estimates When Polymegethism Is Present. *Cornea* 2017; 36:973–9.

8 Publikationsverzeichnis

1. Safi T, Seitz B, Berg K, Schulz K, Langenbacher A, Daas L: Reproducibility of Non-Invasive Endothelial Cell Loss Assessment of the Pre-Stripped DMEK Roll After Preparation and Storage. *Am J Ophthalmol* 2020; 221:17–26.
2. Berg K, Seitz B, Safi T, Munteanu C, Schulz K, Schwarz M Daas L: Nicht-invasive Quantifizierung der Endothelzellichte vor und nach Transplantation der in toto vorpräparierten DMEK-Rolle. Digitaler Vortrag (02.10.2021) auf dem 119. DOG-Kongress, 30.9.-3.10.2021
3. Berg K, Seitz B, Safi T, Daas L: Non-invasive endothelial cell density measurement of in toto pre-stripped DMEK-Roll – Impact of pre- and intraoperative endothelial cell loss on postoperative midterm clinical outcome. *Eye (Lond)*. 2023. doi: 10.1038/s41433-023-02450-x.

9 Danksagung

Als Autor der Dissertation möchte ich mich bei meiner Familie und Freunden bedanken, die mir zu jeglichen Zeitpunkten dieser Arbeit zur Seite standen. Mein Dank gilt besonders auch Herrn Safi, mit dessen Hilfe die Grundlage bzw. die Voraussetzung dieser Arbeit gelang. Außerdem möchte ich mich für die freundliche Mithilfe der Mitarbeiter des Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz und Frau Könnel aus dem Chefarztsekretariat der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar bedanken. Des Weiteren bin ich dankbar für die zuverlässige Betreuung durch Herrn Dr. Daas. ohne ihn wäre es nicht derart vorangegangen. Nicht zuletzt möchte ich mich herzlich auch bei Prof. Seitz bedanken, welcher diese Arbeit erst ermöglicht hat.

10 Lebenslauf

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

Tag der Promotion: 22.11.2023

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

Berichterstatter: Prof. Dr. Berthold Seitz

Prof. Dr. Matthias W. Laschke