

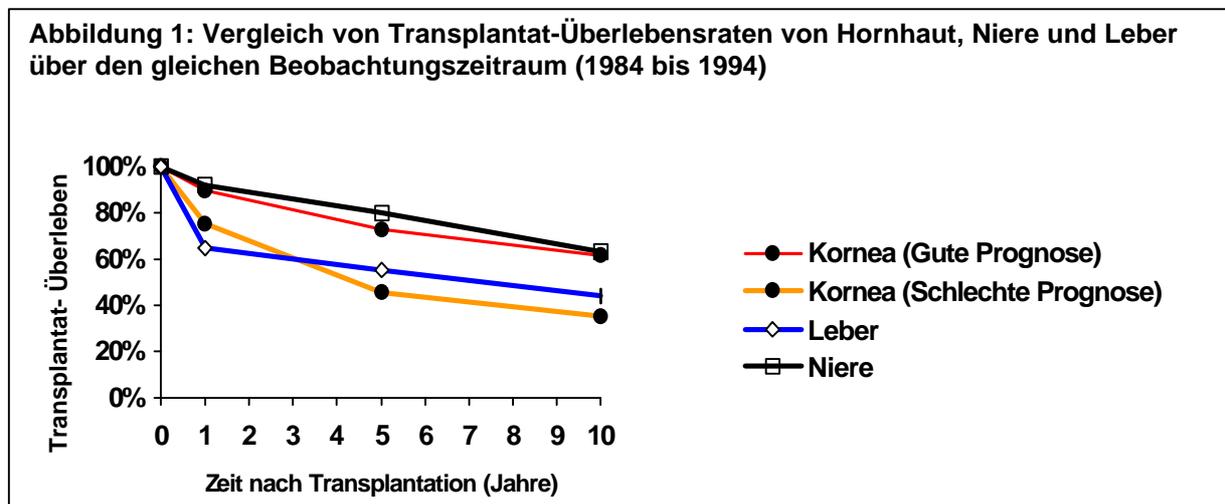
1. EINLEITUNG

1.1. Einführung

Die Transplantation der Kornea war, abgesehen von der Bluttransfusion, die erste erfolgreiche Gewebeerpflanzung beim Menschen und wird heute weltweit am häufigsten durchgeführt: Allein in den USA werden jährlich ca. 40000 solcher Operationen vollzogen [2].

Wie in Abbildung 1 illustriert, weisen dabei Keratoplastik-Patienten mit guter Prognose mit 85-95% sehr erfolgreiche Erst-Jahres-Überlebensraten auf [170, 183], die durchaus mit den Ergebnissen nach Nierentransplantation vergleichbar sind und deutlich über denen bei Herz- und Lebertransplantationen liegen [7, 8, 9].

Leider sind die Langzeiterfolgsraten von Patienten mit guter Prognose nach Korneatransplantation mit 74% nach 5 Jahren und 62% nach 10 Jahren deutlich erniedrigt [182]. Bei Patienten mit schlechter Prognose, d.h. Patienten mit prä-operativer Vaskularisation der Kornea in mehr als zwei Quadranten oder mit der Vorgeschichte einer bereits abgelaufenen Abstoßung nach Korneatransplantation, sind sie mit weniger als 35% nach 10 Jahren noch ungünstiger [182].



Aus diesem Vergleich wird deutlich, dass die heute erzielten Langzeit-Transplantat-Überlebensraten nach Keratoplastik noch durchaus verbesserungswürdig sind. Seit dem ersten dokumentierten Gelingen einer Hornhauttransplantation im Jahre 1906 [65] wurden durch methodische Veränderungen entscheidende Fortschritte erzielt. Dazu zählt neben dem Einsatz mikrochirurgischer Verfahren und weiterentwickelter Spenderhornhaut-Konservierungsverfahren besonders die

Einführung verfeinerter immunsuppressiver Therapiemethoden, wie zum Beispiel die lokale Steroidtherapie.

Nachdem damit die wesentlichsten Probleme auf operationstechnischem Gebiet zunehmend gelöst wurden, rückten die mit der Hornhautverpflanzung verknüpften immunologischen Mechanismen immer stärker ins Blickfeld.

So veröffentlichte Maumenee [99, 100] bereits in den frühen 1950er Jahren als Resultat seiner klinischen Studien erste Erkenntnisse über das mögliche Auftreten von immunologisch bedingten Abstoßungsreaktionen und deren Bedeutung im Hinblick auf eine vorzeitige Transplantateintrübung nach Keratoplastik.

Dennoch entstand aufgrund der vergleichsweise hohen Erfolgsraten nach Korneatransplantation die auch heute noch verbreitete Ansicht, dass die Hornhaut im Vergleich zu anderen Geweben „immunologisch privilegiert“ sei, welches sie von den konventionellen Gesetzen der Transplantationsimmunologie befreie. Demzufolge wird bei der Kornea-Allotransplantation, anders als bei vielen anderen Transplantationsverfahren, die Kompatibilitätsprüfung der Spender und Empfänger HLA Gewebeanigene (d.h. das sogenannte „HLA Match“) nicht routinemäßig durchgeführt. Die Spender-Empfänger-Zuordnung erfolgt also nicht mit dem Ziel der größtmöglichen Kompatibilität der HLA Gewebeanigene (engl. **H**uman **L**eucocyte **A**ntigens), obwohl deren prognostischer Nutzen v.a. in der Nierentransplantation nachgewiesen wurde [107] und heute unumstritten ist.

Dem ist jedoch entgegenzuhalten, dass gerade die immunologisch bedingte Abstoßungsreaktion nach Transplantation, im folgenden vereinfachend als „Immunreaktion“ bezeichnet, heute die Hauptursache für ein Transplantatversagen nach Korneatransplantation bei allen Patienten-Risikogruppen darstellt [168, 182]. Die Verminderung des Risikos einer solchen Immunreaktion ist daher von höchster Bedeutung für die Korneatransplantation.

In den letzten Jahren wurden zahlreiche Studien veröffentlicht (Kapitel 1.4. „Die aktuelle Studienlage“, Tabelle II), die zum Teil sehr kontroverse Ergebnisse über den Einfluss des HLA Match auf die Langzeit-Transparenz von Korneatransplantaten in die Diskussion eingebracht haben.

An unserem Standort wird seit fast 20 Jahren das HLA Match vor Korneatransplantation durchgeführt und darauf basierend die Spender-Empfänger-Zuordnung mit dem Ziel der größtmöglichen HLA Kompatibilität vollzogen.

In der vorliegenden Arbeit soll nun anhand von 459 Hornhauttransplantationen, die zwischen 1983 und 2001 im Universitätsklinikum Benjamin Franklin in Berlin Steglitz durchgeführt wurden, rückblickend untersucht werden, welchen Einfluss das prospektive HLA Match für die Antigene HLA A, B und DR auf die Langzeitprognose von Korneatransplantaten bei Hoch- und Normal-Risiko-Patienten hat.

Dazu sollen folgende Teilaspekte analysiert werden:

- Der Einfluss des HLA Matches auf die Inzidenz einer Immunreaktion
- Der Einfluss des HLA Matches auf die Inzidenz des immunologisch bedingten Transplantatversagens („IR-Trübung“)
- Die Relevanz der HLA Untergruppen („HLA Splits“) beim HLA Match
- Die Relevanz der prä-operativen Diagnosen (im folgenden als „Erst-Diagnosen“ bezeichnet), d.h. der Operationsindikationen die jeweils zur Hornhauttransplantation geführt haben, auf das Transplantatüberleben

1.2. Geschichte der Hornhauttransplantation

Die Korneatransplantation ist die älteste und wahrscheinlich auch eine der erfolgreichsten Formen einer homologen Gewebeverpflanzung beim Menschen [2]. Erste Ideen über die Wiederherstellung der Transparenz einer eingetrübten Hornhaut finden sich bereits in den Aufzeichnungen von Galen (130-200 n. Chr.), der über die Möglichkeit einer oberflächlichen Hornhautabtragung nachdachte [65]. In den folgenden Jahrhunderten wurde dieses Thema immer wieder und mit wechselndem Interesse von unzähligen Gelehrten und Ärzten aufgegriffen und diskutiert.

Die eigentliche Geschichte der Hornhauttransplantation begründete sich jedoch erst im ausgehenden 18. Jahrhundert, als sich im Rahmen der Aufklärung mehr und mehr ein mechanistisches Weltbild durchsetzte, welches die ideologische Grundlage für die späteren Entdeckungen bildete. Die Tabelle I gibt einen chronologischen Überblick über die wichtigsten Etappen dieser Entwicklung.

Tabelle I: Auswahl der wichtigsten Etappen der Keratoplastik-Geschichte (1789 bis 1955) [65]

Jahr	Autor	Arbeit/ Kommentar
1789	Pellier de Quengsy	Vorschlag, Teile der getrübbten Hornhaut durch transparentes Material zu ersetzen; damit Grundsteinlegung für die Keratoproteze
1797	E. Darwin	Theoretische Entwicklung der Idee, die getrübbte Hornhaut im ganzen mittels eines Schneidwerkzeuges zu entfernen.
1824	Reisinger	Prägung des Begriffs (perforierende) „Keratoplastik“, bei der die eingetrübte Hornhaut komplett entfernt und durch eine andere Hornhaut ersetzt wird; erstmalige tierexperimentelle Durchführung einer Hornhauttransplantation beim Kaninchen, jedoch schnelle Eintrübung der Transplantate
1837	Bigger	Erste erfolgreiche tierexperimentelle Keratoplastik mit homologen Spendermaterial bei der Gazelle
1839	Mühlbauer	Begründer der „lamellären“ Keratoplastik, bei der nur die oberen, getrübbten Bereiche der Hornhaut unter Belassung der tieferen Schichten entfernt und durch Spendermaterial ersetzt werden; dies hatte seiner Ansicht nach den Vorteil eines geringeren Infektionsrisikos, da die Augenvorderkammer nicht eröffnet wird
1840	Marcus	Formulierung von Prinzipien für die Keratoplastik, die bis heute gültig sind: passgenaues Ausschneiden des Transplantates und des Explantates möglichst schnelle Transplantation unter geringster Traumatisierung des Auges ausreichende Transplantatfixierung
1843	Steinberg	Entwicklung des ersten Trepanns, d.h. eines exakt (kreisförmig) schneidenden Operationswerkzeuges
1844	Kissam	Erster dokumentierter Versuch einer heterologen perforierenden Keratoplastik beim Menschen, bei der die Hornhaut eines Schweins verpflanzt wurde; schnelle Transplantateintrübung
1873	Power	Hervorhebung des Grundsatzes, homologes Spendermaterial zu verwenden, weil aufgrund der gleichen physikalischen Eigenschaften eine höhere Erfolgsrate zu erwarten sei
1877	von Hippel	Entwicklung eines sprungfederbetriebenen Trepanns; Verwendung von Chloroform zur Anästhesie; Hervorhebung der Verwendung heterologen Spendermaterials, nachdem ihm einige Transplantationen mit homologem Material misslungen waren; dadurch geriet die homologe Keratoplastik wieder zunehmend in Vergessenheit
1878	Sellerbeck	Erster dokumentierter Versuch einer homologen perforierenden Keratoplastik am Menschen, die jedoch scheiterte; Begründung folgender Grundsätze: Verwendung gesunder homologer Spenderhornhäute Empfohlene Transplantatgröße zwischen 4,5 bis 7 mm

1906	Zirm	Erste erfolgreiche homologe perforierende Keratoplastik beim Menschen, die über 7 Monate transparent blieb; Formulierung folgender Grundsätze: Menschliches Spendermaterial nach sorgfältiger Patientenauswahl Benutzung des v. Hippel-Trepan Anästhesie des Patienten während der OP Strikte Asepsis, jedoch Vermeidung des Kontaktes der Kornea mit dem Desinfektionsmittel Aufbewahrung der Kornea in mit physiologischer Kochsalzlösung befeuchteten Mullbinden
1908	Plange	Erste erfolgreich durchgeführte lamelläre Keratoplastik, bei der autologes Spendermaterial verwendet wurde, das über 5 Jahre klar blieb; Formulierung des Grundsatzes, dass autologes und homologes Spendermaterial für die Transplantation am geeignetsten sei
1911	Magitot	Vorstellung einer Methode zur Hornhautkonservierung mit auf 6° bis 8° C abgekühltem Blutserum, bei der das Transplantat seine Lebensfähigkeit bis zu 25 Tage behielt
1913	Salzer	Identifizierung der Hornhaut-Vaskularisation als Komplikation nach Keratoplastik und nicht als Teil des Heilungsprozesses (wie bis dahin angenommen wurde)
1919	Ascher	Erste Studie über 49 Fälle von perforierenden und lamellären Keratoplastiken: 40% Erfolgsrate; Benennung folgender günstiger Prognosefaktoren: geringes Spenderalter, gleiches Geschlecht, Augen der gleichen Seite
1927	Stanka	Studie über 50 Transplantationen: Identifikation folgender präoperativer Risikofaktoren: Hornhautinfektion mit Gonorrhö, Hornhautdystrophie, Glaukom
1930	Elschnig	Studie über 147 Transplantationen (von 1908 bis 1917): 22% Erfolgsrate
1935	Filatow	Entwicklung der ersten klinisch erfolgreichen Methode der Hornhautkonservierung: Gewinnung von Spenderhornhäuten von Leichen und Konservierung dieser in einer feuchten Kammer bei 4° C, Transplantation innerhalb 20 – 56 Stunden nach der Entnahme; Festlegung von Richtlinien für die Auswahl von geeignetem Spendermaterial: Hornhaut von enukleierten Augen lebender Spender nach Trauma, Glaukom oder Atrophie Autologes Material vom blinden Auge des selben Patienten
1940	Castroviejo	Entwicklung verbesserter Operationsmethoden und Instrumente
1942	Franceschetti	Entwicklung eines nach ihm benannten Trepanns, durch den die Transplantate pilzförmig ausgeschnitten werden
1945	Paton	Gründung der ersten Kornea-Bank in New York, USA
1950	Maumenee	Veröffentlichung erster Erkenntnisse über den Ablauf von immunologischen Abstoßungsreaktionen und Eintrübungsprozessen in Hornhauttransplantaten
1953	Harms	Einführung des Operationsmikroskops; Entwicklung der fortlaufenden Naht zur Transplantat-Fixierung
1955	Tudor Thomas	Formulierung von Richtlinien zur Entnahme von Spendermaterial: Entnahme unter sterilen Bedingungen Vermeidung einer Schädigung des Hornhautepithels durch Instrumente oder Medikamente Bei Leichen: Entnahme des Transplantats innerhalb der ersten 12 Stunden post mortem Spaltlampenmikroskopische Untersuchung der Spenderhornhaut auf Veränderungen Konservierung des entnommenen Spendermaterials in einer feuchten Kammer bei 3° bis 4° C

Die Entwicklungen der letzten fünfzig Jahre des 20. Jahrhunderts zählen aus heutiger Sicht zur „modernen Ära“ in der Geschichte der Hornhauttransplantation. In dieser Phase wurden in großem Umfang Neuerungen und Verbesserungen sowohl auf technischem als auch auf wissenschaftlichem Gebiet erzielt, sodass es unmöglich erscheint, sie an dieser Stelle adäquat darzustellen. Dazu zählen neben der Einführung der immunmodulatorischen Therapie und des Operationsmikroskops, der Entwicklung immer feinerer Nahtmaterialien und Nahttechniken und der Verbesserung und Miniatisierung der Operationsinstrumente vor allem auch Fortschritte beim Verständnis der pathophysiologischen und molekularen Zusammenhänge im Rahmen der Keratoplastik.

1.3. Immunologische Grundlagen der Hornhauttransplantation:

Sowohl das Auftreten als auch der Verlauf einer Immunreaktion nach Hornhauttransplantation sind klinisch durch die Spaltlampen-mikroskopische Beobachtung des Transplantats erkennbar (siehe Kapitel 1.3.2. „Klinische Einteilung der Immunreaktion nach Hornhauttransplantation“). Dennoch wäre zur eingehenderen Aufklärung der tatsächlichen histologischen, d.h. immunhistochemischen, ultrastrukturellen und molekularen Verhältnisse der Abstoßungsreaktion eine Biopsie zum Zeitpunkt der Immunreaktion geeigneter. So konnten zum Beispiel die immunologischen Zusammenhänge der Nierentransplantation nicht zuletzt dadurch weitgehend aufgeklärt werden, dass Biopsien auch während einer akut ablaufenden Immunreaktion entnommen wurden [60]. Im Gegensatz dazu ist es aus ethischen Gründen praktisch nicht vertretbar, noch während des Ablaufes einer Abstoßungsreaktion gegen ein humanes Hornhauttransplantat eine Biopsie zu entnehmen bzw. das Transplantat zu explantieren. Daraus folgt zum einen, dass die experimentellen Erkenntnisse zum Ablauf einer Immunreaktion in der Hornhaut mehrheitlich in Tierversuchen gewonnen wurden. Zum anderen repräsentieren jene Biopsien menschlicher Hornhäute, an denen histologische Untersuchungen durchgeführt werden konnten, oftmals nur den Zustand „ausgebrannter“ Transplantate zum Zeitpunkt einer späten bzw. sogar einer beendeten Transplantatabstoßung [91].

Im folgenden sollen daher zunächst die prinzipiellen bzw. die gesicherten Erkenntnisse über die immunologischen Zusammenhänge nach einer Transplantation dargestellt werden. Da die Rolle der jeweiligen Mechanismen an der Hornhaut jedoch noch diskutiert wird, soll darauf im Diskussionsteil näher eingegangen werden (siehe Kapitel 4.2. „Aktueller Stand: Immunbiologie der Hornhauttransplantation“).

1.3.1. Die Rolle des HLA Systems bei der Transplantatabstoßung

Bei der Abwehr fremder Antigene durch das Immunsystem des Empfängers spielen die T-Lymphozyten eine Schlüsselrolle, und zwar sowohl im Rahmen der Abwehr zum Beispiel viraler Infektionen als eben auch nach einer Gewebetransplantation.

Die Ausprägung einer Transplantat-Abstoßungsreaktion hängt wesentlich davon ab, inwieweit sich Spender und Empfänger in ihren Gewebeantigenen unterscheiden.

Diese Antigene werden als Histokompatibilitäts-Antigene bzw. Transplantations-Antigene bezeichnet, da ihre Wirkung historisch zuerst im Rahmen der Transplantationsmedizin erforscht wurde. Heute ist jedoch klar, dass sie nicht nur als Determinanten der Gewebeverträglichkeit bei einer Transplantation von Bedeutung sind, sondern für das Immunsystem insgesamt eine wichtige Rolle bei der Differenzierung von *Selbst* und *Nicht-Selbst*, sowie der Aufrechterhaltung des *Selbst* und der Abwehr des *Nicht-Selbst* spielen und damit wesentlich zu der Fähigkeit einer spezifischen Immunantwort beitragen [177].

Bis heute sind mehr als 30 Genregionen auf verschiedenen Chromosomen bekannt, die diese Transplantationsantigene kodieren. Abgeleitet aus verschiedenen klinischen Studien wird den Gewebeanthigenen, die von dem sogenannten Haupt-Histokompatibilitäts-Komplex (englisch: **M**ajor **H**istocompatibility **C**omplex; MHC) kodiert werden, die größere Potenz zur Auslösung einer Immunreaktion zugeschrieben [3]. Dementsprechend werden diese MHC-Antigene auch als „Major-Antigene“, d.h. starke Transplantationsantigene bezeichnet. Zu den Non-MHC Antigenen zählen neben den Blutgruppenantigenen (zum Beispiel AB0-System, Lewis-System) vor allem die sogenannten „Minor Antigene“, die als (vermeintlich?) schwächere Transplantationsantigene gelten. Dennoch sollte die Rolle der Minor Antigene bei der Entstehung einer Transplantat-Abstoßungsreaktion nicht unterschätzt werden (siehe Kapitel 4.4.3. „Non-HLA / Non-MHC Antigene“).

Die MHC Gene kommen bei allen Vertebraten vor und sind auf für die jeweilige Art spezifischen Chromosomen lokalisiert. Beim Menschen liegen sie auf dem kurzen Arm des Chromosom 6. Synonym zu dem Begriff „MHC“ wird in der Humanmedizin auch die Bezeichnung „HLA“ (engl. **H**uman **L**eucocyte **A**ntigens) verwendet, da diese *starken* Transplantationsantigene beim Menschen experimentell zuerst auf den Leukozyten nachgewiesen wurden.

Diese Gene werden nach den einfachen Mendel'schen Regeln vererbt und kodominant exprimiert. Daher besitzt jedes Individuum an jedem Genort zwei Allele (eines jeweils von einem Elternteil), wobei beide Allele gleichermaßen an der Zelloberfläche exprimiert werden. Differieren beide Allele voneinander, so wird das Individuum als *heterozygot*, bei Identität als *homozygot* bezeichnet. Die Gesamtheit der Allel-Ausstattung an allen HLA Genorten wird, da sie auf einem Chromosom liegen, als HLA Haplotyp bezeichnet.

Schon heute ist die Anzahl der bisher bekannten Allele je HLA Genort sehr hoch, d.h. zum Beispiel allein für den HLA B Lokus sind mehr als 90 verschiedene Varianten bekannt. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, dass dank weiter entwickelter Gewebetypisierungs-Verfahren (siehe Kapitel 2.1.3.) noch mehr identifiziert werden. Der Polymorphismus dieser Gene bzw. der von ihnen kodierten HLA Antigene äußert sich vor allem in strukturellen Unterschieden ihrer Peptidbindungsstelle und damit einer unterschiedlich ausgeprägten Fähigkeit, bestimmte Proteinfragmente zu binden und dem Immunsystem, d.h. den T-Lymphozyten zu präsentieren [136].

Strukturell stellen sich die HLA Antigene als an der Zelloberfläche exprimierte Heterodimere dar, deren quantitative Expression Zytokin-gesteuert ist [40]. Die HLA Gene werden in drei Klassen unterteilt [1, 136], wobei nur die HLA Gene der Klasse I (HLA A , B und C) und der Klasse II (HLA DR, DP und DQ) für die beiden HLA Antigen-Klassen kodieren, während die HLA Gene der Klasse III (HLA C4, FB und C2) für Komplement-Komponenten kodieren, die an der Aktivierung von C3 beteiligt sind (siehe Abbildung 2). Die für die Transplantation wichtigen HLA Antigen-Klassen I und II unterscheiden sich dabei deutlich sowohl in ihrer Molekülstruktur als auch in ihrer Funktion und Lokalisation auf den verschiedenen Zellarten:

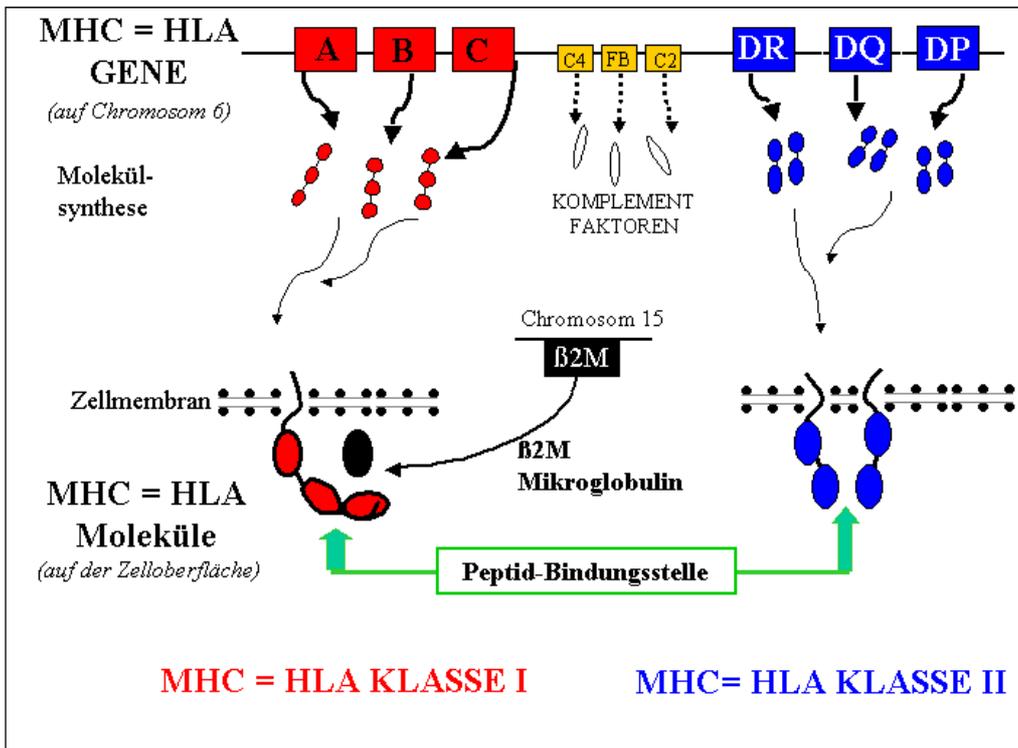
- Die HLA Antigene der Klasse I, wozu auch die von uns untersuchten HLA A und B Antigene gehören, werden von nahezu allen kernhaltigen Zellen exprimiert und sind daher auch auf kornealen Epithel-, Stroma- sowie Endothelzellen nachweisbar [48, 180]. Sie dienen der Interaktion mit (CD8+)-zytotoxischen-T-Lymphozyten (engl. cytotoxic-T-cells; CTLs), indem die Zellen dem Antigen-Rezeptor dieser T-Lymphozyten, d.h. dem funktionellem T-Zell-Rezeptor-Komplex (TZR-Komplex¹), intrazellulär synthetisierte Proteine mittels dieser HLA Klasse I Moleküle präsentieren. Unterscheiden sich Spender und Empfänger bezüglich dieser HLA Antigene, so werden die Spenderzellen zu Zielzellen der Immunantwort durch die CTLs des Empfängers und es kommt zur zellvermittelten Zytotoxizität, die mit einer induzierten Apoptose der Spenderzellen einhergeht [35, 131]. Dabei reagieren die CTLs des Empfängers auf die Spenderzellen in der gleichen Weise, wie auf zum Beispiel mit einem Virus infizierte Empfängerzellen, die virale (fremde)

¹ TZR-Komplex: Für die Signalübertragung ins Innere des T-Lymphozyten sind neben dem eigentlichen TZR weitere damit assoziierte Moleküle verantwortlich, zum Beispiel der CD3-Komplex sowie weitere co-stimulatorische Signale (zum Beispiel B7/CD28). Die Gesamtheit dieser Komponenten wird als funktioneller TZR-Komplex bezeichnet.

Antigene zusammen mit körpereigenen HLA Klasse I Antigenen präsentieren. Demnach können T-Zellen offenbar nicht zwischen fremden HLA Klasse I Antigenen und einem Komplex aus körpereigenen HLA Klasse I Antigenen und präsentierten Fremd-Antigenen differenzieren [70].

Abbildung 2: Schematische Darstellung der Gene des HLA Komplexes und der strukturellen Unterschiede der HLA Klassen I und II

(1) Die auf dem Chromosom 6 lokalisierten HLA Gene kodieren u.a. für die Moleküle der HLA Antigen-Klassen I und II (im Bild: HLA A, B und C als HLA Gene der Klasse I; HLA DR, DQ und DP als HLA Gene der Klasse II) sowie für Komplementfaktoren (HLA C4, FB und C2 als HLA Gene der Klasse III). (2) Eine Ausnahme bildet das sogenannte β 2-Mikroglobulin, welches als integraler Bestandteil der HLA Klasse I Moleküle von Genen kodiert wird, welche auf dem Chromosom 15 lokalisiert sind. (3) Nach dem Schritt der Molekülsynthese werden die verschiedenen HLA Moleküle durch die Zellmembran geschleust und auf der Zelloberfläche exprimiert. (4) Dort haben sie die Funktion antigene Peptidfragmente den für die jeweilige HLA Klasse spezifischen T-Lymphozyten (siehe Text) zu präsentieren, wobei diese Peptidfragmente an der sogenannten Peptid-Bindungsstelle gebunden werden.



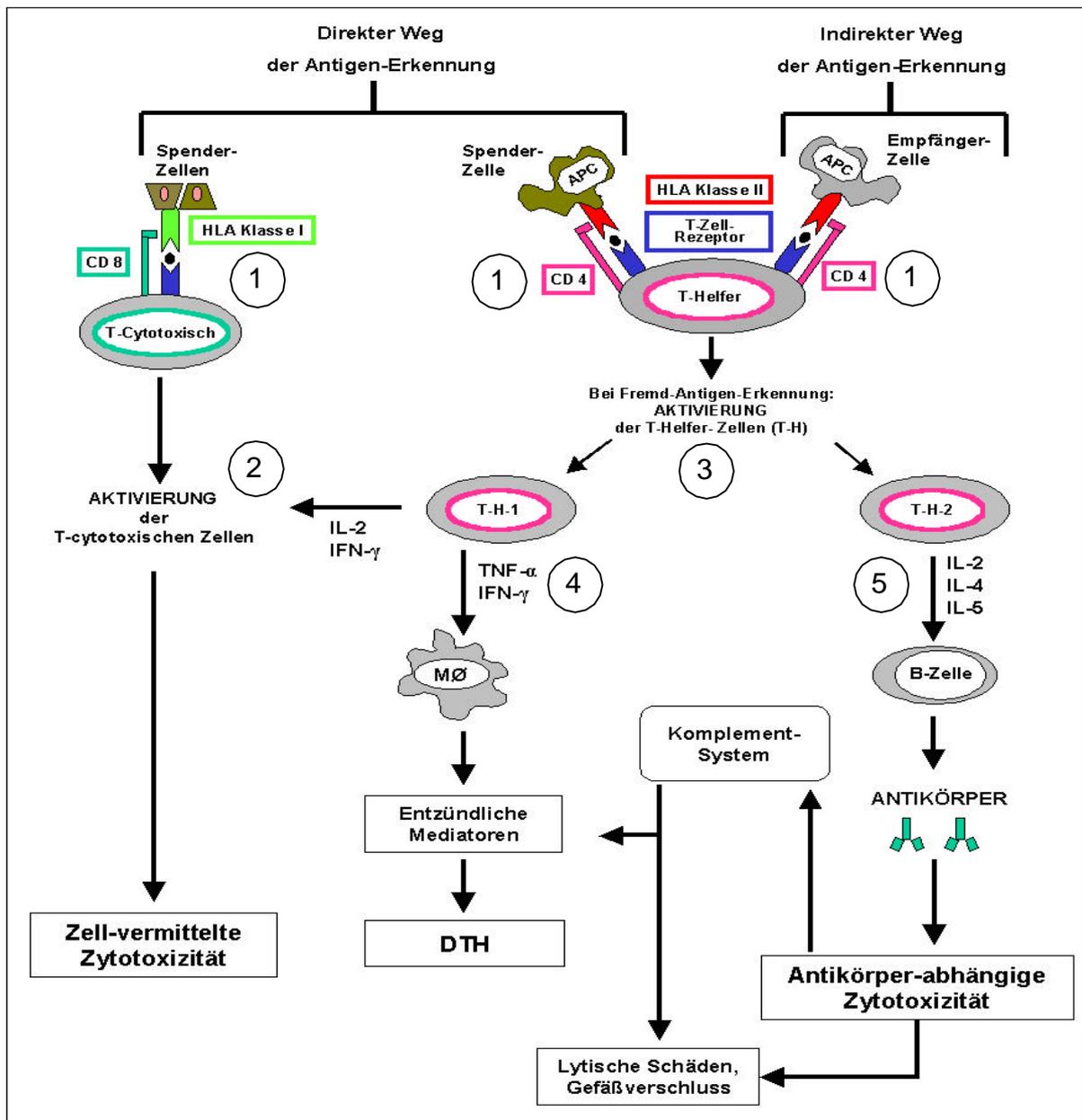
- Die HLA Antigene der Klasse II (zum Beispiel HLA DR) konnten hingegen bisher nur auf der Oberfläche bestimmter Zellen nachgewiesen werden: Dazu gehören vor allem immunkompetente antigenpräsentierende Zellen (engl. Antigen Presenting Cells; APCs) wie zum Beispiel B-Lymphozyten, Makrophagen, aktivierten T-Lymphozyten und die Langerhanszellen im Korneaepithel [41].

Darüber hinaus können sie vor allem nach der Transplantationsoperation [141] sowie bei Entzündungszuständen auch vom Korneaendothel exprimiert werden [40]. Diese HLA Moleküle dienen der Präsentation von zuvor durch die oben genannten Zellen aufgenommenen und prozessierten Antigenen gegenüber (CD4+)-T-Helfer-Lymphozyten. Es kommt genau dann zu einer Aktivierung dieser T-Lymphozyten, wenn entweder das durch Empfänger-APCs präsentierte Antigen als fremd erkannt wird („indirekte Fremdartigen-Erkennung“) oder wenn die T-Helfer-Lymphozyten des Empfängers das von Spender-APCs präsentierte Klasse II HLA Antigen als *Nicht-Selbst* identifizieren („direkte Fremdartigen-Erkennung“) [178]. Der zuletzt genannte Fall tritt dann ein, wenn die Spender- und Empfängerzellen hinsichtlich der Klasse II HLA Antigene (zum Beispiel in HLA DR) different sind. In beiden Fällen manifestiert sich die Aktivierung der (CD4+)-T-Helfer-Lymphozyten durch die Ausschüttung von Zytokinen, welche zu einer gegen das Transplantat gerichteten zellulären Immunreaktion vom verzögerten Typ (engl. Delayed Type Hypersensitivity; DTH) führen (siehe Abbildung 3).

Somit wird klar, dass das zentrale Moment in der Initiierung einer Transplantat-Abstoßungsreaktion in der Erkennung der fremden, d.h. vom Spender stammenden Gewebe-Antigene (vor allem der HLA Antigene) durch die T-Lymphozyten des Empfängers liegt [149]. Die im Anschluss an diese Initiierungsreaktion möglicherweise ablaufenden Prozesse sind in der Abbildung 3 dargestellt und erläutert. Gegenwärtig wird von vielen Autoren die Ansicht vertreten, dass bei der Hornhauttransplantat-Abstoßungsreaktion die zellvermittelten Mechanismen im Vordergrund stehen (siehe Kapitel 4.2.2. „Mechanismen der Hornhaut-Immunreaktion: CTL oder DTH?“). Dennoch ist auch eine Beteiligung anderer Mechanismen, zum Beispiel des humoralen Abwehrsystems denkbar. Darauf soll im Diskussionsteil (siehe Kapitel 4.4.5. „HLA Antikörper“) näher eingegangen werden.

Abbildung 3: Schematische Darstellung der bekannten Komponenten einer Transplantat-Abstoßungsreaktion:

(1) Empfänger-T-Lymphozyten (in der Abbildung: „T-cytotoxisch“ und „T-Helfer“) werden durch die Präsentation von Fremd-Antigenen aktiviert und zur Proliferation und Zytokin-Freisetzung angeregt. Bei der *direkten Fremd-Antigen-Erkennung* führen die von Spender-Zellen exprimierten und als fremd erkannten HLA Moleküle zur Aktivierung der T-Zellen des Empfängers. Bei der *indirekten Fremd-Antigen-Erkennung* werden prozessierte Fremdantigene durch Empfänger-APCs präsentiert. (2) Die Aktivierung von CTLs des Empfängers führt zur Zell-vermittelten Zytotoxizität. Diese kann durch Interleukin-(IL)-2 und Interferon-(IFN)-[gamma] Ausschüttung von T-Helfer-1-Zellen (T-H-1) unterstützt werden. (3) Die Aktivierung von T-Helfer-Zellen des Empfängers führt zur Proliferation von T-H-1 und T-H-2 Zellen. (4) Infolge einer IFN-[gamma] und Tumor-Nekrose-Faktor(TNF)-[alpha] Freisetzung aus den T-H-1 Zellen werden Makrophagen (MØ) aktiviert, die durch die Ausschüttung entzündlicher Mediatoren eine unspezifische Entzündungsreaktion und damit eine zelluläre Immunreaktion vom verzögerten Typ („DTH“) hervorrufen. (5) Durch IL-2, IL-4 und IL-5 Freisetzung aus T-H-2 Zellen werden B-Lymphozyten (B-Zellen) zur Antikörperproduktion angeregt. Dies führt zur Antikörper-abhängigen Zytotoxizität, sowie, genauso wie eine Komplementaktivierung, zu lytischen Schäden und Gefäßverschlüssen.



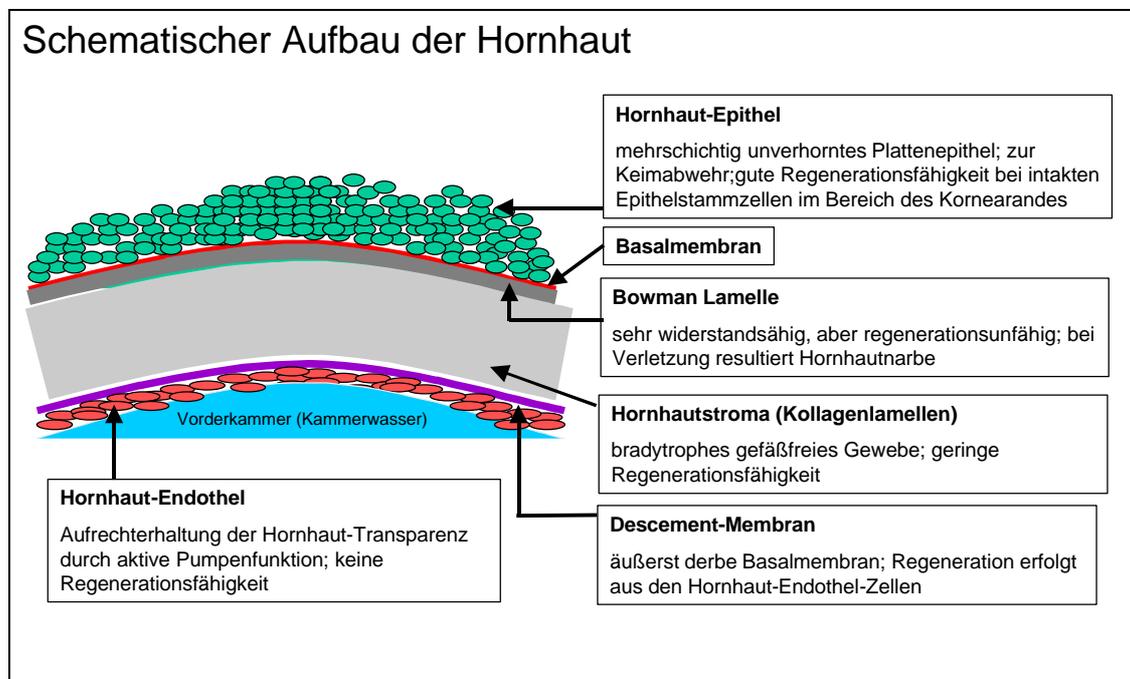
1.3.2. Klinische Einteilung der Immunreaktion nach Hornhauttransplantation:

Eine immunologisch bedingte Abstoßungsreaktion nach Keratoplastik tritt meistens innerhalb der ersten zwölf postoperativen Monate auf, sie kann aber auch noch nach mehr als 30 Jahren beobachtet werden [28]. Viele dieser Immunreaktionen führen nicht unweigerlich zum irreversiblen Transplantatversagen, vorausgesetzt sie werden frühzeitig diagnostiziert und mit ausreichender (lokaler) Kortikosteroidgabe therapiert. Dabei sind jedoch die Risiken einer intensiven Steroidtherapie (Katarakt, Glaukom, Infektionsneigung) zu bedenken.

Eine korneale Immunreaktion kann jede einzelne Schicht der Hornhaut betreffen (siehe Abbildung 4), wobei auch Abstoßungsreaktionen beobachtet werden, die mehrere Hornhautschichten gleichzeitig betreffen [86]. Dabei sind die Frühsymptome meist relativ unspezifisch und reichen von einer Photophobie über einen verminderten Visus bis zu leichten Schmerzen am betreffenden Auge.

Klinisch werden die folgenden Formen der Immunreaktion nach Keratoplastik unterschieden, die entweder einzeln oder kombiniert auftreten können:

Abbildung 4: Schematische Darstellung des Schichtenaufbaus der Hornhaut



Die epitheliale Immunreaktion

Diese Form der Immunreaktion, die weniger als 10% aller beschriebenen Immunreaktionen nach Keratoplastik ausmacht [181], wurde ausführlich in der Arbeit von Khodadoust und Silverstein [86] beschrieben. Sie tritt vor allem in Verbindung mit einer Vaskularisation der Hornhaut auf bzw. geht oft von einem eingewachsenen Hornhautgefäß aus. Dabei richtet sich die Abstoßung fast ausschließlich gegen das Epithel der Spenderhornhaut. Die beteiligten polymorph-kernigen Leukozyten und Lymphozyten des Empfängers zerstören das Spender-Epithel und verursachen dadurch eine Spaltlampen-mikroskopisch sichtbare, verdickte Linie, die von der Peripherie zum Zentrum der Spenderhornhaut voranschreitet. Gelegentlich werden auch oberflächliche epitheliale Infiltrate in der Nähe der Hornhautnähte beobachtet, sogenannte „Kaye's dots“, die ebenfalls nach zentral fortschreiten können. Die bei diesem Prozess zerstörten Spender-Epithelzellen werden durch neugebildete Epithelzellen des Empfängers ersetzt. Klinisch wird diese Form einer Abstoßungsreaktion häufig übersehen, da sie sich in der Regel selbst limitiert und neben einer gelegentlichen zirkum-limbalen Gefäßinjektion oft nur eine leichte Visusminderung verursacht. Ein Übergang der Reaktion auf das Hornhautstroma ist nicht zu erwarten, solange kein dauerhafter Defekt des Epithels besteht, wie dies häufig nach Verätzungen der Fall ist. Der Einsatz einer lokalen Steroidtherapie kann die Immunreaktion zwar abschwächen, jedoch oft nicht beenden [1].

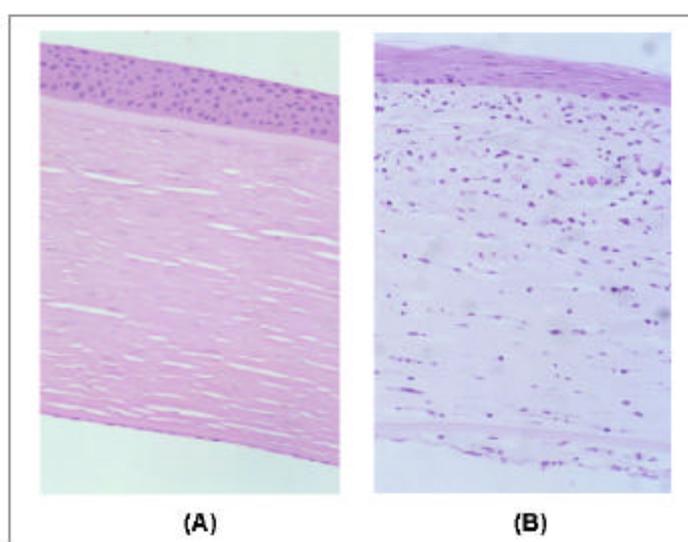
Die subepitheliale Immunreaktion

Nur einige Autoren [181] betrachten diese Art der Immunreaktion als eigenständiges Phänomen, während die meisten sie als Unterform der epithelialen Immunreaktion verstehen. Es treten kleine, weißliche subepitheliale Infiltrate auf, die sich direkt unterhalb der Bowman'schen Membran befinden [4] und wie zufällig über das Transplantat verteilt erscheinen. Ebenso werden gelegentlich eine begleitende Vorderkammer-Reaktion sowie endotheliale oder epitheliale Reaktionslinien beobachtet [1]. Dabei ist oft nicht eindeutig feststellbar, ob sich diese infiltrierte Lymphozyten gegen das Epithel oder die stromalen Keratozyten des Transplantats richten. Unter der Therapie mit Kortikosteroiden verschwinden diese Infiltrate häufig sehr schnell, es können jedoch geringfügige subepitheliale Hornhautnarben zurückbleiben. Auch können diese subepithelialen Infiltrate die Vorboten einer bevorstehenden endothelialen Immunreaktion sein [181].

Die stromale Immunreaktion

Die isolierte stromale Immunreaktion wird insgesamt relativ selten beobachtet bzw. diagnostiziert, da sie häufig von einer endothelialen Abstoßungsreaktion überschattet wird. Ähnlich wie bei der epithelialen Immunreaktion bestehen die ersten klinischen Symptome oft in einer plötzlichen Füllung der bulbären und limbalen Bindehautgefäße, hier jedoch begleitet von einem Ödem und einer hauchigen stromalen Trübung des Transplantats. Sehr oft geht diese Form der Immunreaktion mit der fortschreitenden Einsprossung neugebildeter Gefäße in die vorderen und mittleren Schichten der Empfänger- und Spender-Hornhaut einher. Hiervon ausgehend kommt es zu einer Infiltration des Hornhautstromas v.a. mit Monozyten, polymorphkernigen Leukozyten, Fibroblasten, Plasmazellen und Lymphozyten (Abbildung 5), die zu zellulären Veränderungen der stromalen Keratozyten und zu einer Zerstörung der epithelialen Basalmembran führen können [4, 139]. Die stromale Immunreaktion dauert oft Tage bis Wochen und ist durch frühzeitige Steroidtherapie meist gut beherrschbar. Unbehandelt kann sie jedoch zu einer irreversiblen Eintrübung und Vaskularisation des gesamten Transplantats führen.

Abbildung 5: Histologischer Vergleich einer (A) normalen Hornhaut und einer (B) abgestoßenen Hornhaut mit Entzündungszellinfiltrat (Kaninchenhornhaut)



Die endotheliale Immunreaktion

Hierbei handelt es sich um die häufigste und gefährlichste Form der Abstoßungsreaktion nach Hornhauttransplantation, da von ihr das nicht regenerationsfähige Hornhautendothel betroffen ist.

Erstes Anzeichen dieser Immunreaktion ist meist eine verstärkte Füllung der Konjunktivalgefäße im Bereich des Hornhautlimbus, gefolgt von kleinen punktförmigen Transparenzminderungen der Hornhaut, die wenige Tage später als ausgedehnte keratitische Präzipitate auf der Endothel-Oberfläche erscheinen können. Sie bilden nicht selten eine endotheliale Reaktionslinie, das sogenannte Polack-Band, welches aus T-Lymphozyten, Makrophagen und zerstörten Endothelzellen besteht und in der Regel in der Nähe eines neu eingewachsenen Gefäßes bzw. am Übergang zwischen Spender- und Empfänger-Hornhaut beginnt [4, 139]. Diese, später von Khodadoust [85, 86] beschriebene Reaktionslinie bildet die Grenze zwischen dem noch intakten und dem durch den Immunprozess zerstörten Endothel und schreitet über das Transplantat fort (siehe Abbildung 6). Da das zerstörte Hornhautendothel seine Funktion als aktive, gegen den Schwelldruck des Stromas arbeitende Pumpe verliert, entsteht in diesem Bereich ein ausgedehntes Stromaödem. Für den Patienten resultiert daraus eine erhöhte Blendempfindlichkeit, verschleiertes Sehen bzw. Visusverlust und nächtliches Sehen von sogenannten Halos, also Leuchtringen um Lichtquellen. Als Ausdruck einer entzündlichen Begleitreaktion der Iris können auch Entzündungszellen in der Vorderkammer vorhanden sein.

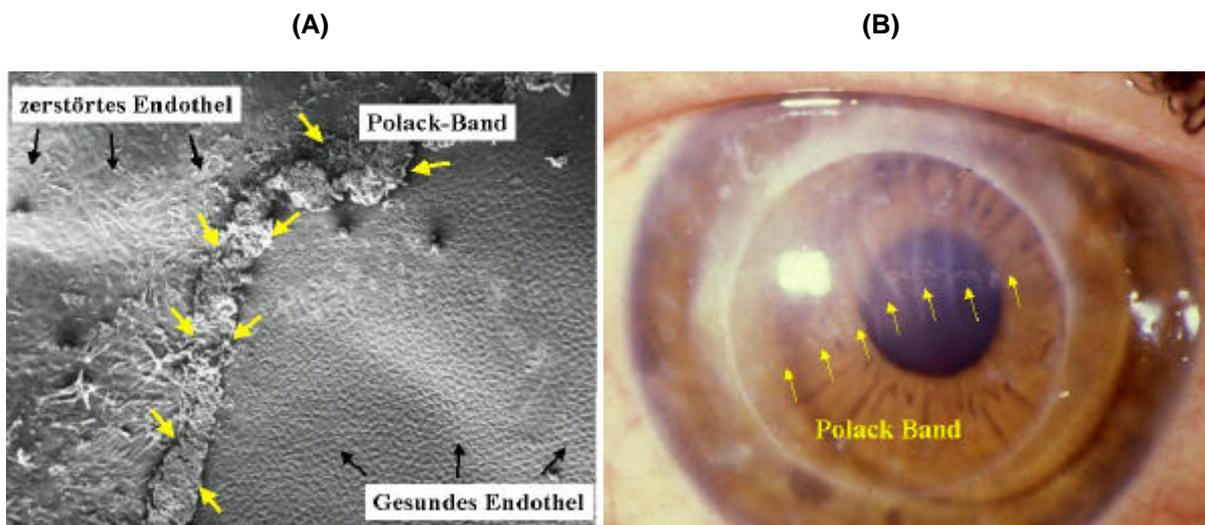
Durch den Einsatz topischer Steroide, welche die Lysierung der Lymphozytenzellmembran bewirken, kann die Immunreaktion gestoppt werden. Ob damit aber auch die Transplantateintrübung infolge des Hornhautödems rückgängig gemacht und so ein irreversibles Transplantatversagen vermieden werden kann, ist davon abhängig, in welchem Ausmaß das nicht regenerationsfähige Endothel der Spenderhornhaut bereits geschädigt ist: Nur bei einer noch adäquaten Anzahl intakter Spender- und Empfänger-Endothelzellen, welche durch Zellwachstum und Migration über die Descemet-Membran die durch die Zellerstörung entstandenen „Lücken“ füllen können, ist eine Wiederherstellung der Hornhauttransparenz zu erwarten [106]. Dabei ist jedoch der direkte Kontakt der Endothelzellen mit der Descemet-Membran entscheidend; dieser kann durch retrokorneale kollagene

Membranen unterbrochen sein, die im Rahmen der Endothelzerstörung und der Immunreaktion neu entstehen können [1] und die Reparatur verhindern.

Insgesamt sind die Chancen, ein irreversibles Transplantatversagen durch eine Steroidtherapie zu vermeiden, umso größer je später die Immunreaktion nach der Transplantationsoperation auftritt und je früher sie nach ihrem Beginn diagnostiziert und behandelt wird. Daher handelt es sich bei der endothelialen Immunreaktion um einen medizinischen Notfall, der schnellstmöglich behandelt werden muss [1].

Abbildung 6: Immunreaktion der Hornhaut mit Polack-Band nach Keratoplastik:

- (A) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme. Immunreaktion an der Kaninchenhornhaut. Es sind Makrophagen am kornealen Endothel zu sehen (gelbe Pfeile), die den Bereich der bereits zerstörten Endothelzellen von den noch vitalen Zellen demarkieren.**
- (B) Klinisches Bild einer endothelialen Immunreaktion mit Polack-Band nach Keratoplastik beim Patienten.**



1.4. Die aktuelle Studienlage

Bezüglich der Bedeutung der Verwendung von sogenannten "HLA gematchten" Korneatransplantaten zur Vermeidung einer Immunreaktion bestand eine stetige kontroverse Diskussion, die sich in den widersprüchlichen Ergebnissen in der Literatur begründete. In den Tabellen II(a) und II(b) wird eine Übersicht über die bereits zum Thema des HLA Matches bei Keratoplastik veröffentlichten Studien gegeben, wobei ausgehend von der methodischen Qualität der einzelnen Studien eine Einteilung in „neuere“ und „ältere“ Studien erfolgte. Die Einordnung dieser Ergebnisse und eine ausführlichere Analyse der Studienlage soll im Diskussionsteil erfolgen (siehe Kapitel 4.1. „Ergebnisse zum HLA Match in der Literatur“).

Tabelle II: Auswahl klinischer Studien zum HLA Match:
(a) neuere klinische Studien; (b) ältere klinische Studien

- Zeit-Median Median der Nachbeobachtungsdauer aller Patienten (gerundet auf volle Jahre)
- Prognose Untersuchte Prognosegruppen: Normal- oder Hoch-Risiko-Patienten
- Ziel-Kriterien Ziel-Kriterien der statistischen Analysen:
 - „IR“ jede erstmalige (reversible oder irreversible) Immunreaktion;
 - „irrev. IR“ nur irreversible Immunreaktionen, d.h. immunologisch bedingtes Transplantatversagen;
 - „Versagen“ jedes (immunologisch und nicht-immunologisch bedingtes) Transplantatversagen
 - „n.d.“ Zielkriterium nicht definiert
- Art der HLA Typisierung:
 - „kontroll-sero“ serologische Typisierung durch Qualitäts-kontrolliertes (Referenz-)Labor
 - „sero“ serologisch durch nicht Qualitäts-kontrolliertes Labor
 - „DNA“ molekularbiologische (DNA-basierte) Typisierung
 - „n.d.“ HLA Typisierungsmethode nicht definiert

(a)

Autoren	Mono-/ Multi-Zentrisch	Fall-Zahl	Zeit-Median (Jahre)	Prognose	Untersuchte Antigene (HLA und andere)	Ziel-Kriterien	Art der HLA Typisierung	Ergebnisse / Kommentare
Beekhuis, 2003, [16]	mono	303	4	Hoch-Risiko	A, B	irrev IR	kontroll-sero	retrospektive Studie; signifikant günstiger Einfluss des HLA A,B Matching auf die Rate der irreversiblen Immunreaktion; HLA Split Matching vor allem bei Nachbeobachtungszeiten zwischen 3-12 Jahren überlegen
Reinhard, 2003, [141]	mono	398	3	Normal-Risiko	A, B, DR	IR, Versagen	HLA Klasse1: kontroll-sero HLA Klasse2: DNA	retrospektive Studie; umfangreiche Standardisierung der Vergleichsgruppen; HLA Matching für HLA A, B, DR gemeinsam verringert die Immunreaktionsrate und verbessert die Überlebensprognose für Normal-Risiko Patienten signifikant
Bartels, 2001, [13]	mono	64	3	Normal- und Hoch-Risiko getrennt	A, B, DR	IR	DNA (retrospektiv)	Fall-Kontroll-Studie; signifikant günstiger Einfluss des HLA A und HLA DR Matching auf die Immunreaktionsrate für Hoch-Risiko-Patienten
Völker-Dieben, 2000, [176]	mono	1681	5	Normal- und Hoch-Risiko getrennt	A, B, DR	IR, irrev IR	kontroll-sero	Signifikant günstiger Einfluss des HLA AB und HLA DR 7Matching auf die Immunreaktionsraten beider Risiko-Gruppen

(b)

Autoren	Mono-/ Multi-Zentrisch	Fall-Zahl	Zeit-Median (Jahre)	Prognose	Untersuchte Antigene (HLA und andere)	Ziel-Kriterien	Art der HLA Typisierung	Ergebnisse / Kommentare
Roy, 1997, [144]	mono	693	3	Normal- und Hoch-Risiko getrennt	A, B, Lewis-Antigene	IR	n.d.	Signifikant günstiger Einfluss des Matching für HLA A,B und Lewis-Antigene auf die Immunreaktionsrate für Normal-Risiko-Patienten
Hill, 1997, [64]	mono	115	2	Normal- und Hoch-Risiko zusammen	A, B, DR	IR	Sero	Matching für HLA A + DR verringerte die Rate der Immunreaktionen; Matching für HLA B erhöhte die Inzidenz von Immunreaktionen und Transplantatversagen
Munkhbat, 1997, [112]; Morita, 1998, [108]	mono	81	3	Normal- und Hoch-Risiko getrennt	A, B, DRB1, DQB1, DPB1,	IR	DNA (retrospektiv)	signifikant günstiger Einfluss des HLA A und HLA DPB1 Matching nur bei Hoch-Risiko Patienten; kein signifikanter Einfluss des HLA B, -DRB1 und -DQB1 Matching
Baggesen, 1996, [12]	mono	74	3	Hoch-Risiko	DRB1, DQ	Versagen	Dann	signifikant günstiger Einfluss des HLA DRB1 Matching auf das Langzeit-Transplantat-Überleben
Hoffmann, 1994, [70]	mono	248	2	Normal- und Hoch-Risiko getrennt	A, B, DR	IR	kontroll-sero	2 und mehr Mismatches in HLA B und -DR erhöhen die Immunreaktionsrate in beiden Risiko-Gruppen; kein signifikanter Einfluss von HLA A Mismatches nachweisbar
CTFS*, 1993, [24] Vail, 1994, [169]	multi	602	2	Normal- und Hoch-Risiko zusammen	A, B, DR	IR, Versagen	n.d.	Matching für HLA A und HLA B verringerte die Inzidenz einer Immunreaktion, Matching für HLA DR vergrößerte sie
CCTS**, 1992, [2]	multi	419	3	Hoch-Risiko	A, B, DR, AB0	IR, irrev IR, Versagen	Sero	prospektive Doppel-Blind-Studie; hochdosierte lokale Steroidtherapie; kein signifikanter Effekt von HLA A, HLA B oder HLA DR Matching nachweisbar; positiver Effekt der AB0-Blutgruppen-Übereinstimmung
Beekhuis, 1991, [17]	mono	107	3	Hoch-Risiko	A, B	irrev. IR	kontroll-sero	Transplantation erfolgte nur bei < 2 Mismatches (0 oder 1) in HLA A und HLA B: nach 3 Jahren 76,3% Transplantat-Überleben (d.h. ohne irrev. IR)
Baggesen, 1991, [11]	mono	51	3	Hoch-Risiko	DR	„graft survival“ (n.d.)	sero; DANN	Fall-Kontroll-Studie: 93% der Fälle mit HLA DR Matching wiesen ein Transplantat-Überleben von 18 Monaten auf; im Gegensatz dazu war dies nur bei 50% der Fälle ohne HLA DR Matching (historische Kontrollgruppe) der Fall
Boisjoly, 1990, [22]	mono	438	2	Normal- und Hoch-Risiko getrennt	A, B	IR	Sero	2 Mismatches in HLA A oder HLA B erhöhten signifikant das Risiko für (endotheliale) Immunreaktionen (relatives Risiko 2,1) in beiden Risikogruppen
Baumgartner, 1988, [15]	mono	62	1	Normal- und Hoch-Risiko getrennt	A, B	„Überleben“ (n.d.)	kontroll-sero	Signifikant günstiger Einfluss des HLA B Matching auf das Transplantat-Überleben von Hoch-Risiko-Patienten; kein signifikanter Einfluss des HLA A Matching nachweisbar

Autoren	Mono-/ Multi-Zentrisch	Fall-Zahl	Zeit-Median (Jahre)	Prognose	Untersuchte Antigene (HLA und andere)	Ziel-Kriterien	Art der HLA Typisierung	Ergebnisse / Kommentare
Boisjoly, 1986, [23]	mono	384	1	Normal- und Hoch-Risiko zusammen	A, B, DR	IR	Sero	Retrospektive Fall-Kontroll-Studie; signifikante Ergebnisse nur bei gemeinsamer Analyse der Risikogruppen: 95% der 152 Fälle mit „gutem“ HLA A,B,DR Matching (d.h. > 2 Matches in HLA A,B; > 1 Match in HLA DR) wiesen nach 1 Jahr noch keine Immunreaktion auf; aber nur bei 85% der 199 Fälle aus der Kontrollgruppe mit „schlechtem“ Matching war dies der Fall
Sanfilippo, 1986, [147]	mono	97	2	Hoch-Risiko	A, B	IR, irrev. IR	Sero	prospektive Doppel-Blind-Studie; nur 21% der Fälle mit „gutem“ HLA A,B Matching (d.h. > 1 Match in HLA A,B) erfuhren eine Immunreaktion, im Vergleich zu 49% der Fälle mit „schlechtem“ HLA A,B Matching (0 oder 1 Match)
Ozdemir, 1986, [128]	mono	40	2	Hoch-Risiko	A, B	Versagen	Sero	Prospektive Fall-Kontroll-Studie; Transplantat-Überleben 1.) nach 2 Jahren: 90% (18/20) in der Studiengruppe (mit HLA A,B Matching), 60% (12/20) in der Kontrollgruppe (ohne HLA A,B Matching); 2.) nach 5 Jahren: 85% (17/20) in der Studiengruppe, 55% (11/20) in der Kontrollgruppe
Hoffmann, 1986, [69]	mono	20	2	Hoch-Risiko	A, B, DR	IR	kontroll-sero	Signifikanter Zusammenhang zwischen der Anzahl von Mismatches in HLA B und HLA DR und der Immunreaktionsrate; für HLA A war kein signifikanter Einfluss nachweisbar
Foulks, 1983, [47]	mono	120	2	Hoch-Risiko	A, B, ABO	Versagen	Sero	retrospektive Fall-Kontroll-Studie: 83% (38/46) Transplantat-Überleben nach 29,6 Monaten in der Studiengruppe (HLA A,B Matching, ABO-Blutgruppen Kompatibilität, negative Lymphozyten-Kreuzprobe); 49% (35/71) Transplantat-Überleben nach 15,5 Monaten in der Kontrollgruppe (randomisierte Transplantate);

* CTFS Corneal Transplant Follow up Study;

**CCTS The Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group