

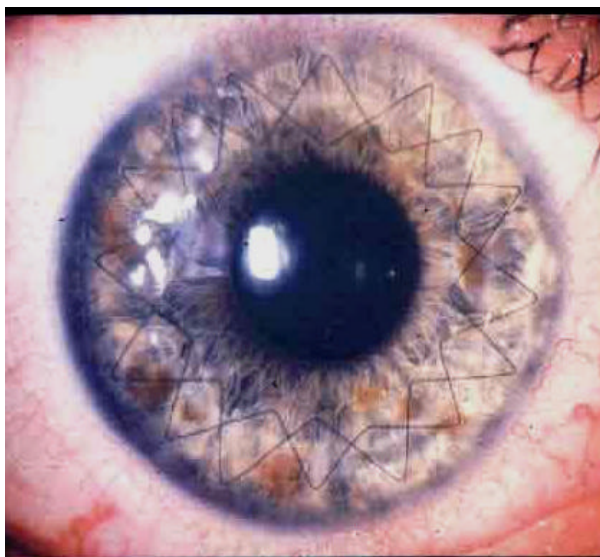
2. METHODEN

2.1. Transplantationsmethoden

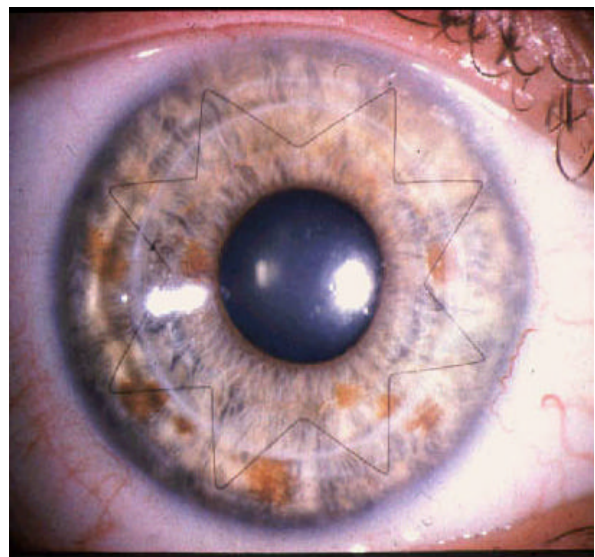
2.1.1. Techniken der Transplantation:

Die in dieser Arbeit betrachteten Transplantationen wurden ausschließlich mit einer perforierenden Keratoplastik mit Kreuzstichnaht nach Hoffmann [66] behandelt, die überwiegend in Lokalanästhesie, seltener auch in Intubationsnarkose durchgeführt wurde.

Abbildung 7 : Hornhaut mit liegender Kreuzstichnaht



**3 Wochen nach Transplantation
(2 liegende Hornhautfäden)**



**3 Monate nach Transplantation
(1 liegender Hornhautfaden)**

Das Hauptmerkmal dieser seit 1976 in der Augenklinik des Universitätsklinikums Benjamin Franklin angewendeten Kreuzstich-Nahttechnik, bei der die Knoten der Fäden im Stroma der Wirtskornea versenkt werden, besteht darin, dass über die erste fortlaufende diagonale Naht aus 10-0 Nylonfaden eine zweite fortlaufende diagonale Naht mit gleichem Nahtmaterial gelegt wird, welche aber um eine halbe Phase versetzt läuft. Dadurch wird erreicht, dass sich beide Fäden genau im Wundspalt kreuzen und der eine Faden an der Oberfläche des Wundspaltes verläuft, während der andere kreuzende Faden in der Tiefe des Wundspaltes liegt. Die folgenden Vorteile ergeben sich aus dieser Methode:

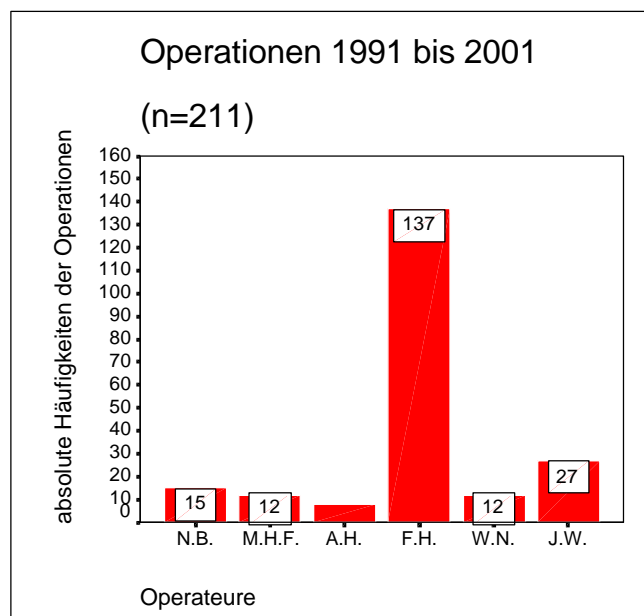
- Verwendung von nur wenig Nahtmaterial

- geringe Zahl von Einstichen und somit minimale Traumatisierung der Hornhaut
- optimale Adaptation des Wundspaltes (Bei nur 21 der 459 Patienten (4,6 %) wurden postoperativ Nahtinsuffizienzen beobachtet, welche durch das Nachlegen von Einzelnähten komplikationslos behoben wurden.)

Die Entfernung der Hornhautfixationsnähte erfolgte ambulant, wobei der erste Faden 2 bis 3 Monate nach der Operation (Abbildung 7) und der zweite Faden nach weiteren 3 bis 6 Monaten entfernt wurde.

In den Jahren 1983 bis 1991 wurden alle 248 Operationen entweder von Prof. Dr. F. Hoffmann (F.H.) oder von Dr. W. Noske (W.N.) ausgeführt. Dagegen wurden die 211 Patienten in den Jahren 1991 bis 2001 von sechs verschiedenen Operateuren operiert, wobei auch in diesem Zeitraum die weitaus meisten Transplantationsoperationen von Prof. Dr. F. Hoffmann durchgeführt wurden (siehe Abbildung 8). Insgesamt bleibt außerdem festzuhalten, dass alle Operationen von erfahrenen Operateuren mit identischen Methoden, d.h. der perforierenden Keratoplastik mit Kreuzstichnaht [66] vollzogen wurden.

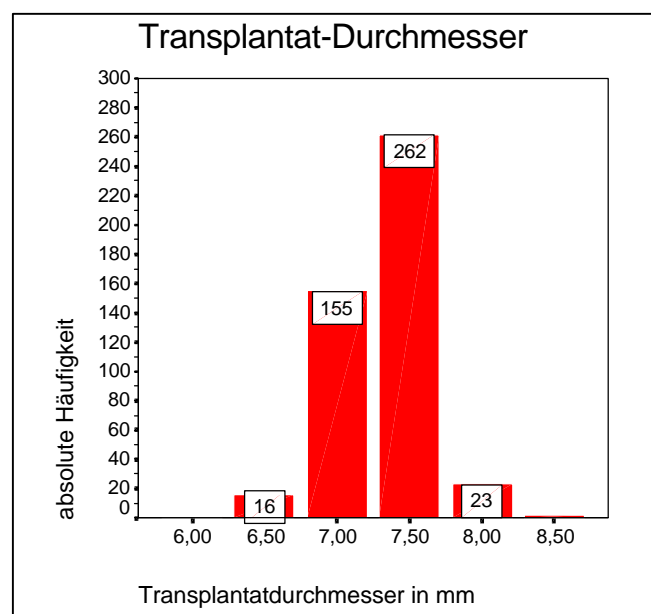
Abbildung 8: Absolute Häufigkeiten der Keratoplastik-Operationen je Operateur (1991 bis 2001)
nicht angegebene Häufigkeiten: A.H. => n=8



Soweit die Spenderhornhäute nicht direkt nach Entnahme transplantiert werden konnten, wurden sie mit den in Kapitel 2.1.2. („Transplantatgewinnung und Konservierung“) beschriebenen Methoden konserviert.

Der Durchmesser der mit dem Corneal Punch Cutter von Cardona zugeschnittenen Spenderhornhäute lag in 91% der Transplantationen zwischen 7,00 und 7,50 mm (siehe Abbildung 9), wobei 23 der 25 Transplantationen mit einem Transplantat-Durchmesser größer als 7,50 mm vor 1990 durchgeführt wurden. Dies trug der mehrfach veröffentlichten Erkenntnis [21, 174] Rechnung, dass das Risiko für eine Immunreaktion um so höher ist, je größer der Transplantat-Durchmesser ist bzw. dass Transplantate über 7,50 mm Durchmesser mit einem deutlich erhöhten Immunreaktionsrisiko einhergehen. Eine prä-operative Epithelabrasio des Transplantats, wie sie u.a. Kammann et al. beschreibt [81], wurde nicht durchgeführt, da verschiedene Argumente gegen dieses Verfahren sprechen: So belegen die Untersuchungsergebnisse von Peymann et al. [135], dass eine Epithelabrasio sich ungünstig auf das Operationsergebnis auswirken kann: Zum einen kann ein durch dieses Verfahren hervorgerufener Reizzustand die erhöhte Ausschüttung von Zytokinen und somit eine verstärkte Migration von immunkompetenten Zellen in das Transplantat hervorrufen. Zum anderen besteht neben dem Risiko einer oberflächlichen Narbenbildung auch die Gefahr, dass es infolge der intensiven post-operativen Steroidtherapie zu einer verzögerten Wundheilung und somit zu einem höheren Infektionsrisiko kommt. Darüber hinaus ist auch zu berücksichtigen, dass das Hornhautepithel ebenfalls an der Entquellung des kornealen Stromas beteiligt ist und damit zu einer raschen Visusverbesserung nach der Operation beiträgt.

Abbildung 9: Absolute Häufigkeiten der verwendeten Transplantatdurchmesser (1983 bis 2001; n=459): nicht angegebene Häufigkeiten: 6,00mm => n=1; 8,50mm => n=2



2.1.2. Transplantatgewinnung und Konservierung

Die Spenderhornhäute stammten entweder von gewebetypisierten Multiorganspendern aus dem Transplantationszentrum Berlin-Steglitz oder wurden vom Bio Implant Service (BIS) Foundation Leiden, aus den Niederlanden bezogen. Die Spenderhornhäute aus dem Berliner Transplantationszentrum wurden entweder direkt nach Entnahme bzw. nach Kurzzeit-Konservierung [84, 101] oder, entsprechend den von Eurotransplant erhaltenen Transplantaten, nach Langzeit-Konservierung im Gewebe-Kultur-Medium [130] transplantiert. Die wichtigsten Ziele der Konservierung waren:

- Erhaltung der Lebensfähigkeit des Gewebes und damit seiner Funktion,
- Schutz des Transplantats vor mikrobieller Kontamination,
- Vergrößerung des möglichen Zeitfensters zwischen Transplantatentnahme und seiner Einpflanzung in das Empfängerauge.

Die größte Bedeutung kam demnach der Aufrechterhaltung der Funktionsfähigkeit, d.h. der Transparenz des Transplantats zu. Wie Stocker bereits 1953 [155] zeigen konnte, hängt die Transparenz des Hornhautgewebes ganz wesentlich von der morphologischen Integrität der Hornhaut-Endothelzellen ab, die ihrerseits nicht regenerationsfähig sind.

Nach Eintritt des klinischen Todes des Spenders ist die weitere Funktionsfähigkeit seiner Hornhäute durch die folgenden Prozesse gefährdet: Im Auge des Spenders kommt nach dessen Tod die Kammerwasserproduktion und damit die Ernährung der Hornhautzellschichten relativ schnell zum Erliegen. Dennoch dauern die Stoffwechselprozesse innerhalb dieser Zellen in der Regel über die sistierende Kammerwasserproduktion hinaus weiter an. Auf diese Weise sinken einerseits der Sauerstoffgehalt und der Glukosespiegel im Kammerwasser immer weiter ab, andererseits steigt der Laktatspiegel ständig an. In dessen Folge werden vor allem die Endothelzellen geschädigt, die damit zunehmend ihre Funktion als aktive Pumpe und Diffusionsbarriere zwischen Kammerwasser und Korneastroma verlieren. Somit kommt es zum Wassereinstrom in das Hornhautstroma, d.h. zu einem Hornhautödem und zum Transparenzverlust [155].

2.1.2.1. Kurzzeit-Konservierung

Über die Jahre wurden verschiedene Methoden zur Kurzzeit-Konservierung verwendet [29, 84, 101], wobei deren Anwendung stets unabhängig vom HLA Match und der Prognose war. Insgesamt basierten alle diese Methoden auf dem Prinzip, dass die Hornhäute in einer auf ca. 4°C gekühlten speziellen Konservierungslösung aufbewahrt wurden. Dieser Konservierungslösung waren neben einer Bikarbonat-Pufferlösung zur pH-Wert-Einstellung auf 7,4 sowie verschiedenen Antibiotika zur Keimabwehr auch hochmolekulares Dextran (Molekular-Gewicht 40000) zur Dehydratation der Hornhaut, d.h. zur Verhinderung eines Hornhautödems zugesetzt. Auf diese Weise konnten die Spenderhornhäute mindestens über 3 bis 4 Tage konserviert werden. Die Begrenzung der Aufbewahrungszeit resultierte hierbei zum einen aus den, wenn auch durch die Kühlung verlangsamt ablaufenden, Stoffwechselprozessen der Hornhautzellen, zum anderen daraus, dass Dextran-Moleküle aus der Konservierungsflüssigkeit zunehmend in die Hornhaut eindiffundierten und sie so als Transplantat unbrauchbar machen konnten: Die im Transplantat eingelagerten hochmolekularen Dextran-Moleküle würden nach einer Transplantation schnell zu einer Quellung bzw. Eintrübung des Transplantats im Empfängerorganismus führen, da das im Umgebungsgewebe des Empfängers enthaltene Wasser entlang des osmotischen Gradienten, d.h. angetrieben durch die Dextran-Moleküle in die Hornhaut einströmte.

Der Vorteil der verwendeten Kurzeit-Konservierungsmethoden lag insgesamt darin, dass damit auf klinisch leicht durchführbare Weise, Spenderhornhäute über einen Zeitraum konserviert werden konnten, der deutlich über den vor ihrer Entwicklung maximal möglichen 48 Stunden der feuchten Kammer von Filatow [65] lag. Somit war die Kornea-Transplantation nicht länger eine Notfalloperation. Dieser Umstand bildete die eigentliche Voraussetzung für eine routinemäßige, an der Kompatibilität der Gewebeantigene orientierte Spender-Empfänger-Zuordnung, da erst dadurch genügend Zeit für die Gewebetypisierung des Spenders sowie weitere Untersuchungen (z. B. Virusdiagnostik) zur Verfügung stand. Der wesentliche Nachteil dieser Methoden bestand neben der begrenzten Konservierungszeit darin, dass die Sterilität der Transplantate kaum gewährleistet werden konnte: Da das Gewebe in gekühltem Zustand aufbewahrt wurde, waren die Vermehrungszyklen eventuell enthaltener Keime verlangsamt und damit deren Konzentrationen zum Transplantationszeitpunkt potentiell noch unterhalb der Nachweisgrenze.

2.1.2.2. Langzeit-Konservierung

Neben den oben erwähnten Kurzzeit-Konservierungsmethoden, wurde im Untersuchungszeitraum für alle von Eurotransplant erhaltenen, sowie zeitweise für die aus dem Transplantationszentrum Berlin-Steglitz stammenden Transplantate, die u.a. von Pels et al. [130] beschriebene Langzeit-Konservierung verwendet. Sie ermöglichte aufgrund der flexiblen Aufbewahrungszeitspanne in der Regel eine langfristige Operations-Vorplanung und erlaubte es, eventuelle Verzögerungen bei der Einbestellung und stationären Aufnahme des am besten geeigneten Empfängers der Warteliste zu tolerieren.

Bei dieser Methode handelte es sich um eine Organkultur-Konservierung, bei der das Spendermaterial bei 31° - 37°C Temperatur im Brutschrank aufbewahrt wurde. Unter der Verwendung eines Nährmediums, welches aus Kälberserum (zur Ernährung der Zellen), einem Puffer zur pH-Wert-Einstellung sowie antibiotischem und fungizidem Zusatz zusammensetzt war, konnten die Spenderhornhäute bis zu 35 Tage lang kultiviert werden, wobei laut Pels et al. [130] auch bei Lagerzeiten von bis zu 40 Tagen weniger als 30% Endothelzellverlust auftrat.

Im Gegensatz zur Kurzzeit-Konservierung konnte bei der Langzeit-Konservierung eine eventuelle Kontamination des Spendermaterials mit Bakterien oder Pilzen vor Transplantation weitgehend erkannt bzw. ausgeschlossen werden, da eventuell vorhandene Erreger unter den genannten Konservierungsbedingungen Konzentrationen erreichten, die in der Regel innerhalb der Nachweisgrenzen lagen. Einen weiteren wesentlichen Vorteil der Langzeit-Konservierung stellte der Verlust von zur Antigen-Präsentation befähigten epithelialen und stromalen Zellen (APCs; antigen presenting cells) im Spendermaterial dar, d.h. der HLA Klasse II positiven Langerhanszellen und Makrophagen: Indem die Epithelzellschicht der Spenderhornhaut während der Konservierung verringert wird, kommt es auch zu einem Verlust der epithelialen APCs [131]. Weiterhin scheinen aber auch die im Hornhautstroma enthaltenen APCs auf bisher ungeklärte Weise verloren zu gehen: So konnten bei in Organkultur konservierten humanen Spender-Hornhäuten bereits nach einer Aufbewahrungszeit von 7 Tagen mit einem Fluoreszein-Isothiocyanat markierten monoklonalen Mausantikörper, der gegen humane HLA DR Antigene gerichtet war, im Vergleich zu frischen Hornhäuten signifikant weniger HLA DR positive Zellen, d.h. APCs nachgewiesen werden [5]. Nach einer 14 tägigen Konservierungsdauer waren überhaupt keine HLA DR positiven Zellen mehr

nachweisbar, d.h. weder im Hornhautepithel noch im -stroma. In einer anderen Arbeit [131] wurde gezeigt, dass diese nachlassende Nachweisbarkeit von HLA DR Antigenen in langzeit-konservierten Hornhäuten jedoch nicht auch auf eine verminderte *Expression* der HLA DR Antigene zurückzuführen ist, sondern auf einen *Verlust* der HLA DR Antigen exprimierenden *Zellen*, d.h. der APCs.

Den APCs kommt bei der Initiierung einer Immunreaktion eine bedeutende Rolle zu (siehe Kapitel 4.2.1.4. „Die Antigen-präsentierenden Zellen“). Ihr Verlust ist insofern ein Vorteil, als auf diese Weise die „antigene Belastung“ des Empfängers durch das Transplantat verkleinert wird. So konnten Pels und Kollegen [131] an Hornhäuten, die über mehr als eine Woche in Organkultur konserviert wurden, keine HLA DR Antigene und damit keine APCs mehr nachweisen. Pepose et al. [132] konnte zeigen, dass dieser Effekt bei einer Kurzzeitkonservierung von weniger als vier Tagen nicht eintritt. Jedoch legt eine neuere Studie von Ardjomand und Kollegen [5] nahe, dass dieser Verlust von APCs weniger von der Art der Konservierung als vielmehr direkt von der Konservierungsdauer abhängig ist: So wiesen die Autoren den vollständigen Verlust der APCs in den untersuchten Hornhäuten vor allem dann nach, wenn diese über mindestens 14 Tage konserviert worden waren, wobei weder die Art des verwendeten Kulturmediums noch die Konservierungs-Temperatur einen signifikanten Einfluss hatte.

2.1.3. Spenderauswahl, HLA Typisierung und HLA Match

Bei der Auswahl der Spender wurden solche mit kurzzeitigem Krankheitsverlauf bevorzugt. Die folgenden Todesursachen und Vorerkrankungen führten hingegen als Ausschlusskriterien zur Ablehnung des Spendermaterials:

- unbekannte Erkrankung bzw. Todesursache
- Sepsis
- Aktive Enzephalitis
- Amyotrophe Lateralsklerose
- Malignom, Lymphom
- M. Alzheimer
- Multiple Sklerose
- Virusinfektionen: HBV, HCV, HIV, Rabies (Tollwut)
- Augenerkrankungen, Augenoperationen

In allen betrachteten Fällen wurden prospektiv die HLA Antigene der Genorte HLA A, B und DR sowohl für den Empfänger als auch den Spender bestimmt. Die Zuordnung eines Transplantats an die Empfänger auf unserer Warteliste erfolgte in der Regel nach Maßgabe der größtmöglichen Kompatibilität der Gewebeantigene zwischen Spender und Empfänger. Seit 1990 wurde demnach nur dann transplantiert, wenn zwischen Spender und Empfänger mindestens zwei Allel-Übereinstimmungen für den HLA B und/oder HLA DR Locus vorlagen.

Da die mögliche Aufbewahrungszeit bei den verwendeten Kurzzeit-Konservierungsmethoden limitiert war, rückte in solchen Fällen, bei denen der zunächst ausgewählte Empfänger nicht zur Verfügung stand, der nächst-passende Empfänger von der Warteliste der Augenklinik des Universitätsklinikums Benjamin Franklin nach.

Alle Spender- und Empfänger-Gewebetypisierungen wurden ausschließlich von zwei erfahrenen HLA Laboren mit überwiegend serologischen Methoden durchgeführt: entweder vom HLA Labor des Universitätsklinikums Benjamin Franklin in Berlin, welches den Status eines Referenz-Labors inne hat, oder durch das Referenz-Labor von Eurotransplant (BIS Foundation) in Leiden in den Niederlanden, d.h. der größten Spenderorgan-Bank in Europa.

Die serologischen Gewebetypisierungen wurden nach dem von Terasaki und McClelland et al. [162] beschriebenen Mikrozytotoxizitätstest durchgeführt, bei dem die gesuchten Lymphozyten-Oberflächenmoleküle durch eine zytotoxische Antigen-Antikörper-Reaktion identifiziert werden. Dazu werden Lymphozyten des Patienten mit spezifischen HLA Antisera unter Anwesenheit von Komplement inkubiert, wobei die Lymphozyten-Oberflächenmoleküle als spezifische Antigene für die spezifischen Antikörper dienen. Wenn die untersuchten Lymphozyten die „gesuchten“ Oberflächenmoleküle tragen, kommt es zur Antigen-Antikörperreaktion und damit zur Aktivierung von Komplement. Dies führt zu einer Änderung der Zellmembran-Barrierefunktion dieser Lymphozyten, so dass ein zugesetzter Farbstoff in die Zelle eindringen kann und diese Zellen erkennbar markiert (=positive Test-Reaktion). Tragen die untersuchten Humanlymphozyten jedoch keine der Oberflächenmoleküle, auf welche die Antikörper spezifisch reagieren, so bleiben die Zellmembranen für den Farbstoff undurchlässig und die Zellen färben sich nicht an (=negative Test-Reaktion).

Zur Durchführung des Mikrozytotoxizitätstest wurden kommerzielle Antiseren der Firmen Biotest®, BAG® und PEL-Freez® verwendet, welche zuvor auf ihre Monospezifität hin überprüft worden waren. Da diese monospezifischen Antikörper nur für wenige HLA Allele verfügbar waren, musste auch auf herkömmliche humane Testseren, die nur bis zu einem gewissen Grad als monospezifisch gelten, zurückgegriffen werden.

Seit 1994 wurden die Gewebetypisierungen bei einem kleineren Teil der Spender, d.h. Multiorganspendern die auch zur Nieren- und/oder Knochenmarksspende vorgesehen waren, mit molekularbiologischen (PCR-basierten) Methoden durchgeführt: Die Bestimmungen erfolgten anhand der HLA SSP Methode [124], die allelspezifische Primer (d.h. die Synthese von Makromolekülen anregende „Starter“-Moleküle) in der Amplifikationsreaktion zur Typisierung nutzt. Diese Methode beruht auf dem Prinzip, dass nur Primer, deren Sequenzen vollständig komplementär zur Zielsequenz einer vorliegenden DNA-Probe sind, an diese DNA binden und in der PCR-Reaktion ein Amplifikat erzeugen. Nicht komplementäre Primer dagegen binden nicht an die DNA, es findet somit keine Amplifikation statt. Der Nachweis der amplifizierten DNA erfolgt mit Hilfe der Agarose-Gel-Elektrophorese: Eine erfolgreiche Amplifikation erzeugt ein DNA-Fragment von definierter Länge, das im Gel als Bande erkennbar ist. Findet hingegen keine Amplifikation statt, fehlt diese Bande.

Die Analysen wurden sowohl für die HLA Antigen-Obergruppen, also für das sogenannte „broad typing level“ durchgeführt (A1, A2, A3, A9, A10, A11, A19, A28, A36, A43, B5, B7, B8, B12, B13, B14, B15, B16, B17, B18, B21, B22, B27, B35, B37, B40, B41, B42, B46, B47, B48, B53, B59, B67, B70, B73, DR1, DR2, DR3, DR4, DR5, DR6, DR7, DR8, DR9, DR10), als auch für die HLA Antigen-Untergruppen, d.h. das sogenannte „split typing level“ (Untergruppen der folgenden HLA Antigene: A9, A10, A19, A28, B5, B12, B14, B15, B16, B17, B21, B22, B40, B70, DR2, DR3, DR5, DR6).

2.2. Patientenstruktur

Zwischen November 1983 und November 2001 wurden in der Augenklinik des Universitätsklinikums Benjamin Franklin 492 aufeinanderfolgende Kornea-Allotransplantationen mittels perforierender Keratoplastik mit Kreuzstichnaht [66] durchgeführt. Bei der Mehrzahl der Fälle wurde die Spender-Empfänger-Auswahl auf Grundlage des HLA Match mit dem Ziel der größtmöglichen HLA Kompatibilität vollzogen.

In dieser retrospektiven monozentrischen Studie wurden 459 postoperativ transparente Transplantate betrachtet. 33 der 492 Fälle, die zwischen November 1983 und November 2001 transplantiert wurden, mussten von der Betrachtung ausgeschlossen werden, da entweder die Spender- oder die Empfänger-HLA Daten retrospektiv nicht mehr verfügbar waren.

2.2.1. Patientenauswahl

Bevor für einen Patienten die Indikation zur Keratoplastik gestellt wurde, musste er sich umfangreichen klinischen Untersuchungen unterziehen, durch die geklärt werden sollte, in welchem Maße der Patient von einer perforierenden Keratoplastik profitieren würde. Die zugrunde liegende Frage dabei war, ob die vorliegende Schwachsichtigkeit des betroffenen Auges allein durch die Trübung (oder eine anderweitige Veränderung wie zum Beispiel ein Keratokonus) der lichtbrechenden Medien verursacht wurde oder ob retinale Augenerkrankungen vorlagen, die einen Erfolg der Operation von vorn herein limitieren würden.

Das Standardverfahren war dabei die (indirekte) Ophthalmoskopie. In solchen Fällen, bei denen die Ausprägung der Trübung der lichtbrechenden Medien den Blick auf die Retina verhinderte, wurde zudem die Lichtprojektion, das Farbsehen, die Gesichtsfeldaußengrenzen und das Erkennen der Purkinje-Aderfigur getestet, sowie zum Ausschluss weiterer pathologischer Veränderungen der Retina eine Ultraschall-Untersuchung durchgeführt. In Zweifelsfällen wurde die Funktionsprüfung der Retina durch die Ableitung und Auswertung visuell evozierter Potentiale (VEP) der Hirnrinde ergänzt. Es wurden nur solche Patienten für eine Transplantation vorgesehen, die nach diesen Kriterien Aussicht auf ein gutes postoperatives Sehvermögen hatten.

2.2.2. Prognosegruppen und prä-operative Diagnose

Alle Fälle wurden retrospektiv in Abhängigkeit von der prä-operativen Diagnose, im Folgenden als „*Erst-Diagnosen*“ bezeichnet, in zwei Prognosegruppen aufgeteilt: Demnach wurden 308 von 459 Fällen (67%) der „guten Prognose“ zugeordnet und 151 von 459 Fällen (33%) der „schlechten Prognose“.

Wir sahen uns zu diesem Vorgehen veranlasst, da die Ergebnisse früherer Studien [85, 164] gezeigt haben, dass der post-operative Verlauf nach einer Transplantation vor allem in Bezug auf die Inzidenz einer Immunreaktion in starkem Maße von der ursprünglichen Operationsindikation beeinflusst wird. Neben den pathophysiologischen Gegebenheiten der jeweiligen Erst-Diagnose spielt dafür vor allem das Vorliegen einer Vaskularisation bzw. eines prä-operativen Reizzustandes eine wichtige Rolle: So wird zum einen durch die Hornhaut-Vaskularisation, welche häufig auch mit der Präsenz von Lymphgefäßen einhergeht [32], das lagebedingte „immunologische Privileg“ der Hornhaut weitgehend aufgehoben, indem APCs des Empfängers verstärkt Zugang zur Hornhaut und später zum Transplantat haben und damit sowohl der afferente als auch der efferente Schenkel des Empfänger-Immunsystems aktiviert wird (siehe Kapitel 4.2.1. „Das immunologische Privileg der Hornhaut“). Zum anderen kann es infolge eines prä-operativen Reizzustandes, d.h. einer verstärkten Infiltration der vorderen Augenabschnitte des Empfängers mit Entzündungszellen und Entzündungsmediatoren (zum Beispiel IFN-[gamma]), zu einer vermehrten Expression von MHC Klasse II Antigenen kommen und durch die Stimulation von T-Helfer-Lymphozyten eine Immunreaktion begünstigt werden [26]. Sofern die folgenden Erst-Diagnosen nicht mit einer Vaskularisation von mehr als 2 Hornhaut-Quadranten vergesellschaftet waren, führten sie zur Einteilung in die *gute Prognose-Gruppe*:

- Erbliche Hornhaut-Dystrophien¹, d.h. Keratokonus; Keratoglobus; Reis-Bückler´sche-Dystrophie; gittrige-Dystrophie; makuläre-Dystrophie; bröcklige-Dystrophie; Schlichting´sche-Dystrophie sowie Mukopolysaccharidose Typ IV
- Endotheldystrophie¹, d.h. Fuchs´sche-Dystrophie; Cornea guttata; Vitreous touch
- Leucoma corneae
- Perforierende Hornhaut-Verletzung
- Keratitis herpetica

¹ Pathophysiologisch ähnliche Operationsindikationen wurden in einer Erst-Diagnose-Gruppe zusammengefasst.

Für Patienten mit rezidivierenden Herpes simplex Virus (HSV) Keratitiden war jedoch ein beschwerdefreies Zeitintervall von mindestens drei Monaten Bedingung für die Zuordnung eines Transplantates. Demnach führten die folgenden Erst-Diagnosen zur Einteilung in die *schlechte Prognosegruppe*:

- Kornea-Ulkus / Descementozele,
- Verbrennung / Verätzung,
- Transplantat-Dystrophie nach vorangegangener Transplantatabstoßung (im folgenden als „Re-Transplantation“ bezeichnet“),
- jede andere prä-operativen Diagnose, wenn diese mit mehr als 2 vaskularisierten Kornea-Quadranten vergesellschaftet war.

Die absolute Verteilung der einzelnen Erst-Diagnosegruppen ist der Tabelle III zu entnehmen.

Tabelle III: Zahlenmäßige Verteilung der Erst-Diagnosen auf die Prognosegruppen

Erst-Diagnose	Gute Prognose	Schlechte Prognose	Gesamtanzahl
Erbliche Dystrophien	98	10	108
Endotheldystrophien	121	2	123
Leucoma Corneae	66	20	86
Perforierende Hornhaut Verletzung	13	5	18
Keratitis herpetica	10	27	37
Kornea Ulkus		11	11
Verbrennung/ Verätzung		11	11
Re-Transplantation		65	65
Gesamtanzahl	308	151	459

2.2.3. Geschlechterverteilung und Altersstruktur der Patienten

Tabelle IV: Geschlechtsverteilung und Altersstruktur der Patienten

	Gute Prognose	Schlechte Prognose	Gesamtkollektiv
Geschlechtsverteilung^A:			
weiblich	53,6% (165 von 308)	47,0% (71 von 151)	51,4% (236 von 459)
männlich	46,4% (143 von 308)	52,9% (80 von 151)	48,6% (223 von 459)
Alters-Median zum Zeitpunkt der Keratoplastik^B:	67,3 Jahre (n=305)	58,8 Jahre (n=149)	64,6 Jahre (n=454)
25. und 75. Perzentile (PZ) in Jahren	PZ(25)= 48,4 PZ(75)=77,9	PZ(25)= 46,3 PZ(75)=71,4	PZ(25)= 46,9 PZ(75)=76,9
Extremwerte (Jahre)	5,2 – 96,5	11,8 – 86,7	5,2 – 96,5

^A fehlende Werte zu 100% sind durch Rundung bedingt

^B in insgesamt 5 Fällen (3 x gute Prognose; 2 x schlechte Prognose) konnte retrospektiv kein Geburtsdatum ermittelt werden

2.3. Postoperative Nachbehandlung

2.3.1. Medikamentöse Therapie

Wie in Tabelle V und VI dargestellt, wurden im Rahmen der immunsuppressiven Nachbehandlung über die Jahre vier verschiedene Therapieformen und Gesamtdosen verwendet, wobei die immunsuppressive Therapie stets unabhängig von der Erst-Diagnose und dem jeweiligen HLA Match war.

Aufgrund des Umstandes, dass es bis heute noch kein allgemein akzeptiertes Schema der postoperativen Therapie nach perforierender Keratoplastik gibt, und da die Priorität auf einer Optimierung des langfristigen Operationsergebnisses lag, wurde auf die Durchführung eines über die Jahre einheitlichen Nachbehandlungsschemas verzichtet. Die jeweiligen Wechsel erfolgten mit dem Ziel einer möglichst optimalen postoperativen medikamentösen Versorgung der Patienten, zum Teil auch im Rahmen klinischer Studien und Pilotversuche bezüglich neuer Immuntherapie-Verfahren.

So wurde den Patienten zwischen 1983 und 1986 in den ersten 12 postoperativen Monaten zusätzlich zur lokalen Therapie mit Dexamethason auch insgesamt 450 bis 500 mg Cyclosporin A 2% in Rhizinusöl lokal, d.h. in Form von Augentropfen appliziert. Wie bereits veröffentlicht [67], wurde damit der Einfluss der kombinierten lokalen Therapie mit Dexamethason und Cyclosporin A auf die Inzidenz einer Immunreaktion nach Keratoplastik im Vergleich zur alleinigen Therapie mit Dexamethason untersucht. Es konnte gezeigt werden, dass durch die kombinierte lokale Therapie mit Dexamethason und Cyclosporin A die Immunreaktionsrate nach Keratoplastik statistisch nicht signifikant stärker reduziert wird, als durch die alleinige lokale Therapie mit Dexamethason. Darüber hinaus konnte demonstriert werden, dass selbst bei Halbierung der 0,1% Dexamethason-Gesamtdosis von normalerweise 20 mg auf 10 mg die Inzidenz einer Immunreaktion nicht erhöht war [67]. Dem zur Folge wurde ab 1991 das postoperative Therapieschema zugunsten einer niedrig dosierten 0,1% Dexamethason-Therapie aktualisiert. Darüber hinaus gab es über einen begrenzten Zeitraum in den Jahren 1988 bis 1991 Versuche mit einer systemischen immunsuppressiven Therapie, die jedoch klinisch für die Patienten keine deutlichen Vorteile zu erbringen schien: Hierbei erhielten die Patienten zusätzlich zu ihrer lokalen Dexamethason-Dosis Cyclosporin A oral in Kakao in einer Gesamtdosis von 5 bis 10 g mit einem Erhaltungsspiegel von 400 bis

600 mg/ml. Weiterhin erhielten die Patienten zwischen 1988 und 1991 systemisch Methylprednisolon (i.v.) in einer Gesamtdosis von 400 mg über einen Zeitraum von 10 Tagen postoperativ. Diese Therapieform wurde frühzeitig infolge klinischer und theoretischer Erwägungen abgesetzt: Es wurde angenommen, dass es sich bei der immunologischen Abstoßungsreaktion eines Hornhauttransplantats aus theoretischer Sicht nicht um eine systemische, sondern vielmehr um eine lokale Reaktion des Immunsystems des Empfängers handelt. Da der klinische Eindruck dieser Therapieform keine eindeutige Verbesserung erkennen ließ, ging man davon aus, dass den Patienten aus einer systemischen Immuntherapie aufgrund der zu erwartenden Nebenwirkungen deutlich größere Nachteile erwachsen würden, als dies durch den therapeutischen Effekt dieser Therapie zu rechtfertigen gewesen wäre.

Die Entfernung der Hornhautfixationsnähte erfolgte ambulant, wobei der erste Faden 2 bis 3 Monate nach der Operation und der zweite Faden nach weiteren 3 bis 6 Monaten entfernt wurde. Unabhängig von den verschiedenen Nachbehandlungsschemata wurde bei jedem Patienten nach der Entfernung des ersten und des zweiten Fadens die lokale 0,1% Dexamethason-Dosis in Form von Augentropfen für 7-14 Tage auf jeweils drei Tropfen täglich erhöht.

Im Falle einer auftretenden Immunreaktion wurde die lokale 0,1% Dexamethason-Applikation eine Woche lang auf 5 Tropfen pro Tag gesteigert.

Nach Abklingen der Immunreaktion wurde diese Therapie unter sorgfältiger Nachkontrolle über mehrere Wochen langsam auf jenes Niveau reduziert, welches vor Eintritt der Immunreaktion gegolten hatte. Sofern im Einzelfall die Immunreaktion nicht mit der oben angegebenen Medikation beherrscht werden konnte, wurde die immunsuppressive Therapie in entsprechend höherer Dosierung verlängert.

Obwohl die im Rahmen dieser Untersuchung durchgeführte Auswertung der erhobenen Daten die Unterteilung der Patienten nach den verschiedenen Therapieschemata nicht vorsieht, halten wir diese Studie dennoch für aussagekräftig und mit anderen Untersuchungen vergleichbar, da die Einteilung der Patienten in die verschiedenen Therapieschemata stets unabhängig von der Erst-Diagnose bzw. Prognose und dem jeweiligen HLA Match erfolgte. Insgesamt war die postoperative Immuntherapie vergleichsweise niedrig dosiert.

Tabelle V: Gesamtdosis der systemischen und der lokalen postoperativen Therapie

Zeitraum	Systemische Therapie		Lokale Therapie (Augentropfen)		
	Methyl- prednisolon (mg)	Cyclosporin A (g)	Dexamethason 0.1% (mg)	Cyclosporin A 2% (mg)	Indometacin 1% (mg)
1983 – 1986	–	–	7 – 11	450 – 500	10 – 15
1986 – 1987	–	–	10 – 20	–	10 – 15
1988 – 1991	400	5 – 10	10 – 20	–	10 – 15
1991 – 2001	–	–	10 – 15	–	–

Tabelle VI: Schema der lokalen 0,1% Dexamethason- Therapie nach Keratoplastik

Postoperativer Monat	1983 – 1986:	1986 – 1991:	1991 – 2001:
1. Monat	21 Tage: 3x / Tag* 9 Tage: 2x / Tag	21 Tage: 5x / Tag 9 Tage: 3x / Tag	10 Tage: 5x / Tag 10 Tage: 3x / Tag 10 Tage: 2x / Tag
2. – 3. Monat	2x / Tag	3x / Tag	1x / Tag
3. – 12. Monat	1x / Tag	2x / Tag	1x / Tag
13. – 15. Monat	-	-	3x / Woche
16. – 18. Monat	-	-	2x / Woche

Danach wurde bei reizfreiem Auge die lokale Kortisontherapie vollständig abgesetzt.

* 3x / Tag 3 Tropfen pro Tag

2.3.2. Patienten-Nachuntersuchung

Sofern der postoperative Heilungsverlauf komplikationslos verlief, verblieben die Patienten 21 Tage in stationärer Behandlung und wurden dabei täglich kontrolliert. Von besonderem Interesse war dabei der postoperative Reizzustand des operierten Auges am ersten postoperativen Tag: Dieser wurde anhand des Vorhandenseins von Entzündungszellen sowie dem Vorhandensein von Blut oder Fibrin in der Vorderkammer beurteilt.

Nach ihrer Entlassung in die ambulante Versorgung durch ihren niedergelassenen Augenarzt waren sie dazu aufgefordert, sich zu Nachuntersuchungen im Abstand von 1, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 24 Monaten nach Operation und danach jährlich bei uns vorzustellen. Für den Fall von akut auftretenden Problemen waren die Patienten angehalten, sich sofort in der Augenklinik bzw. der Ersten Hilfe des Universitätsklinikums Benjamin Franklin vorzustellen.

Die Nachuntersuchungen wurden ausschließlich von erfahrenen Operateuren vollzogen, welche die Transplantationsoperation auch selbst mit identischen Methoden routinemäßig durchführten. Mit Hilfe dieser Einschränkung sollte eine höchst-mögliche Genauigkeit und Reproduzierbarkeit in der Objektivierung der Untersuchungsbefunde erzielt werden.

Im Rahmen dieser Nachuntersuchungen wurden regelmäßig die Sehschärfe, der Astigmatismus und der intraokulare Druck bestimmt, sowie eine binokulare Funduskopie und Spaltlampenuntersuchung durchgeführt.

Weitere Hauptkriterien der Nachuntersuchungen waren:

- die Adaptation der Naht,
- Infiltrationen der Empfänger- und Spender-Hornhaut,
- Vaskularisation der Empfänger- und Spender-Hornhaut,
- Form und Beschaffenheit, sowie Intensität der Injektion der limbalen und bulbären Konjunktivalgefäße.

Die dabei erhobenen Befunde wurden unmittelbar im Anschluss an die Untersuchungen in der poliklinischen Akte, die für jeden Patienten angelegt wurde, schriftlich festgehalten.

2.3.2.1. Diagnose der Immunreaktion und des immunologisch bedingten Transplantatversagens

Als Grundlage für die Transplantatüberlebenszeit bei den Analysen bezüglich der Inzidenz einer *Immunreaktion* wurde der Zeitraum zwischen der erfolgten perforierenden Keratoplastik und dem ersten Auftreten einer Immunreaktion gewertet, unabhängig davon, ob es sich dabei um eine reversible oder irreversible Abstoßungsreaktion handelte.

Hingegen wurde bei den Analysen bezüglich der Inzidenz eines *immunologisch bedingten Transplantatversagens* (im Folgenden als „IR-Trübung“ bezeichnet) der Zeitraum zwischen der erfolgten perforierenden Keratoplastik und der erstmaligen Feststellung einer irreversiblen Transplantattrübung als Grundlage für die Transplantatüberlebenszeit gewertet, wobei eine vorher oder gleichzeitig diagnostizierte Immunreaktion am gleichen Auge Bedingung dafür war.

Die Diagnose bezüglich des Vorliegens einer Immunreaktion basierte dabei auf den klassischen, wissenschaftlich anerkannten Kriterien wie sie u.a. von Jones et al. bereits 1973 veröffentlicht wurden [78] und im Kapitel 1.3.2. („Klinische Einteilung der Immunreaktion nach Hornhauttransplantation“) dieser Arbeit eingehend beschrieben sind.

Weitere Bedingungen für die Feststellung einer Immunreaktion waren die folgenden, von Fine und Stein [46] aufgestellten Kriterien:

- Es dürfen intra- und postoperativ keine Komplikationen aufgetreten sein.
- Das Transplantat muss postoperativ wenigstens 2 Wochen klar bleiben.
- Das rasch entstehende Korneaödem soll von einer Uveitis begleitet sein.

Das Auftreten eines sogenannten „Polack Bandes“, d.h. einer Immunreaktionslinie, wurde als pathognomonisches Zeichen einer Immunreaktion gewertet. Falls ein solches Polack Band nicht nachweisbar war, wurde eine Immunreaktion nur dann diagnostiziert, wenn ausschließlich auf dem Transplantat, nicht aber auch auf der Empfängerhornhaut keratitische Präzipitate in Kombination mit einer Hornhautverdickung vorgefunden wurden. Zwar treten bei der kornealen Herpes-simplex-Infektion ähnliche Präzipitate am Hornhautendothel auf; diese sind aber im Gegensatz zu den Präzipitaten einer Transplantat-Immunreaktion nicht auf das Transplantat beschränkt, sondern betreffen auch die (stehengebliebene) Empfängerhornhaut.

Eine Besserung der Symptomatik nach Steroidmedikation wurde als ein weiterer Hinweis auf das Vorliegen einer Immunreaktion angesehen, ihr Fehlen schloss eine Immunreaktion jedoch nicht aus.

2.4. Datenerfassung

Die Datenerfassung im Rahmen dieser Studie erfolgte mittels des standardisierten Fragebogens wie er in den Abbildungen 10, 11 und 12 dargestellt ist. Als Grundlage zur Erhebung der entsprechenden Daten dienen die Original-Patientenakten aus dem Universitätsklinikum Benjamin Franklin bzw. deren im Mikrofilm-Format archivierten Ablichtungen. Die so erhobenen Daten wurden in einer mit dem Computer-Programm „FileMaker Pro (Version 4.1)“ erstellten Datenbank zusammengefasst und stehen somit weiteren, d.h. über die Fragestellung dieser Dissertation hinausgehenden Analysen zur Verfügung.

Abbildung 10: Standardisierter Fragebogen zur Datenerfassung (Seite 1 und 2)

The image shows two pages of a questionnaire.
Seite 1: Allgemeine Patientendaten (Empfänger)
 Fields include: Eingabedatum, Alter - letzter Stand, Nachname, Vorname, Geschlecht (1 = männlich, 0 = weiblich), Geburtsdatum, Transplantat Status (0 = klar, 1 = NOB), Empfänger HLA - A (1), Empfänger HLA - A (2), Empfänger HLA - B (1), Empfänger HLA - B (2), Empfänger HLA - DR (1), Empfänger HLA - DR (2), ABO System, Empfänger Rhesus (1 = Rh pos, 0 = Rh neg).
Seite 2: Ophthalmolog. Diagnosen (Empfänger)
 Fields include: Hornhaartenkennung, Welche Auge?, Anzahl der Vorkeratoplastiken am gleichen Auge, Glaskorn Jähre (0 = ja, 0 = nein), rotes Auge mit dilat. Gefäßen (0 = ja, 0 = nein), Vaskularisierung von >2 Quadranten (0 = ja, 0 = nein), Prognose (1 = gute Prognose, 2 = schlechte Prognose), weitere Diagnosen (0 = keine, 1 = Cataract, 2 = Benetzungstörung, 3 = Netzhaut OPs, 4 = NH Erkrankung, 5 = Uveitis, 6 = andere OP), Augenrezeptur bei Glaukom (1 = ß-Blocker, 2 = Carbonhydratasehemmer, 3 = α-Agonist, 4 = Prostaglandin-Präparat, 5 = Parasymp. mimetika, 0 = keine), relevante Allgemeinerkrankungen (1 = Diab. mell., 2 = Hypertonus, 3 = Gefäß Erkrankungen, 4 = Rheumat Erkrankungen, 5 = Immunsuppress. Status, 0 = keine), Visus präOP (0 1 <u> 0,1, 0 2 <u> 0,3, 0 3 > 0,3), Augenruck in mmHg (0 1 <u> 23, 0 2 > 23, 0 3 > 28).

Abbildung 11: Standardisierter Fragebogen zur Datenerfassung (Seite 3 und 4)

Transplant. - Operation

Seite 3

OP Datum: Operateur: 1 = Baczak 2 = Fölsch 3 = Hebig 4 = Hoffmann 5 = Hoyer 6 = Voth

Komplikationen bei OP: 1 = ja 0 = nein Wenn ja, wer?

mit Katarakt OP kombiniert: 1 = ja 0 = nein (Vollart)

Anzahl Nahtnachlegungen:

Nahttechnik: 1 = Kreuzstich 2 = Einzelnähte 3 = mehrfach fortlaufende Naht

Transpl. Durchmesser Spender: Trepapat.größe Empf.:

Spensystem Empfänger: 1 = Elliot Trepat 2 = Franzeschetti 3 = OTS

Spensystem Spender: 4 = Corneal patch ester

Spender Daten

Herkunft Transplantat:

Spender Alter: Spender Geschlecht: 1 = männlich 0 = weiblich

Art der Konservierung: 1 = Isopleth Kanaler 2 = Kurzzeit 3 = Langzeit

Dauer der Konservierung: in Tagen

Endothelzellzahl: pro cm²

Spender HLA - A (1): Spender HLA - A (1) split:

Spender HLA - A (2): Spender HLA - A (2) split:

Spender HLA - B (1): Spender HLA - B (1) split:

Spender HLA - B (2): Spender HLA - B (2) split:

Spender HLA - DR (1): Spender HLA - DR (1) split: ASB

Spender HLA - DR (2): Spender HLA - DR (2) split: Spender Rhesus: 1 = Rh pos 0 = Rh neg

Postoperativ

Seite 4

wahrgenommene Follow up Termine: **JA = 1 Nein = 0**

Zeitraum	ausgew. Ja/Nein	Art der Komplikate	Folge OP	Augendruck Anstieg	Elektrolytstörungen	Immun Rea	Tropf Einstellung	Reiz-Zustand postOP	Cornea infiltrate	Naht Dehne	Yusuf Sehaz	Vitrea
3. Monat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6. Monat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12. Monat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2. Jahr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3. Jahr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5. Jahr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8. Jahr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10. Jahr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15. Jahr	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Erstauslösung von Komplikationen: 0 = keine
 1 = Hornhaut Ulcus 2 = Hornhaut Infiltrat 3 = Drucksteigerung 4 = Gefäßnaevus 5 = Herpes reaktiv
 6 = Fatale Komplikation 7 = Endothelbeschläge 8 = Cornea Ödem/ Stromatapt

Komplikationen postOP: wenn 1 ("ander"), welche?

Fraktur

Abbildung 12: Standardisierter Fragebogen zur Datenerfassung (Seite 5)

Seite 5

vorderehintere Synchie? 1 = ja 0 = nein

Folge OP: 1 = ja 0 = nein Folge OPs - Anzahl: Folger:

Art der FolgeOP:

Therapie Medikamente: 1 = Cortico. 2 = Cortico. ester 3 = Cyclosporin 4 = Kombination 5 = Standard (Corticost.) (Dexamethason etc.) Tregal-Therap.:

Änderung der Therapie: 1 = ja 0 = nein wenn Therapieänderung, was:

Compliance: 1 = gut 0 = schlecht Erläuterung (wenn schlecht):

zusätzliche Medikation „mit Glaukom“: 1 = β -Blocker 2 = Carboanhydrasehemmer 3 = α -Agonist 4 = Prostaglandin-Präparat 5 = Parasymp.mimetika

1. Fadenentfernung:

2. Fadenentfernung:

Augendruck post OP: 1 <= 23 2 > 23 3 > 26 in mm Hg genau:

Reiz-Zustand post OP: 0 = reizfrei 1 = gereizt

Visus postOP: 1 <= 0,1 2 <= 0,3 3 > 0,3 genau:

Immunreaktion: 1 = ja 0 = nein

wenn ja: Datum 1. Immunrea:
 Datum 2. Immunrea:
 Datum 3. Immunrea:
 Datum 4. Immunrea:

Datum des 1. HH-Infiltrats:

Datum Transplantat Eintrübung:

Letzter Stand:

Bemerkungen, Kommentare:

Fraktur

2.5. Datenauswertung

Die statistische Datenauswertung erfolgte mit Hilfe des Computer-Programms „SPSS 11.0“. Analysiert wurde der Einfluss des HLA Matches auf Grundlage der Nicht-Übereinstimmungen in den HLA Antigenen zwischen Spender und Empfänger (im Folgenden „Mismatches“ genannt), da für die Auslösung einer Immunreaktion nicht die Gewebeantigen-Übereinstimmungen, sondern vielmehr die Gewebeantigen-Unterschiede entscheidend sind: Nach den bisherigen Erkenntnissen über den Ablauf einer Immunreaktion besteht der entscheidende Schritt für die Initiierung der Abstoßungsreaktion in der Antigenerkennung durch die (CD-4+)-T-Helferzellen des Empfängers, die ihrerseits dann die zytotoxischen (CD-8+)-T-Killerzellen (CTLs) zur Antigenelimination stimulieren, d.h. zur Zerstörung des Transplantats. Dabei unterliegt sowohl die Antigenerkennung als auch die Antigenelimination der MHC bzw. HLA Restriktion. Die Antigenerkennung und damit die Auslösung der Abstoßungsreaktion beruht hierbei auf der Erkennung der fremden HLA Antigene durch die Empfänger-T-Lymphozyten. Daher steht beim HLA Match die Vermeidung von Mismatches im Vordergrund.

Fälle, bei denen einzelne HLA Daten bezüglich der Genorte für HLA A, B oder DR fehlten, wurden nur dann von den Analysen ausgeschlossen, wenn die fehlenden HLA Daten Gegenstand der Analyse gewesen wären. Dieses Vorgehen erklärt die teilweise schwankenden Gesamtfallzahlen bei den verschiedenen statistischen Analysen.

Zur Ermittlung der hochgerechneten Transplantat-Überlebenswahrscheinlichkeiten für die gute und die schlechte Prognosegruppe, d.h. der Zeitdauer bis zum Eintritt der unten definierten Zielereignisse, wurde die Methode nach Kaplan-Meier [82] angewendet. Hierbei ist zu beachten, dass unabhängig von der Wertung des Zielereignisses in der Medizin ganz allgemein von *Überlebenszeit*-Analyse bzw. Survival-Analyse gesprochen wird. Das zu definierende Zielereignis muss also keineswegs mit dem Absterben des Transplantates einhergehen, wie der Begriff „Überleben“ suggerieren könnte.

Für die Untersuchung des Einflusses der HLA Mismatches auf die Inzidenz einer Immunreaktion wurde als zensierendes Ereignis das erstmalige Auftreten einer Immunreaktion gewertet. Dabei war es nicht von Belang, ob es sich um eine reversible oder irreversible Immunreaktion handelte.

Für die Untersuchung des Einflusses der HLA Mismatches auf die Trübungsinzidenz wurde als zensierendes Ereignis das erstmalige Auftreten eines immunologisch bedingten Transplantatversagens (IR-Trübung) gewertet. Kriterium dafür war eine vorher oder gleichzeitig diagnostizierte Immunreaktion am gleichen Auge.

Die statistische Signifikanz wurde mit Hilfe des Log Rank Tests berechnet, wobei ein p Wert von kleiner/gleich 5% als statistisch signifikant gewertet wurde. Dieser über die Zeit gerechnete [Chi]-Quadrat-Test vergleicht die Übereinstimmung der mit der Kaplan-Meier Methode ermittelten Überlebenswahrscheinlichkeiten. Da mit dessen Hilfe aber immer nur zwei Gruppen miteinander verglichen werden können, mussten die Fälle in den beiden Prognosegruppen jeweils sinnvoll zu Analyse-Gruppen zusammenfasst werden (Abbildung 13).

Zunächst wurden alle Überlebensanalysen nur unter Betrachtung der HLA Antigen-Obergruppen („broad typing level“) durchgeführt, d.h. Unterschiede in den HLA Antigen-Untergruppen („HLA Splits“) auf Basis des sogenannten „split typing level“, wurden nicht als Mismatch gewertet.

In einem zweiten Schritt wurden alle Überlebensanalysen unter Einbeziehung eben dieser Splits durchgeführt, d.h. Unterschiede zwischen den HLA Antigen-Untergruppen wurden als Mismatch gewertet. Dadurch stieg in denjenigen Fällen die Mismatch Anzahl, bei denen zwar auf dem Niveau der HLA Antigen-Obergruppen keine Unterschiede zwischen Spender und Empfänger vorhanden waren, wohl aber auf dem Niveau der HLA Antigen-Untergruppen. Indes blieb die Mismatch Anzahl bei solchen Fällen gleich, die sowohl in den HLA Antigen-Obergruppen als auch den Untergruppen keine Unterschiede zwischen Spender und Empfänger aufwiesen.

Zuletzt wurden alle Überlebensanalysen unter Ausschluss derjenigen Fälle durchgeführt, bei denen Spender und Empfänger zwar ähnlich aber nicht gleich waren: Fälle, bei denen zwar die HLA Antigen-Obergruppen übereinstimmten, nicht aber auch die HLA Antigen-Untergruppen („Splits“), d.h. Fälle, bei denen sich unter Berücksichtigung der Splits die Mismatch-Anzahl erhöhte, wurden von den Analysen ausgeschlossen.

Abbildung 13: Darstellung der Analyse-Gruppen

Analyse aller 6 HLA -A, -B und -DR Antigene: Vergleich der 6 Kurven und <u>Aufsuchen des größten Unterschiedes</u>	
• ∅	vs. 1;2;3;4;5;6 mismatch
• ∅1	vs. 2;3;4;5;6 mismatch
• ∅1;2	vs. 3;4;5;6 mismatch
• ∅1;2;3	vs. 4;5;6 mismatch
• ∅1;2;3;4	vs. 5;6 mismatch
• ∅1;2;3;4;5	vs. 6 mismatch
<hr/>	
Analyse der 4 HLA -A und -B Antigene: Vergleich der 4 Kurven	
• ∅	vs. 1;2; 3;4 mismatch
• ∅1	vs. 2;3;4 mismatch
• ∅1;2	vs. 3;4 mismatch
• ∅1;2;3	vs. 4 mismatch
Ebenso: Analyse der 4 HLA -A und -DR -Antigene Analyse der 4 HLA -B und -DR -Antigene	
<hr/>	
Analyse der 2 HLA A Antigene: Vergleich der 3 Kurven	
• ∅	vs. 1;2 mismatch
• ∅1	vs. 2 mismatch
Ebenso: Analyse der 2 HLA -B- Antigene Analyse der 2 HLA -DR- Antigene	

2.5.1. Anmerkungen zur Verwendung der Kaplan-Meier Methode

Die Untersuchung erstreckt sich über einen Zeitraum von fast 20 Jahren. Dabei war das Patientenkollektiv einer stetigen Fluktuation unterworfen, d.h. einerseits kamen im Verlauf der Studie immer neue Patienten hinzu, andererseits schieden Patienten aus der Studie aus, da sie nicht mehr für die Nachuntersuchungen verfügbar waren (Fortzug, Ableben, Arztwechsel etc). Es liegt somit kein einheitlicher Beobachtungszeitraum vor, d.h. die Patienten wurden unterschiedlich lang beobachtet. Daraus ergeben sich bei der Betrachtung jedes einzelnen Falles die folgenden drei möglichen Situationen:

- Das Zielereignis (zum Beispiel die Immunreaktion) trat innerhalb des Beobachtungszeitraumes ein.
- Das Zielereignis trat bis zum Studienende nicht ein.
- Der Studienteilnehmer schied infolge Ableben, Fortzug etc. vorzeitig aus der Studie aus.

Demzufolge ist ein direkter Vergleich der Studienteilnehmer nicht möglich, d.h. deskriptive Statistiken, zum Beispiel mit (prozentualen) Angaben über den Anteil der Studienteilnehmer mit dem eingetretenen Zielereignis an der Gesamtzahl der Studienteilnehmer, sind unzulässig: Auch wenn innerhalb des jeweiligen Untersuchungszeitraumes das Zielereignis, d.h. zum Beispiel die Immunreaktion, nicht eingetreten ist, besteht die Möglichkeit, dass das Zielereignis außerhalb dieses Untersuchungszeitraumes, also entweder nach Ausscheiden des Patienten aus der Studie oder nach Studienende eingetreten ist bzw. eintreten wird.

Daher können in diesem Fall statistisch sinnvolle Aussagen am ehesten anhand hochgerechneter Überlebenswahrscheinlichkeiten gemacht werden: Diese nach Kaplan-Meier [82] benannte Vorgehensweise stellt eine Methode dar, um Modelle, welche die Zeit bis zum Eintreten des Ereignisses angeben, in Gegenwart zensierter Fälle zu schätzen. Zensierte Fälle sind solche Fälle, für die das Zielereignis nicht aufgezeichnet wurde, da es bis zum Studienende nicht eintrat oder weil es zu einem vorzeitigen Ausscheiden dieser Fälle aus der Studie kam. Das Kaplan-Meier-Modell basiert auf der Schätzung bedingter Wahrscheinlichkeiten zu jedem möglichen Auftritts-Zeitpunkt eines definierten Ziel-Ereignisses. Durch die Bildung des Produktgrenzwerts dieser Wahrscheinlichkeiten kann die Überlebensrate zu jedem Zeitpunkt geschätzt werden.

Der durchgeführte Log Rank Test vergleicht dann den gesamten Verlauf zweier Überlebenskurven, und nicht nur die Werte zu einem bestimmten Zeitpunkt.