

## 4. DISKUSSION

### 4.1. Ergebnisse zum HLA Match in der Literatur

#### 4.1.1. Ältere Studien

Obwohl in den letzten Jahrzehnten in zahlreichen klinischen Studien der prognostische Einfluss des HLA Matches auf das Ergebnis nach Hornhauttransplantation untersucht wurde (siehe Tabelle II im Kapitel 1.4. „Die aktuelle Studienlage“), geben die zum Teil sehr kontroversen Ergebnisse dieser Studien immer noch Anlass zur Diskussion.

Zunächst wurde ein positiver Effekt der HLA Typisierung bei den Hoch-Risiko Keratoplastiken (schlechte Prognosegruppe) festgestellt [22, 47, 69, 147]. Auch bei Normal-Risiko Keratoplastik (gute Prognosegruppe) zeigen diverse Studien einen positiven Effekt des HLA A, B und DR Match [22, 70, 144]. Weitere Untersuchungen stellten diesen Effekt teilweise in Frage bzw. postulierten sogar einen negativen Effekt der HLA Übereinstimmung auf das Transplantatüberleben bzw. das Auftreten der Immunreaktion [24, 25, 64, 170]. Sehr unterschiedlich wurde auch die Wertigkeit der Übereinstimmung von Klasse I (HLA A, B) oder II (HLA DR) Antigenen bewertet. So wurde innerhalb der HLA Klasse I Antigene der Übereinstimmung von A oder B Antigenen ein unterschiedlich starker Einfluss hinsichtlich des Auftretens einer Immunreaktion zugeschrieben [64, 70, 108]. Insbesondere die große prospektive randomisierte doppelblinde CCT- Studie (collaborative corneal transplantation study) [2] hat mit dem Ergebnis, dass durch das HLA Match ein Einfluss weder auf die Inzidenz einer Immunreaktion noch auf die Transplantatversagens-Rate besteht, zu heftiger Diskussion geführt.

#### 4.1.2. Fehlerquellen

Die aus unserer Sicht wichtigsten Ursachen für die Diskrepanz der verschiedenen Untersuchungen und die Berücksichtigung dieser Fehlerquellen in unserer Studie sollen im Folgenden näher erörtert werden:

- Fehlerhafte HLA Typisierung

Die Qualität der HLA Typisierungsergebnisse stellt die wichtigste Grundlage für die analytische Aussagekraft einer jeden Studie zum Einfluss des HLA Matches dar, weil die gesamten statistischen Analysen auf diesen Ergebnissen basieren.

Dementsprechend wiegen eventuelle Qualitätsmängel hinsichtlich dieser Typisierungsergebnisse besonders schwer. Auf die herausgehobene Rolle dieser Fehlerquelle soll daher im Kapitel 4.1.3. („Qualitätskontrolle der HLA Typisierungsergebnisse“) eingegangen werden.

- Fehlende Trennung der Risikogruppen

Anders als in dieser Arbeit, wurden die statistischen Analysen in einigen Studien [23, 24, 64, 169, 170] anhand des Gesamt-Patientenkollektivs durchgeführt, d.h. das unterschiedlich hohe Risiko verschiedener Patientengruppen für die Entwicklung einer Immunreaktion (siehe Kapitel 2.2.2. „Prognosegruppen und prä-operative Diagnose“) und eines nicht immunologisch bedingten Transplantatversagens wurde nicht berücksichtigt. So weisen Hoch-Risiko Patienten neben einem ohnehin erhöhten Risiko für post-operative Abstoßungsreaktionen [182] häufig auch noch weitere Risikofaktoren auf, wie zum Beispiel die Entstehung eines Glaukoms, korneale Oberflächenprobleme sowie wiederkehrende Augeninfektionen viraler bzw. mikrobieller Genese [140]. Der Nachteil der fehlenden Trennung der Risikogruppen bei der statistischen Analyse liegt zum einen in der mangelnden Vergleichbarkeit der Studien, da der Anteil an Hoch-Risiko Patienten unterschiedlich groß ist. Zum anderen kann durch die oben erwähnten, vom HLA Match unabhängigen, zusätzlichen Risikofaktoren von Hoch-Risiko Patienten die Inzidenz der Immunreaktion unkontrolliert beeinflusst werden.

- Wahl eines "ungeeigneten" Zielkriteriums

Die irreversible Immunreaktion oder das Transplantatversagen ist nicht nur durch immunologische Faktoren wie der HLA Übereinstimmung bestimmt, sondern wird ebenso von anderen Faktoren wie zum Beispiel einer Stammzellinsuffizienz, dem Vorhandensein eines Glaukoms, postoperativen Entzündungen oder der Art und dem Ausmaß der immunmodulatorischen Therapie etc. beeinflusst. Um den Effekt des HLA Match zu bestimmen, ist somit das Auftreten einer Immunreaktion, gleich ob reversibel oder irreversibel, ein wesentlich empfindlicheres Zielkriterium der statistischen Analysen als das Transplantatversagen an sich. Wie im Kapitel 2.5. („Datenauswertung“) dargestellt, wurden in dieser Dissertation sowohl die Inzidenz jeder Immunreaktion als auch die Inzidenz der irreversiblen Immunreaktion („IR-Trübung“) getrennt von einander analysiert.

- Analyse des Einflusses der HLA Matches oder der HLA *Mis*-Matches

Entscheidend für die Auslösung einer Immunreaktion sind nicht die Gewebeantigen-Übereinstimmungen zwischen Spender und Empfänger (HLA Matches), sondern vielmehr deren Gewebeantigen-Unterschiede (HLA *Mismatches*). Nach den bisherigen Erkenntnissen beruht die Antigenerkennung und damit die Auslösung der Abstoßungsreaktion auf der Erkennung der fremden HLA Antigene durch die Empfänger-T-Lymphozyten. Daher sollte beim HLA Match, und ebenso bei der statistischen Analyse dessen Einflusses, die Vermeidung von *Mismatches* im Vordergrund stehen. Dabei ist zu beachten, dass die Anzahl der Matches zwischen Spender und Empfänger *nicht* (in allen Fällen) mit der Anzahl der *Mismatches* korreliert. Dies soll anhand des folgenden Beispiels für den HLA A Locus erläutert werden: Für den Fall, dass der Spender für das Allel A2 homozygot ist, während der Empfänger A2 und A3 aufweist, ergibt sich zwar ein Match-Anzahl von „nur“ 1 (anstatt der maximal möglichen 2), jedoch ist die Mismatch-Anzahl in diesem Fall trotzdem 0, da aus Sicht des Empfänger-Immunsystems keine fremden Antigene durch das Transplantat präsentiert werden. Obwohl wir das in unserer Untersuchung berücksichtigt haben, ist dies bei anderen Studien nicht immer der Fall [23, 147].

- Geringe Fallzahlen und ein niedriger Median der Nachbeobachtungszeit

Geringe Fallzahlen und ein niedriger Median der Nachbeobachtungszeit der betrachteten Patienten schwächen die statistische Aussagekraft der Studien wesentlich ab und können auf diese Weise tatsächlich vorhandene Effekte des HLA Matchings unterdrücken. Mit insgesamt 459 untersuchten Fällen und einem Nachbeobachtungsmedian von 3 Jahren zählt die vorliegende Arbeit zu den 5 umfangreichsten, bisher veröffentlichten Studien.

- Multizentrische Studien

Multizentrische Studien haben das Problem des sehr unterschiedlichen Erfahrungsstandes der Operateure und der Unterschiede bei den Operationstechniken. Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine monozentrische Studie. Im Zeitraum 1983 bis 2001 wurde die Mehrzahl der Transplantationsoperationen und Nachuntersuchungen von *einem* erfahrenen Operateur (F.H.) durchgeführt (siehe Kapitel 2.1.1. „Techniken der Transplantation“).

- Eine hohe postoperative lokale Steroidmedikation

Eine hohe postoperative lokale Steroidmedikation, wie sie zum Beispiel in der CCT-Studie [2] zu Anwendung gekommen ist, kann die Maskierung eines positiven Effektes des HLA Matchings bedingen, sowie durch potentielle Nebenwirkungen (Glaukom, Katarakt, Infektionsneigung) und deren therapeutische Konsequenzen das Risiko für eine Immunreaktion erhöhen. Das Protokoll der immunsuppressiven Therapie dieser Studie wird im Kapitel 2.3.1. („Medikamentöse Therapie“) beschrieben und kann als vergleichsweise niedrig-dosiert gelten.

- Der Einfluss der Transplantatgröße

Der Einfluss der Transplantatgröße auf die Inzidenz einer Immunreaktion konnte bereits in mehreren klinischen Studien [21, 174] demonstriert werden. So belegen die Ergebnisse von Völker-Dieben [173], sowie von Hoffmann und Pahlitzsch [68] eindeutig eine höhere Inzidenz an Immunreaktionen bei Transplantaten mit einem Durchmesser  $>8,0$  mm, was jeweils auf die vergrößerte Menge an transplantierten Fremdanigen zurückgeführt wird: Da in der Verteilung der Langerhanszellen über die Cornea im Hornhaut-Randbereich ein Maximum der Dichte dieser potenten Antigen-präsentierenden Zellen (APCs) besteht, steigt folglich mit der Größe des Transplantates nicht nur die Gesamtmenge an fremden Antigen, welche mit dem Transplantat übertragen wird, sondern auch die Menge an fremden, d.h. Spender-eigenen APCs rapide an [167]. Da diese Spender-APCs grundsätzlich die Fähigkeit haben, das Transplantat zu verlassen, können sie über den Weg der direkten Fremd-Antigen-Erkennung durch Empfänger-APCs (siehe Abbildung 3 im Kapitel 1.3.1. „Die Rolle des HLA Systems bei der Transplantat-Abstoßungsreaktion“) zu einer verstärkten Initiierung einer Immunreaktion beitragen (siehe Kapitel 4.2.1. „Das immunologische Privileg der Hornhaut“).

Während in der vorliegenden Untersuchung nur in ca. 5% der Fälle ein Transplantat mit einem Durchmesser von  $>7,5$  mm verwendet wurde (bei 25 von 459 Transplantationen), beträgt zum Beispiel der Anteil der bei der CCT-Studie verwendeten Transplantate mit einem Durchmesser von  $>8,0$  mm 77%. Dies könnte eine weitere Ursache für die Diskrepanz zwischen unseren Ergebnissen und denen der CCT-Studie darstellen.

- Methodische Qualität

Bei der Mehrzahl der bisher veröffentlichten Studien zum HLA Match handelt es sich um retrospektive Untersuchungen. Im Vergleich zur vorbildlich geplanten, prospektiven doppelblinden CCT-Studie [2] ist der Standardisierungsgrad, d.h. das Vorhandensein kontrollierter Untersuchungsbedingungen, bei den meisten retrospektiven Studien gering bzw. ungenügend beschrieben. So fehlen beispielsweise Angaben zur verwendeten HLA Typisierungsmethode [24, 144, 169, 170] oder zum Zielkriterium der statistischen Analyse [11, 15]. Darüber hinaus werden in den verschiedenen Studien uneinheitliche Kriterien für die Einstufung als Hoch-Risiko Patient und die Diagnose einer Immunreaktion verwendet bzw. diese Kriterien werden zum Teil nicht näher spezifiziert. Die in dieser Arbeit angewendeten Methoden werden im Kapitel 2 ausführlich erläutert.

#### **4.1.3. Qualitätskontrolle der HLA Typisierungsergebnisse**

Eine besondere Rolle bei der Bewertung von statistischen Ergebnissen kommt der zugrunde liegenden Fehlerwahrscheinlichkeit zu. Im Falle der Analyse des Effekts des HLA Matches bezieht sich diese Wahrscheinlichkeit auf die Fragestellung, wie sehr die verwendeten Typisierungsergebnisse von den tatsächlichen HLA Antigen-Eigenschaften der Spender und Empfänger abweichen.

Von größter Bedeutung ist in diesem Zusammenhang die Erfahrung und die kontrollierte Qualität des mit der Typisierung beauftragten Labors.

Im Falle der wegen ihres vorbildlichen prospektiven Studiendesigns oft zitierten US-amerikanischen doppelblinden CCT-Studie von 1992 [2], die entgegen den allgemeinen Erwartungen keinerlei signifikanten, die Prognose verbessernden Effekt des HLA Matches für die Antigene HLA A, B oder DR nachweisen konnte, wird dieses Problem besonders deutlich:

Nachdem der Anteil von Homozygoten in den HLA DR Typisierungsergebnissen mehr als doppelt so hoch ausfiel als wie, abgeleitet von der Normalbevölkerung, erwartet worden war, sahen sich die CCTS Autoren zu einer Retypisierungsstudie [72] veranlasst, bei der die Reproduzierbarkeit der HLA A, B und DR Studien-Typisierungsergebnisse untersucht wurde. Im Rahmen dieser Nachuntersuchungen wurden 129 der ursprünglich 419 ausgewerteten Fälle re-typisiert, für die zuerst entweder kein oder nur ein HLA DR-Allel ermittelt worden war. Dabei stieß man für

die untersuchten HLA Antigene auf die folgenden Übereinstimmungsergebnisse zwischen den Original- und den Re-Typisierungsergebnissen :

- HLA A Antigene: 88% Übereinstimmung, d.h. 12% Fehlerwahrscheinlichkeit
- HLA B Antigene: 79% Übereinstimmung, d.h. 21% Fehlerwahrscheinlichkeit
- HLA DR Antigene: 55% Übereinstimmung, d.h. 45% Fehlerwahrscheinlichkeit<sup>1</sup>

Der häufigste Fehler war demnach die fehlgeschlagene Identifizierung eines zweiten HLA DR Antigens gewesen. Unglücklicherweise ist es im Nachhinein aber unmöglich, das gesamte Ausmaß von falschen Typisierungsergebnissen genau zu bestimmen, da ausschließlich die noch zur Verfügung stehenden Transplantat-Empfänger, jedoch keiner der Spender re-typisiert werden konnten. Geht man jedoch von den in dieser Retypisierungsstudie erhaltenen Fehlerwahrscheinlichkeiten der CCT-Studie aus, muss die Richtigkeit der beschriebenen Ergebnisse in Bezug auf die signifikante Bedeutung des HLA Matches angezweifelt werden.

Wie Völker-Dieben et al. [176] in ihren Simulationsstudien demonstriert haben, können schon vergleichsweise niedrige HLA DR Typisierungs-Fehlerraten einen signifikanten, prognostisch günstigen Einfluss des HLA DR Match auf das Transplantatüberleben nach Keratoplastik in Frage stellen, wie dies in der CCT-Studie geschehen ist. So konnten auch Opelz und Kollegen [127] in ihrer großen retrospektiven Studie zur Nierentransplantation nur dann einen signifikanten Effekt des HLA DR Matching nachweisen, wenn anstatt serologischer nur molekularbiologische Gewebe-Typisierungsergebnisse ausgewertet wurden.

Bei noch höheren Typisierungsfehllerraten könnte sogar ein scheinbar adversativer Effekt des HLA Matches auf die Immunreaktionsrate nach Keratoplastik resultieren: So wurde in mehreren britischen Studien [24, 170] ein negativer Einfluss des HLA DR Matches auf die Inzidenz von Abstoßungsreaktionen beschrieben.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen der HLA Gewebetypisierungen in der multizentrischen CCT-Studie, stammten unsere Typisierungsergebnisse entweder aus einem einzelnen, sehr erfahrenen Referenz-Labor in Berlin (HLA Labor des

---

<sup>1</sup> Der Übereinstimmungsanteil der HLA DR Antigene verbesserte sich auf 59 %, wenn ausschließlich serologisch trennbare Antigene, d.h. nur die HLA Antigen-Obergruppen in Betracht gezogen wurden.

Universitätsklinikums Benjamin Franklin) oder direkt von Eurotransplant (BIS) aus Leiden in den Niederlanden.

Beide Labore unterliegen den im Folgenden näher erläuterten Qualitätskontrollen, die zur Aufrechterhaltung einer hohen Typisierungsgenauigkeit beitragen:

- ***Teilnahme an der Collaborative Transplant Study (CTS-Heidelberg)*** [73]

Dabei wurden von 1988 bis 1998 204.939 Typisierungsuntersuchungen aus 199 teilnehmenden Typisierungs-Laboren durch Re-Typisierung mit modernen molekularbiologischen Methoden auf ihre Fehlklassifizierungsquote hin überprüft. Unter den teilnehmenden Labors nahmen die beiden von uns beauftragten Referenz-Labore aus Berlin und von Eurotransplant mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von durchschnittlich weniger als 10% [73] Spitzenpositionen ein, während bei anderen teilnehmenden Labore Fehlerwahrscheinlichkeiten von bis zu 85% ermittelt wurden.

- ***Instandring Versuche von 55 deutschen Labors und Eurotransplantat-Ringversuche***

Das Berliner Referenz-Labor unterliegt außerdem einer vierteljährlichen Zertifizierungs-Kontrolle durch das Institut für Standardisierung und Dokumentation in Düsseldorf. Im Rahmen dieser Kontrolle werden von dem Institut vier mal jährlich Testproben von je fünf Probanden zur Typisierung an die teilnehmenden Labore verschickt. Um im Kreis der für die HLA Typisierung zugelassenen Referenz-Labore zu verbleiben, muss mindestens eine dieser vier Testproben zu 100% richtig ermittelt werden.

Vergleichbaren Ringversuchen von Eurotransplant unterliegt auch das Referenz-Labor aus Leiden in den Niederlanden.

- ***Europäisches akkreditiertes Standardlabor***

Das erwähnte Referenz-Labor in Berlin arbeitete darüber hinaus streng in Übereinstimmung mit den Standards der „European Federation of Immunogenetics (EFI)“ [74], dem europäischen Zentralverband der Immunogenetiker. Labore, die so zertifiziert sind, sind auch für die HLA Typisierung bei Knochenmarkstransplantation zugelassen.

#### 4.1.4. Neuere Studien

In den letzten Jahren wurden einige methodisch gut durchgeführte Studien publiziert, welche die oben ausgeführten möglichen Fehlerquellen weitestgehend eliminiert haben und bei denen eine adäquate HLA Typisierung durchgeführt wurde. Tabelle II(a) im Kapitel 1.4. zeigt eine Zusammenfassung dieser Arbeiten.

In diesen Studien zeigt sich eindeutig der Vorteil des HLA Match, sowohl bei der Normal-Risiko [141], als auch bei der Hoch-Risiko-Keratoplastik [12, 13, 16, 176]. Es konnte gezeigt werden, dass bei Hoch-Risiko und bei Normal-Risiko Patienten sowohl die Übereinstimmung in der HLA Klasse I wie auch in Klasse II für sich alleine, wie auch die Übereinstimmungen in beiden Klassen zusammen, zu einer deutlich verringerten Rate von Immunreaktionen führt. Unsere Ergebnisse stimmen mit denen der erwähnten neueren Studien im Wesentlichen überein.



## **4.2. Aktueller Stand: Immunbiologie der Hornhauttransplantation**

### **4.2.1. Das immunologische Privileg der Hornhaut**

Unterscheiden sich die Gewebe-Antigene von Spender und Empfänger, so kann dies zu einer endothelialen Immunreaktion mit Ausprägung eines Polack-Bandes führen (Abbildung 6), das aus T-Lymphozyten, Makrophagen und zerstörtem Endothel besteht. Dennoch bleiben auch bei fehlender Gewebeübereinstimmung viele Korneatransplantate klar und selbst bei vollständigem Mismatch tritt nicht unbedingt eine Immunreaktion auf [26, 152]. Ursache hierfür ist die besondere immunologische Situation der Kornea.

In der Vergangenheit wurde einerseits versucht, dies mit einer fehlenden Expression der Transplantationsantigene auf der Oberfläche der Spender-Hornhautzellen [115, 117] zu erklären, andererseits dadurch, dass das mit der Spender-Hornhaut implantierte Gewebe sehr schnell durch Empfängerzellen ersetzt werde und das Transplantat demnach nur als temporäres Baugerüst diene [83].

Beide Erklärungsansätze konnten aber widerlegt werden: So wurde in zahlreichen Studien gezeigt, dass sowohl HLA Gewebeantigene [48, 180] als auch zahlreiche Minor Gewebeantigene [143, 152] von allen drei Zellschichten der Hornhaut, also dem Epithel, dem Endothel und den stromalen Keratozyten exprimiert werden können. Darüber hinaus wurde in Experimenten mit radioaktiv markierten Spenderhornhaut-Zellen [58] sowie durch den anhaltenden Nachweis des Spender-Sex-Chromatins in Hornhauttransplantaten bei der Katze [14] die langjährige Persistenz der Spender-Endothelzellen im Empfänger-Organismus demonstriert. Außerdem widersprach dieser Theorie, dass Immunreaktionen auch noch bis zu 30 Jahre nach Transplantation beobachtet wurden und somit offenbar die Spenderantigene nicht ersetzt worden waren.

Heute ist weitgehend klar, dass nicht ein bestimmter, sondern vielmehr mehrere Mechanismen und anatomische Besonderheiten am Auge zu einer gewissen immunologischen Sonderstellung der Hornhauttransplantation beitragen:

#### 4.2.1.1. Die physiologische Avaskularität der Kornea

Die physiologische Avaskularität der Kornea galt lange Zeit als ein wichtiger Faktor, der das Hornhauttransplantat gleichsam vor dem Immunsystem des Empfängers „schützt“: Durch das Fehlen von Blut- und Lymph-Gefäßen sei die Hornhaut und, im Falle einer Transplantation, die in ihr enthaltenen fremden Spenderzellen einerseits vom afferenten Schenkel, andererseits aber auch vom efferenten Schenkel des Empfänger-Immunsystems abgeschnitten [121]. Somit könnten die durch das Transplantat eingebrachten fremden HLA Antigene, weder die für die immunologische Sensibilisierung wichtigen regionalen (prä-aurikulären und submandibulären) Lymphknoten des Empfängers erreichen und dort die Initiierung einer Immunreaktion auslösen (Blockade des afferenten Schenkels des Immunsystems), noch von immunkompetenten Zellen des Empfänger-Immunsystems erreicht werden (Blockade des efferenten Schenkels des Immunsystems) [121].

Die Annahme der Blockade des afferenten Schenkels des Immunsystem basierte u.a. auf den Experimenten Maumenees [99], der in Versuchen mit Mäusen gezeigt hatte, dass orthotopisch in gefäßfreie Transplantat-Betten (d.h. in die verbleibende periphere Hornhaut und den Limbus des Empfängers) eingepflanzte allogene Spenderhornhäute das Immunsystem des Empfängers nicht sensibilisierten und daher später verpflanzte Haut-Transplantate vom gleichen Spender durch das Empfänger-Immunsystem nicht schneller abgestoßen wurden als bei Mäusen, die vorher kein Hornhaut-Transplantat des Spenders empfangen hatten.

Neuere Untersuchungen widersprechen jedoch dem Vorliegen einer *absoluten* Blockade des afferenten Immun-Schenkels: So konnten Liu und Kollegen [95] in Versuchen mit GFP-[green fluorescent protein]-markierten APCs am Mausmodell zeigen, dass bereits wenige Stunden nach der Transplantation MHC Klasse II exprimierende APCs des Spenders in den ipsilateralen Lymphknoten des Empfängers nachweisbar sind. Nach 48 Stunden erreichten diese Zellen ihr Konzentrationsmaximum im Empfänger-Lymphknoten und waren nach 72 Stunden zunehmend weniger nachweisbar. Ein deutlicher Unterschied war dabei jedoch zwischen Empfängern mit schlechter bzw. guter Prognose zu finden: Nach der Transplantation in vaskularisierte Empfängeraugen (dies entspricht der schlechten Prognosegruppe) war das Konzentrationsmaximum an Spender-APCs im

Empfänger-Lymphknoten vielfach höher und wurde zudem früher erreicht als bei Empfängern mit guter Prognose, d.h. ohne prä-operative Hornhautvaskularisation.

Die bisherige Annahme über das Vorliegen einer *absoluten* Blockade des afferenten Schenkels des Immunsystems infolge der physiologischen Avaskularität der Hornhaut muss daher zugunsten einer *relativen* Blockade korrigiert werden: Auch unter optimalen Bedingungen, d.h. bei prä-operativer Hornhaut-Avaskularität, wie dies bei Empfängern mit guter Prognose gegeben ist, gelangen Spender-APCs schon frühzeitig in die drainierenden Lymphknoten des Empfängers. Jedoch geschieht dies in weitaus geringerem Maße als bei Empfängern mit prä-operativer Hornhautvaskularisation, d.h. bei Empfängern mit schlechter Prognose.

Auch die experimentellen Ergebnisse zur Blockade des efferenten Schenkels sind widersprüchlich: Auf der einen Seite sprechen die Tierexperimente von Khodadoust und Silverstein [87] sehr wohl dafür, dass die Avaskularität des kornealen Transplantat-Bettes das Hornhauttransplantat vor den Effektor-Mechanismen des gegen die Spender-Antigene sensibilisierten Empfänger-Immunsystems abschirmen kann: 75% der untersuchten Hornhauttransplantate wurden nicht abgestoßen, obwohl die Empfänger durch großflächige Haut-Transplantate der jeweils gleichen Spender sensibilisiert wurden und eine Immunreaktion gegen diese Haut-Transplantate entwickelten.

Auf der anderen Seite stehen jedoch Untersuchungen, deren Ergebnisse eher gegen das Vorhandensein einer efferenten Blockade sprechen: So wurden in den Experimenten von Maumenee [99] zwar die Haut-Transplantate des gleichen Spenders bei vorher Hornhaut-transplantierten Mäusen nicht schneller abgestoßen, als bei vorher nicht Hornhaut-transplantierten Mäusen (Indiz *für* einen relativen afferenten Block des Immunsystems in der Hornhaut). Jedoch trübten ca. 90% der bis zur Haut-Transplantation klaren Hornhaut-Transplantate ein, nachdem das Immunsystem des jeweiligen Empfängers durch ein Haut-Transplantat vom gleichen Spender sensibilisiert wurde (Indiz *gegen* einen efferenten Block des Immunsystems in der Hornhaut). Ross et al. [142] erhielten ähnliche Ergebnisse bei ihren Experimenten am Rattenmodell, bei denen sich Spender und Empfänger der Hornhauttransplantate nur bezüglich der MHC Klasse I Antigene unterschieden: Obwohl weniger als 20% der orthotopisch verpflanzten Hornhäute von den immunologisch „naiven“ Empfängern abgestoßen wurden, stieg diese Rate auf

100%, nachdem diese Empfänger durch Haut-Transplantate vom gleichen Spender immunologisch sensibilisiert wurden.

Es scheint somit wahrscheinlich zu sein, dass die physiologische Avaskularität des kornealen Transplantat-Betts zu einer relativ verminderten Immunogenität, bei gleichzeitig *normaler* Antigenität des Transplantats führt [120].

Dabei ist jedoch anzunehmen, dass die aus immunologischer Sicht entscheidende Komponente dieser Avaskularität weniger vom Fehlen der Blutgefäße als vielmehr vom Fehlen der *Lymphgefäße* ausgeht: So konnte im Mausmodell gezeigt werden, dass Antigene, die in die Blutbahn injiziert werden, nicht zu einer zell-vermittelten Immun-Antwort vom verzögerten Typ (DTH; Delayed Type Hypersensitivity) führen, sondern - ganz im Gegenteil - sogar zu einer Suppression des Empfänger-Immunsystems [94]. Der klinisch nachgewiesene Zusammenhang zwischen einer Kornea-Neovaskularisation und einer stark erhöhten Immunreaktionsrate nach Keratoplastik [37, 176] erklärt sich demnach wahrscheinlich wie folgt: Dieselben Stimulatoren, welche die unphysiologische korneale *Blutgefäß*-Neubildung hervorrufen, bedingen auch die Neubildung *lymphatischer Gefäße* in der Hornhaut [32]. Indem diese neugebildeten Lymphgefäße die vom Transplantat ausgehenden Spenderantigene aufnehmen können und den regionalen Lymphknoten des Empfängers zuführen, wird die ohnehin allenfalls relative Blockade des afferenten Schenkels des Immunsystems zusätzlich vermindert, ohne jedoch eine Suppression des Immunsystems zu bewirken.

Zu diesen, eine Neovaskularisation stimulierenden, Faktoren zählen neben okularen bzw. kornealen Infektionen und Entzündungen gerade auch *die* Traumata, welche infolge der Transplantationsoperation und der damit verbundenen Nahtlegung in der Hornhaut entstehen [120]. Ihnen kommt jedoch über die Neovaskularisation hinaus auch eine wichtige Rolle bezüglich der kornealen Langerhans Zellen (LZ) zu, deren Rolle weiter unten dargestellt wird, indem sie eine Migration der LZ von der Hornhautperipherie in das Hornhautzentrum auslösen können [77].

#### 4.2.1.2. Das ACAID-Phänomen

Das sogenannte ACAID-Phänomen (Anterior Chamber Associated Immune Deviation), d.h. die mit der Vorderkammer assoziierte Abweichung der Immunantwort, trägt als weitere wichtige Komponente zur relativen Sonderstellung der Hornhauttransplantation bei. Dieses von zahlreichen Autoren [120, 122] beschriebene Phänomen stellt die Grundlage für die Beobachtung dar, dass in die Vorderkammer eingebrachtes Fremdartigen, zum Beispiel xenogenes Tumorgewebe, deutlich länger toleriert wird, als in anderen Körperregionen [104]. Es handelt sich dabei aber nicht um einen *passives Fehlen* einer Immunreaktion, sondern um eine, von mehreren Faktoren getragene, *aktive „Abweichung“* der Immunantwort. Die Induktion dieses spezifischen Vorderkammerprivilegs ist von der Art des inokulierten Antigens unabhängig und kann durch eine Vielzahl von Antigenen erfolgen, insbesondere durch die Major und Minor Antigene [137, 159]. Im Mausmodell konnten die Zellen, die an der Auslösung des ACAID beteiligt sind, näher charakterisiert werden [44, 45]: Nach Kontakt mit dem Fremdartigen kommt es im Mausmodell zu einer verstärkten Bildung von (Lyt1+)-T-Inducer/Suppressor-Zellen, die den menschlichen (CD4+)-T-Inducer/Suppressor-Zellen entsprechen. Diese T-Zellen bilden lösliche Inducer/Suppressor-Faktoren, die auf dem Blutweg zur Milz gelangen, und dort die Proliferation von (Lyt2+)-T-Inducer/Suppressor-Zellen (entsprechen den (CD8+)-T-Inducer/Suppressor-Lymphozyten beim Menschen) bewirken. Diese T-Inducer/Suppressor-Zellen setzen ihrerseits ebenfalls lösliche Faktoren frei, die über den Blutweg von der Milz in die Vorderkammer des Auges gelangen und dort die abweichende Immunantwort vermitteln, indem sie sowohl die DTH-Antwort vermindern, als auch die Proliferation von B-Zellen, die Komplement-fixierende Antikörper produzieren [117]. Die Bildung von CTLs und von B-Zellen, die nicht Komplement-fixierende Antikörper sezernieren, bleibt jedoch unbeeinflusst [156]. Als mögliche Stoffe, die als lösliche immunsupprimierende Substanzen wirken, konnte in der Vorderkammer neben TGF- $\beta$  1 und 2 (transforming-growth-factor-beta) [34] auch VIP (vasoactive intestinal peptide) sowie Alpha-MSH (alpha-Melanozyten-stimulierendes Hormon) nachgewiesen werden [161].

Bei der Auslösung des ACAID spielen mehrere Faktoren eine wichtige Rolle: Neben der Aktivierung der bereits erwähnten T-Suppressor-Lymphozyten ist auch die Tatsache von Bedeutung, dass die Augen-Vorderkammer keinen direkten Zugang zum lymphatischen System aufweist und somit die Antigene über das Trabekelwerk

direkt das venöse Blutsystem erreichen [186]. Darüber hinaus spielt die Milz eine essentielle Rolle: So lässt sich im Tiermodell nach Splenektomie, die entweder vor Inokulation des Antigens oder bis zu 6 Tage danach erfolgte, keine ACAID-Reaktion auslösen [117].

Der physiologische Sinn des ACAID-Phänomens für den Organismus könnte darin liegen, für T-Zell-vermittelte Immunreaktionen einen weiteren Kontrollmechanismus zu schaffen, der die empfindlichen Gewebe des Auges vor den zerstörerischen Folgen vor allem einer Immunreaktion vom DTH-Typ schützt: Im Gegensatz zu der von den CTLs abhängigen Immunreaktion, bei der nur diejenigen Zellen zerstört werden, welche das als fremd erkannte Antigen tragen, verursacht die von T-1-Helfer-Zellen vermittelte DTH-Immunreaktion eher „ungerichtete“ entzündliche Gewebeschäden. Unabhängig von den auf der Zelloberfläche präsentierten Antigenen sind im Rahmen der inflammatorischen DTH-Immunreaktion alle im Entzündungsgebiet befindlichen Zellen betroffen. Das ACAID-Phänomen ist somit einen potenter Effekt, der durchaus zu einem langfristigen Transplantatüberleben nach Keratoplastik beitragen und gegebenenfalls auch zu einer Adaptation des Empfänger-Immunsystems an das Transplantat führen kann. So legen neuere Untersuchungen an Mäusen [151] nahe, dass das Transplantatüberleben allogener muriner Spenderhornhäute durch die prä-operative Injektion von Spenderantigenen in die Vorderkammer der Empfänger verbessert werden könnte.

Dennoch kann es unter bestimmten Umständen, wie sie auch nach einer Hornhauttransplantation häufig auftreten können, unterdrückt werden: So wurde im Tierversuch nachgewiesen, dass der ACAID-Effekt nach Behandlung mit IL-1, IL-2 und IFN-[gamma] nicht mehr auslösbar war [18, 33]. Solche Zytokine werden vor allem im Rahmen von Entzündungen infolge von Infektionen, aber auch durch Traumata und sogar als Folge operativer Manipulationen am Auge ausgeschüttet [141] (siehe unten). Durch die Induzierung der Expression von HLA Klasse II Antigenen auf kornealen Zellen und die konsekutive Aktivierung von (CD4+)-T-Helfer-Zellen des Empfängers könnte eine Immunantwort resultieren, die den ACAID-induzierenden Signalen überlegen ist. Die Tatsache, dass trotz der Präsenz des ACAID-Phänomens die Immunreaktion die häufigste Ursache eines Transplantatversagens nach Hornhautverpflanzung darstellt, bestätigt diese theoretischen Betrachtungen und legt die Notwendigkeit einer zusätzlichen Prävention der Immunreaktion nahe.

#### 4.2.1.3. Das Fas/Fas-Ligand (Fas/FasL) System

Das Fas/Fas-Ligand (Fas/FasL) System stellt einen weiteren Mechanismus dar, der einerseits die Aufrechterhaltung des Vorderkammerprivilegs (ACAID) unterstützt, andererseits aber auch für sich allein einen weiteren Schutz vor einer DTH-Immunreaktion darstellt.

Bei der Transplantatabstoßungsreaktion werden im Allgemeinen zwei Mechanismen unterschieden, die beide in der Apoptose der Zielzellen münden [53, 92]: Während Natürliche Killerzellen (NK-Zellen) und CTLs, die als fremd erkannten Zielzellen vor allem mittels der Synthese von Perforinen und anderen Zytolytinen zur Apoptose bringen [53], induzieren (CD4+)-T-Lymphozyten den Zelluntergang hauptsächlich mittels des Fas/FasL Systems [80].

Der Fas-Rezeptor, welcher zur Familie der Zelluntergangs-induzierenden TNF-Rezeptoren (tumor necrosis factor) gezählt wird, wurde auf der Oberfläche der meisten Körperzellen nachgewiesen [134]. Dem entgegen scheint die Expression des Fas-Liganden (FasL) auf aktivierte T-1-Helfer-Zellen [80] sowie einige Gewebe des Auges [54] beschränkt zu sein. Bindet nun der FasL an den Fas-Rezeptor der Zielzelle, wird über die Aktivierung einer intrazellulären Kaspase-Reaktionskaskade die Apoptose dieser Zelle induziert, vergleichbar mit der Wirkung des Perforin-Systems [92]. Die Besonderheit der Situation am Auge besteht hierbei darin, dass der FasL nicht nur auf Effektorzellen des Immunsystems exprimiert wird, sondern auch auf kornealen Epithel- und Endothelzellen, sowie Iris-, Retina- und Ziliarkörperzellen [54]. Dementsprechend werden alle (zum Beispiel auch immunkompetente) Zellen, die in die Vorderkammer oder in den Glaskörper gelangen und den korrespondierenden Fas-Rezeptor aufweisen, durch Apoptose beseitigt.

Im Mausmodell [93] konnte anhand von Hauttransplantationen gezeigt werden, dass dem Fas/FasL System vor allem eine Bedeutung bei der Abstoßung von Transplantaten MHC Klasse II inkompatibler Spender und Empfänger zukommt: So trat dann *keine* Abstoßungsreaktion auf, wenn den MHC Klasse II inkompatiblen Spenderzellen der Fas-Rezeptor fehlte. Andererseits wurde die Rate der Transplantatabstoßung trotz des Fehlens eines funktionierenden Fas/FasL Systems nach Haut- bzw. Herz-Transplantation nicht beeinflusst, wenn die Spender- und Empfänger-Tiere hinsichtlich der MHC Klasse II *und* Klasse I Antigene inkompatibel waren [38, 150]. Somit darf angenommen werden, dass das Fas/FasL System zwar

der DTH-Immunreaktion, nicht aber der von den CTLs abhängigen Immunantwort vorbeugt [53]. Dies stellt ein weiteres Argument für die Notwendigkeit dar, das „immunologische Privileg“ der Hornhaut zu relativieren und die Möglichkeiten zur Vorbeugung einer Immunreaktion zu nutzen.

#### 4.2.1.4. Die Antigen-präsentierenden Zellen (APCs)

Die Antigen-präsentierenden Zellen (APCs), zu denen in der Hornhaut vor allem die Langerhans Zellen (LZs) und die Makrophagen (Ms) gehören, sind für das Transplantatüberleben nach Keratoplastik von großer Bedeutung, da im Wesentlichen durch sie die Initiierung einer Immunreaktion ausgelöst wird.

Auf der einen Seite wandern mit dem Transplantat verpflanzte *APCs des Spenders* nach der Transplantationsoperation schnell in die drainierenden, d.h. vor allem die submandibulären und prä-aurikulären Lymphknoten des Empfängers und können dort Empfänger-T-Zellen auf *direktem Weg* stimulieren [153], indem sie für das Immunsystem des Empfängers fremde HLA Klasse I und Klasse II Antigene exprimieren. So demonstrierte Streilein [158] kürzlich, dass murine Hornhauttransplantate, die aufgrund prä-operativer Kauterisation eine große Anzahl von Spender-APCs enthielten, akut und damit schneller abgestoßen wurden, als Transplantate ohne Spender-APCs. Außerdem konnte gezeigt werden, dass Spender-APC-freie murine Hornhäute mit inkompatiblen MHC Klasse II Antigenen auch nach vorheriger Sensibilisierung des Empfänger-Immunsystems für diese Spender-Antigene nicht abgestoßen wurden [118].

Andererseits spielen auch die *APCs des Empfängers* eine wichtige Rolle, indem sie nach der Transplantation in das Transplantat einwandern [129] und dort die Alloantigene des Spenders aufnehmen können. Durch die intrazelluläre Verarbeitung und die spätere an ihre HLA Klasse II Moleküle gekoppelte Expressierung dieser Antigene sind die Empfänger-APCs in der Lage, Empfänger-T-Zellen auf *indirektem Wege* zu stimulieren [153] (siehe Kapitel 1.3.1. Abbildung 3), nachdem sie die drainierenden Lymphknoten erreicht haben [71, 158].

Die Migration von APCs des Empfängers in das Transplantat sowie deren Konzentration im Epithel der Spenderhornhaut kann u.a. durch eine postoperative Steroidmedikation zwar vermindert werden [50], die APCs können dadurch jedoch nicht vollständig aus der Hornhaut entfernt werden [111]. Die Aktivierung von T-Zellen des Empfängers durch APCs sowohl auf direktem als auch indirektem Weg



führt u.a. zu einer Freisetzung von IFN-[gamma] aus (CD4+)-T-1-H-Zellen [121, 172], welches in der Hornhaut die Expression der HLA Antigene [40, 132] und somit die Erkennung der fremden Spender-Antigene durch das Empfänger-Immunsystem weiter fördert.

Verschiedene Autoren haben daher die Annahme formuliert, dass das Risiko für das (frühe) Auftreten einer Immunreaktion nach Keratoplastik umso höher ist, je mehr APCs im Transplantat enthalten sind [26, 111, 143, 158].

Als ein Faktor, der die Grundlage für die immunologische Sonderstellung der Hornhaut bilden könnte, wurde das Fehlen von APCs, namhaft der LZs im Zentrum der Hornhaut postuliert [119, 120]. In verschiedenen Untersuchungen wurden deutliche Konzentrationen von LZs vor allem im Hornhautrandbereich nachgewiesen [94, 132], während im zentralen Hornhautepithel keine HLA Klasse II tragenden LZs nachgewiesen werden konnten [77, 143]. Da bei der Hornhauttransplantation mit Spenderhornhaut-Durchmessern von bis zu 7,5 mm der Hornhautrandbereich nicht mit-transplantiert wird, wurde eine verminderte Konzentration von Spender-APCs in „normalen“, d.h. nicht von den in Kapitel 2.1.3. genannten Ausschlusskriterien betroffenen Hornhäuten angenommen, was als Ursache für die verminderte Immunogenität und somit geringerer Immunreaktionsraten angesehen wurde [119]. Außerdem wurde von dieser Annahme abgeleitet, dass der direkte Weg der Antigenerkennung nach Hornhaut Transplantation eine untergeordnete Rolle spiele: In diesem Zusammenhang formulierte man die sogenannte Docking Hypothese [25], mit der die Autoren versuchten, die Ergebnisse der britischen CTF-Studie zu erklären, die einen scheinbar negativen Effekt des HLA DR Matches auf die Inzidenz einer Immunreaktion demonstriert hatte [24, 169, 170]. Demnach sei die Rolle der Kompatibilität der HLA Klasse II Antigene zwischen Spender und Empfänger abhängig von der Art des transplantierten Gewebes: So habe das Matching für HLA Klasse II Antigene bei der Transplantation intensiv durchbluteter Organen wie der Niere deshalb einen positiven Einfluss auf das Transplantatüberleben, weil dabei zahlreiche HLA Klasse II Antigen-tragende Spender-APCs mit-transplantiert werden. Wären zum Beispiel deren HLA DR Antigene inkompatibel zu denen des Empfängers, würden die Spender-APCs das Empfänger-Immunsystem durch die Präsentation ihrer inkompatiblen HLA Klasse II Antigene in entsprechend großem Umfang auf dem direktem Weg der Antigenerkennung zur Immunreaktion anregen.

Die Situation nach Hornhauttransplantation stehe dazu im Gegensatz: Unter der Voraussetzung, dass die Empfänger-APCs und damit der indirekte Weg der Antigenerkennung die dominierende Rolle für die Initiierung einer Immunreaktion nach Keratoplastik spielt, würde dem Matching für HLA DR nicht nur kein günstiger, sondern sogar ein negativer Einfluss auf das Transplantatüberleben zukommen: Wären die wenigen Spender-APCs in der transplantierten Hornhaut für HLA DR gemismatcht, würde sich eine von ihnen auf direktem Wege ausgelöste Immunreaktion des Empfängers nur gegen diese wenigen HLA DR tragenden Zellen richten, ohne das Transplantat in toto zu gefährden. Wären Spender und Empfänger jedoch gematcht für HLA DR, so würden die wenigen Spender-APCs sogar die Rolle der Empfänger-APCs annehmen können: Indem sie im Transplantat aufgenommene, ggf. gemismatchte HLA Klasse I sowie Minor Antigene dem Empfänger-Immunsystem mittels ihrer kompatiblen HLA Klasse II Antigene zutragen, würden sie so - vergleichbar zum indirektem Weg der Antigenerkennung- die Immunreaktion gegen diese zahlreich im Transplantat vorhandenen Antigene initiieren.

Neuere Studien haben jedoch gezeigt, dass zahlreiche Stimuli zu einer vermehrten Migration von APCs in das Hornhautzentrum führen können [77], und dass auch im zentralen Stroma normaler Hornhäute APCs nachgewiesen werden können [57], die dort auch unter Steroidmedikation persistieren [111]. Zu den Auslösern einer Migration von LZs in das Hornhautzentrum gehören neben viralen und bakteriellen Infektionen [61] auch bestimmte topisch applizierte Zytokine und andere Reizstoffe: So konnten Asbell und Kollegen [6] durch die intrakorneale Injektion von IL-1 sowie IL-2, IL-1 $\beta$ , TNF-[alpha], IL-6 und IFN-[alpha] ebenfalls eine LZ-Migration in die zentrale Hornhaut bei Mäusen auslösen. Mehrere Autoren konnten kürzlich zeigen, dass solche Zytokine sowohl von murinen [79] als auch humanen [89] Hornhautzellen sezerniert werden können. Darüber hinaus kann die LZ- Migration auch von Entzündungen sowie geringen Traumata verursacht werden [77]. Diese Traumata können einerseits im Rahmen operativer Manipulationen am Auge entstehen, wie zum Beispiel bei einer Kauterisation [103] oder auch der Nahtlegung [90] bei der Keratoplastik. Andererseits können sie auch post-operativ als Folge von Unfällen, Folgeoperationen, Infektionen oder eventuellen Glaukomanfällen auftreten. Da die zuletzt genannten Faktoren auch inapparent beim Spender abgelaufen sein können, kann trotz strenger Kriterien zur Spenderhornhaut-Auswahl (siehe Kapitel 2.1.3.) nicht ausgeschlossen werden, dass auf diese Weise mit Spender-LZs

angereicherte Transplantate verpflanzt werden und damit das Risiko für eine Immunreaktion nach Hornhaut-Transplantation erhöht wird.

#### **4.2.1.5. Die variable Expression der HLA Klasse I und II Antigene**

Die Expression der HLA Klasse I bzw. Klasse II Antigene in der Hornhaut wird immer noch kontrovers diskutiert [141]. Während Streilein [157] eine verminderte Expression der HLA Antigene in der Hornhaut beobachtete, beschrieb Newsome [116] eine deutliche Präsenz von HLA Klasse I Antigenen auf kornealem Epithel, Stroma und Endothel. Jager [77] konnte zudem nachweisen, dass HLA Klasse II Antigene regelmäßig nur auf LZs zu finden sind. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass die Expression von HLA Klasse I und Klasse II Antigenen auf allen Hornhautzellen, d.h. auch auf den Endothelzellen, durch die Inkubation mit IFN-[gamma] induziert bzw. verstärkt werden kann [40]. In vivo sind die im Rahmen der Immunreaktion aktivierten (CD4+)-T-Helfer-Zellen der Haupt-Herkunftsort von IFN-[gamma] [172]. Jedoch ist es auch möglich, dass die IFN-[gamma] Ausschüttung durch Faktoren wie das Operations-Trauma während der Transplantation induziert werden kann [141]. So konnte im Mausmodell gezeigt werden, dass binnen der ersten 24 Stunden nach Keratoplastik 25% und nach insgesamt 7 Tagen 100% der Hornhautepithelzellen MHC Klasse II Antigene exprimierten [75]. Nach dem 10. postoperativen Tag war die Expression der MHC Klasse II Antigene jedoch wieder auf das prä-operative Niveau abgesunken.

Diese variable Expression der HLA Antigene durch die Hornhautzellen kann als eine weitere Ursache für die scheinbare Sonderstellung der Hornhaut nach Transplantation angesehen werden: So wurden in Experimenten mit murinen Hornhäuten [118], die zahlreiche Spender-APCs enthielten und Mismatches hinsichtlich der MHC Klasse II Antigene aufwiesen, die beobachteten Transplantate zunächst für ca. 21 Tage nach Keratoplastik nicht abgestoßen. Erst nach der intrakornealen Injektion von IFN-[gamma] wurden in allen Fällen Abstoßungsreaktionen innerhalb von 24-72 Stunden beobachtet. Demgegenüber konnte bei der mit autologen Transplantaten versorgten Kontrollgruppe durch die IFN-[gamma] Injektion in keinem Fall eine Abstoßungsreaktion ausgelöst werden. Die Autoren [118] leiteten aus diesen Beobachtungen die Hypothese ab, dass die Spender-APCs nach der Transplantationsoperation zwar das Transplantat verlassen und das Empfänger-Immunsystem auf direktem Wege für die fremden MHC Klasse II

Antigene sensibilisiert hatten. Jedoch habe die, durch die Transplantationsoperation induzierte, Expression der inkompatiblen MHC Antigene auf den Spenderzellen offenbar nicht bis zum effektiven Einsetzen der Immunreaktion angedauert. Dadurch seien die fremden Antigene der Spenderhornhaut für das Empfänger-Immunsystem praktisch „unsichtbar“ geworden. Bei einer erneuten Expression der fremden MHC Antigene, wie dies in vitro durch die Injektion von IFN-[gamma] ausgelöst werden kann, werden die Spenderzellen für das bereits prä-sensibilisierte Immunsystem des Empfängers wieder antigen, d.h. „sichtbar“ und dann sofort und unweigerlich abgestoßen. Demnach sind die mit-transplantierten Spender-APCs für die Immunogenität des Transplantats verantwortlich, während die Transplantationsoperation und vergleichbare Reize, welche die Ausschüttung von die MHC Expression induzierenden Zytokinen verursachen, dessen Antigenität vermitteln.

#### **4.2.1.6. Das „immunologische Privileg“ der Hornhaut ist relativ**

Der Hornhauttransplantation kommt durchaus eine relative Sonderstellung zu, die jedoch nicht aus dem Hornhaut-Gewebe selbst, sondern vielmehr aus dessen besonderer Lage resultiert. So wurde in Nagetierversuchen beobachtet [166], dass orthotopisch verpflanzte Hornhaut-Allotransplantate, bei denen Spender und Empfänger hinsichtlich der Gewebeantigene inkompatibel waren, in 50% der Fälle nicht abgestoßen werden. Hingegen wurden Hornhaut-Allotransplantate, die nur wenige HLA Mismatches aufwiesen dann unweigerlich abgestoßen, wenn sie nicht ortho- sondern heterotop, d.h. außerhalb des Auges implantiert wurden. Das immunologische Privileg des Hornhauttransplantats ist demnach nicht unumstößlich, sondern beruht auf den oben dargestellten protektiven Mechanismen. Diese können jedoch durch verschiedene Faktoren wie zum Beispiel Operationstrauma, postoperativer Reizzustand, Transplantatgröße, Infektionen, Vaskularisationsgrad der Empfängerkornea, Entzündungen etc. eliminiert werden [40, 121, 129, 132, Pleyer, 1997 #295].

Da sowohl die Antigenerkennung als auch die Antigenelimination der HLA Restriktion unterliegen, ist es theoretisch einleuchtend, dass eine möglichst große Gewebe- bzw. Antigen-Übereinstimmung von Spender und Empfänger (HLA Match) von besonderem Vorteil hinsichtlich der Vermeidung einer Immunreaktion sein kann. Die Ergebnisse unserer Patienten, die einen eindeutigen Zusammenhang zwischen der

Inzidenz einer Immunreaktion und dem Mismatch bezüglich der HLA Klasse I -und HLA Klasse II - Antigenen aufweisen, überraschen insofern nicht.

#### **4.2.2. Mechanismen der Hornhaut-Immunreaktion: CTL oder DTH?**

Obwohl in der Literatur die Meinung vorherrscht, die korneale Abstoßungsreaktion sei ein zell-vermittelter Prozess, sind die Mechanismen im Einzelnen noch nicht endgültig aufgeklärt. Im Allgemeinen werden zwei mögliche Mechanismen unterschieden: die von (CD8+)-zytotoxischen-T-Lymphozyten (CTLs) vermittelte CTL-Immunreaktion und die von (CD4+)-T-Helfer-Zellen vermittelte Hypersensitivitäts-Reaktion vom verzögerten Typ (DTH- delayed type hypersensitivity).

Der Ablauf einer CTL-Immunreaktion zeichnet sich durch die folgenden Schritte aus: Nachdem die CTLs die an HLA Klasse I Moleküle gebundenen spezifischen Antigene auf der Oberfläche der Zielzelle als fremd erkannt haben, leiten sie die Zerstörung dieser Zellen ein, indem sie vor allem die Zytotoxine Perforin und Granzym freisetzen [185]. Die Perforine erhöhen durch die Bildung von Membrankanälen die Zellmembran-Durchlässigkeit und bilden damit die Voraussetzung für das Eindringen der Granzyme in das Zytoplasma der Zielzelle. In ihrer Eigenschaft als Serinproteasen bauen die Granzyme dann die DNA der Zielzelle ab. Insgesamt betrachtet, führen die CTLs also sowohl zu einer Zerstörung der Zellmembran als auch zum Abbau der DNA der Zielzelle. Über diese „aktiven Mechanismen der Zellzerstörung“ hinaus, sind die CTLs aufgrund der Expression von FasL (siehe Kapitel 4.2.1.3. „Das Fas/Fas-Ligand (Fas/FasL) System“) auch in der Lage, die Apoptose, d.h. also die programmierte Selbstzerstörung von Zielzellen zu induzieren, die den Fas-Rezeptor exprimieren [96].

Obwohl sich die CTL-Immunreaktion in ihren Mechanismen somit klar von denen der DTH-Immunreaktion (siehe unten) unterscheidet, sind beide Arten der zellvermittelten Immunreaktion nicht absolut trennbar: Auf der einen Seite sind zumindest einige (CD8+)-T-Zellen auch in der Lage, eine DTH-Immunreaktion zu vermitteln [39]. Andererseits können aber auch (CD4+)-T-Helfer-Zellen Perforine sezernieren, die eine Zytolyse von Zielzellen in vitro verursachen können [185].

Auch die (CD4+)-T-Helfer-Lymphozyten wurden als primäre Mediatoren der Abstoßungsreaktion von verschiedenen Organen antizipiert [56]. Im Rahmen einer solchen Immunreaktion setzen diese T-Zellen typischerweise eine ganze Reihe von

verschiedenen Zytokinen frei, wozu auch das IFN-[gamma] zählt, welches wiederum die Aktivierung von Makrophagen hervorruft. Diese aktivierten Makrophagen setzen ihrerseits verschiedene Zytotoxine frei, darunter auch TNF-[alpha], welche die Nekrose bzw. Apoptose der umgebenden Zellen induzieren. Darüber hinaus exprimieren auch die (CD4+)-T-Zellen den FasL und sind daher auch in der Lage, die Apoptose von Fas-Rezeptor exprimierenden Zellen direkt zu induzieren [96]. Anders als bei der CTL-Immunreaktion werden somit aber nicht (nur) die als fremd identifizierten Zielzellen, sondern alle im Einzugsbereich der DTH-Entzündungsreaktion befindlichen Zellen geschädigt bzw. zerstört.

Wie bereits erwähnt, ist bis heute nicht abschließend geklärt, welcher der beiden Mechanismen bei der Hornhauttransplantat-Abstoßungsreaktion die Hauptrolle spielt. So heben einige Autoren die Bedeutung der CTL-Immunreaktion hervor [26, 138], während andere die DTH-Immunreaktion als den primären Mechanismus der Hornhaut Abstoßung sehen [56, 133]. Auch die Tatsache, dass Kasander et al. [88] nicht in der Lage waren, Donor-spezifische CTLs in abgestoßenen murinen Hornhäuten zu identifizieren, die in avaskuläre Transplantatbetten verpflanzt worden waren, unterstützt eher die Dominanz der DTH-Immunreaktion. Andererseits konnte diese Arbeitsgruppe [88] sehr wohl zahlreiche Donor-spezifische CTLs in jenen abgestoßenen murinen Hornhäuten nachweisen, die prä-operativ vaskularisierten Empfängertieren implantiert worden waren.

In experimentellen Untersuchungen mit Mäusen [62] und Ratten [10], in denen die (CD4+)-T-Zellen in vivo durch spezifische Antikörper inaktiviert wurden, konnten auf diese Weise Abstoßungsreaktion gegen orthotopische Hornhauttransplantate vermieden werden. Demgegenüber konnte durch die in vivo-Inaktivierung von (CD8+)-T-Lymphozyten mittels spezifischer Antikörper kein verbessertes Transplantatüberleben bei diesen Versuchstieren erreicht werden, obwohl die Aktivität Donor-spezifischer CTLs tatsächlich deutlich reduziert worden war [62]. Auch Versuche mit genetisch veränderten „Knock-out“ Mäusen [63], die keine (CD8+)-T-Zellen aufwiesen bzw. keine Perforine bilden konnten, erbrachten ähnliche Resultate: Die Knock-out Mäuse zeigten auf implantierte Hornhauttransplantate von genetisch differenten Spendertieren eine vergleichbare Intensität der Immunreaktionen, wie die Wild-Typ Kontrollempfänger (Spender: BALB/c; Knock-out-Empfänger: C57BL/6; Kontroll-Empfänger: wild-type C57BL/6).

Obwohl somit zahlreiche experimentelle Untersuchungen für die Dominanz der DTH-Immunreaktion sprechen, liefern einige klinische Untersuchungen dennoch auch Hinweise auf eine gewisse Bedeutung der CTL-Immunreaktion: So konnten Pepose et al. [133] in immun-histochemischen in situ-Untersuchungen an abgestoßenen humanen Hornhäuten neben (CD4+)-T-Helfer-Zellen auch zahlreiche (CD8+)-T-Lymphozyten und Makrophagen identifizieren. Zudem entspricht das histopathologische Erscheinungsbild der kornealen Transplantat-Abstoßungsreaktion mit dem Befall einzelner Hornhautzellschichten [86], der allmählich über das Transplantat fortschreitenden Immunreaktionslinie sowie T-Zellen, die einzelne Endothelzellen direkt angreifen und zerstören [27] (siehe Kapitel 1.3.2. „Klinische Einteilung der Immunreaktion nach Hornhauttransplantation“ sowie Abbildung 6 (a)) eher dem Bild einer CTL-Immunreaktion als dem der ungerichteten DTH-Entzündungsreaktion.

### **4.3. Die Relevanz der HLA Antigene**

Wie bereits im Kapitel 4.2. „Fehlerquellen“ erläutert, ist es zur Bewertung der Relevanz der HLA Antigene zweckmäßig, den Einfluss der HLA Mismatches (anstatt der Matches) auszuwerten.

Obwohl heute in der Literatur der Einfluss der HLA Mismatches mehrheitlich anhand der Inzidenz des erstmaligen Auftretens einer jeden, d.h. reversiblen oder irreversiblen Immunreaktion bewertet wird, haben wir im Sinne der Vergleichbarkeit mit älteren Studien auch den Einfluss auf die Inzidenz des irreversiblen, immunologisch bedingten Transplantatversagens untersucht (siehe Kapitel 2.5. „Datenauswertung“).

#### **4.3.1. Einfluss der HLA Mismatches auf die Immunreaktionsrate**

Unsere Ergebnisse lassen auf eine prognostisch überaus relevante Korrelation zwischen der Anzahl von HLA Spender-Empfänger-Mismatches und der Rate von Immunreaktionen nach Hornhauttransplantation schließen.

Schon ein HLA Spender-Empfänger-Match von 2 oder mehr Allelen in HLA A, HLA B oder HLA DR senkt die Rate des Auftretens einer Immunreaktion deutlich, und zwar sowohl bei guter als auch bei schlechter Prognose.

Besonderes Augenmerk sollte auf die Anzahl der Mismatches in HLA B gelegt werden, da diese in beiden Prognosegruppen einen klaren Einfluss auf die Inzidenz von Abstoßungsreaktionen gezeigt haben. Darüber hinaus besitzt vor allem für Patienten der schlechten Prognosegruppe die Vermeidung von Mismatches in HLA A und HLA DR eine starke prognostische Bedeutung.

##### **4.3.1.1. Mismatches in HLA Klasse I (HLA A und HLA B)**

Antigene der HLA Klasse I, d.h. vor allem HLA A und HLA B, wurden im Hornhautgewebe auf dem Endothel, dem Epithel und den Stromalen Keratozyten identifiziert [180]. Während einer Abstoßungsreaktion werden diese HLA Klasse I Antigene des Spenders dann zu Zielobjekten für die (CD8+)-zytotoxischen-T-Lymphozyten des Empfängers, wenn zwischen Spender und Empfänger bezüglich dieser Antigene immunologische Inkompatibilität besteht, d.h. Mismatches in HLA A und/oder HLA B vorhanden sind [35, 131]. Daraus folgt, dass das HLA Match (bzw. die Vermeidung von Mismatches) zwischen Spender und Empfänger für Allele der HLA Klasse I theoretisch die Anzahl der Zielantigene für die (CD8+)-zytotoxischen-T-



Lymphozyten des Empfängers senken und damit auch die Rate der Immunreaktionen vermindern würde.

In zahlreichen anderen klinischen Studien [22, 108, 128, 147, 169, 176] wurden diese theoretischen Überlegungen über den Nutzen des HLA Match für Antigene der HLA Klasse I bereits bestätigt und stimmen diesbezüglich mit unseren Ergebnissen überein. Jedoch stehen dem einige andere Studien [2, 64] gegenüber, darunter auch die großangelegte, multizentrische CCT-Studie (collaborative corneal transplantation study), welche keine Korrelation zwischen dem HLA Match und dem Transplantatüberleben nach Hornhauttransplantation bei Hoch-Risiko Patienten nachweisen konnte. Die CCTS Autoren schlussfolgerten daraus, dass weder das HLA Match für Antigene der HLA Klasse I (HLA A und HLA B) noch für Antigene der Klasse II (HLA DR) das Auftreten von Immunreaktionen bei Patienten mit schlechter Prognose, die unter lokaler immunsuppressiver Therapie stehen, statistisch signifikant senkt.

Neben den im Kapitel 4.1.3. („Qualitätskontrolle der HLA Typisierungsergebnisse“) ausführlich diskutierten hohen Fehltypisierungswahrscheinlichkeiten der CCT-Studie und den dadurch bedingten Zweifeln an der Richtigkeit der beschriebenen Ergebnisse, müssen noch weitere, bereits erörterte Faktoren (siehe Kapitel 4.1.2. Fehlerquellen) beachtet werden, die den Effekt des HLA Match in der CCT-Studie maskiert haben könnten: Dazu zählen neben den in der CCT-Studie mehrheitlich verwendeten Transplantatgrößen von >8,00 mm vor allem Unterschiede in der postoperativen lokalen immunsuppressiven Therapie.

#### **4.3.1.2. Mismatches in HLA Klasse II (HLA DR)**

Langerhanszellen, die regelmäßig HLA DR Antigene exprimieren, wurden sowohl im Korneaepithel als auch im Stroma der Kornea nachgewiesen [131], jedoch nur im Randbereich gesunder Hornhäute [132]. Es konnte jedoch von Jager et al. [77] gezeigt werden, dass diese Zellen durch bestimmte Reize, wie sie u.a. von Entzündungen und Vaskularisationen der Hornhaut ausgehen, zur Migration und Akkumulation in das Hornhautzentrum angeregt werden können. Darüber hinaus sind sowohl native Hornhaut-Endothelzellen [167] als auch korneale Epithel- und Stromazellen [48] in der Lage, solche HLA Klasse II Moleküle auf ihrer Oberfläche zu exprimieren. Diese Fähigkeit kann durch eine Entzündung der Hornhaut, beispielsweise nach einer Infektion oder einer Immunreaktion, sowie durch die

Transplantationsoperation selbst verstärkt sein [141]. Auch eine Fadenlockerung oder ein intraokulärer Entzündungsprozess können die Expression dieser HLA Antigene befördern [23]. Sind Spender und Empfänger nicht gematcht, würde folglich eine große Menge immunogener Antigene exprimiert werden. Mit anderen Worten, Spender-Empfänger-HLA DR Mismatches führen dann zu einer gegen das Transplantat gerichteten Immunreaktion vom verzögerten Typ (DTH-Immunreaktion), die durch die Aktivierung von (CD4+)-T-Helfer-Lymphozyten des Empfängers vermittelt wird.

Obwohl dem HLA DR Match zum Beispiel in der Nierentransplantation schon seit vielen Jahren eine große Bedeutung für das Transplantatüberleben zuerkannt wird [107, 113], ist seine Rolle bei der Korneatransplantation immer noch umstritten [169]. So beobachteten die Autoren einer dänischen Studie [11] unter Verwendung molekularbiologischer Typisierungstechniken einen deutlichen Prognose verbessernden Effekt des HLA DR Matches für Patienten mit schlechter Prognose. Demgegenüber konnten zahlreiche japanische Autoren für solche Patienten zwar einen signifikant günstigen Einfluss des HLA DP Matchs nachweisen, nicht aber auch des HLA DR Matchs [108, 112]. Es ist jedoch kritisch anzumerken, dass in den erwähnten Studien aus Japan durchweg nur relativ geringe Fallzahlen (<85 Fälle) als Grundlage für die Analysen diskutiert wurden. Darüber hinaus können auch die in Kapitel 4.1.3. („Qualitätskontrolle der HLA Typisierungsergebnisse“) diskutierten Auswirkungen qualitativ mangelhafter HLA Typisierungsergebnisse einen gegebenenfalls vorhandenen Einfluss des HLA DR Matchs in diesen Studien maskiert haben.

Dementsprechend verwundert es nicht, dass unsere Untersuchungsergebnisse bezüglich des Prognose verbessernden Effekts des HLA DR Matches bei Patienten mit schlechter Prognose sowohl mit zahlreichen anderen großen Studien übereinstimmen [11, 13, 64, 69, 70], darunter auch der Arbeit von Völker-Dieben et al. [176], als auch mit den experimentell gewonnenen Erkenntnissen über die Funktion der HLA Klasse II Antigene (siehe Kapitel 1.3.1.).

#### **4.3.1.3. Unterschiedliche Bedeutung der HLA Antigene für Patienten mit guter bzw. schlechter Prognose**

Die unterschiedliche Bedeutung der HLA Klassen je nach prä-operativer Prognose, d.h. die besondere Wichtigkeit der HLA Klasse I für die gute Prognosegruppe auf der einen Seite, im Vergleich zur gemeinsamen Bedeutung beider HLA Klassen für Patienten mit schlechter Prognose auf der anderen Seite, kann aus unserer Sicht vor allem durch einen unterschiedlichen „Aktivierungsgrad des Immunsystems“ in der jeweiligen Prognosegruppe erklärt werden:

Wie im Kapitel 2.2.2. („Prognosegruppen und Prä-operative Diagnose“) beschrieben, wurden Patienten mit den Erst-Diagnosen Kornea-Ulkus, Descemetozele, Verätzung, Verbrennung, Transplantat-Dystrophie nach vorausgegangener Transplantatabstoßung sowie alle anderen prä-operativen Diagnosen, die mit einer Hornhaut-Vaskularisation in mehr als zwei Hornhaut-Quadranten vergesellschaftet waren, der schlechten Prognosegruppe zugerechnet. Dabei waren die Patienten in der jeweiligen Prognosegruppe relativ homogen, bezogen auf den Einfluss der entsprechenden Erst-Diagnosen auf den Transplantatüberlebensverlauf (siehe Kapitel 3.3. „Einfluss der Erst-Diagnosen auf das Transplantationsergebnis“). Zahlreiche Autoren [85, 164] haben in früheren Arbeiten zeigen können, dass Patienten mit schlechter Prognose ein erhöhtes Risiko für Immunreaktionen haben. Die Ursache dafür könnte in der häufig vorliegenden Hornhaut-Vaskularisation selbst liegen, da auf diese Weise die physiologischerweise vorhandene relative Blockade des afferenten Schenkels des Immunreflexbogens (siehe Kapitel 4.2.1. „Die physiologische Avaskularität der Hornhaut“) umgangen werden kann.

Darüber hinaus könnte das erhöhte Risiko für Immunreaktionen bei Patienten mit schlechter Prognose auf einer möglichen Elimination des schützenden ACAID-Phänomens, sowie auch auf einer Anreicherung immunkompetenter Empfängerzellen im Transplantat-Bett beruhen: Es wurde gezeigt, dass der ACAID-Effekt nach der Behandlung muriner Hornhäuten mit bestimmten Zytokinen, wie sie vor allem im Rahmen von Entzündungen ausgeschüttet werden, nicht mehr auslösbar war [18]. Solche entzündlichen Prozesse sind mit den genannten Erst-Diagnosen, die zur Einteilung in die Schlechte Prognosegruppe geführt haben, häufig assoziiert [97, 163] und stellen zudem auch eine wichtige Ursache für die Neovaskularisation (Blut- und Lymphgefäße) der Hornhaut dar [120]. Darüber hinaus werden bei Entzündungen auch lösliche Signalstoffe ausgeschüttet, namhaft das IFN-[gamma],

welche zu einer Anreicherung bzw. Migration immunkompetenter Zellen sowohl im Zentrum als auch im Randbereich der Hornhaut führen können.

Somit stehen bei Patienten mit schlechter Prognose bereits zum Zeitpunkt der Transplantation zahlreiche Empfänger-APCs in unmittelbarer Nähe des Transplantats bereit. Diese können vom Transplantat ausgehende Spender-HLA Antigene aufnehmen und, im Falle einer bereits bestehenden Vaskularisation des Transplantat-Bettes, über den dann leichter zugänglichen afferenten Schenkel des Immunreflexbogens die drainierenden Lymphknoten des Empfängers schnell erreichen, um dort durch die Präsentation der prozessierten Antigene gegenüber Empfänger-T-Zellen die Immunreaktion zu initiieren. Dabei begründet sich die Bedeutung *beider* HLA Antigen Klassen bei Patienten der schlechten Prognose auf stochastischen Ursachen: Infolge der zahlreich vorhandenen Empfänger-APCs ist die Wahrscheinlichkeit dafür erhöht, dass neben den auf allen Hornhautzellen zahlreich exprimierten HLA Klasse I Antigenen auch die nur bedingt exprimierten Antigene der HLA Klasse II in relevantem Umfang phagozytiert werden. Zudem trägt die Aufhebung der – bei Patienten mit guter Prognose zumindest relativ vorhandenen - Blockade des afferenten Immunschenkels zusätzlich dazu bei, dass die von den Empfänger-APCs am Transplantat aufgenommenen HLA Antigene, in großem Umfang die drainierenden Lymphknoten erreichen und dort den Empfänger-T-Zellen präsentiert werden.

Bei Patienten mit guter Prognose stellt sich die immunologische Situation hingegen günstiger dar: Da solche Patienten nur selten prä-operative Vaskularisationen der Hornhaut aufweisen, steht meist ein avaskuläres Transplantatbett und somit eine relative Blockade des afferenten Schenkels der Immunreflexbogens zur Verfügung. Dies führt dazu, dass fremde Antigene und APCs des Spenders in weitaus geringerem Maße die regionären Lymphknoten des Empfängers erreichen, als dies bei Patienten mit schlechter Prognose der Fall ist [95]. Zudem dürfte neben einem intakten ACAID-Phänomen, welches der Infiltration des Transplantats mit immunkompetenten Zellen des Empfängers entgegenwirkt, auch die geringere Konzentration immunkompetenter Empfängerzellen im Transplantatbett dazu beitragen, dass für Patienten mit guter Prognose vor allem die zahlreich exprimierten HLA Klasse I Antigene bedeutsam sind: Wiederum aus stochastischer Sicht scheint es nahe zu liegen, dass aufgrund der geringen Anzahl von Empfänger-APCs im Transplantatbett, die auf allen kornealen Zellen exprimierten HLA Klasse I Antigene

häufiger von den APCs phagozytiert werden, als die nur bedingt exprimierten Antigene der HLA Klasse II. Durch die meist nicht (bzw. nur in einem Hornhaut-Quadranten) vorhandene Vaskularisation wird das Erreichen der drainierenden Lymphknoten erschwert. Somit ist die bedingte Wahrscheinlichkeit dafür, dass dem Immunsystem des Empfängers in großem Maße auch Antigene der Klasse II präsentiert werden, eher gering.

#### **4.3.2. Einfluss der HLA Mismatches auf die Transplantatversagensrate**

Unsere Analysen bezüglich des Einflusses der HLA Mismatches auf die Inzidenz des Transplantatversagens erbrachten zwar durchweg statistisch weniger signifikante Ergebnisse als die Analysen bezüglich der Immunreaktionsrate. Dennoch waren sie in ihrer Tendenz durchaus mit jenen vergleichbar, wobei auch hierbei der Effekt des HLA B Matches in beiden Prognosegruppen besonders deutlich war. Prinzipiell stimmen unsere Ergebnisse somit bezüglich der Effektivität des HLA Matches für das Transplantatüberleben mit zahlreichen anderen Studien überein [15, 17, 47, 128] und bestätigen damit unsere Annahmen über den Nutzen des HLA Matches.

Bei der Interpretation dieser Ergebnisse müssen jedoch die Nachteile und möglichen Fehlerquellen der Analyse hinsichtlich der Inzidenz des Transplantatversagens beachtet werden:

In der frühen post-operativen Phase, d.h. in der Regel innerhalb der ersten beiden Jahre nach der Transplantation, treten die meisten Immunreaktionen auf [168]. Dieses erstmalige Auftreten einer Immunreaktion ist in der Mehrzahl der Fälle relativ unumstritten auf immunologische Ursachen zurückzuführen. Demgegenüber stellt sich die Ätiologie-Abklärung der häufig sehr viel später auftretenden, irreversiblen Transplantatabstoßung als vergleichsweise problematisch dar, und ein immunologischer Bezug ist nur selten eindeutig herstellbar. Diese Problematik resultiert aus dem Umstand, dass während die lokale immunsuppressive Therapie zunehmend reduziert bzw. schließlich sogar eingestellt werden muss, die Transplantatempfänger mit fortschreitender Zeit nach der Transplantation häufiger und länger verschiedenen Risikofaktoren ausgesetzt sind. Dazu zählen neben infektionsbedingten Entzündungen, Unfall-Traumata und Glaukomanfällen zum Beispiel auch weitere Folgeoperationen wie der künstliche Linsenersatz infolge Katarakt. Diese können ihrerseits, unabhängig von der Wirkung des HLA Matches, die immunologische Situation in der Hornhaut beeinflussen, indem sie zum Beispiel die

vermehrte Infiltration von immunkompetenten Entzündungszellen des Empfängers in das Transplantat bzw. eine verstärkte Expression der Spender-HLA Gewebeantigene hervorrufen. Auf diese Weise kann eine Transplantatabstoßung provoziert werden, die prima causa auf diese Risikofaktoren zurückzuführen ist, und nicht auf eine Reaktion des Immunsystems gegen das Transplantat.

Damit sinkt mit zunehmender Zeit nach der Transplantation zwar einerseits das Risiko einer rein immunologisch bedingten Abstoßungsreaktion, da das Empfänger-Immunsystem zunehmend adaptiert (zum Beispiel auf Grundlage des ACAID-Effekts; siehe Kapitel 4.2.2. „Das ACAID-Phänomen“). Andererseits steigt aber auch das Risiko einer Transplantateintrübung aufgrund der oben genannten äußeren Einflüsse.

Die diagnostische Trennung der beiden möglichen Ursachen für ein irreversibles Transplantatversagen gestaltet sich dementsprechend schwierig: So ist zum Beispiel die Unterscheidung einer immunologisch bedingten Transplantat-Abstoßungsreaktion und einer rezidivierenden Herpes simplex Keratitis allein schon klinisch sehr problematisch [16]. Noch komplizierter ist es jedoch, diese Entscheidung retrospektiv treffen zu müssen. Folgende mögliche Fehlerquellen sind dabei zu nennen:

- Untersucher-bedingte, d.h. zum Beispiel auf mangelnder Erfahrung beruhende Fehleinschätzungen der Ursachen eines Transplantatversagens,
- Nicht verifizierbare Annahmen über die Unabhängigkeit konkurrierender Risikofaktoren des Transplantatversagens,
- Unzutreffender Ausschluss von Fällen, deren Transplantatversagen als „nicht-immunologisch bedingt“ eingestuft wurde.

Somit scheint die Inzidenz bzw. die Zeitdauer bis zum irreversiblen Transplantatversagen eher ein geeigneter Indikator für die Effektivität der Nachuntersuchungen und der postoperativen Steroid-Therapieprotokolle des jeweiligen Transplantationszentrums zu sein [176].

#### **4.4. Weitere Einflussfaktoren auf das Transplantatüberleben**

Auch wenn der Effekt der HLA Klasse I und II Antigene bezüglich der Prävention einer Immunreaktion belegt ist, gibt es noch weitere Faktoren, die einen noch wenig bekannten Einfluss auf die Entstehung und den Ablauf einer Immunreaktion haben könnten.

##### **4.4.1. HLA Untergruppen („HLA Splits“)**

Die HLA Typisierung kann auf zwei verschiedene Arten erfolgen, und zwar entweder nur für die HLA Obergruppen, d.h. das sogenannte „broad-typing-level“, oder auch zusätzlich für die HLA Untergruppen („HLA Splits“), also das sogenannte „split typing level“. Zum Beispiel können für Individuen, bei denen das HLA Obergruppen-Antigen A9 festgestellt wurde, durch die Analyse der HLA Splits die Antigene HLA A23 oder HLA A24 als Untergruppen des Antigens HLA A9 identifiziert werden. Dabei stellt sich die Analyse der HLA Splits jedoch als kostenintensiver und deutlich aufwendiger als die Typisierung nur der HLA Obergruppen dar, weil die HLA Untergruppen mit herkömmlichen serologischen Typisierungsmethoden nur wenig zuverlässig erfassbar sind [113] und daher den zuverlässigeren DNA-basierten Methoden [105] der Vorzug zu geben ist.

Dennoch wäre aus theoretischer Sicht ein deutlich positiver Effekt des HLA Matching auf Grundlage der HLA Splits zu erwarten, da mit dem Anstieg an HLA Kompatibilität eine Abnahme an Immunogenität des Transplantats für das Immunsystem des Empfängers und somit eine geringere Inzidenz der Immunreaktion gegeben sein müsste. So haben Opelz et al. [125] in ihren Untersuchungen zur Nieren-Transplantation einen starken Einfluss des Split Matching für HLA A und HLA B auf die Immunreaktionsinzidenz nachweisen können, andererseits jedoch nicht für Splits von HLA DR [127]. Die Autoren sahen eine mögliche Erklärung für diese Unterschiede darin, dass die HLA Splits der HLA Klasse I vor allem eine Bedeutung als Zielantigene während einer Immunreaktion haben könnten, während die HLA Obergruppen der HLA Klasse II wichtig sind für die Initiierung einer Immunreaktion [127].

Unsere Analysen unterstützen diese aus der Nieren-Transplantation abgeleitete Annahme aber nicht: Wie in den Tabellen 2b, 3b und 4b dargestellt, waren die Ergebnisse unserer Überlebensanalysen, bei denen wir Unterschiede zwischen Spender und Empfänger in den Splits der Antigene HLA A, HLA B und HLA DR als

Mismatch gewertet haben, statistisch durchweg weniger signifikant oder verhielten sich sogar umgekehrt zu jenen in Tabelle 2a, 3a und 4a beschriebenen, die wir unter Nicht-Berücksichtigung der Splits erhalten hatten.

Eine mögliche Erklärung dieser unerwarteten Resultate ergibt sich aus der Untersuchung von Beekhuis et al. [16], bei der 303 Hoch-Risiko Patienten retrospektiv hinsichtlich des Einflusses der HLA Obergruppen und HLA Untergruppen untersucht wurden: Es ergab sich vor allem dann ein eindeutiger Vorteil des HLA Matches unter Berücksichtigung der HLA Untergruppen, wenn ausschließlich Fälle mit Nachuntersuchungszeiträumen von mehr als 3 Jahren (bis zu 12 Jahren) in den Überlebensanalysen berücksichtigt wurden.

Ähnlich differenzierte Ergebnisse wurden von den Autoren der „Collaborative Transplant Study“ [126] für die Nierentransplantation veröffentlicht: Zwar konnte in früheren Studien (wie oben beschrieben) kein signifikanter Einfluss des HLA DR Split Level Matches auf das Transplantatüberleben der Gesamtheit der Nierentransplantat-Empfänger gezeigt werden, sehr wohl aber für Empfänger einer wiederholten Nierentransplantation. Fälle, bei denen unter Berücksichtigung der HLA Splits die Mismatch Anzahl von 0 auf 1 bzw. von 1 auf 2 anstieg, zeigten ein deutlich verkürztes Transplantatüberleben im Vergleich zu solchen, die auch mit Rücksicht auf die HLA Splits 0 bzw. 1 Mismatch aufwiesen.

Diese Ergebnisse legten die Schlussfolgerung nahe, dass das Spender-Empfänger-HLA Match für Empfänger einer Nieren-Re-Transplantation in Zukunft unter Berücksichtigung der HLA DR Untergruppen-Antigene zu erfolgen habe.

Der Umstand, dass wir in unserer Untersuchung keinen derartigen positiven Einfluss des HLA Split Matches demonstrieren konnten, mag in einem möglichen Mangel an Daten bezüglich der HLA Splits begründet sein: Aussagen über HLA Untergruppen lassen sich am zuverlässigsten nur mit molekularbiologischen Typisierungsmethoden erzielen [126], während die HLA Obergruppen auch mit serologischen Methoden sehr genau bestimmt werden können [114]. Da die unserer Studie zugrunde liegenden HLA Daten bis in die frühen 1990er Jahre mehrheitlich mit serologischen Typisierungsmethoden gewonnen wurden, lässt sich ein gewisses Maß an fehlenden bzw. fehlerhaften HLA Split Daten nicht mit letzter Sicherheit ausschließen.

Dem entgegen erhielten wir durchaus statistisch signifikante Ergebnisse (Tabelle 2c, 3c), die denen aus den Analysen ohne die HLA Split Berücksichtigung vergleichbar waren, wenn wir diejenigen Fälle von der Betrachtung ausschlossen, bei denen



Spender und Empfänger zwar ähnlich waren, aber nicht gleich. D.h. die Anzahl der Mismatches erhöhte sich für diese Fälle, wenn die HLA Splits berücksichtigt wurden. Dies scheint die Annahme zuzulassen, dass ein HLA Split Match die Inzidenz einer Immunreaktion nicht stärker reduziert als ein HLA Split *Mismatch* und dass ein Mismatch irgendeines HLA Obergruppen-Antigens sich prognostisch ungünstiger auswirkt als ein Mismatch der HLA Untergruppen-Antigene (HLA Splits).

Die Gesamtheit der hier dargelegten Ergebnisse legt die Schlussfolgerung nahe, dass in Zukunft die Berücksichtigung der HLA Split-Antigene vor allem für bestimmte Empfängergruppen, zum Beispiel in Fällen mit Re-Transplantation eine besondere Bedeutung erlangen könnte. Dabei ist jedoch die Verwendung weiter verbesserter und zuverlässigerer Typisierungsmethoden eine der Grundvoraussetzungen dafür, die möglichen Vorteile des Split Matching nutzen zu können.

#### **4.4.2. Spender Eigenschaften**

Obwohl es in einigen älteren Studien Hinweise auf einen Einfluss des Spender-Alters [174], des Geschlechts [175] sowie der Todesursache [30] auf den Transplantatüberlebens-Verlauf gibt, konnten neuere Studien dies nicht weiter belegen [Vail, 1994 #31; Tregel, 1995 #446; [182]. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit konnten diesbezüglich keine Analysen durchgeführt werden, da infolge des retrospektiven Charakters unserer Untersuchung bis auf die HLA Daten der Spender im Wesentlichen keine weiteren Informationen über die Spender verfügbar waren. Jedoch ist anzunehmen, dass selbst wenn ein potentieller Einfluss von den Eigenschaften des Spenders auf die Qualität des Spendermaterials ausgehen mag, dieser durch das prä-operative Screening der konservierten Hornhäute hinsichtlich der Endothelzell-Qualität eliminiert wird [169].

#### **4.4.3. Non-HLA / Non-MHC Antigene**

Neben den bekannten und bereits erläuterten HLA oder Major-Antigenen gibt es noch weitere immunologisch bedeutsame Geweboberflächenmoleküle, die sogenannten Non-MHC bzw. Non-HLA Antigene, zu denen vor allem die Blutgruppen- und die Minor Antigene zählen. Obwohl deren Einfluss auf die Entstehung einer Immunreaktion bisher als eher gering eingestuft wurde, gibt es Anhaltspunkte dafür, dass ihre Rolle unterschätzt worden sein könnte.

#### 4.4.3.1. ABO und Lewis Blutgruppen-Antigene

Sowohl die ABO als auch die Lewis Antigene werden als Blutgruppen-Antigene bezeichnet und auf der Oberfläche von Erythrozyten exprimiert. Aus biochemischer Sicht sind sie sich relativ ähnlich, da sie beide von den gleichen Vorläufer-Molekülen (N-acetylglycosamine aus Typ 1 bzw. Typ 2 Ketten) abstammen [144]. Die Lewis Antigene konnten bisher sowohl auf konjunktivalen Epithelzellen als auch auf Lymphozyten nachgewiesen werden [49]. Im Gegensatz dazu haben einige Autoren die ABO Antigene ausschließlich auf dem Hornhautepithel nachweisen können [165], während andere sie auch auf dem kornealen Endothel identifiziert haben [146]. Im Gegensatz zur Nierentransplantation [109], scheint der Einfluss der ABO Inkompatibilität auf die Immunreaktion bei der Keratoplastik eher nachrangig zu sein [22, 144, 176], wenngleich auch hier einzelne Studien mit anderen Ergebnissen vorliegen [2, 175].

Wenige Arbeiten befassen sich mit der Rolle der Lewis-Antigene bei der Keratoplastik. Während diesen Antigenen im Rahmen der Transplantation solider Organe eine eher geringe Immunogenität zugeschrieben wird, könnte die Kompatibilität der Lewis-Antigene den Transplantatüberlebensverlauf nach Hornhauttransplantation signifikant beeinflussen [144]. Eine mögliche Erklärung für ihre gesteigerte Bedeutung bei der Keratoplastik könnte in der im Vergleich zu anderen Transplantationsarten geringeren Dosierung der Immuntherapie nach Keratoplastik liegen.

Sollten weitere Studien diesen vielversprechenden Ansatz bestätigen können, wäre dies besonders aus ökonomischer Sicht begrüßenswert, da die Bestimmung dieser Antigene vergleichsweise einfach und kostengünstig ist und die Chancen auf einen für diese Antigene kompatiblen Spender bei bis zu 70% liegen [2].

#### 4.4.3.2. Minor Antigene

Bei diesen Antigenen handelt es sich um sogenannte „schwache“ Transplantationsantigene, deren Einfluss auf die Entstehung einer Immunreaktion bisher als eher gering eingestuft und folglich auch nur selten berücksichtigt wurde. Die Minor Antigene sind ursprünglich zytosolische Proteine, die auf der Zelloberfläche gebunden an HLA Klasse I Antigene präsentiert werden können [52, 121]. Das bekannteste Beispiel eines Minor Antigens ist das männliche H-Y Antigen,

welches im Mäusemodell zu einer vermehrten Abstoßung von Hauttransplantaten von männlichen Spendern auf weibliche Empfänger führt [43]. Bei der menschlichen Hornhaut scheint jedoch der Geschlechtsunterschied von Spender und Empfänger keinen Einfluss auf das Transplantatüberleben zu haben [184].

Bei der Keratoplastik im Mäusemodell [59] konnte gezeigt werden, dass bei sonst vollständiger Übereinstimmung im HLA System durch ein einziges Mismatch, in diesem Fall beim H-3 Minor Antigen, die Abstoßungsrate auf 29-50% (je nach Prä-Immunsierungsgrad durch vorangegangene Haut-Transplantationen) gegenüber 0% bei der Kontrollgruppe ansteigt. Weiterhin wurde ebenfalls im Mäusemodell demonstriert [152], dass bei Spenderhornhäuten, die nur Mismatches in den Minor Antigenen aufwiesen, wesentlich häufiger (50%) eine Transplantatabstoßung auftrat, als bei Transplantaten mit Mismatches nur in den MHC Antigenen (20%). Möglicherweise sind Minor Antigene im Vergleich zu MHC Molekülen in größerer Zahl auf der Oberfläche von Spender-Zellen vorhanden und können somit leichter über antigenpräsentierende Zellen das Immunsystem des Empfängers aktivieren [148].

Trotz dieser tierexperimentellen Ergebnisse ist noch wenig über die Rolle von Minor Antigenen bei der Immunreaktion nach Keratoplastik beim Menschen bekannt. So konnte zwar nachgewiesen werden, dass die Minor Antigene H-Y und HA-3 in der menschlichen Kornea exprimiert werden [52], die Identifizierung und Typisierung von Minor Antigenen ist generell jedoch schwierig und kostenintensiv [160] und wird zur Zeit klinisch kaum angewendet. Erste Hinweise auf die mögliche Relevanz der HA-3 Minor Antigene beim Menschen, die u.a. in HLA A1 Molekülen exprimiert werden, wurden jedoch kürzlich im Rahmen einer Fall-Kontroll-Studie veröffentlicht [20]: Bei 77 HLA A1 kompatiblen perforierenden Keratoplastiken wurde das HA-3 Allel retrospektiv typisiert. In 8 Fällen waren die Spender und Empfänger hinsichtlich dieser Minor Antigen inkompatibel. Während das klare, abstoßungsfreie Transplantatüberleben in dieser Fallgruppe (n=8) nur 30% betrug, wiesen die Patienten der Kontrollgruppe (n=69) ein Transplantatüberleben von 80% auf. Dieser große Unterschied verfehlte jedoch aufgrund der geringen Fallzahlen knapp die statistische Signifikanz (p=0,06). Somit müssen weitere Ergebnisse abgewartet werden, bevor ein Urteil über die Bedeutung des „Minor Matching“ gefällt werden kann.

#### 4.4.4. „Taboo“ Mismatches

Nicht jedes Antigen wirkt auf gleiche Weise immunogen. Bei der Nierentransplantation fiel erstmals auf, dass nicht alle Mismatches unweigerlich zu einer Immunreaktion führen. Es lassen sich weitere Anhaltspunkte dafür finden, dass nicht nur die Anzahl der HLA Übereinstimmungen für die Vermeidung einer Immunreaktion ausschlaggebend ist. So finden sich bei abgestoßenen Nierentransplantaten bestimmte HLA Antigene besonders häufig. Weiterhin wurde festgestellt, dass bestimmte HLA Klasse I Antigene bei Patienten mit bestimmten HLA Phänotypen besonders immunogen erscheinen, während sie bei anderen Patienten, die diesen Phänotyp nicht aufweisen, unauffällig bleiben [42]. Darüber hinaus konnten sowohl in der HLA Klasse I als auch in der HLA Klasse II bestimmte Mismatches identifiziert werden, welche die Transplantatprognose signifikant verschlechterten und andere, die keinen Einfluss hatten [42, 171]. Dies führte zu dem Konzept der sogenannten akzeptablen oder „permissible“, und den inakzeptablen oder „taboo“ Mismatches [42]. Dieses Konzept wurde von verschiedenen anderen Arbeitsgruppen ähnlich beschrieben [98], [171]. Erste Hinweise auf die mögliche Relevanz solcher „taboo“ Mismatches auch bei der Keratoplastik lieferte eine Arbeit, welche die Spender-HLA Antigene A26, B35 und B44 als besonders schädlich einstufte [35].

Seit der Veröffentlichung dieses Konzeptes wurden verschiedene Erklärungsansätze für dieses Phänomen diskutiert. So spekulierten Creemers und Kollegen [35], die eine schädliche Wirkung der genannten HLA Klasse I Antigene nur an der Hornhaut und nicht auch an der Niere nachweisen konnten, dass ein möglicher Co-Faktor wie die virale Infektion mit Herpes simplex Virus (HSV) dafür verantwortlich sein könnte: Es wurde angenommen, dass die genannten HLA Moleküle besser als andere in der Lage seien, solche viralen Antigene zu präsentieren und somit eine durch CTLs vermittelte Gewebeerstörung förderten.

Hingegen schlugen Doxiadis et al. [42] als Erklärung für ihre Beobachtungen, dass der HLA Phänotyp des Empfängers die Immunogenität der Mismatches maßgeblich mitbeeinflusst, die Existenz einer Kreuzreaktion vor: So könnten die Empfänger zu irgendeinem Zeitpunkt vor der Transplantation Kontakt zu einem Pathogen gehabt haben, welches eine kreuzreagierende Reaktion, zum Beispiel eine durch T-2-Helfer-Zellen induzierte humorale Immunantwort ausgelöst hat, die nun auch bestimmte mit

dem Transplantat eingepflanzte sogenannte „taboo“ HLA Antigene des Spenders betrifft.

Ein ebenso interessanter Erklärungsversuch wurde von Stobbe et al. [154] beschrieben: Sie schlossen aus der Beobachtung, dass das 5 Jahres Transplantatüberleben von Nierentransplantaten mit Mismatches in HLA B7 bei HLA A1 positiven Empfängern 30% schlechter war als bei HLA A1 negativen Empfängern [42], auf eine mögliche Kopplung von bestimmten Empfänger-HLA Phänotypen mit einer erhöhten Aktivität des Immunsystems. So wurde, assoziiert zum Vorhandensein von bestimmten HLA DR Allelen (unter anderem DR1, DR3, DR4 und DR7 ), eine erhöhte Sekretion von TNF-[alpha] nachgewiesen [76, 179].

Grundsätzlich scheinen aber in verschiedenen Organsystemen verschiedene „taboo“ und „permissible“ Mismatches aufzutreten. Die Erkenntnisse können somit nicht ohne weiteres von einem Organsystem auf ein anderes übertragen werden [35]. Ebenso scheint der Kontext, in dem ein bestimmtes Antigen steht - also der HLA Phänotyp des Empfängers- eine wesentliche Rolle zu spielen [42].

Trotz dieser momentanen Schwierigkeiten könnte die Identifizierung und klinische Überprüfung von „permissible“ und „taboo“ Mismatches ein denkbares und sinnvolles Konzept für zukünftige Match Strategien sein. Somit könnte auch die zur Zeit praktizierte numerische Matching Strategie durch eine funktionelle ersetzt werden: Anstelle des Grundsatzes, dass Spender und Empfänger möglichst identische HLA Moleküle aufweisen sollten, könnte so die Forderung treten, dass das Immunsystem des Empfängers durch die Auswahl akzeptabler Mismatches so wenig als möglich sensibilisiert werden sollte [31].

#### **4.4.5. HLA Antikörper**

Gegenwärtig dominiert in der Transplantationsmedizin (mit Ausnahme der Nierentransplantation) die Ansicht, dass die Transplantat-Abstoßungsreaktion weniger durch humorale als vielmehr durch zellulär vermittelte Mechanismen des Immunsystems induziert wird [102] (siehe Kapitel 4.2.2. „Mechanismen der Hornhaut-Immunreaktion: CTL oder DTH?“). So wurde in Tierversuchen gezeigt, dass Mäuse, die keine funktionierenden B-Zellen besaßen bzw. denen ein intaktes Komplementsystem fehlte, trotzdem in der Lage waren, eine Immunreaktion gegen orthotopisch verpflanzte Hornhauttransplantate zu entwickeln [51].

Dennoch weisen andere klinische und experimentelle Studien darauf hin, dass unter bestimmten Bedingungen auch humorale Mechanismen eine Rolle spielen können: So führte der passive Transfer von mit Antikörpern angereichertem Immun-Serum in Ratten, deren (CD4<sup>+</sup>)-T-Zellen pharmakologisch inaktiviert worden waren, zur Wiederherstellung der Fähigkeit, MHC Klasse I differente Hauttransplantate abzustößen [110]. Darüber hinaus konnte in zwei klinischen Studien für die Hornhaut gezeigt werden, dass vom Empfänger gebildete Allo-Antikörper, einen deutlichen Einfluss auf das Überleben des Transplantats ausüben können [55, 145]. Dabei wurde zwischen prä-operativ bereits vorhandenen bzw. „anamnestisch“ gebildeten Antikörpern und post-operativ in Folge einer Sensibilisierung durch Fremdartigen (Korneatransplantat) entstandenen Antikörpern unterschieden. Für die tägliche Routine könnte sich hieraus die Konsequenz ergeben, dass zumindest bei einer Re-Keratoplastik, besser aber bei jeder Hornhauttransplantation, ein Antikörper-Screening durchgeführt wird und beim Vorhandensein spezifischer Antikörpern gegen bestimmte HLA Allele einer Spenderhornhaut, die genau diese Antigene trägt, nicht transplantiert werden sollte.

#### 4.5. HLA Typisierung- Alternative zur Immunsuppression?

Obwohl mit einer ausreichend hoch dosierten immunsuppressiven Therapie dem Auftreten einer Immunreaktion entgegengewirkt werden kann, und obwohl auch seitens der Kosten diese Therapieform scheinbar dem HLA Match überlegen ist, kann der Einsatz hochdosierter Immunsuppressiva nicht als wünschenswert gelten:

Einerseits muss berücksichtigt werden, dass jede einzelne Immunreaktion, auch wenn sie durch den Einsatz hochdosierter Immunsuppressiva verlangsamt bzw. unterbunden werden kann, zu einem irreversiblen Verlust von Endothelzellen führt und damit ein irreversibles Transplantatversagen begünstigt wird [123].

Andererseits sind auch die direkten Nebenwirkungen der Immunsuppressiva selbst zu beachten: Dazu kann neben der Entstehung eines (sekundären) Glaukoms oder einer Katarakt auch eine erhöhte Infektionsneigung gezählt werden. Diese unerwünschten Wirkungen können selbst auch das Risiko für eine Immunreaktion erhöhen, da sie den Einstrom immunkompetenter Empfängerzellen in das Transplantat provozieren. Darüber hinaus müssen vor allem bei hochdosierter Immuntherapie mögliche systemische Wirkungen (Cushing Syndrom) berücksichtigt werden.

Bei der Immun-Therapie handelt es sich zudem um eine Symptombehandlung, nicht aber um eine Vorbeugung gegen die eigentlichen Ursachen der Immunreaktion (d.h. die Erkennung des Transplantats als fremd durch das Empfänger-Immunsystem). So wurde kürzlich gezeigt, dass auch mit Dexamethason prä-operativ behandelte murine Hornhäute nicht seltener als unbehandelte Transplantate abgestoßen werden [111]. Zudem muss, im Sinne einer wirkungsvollen Immuntherapie, frühzeitig auf eventuelle Veränderungen des immunologischen Status des Transplantatempfängers durch eine angemessene Dosisanpassung reagiert werden können. Dies macht eine engmaschige und daher seinerseits kostenintensive Nachsorge nötig.

Die Komplexität des HLA System erlaubt es leider nicht, allen Hornhaut Empfängern eine perfekt kompatible Spenderhornhaut zuzuteilen. Allerdings können die schlechtesten Verträglichkeitsgrade, nämlich die mit 5 oder 6 inkompatiblen HLA Antigenen in HLA A, HLA B und HLA DR, nahezu völlig vermieden werden.

Wie in der vorliegenden Studie gezeigt werden konnte, bietet das HLA Match selbst dann eine wirksame und zugleich nebenwirkungsfreie Prophylaxe gegen die

immunologisch bedingte Transplantat-Abstoßungsreaktion nach Keratoplastik für alle Patienten-Risikogruppen. Trotz der nominal hohen Kosten der HLA Typisierung, ist das HLA Match somit weit kostengünstiger als eine drohende Re-Transplantation mit allen therapeutischen Konsequenzen.

Dennoch kann die HLA Typisierung zum Zwecke des HLA Matches die immunsuppressive Therapie gegenwärtig nicht ersetzen, da das Angebot an typisierten Hornhauttransplantaten, obwohl in den letzten 5 Jahren sprunghaft angestiegen [36], noch relativ gering ist.

Vor allem in heterogenen Populationen sowie für Transplantatempfänger mit seltenen HLA Phänotypen können die Wartezeiten für ein kompatibles Transplantat verlängert sein [19]. Trotzdem würden auch diese Patienten von der Verwendung typisierter Transplantate profitieren, da sich so die Dosis der immunsuppressiven Therapie deutlich verringern läßt [67] und Nebenwirkungen vermindert werden können.

Es darf angenommen werden, dass sich in Zukunft das Angebot an typisierten Transplantaten mit zunehmender Akzeptanz des HLA Matches vergrößern wird. Somit werden sowohl höhere Kompatibilitäten zwischen den Spendern und Empfängern als auch kürzere Wartezeiten möglich werden, mit dem Resultat einer weiteren Reduktion der Inzidenz von Immunreaktionen nach Keratoplastik.

Schlussfolgernd aus den oben diskutierten Argumenten steht daher die Forderung, dass in Zukunft bei jeder Hornhauttransplantation, d.h. sowohl bei Patienten mit schlechter als auch mit guter Prognose, das HLA Match als Routineverfahren durchgeführt werden sollte. Dabei ist jedoch festzuhalten, dass zum Zwecke der Qualitätssicherung die HLA Typisierungen ausschließlich von kontrollierten Referenzlaboren auszuführen sind.