

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Institut für Rechtsmedizin

Direktor: Prof. Dr. med. Klaus Püschel

**Qualitative Beurteilung auf der Grundlage der Endothelmorphologie
der Hornhautspendergewebe – Eine retrospektive Betrachtung**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Zahnmedizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Matthias Stein

aus Lüneburg

Hamburg 2020

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 17.09.2020**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. Olaf J.C. Hellwinkel

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: PD Dr. Andrea Hassenstein

Inhaltsverzeichnis

1	<u>EINLEITUNG</u>	1
1.1	DIE ANATOMIE UND PHYSIOLOGIE DER HORNHAUT	1
1.1.1	DER HISTOLOGISCHE AUFBAU DER HORNHAUT	4
1.2	UNTERSUCHUNG DER HORNHAUT BEI PATIENTEN	7
1.3	DIE HORNHAUTTRANSPLANTATION	8
1.3.1	AUSSCHLUSSKRITERIEN ZUR HORNHAUTSPENDE	9
1.3.2	EXPLANTATION DER SPENDERHORNHAUT	13
1.3.3	DIE KERATOPLASTIK	17
2	<u>ZIELSETZUNG</u>	26
3	<u>MATERIAL UND METHODIK</u>	27
3.1	DATENERHEBUNG	27
3.2	BESTIMMUNG DER ENDOTHELZELLDICHTE UND -MORPHOLOGIE	29
4	<u>ERGEBNISSE</u>	30
4.1	GESCHLECHTERVERTEILUNG DER HORNHAUTSPENDER	30
4.1.1	GESCHLECHTERSPEZIFISCHE TRANSPLANTATIONSRATE	30
4.1.2	GESCHLECHTERSPEZIFISCHE VERTEILUNG DER ZELLDICHTE	31
4.1.3	GESCHLECHTERSPEZIFISCHE VERTEILUNG DER ZELLMORPHOLOGIE	32
4.2	ALTERSVERTEILUNG DER HORNHAUTSPENDER	33
4.2.1	ALTERSSPEZIFISCHE VERTEILUNG DER TRANSPLANTATIONSRATE	34
4.2.2	ALTERSSPEZIFISCHE VERTEILUNG DER ZELLDICHTE	36
4.2.3	ALTERSSPEZIFISCHE VERTEILUNG DER ZELLMORPHOLOGIE	36
4.3	DIE ZELLDICHTE	37
4.4	DIE ZELLMORPHOLOGIE	38
4.5	TRANSPLANTATIONSRATE	39
4.5.1	ANALYSE DER KORNEALEN TRANSPLANTATIONSRATE IN ABHÄNGIGKEIT ZUR ZELLDICHTE	39
4.5.2	ANALYSE DER KORNEALEN TRANSPLANTATIONSRATE IN ABHÄNGIGKEIT ZUR ZELLMORPHOLOGIE	41
4.6	VERÄNDERUNGEN DER HORNHAUTZAHL ÜBER DIE KULTURZEIT	43
4.7	ANALYSE DER ABHÄNGIGKEIT DER ZELLDICHTE ZUR ZELLMORPHOLOGIE	44
4.7.1	BETRACHTUNG FÜR DIE EINZELNEN MESSPUNKTE	45
4.7.2	BETRACHTUNG DER GESAMTZAHL DER 1. MESSUNG	48
4.8	ZEITLICHE VERÄNDERUNG DER HORNHÄUTE IN DER STUDIENKOHORTE	49
4.8.1	VERÄNDERUNGEN DER ZELLDICHTE ÜBER DIE KULTURZEIT	49
4.8.2	VERÄNDERUNG DER ZELLMORPHOLOGIE ÜBER DIE KULTURZEIT	51
4.9	VERÄNDERUNGEN DER GESAMTEN KOHORTE ÜBER DIE KULTURZEIT	53
4.9.1	VERÄNDERUNG DER ZELLDICHTE ÜBER DIE GESAMTE KULTURZEIT	53
4.9.2	VERÄNDERUNG DER ZELLMORPHOLOGIE ÜBER DIE GESAMTE KULTURZEIT	54
4.10	GRÜNDE FÜR DIE ABLEHNUNG EINES HORNHAUTGEWEBES	55
4.11	TODESURSACHEN DER HORNHAUTSPENDER	56
4.12	BEGLEITERKRANKUNGEN DER HORNHAUTSPENDER	57
4.13	VERBLEIB	59
4.14	NOTFALLHORNHÄUTE	59
5	<u>DISKUSSION</u>	60
6	<u>ZUSAMMENFASSUNG</u>	68

7	ABSTRACT	69
8	LITERATURVERZEICHNIS	70
9	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	76
10	DANKSAGUNG	77
11	LEBENS LAUF	78
12	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	79

1 Einleitung

Eine häufige Ursache für eine visuelle Blindheit beruht auf einer Dysfunktion der Kornea bei einer funktionstüchtigen Retina. Wenn eine konservative oder eine andere operative Therapie der Kornea nicht mehr ausreicht, ist letztlich die Hornhauttransplantation Mittel der Wahl, um den Visus wiederherzustellen. Zwar handelt es sich nicht um einen lebensrettenden Eingriff, jedoch ist mit der wiedererlangten Sehfähigkeit die selbstbestimmte Anteilnahme am Alltagsleben wieder möglich, woraus ein hohes Maß an Lebensqualität resultiert.

1.1 Die Anatomie und Physiologie der Hornhaut

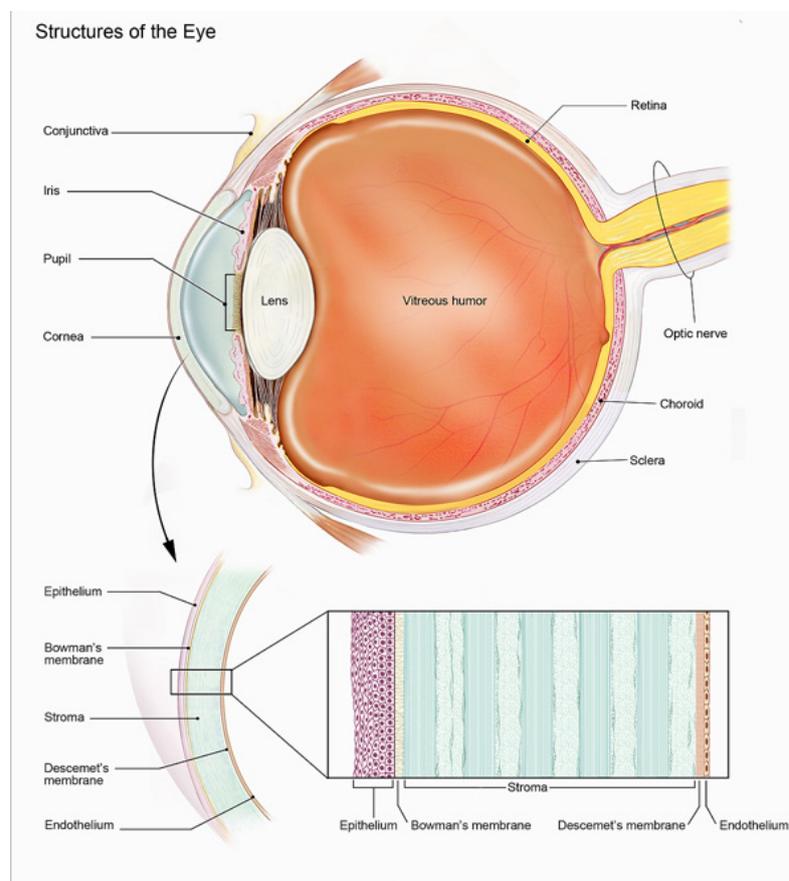


Abb. 1: Stellt schematische den histologische Schichtaufbau sowie den anatomischen Aufbau des äußeren Augenabschnitts dar. Quellen: (NIH-National Eye Institute (2016)

Structure of the eye. [Online im Internet.] URL:

https://nei.nih.gov/sites/default/files/health-images/structures_of_the_eye_2.jpg [Stand: 12 Januar 2020])

Die Hornhaut hat eine hochorganisierte Gewebestruktur, um die Vielfalt ihrer Aufgaben und Funktionseigenschaften ausüben zu können.

Die Kornea grenzt nicht nur den okulären Apparat nach außen ab, sondern hat auch eine wichtige Schutzfunktion inne. So stellt sie eine Barriere gegen sämtliche schädlichen äußeren Einwirkungen wie beispielsweise Verletzungen, Infektionen und Austrocknungen dar. Die äußere Hornhautschicht bildet die einzige flüssigkeitsbenetzte Epithelschicht des Körpers, die in einem direkten Kontakt mit der Außenwelt steht (Gipson, 2007). Die Hauptaufgabe der Hornhaut ist es jedoch, durch ihre Transparenz eine Passage des einfallenden Lichtes auf die Retina und so den Sehsinneszellen zu ermöglichen. Eine weitere für die Sehfähigkeit essentielle Funktion der Hornhaut ist die Lichtbrechung. Diese findet an der Luft-Tränengrenze statt und kann nur dann fast 80% der Brechkraft des gesamten Auges ausmachen, wenn kontinuierlich eine glatte mit dem Tränenfilm benetzte Hornhautoberfläche vorliegt. Hierfür ist das gesamte okuläre Oberflächensystem, bestehend unter anderem aus den Lidrösen, den Augenlidern und dem Tränensystem sowie der lipidhaltigen Tränenflüssigkeit selbst, verantwortlich (Gipson, 2007).

Des Weiteren sind folgende Komponenten für die Refraktionseigenschaften der Hornhaut entscheidend: die Krümmung der vorderen und hinteren Korneaoberfläche, die korneale Gesamtdicke sowie die Änderungen des Brechungsindex sowohl von der Luft zu Hornhaut als auch von der Hornhaut zum Kammerwasser (Remington, 2012) (Siu & Herse, 1993).

So macht die korneale Brechkraft mit einer Dioptrienzahl von circa 43 dpt die Hauptbrechungskomponente des Auges (mit insgesamt etwa 60 dpt) aus. Die adulte Kornea hat einen Durchmesser von etwa 10 bis 12 mm. Zentral weist die Kornea eine Dicke von etwa 0,52 mm auf. Aufgrund der verstärkten Krümmung der inneren Schichtungen und der dadurch bedingten Ausbildung eines verdickten peripheren Randsaumens nimmt die Korneadicke bis etwa 0,65 mm zur Peripherie hin zu. So kann die Kornea im Profil mit einer elliptischen Form beschrieben werden. Am Limbus cornea wird die Kornea etwa einen Millimeter von der Sklera umgeben und geht schließlich in die Binde- und Lederhaut über (Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002). Im zentralen Bereich der Kornea ergibt sich für die vordere Hornhautoberfläche ein Krümmungsradius von 7,8 mm und für die hintere von 6,5 mm (Remington, 2012).

Um eine möglichst gute Lichtdurchlässigkeit und Transparenz zu schaffen, gibt es mehrere korneale Komponenten, die die Streuung und Verzerrung der einfallenden Lichtstrahlen minimieren. Hierzu zählt neben der glatten Oberfläche mit dem kontinuierlichen

Tränenfilm, die regelmäßige Anordnung aller fünf Hornhautschichten und die Avaskularität. Für die Transparenz entscheidend ist der relative Hydratationsgehalt des Stromas und damit verbunden die Aufrechterhaltung der Stromaarchitektur. „Die Transparenz der Hornhaut ist in erster Linie Folge der Stoffwechselleistung seiner Grenzschichten“ (Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002). Die stromalen Keratozyten bestehen zudem zu einem großen Teil aus wasserlöslichen Korneakristallen (Jester, 2008). Die Hornhautkristalle sind wasserlösliche Proteine und bedingen den kornealen Quellungsgrad, die einen positiven Effekt auf die korneale Lichtstreuung haben (Piatigorsky, 2001).

Aufgrund der essentiellen Schutzfunktion für das Auge ist die Hornhautsensibilität besonders stark ausgebildet. Die sensiblen Nervenfasern, die ein verzweigtes Netz bilden, erstrecken sich über die ganze Kornea und entstammen den Nervi ciliares longi-Ästen des Nervus nasociliaris (V1). Über dieses ausgedehnte Nervengeflecht wird der Kornealreflex mit dem unwillkürlichen Lidschluss und dem reflektorischen Tränenfluss initiiert. Auch kann ein externer Reiz auf die Kornea eine Schmerzreaktion hervorrufen (Remington, 2012).

Die Ernährung der Kornea erfolgt mittels Diffusion, da zur Wahrung der Transparenz das Kornealgewebe keinerlei Gefäße aufweist. So stammen die Nährstoffe aus dem Kammerwasser, der Tränenflüssigkeit sowie im Randbereich aus den Gefäßen der Sklera (Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002).

Mittels Ionen transportern im Epithel und Endothel versucht die Hornhaut einen Konzentrationsgradienten und einen osmotischen Gradienten aufrechtzuerhalten, um einem unkontrollierten Einstrom und dem Ausstrom von Wasser, Nährstoffen und Ionen entgegenzuwirken (Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002).

Neben der Ernährung stellt die korneale Gefäßfreiheit auch eine weitere Herausforderung an die Zellregeneration. Die umgehende Wiederherstellung eines geschlossenen Zellverbandes ist zur Aufrechterhaltung der Schutz- und Barrierefunktion der Hornhaut essentiell. Jedoch handelt es sich bei der Kornea um ein bradytrophes Gewebe, das sich aufgrund seiner schlechten Versorgungslage nur langsam erneuern kann und unter Narbenbildung heilt.

1.1.1 Der histologische Aufbau der Hornhaut

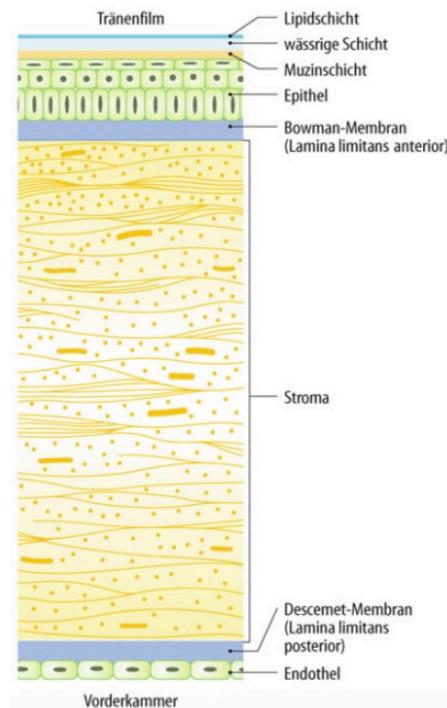


Abb. 2: Das obenstehende Bild veranschaulicht schematisch den histologischen, fünfschichtigen Hornhautaufbau: 1. Epithelschicht mit der Basalmembran - Epithelium, 2. Bowman-Membran, 3. Stroma, 4. Descemet-Membran, 5. Endothelschicht;

Quelle:(Grehn, F. (2009) *Anatomie der Hornhaut, Augenheilkunde*. 31.,überarbeitete Auflage. Berlin, Springer-Verlag. Seite 111)

Die Kornea ist streng fünfschichtig aufgebaut. Der Tränenfilm grenzt die Hornhaut und das Auge zur Außenwelt ab. Dieser wird aus einer wässrigen Schicht, einer Lipid- sowie einer Muzinschicht gebildet. Die innerste Schicht der Hornhaut, die Endothelschicht schließt die Kornea gegen die vordere Augenkammer ab.

Etwa im zweiten Embryonalmonat gehen der epitheliale Anteil der Kornea aus dem Ektoderm und die inneren Schichten aus dem Mesenchym hervor.

1. Die äußerste Hornhautepithelschicht besteht aus einem mehrschichtigen, nicht verhornenden Plattenepithel(Ruberti & Zieske, 2008). Das Epithelium cornea fungiert als Barriere gegen Infektionen, Fremdkörper und die Tränenflüssigkeit(Klyce & Crosson, 1985) (Kinoshita, Adachi, Sotozono, *et al.*, 2001). Die Grenzfunktion zeigt sich unter anderem in der Ausbildung von Tight Junctions (Sugrue & Zieske, 1997) zwischen den Epithelzellen, die einem unkontrollierten Einstrom der Tränenflüssigkeit in den

Interzellularräum entgegenwirken. Dabei ist ein intakter Zellverband entscheidend und muss innerhalb kürzester Zeit nach einer Verletzung wiederhergestellt werden. Durch die teilungsfähigen Basalzellen/ Limbusstammzellen der Limbusregion kann sich das Epithelium erneuern. Zur Vergrößerung der Oberfläche besitzt das Epithel einen apikalen Mikrovillisaum.

2. Die Bowman-Membran stellt die Verankerung der Basalmembran des Epitheliums dar. Diese wird auch Lamina limitans anterior genannt. Sie besitzt eine große Widerstandskraft, ist jedoch nicht regenerationsfähig(Klauß, Nasemann, Sachsenweger, et al., 2002).

3. Die Substantia propria cornea bildet das sehr feste Stroma der Kornea und wird vor allem von Keratozyten und Kollagenfibrillen Typ I aufgebaut. Die Kollagenfibrillen weisen einen geringeren Durchmesser als die Wellenlänge des Lichtes auf, was zu einer Minimierung der Lichtstreuung im Stroma führt. Mehrere hundert Kollagenfibrillen sind in Lamellen organisiert, die wiederum generell parallel zur Oberfläche angeordnet sind(Ruberti & Zieske, 2008). Die reguläre kristalline Struktur mit einem ähnlichen Kollagenabstand zueinander, einem gleichmäßigen Verteilungsmuster ohne fibrillenfreie Bereiche (Maurice, 1972) und der monodispersen Durchmesservertelung der Kollagenfibrillen ermöglichen die Transparenz der Hornhaut. Die Proteoglykane bilden einen Bestandteil der extrazellulären Grundsubstanz und befinden sich zwischen den Kollagenfibrillen. Diese besitzen die Fähigkeit als hydrophiler Strukturgeber Wasser zu speichern und gleichzeitig die Kollagenstruktur aufrecht zu erhalten. Durch diese morphologischen und molekularen Eigenschaften ergibt sich lediglich eine Lichtbrechung von unter 1% in der Hornhaut und ermöglicht so die fast verlustfreie Lichtdurchlässigkeit der Kornea(Maurice, 1957). Die Transparenz der Hornhaut nimmt mit einer zunehmenden Hydratation ab(Guthoff, Zhivov & Stachs, 2009). Das Hornhautstroma ist bradytrophes Gewebe und macht mit seinen etwa 450/500µm knapp 90% der Kornea aus(Ruberti & Zieske, 2008).

4. Die Descemet-Membran kann sich unter Narbenbildung regenerieren und ist ausgesprochen elastisch sowie verletzungsresistent. Die Lamina limitans posterior wird von der darunterliegenden Endothelschicht gebildet und zeigt eine altersabhängige Zunahme der Dicke(Murphy, Alvarado & Juster, 1984) (Johnson, Bourne & Campbell, 1982).

5. Das Endothelium wird aus 400.000 einschichtig angeordneten Endothelzellen mit einem Querdurchmesser von 20 μm und einer Schichtdicke von 5 μm aufgebaut (Ruberti & Zieske, 2008). Die Endothelzellschicht begrenzt die Hornhaut nach innen zur mit Kammerwasser gefüllten vorderen Augenkammer (Ruberti & Zieske, 2008). Das Endothelium bildet durch seinen Aufbau und der interzellulären Zonula occludens Strukturen eine Diffusionsbarriere gegen das Kammerwasser. Die Ernährung der Kornea erfolgt durch den osmotischen Einstrom von Kammerwasser samt Nährstoffen in das Stroma. Das Endothel wirkt hier nur als „Selektor“ der passierenden Nährstoffe; vor allem aber pumpt es das Wasser aktiv wieder aus dem Stroma in die Vorderkammer hinaus, so entsteht ein Fließgleichgewicht bei hinreichend ernährter und hydratisierter Kornea. Zugleich stehen die Endothelzellen in einer regen Transportverbindung mit der vorderen Augenkammer, bei der ständig Nährstoffe in die Zelle aufgenommen und Abbauprodukte in das Kammerwasser abgegeben werden. Für diese Aufgabe und die Aufrechterhaltung eines osmotischen Gradienten zwischen der Endothelzelle und dem Kammerwasser ist eine große Menge an zellulären Transportern notwendig. Es handelt sich um einen aktiven und kontinuierlich ablaufenden Pumpvorgang, der eine hohe Produktionsanforderung an die für die Energiegewinnung zuständigen Zellorganellen stellt. So ist es nicht verwunderlich, dass Endothelzellen aufgrund ihrer hohen metabolischen Aktivität sehr reich an Zellorganellen und vor allem Mitochondrien sind. Um die Zelloberfläche zu vergrößern, besitzt auch die Endothelschicht wie schon das Epithelium eine mikrovillitragende Oberfläche (Ruberti & Zieske, 2008). Zudem zeigt das Endothelium in den peripheren Bereichen eine aufgefaltete Struktur und löst so den großen Platzbedarf der Ionenpumpen. Das Hornhautendothel bildet das einschichtige, endotheliale Mosaik, das aus bis zu 70 bis 80% hexagonalen Zellen besteht (Ruberti & Zieske, 2008). Die übrigen Zellen sind ebenfalls polyedrisch. Die Endothelzellzahl beim Erwachsenen wird mit bis zu 3000 Zellen pro mm^2 angegeben. Die endotheliale Zelldichte (Zellzahl pro Fläche in mm^2) nimmt im Alter ab (Bourne, Nelson & Hodge, 1997). So wird die Zelldichte bei 2 Monate alten Kinder mit etwa 5000 Zellen pro mm^2 angegeben (Speedwell, Novakovic, Sherrard, *et al.*, 1988). Im Alter von 80 Jahren hingegen kann nur noch eine Dichte von 1000 bis 2000 Zellen pro mm^2 gemessen werden (Remington, 2012). Die Abnahme der Zelldichte kommt dadurch zustande, dass Endothelzellen nicht regenerationsfähig sind. Zwar besitzen die Endothelzellen *ex vivo* die Fähigkeit zur Proliferation jedoch sind sie *in vivo* in der G1-Phase des Zellzyklus arretiert (Joyce, 2003). Sie besitzen lediglich die Fähigkeit, entstehende Lücken durch eine Konfirmationsänderung durch angrenzende Endothelzellen

zu schließen und so eine funktionstüchtige ununterbrochene Endothelschicht zu bilden. Als Folge der Zellabnahme erscheint das Endothel nicht mehr in seiner hexagonalen Regelmäßigkeit sondern weist zunehmend einen ausgeprägten Pleomorphismus (Variabilität der Zellform) und Polymegatismus (Variabilität der Zellgröße) auf (Kaufman & Katz, 1977).

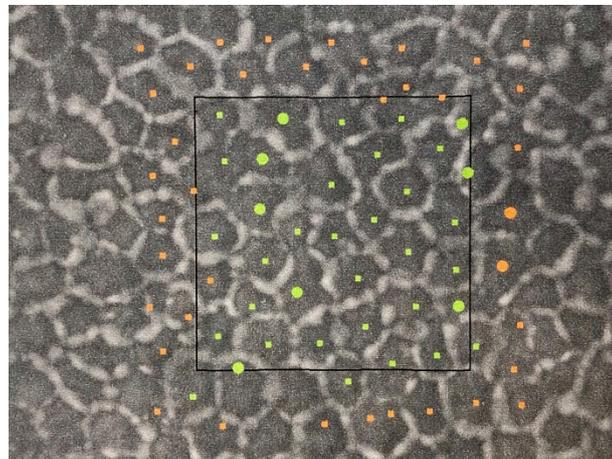


Abb. 3: Das elektronenmikroskopische Foto zeigt ein Mosaik der zum Teil fünf- und sechseckigen Endothelzellen. Es fällt auf, dass einige Zellen deutlich größer sind als andere, um möglicherweise eine lückenlose Endothelschicht zu garantieren. Quelle: (Datenbank der Transplantatgewebebank des UKE)

So führt eine Unterschreitung der Zelldichte von 500 Zellen/mm^2 zu einer Dekompensation der endothelialen Pumpfunktion (Engelmann, Bednarz & Valtink, 2004). Es kommt zu einer Barriereinsuffizienz mit einer progredienten Ödembildung und damit verbunden einer Eintrübung der Hornhaut. Die Hornhauttrübung beruht auf einer vermehrten Lichtstreuung durch die hydrationsbedingte Strukturänderung der Hornhaut und verursacht eine zunehmende Seheinschränkung (Peh, Beuerman, Colman, *et al.*, 2011).

1.2 Untersuchung der Hornhaut bei Patienten

Die Untersuchung der Hornhaut wird nach (Lang, 2014), (Grehn, 2009), (Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002) und (Walter & Plange, 2017) beschrieben. Für diese Untersuchung der Hornhaut stehen unterschiedliche Methoden, die teilweise auch ganz ohne Hilfsmittel auskommen, zur Verfügung.

Die äußere Epithelschicht lässt sich allein durch ihren spiegelnden Effekt mit dem bloßen Auge inspizieren. Dabei können Verzerrungen einen Hinweis auf eine Unregelmäßigkeit

der sonst glatten und spiegelnden Epithelschicht liefern. Auch ausgeprägte Trübungen der Hornhaut können bereits schon ohne apparative Diagnostik festgestellt werden. Partielle Trübungen lassen sich mitunter bei einer Mydriasis und einer koaxialen/fokaler seitlicher Rotlichtbeleuchtung als dunkle Flecken besser erkennen. Um die genaue Hornhautschicht zu identifizieren, in der sich eine pathologische Hornhautveränderung befindet, wird die Spaltlampendiagnostik angewendet. Die Spaltlampenuntersuchung stellt das Standarddiagnostikum zur Beurteilung der Hornhaut dar. Es wird ein spaltförmiges Lichtbündel verwendet, das einen optischen Lichtschnitt durch die Hornhautschichten legt. Auf diese Weise lassen sich mit der Spaltlampe die einzelnen Schichten der gesamten Hornhaut mit einer 6- bis 16-fachen Vergrößerung und unter der Nutzung eines Spaltlampenmikroskops sogar mit bis zu einer 60-fachen Vergrößerung beurteilen(Ziegler, n.d.).

Um kleine Epitheldefekte (Erosio cornea) besser beurteilen zu können, wird eine Fluoreszenzlösung auf das Auge getropft. Diese verbleibt in den Epitheldefekten und erscheint unter einer Beleuchtung mit blauem Licht als grünes Defektareal. Der Farbstoff Bengalrosa kann zur Detektion aller Epithelveränderungen genutzt werden.

Zur Untersuchung von Hornhautverkrümmung wird ein farbkodiertes Topogramm der Hornhautoberfläche mit Hilfe eines computergesteuerten Hornhauttopografiemessgerätes, dem sogenannten Videokeratoskop, durchgeführt. Dabei wird ein dreidimensionales topographisches Bild durch die Messung und Analyse der Brechungswerte der unterschiedlichen Hornhautregionen erstellt.

Die orientierende Untersuchung der Hornhautsensibilität erfolgt durch das Berühren der Hornhaut mit einem Wattetupfer. Dieses löst einen prompten Lidschlussreflex aus und sollte immer im Seitenvergleich beurteilt werden. Eine differenzierte Prüfmethode ist die Ästhesiometrie.

Die Hornhautpachymetrie dient der sonographischen Dickemessung der Hornhaut. Mit einem Messzirkel oder einem Keratometer lässt sich der Hornhautdurchmesser detektieren.

1.3 Die Hornhauttransplantation

Bei einer Hornhauttransplantation handelt es sich um die am häufigsten durchgeführte (Deutscher Ärzteverlag GmbH, Redaktion Deutsches Ärzteblatt, 2017) und erfolgreichste Transplantationsmethode mit der geringsten Abstoßungsrate. Der Wiener Augenarzt Doktor Eduard Zirm führte bereits 1905 die erste Korneatransplantation durch. Heutzutage

werden in Deutschland etwa 6000 Spenderhornhäute pro Jahr verpflanzt. Die Erfolgsrate liegt bei etwa 80-90%(Thompson, Price, Bowers, *et al.*, 2003) (Ardjomand, Komericki, McAlister, *et al.*, 2007). Bei den Misserfolgen handelt es sich in den meisten Fällen um eine akute Allografttransplantat-Abstoßung, die sich gegen die Endothelschicht der Hornhaut richtet. Zwar liegt das Transplantationsüberleben bei 74% nach fünf und bei 64% nach zehn Jahren(Borderie, Boëlle, Touzeau, *et al.*, 2009). Jedoch ist der Zellverlust nach einer Hornhauttransplantation mit etwa 70% innerhalb von fünf Jahren immens. Es besteht eine geringe Abhängigkeit des Zellverlustes vom Alter des Spenders(Lass, Gal, Dontchev, *et al.*, 2008). Die Anzahl der Hornhauttransplantationen nahm innerhalb von vier Jahren um über 1000 Transplantationen pro Jahr auf eine jährliche Transplantationszahl von 5125(Reinshagen, Boehringer, Seitz, *et al.*, 2015) /5244(Wollring, n.d.) im Jahre 2013 zu. Trotz einer verstärkten Aufklärungsarbeit in der Bevölkerung und einer Qualitätsverbesserung der Transplantationsabläufe sowie der Zunahme der Hornhauttransplantationen stieg auch der Bedarf in der gleichen Zeitspanne deutlich an. Mit etwa 8000 Korneageweben, die gebraucht werden, übersteigt die Nachfrage das Angebot an geeigneten Hornhautspenden. Der Versorgungsengpass und die damit verbundene Wartezeit auf ein Hornhauttransplantat zeigen eine kontinuierliche Zunahme in den letzten Jahren. So waren im Jahr 2011 noch etwa 1892 Patienten auf der Warteliste für eine Keratoplastik. 2013 wurde bereits eine Zahl von 3163 an das Deutsche Keratoplastikregister der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft gemeldet(Wollring, n.d.). Die hohe Erfolgsrate von fast 90% nach einem Jahr kann mitunter an dem „okuläres Immunprivileg“ der avaskulären und alymphatischen Hornhaut liegen. So kann auf ein HLA-Matching und eine systemische Immunsuppression in der Regel verzichtet werden. Der Nachteil dieser immunologischen Sonderstellung liegt in der kornealen Anfälligkeit für Autoimmunprozesse, da die Toleranzentwicklung für augenspezifische Antigene des okulären Systems jenseits der Blut-Retina-Schranke eingeschränkt ist(Zhou & Caspi, 2010) (Hori, 2008) (Medawar, 1948). Trotzdem gilt die allogene Immunabstoßung als Hauptursache für ein Transplantatversagen.

1.3.1 Ausschlusskriterien zur Hornhautspende

Den Versorgungsengpass zu beenden sowie die Wartezeit auf eine geeignete Hornhautspende zu verkürzen und zugleich die Würde des Spenders sowie die Sicherheit des Empfängers durch hohe Standards zu wahren, sollten die zentralen Aufgaben im Bestreben einer Hornhautbank darstellen. Aus diesen Gründen wurde 1981 die erste

Hornhautbank in Hamburg (Hamburger Eye Bank (HEB)) gegründet. Die Hornhautbank Hamburg ist seit Anfang des ersten Jahrzehnts des neuen Jahrtausends ein Teil des Instituts für Rechtsmedizin und arbeitet interdisziplinär mit der Klinik für Augenheilkunde des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf sowie weiteren ophthalmologischen Abteilungen Hamburger Kliniken zusammen. Die aktuelle Wartezeit auf eine geeignete Spenderhornhaut beträgt gemittelt ein bis zwei Monate. Die Hornhautbanken in Deutschland haben sich zu einer Arbeitsgemeinschaft zusammengeschlossen und haben dafür gemeinsame Richtlinien festgelegt (Arbeitsgemeinschaft Deutscher Hornhautbanken, 2001), weitergeführt und zusammengefasst wurden sie in der Bekanntmachung zur Gewinnung einer Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank (Montgomery, Cichutek, Scriba, *et al.*, 2018).

Einer Hornhautbank obliegt die Aufgabe, Hornhautspender zu finden, über Spendermöglichkeiten aufzuklären, Spenderhornhäute zu entnehmen, diese aufzuarbeiten bzw. zu konservieren, eine Eignungsprüfung des Spenders und Untersuchungen des Spendergewebes durchzuführen und die Transplantate schließlich zu allozieren und an die Transplanteure weiterzuleiten. Dabei sollten diese Prozesse kontinuierlich an den aktuellen wissenschaftlichen Stand angepasst und die Abläufe optimiert werden. Auf diese Weise ist eine Hornhautbank verantwortlich für eine qualitätsgesicherte Bereitstellung eines geeigneten und sicheren Hornhauttransplantates. Für den Betrieb einer Hornhautbank und das Inverkehrbringen entsprechender Transplantate ist hierzulande eine Erlaubnis nach §§20b,c und §21a AMG erforderlich.

Die Voraussetzung für eine Hornhautspende ist das Vorliegen einer dokumentierten mündlichen und/oder schriftlichen Einwilligung des Verstorbenen oder einer Zustimmung/„Informelles Einverständnis“ der Angehörigen im Sinne des Verstorbenen nach dem Bundesgesetzblatt I des Transplantationsgesetz § 3 und 4 von 17.07.2009 S. 1990.

Im Falle eines anhaltenden, unwiderruflichen Herz-Kreislaufstillstandes eines potentiellen Gewebespenders muss unverzüglich eine ärztliche Leichenschau zur Feststellung des Todes

nach den Richtlinien der Bundesärztekammer durchgeführt werden. Eine Todesfeststellung kann nur beim Vorliegen mindestens eines sicheren Todeszeichens, wie Totenflecken, Totenstarre, Fäulnis oder mit dem Leben unvereinbare Verletzungen erfolgen. Die äußere Leichenschau muss durch einen Arzt am entkleideten Leichnam vorgenommen werden. Eine Wiederholung der Leichenschau muss erfolgen, wenn im

Falle der ersten Untersuchung keine eindeutigen primären Todeszeichen zu erkennen sind.
Falls der Tod eindeutig festgestellt wurde, erfolgt nun die Ausstellung des Totenscheins.

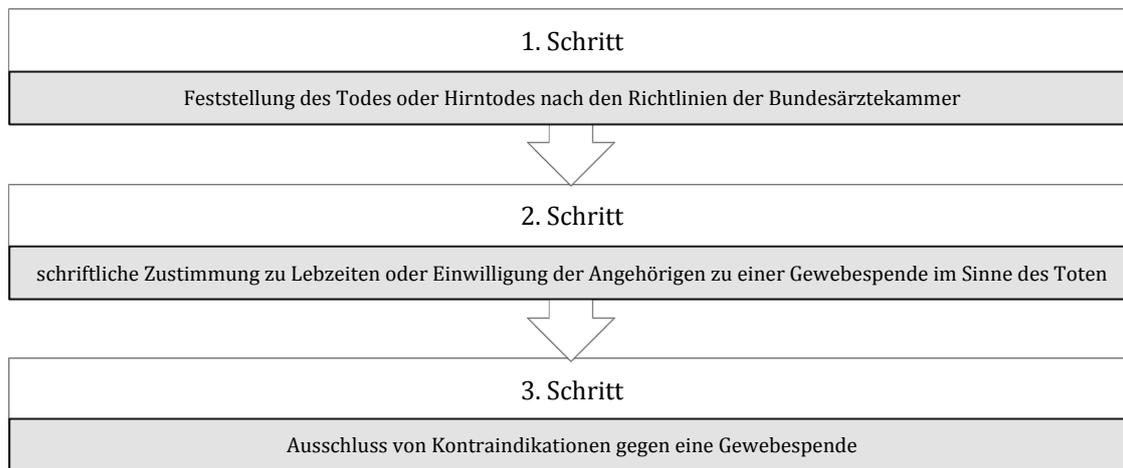


Abb. 4: Erste Schritte der Akquise von Hornhautspenden

Die drei Schritte gehen jeder Aufarbeitung oder Kultivierung eines Hornhautgewebes voraus. Mitunter können einige Ergebnisse vor allem, die der serologischen Untersuchung oder Veränderung des makro- und mikroskopischen Zustands des kornealen Gewebes mitunter zu einer Reevaluierung und ggf. auch zu einem Verwurf der potentiellen Hornhauttransplantate führen.

Nachdem der Tod durch die sicheren Todesursachen festgestellt wurde und eine Fäulnis des Leichnams ausgeschlossen werden konnte, folgt nun die Untersuchung der Kornea nach morphologischen Kriterien auf die Eignung zur Transplantation und die Entnahme der Hornhaut.



Abb. 5: Ablauf einer Hornhautspende

Die oben stehende schematische Darstellung (Abb. 5) (in Anlehnung an (Kampik, Grehn, Bialasiewicz, *et al.*, 2002)) einer Hornhautspende bildet den Ablauf vom Eintritt des Todes eines potentiellen Spenders bis hin zur Freigabe eines geeigneten Hornhauttransplantates ab. Dabei ist nicht in jedem Fall entscheidend, die veranschaulichte Reihenfolge einzuhalten, sondern alle Richtlinien und Untersuchungen vollständig durchzuführen, um ein geeignetes hochqualitatives und sicheres Hornhautgewebe für eine erfolgsversprechende Korneaspende zu gewährleisten.

1.3.2 Explantation der Spenderhornhaut

Im nachfolgendem Kapitel wird das Prozedere der Hornhautbank des Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf beschrieben. Nachdem die drei Schritte der Eignungsprüfung einer Hornhautspende durchgeführt wurden und eine Blutprobe für die serologische Untersuchung auf übertragbare Infektionserkrankungen abgenommen wurde, folgt nun die Explantation.

Die postmortale Explantation der Spenderhornhaut sollte durch einen hierfür qualifizierten Arzt unter sterilen Bedingungen erfolgen. Die Entnahmetechnik entspricht dem ophthalmologischen Vorgehen beim lebenden Patienten und sollte den Erhalt der erforderlichen Gewebeeigenschaften gewährleisten. Bis 2008 wurde hierfür eine Bulbusenukleation durchgeführt. Heutzutage erfolgt die Entnahme einer Korneoskleralscheibe (KSS), die im IfR Hamburg als Standardverfahren etabliert wurde. Der Vorteil der KSS gegen die Enukleation des gesamten Augapfels ist eine höhere Einwilligungsrate der Angehörigen aufgrund des Erhalts des Großteils des Auges und damit der Unversehrtheit des verstorbenen Angehörigen.

Die Verantwortung für alle Schritte und die Sicherung der Qualität und Qualifizierung der beteiligten Personen obliegt dem Leiter der Hornhautbank.

Nach der Korneaexplantation wird das ursprüngliche Erscheinungsbild des Leichnams gegebenenfalls auch durch den Einsatz von angepassten Glasprothesen oder Kontaktlinsen wiederhergestellt, sodass die Abschiednahme und Bestattung des Leichnam „in einem würdigen Zustand“ gemäß § 6 TPG ermöglicht wird.

Die Gewebespende kann nicht nur bei hirntoten und herzkreislauf-aktiv gehaltenen und beatmeten Spendern durchgeführt werden, sondern auch nach dem vollständigen Erlöschen

aller Lebensfunktionen, also bei „natürlichen“ Todesfällen erfolgen. Die maximale postmortale Entnahmezeit von 72 Stunden zwischen dem Todeseintritt bis zur nach der Gewebeentnahme sich anschließenden Organkultivierung muss eingehalten werden. Vor der Entnahme der Korneoskleralscheiben erfolgt eine Spülung der Augen mit physiologischer Kochsalzlösung zur physikalischen Vorreinigung, gefolgt von der Desinfektion durch Auftropfen von PVP-Jodlösung (0,6%). Danach wird unter Einhaltung steriler Vorsichtsmaßnahmen die Konjunktiva entfernt und die Korneoskleralscheibe mittels Trepane und Weskott-Scheren aus dem Auge herauspräpariert. Entnommene Korneoskleralscheiben (s.o.) werden in sterilen, luftdicht verschließbaren Schraubbehältern aus Kunststoff mit Kulturmedium transportiert (die Transportverpackung soll eine Kontamination und Schädigung des Spenderpräparates verhindern). Es muss eine Temperaturstabilität über 9°C und unter 41°C für den Transport zur Hornhautbank gewährleistet werden. Im Falle der Entnahme vollständiger Augen (Bulbusentnahme) werden die Transportgefäße als sogenannte „feuchte Kammern“ mit einer sterilen physiologischen Elektrolytlösung auf einem sterilen Tupfer befüllt; die Augen werden darin transportiert. Die Temperatur muss dann durch Kühlung zwischen +1°C bis +10°C konstant gehalten werden. Eine Frostschädigung des Präparates durch Temperaturen von unter 0°C gilt es zu verhindern.

Die Desinfektion der Korneoskleralscheibe mit einer PVP-Jodlösung (0,6%) vor ihrer Entnahme aus dem Spender (oder bei Bulbusentnahme nach Eintreffen im Hornhautlabor) bewirkt keine sichere Sterilität des Hornhautgewebes, sodass zur Minimierung einer Kontamination dem Transport- und dem späteren Kulturmedium antibiotische und antimykotische Substanzen zugesetzt werden müssen. Nach der Überführung der Korneoskleralscheiben ins Hornhautlabor werden Proben des Transportmediums genommen.

Alle entnommenen Proben sowie deren Transportbehältnisse müssen so gekennzeichnet sein, dass eine klare und unmissverständliche Zuordnung zum Spender möglich ist. Vom Anbeginn muss eine Pseudonymisierung und lückenlose Dokumentation durchgeführt werden, um nur autorisiertem Personal eine eindeutige und lückenlose Rückverfolgung der Herkunft und der entscheidenden Daten sowie der später vorgenommenen Prozeduren zu ermöglichen. Hierzu wird jedem Hornhautgewebe eine fortlaufende Hornhautnummer zugeordnet.

Es folgt die weitere Prozessierung des entnommenen Hornhautgewebes.

Die Hornhautbank Hamburg nutzt die Organkultivierung zwischen +30°C und +38°C mit einer maximalen Kulturzeit (inklusive der abschließenden Entquellungszeit) von 34 Tagen. Diese Methode lässt eine ständige Endothelkontrolle und Kontaminationsbeurteilung zu, jedoch generiert diese höhere Kosten als die hypotherme Kryokonservierung. Am Ende der Organkultivierung wird durch eine Zugabe eines dextranshaltigen Mediums zu den Korneoskleralscheiben für 8 bis 24 Stunden eine Entquellung erzielt. Ab diesem Schritt muss die Temperatur zwischen +10°C und +40°C stabil gehalten werden.

Während bei der Kurzzeitkultivierung eine hypotherme Lagerung bei Temperaturen zwischen +1°C und +10°C genutzt wird, erfolgt die Organkultur in der Regel zwischen +30°C und +38°C in einem geschlossenen System mit Gasaustausch unter Begasung mit etwa 5% CO₂-angereicherter Raumluft.

Das Kulturmedium wird nach einer festgelegten Zeit gewechselt und zwar das erste Mal nach fünf Tagen und danach alle sieben Tage. Bei diesem Kulturmedienwechsel wird eine mikroskopische Untersuchung mit Messung der Zelldichte und –Morphologie durchgeführt, diese Ergebnisse der Befundung werden als Messpunkte eins bis sechs jeweils dokumentiert.

Die Medien für die Hornhautkultivierung setzen sich folgendermaßen zusammen:

- 6 ml hypotone BSS (Balanced Saline Solution) Pufferlösung
- 40 ml Hornhautkulturmedium K1 (MEM mit 2% FCS) für jede Spenderhornhaut: 100 ml MEM mit Earle's salts (10x); 20 ml fetal Bovine Serum; 10 ml Penicillin/Streptomycin 10.000 U/10.000 µg/ml; 10 ml Amphotericin B 250 µg/ml; 10 ml L-Glutamine (200 mM); 12.5 ml HEPES Puffer (1 M); 29.3 ml Natrium Bicarbonat (NaHCO₃) (7.5 %); 808.2 ml aqua ad injectionem.
- 50 ml Entquellungsmedium K2 (MEM mit 6% Dextran 500 mit 2% FCS) für jede Spenderhornhaut: 100 ml MEM mit Earle's salts (10x); 20 ml fetal Bovine Serum; 10 ml Penicillin/Streptomycin 10.000 U/10.000 µg/ml; 10 ml Amphotericin B 250 µg/ml; 10 ml L-Glutamine (200 mM); 12.5 ml HEPES Puffer (1 M); 29.3 ml Natrium Bicarbonat (NaHCO₃) (7.5 %); 60 g Dextran 500, 748.2 ml aqua ad injectionem

Für eine hypotherme Lagerung gilt eine maximale Lagerungsdauer von 14 Tagen. Eine Organkultur sollte eine Lagerungs- und Transportzeit von 34 Tagen nicht überschreiten.

Die regelmäßige Kontrolle der Kulturmedien sollte auf Trübungen, Indikatorfarbwechsel und Ablagerungen und das makroskopische Erscheinungsbild des Spendergewebes hin erfolgen. Als weiterführende Untersuchungen würde sonst eine mikrobiologische Kontaminationsabklärung, eine spaltlampenmikroskopische Begutachtung einer Hornhautveränderung und eine mikrobiologische Kulturmediumsuntersuchung herangezogen werden. Letztere wird etwa am 5. Tag der Kultivierung unter Verwendung von bis zu 40 ml Kulturmediumprobe unter aeroben und anaeroben Untersuchungsbedingungen durchgeführt.

Während der Kulturzeit muss mindestens einmal eine Kontrolle des Gewebes und Gewebezubereitung erfolgen. Auch eine mikroskopische Beurteilung der Endothelzellschicht ist mindestens am Ende der Kulturzeit im entquollenen Zustand vorgeschrieben. Es folgt abschließend die Qualitätsbeurteilung der gesamten Endothelfläche und der zentralen Endotheldichte. Die Eignung des Transplantates wird zum jetzigen Zeitpunkt vor allem anhand der endothelialen Zelldichte beurteilt. Der untere Grenzwert hierfür liegt bei 2000 Zellen/mm². Fällt die Zelldichte unter diesen Grenzwert kann die Hornhaut noch als Notfallhornhaut zur zeitlich begrenzten Deckung verwendet werden.

Die Risikobewertung der Augenhornhäute bzw. derer Spendern erfolgt auf der Grundlage der Anamnese, der biologischen Diagnostik, postmortalen und körperlichen Untersuchung, Einsicht in die Krankenakte und gegebenenfalls Rücksprache mit zuvor behandelnden Ärzten sowie weiterer notwendiger Untersuchungen.

Das Einhalten der Richtlinien zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank ist rechtlich bindend und regelt eindeutig das Prozedere von der Feststellung des Todes, über den korrekten Zeitraum zur Entnahme der Transplantate bis hin zum Transport und der Aufarbeitung.

Es gibt mehrere Ausschlussgründe für eine Hornhautspende, die vor jeder Transplantation geprüft werden müssen. Das Alter des Spenders stellt per se keinen Grund für die Ablehnung eines kornealen Gewebes dar. Jedoch limitiert die Größe und Konsistenz kindlicher Hornhäute mitunter deren Transplantationseignung.

Ein auffälliger Befund in der mikrobiologischen und virologischen Testung der potentiellen Spender auf übertragbare Infektionskrankheiten wie Hepatitis B oder C, HIV 1 und 2 sowie Syphilis und *Treponema pallidum* führt zu einem Ausschluss einer Korneaspende.

Abhängig von der Sozialanamnese sollte auch ein Kontakt mit dem humanen T-lymphotropen Virus 1 (HTLV-1) ausgeschlossen werden. All diese sollten durch eine Blutentnahme bis zu sieben Tage prä mortal und 24 Stunden post mortal bestimmt werden. Anders als bei soliden Organtransplantation kommen Spender mit einer Krebsanamnese für eine Hornhautspende in Betracht, ausgenommen sind jedoch Spender mit einer hämatologischen Krebserkrankung, einem Retinoblastom und einer anderen Neoplasie des Auges. Zu weiteren Kontraindikationen zählen eine Lebendimpfung mit abgeschwächten Tollwutviren in einem kurzen Zeitabstand zum Todeseintritt, eine Exposition oder Intoxikation mit Schwermetallen und anderen gesundheitsschädlichen Substanzen, systemische Infektionen, ein Verdacht auf eine Prioneninfektion, zentralen neurologische Erkrankungen einer unklaren Genese. Außerdem stellt eine unklare Todesursache im Allgemeinen ebenfalls ein Knock-out-Kriterium dar. Auch bakterielle, virale, parasitäre und mykotische Infektionen des Auges sprechen gegen eine Spendereignung.

Alle diese Einschränkungen für die Hornhautspende sollen den Empfänger vor möglichen Infektionen, Erkrankungen und Schädigungen durch das Transplantat schützen.

1.3.3 Die Keratoplastik

Die Keratoplastik stellt eine operative Hornhautverpflanzung unter Verwendung eines allogenen Spendertransplantates dar. Dabei wird die perforierende und lamelläre Keratoplastik unterschieden, die jeweils mit einer Verpflanzung von geeignetem Hornhautspendergewebe einhergeht (Lang, 2014) (Walter & Plange, 2017).

Eine weitere Unterform der Keratoplastik stellt die Thermokeratoplastik dar. Im Rahmen dieses Eingriffs werden korneale Verkrümmungen mittels Wärmeeinwirkungen ohne die Verwendung eines Spendergewebes ausgeglichen.

1.3.3.1 Indikationen zur Keratoplastik

Die häufigsten Indikationen für eine perforierende Hornhauttransplantation sind infektiöse und traumatische Hornhauterkrankungen. Nachfolgend werden die häufigsten Indikationen für eine Keratoplastik aufgezählt und auf einzelne Indikationen gesondert eingegangen.

Häufigste Indikationen für eine Keratoplastik(Grehn, 2009),(Kampik, Grehn, Bialasiewicz, *et al.*, 2002):

- Keratokonus
- Keratoglobus
- Keratotorus
- Bullöse Keratopathie
- Fuchs-Endotheldystrophie
- Pseudophakie-Keratopathie
- Intraokulärer Eingriff
- Korneales Transplantationsversagen
- Pathologische Krümmung
- Infektöse oder rheumatoide Keratitis
- Zentrale Trübung
- Hornhautdystrophie
- Hornhautnarbe
- Augenverletzung

1.3.3.1.1 Keratokonus

Der Keratokonus stellt die Hauptindikation für eine Keratoplastik da. Die schubweise progredient-verlaufende, biokuläre Hornhauterkrankung geht mit einer (irregulären) kegelförmigen Dysmorphie sowie einer Ausdünnung und zunehmenden Intransparenz der Kornea einher(Grehn, 2009). Der irreguläre Astigmatismus lässt sich in der Frühphase des Krankheitsverlaufs noch durch eine Brille und feste Kontaktlinsen korrigieren(Daxer & Fratzl, 1997). Der Keratokonus ist mit einigen genetischen Erkrankungen assoziiert. Im Endstadium der Erkrankung stehen keine alternativen Therapieformen mehr zur Verfügung, sodass die meisten Patienten auf eine Hornhauttransplantation angewiesen sind. Die Krankheit tritt mit einer Inzidenz von 1:2000(Grünauer-Kloeve Korn & Duncker, 2006) etwa ab dem 15. Lebensjahr auf und beruht am ehesten auf einer strukturellen Kollagendysfunktion der Kornea(Grehn, 2009) (Daxer & Fratzl, 1997).

1.3.3.1.2 Fuchs-Endotheldystrophie

Die autosomal-dominant vererbte Fuchs-Endotheldystrophie beruht auf einer progredienten Degeneration der kornealen Endothelschicht. In den Frühstadien und in milden Formen kommt eine Therapie mit hypertonen/hyperosmolarer Augentropfen in Frage. Es kommt zu einer Verdickung der Descemet-Membran der cornea guttata und schließlich zu einer Ödembildung der Kornea, da die innere Endothelschicht nicht mehr in der Lage ist, Wasser in die Vorkammer abzutransportieren, kommt es zur Ablösung der Hornhautepithelschicht im Sinne einer bullösen Keratopathie. Aufgrund der hereditären Hornhautdystrophie kann bei einem Krankheitsprogress eine Keratoplastik von Nöten sein. Durch altersbedingte Kataraktoperationen besteht die Möglichkeit, dass durch die operative Manipulation der Hornhaut im Rahmen einer Kataraktoperation eine Dekompensation der Fuchs-Dystrophie auftritt(Grehn, 2009).

1.3.3.1.3 Stromale Dystrophie der Hornhaut

Die stromale Dystrophie ist ebenfalls genetisch bedingt und lässt sich in eine durch Amyloidablagerungen, gittrige sowie eine durch Hyalinablagerungen, granuläre und durch saure Mukopolysaccharid-Einlagerungen, makuläre Form unterscheiden(Lang, 2014). Bei dieser Erkrankung treten rezidivierende dolente Erosionen der Kornea auf, die bereits im Alter zwischen 20 und 30 Jahren zu einer raschen Seheinschränkung führen. Der Ursprung der Erkrankung liegt wahrscheinlich in der Epithelschicht, sodass auch nach einer lamellären Keratoplastik ein Erkrankungsrezidiv erneut möglich ist(Grehn, 2009).

Alle genannten Erkrankungen gehen mit einer strukturellen Störung der Hornhaut und mit einer konsekutiven Endotheldystrophie und –atrophie und einer damit verbundenen Abnahme der endothelialen Pumpfunktion und einer so bedingten Ödematisierung und Eintrübung der Kornea einher. Dieses verursacht wiederum eine zunehmende Sehstörung und ggf. Augentrockenheit. In den Spätstadien der Erkrankung kommt es zu einer Defektheilung durch Narbenbildung und einer Vaskularisierung der Hornhaut(Walter & Plange, 2017).

1.3.3.1.4 Infektiöse Keratitis

Die äußerst schmerzhafteste, infektiöse Hornhautentzündung wird durch Infektionen mit bakterieller, viraler (z.B. Herpes-Simplex, Varizella-Zoster und Adenoviren) und Pilzen mykotischer Genese verursacht. Erkrankungen die mit einer Xerophthalmie einhergehen, bieten aufgrund ihrer verminderten Clearanceleistung der Tränenflüssigkeit und zunehmende Dysfunktion der kornealen Abwehrmechanismen eine leichtere Angriffsfläche für entzündliche Prozesse als eine gesunde Hornhaut. Bei einer Adenovirenkeratitis handelt es sich um eine sehr ansteckende Erkrankung, sodass diese Hornhautentzündung meldepflichtig ist. Besonders bei Kontaktlinsenträgern besteht ein erhöhtes Infektionsrisiko unter anderem für die Ankanthamöben-Keratitis. Bei einer fortschreitenden Keratitis kann es zu einer Destruktion der Descemet-Membran kommen. In diesem Fall ist eine Notfall-Keratoplastik von Nöten. Die schwerste und sehr schnell progrediente Form der Keratitis ist der Ulcus serpens (Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002).

1.3.3.1.5 Nicht-infektiöse Keratitis

Neben der infektiösen Keratitis gehen auch die erregerfreien Hornhautentzündungen mit einer Augenrötung und einem Fremdkörpergefühl einher (Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002). Als Ursachen für eine nicht-infektiöse Keratitis können unter anderem folgende genannt werden:

- Es kann eine Keratitis durch einen Fremdkörper im Auge kommen.
- Auch eine Kolliquationsnekrose durch eine Laugenverätzung und eine Koagulationsnekrose durch eine Säureverätzung können zu einer Hornhautveränderung führen. Diese können auch zu einer Regenerationsstörung führen, wenn die Limbusregion und die Limbusstammzellen betroffen sind. Auch andere Chemikalien können eine entzündliche Korneopathologie bedingen. So war die Indikation für die erste Keratoplastik 1905 eine Verätzung der Kornea durch Kalk.
- Neurotrophe Keratopathie (= Keratitis neuroparalytica) durch die Schädigung der 1. Trigeminusasts verursacht, führt zu einer verminderten Hornhautsensibilität und zu punktförmigen Erosionen der Hornhaut.
- Die sehr schmerzhafteste Keratopathia photoelectrica wird durch eine übermäßige Aussetzung der Kornea gegen UV-Strahlung hervorgerufen. Das „Verblitzen“ der

Augen kann unter anderem durch einen hochalpinen Aufenthalt, durch Solariumsbräunungen und Schweißarbeiten ohne entsprechende Schutzbrille verursacht werden.

- Die Keratitis e lagophthalmo ist bedingt durch den inkompletten Lidschluss und einer daraus resultierenden Austrocknung des Tränenfilms sowie kornealen Trockenheit im Rahmen einer Facialisparesie(Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002).
- Am häufigsten ist eine Keratoconjunctivitis sicca mit etwa 7 Millionen Betroffenen in den ophthalmologischen Praxen(Klauß, Nasemann, Sachsenweger, *et al.*, 2002). Diese Erkrankung beruht auch auf einer Störung des Tränenfilms und einer unvollständigen Tränenbenetzung der Hornhaut durch eine unzureichende Tränenflüssigkeitsproduktion sowie einer fehlerhaften Tränenzusammensetzung.
- Eine verminderte Tränenproduktion tritt z.B. im Rahmen der Kollagenose beim Sjögren-Syndroms auf.
- Zur Gruppe der nicht infektiösen Hornhautentzündungen gehören auch die Autoimmunkeratitiden(Pleyer, Bergmann, Krause, *et al.*, 1996), die unter anderem im Zusammenhang mit rheumatoiden Arthritiden, Vaskulitiden, einem systemischen Lupus erythematoses oder auch Wegner Granulomatose auftreten.
- Eine Keratitis kann auch als Konsequenz einer mechanischen Reizung entstehen.
- Der Ulkus Mooren ist eine rasch fortschreitende korneale Pathologie, dessen Ätiologie am ehesten autoaggressiv bedingt ist jedoch noch nicht in Gänze geklärt ist.
- Die vorgewölbte Descemetozele (= Keratozele) reicht bis an die Descemet-Membran heran. Fällt auch diese Membran entsteht ein perforiertes Ulkus und es kommt zum Austritt von Kammerwasser. Dieses stellt eine ophthalmologische Notfallsituation dar, deren Therapie eine Keratoplastik à chaud ist(Lang, 2014).

Als ein Endpunkt unterschiedlicher Erkrankungen der Kornea steht die bullöse Keratopathie, die auf einer blasigen Ablösung des Epithels aufgrund einer endotheliale Barriereinsuffizienz und damit einer Ödematisierung der Hornhaut beruht.

1.3.3.2 Formen der Keratoplastik

Zu der nachfolgenden Unterteilung wurden folgende Quellen (Tan, Dart, Holland, *et al.*, 2012),(Dijk, Baydoun, Konder, *et al.*, 2014), (Seitz, Szentmáry, Langenbacher, *et al.*,

2016), (Cursiefen, Schaub & Bachmann, 2016) und (Seitz, 2009) berücksichtigt. Die operative Wiederherstellung einer Hornhaut zur Verbesserung oder dem Erhalt des Visus lässt sich in die zwei Hauptgruppe die perforierende Keratoplastik und schichtbezogene lamelläre Keratoplastik (DALK, DMEK, endotheliale Keratoplastie, DSEAK) unterteilen.

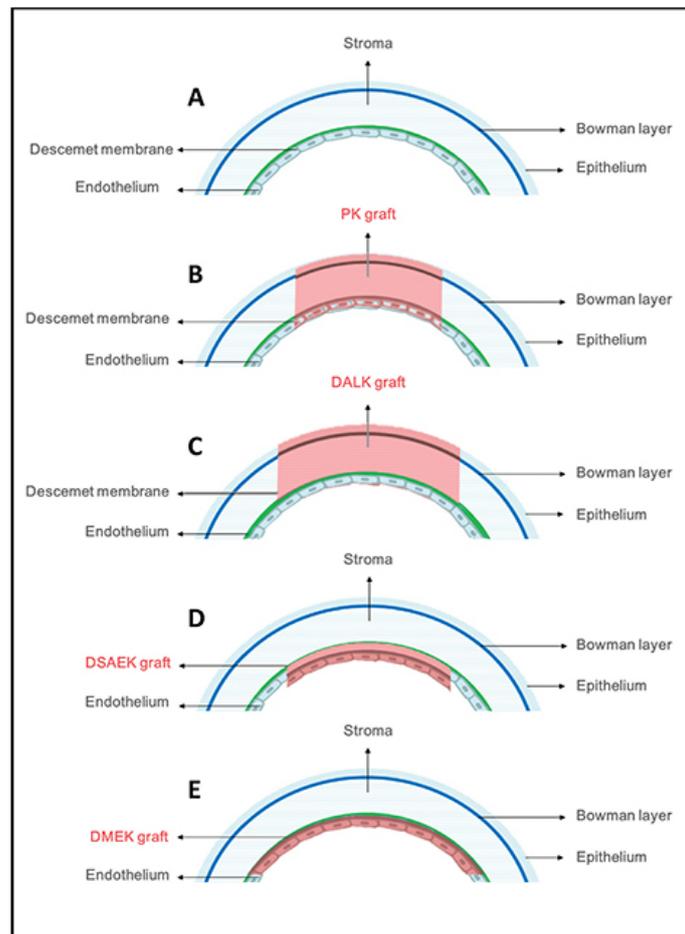


Abb. 6: Formen der Keratoplastik; Quelle: (Dijk, K. van, Baydoun, L., Konder, R.M. & Melles, G.R.J. (2014) Contact Lenses After Keratoplasty, Contact Lens Spectrum [Online im Internet.] URL: <https://www.clspectrum.com/issues/2014/august-2014/contact-lenses-after-keratoplasty> [Stand: 11 Januar 2020])

1.3.3.2.1 Perforierende Keratoplastik

Die perforierende Keratoplastik (pKP) (Kampik, Grehn, Bialasiewicz, *et al.*, 2002) erfolgt über einen Trepanationsschnitt unter der Eröffnung des Bulbus des Empfängers. Es folgt die gesamte Entfernung aller fünf Korneaschichten des Empfängers mit einem Trepan in unterschiedlichen Durchmessern. Das angepasste Korneatransplantat wird mittels Einzelknopf und einer fortlaufenden, gekreuzten, ein- oder doppelwendigen Naht fixiert.

Bei dieser Operationsmethode handelt es sich um ein standardisiertes Verfahren, das sowohl für stromale als auch endotheliale Pathologien induziert ist. Die Indikationen für die pKP sind unter anderem Hornhautnarbe, Hornhautdystrophie, Hornhautdegeneration, Keratokonus und zentrale Hornhauttrübung. Eine perforierende Verletzung oder ein therapierefraktärer Hornhautulkus wie das Ulkus Mooren indizieren eine notfallmäßige Keratoplastik à chaud.

1.3.3.2 Lamelläre Keratoplastik

Im Rahmen von lamellären Keratoplastiken werden nur die einzelnen krankhaft-veränderten Schichten der Kornea entfernt und ersetzt. Die gesunden Schichten werden erhalten und eine Eröffnung des Bulbus ist nicht notwendig. Unter den selektiven lamellierenden Methoden werden die tiefe anteriore lamellierende und die endotheliale Keratoplastik unterschieden.

DALK - deep anterior lamellar keratoplasty nach (Reinhart, Musch, Jacobs, *et al.*, 2011)

Die tiefe anteriore lamellierende Keratoplastik (deep anterior lamellar keratoplasty = DALK) ist eine operative Methode, bei der die Hornhaut bis zum Erreichen der Lamina limitans posterior reseziert wird und die darunterliegende nichtbetroffene Endothelschicht unverletzt bleibt. Nun wird die Spenderhornhautlamelle ohne die spendereigenen inneren Korneaschichten auf der erhaltenen Descemet-Membran des Empfängers platziert. Die DALK kann auch unter zur Hilfenahme eines Excimer-Laser und Pachymetrie-gesteuert erfolgen (Pachymetrie-assistierte Laser-Keratoplastik = PALK). Diese Methode ist somit nur für Erkrankungen der oberen kornealen Schichten geeignet. Eine typische Indikation für die DALK ist der Keratokonus.

Bei dieser operativen Methode bleibt die für ein gutes prognostisches Outcome entscheidende Endothelzellschicht erhalten. Durch den Erhalt des nichtbetroffenen, gesunden Endotheliums kann eine späte Transplantationsabstoßung aufgrund einer endothelialen Allograftreaktion verhindert werden (Tan, Dart, Holland, *et al.*, 2012). Außerdem zeigt sich eine schnellere postoperative, visuelle Rehabilitation nach einer DALK bei der Gegenüberstellung zur bulbuseröffnenden Vorgehensweise. Zudem weisen Studien auf eine verkürzte postoperative Therapie mit steroidalern Augentropfen und immunsuppressive Therapie hin. Auch kann das verwendete Nahtmaterial in den meisten Fällen im Vergleich zur pKP früher entfernt werden. Ein mittels der DALK-Technik

operiertes Auge zeigt postoperativ eine erhöhte Traumaresistenz, am ehesten durch den Erhalt der äußerst stabilen Descemet-Membran des Empfängers.

Diese Methode ist für den Operateur schwerer zu erlernen und bedarf eines höheren technischen Aufwandes als die traditionelle pKP. Die Lösung der äußeren Korneaschichten von der Descemet-Membran stellt eine große technische, operative Herausforderung an den ophthalmologischen Chirurgen dar. Unter der Verwendung der Anwar's „Big Bubble2Technik“ wird eine Luftblase zwischen der Stromaschicht und der Descemet-Membran injiziert, sodass sich die Schichten voneinander lösen und leichter abpräpariert werden können. Somit lässt sich die Penetrationsgefahr der Lamina limitans posterior senken. Gleichzeitig wird eine ebene Kontaktfläche zwischen dem Empfänger- und Spendergewebe geschaffen, um die Lichtstreuung an der Grenzfläche möglichst gering zu halten.

Indikationen: anteriore lamelläre Keratoplastik Trübungen und Narben des oberflächlichen Hornhautstroma – Voraussetzung ist die intakte Descemet-Membran und ein gesundes Hornhautendothel

Endotheliale Keratoplastie

Die endotheliale oder posteriore lamellierende Keratoplastik ist bei isolierten, endothelialen Korneopathologien indiziert. Typische Indikationen für eine endotheliale Keratoplastie sind die Endotheldystrophien und die bullöse Keratopathie. Weitere Indikationen für eine hintere lamelläre Keratoplastik stellen die pseudophake Endothel-Epithel-Dekompensation, Fuchs-Hornhautdystrophie sowie die lokalisierte Endothelerkrankungen dar.

DMEK - Descemet's membrane endothelial keratoplasty

Bei der DMEK (Descemet's membrane endothelial keratoplasty) wird nur die Descemet-Membran und das Endothel des Spenders in die zuvor von dem krankhaften Endothel bereinigte Vorderkammer des Empfängers transplantiert. Diese Methodik stellt große Anforderungen an den ophthalmologischen Operateur, da die Descemet-Membran manuell von der Hornhaut getrennt werden muss. Zudem ist das Transplantat so zart, dass es sich aufgrund der hydrostatischen Kräfte im Kammerwasser umgehend einrollt. Eine „physikalische“, intrakamerale Lufttamponade wird genutzt, um das Transplantat zu entfalten und zu positionieren. Auf eine Vernähung und damit Traumatisierung sowohl des Spender- als auch Empfängergewebes wird bei dieser Methode verzichtet.

DSAEK - Descemet's stripping with automates endothelial keratoplasty

Die DSAEK-Technik (Descemet's stripping with automates endothelial keratoplasty) erlaubt einen selektiven Austausch der erkrankten Endothelschicht und Descemet-Membran mit einer dünnen hinteren Stomalamelle durch das Spenderhornhautscheibchen. Das stabilere Spendertransplantat im Vergleich zur DMEK wird mit einem Mikrokeratom im posterioren Stromabereich in die vordere Augenkammer eingebracht und dort positioniert. Die Dicke der Spenderhornlamelle liegt bei etwa 100 bis 200 µm. Mittlerweile stehen bereits Präparationstechniken für den Zuschnitt von ultradünnen Transplantaten mit Dicken von 50 bis 80 µm zur Verfügung. Der Vorteil dieser Technik gegenüber der DMEK ist ein stabileres Transplantat und eine geringere Dislokationsrate. Jedoch wird mit der stomalen gegebenenfalls unebenen Transplantatkante eine erhöhte Lichtstreuung und eine größere Diffusionsbarriere aufgrund der Transplantatdicke in Kauf genommen. So weisen Studien auf bessere visuelle Ergebnisse nach einer DMEK im Vergleich zur DSAEK hin. Jedoch ist die DMEK operativ aufwendiger.

Die Hauptkomplikation einer endothelialen Keratoplastik liegt in der Schwierigkeit der Fixation des Spendermaterials und damit verbunden gehäuften Fällen von ablösenden Translokationen der Transplantate. Eine weitere Herausforderung besteht in der intraoperativen visuellen Kontrolle der Operationsschritte und korrekten Platzierung des Transplantates durch die bei den meisten Erkrankungen getrübbten äußeren Korneaschichten. Die anfängliche höhere Endothelzahlabnahme im Vergleich zu der perforierenden Technik scheint durch eine schonendere Einbringungsmethode positiv beeinflussbar zu sein. So zeigen Langzeitstudien eine höhere endotheliale Zelldichte nach einer endothelialen Keratoplastik. Es findet eine schnellere Visus-Rehabilitation im Vergleich zur penetrierenden Keratoplastik aufgrund des fehlenden Auftretens eines Astigmatismus statt.

In den letzten Jahren haben die neueren geweberhaltenden Keratoplastikformen die tradierte penetrierende Keratoplastik zunehmend ersetzt. Während im Jahr 2010 noch 80% der Korneartransplantation auf die perforierende Keratoplastik entfielen, war 2013 das Verhältnis der perforierenden zur lamellären Methode 1:1 (52% zu 48%).

Intraoperativ könnte jederzeit von einer lamellären auf eine perforierende Methode übergegangen werden. Hierzu müsste jedoch das jeweilige Spendertransplantat die sich ändernden Voraussetzung erfüllen oder durch ein anderes Transplantat ersetzt werden. Letzten Endes ist die jeweilige Pathologie entscheidend für die gewählte Operationstechnik.

2 Zielsetzung

Das Ziel der Arbeit ist es, den Fokus der Validierung bezüglich der Güte eines Hornhautimplantats neben dem bekannten Parameter der Zelldichte auf die genauere Betrachtung der Zellmorphologie der kornealen Endothelschicht zu legen.

Mehrere Studien haben sich mit der Abhängigkeit der endothelialen Zelldichte von verschiedenen Einflüssen, wie dem Alter (Bourne, Nelson & Hodge, 1997) (Yee, Matsuda, Schultz, *et al.*, 1985) (Niederer, Perumal, Sherwin, *et al.*, 2007), der Verarbeitungsmethode und den Begleiterkrankungen auseinandergesetzt. In den Richtlinien zur Gewinnung von Gewebetransplantaten wurde sogar ein unterer Dichtegrenzwert für die Eignung eines Hornhauttransplantates angegeben. Doch ein solcher unterer Richtwert wurde bis jetzt für die Zellmorphologie nicht festgelegt.

Die zentralen Fragenstellungen dieser Dissertation sind:

1. Ist die Endothelmorphologie, d.h. der Anteil an fünf- und sechseckigen Endothelzellen der Kornea abhängig von der Zelldichte (bzw. korrelieren diese zwei Werte.)
2. Kann die quantitative Bestimmung der Endothelmorphologie als Parameter für die Eignung als korneales Spendergewebe herangezogen werden.
3. Und wenn ja, können wir einen unteren Grenzwert an fünf- und sechseckigen Endothelzellen für die Eignung als Spenderhornhaut festlegen.

3 Material und Methodik

Im folgenden Abschnitt wird die Datenerhebung beschrieben, wie sie im IfR und der Hornhautbank erfolgte.

3.1 Datenerhebung

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Kohortenstudie. Die Untersuchung umfasst 1031 Hornhauttransplantate, die im Zeitraum zwischen dem 27.06.2012 und 12.10.2016 durch die Hornhautbank des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf registriert wurden. Für den langen Zeitraum von vier Jahren lag eine nahezu vollständige, standardisierte Dokumentation der Daten vor. Die Daten wurden bereits im Vorhinein durch das Institut für Rechtsmedizin Hamburg erhoben und anonymisiert und dann in einer Excel-gestützten Hornhautdatenbank tabellarisch gesammelt. Dabei wurde jeder entnommenen Spenderhornhaut eine fortlaufende Transplantatnummer zur weiteren Identifikation zugeteilt. Wurden einem Spender mehrere Transplantate entnommen, so fließen beide Hornhautgewebe einzeln in die Untersuchung ein. Die Daten der Hornhautbank des Universitätsklinikums Hamburg Eppendorf bezüglich des Spenders, der Prozessierung der Hornhäute sowie die Kultivierung und schließlich Verwendung der Hornhäute wurden den folgenden Quellen entnommen.

- Spenderbögen
- Sektionsprotokolle
- Entnahmebericht
- Transplantationsbögen
- Mikrobiologische Befunde

Die Hornhautbank erfasst in tabellarischer Form folgende Datenkriterien:

- HH Nr. - die Hornhautnummer der Hornhautbank Hamburg ist eine laufende Nummer, die den Spender Hornhäuten zugeteilt wurde
- Entnahmeort
- Leichennummer
- Alter des Spenders (in Jahren)
- Geschlecht des Spenders (weiblich, männlich)

- Todesursache des Spenders
- Grundleiden/ Komorbidität /Vorerkrankungen
- Systemische Infektionen
- Tumorleiden
- Präparation HPM (Hours post mortem)
- Endothelzelldichte (in Zellen/mm²)
- Erreger Hepatitis B Serologie
- Erreger HIV-Serologie
- Erreger Hepatitis C Serologie
- Erstes Medium Sterilität
- Tage bis zum letzten Entquellen vor der OP
- Tage postmortal bis zur OP
- Anzahl der Entquellungen in Dextran
- Gesamte Tageszahl in Dextran
- Praeoperativer Befund
- Endothealdichte praeoperativ
- Verwendung der Hornhaut (Transplantation, Verwerfen)
- Transplantationszentrum
- Befundbericht bei Immersion in Medium
- Befundbericht bei Immersion in BSS
- Spontane Sichtbefund der Zellkerne im Medium
- Spontane Sichtbefund der Zellgröße im Medium
- Gequollene Zellgröße in BSS
- Morphologie interzellulär / interzellulärer Grenzen
- In PKM (Kulturmedium) sichtbare Endothelnekrosen
- Spontanes Bild im Kulturmedium
- Quellung intrazellulär Grenzen in BSS
- Morphologie intrazelluläre Grenzen
- Transporteure der Bulbi vom Entnahmeort in die Rechtsmedizin – namentliche Nennung
- Präparatoren der Hornhautbank – namentliche Nennung
- Datum der Transplantation
- Notfallhornhäute

Auf der Basis der anonymisierten Spenderdaten der Hornhautbank wurden die folgenden deskriptiven statistischen Analysen durchgeführt. Die erhobenen Daten wurden tabellarisch sortiert und mit Hilfe der Microsoft-Excel Software analysiert. Es wurden lineare Regressionen mit Trendlinien und Bestimmtheitsmaß sowie P-Wert-Bestimmung

durchgeführt und Mittelwerte einiger Daten berechnet. Für alle statistischen Tests galt als Signifikanzniveau ein P-Wert unter 0,01 als hoch signifikant, unter 0,05 als signifikant. Die Zielmessgrößen Endothelzelldichte (in Zellen / mm²) und Zellmorphologie (jeweiliger prozentualer Anteil der fünf- und sechseckigen Zellen) der Spenderhornhäute wurden für einen bis sechs Messpunkte bestimmt und bezüglich ihrer unterschiedlichen Einflussparameter analysiert. Entscheidend für die Eignung eines Transplantates ist die endothelmikroskopische Untersuchung.

3.2 Bestimmung der Endothelzelldichte und -Morphologie

Die Hornhautendothelschicht wurde unter Verwendung des EAS-Systems (Nikon Eclipse Ti Phasenkontrastmikroskop mit Kamera und einem angehängten Computer mit der EAS-Endothel-Auswerte- und Zählsoftware) beurteilt. Hierzu wurden die Augenhornhäute in steriler Atmosphäre in Flachboden-12-Loch-Schalen mit balanced-salt solution (BSS) gegeben (Gesamtzeit in BSS nicht länger als 5 Minuten), mit den transparenten Deckeln abgedeckt und auf den Präparate-Tisch des Mikroskop gestellt. Bei 200-facher (Phako-Objektiv) Vergrößerung wurde die Endothelschicht dann gesucht und fokussiert, das Bild wurde auf den Computer des EAS-Systems übertragen und gespeichert. Das Programm setzte anschließend auf dem Bildschirm einen Analyse-Rahmen, der an eine repräsentative Stelle des Endothels verschoben werden musste. Die Befundung der Endotheldichte und Morphologie erfolgte nun durch Betätigen des „Analyse“-Buttons: Dabei wurden automatisch die Endothelzellen erkannt und gezählt, die vollständig innerhalb des Analyse-Rahmens lagen oder von der oberen und linken Begrenzung des Rahmens geschnitten wurden und in geeigneter Weise hochgerechnet (analog zur manuellen Zählung unter Verwendung von Neubauer-Zählkammern)(Abb.3 Kap.1.1.1 Seite 7); der ermittelte Wert ergibt die Endothelzelldichte in Zellen pro mm². Analog wurde die Morphologie der vom Rahmen umfängenen Endothelzellen beurteilt: Hierzu erkennt das Programm bei jeder Zelle automatisch die Anzahl der Apexe (Ecken) sechs- und (seltener) fünfeckige Zellen stellen die reguläre Zellform dar; der Prozentsatz dieser Zellen und aller heteromorphen (vier-, sechs-, sieben-eckigen und polymorphen) Endothelzellformen im Analyse-Rahmen werden ermittelt und sind für die Hornhaut repräsentativ.

Die automatische Endothelbewertung wurde grundsätzlich am Bildschirm geprüft und ggf. korrigiert. Jedes Zählergebnis wurde gespeichert (Archiv) und ausgedruckt. Die ausgedruckten Bewertungen/Bilder wurden routinemäßig zum Spenderbogen der jeweiligen Hornhäute hinzugefügt und mit diesem archiviert.

4 Ergebnisse

Im folgenden Kapitel werden die einzelnen Daten der Hornhautbank untersucht und graphisch analysiert. Die Datenanalyse umfasst 1031 Spenderkornea für den ersten Messpunkt direkt nach der Entnahme der Kornea. Wurde ein weiterer Messpunkt zu einem späteren Kulturzeitpunkt gewählt wird dieses explizit angegeben.

4.1 Geschlechterverteilung der Hornhautspender

Für 1027 dokumentierte Spenderhornhäute wurde eine Geschlechtszuordnung aufgezeigt. 384 der Hornhautspendern waren weiblich und 643 männlich.

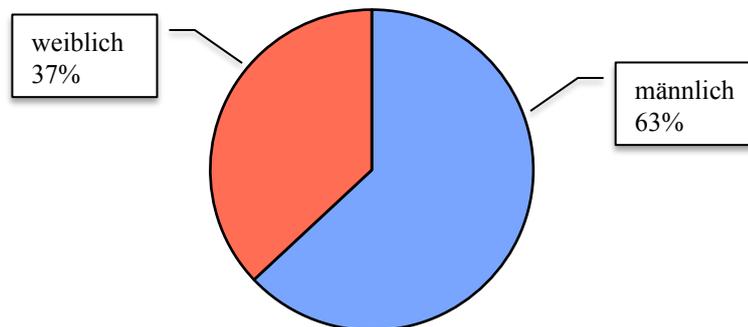


Abb.7: Geschlechterverteilung der Spender (n=1027 Spender; für vier Hornhäute gab es keine Geschlechterzuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen) Wie auch im Folgenden wird für die grafische Darstellung den weiblichen Spendern die Farbe rot und den männlichen die Farbe blau zugeordnet.

Die Geschlechterverteilung der weiblichen zu männlichen Verstorbenen, deren Hornhäute entnommen und als potentielle Transplantate in die Hornhautbank Hamburg aufgenommen wurden, ergab ein Verhältnis von etwa 37% (n=384) weiblichen zu 63% (n=643) männlichen Spendern.

4.1.1 Geschlechterspezifische Transplantationsrate

Die Grafik (Abb.8) illustriert die quantitative Geschlechterverteilung zur Häufigkeit der regulären Korneatransplantationen und der verworfenen Hornhautgewebe. Mit 437 stammen etwa doppelt so viele Hornhäute, die für eine Transplantation freigegeben

worden, von einem männlichen, von einem weiblichen Spender waren es 236. Von den 349 verworfenen Hornhäuten entfallen etwa 58% auf männliche Spender (201).

Die Korneatransplantationsrate weiblicher Spender liegt bei etwa 61 % mit 236 transplantierten zu 148 verworfenen Hornhäuten. Bei 437 Hornhauttransplantationen und 201 nicht genutzten Hornhäuten männlicher Spender ergibt sich eine höhere Transplantationsrate von circa 68%. Für 9 Hornhäute fehlte die Geschlechtszuordnung, bzw. der Verbleib oder beides und wurden so nicht in die Grafik mit einbezogen.

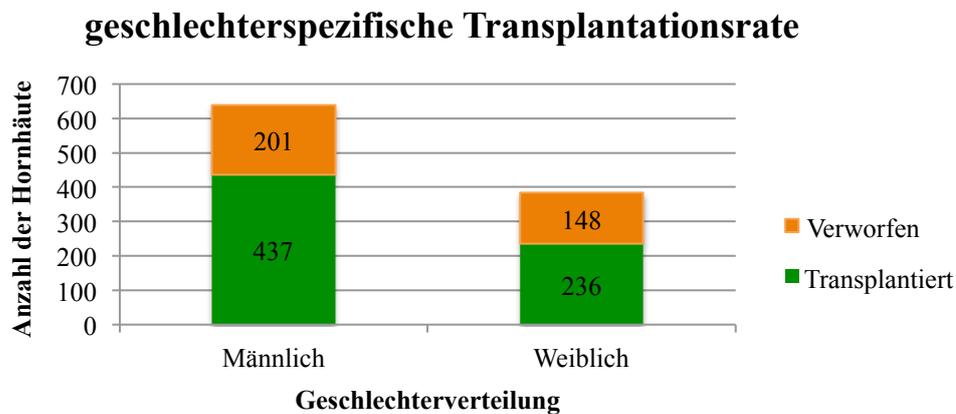


Abb.8: Geschlechterverteilung der Hornhäute bezüglich des Verbleibs

(n=1022 Spender, für neun Hornhäute gab es keine Verbleibs- und/oder Geschlechterzuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen). Für die weitere Veranschaulichung wurden den transplantierten Hornhäute eine grüne Farbgebung und den verworfenen eine orange Farbgebung, auch in den weiteren Diagrammen zugeordnet

4.1.2 Geschlechterspezifische Verteilung der Zelldichte

Die Geschlechterverteilung in Bezug auf die unterschiedlichen Endothelzelldichten wird in dem Histogramm (Abb.9) dargestellt. Das unten stehende Diagramm veranschaulicht die quantitative Geschlechterzuordnung der Spenderhornhäute im Bezug zu deren Zelldichte (in Zellen/mm²). Die Zelldichteanalyse wurde wie nachfolgend beschrieben für diese und weitere Untersuchungen durchgeführt. Dabei wurden diese in Gruppen von 300 Zellen/mm² für den Bereich zwischen 1700 und 3200 Zellen/mm² eingeteilt. Die Hornhäute mit einer Zelldichte über 3200 Zellen/mm² und unter 1700 Zellen/mm² wurden jeweils kumulativ zusammengefasst. Eine einzelne Gruppe veranschaulicht die Hornhautanzahlen für eine mit 0 Zellen/mm² angegebene Zelldichte. Es ergibt ein fast

konstantes Geschlechterverhältnis von etwa 2:1 männlicher zu weiblichen Spendern. Die höchste Korneanzahl beider Spendergeschlechter (männlich: 194 und weiblich: 95) liegt bei einer Zelldichte von 2600 bis 2899 Zellen/mm². Unter diesem Zelldichtebereich nimmt die zugehörige Hornhautzahl stetig zu und bei einer höheren Endothelzelldichte erneut ab. Für insgesamt 227 Hornhäute konnten keine Zelldichten beurteilt werden.

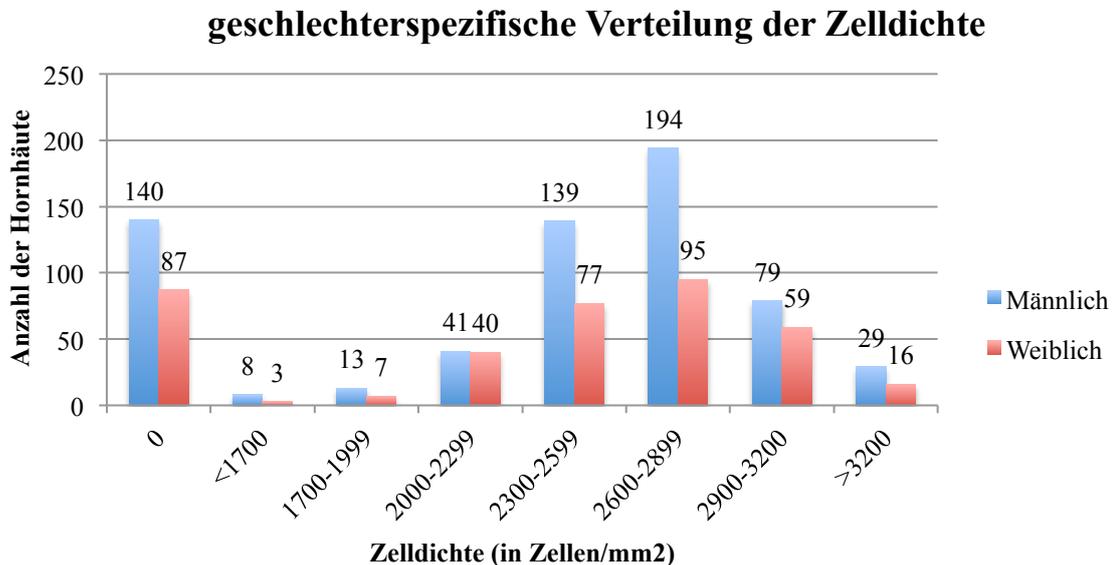


Abb.9: Geschlechterverteilung abhängig von der Zelldichte (n=1027 Spender; für vier Hornhäute gab es keine Geschlechterzuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen)

4.1.3 Geschlechterspezifische Verteilung der Zellmorphologie

Unten stehend ist grafisch in einem Histogramm (Abb.10) das quantitative Verteilungsmuster der Hornhäute im Bezug zum prozentuellen Anteil fünf- und sechseckiger Zellen und dem Geschlecht des Spenders dargestellt. Für vier Hornhäute wurde keine Angabe zum Spendergeschlecht dokumentiert. Die korneale Zellmorphologie, gemessen an ihrem Anteil fünf- und sechseckiger Zellen, wurde für diese Arbeit in 10er Potenzen im Bereich zwischen 30% und 80% zusammengefasst. Da keine Hornhäute mit einem zellmorphologischen Anteil zwischen 1% bis 14% erfasst wurden, wurde eine Gruppe von 15% bis 29% gewählt. Eine weitere Gruppe umfasst alle Hornhäute mit einem Anteil von über 80% fünf- und sechseckiger Zellen sowie eine Gruppe für die keine fünf- und sechseckigen Zellen bestimmt werden konnten. Es zeigt sich bei einer höheren Anzahl an männlichen Spendern keine wegweisende geschlechtsspezifische Abweichung des

zellmorphologischen Verteilungsmusters. Nur für den Morphologiebereich von 70% bis 80% der fünf- und sechseckigen Endothelzellen der Hornhäute nimmt das Verhältnis der weiblichen Spender (43%) im Vergleich zu den männlichen (57%) trotz der geringen Hornhautzahl (83) für diese höheren Bereiche zu.

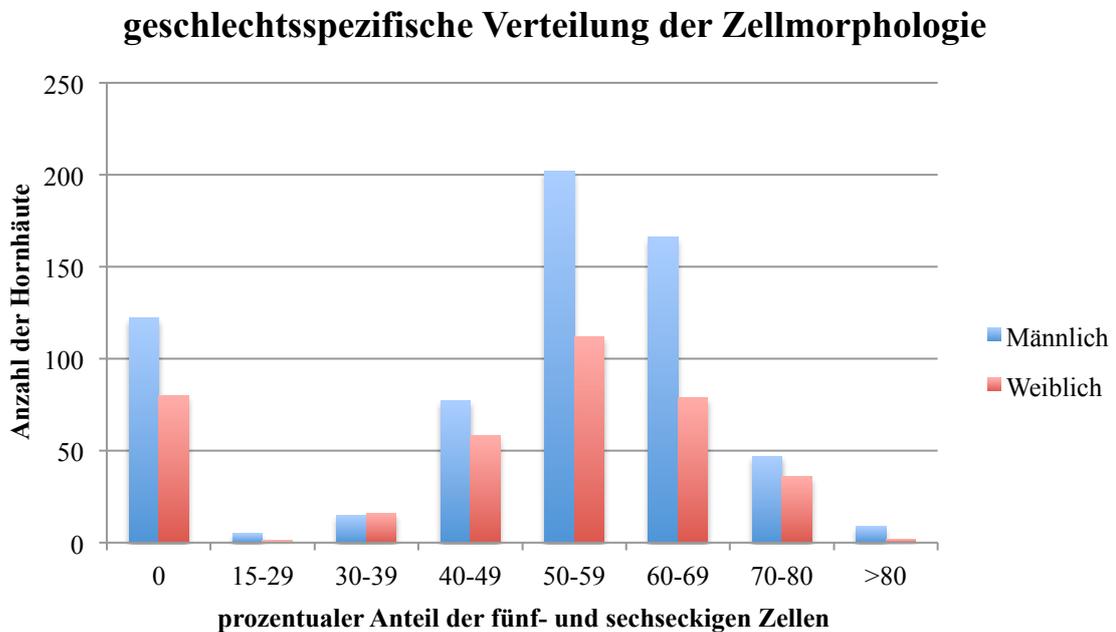


Abb.10: Geschlechterverteilung abhängig von der Zellmorphologie (n=1027 Spender; für vier Hornhäute gab es keine Geschlechterzuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen)

4.2 Altersverteilung der Hornhautspender

Die unten aufgezeigte Grafik (Abb. 11) stellt das Altersverteilungsmuster in Zehner-Dekaden und jeweilige Anzahl der Hornhautspender dar. Das durchschnittliche Alter der Hornhautspender lag bei etwa 66 Jahren (65,9 Jahren) mit (+/- 14,6 Jahre Stabw.). Der jüngste Spender war 21 und der älteste 95 Jahre alt. Die meisten Hornhäute stammen von Spendern im Alter von 70 bis 79 Jahren (n=318, 31%). In absteigender Zahl folgen die Altersgruppe der 60- bis 69-jährigen (n=219, 21%), den 50- bis 59-jährigen (n=182, 18%), sowie der 80- bis 90-jährigen (n=150, 15%) und 40- bis 49-jährigen (n=84, 8%) Spender. In den Altersdekaden von 30- bis 39 (n=29, 3%), 20- bis 29 (n=20, 2%) und über 90 (n=19, 2%) wurden deutlich weniger Hornhautspender angegeben. Für die Altersdekaden unter 20 Jahren wurden keine Spender dokumentiert. Für 10 Hornhäute wurde keine Altersangabe angegeben.

alterspezifische Verteilung der Spender

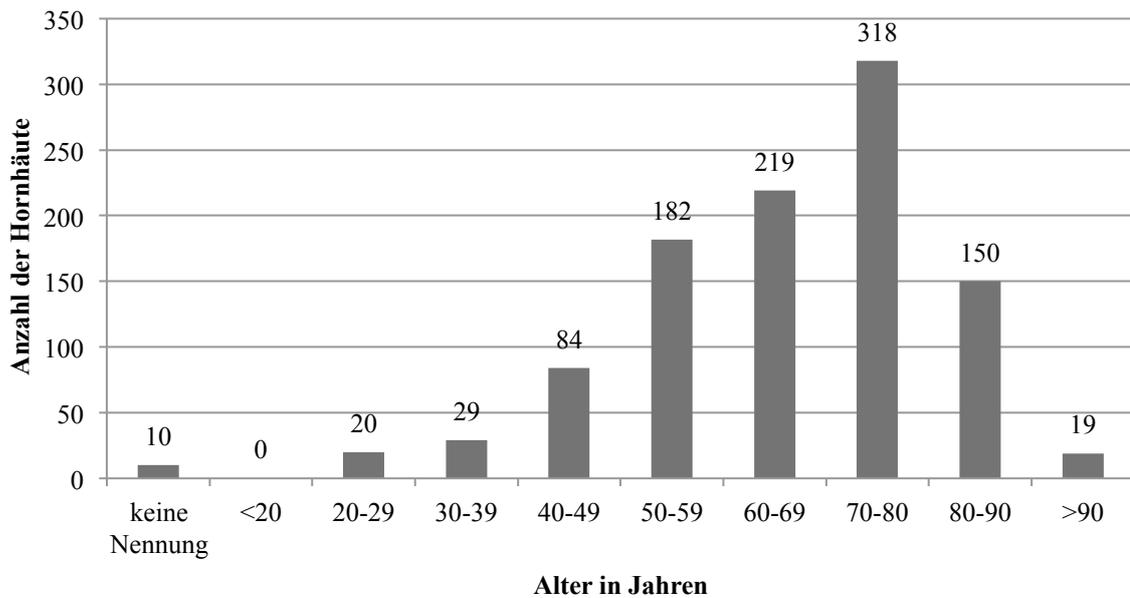


Abb.11: Altersverteilungsmuster der Spender (n=1031 Spender)

4.2.1 Altersspezifische Verteilung der Transplantationsrate

Das Histogramm (Abb. 12) zeigt die Altersverteilung zur Häufigkeit der regulären Korneatransplantationen und der verworfenen Hornhautgewebe. Für die Altersgruppe über 90 Jahre wurden 12 Hornhäute transplantiert und 7 verworfen. In der Gruppe der 20 bis 29 jährigen Hornhautspendern ergaben sich 4 verworfene und 16 transplantierte Hornhäute und für die Gruppe ohne Altersangaben wurden 7 transplantiert und 2 Hornhaut verworfen. Die Anzahl der Transplantationen nehmen mit dem Alter zu. So werden mit 193 die meisten Hornhäute in einem Alter zwischen 70 und 79 Jahren zur Gewebsverpflanzung freigegeben. Über dem 80igten Lebensjahr der Spender nimmt die Häufigkeit der transplantierten Hornhäute erneut ab. Eine ähnliche Altersverteilung zeigen die verworfenen Hornhautgewebe. So wurden ebenfalls die meisten Hornhäute verworfen, deren Spender zwischen 70 und 79 Jahren alt waren.

altersspezifischen Transplantationsrate

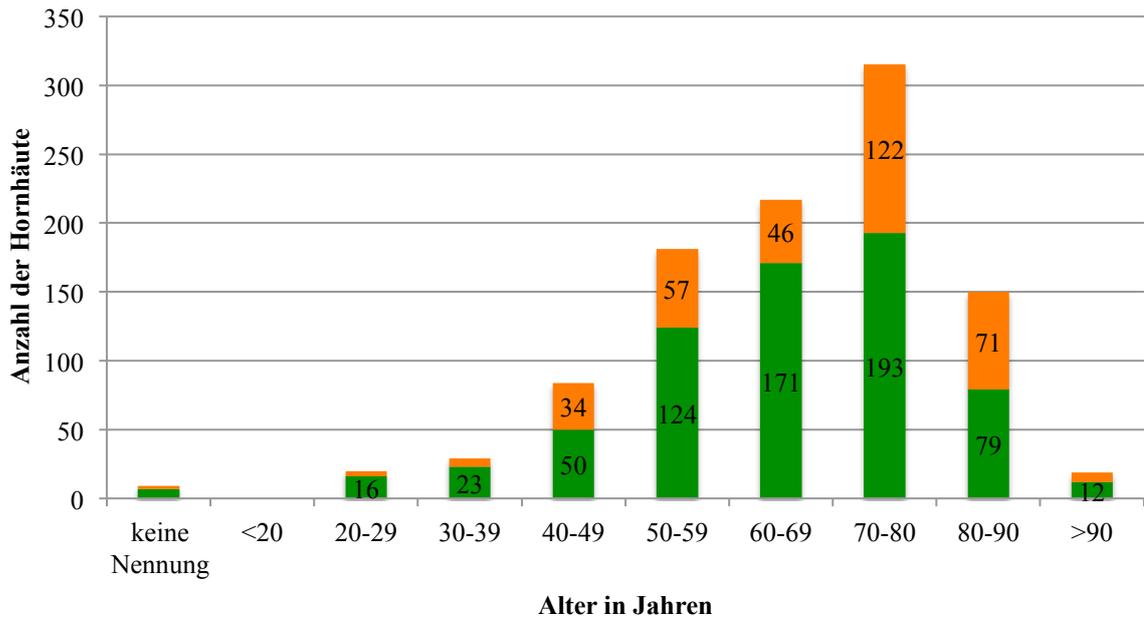


Abb.12: Altersspezifische Transplantationsrate (n=1024; für sieben Hornhäute gab es keine Verbleibszuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen)

Bei einer durchschnittlichen Transplantationsrate von etwa 66% zeigt die Tabelle 1, dass der prozentuale Anteil der transplantierten Hornhäute bei der Altersgruppe der 20-29jährigen bei 80% erwartungsgemäß viel höher ist als bei der Gruppe der über 90 Jährigen mit 63%. Ein hoher Anteil mit 78% lässt sich auch für die Hornhäute ohne Daten/keine Nennung zum Spenderalter feststellen. Die prozentuale Transplantationsrate nimmt über die nach Zehnerjahresgruppen der Hornhautspender geordnete Tabelle ab und auch wieder zu. Die Transplantationsrate der Altersgruppen lagen zwischen 61%- 80%.

Altersgruppen	kN	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80-89	>90
Transplantationsrate in %	78	80	79	60	69	79	61	53	63

Tabelle 1: Den einzelnen Altersgruppen (in Jahren) wurden die jeweiligen Transplantationsraten (in %) zugeordnet. (kN= keine Nennung)

4.2.2 Altersspezifische Verteilung der Zelldichte

In der dargestellten Grafik (Abb.13) wird das Altersverteilungsmuster (in Jahren) gegen die durchschnittliche Zelldichte (Zellen/mm²) je Lebensjahr aufgetragen. Die durchgezogene Linie veranschaulicht die Entwicklung des Mittelwerts.

Die höchste Zelldichte mit 4050 Zellen/ mm² konnte für die Hornhaut eines 51-jährigen Spenders bestimmt werden. Die geringste Zelldichte lag mit 949 Zellen/ mm² bei einem 79 Jahre alten Hornhautspender vor. Es fällt auf, dass mit einem zunehmenden Alter der Spender die Zelldichte abnimmt.

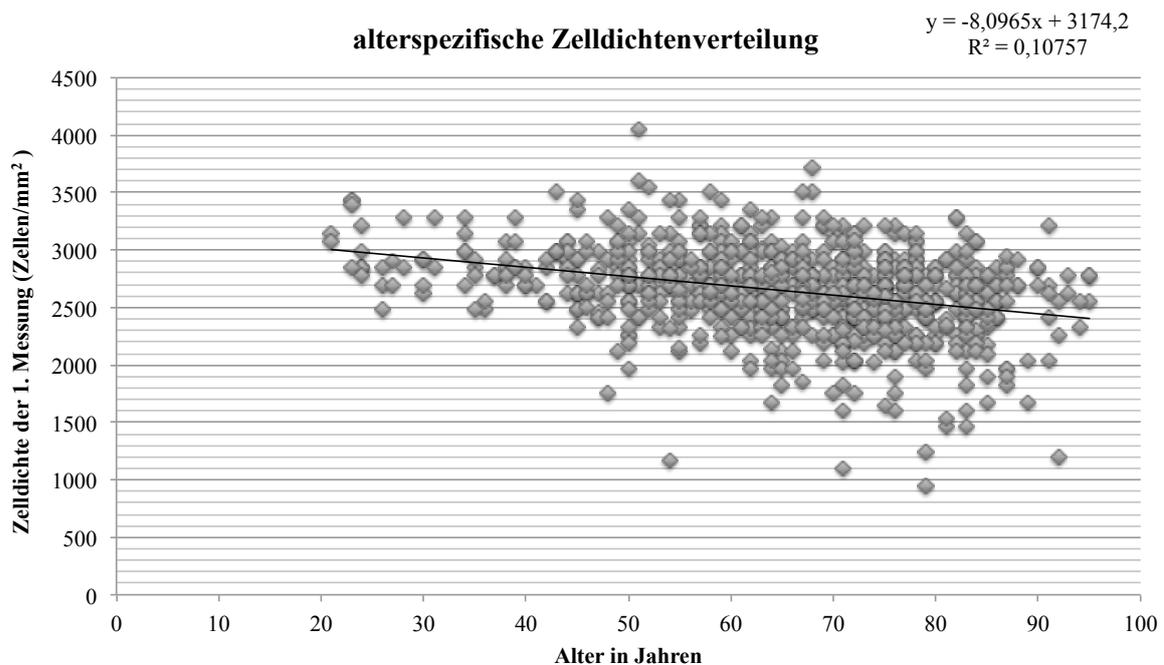


Abb.13: Altersverteilungsmuster im Bezug zur Zelldichte bei der 1. Messung der Hornhäute (n=844 Spender; nicht berücksichtigt Zelldichte und Alter mit keiner Angabe); Pearsonkoeffizient: -0,3280, p-Wert: <0,01

4.2.3 Altersspezifische Verteilung der Zellmorphologie

Die Abhängigkeit der Zellmorphologie, gemessen am prozentualen Anteil der fünf- und sechseckigen Zellen, zum Spenderalter (eingeteilt in Zehner-Dekaden) wird in diesem Diagramm (Abb.14) veranschaulicht. Im Spenderalter zwischen 21 und 95 Jahren nimmt der Anteil fünf- und sechseckiger Zellen der gespendeten Hornhäute ab, wie auch die Zelldichte unterliegt die Zellmorphologie einem demographischen Wandel. So reduziert sich die hepta- und hexagonale Zellfraktion ab dem Alter von 21 Jahren von durchschnittlich 63,4 % bis zu einem Wert von durchschnittlich 53,4% im Alter von 95

Jahren nur geringfügig. Im Rahmen der Einzelbetrachtung wurde der höchste Wert mit 85% für einen 24 jährigen Spender sowie nachfolgend mit 84 % für gleich drei Spender mit 43, 56 und 70 Jahren dokumentiert. Die niedrigsten Anteil fünf- und sechseckiger Zellen mit 15% wurde für einen 83 Jahre alten Spender und mit 22% für einen 64jährigen in die Datenbank aufgenommen.

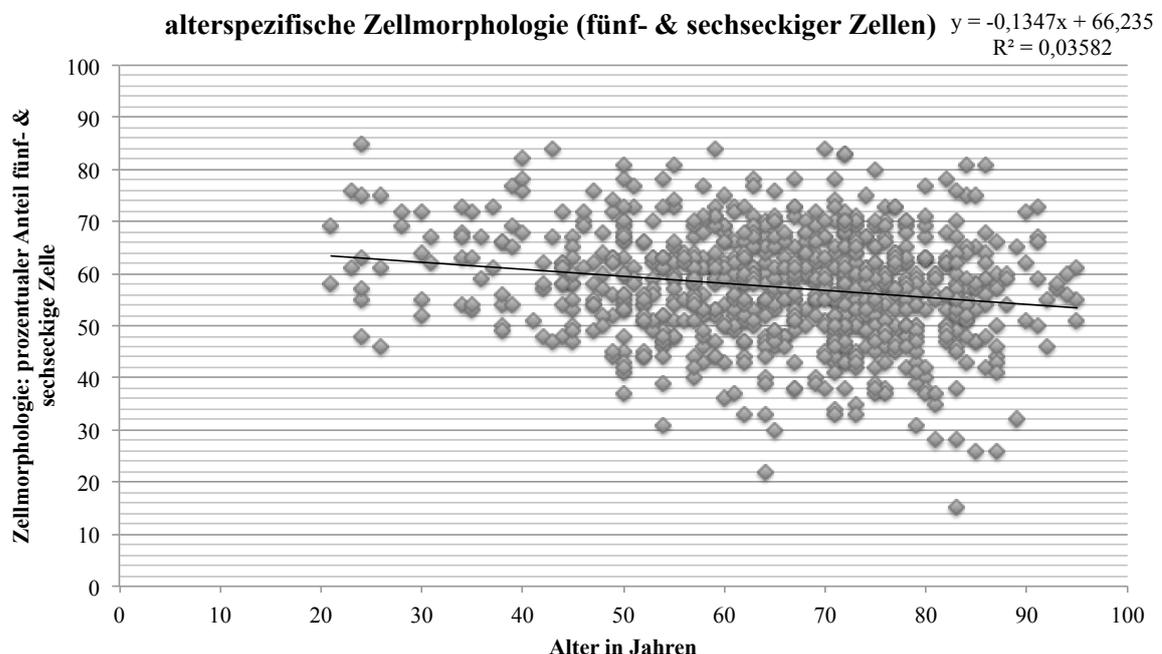


Abb.14: Altersverteilungsmuster im Bezug zur Zellmorphologie bei der 1. Messung der Hornhäute (n=818 Spender; nicht berücksichtigt Zellmorphologie und Alter mit keiner Angabe); Pearsonkoeffizient: -0,1893, p-Wert: <0,01

4.3 Die Zelldichte

Die Untersuchung der jeweiligen Hornhautanzahl bezüglich ihrer Zelldichte (in Zellen/mm²) ist in der vorliegenden Grafik dargestellt. Es konnten 853 Hornhäute einer Zelldichte zugeordnet werden. Dabei wurde mit 31% die höchste Korneazahl mit 314 für den Zelldichtebereich von 2600 bis 2899 Zellen/mm² gefunden. Weitere 22% entfallen auf die Zelldichte 2300 bis 2599 Zellen/mm² und 14 % auf die Zelldichtegruppe 2900 bis 3200 Zellen/mm². Die geringste Korneazahl mit etwa 2% zeigte sich für die Zelldichtegruppe von unter 1700 Zellen/mm². Für die gesamte Kohorte ergab sich für knapp 79% der Hornhäute eine Zelldichte über 2000 Zellen/mm². Die restlichen 21% entfallen auf die geringen Zelldichten oder auf die 178 Hornhäute, für die keine Zelldichten dokumentiert

wurden. Die niedrigste bekundete Einzelzelldichte betrug 949 Zellen/mm² die höchste 4050 Zellen/mm².

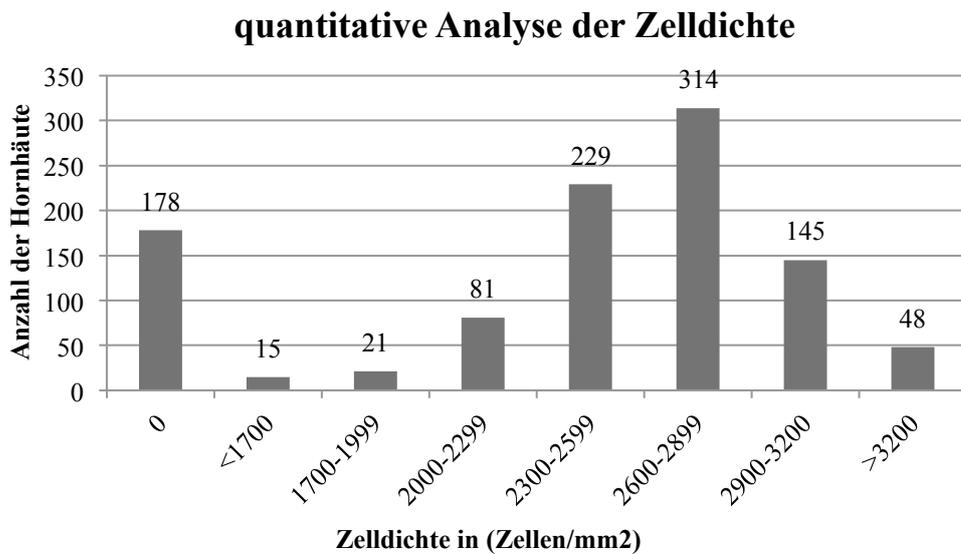


Abb.15: quantitative Analyse im Bezug auf die Zelldichte der 1. Messung (n= 1031)

4.4 Die Zellmorphologie

Das Diagramm (Abb.16) veranschaulicht die Zuordnung der jeweiligen Hornhautanzahl zu ihrer Zellmorphologie, die anhand des jeweiligen prozentualen Anteils der fünf- und sechseckigen Zellen klassifiziert wurde. Es fällt bei der quantitativen Analyse der Hornhäute und deren Zellmorphologie auf, dass für 204 Hornhäute und damit circa 20% keine fünf- und sechseckige Zellen dokumentiert wurden. Somit weisen insgesamt 827 Hornhäute der Kohorte fünf- und sechseckige Zellen auf. Die meisten Hornhäute (315) mit etwa 31% weisen einen Anteil von 50 bis 59% an fünf- bis sechseckigen Korneazellen auf. Diesen folgt die Gruppe mit 60 bis 69% mit 245 und 40 bis 49% mit 135 zugehörigen Hornhäuten. Die geringste Korneazahl entfällt auf den 15 bis 29%igen Anteil. Die höchste Zellmorphologie wurde mit 85% und die niedrigste mit 15% fünf- und sechseckiger Zellen bestimmt.

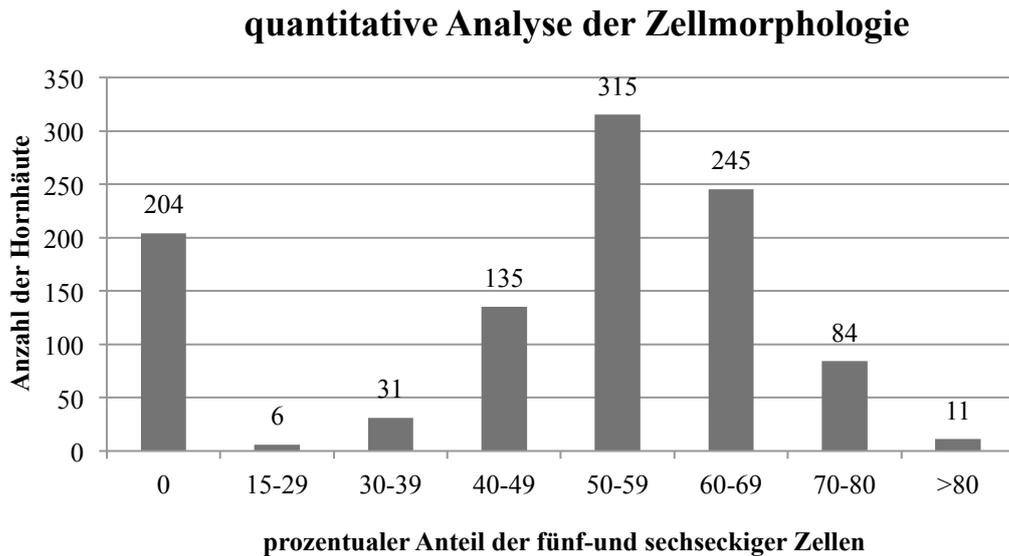


Abb.16: quantitative Analyse im Bezug auf die Zellmorphologie der 1. Messung (n= 1031)

4.5 Transplantationsrate

Für die weitere Untersuchung des Verbleibs wurden insgesamt 1024 korneale Gewebe herangezogen, von diesen sind 675 zur Transplantation freigegeben und 349 verworfen worden. Nur sieben Hornhäute konnten aufgrund von Dokumentationslücken der 1031 Hornhäute umfassenden Kohorte nicht zugeordnet werden.

In den nachstehenden Graphen werden der Verbleib der Hornhäute in absoluten und relativen Werten zur Morphologie bzw. der Zelldichte aufgeführt.

4.5.1 Analyse der kornealen Transplantationsrate in Abhängigkeit zur Zelldichte

Die absoluten Werte (Abb.17a) und prozentualen Verhältnisse (Abb.17b) der transplantierten und verworfenen Kornea-Spenden im Bezug auf die Zelldichte der Hornhäute wurden graphisch dargestellt, welche in Gruppen von jeweils etwa 300 Zellen/mm² zusammengefasst sind.

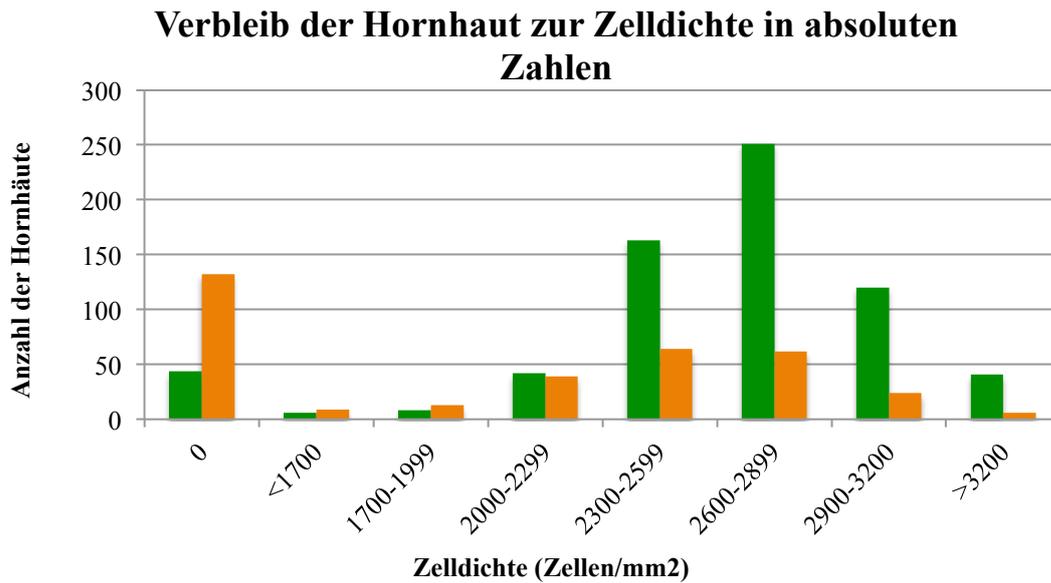


Abb.17a: Absolute Werte des Verbleibs der Hornhäute abhängig von der Zelldichte der 1. Messung (n=1024 Spender, für sieben Hornhäute gab es keine Verbleibszuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen)

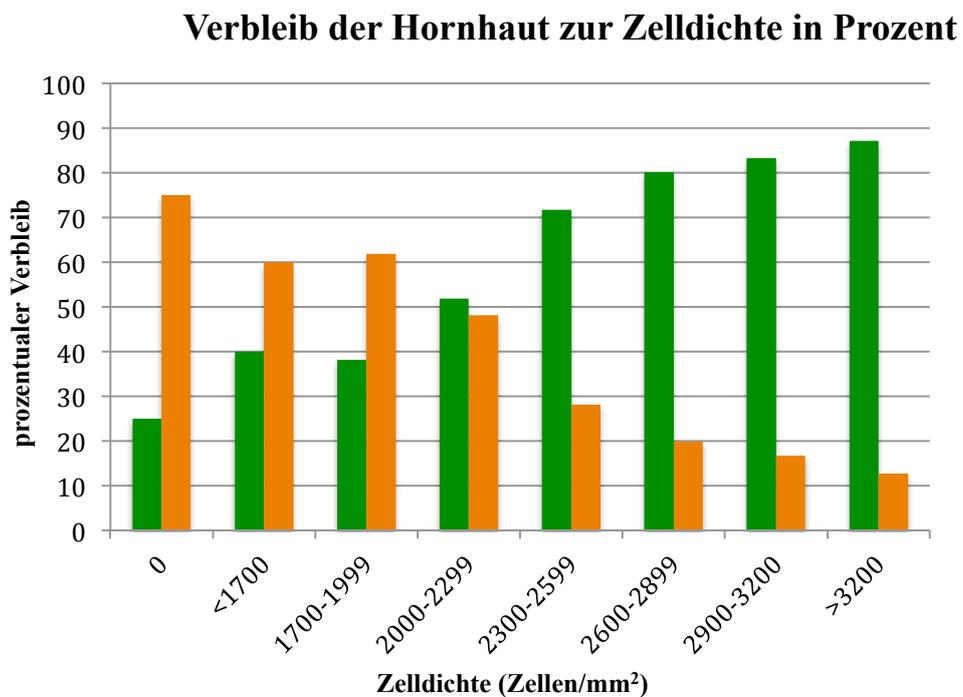


Abb.17b: Relatives Verhältnis des Verbleibs der Hornhäute abhängig von der Zelldichte der 1. Messung (n=1024 Spender, für sieben Hornhäute gab es keine Verbleibszuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen)

Für die Zelldichte gilt eine deutliche Zunahme der transplantierten Hornhautgewebespenden im Vergleich zu den verworfenen mit dem Anstieg der Zelldichte. So wurden für Wertegruppen mit unter 2000 Zellen/mm² 72% der Korneagewebe verworfen. In der Gruppe von 2000-2299 Zellen/mm² werden ungefähr gleich viel transplantiert (52%) wie auch nicht verwendet (48%). Ab 2300 Zellen/mm² stellt sich eine deutliche Zunahme der Transplantation (im Vergleich zu den verworfenen Hornhäuten) dar.

Ab dieser Gruppe werden stets mehr transplantiert als verworfen mit einem hohen Anstieg der Transplantationsrate, sodass bei mehr als 3200 Zellen/mm² über 87% transplantiert werden.

Die grafische Analyse der absoluten Transplantationswerte im Bezug auf die Zelldichte veranschaulicht eine hohe Anzahl von Spenderhornhäuten, deren Zelldichte als nicht zählbar klassifiziert wird. In der Gruppe werden 132 Gewebespenden verworfen, jedoch auch 44 transplantiert. Bei einer Zelldichte von unter 2000 Zellen/mm² ergibt sich eine sehr geringe Anzahl von Hornhäuten für diese Kohortenstudie. Auch in diesen Gruppen wird die Mehrzahl kornealer Gewebe nicht genutzt.

Während sich der Verbleib bei einer Zelldichte von 2000 und 2299 Zellen/mm² etwa gleichmäßig darstellt, so lässt sich ein deutlicher Anstieg der Transplantationsrate ab einer Zelldichte von 2300 Zellen/mm² beschreiben. Zugleich nimmt auch die Anzahl der nicht verwendeten Hornhäute in einem geringen Maße zu.

Mit einer Anzahl von 251 lässt sich für gut 40 % aller transplantierten Hornhäute eine Zelldichte von 2600 bis 2899 Zellen/mm² nachweisen. Ab einer Zelldichte von 2900 Zellen/mm² stehen wieder weniger Hornhäute zu Verfügung, sodass es zu einer Abnahme der Werte kommt.

4.5.2 Analyse der kornealen Transplantationsrate in Abhängigkeit zur Zellmorphologie

Die Grafiken veranschaulichen die absoluten Zahlen in Abb.18a und das relative Verhältnis in Abb.18b der transplantierten und verworfenen Kornea-Spenden zu dem prozentuellen Anteil der fünf und sechs-eckigen Zellen, welche in einzelnen Gruppen zusammengefasst sind.

Verbleib der Hornhaut zur Morphologie der fünf- & sechseckigen Zellen in absoluten Zahlen

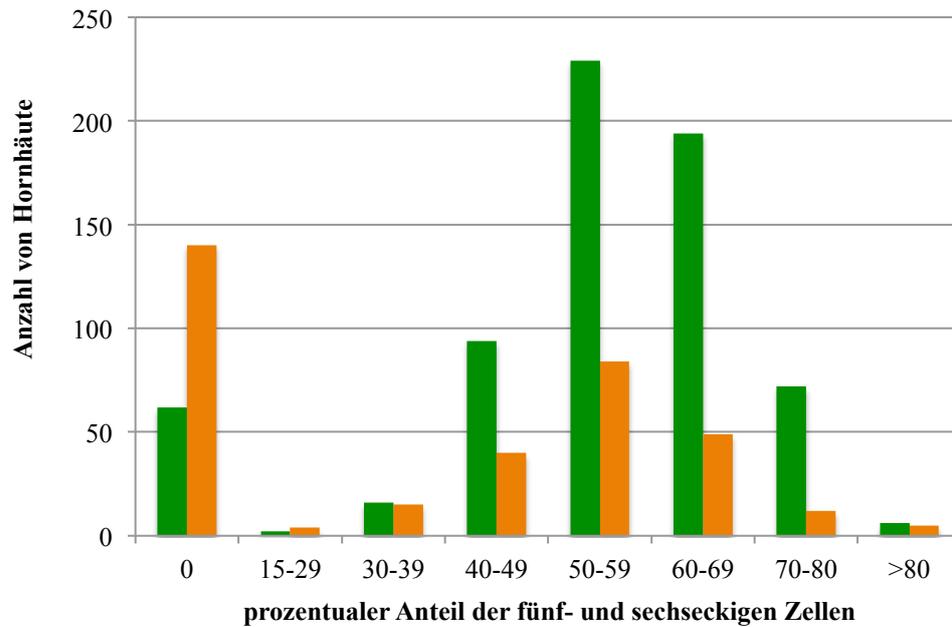


Abb.18a: Absolute Werte des Verbleibs der Hornhäute abhängig von der Morphologie der 1. Messung (n=1024 Spender, für sieben Hornhäute gab es keine Verbleibszuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen)

Verbleib der Hornhaut zur Morphologie der fünf- & sechseckigen Zellen in Prozent

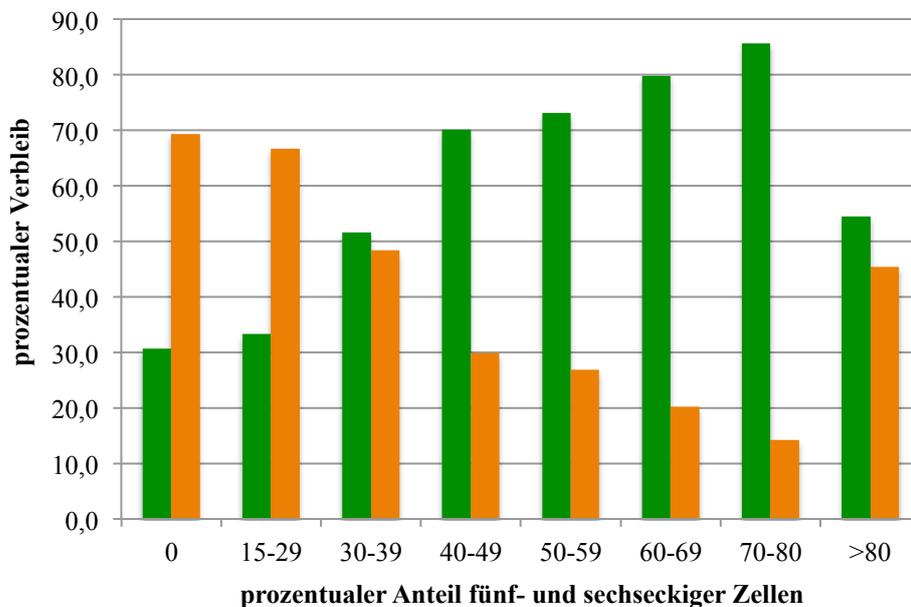


Abb.18b: Relativer Vergleich des Verbleibs der Hornhäute abhängig von der Morphologie der 1. Messung (n=1024 Spender, für sieben Hornhäute gab es keine Verbleibszuteilung und sie wurden nicht in den Graphen miteinbezogen)

Die Auswertung der absoluten Transplantationszahlen und relativen Transplantationsraten erfolgt nachstehend im Hinblick auf die Zellmorphologie der n=1024 Hornhautgewebe.

Bei 0% bzw nicht zählbaren fünf und sechs-eckigen Zellen wurden mit 140 Hornhäuten über 70% verworfen aber sogar mit rund 30% 62 Gewebespenden zur Transplantation freigegeben. Die Gruppe der 1%-14% fünf- und sechs-eckigen entfällt auf Grund fehlender Hornhäute für diese Gruppe in der Kohorte. Dem zellmorphologischen Bereich von 15% bis 39% sind nur wenige Hornhautgewebe zugeordnet. Diese zeigen in etwa ein ausgeglichenes Verbleiben (für 15%-29%: 2 transplantierte zu 4 verworfene und 30%-39%: 16 zu 15). Auch die Gruppe der über 80 %ig penta- und hexagonaler Zellen umfasst ebenfalls nur eine geringe Gewebszahl mit einem ähnlichen Verhältnis der Transplantationen (6) zur Nichtnutzung des Gewebes / Gewebsverwerfung (5). Die Transplantationsrate steigt sprunghaft auf 70 % mit 94 verwendeten zu 40 verworfenen Gewebespenden für die Gruppe der 40%-49%igen fünf- und sechseckzigen Hornhäute an.

Die Hornhäute mit dem Anteil von 50%-59% fünf- und sechseckiger umfassen die größte Anzahl. Diese beträgt mit 229 mehr als 1/3 der gesamten transplantierten und mit 84 etwas weniger als ¼ der gesamten verworfenen Hornhäuten. Bei sinkender Zugehörigkeitswerten steigt die Transplantationsrate der 60%-69% Gruppe auf 80% (bei 194 zu 49) und der 70%-80% Guppe auf sogar 85% (bei 72 zu 12).

Es ist zu beobachten, dass mit einem steigenden Anteil der penta- und hexagonaler Zellen die prozentuale Transplantationsrate zunimmt und sich anteilig eine Abnahme der verworfenen Hornhautspendegewebe einstellt.

4.6 Veränderungen der Hornhautzahl über die Kulturzeit

In der folgenden Tabelle 2 zeigt sich die Entwicklung der Hornhautzahl über den Zeitverlauf der sechs Messpunkte in der Kultur. Dabei wird für alle 1031 Hornhäute der Erstbefund am ersten Messpunkt erhoben. Zugleich bildet dieser Erst- auch zugleich den Endfund von 143 Hornhäuten. Diese 143 wurden nun entweder transplantiert oder verworfen. So hat sich für den zweiten Messpunkt die Gesamtanzahl auf 888 Korneagewebe in Kultur reduziert. Erneut wurde für 256 Gewebespenden ein Endbefund erhoben. Für 474 wurde nun ein Vorbefund festgelegt. Diese wurden nun nicht erneut ins Kulturmedium sondern in die Entquelllösung überführt. Die 158 Hornhäute mit dem

ermittelten Zwischenbefund werden weiterhin kultiviert. Für den dritten Messpunkt waren nur noch 632 von den anfänglichen 1031 Hornhäuten in Kultur, davon hatten 30 einen zweiten Zwischenbefund, 128 eine Vorbefund und 474 Hornhäute einen Endbefund und somit waren für die vierte Messung nur noch 158 Hornhäute in Kultur. 28 von diesen hatten einen Vorbefund, 2 einen Zwischenbefund und die 128, welche in der dritten Messung einen Vorbefund hatten, einen Endbefund. In der fünften Messung wurden 28 end- und 2 vorbefundet. Für zwei Hornhäute wurde noch eine 6. Messung durchgeführt.

Messpunkte	1	2	3	4	5	6
Erstbefund*/bereits entnommene HH	1031*	143	399	873	1001	1029
Endbefund	143	256	474	128	28	2
Vorbefund	---	474	128	28	2	---
Zwischenbefund	---	158	30	2	---	---
Gesamtanzahl noch in Kultur	1031	888	632	158	30	2

Tabelle 2: Stellt die Zuteilung der jeweiligen Hornhautanzahlen zu den einzelnen Befundtypen: Erstbefund, Endbefund, Vorbefund und Zwischenbefund über die sechs Messpunkte dar.

4.7 Analyse der Abhängigkeit der Zelldichte zur Zellmorphologie

Es folgt über alle sechs Messpunkte die Analyse des Verhältnisses der beiden untersuchten kornealen Qualitätsmerkmale der Zelldichte und der Zellmorphologie zueinander (Abb.19a-f).

In Kap. 4.7.1 werden die Messwerte für die jeweilige Messung von der 1. bis zur 6. Messung betrachtet, bei diesen werden die nichtzählbaren bzw. mit 0 gezählten Hornhäute weggelassen, damit man die unterschiedlichen Messung besser miteinander vergleichen kann.

In Kap. 4.7.2 werden alle Hornhäute (n = 1031) der 1. Messung betrachtet (Abb.19), um einen Überblick über die gesamte Erstbefundung zu zeigen.

4.7.1 Betrachtung für die einzelnen Messpunkte

Es folgt über alle sechs Messpunkte die Analyse des Verhältnisses der beiden untersuchten kornealen Qualitätsmerkmale der Zelldichte und der Zellmorphologie zueinander (Abb.19a-f). Die Zelldichte und die Zellmorphologie der Hornhäute verhalten sich für alle 6 Messpunkte gleichförmig. So lässt sich im Mittel ein höherer Anteil an fünf- und sechseckiger Zellen einer größeren Zelldichte zuordnen. Die durchgezogene Linie in den Graphen veranschaulicht diesen Trend und weist für die erste Messung eine Steigung für jeden zusätzlichen prozentualen Anteil um einen Zelldichtezuwachs von 15,639 Zellen/mm² auf. Die Trendliniensteigung schwankt leicht über die Messpunkte (2. Messung: 16,271 Zellen/mm² *X, 3. Messung: 17,636 Zellen/mm² *X, 4. Messung: 13,904 Zellen/mm² *X, 5. Messung: 18,943 Zellen/mm² *X). Die Werte oberhalb der Trendlinie weisen verhältnismäßig hohe Zelldichtewerte und eher geringe prozentuale Anteil an fünf- und sechseckigen Zellen auf. Dagegen sind die Anteile an fünf- und sechseckigen Zellen der Hornhäute überproportional groß im Bezug zu den eher geringen Zelldichtewerten für alle Morphologiewerte unterhalb dieser Trendlinie, größer als man von dem zugehörigen Zelldichtewert her erwarten würde. Für die 6. Messung mit nur zwei zugehörigen Hornhäuten würde eine Trendlinie wenig sinnvoll sein. Das niedrigen Bestimmtheitsmaß (R²) weist auf einen nicht linearen Zusammenhang zwischen Zelldichte und Morphologie hin, trotzdem ist ein Anstieg der Streuung entlang der Trendlinien zu beobachten.

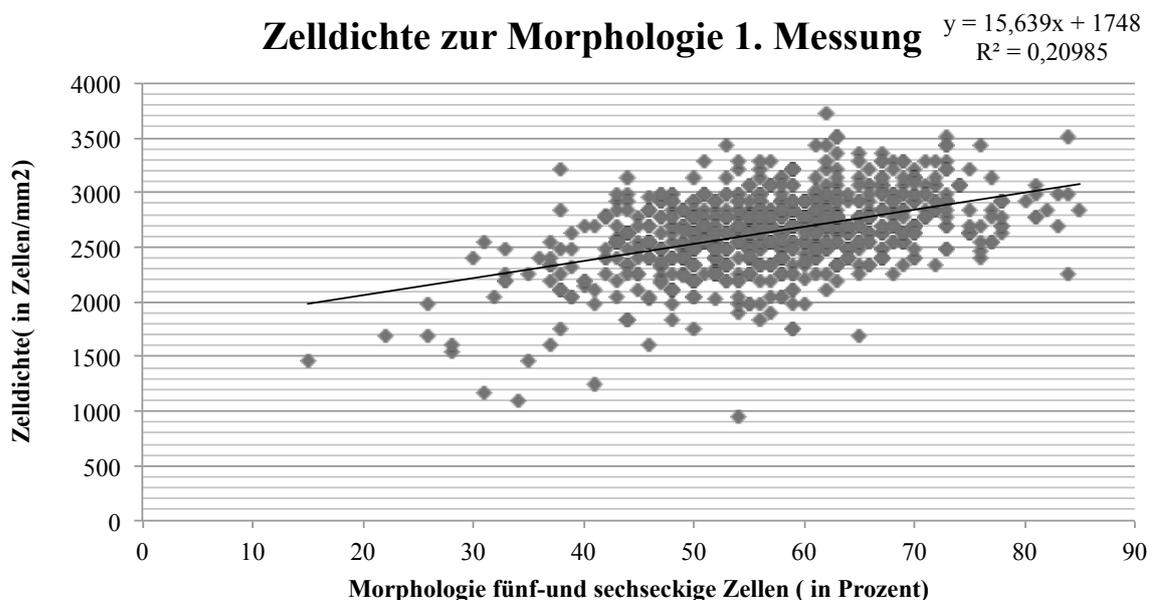


Abb. 19a: Verhältnis der Zelldichte zur Zellmorphologie am 1. Messpunkt (n=827, 204 Hornhäute, bei denen keine Zelldichte und/oder Zellmorphologie bestimmt wurden konnte, wurden nicht berücksichtigt in dem Graphen); Pearson-Koeffizient:0,45809 ,p-Wert:<0,01

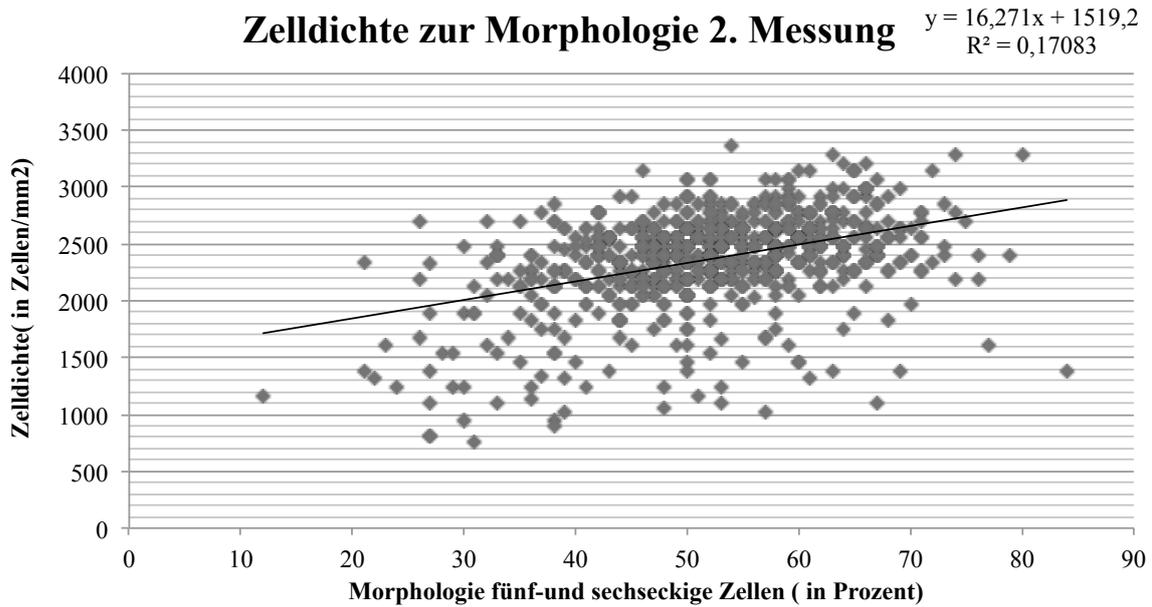


Abb. 19b: Verhältnis der Zelldichte zur Zellmorphologie am 2. Messpunkt ($n=796$, 92 Hornhäute, bei denen keine Zelldichte und/oder Zellmorphologie bestimmt werden konnte, wurden nicht berücksichtigt in dem Graphen); Pearson-Koeffizient:0,41331 , p -Wert:<0,01

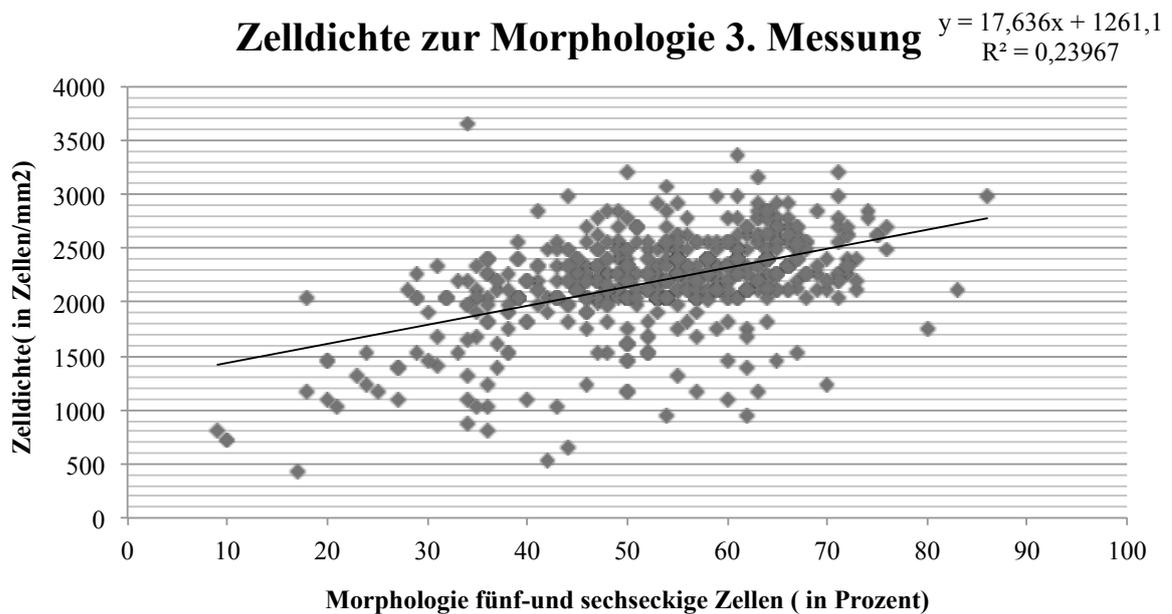


Abb. 19c: Verhältnis der Zelldichte zur Zellmorphologie am 3. Messpunkt ($n=598$, 34 Hornhäute, bei denen keine Zelldichte und/oder Zellmorphologie bestimmt werden konnte, wurden nicht berücksichtigt in dem Graphen); Pearson-Koeffizient:0,48957 , p -Wert:<0,01

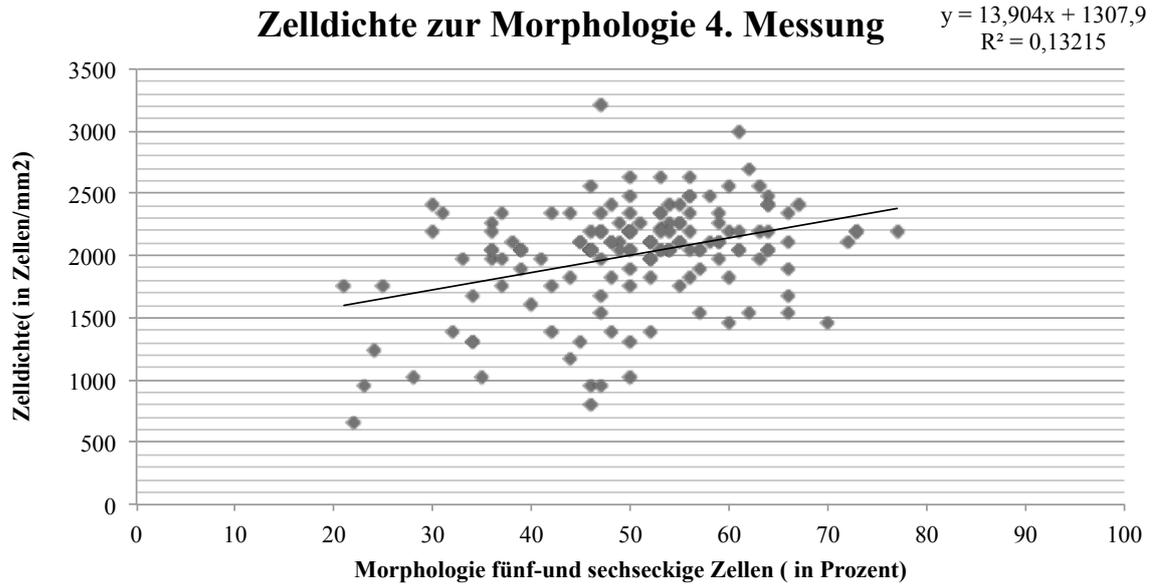


Abb. 19d: Verhältnis der Zelldichte zur Zellmorphologie am 4. Messpunkt ($n=151$, 7 Hornhäute, bei denen keine Zelldichte und/oder Zellmorphologie bestimmt werden konnte, wurden nicht berücksichtigt in dem Graphen); Pearson-Koeffizient: $0,36352$, p -Wert: $<0,01$

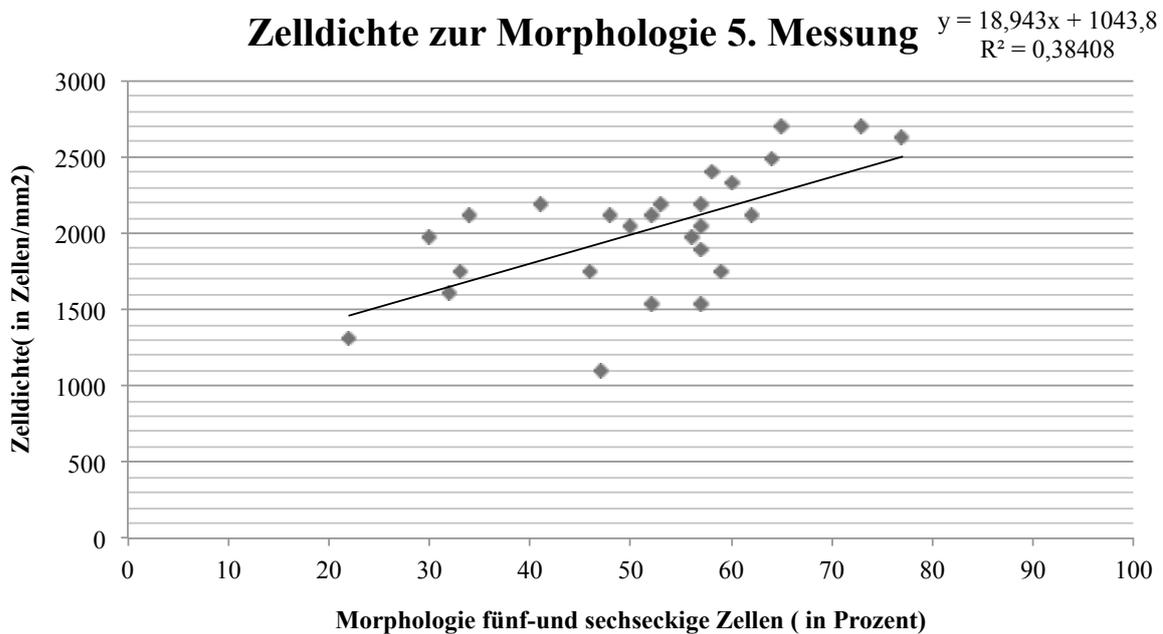


Abb. 19e: Verhältnis der Zelldichte zur Zellmorphologie am 5. Messpunkt ($n=26$, 4 Hornhäute, bei denen keine Zelldichte und/oder Zellmorphologie bestimmt werden konnte, wurden nicht berücksichtigt in dem Graphen); Pearson-Koeffizient: $0,61974$, p -Wert: $<0,01$

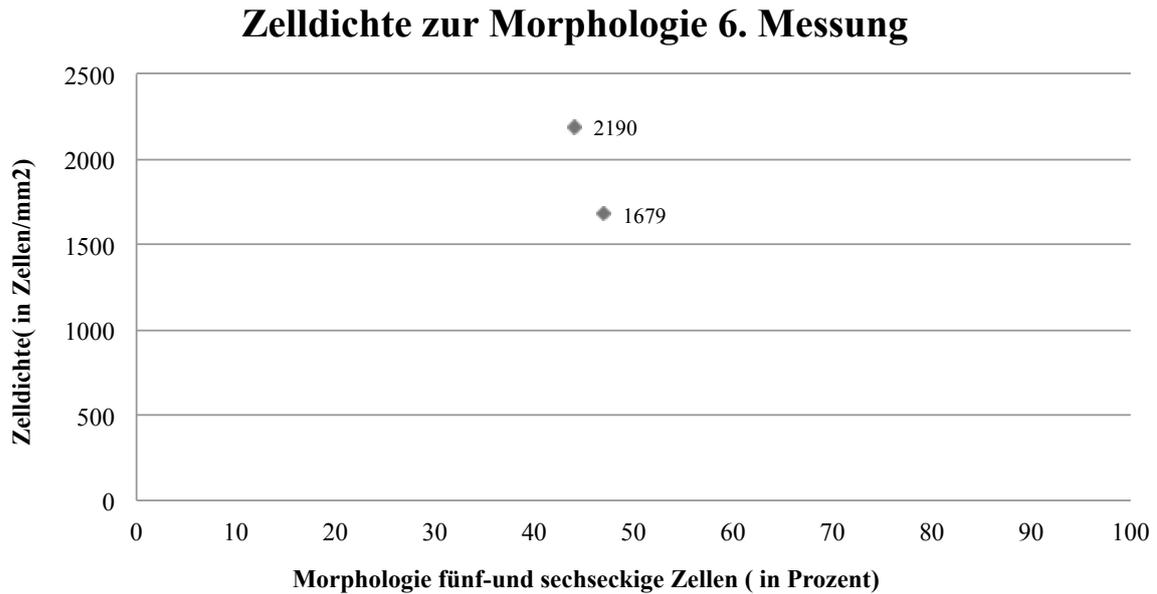


Abb. 19f: Verhältnis der Zelldichte zur Zellmorphologie am 6. Messpunkt ($n=2$, bei diesem Graphen wurde auf eine Trendlinie mit Funktionsgleichung verzichtet, da dieses bei zwei Werten keinen Sinn machen würde)

Die oben stehenden Diagramme veranschaulichen das Verhältnis zwischen der Zelldichte und Zellmorphologie. Dabei wird die Zelldichte gegen den prozentualen Anteil an fünf- und sechseckigen Endothelzellen aufgetragen. Durch die vorliegenden Datenpunkte wurde eine Ausgleichsgerade gezogen, deren Steigung als Formel in der rechten oberen Diagrammecke vermerkt wurde. Darunter ist das Bestimmtheitsmaß (R^2) für die Daten der jeweiligen Messung angegeben.

4.7.2 Betrachtung der Gesamtzahl der 1. Messung

Bei der untenstehenden Grafik wurden die Hornhäute ($n = 1031$) der 1. Messung betrachtet. In dem Diagramm wurden alle Hornhäute mit ihren Messwerten für die Zelldichte und der fünf- und sechseckigen Zellenmorphologie bei ihrer Erstbefundung berücksichtigt.

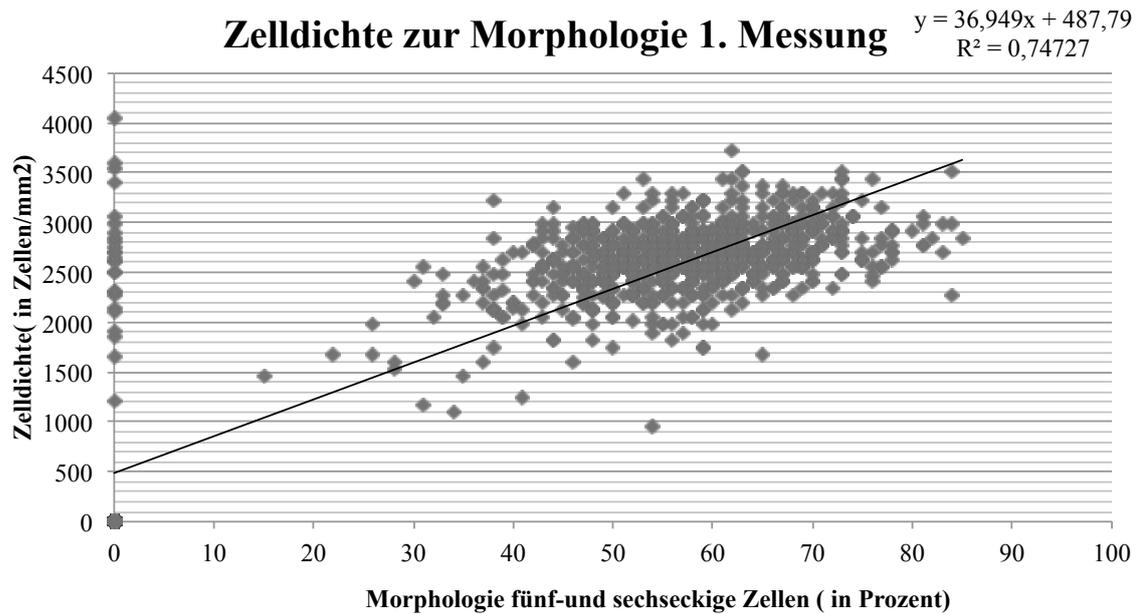


Abb. 19: Verhältnis der Zelldichte zur Zellmorphologie am 1. Messpunkt ($n=1031$);
Pearson-Koeffizient: 0,86445; p -Wert: $<0,01$

Die oben stehende Grafik veranschaulicht das Verhältnis zwischen der Zelldichte und Zellmorphologie in der 1. Messung. Dabei wird die Zelldichte gegen den prozentualen Anteil an fünf- und sechseckigen Endothelzellen aufgetragen. Durch die vorliegenden Datenpunkte wurde eine Ausgleichsgerade gezogen, deren Steigung als Formel in der rechten oberen Diagrammecke vermerkt wurde. Darunter ist das Bestimmtheitsmaß (R^2) für die Daten der jeweiligen Messung angegeben.

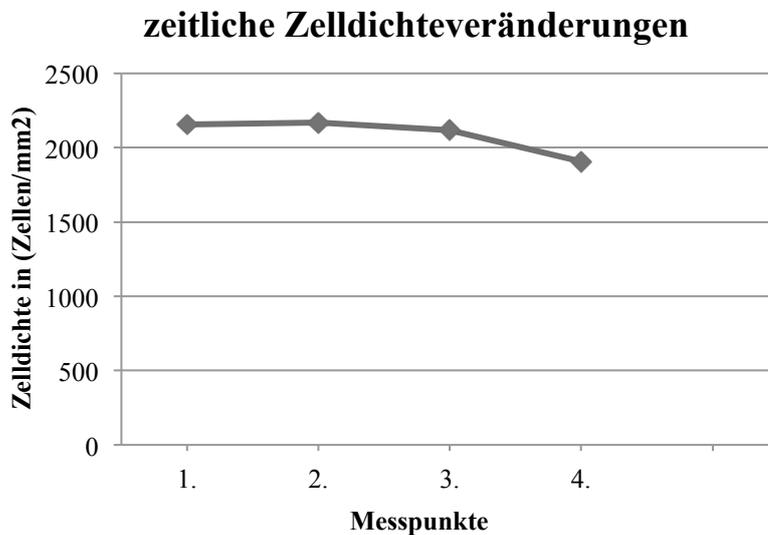
4.8 Zeitliche Veränderung der Hornhäute in der Studienkohorte

Im Folgenden wird den Einfluss der Zeit auf das korneale Endothel unter Berücksichtigung der Qualitätskriterien der Zelldichte und Zellmorphologie weitergehend betrachtet. Die Studienkohorte wurde dabei so gewählt, dass für die 128 Hornhäute über alle vier Messpunkte Daten erhoben wurden. Dabei stellt die erste Messung den Aufnahmebefund dar. Für die zweite und dritte Messung wurde das Endothel im Kulturmedium kultiviert und die vierte Messung misst den entquollenen Zustand der Endothelzellen.

4.8.1 Veränderungen der Zelldichte über die Kulturzeit

Die Grafik (Abb.20) veranschaulicht die Dynamik der durchschnittlichen Zelldichte (in Zellen/ mm^2) über die Zeit von 4 Messpunkten, die die Endothelkultivierung und

Transplantationsvorbereitung durch Entquellen umfassen. Die durchschnittliche Zelldichte ist für die ersten drei Messpunkte sehr konstant (Messpunkt 1: 2156 Zellen/mm²; Messpunkt 2: 2171 Zellen/mm²; Messpunkt 3: 2115 Zellen/mm²). Für den vierten Messpunkt - dem Endothelbefund nach der Entquellung – und somit vor einer potentiellen Transplantation fällt die durchschnittliche Zelldichte mit 1907 Zellen/mm² knapp unter die Grenzmarke von 2000 Zellen/mm².



Abb, 20: Zeitliche Zelldichteveränderungen (n=128)

Die Grafik (Abb.21) stellt die Veränderung der durchschnittlichen Zelldichte (in Zellen/mm²), für alle Hornhäute für die eine messbare Zelldichte (>1 Zelle/mm²) vorlag, während der 4 Messpunkte dar. Da die Hornhautgruppe, der mit 0 Zellen/mm² festgelegten oder für die keine Zelldichte bestimmt werden kann, überproportional groß ist und so die Untersuchung verfälscht, wurde diese nun aus der Kohorte ausgeklammert. Für die übrigen 99 Hornhäute zeigte sich nun eine geringe aber kontinuierliche Abnahme der Zelldichte von 2595 Zellen/mm² auf 2030 Zellen/mm².

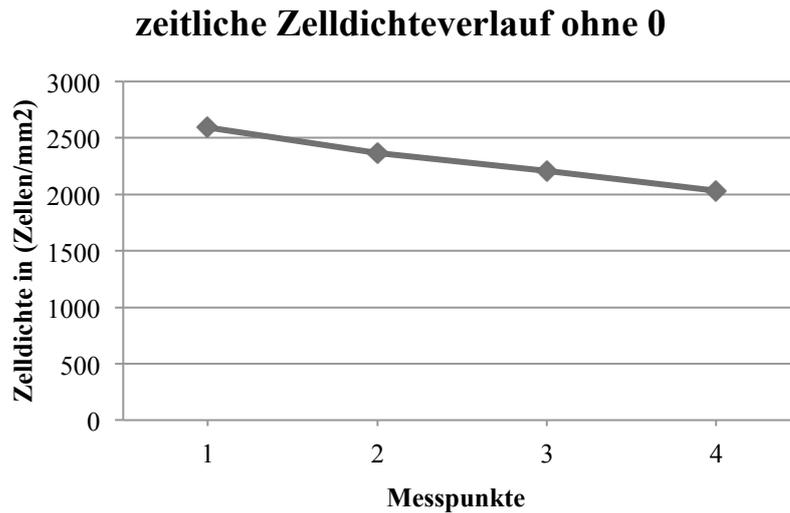


Abb 21: Zeitliche Zelldichteveränderungen (n=99)

4.8.2 Veränderung der Zellmorphologie über die Kulturzeit

Um den Einfluss der Zeit auf die Zellmorphologie zu untersuchen, wurden der Verlauf des durchschnittlichen prozentualen Anteils der fünf-, der sechs- sowie der fünf- und sechseckigen Endothelzellen für die Hornhaut an vier Messpunkten untersucht.

Der Anteil der fünfeckigen Endothelzellen steigt am 3. und 4. Messpunkt leicht an, während der Anteil der sechseckigen Endothelzellen von 3. zum 4. Messpunkt um knapp 2 % abnimmt.

Der durchschnittliche Anteil der fünf- und sechseckigen Endothelzellen gemeinsam zeigt unter der Kultur der Kornea zwischen dem 2. und 3. Messpunkt einen Anstieg dieser Zellpolygonalität von 47,13% zu 49,36% um etwa 2%. Die Entquellung der Hornhäute senkt diesen Wert erneut auf 47,69%. Somit konnte eine minimale Zunahme von 0,62% von einem ursprünglich 47,07%-igen auf einen 47,69%-igen Anteil der fünf- und sechseckigen Endothelzellen der Hornhäute festgestellt werden.

Die Grafik (Abb. 22) zeigt den Verlauf des durchschnittlichen prozentualen Anteils der fünf- (blau), der sechs- (rot) sowie der fünf- und sechseckigen (grün) Endothelzellen der Hornhäute an den ersten vier Messpunkten.

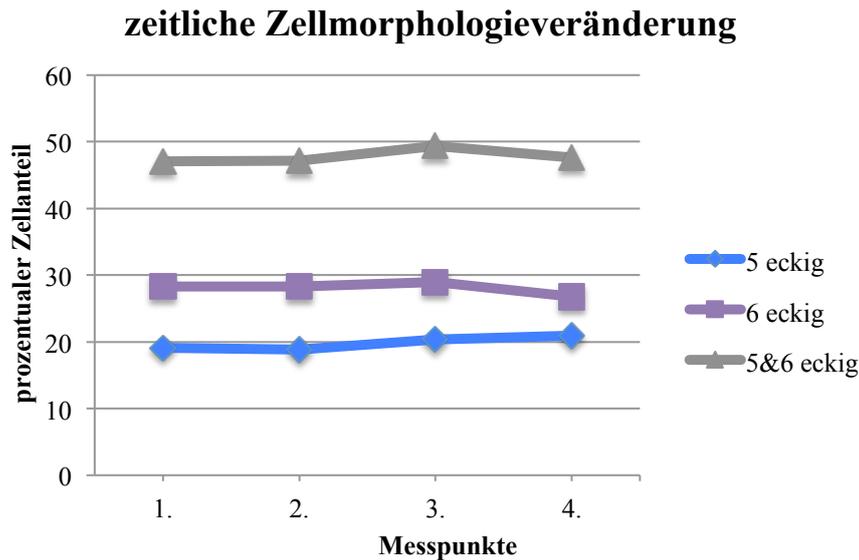


Abb 22: Zeitliche Zellmorphologieveränderung (n=128)

Wie schon für die Betrachtung der Zelldichte über die Zeit, wurde auch die unverhältnismäßig große Hornhautgruppe, für die keine Zellmorphologie bestimmt wurde bzw. der prozentuale Anteil der penta- bzw. hexagonalen Endothelzellen der Hornhäute null betrug, nicht mit einbezogen. So ergab sich eine Abnahme aller drei Morphologie-Gruppen vom Erstbefund (1. Messpunkt) zum ersten Kulturmesspunkt (2. Messpunkt), dabei nimmt der Anteil der pentagonalen Zellen um etwa 2%, der Anteil der hexagonalen Zellen um etwa 3% sowie der gemeinsame Anteil um circa 5% ab. Zwischen dem 2. und 4. Messpunkten zeigten sich nur minimale Veränderung der Zellmorphologie.

In der Grafik (Abb. 23) wurde die zeitliche Veränderung des durchschnittlichen nachweisbaren prozentualen Anteils der fünf-, der sechs- sowie der fünf- und sechseckigen Endothelzellen der Hornhäute im Verlauf der ersten vier Messpunkten illustriert.

zeitliche Zellmorphologieveränderung (ohne 0)

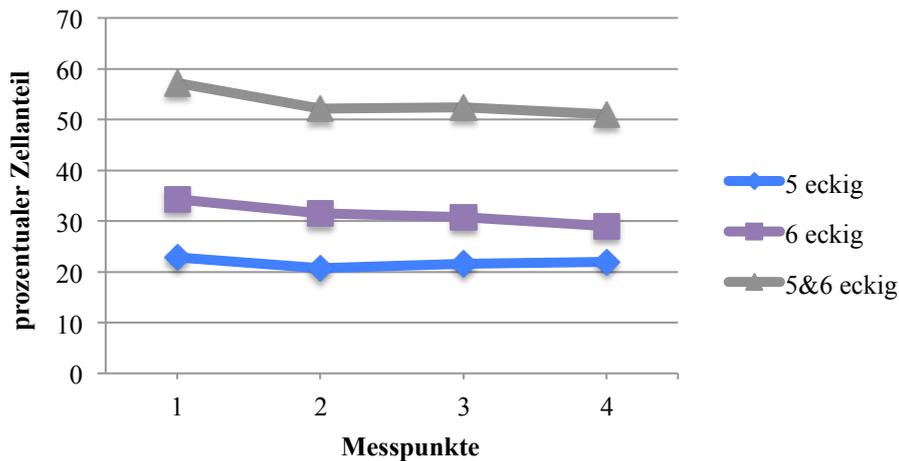


Abb 23: Zeitliche Zellmorphologieveränderung ohne 0 (n=99)

4.9 Veränderungen der gesamten Kohorte über die Kulturzeit

Die Entwicklung aller Hornhäute über die Zeit der Kultur vom Erstbefund über die Messung während der Kultur bis zum Befund nach dem Entquellen der kornealen Endothels wird für die gesamte Kohorte (n=1031) betrachtet. Dabei wurden im Rahmen des Untersuchungszeitraums immer wieder Hornhäute durch die Transplantation und das Verwerfen dieser aus dem Studienvolumen entnommen.

4.9.1 Veränderung der Zelldichte über die gesamte Kulturzeit

Die durchschnittliche Zelldichte zeigt von der ersten Messung mit 2187 Zellen/mm² bis zur fünften Messung eine leichte jedoch zunehmende Abnahmedynamik. Im Übergang zwischen der dritten und vierten Messung unterschritt die Zelldichte den Transplantationsgrenzwert von 2000 Zellen/mm² auf eine durchschnittliche Zelldichte von 1752 Zellen/mm². Für den sechsten Messpunkt war erneut ein Anstieg auf etwa 1935 Zellen/mm² zu verzeichnen.

Die Grafik (Abb. 24) veranschaulicht die Entwicklung der durchschnittlichen Zelldichte (in Zellen/mm²) über den gesamten dokumentierten Zeitraum von 6 Messpunkte, die die Erstbefundaufnahme, Endothelkultivierung und Transplantationsvorbereitung durch Entquellen aller 1031 Hornhäute umfassen.

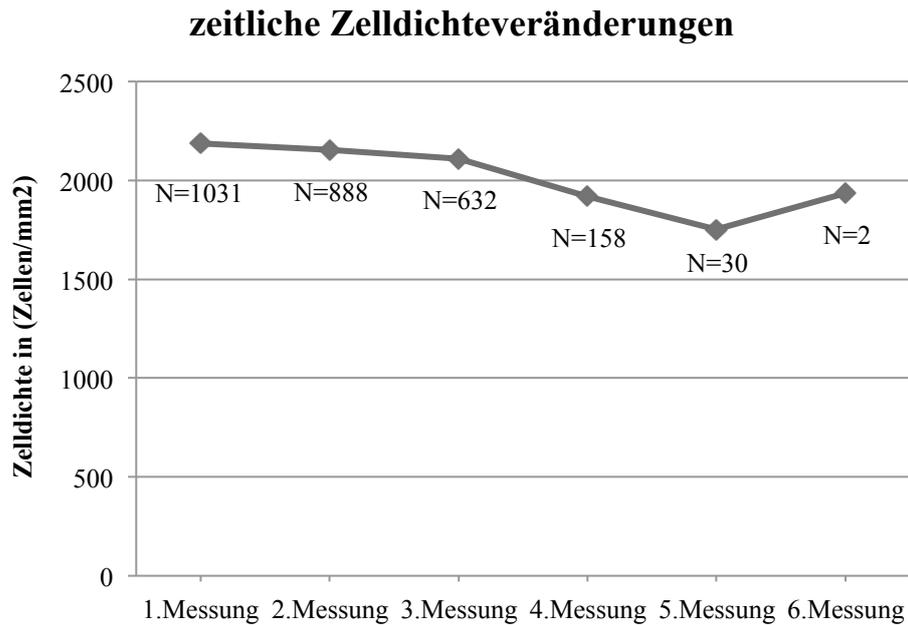


Abb 24: Zeitliche Zelldichteänderungen (n=1031)

4.9.2 Veränderung der Zellmorphologie über die gesamte Kulturzeit

Der Anteil der fünf- und sechseckigen Endothelzellen wies den gleichen Wert mit etwa 46% zum Zeitpunkt der ersten sowie der letzten Messung auf. Bis zur dritten Messung kam es zu einem Anstieg bis 50%. Zur fünften Messung wurde der niedrigste Wert mit circa 45% nachgewiesen.

Die Grafik (Abb. 25) stellt die dynamische Veränderung des durchschnittlichen prozentualen Anteils der fünf- und sechseckigen Endothelzellen der 1031 Hornhäute über den gesamten Messzeitraum von 6 Einzelmessungen.

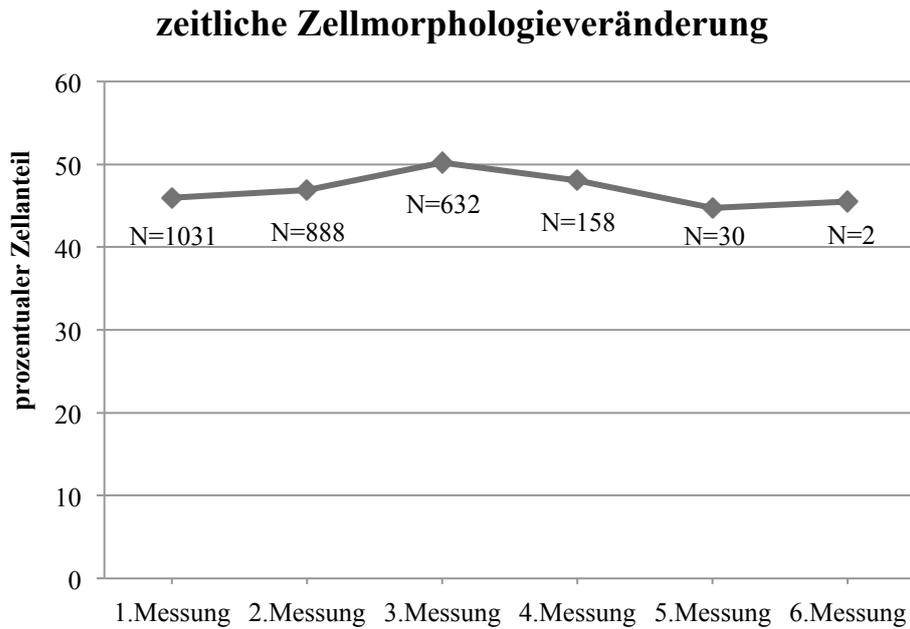


Abb 25: Zeitliche Zellmorphologieveränderungen (n=1031)

4.10 Gründe für die Ablehnung eines Hornhautgewebes

Es wurden mit 349 etwa ein Drittel der Hornhautspenden während der Beobachtungszeit verworfen. Jedoch wurde nur für 322 Hornhäute ein oder mehrere (in 3 Fällen zwei Gründe) Gründe angegeben, die den festgelegten Qualitätskriterien für eine Hornhauttransplantation nicht entsprechen. In dem nachfolgenden Diagramm (Abb. 26) wurden die Hauptgründe für eine Ablehnung der Korneagewebe aufgezeigt.

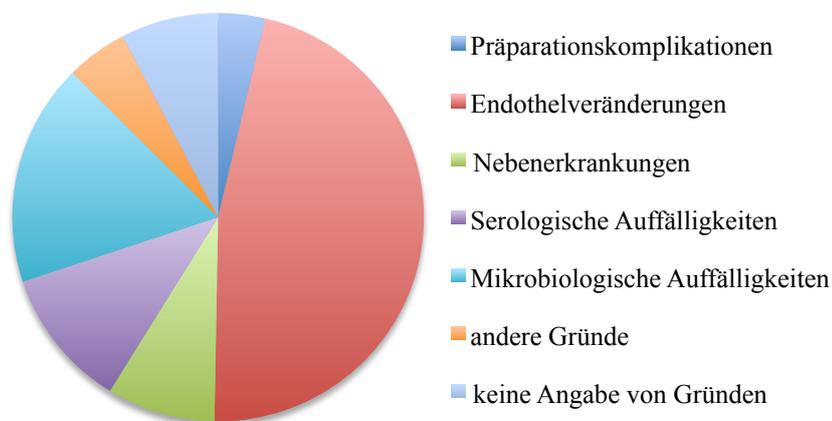


Abb. 26: Ursachenanalyse für das Verwerfen von Hornhautgewebe (n=349)

Die Veränderungen des Endothels durch Degeneration, dem Fehlen der Endothelschicht und Nichtabrafung des Transplantatgewebes stellen mit insgesamt 49% und 164 zugehörigen Hornhäuten den Hauptgrund für das Verwerfen der Kornealgewebe dar.

Weitere Hornhäute wurden aussortiert, da die Spender an systemischen, infektiösen oder malignen Erkrankungen litten (n=30, 9%). Bei etwa 12% waren die Gründe dafür serologischen Auffälligkeiten, die im Rahmen der Blutuntersuchung vor der Freigabe eines Korneatransplantates als Ausschlusskriterium fungieren. So wurde achtmal eine Hepatitis C und zweimal eine Hepatitis B Infektion des potentiellen Spenders aufgedeckt. In zwei Fällen war die HIV-Untersuchung positiv. Weitere acht Hornhautgewebe wurden aus anderen mikrobiologisch und virologischen Gründen als ungeeignet selektiert. In 62 Fällen mussten die Gewebetransplantate aufgrund einer Verkeimung des Transplantates, der Kultur bzw. Mediumslösung verworfen werden. Nur ein kleiner Anteil von 4% der Hornhautgewebe wurde aufgrund von Präparationsschwierigkeiten und Gewebssrissen unbrauchbar. Die übrigen 5% entfallen auf andere Gründe für eine Transplantationsnichteignung, zu denen unvollständige oder unsichere Kriterien wie eine unklare Todesursachen und unvollständige Anamnesen der Spender zählen und die eine mögliche Gefahr für den Empfänger nicht ausschließen lassen. Für 27 Hornhäute wurden keine Ursachen für das Verwerfen dokumentiert.

4.11 Todesursachen der Hornhautspender

Die Grafik (Abb.27) veranschaulicht die dokumentierten Todesursachen der Hornhautspender. Dabei fließt jede einzelne Hornhaut (n = 1031) in die Auswertung ein.

- Die häufigste Todesursache bildet die Gruppe der kardialen Todesursachen mit 442 zugehörigen Hornhäuten (43%). Zu den kardialen Todesursachen zählen Myokardinfarkte (146), Herzinsuffizienz (103), kardiale Dekompensation (42), Herzrhythmusstörungen (36), Perikardtamponaden (32), kardiogener Schock (32), Kardiomyopathie (8), entzündliche Herzerkrankungen (8) und weitere kardiale Todesursachen (35).
- Zu den vaskulären Todesursachen mit 62 dokumentierten Hornhäuten (6%) gehören thromboembolische Erkrankungen (Lungenembolie - 34, mesenteriale Darmischämie – 2), Dissektionen und Aneurysmen der großen Gefäße (24) und die arterielle Hypertonie (2).

- Der Tod als Folge einer Krebserkrankung wurde für 13 Hornhäute (1%) dokumentiert.
- 19% entfallen mit 198 zugeordneten Hornhäuten auf unklare Todesursachen. Als unklare Todesursache werden alle Todesfälle deklariert, dessen unmittelbarer Todesverlauf und der Grund des Todes meist aufgrund des erstmaligen Kontaktes ohne Kenntnis der Krankengeschichte zwischen dem Arzt, der den Tot feststellt und den Totenschein ausfüllt, und dem verstorbenen Patienten.
- Zu den zerebralen Todesursachen(101, 10%) gehören Apoplex und hypoxischer Hirnschaden (18), intrakranielle Blutungsereignisse (52), Schädel-Hirn-Trauma (12+4), zerebrale Todesursachen anderer Genese (15).
- Der Tod als Folge einer Blutung wurde für 21 Hornhäute dokumentiert (2%).
- Die Pneumonie (24), respiratorische Insuffizienz (10) und Lungenödem (4) bilden die Gruppe der pulmonalen Todesursachen (4%).
- Als weitere Todesursachen (156, 15%) wurden unter anderem forensische Todesursachen (Erhängen, Erwürgen, Kopfschuss), Suizide, Traumen, Organversagen und Sepsis angegeben.

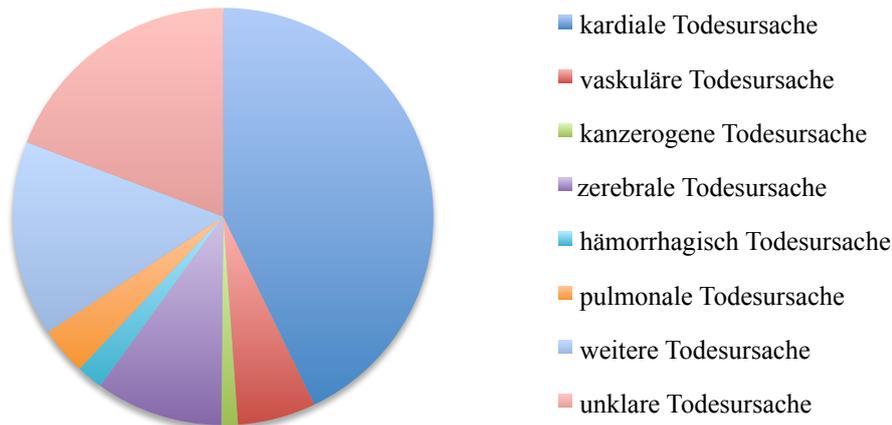


Abb. 27: Todesursachen der Hornhautspender (n=1031)

4.12 Begleiterkrankungen der Hornhautspender

Das unten stehende Säulendiagramm (Abb. 28) veranschaulicht die jeweilige Anzahl an Grunderkrankungen der Hornhautspender. Im Rahmen der Spenderanamnese wurden unterschiedliche Begleiterkrankungen der Spender angegeben. Für die 1031 Hornhäute wurden insgesamt 596-mal Begleiterkrankungen genannt. Hierbei lassen sich den

Spendergeweben nur eine oder auch mehrere Begleiterkrankungen zuordnen. Es wurden für 674 Hornhäute keine Angaben bezüglich der Grunderkrankungen der Spender gemacht. Die häufigsten Komorbiditäten der Spender waren Erkrankungen des Herz- und Kreislaufsystems 176. So wurde beispielsweise 20mal eine koronare Herzkrankheit, 28-mal eine Herzinsuffizienz und 10mal eine Herzrhythmusstörung angegeben. In 44 Fällen wurde ein Hypertonus anamnestiziert. Auch Lungenerkrankung (56) wie die COPD mit 26 Fällen, die psychiatrischen Krankheitsbilder (30) wie die Depression mit 20 Fällen und die endokrinologischen (66) Beschwerden beispielsweise dem Diabetes mellitus mit 56facher Nennung. Die häufigsten Suchterkrankungen und „Genussmittelerkrankungen“ der Allgemeinbevölkerung werden auch bei der Befragung der Spender mit einer großen Anzahl (92) widergespiegelt. 22 Mal wurde ein Alkoholabusus zum Teil auch mit der Angabe einer äthyltoxischen Leberzirrhose festgestellt. Ein Nikotinabusus wurde bei 30 Hornhäuten benannt. Weitere Bereich sind Erkrankungen des Bewegungsapparates (26), Krebsleiden (50), neurologische (24), renale (14), hämatologische (14), dermale (6), infektiöse (8), ophthalmologische (4) und gastroenterologische Erkrankungen (22). Nur für vier Hornhäute wurde explizit das Fehlen eine Grunderkrankung dokumentiert.

Begleiterkrankungen

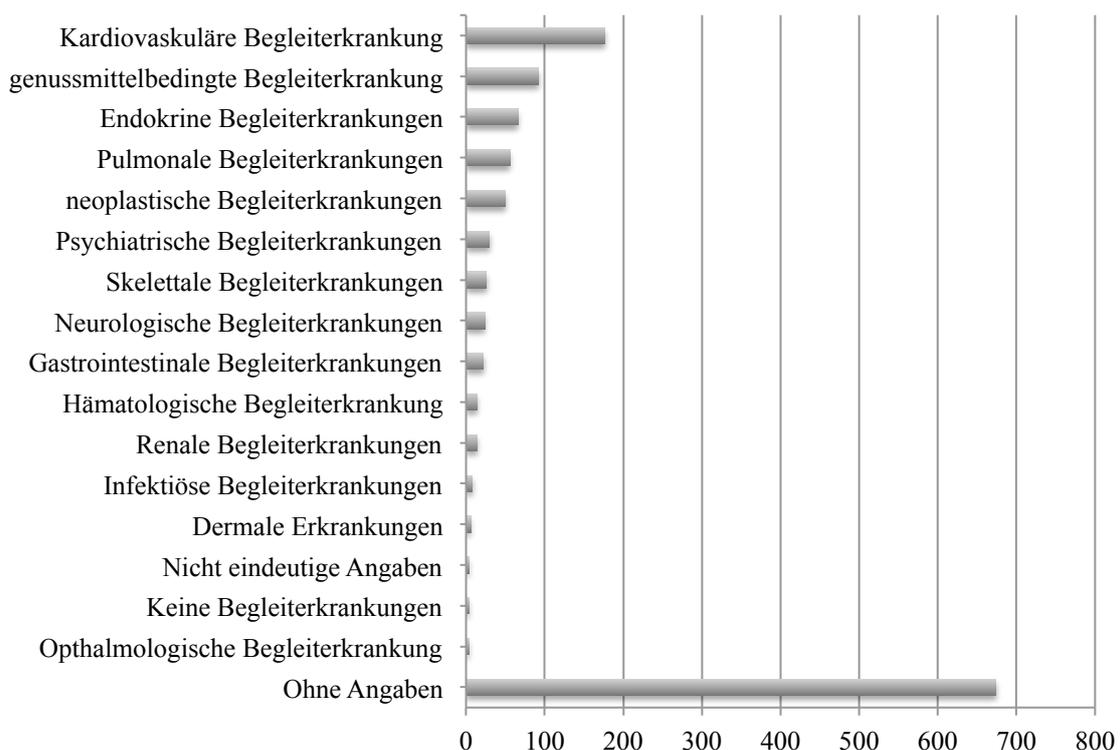


Abb 28: *Quantitative Analyse der Begleiterkrankung der Hornhautspender (n=1031; Anzahl n=1270 durch die mögliche Mehrfachnennungen pro Hornhaut)*

4.13 Verbleib

648 Hornhauttransplantate wurden mittels einer perforierenden Keratoplastik transplantiert, nachdem sie die Prüfung auf eine Transplantattauglichkeit bestanden hatten. Nach der DMEK-Methode wurden 27 Transplantationen durchgeführt. Einige Hornhäute konnten aufgrund ihrer geringen Endothelzellzahl oder des Fehlens der Endothelschicht als vollwertiges Korneatransplantat nicht herangezogen werden. Diese Hornhäute wurden zur Deckung verwendet. Etwa ein Drittel der Spenderhornhäute mussten verworfen werden. Die häufigsten Ursachen waren die Endotheldegeneration und das Überschreiten des maximalen Explantation-Transplantationszeitraums. Jedoch mussten auch Korneagewebe aufgrund einer auffälligen serologischen und mikrobiologischen Untersuchung sowie der Nebendiagnosen der Spender aussortiert werden.

4.14 Notfallhornhäute

Dabei wurden die 154 Notfallhornhäute (NHH) ausgeklammert und für einen Notfall zurückgehalten. 72 der NHH wurden transplantiert von denen 54 eine Endotheldichte unter 2000 Zellen/ mm² aufwiesen. Die anderen 82 NHH wurden nicht abgerufen, hatten eine Epitheldegeneration oder die Kulturzeit überschritten.

5 Diskussion

Ziel dieser Arbeit ist es, die Abhängigkeit der Transplantatqualität im Rahmen der Eignungsprüfung anhand der Morphologie zu beurteilen und zu klären, ob eine direkte Abhängigkeit des Zellaufbaus und der Zelldichte besteht. Besteht die Möglichkeit die quantitative Bestimmung der Endothelmorphologie als Parameter für die Eignung des kornealen Spendergewebe heranzuziehen und durch die Anteilsermittlung der normalgeformten Zellen einen minimalen Grenzwert einer qualitativen Spenderhornhaut festzulegen.

In der vorliegenden Studie wurde durch die statistische Datenanalyse gezeigt, dass bei der qualitativen Begutachtung eines kornealen Transplantates neben der Zelldichte unterstützend auch die Zellmorphologie mitbetrachtet werden sollte. Die Ergebnisse der Studie und die der Hornhautdatenbank werden weitergehend interpretiert und hierzu kritisch bewertet.

Für die Analyse wurden bereits erhobene und tabellarisch archivierte Daten herangezogen. Diese Studie wies ein Geschlechterverhältnis von 2:1 für die Hornhäute männlicher zu denen weiblicher Spender auf. Ein ähnliches Verteilungsmuster der Geschlechter zeigte sich bereits in vorherigen Studien(Kaiser, 2015). Das Geschlecht der Spender hat nach bisherigem Wissensstand keinen Einfluss auf die Zelldichte(Laule, Cable, Hoffman, *et al.*, 1978). Dies wurde hier bestätigt (Kap.4.1.2, Abb. 9, Seite 32); zudem konnte gezeigt werden, dass dies auch auf die Zellmorphologie (Kap.4.1.3, Abb. 10, Seite 33) zutrifft. Jedoch fiel bei der geschlechterspezifischen Analyse der Transplantationsrate auf, dass die Hornhäute männlicher Spender mit 68% häufiger transplantiert wurden als die weiblicher Spender (61%). Andere Untersuchungen wiesen auf den Einfluss des Geschlechtes auf das Überleben des Transplantates hin.

Altersverteilung:

Das durchschnittliche Sterbealter der potentiellen Spender lag bei 65,9 Jahren. Bei einem bundesdeutschen durchschnittlichen Sterbealter in den Jahren 2012 bis 2016 von 77,9 bis 78,41 Jahre entfielen in dieser Studie 70% der Hornhautspenden auf Spender mit einem jüngere Todesalter von 50 bis 70 Jahren.

Der Altersgruppe der unter 40 jährigen konnten nur 49 Hornhäute (5% aller Hornhäute) zugeordnet werden, sodass eine eingeschränkte Aussagekräftigkeit für junge Spender besteht.

Der Einfluss des Spenderalters auf die Hornhäute zeigt sich in der höheren Qualität der Hornhautgewebe von jungen Spendern. So wurde in mehreren Arbeiten zuvor eine Abnahme der kornealen Zellularität von etwa 0,3%(Blatt, Rao & Aquavella, 1979) bis 0,71%(Bourne & Kaufman, 1976) pro Lebensjahr und damit verbunden der Zelldichte(Kaufman, Capella & Robbins, 1966) sowie eine graduelle(Laing, Berrospi & Leiuowitz, 1976) Zunahme des Zellpleomorphismus(Padilla, Sibayan & Gonzales, 2004) mit zunehmendem Alter beschrieben. Laut Nucci et al. nimmt in den ersten Lebensjahren die Zelldichte korrelierend mit der Hornhautgrößenzunahme deutlich ab. In der Kindheit zeigt sich eine rasche Abnahme der Zelldichte von 3591 ± 399 Zellen/mm² im Alter von 5 Jahren auf 2697 ± 246 Zellen/mm² im Alter von 10 Jahren. Diese starke Abnahme der Zelldichte beruht auf der immer größer werdenden Hornhautfläche bei einer gleichbleibenden Zellzahl(Nucci, Brancato, Mets, *et al.*, 1990).

Die vorliegende Studie wies eine altersbedingte kontinuierliche Verringerung beider Parameter nach. Dabei war die Zelldichte etwas stabiler gegenüber den demographischen Einflüssen als die Zellmorphologie. Wie auch die Hornhautqualität zeigt die Transplantationsrate ebenfalls eine Abnahme mit höherem Alter (Tabelle 1).

In Kap. 4.2.2 wurde das Alter zur Zelldichte und in Kap. 4.2.3. zur Zellmorphologie(fünf- und sechseckiger Zellen) aufgetragen. Beide Graphen zeigen einen Abwärtstrend, sodass mit höheren Alter sowohl die Zelldichte (Kap.4.2.2, Abb. 13, Seite 36) als auch der Anteil an fünf- und sechseckiger Zellen (Kap.4.2.3, Abb. 14, Seite 37) abnimmt. Bei beiden Graphen wurde eine lineare Regression durchgeführt, welche eine Trendgerade mit Funktion ergab. Da sowohl bei der Zelldichte als auch bei der Zellmorphologie eine sehr hohe Streuung um die Trendlinie besteht, sind sowohl bei der Zelldichte ($R^2 = 0,10757$) als auch bei der Zellmorphologie ($R^2 = 0,03582$) die Werte für das Bestimmtheitsmaß sehr gering. Für die Zelldichte ist die Streuung etwas geringer als für die Zellmorphologie der fünf- und sechseckigen Zellen, somit kann man die Zelldichte etwas besser voraussagen als die Zellmorphologie, wenn man sich das Alter anguckt.

Beide Grafiken wiesen signifikante P-werte auf. Interessant ist aber, dass selbst Spender mit einem Alter über 80 Jahren mit bis zu 80% fünf- und sechseckigen Zellen ein immer noch sehr stabiles Endothel besitzen.

Dem Bestimmtheitsmaß zur Folge korreliert das Todesalter der potentiellen Spender (negativ) mit der Zelldichte ($R^2 = 0,10757$). Das Alter nimmt vermutlich indirekt durch die Zelldichteabnahme einen Einfluss auf die Hornhautqualität. So kann zwar von einer schlechteren Hornhautwertigkeit im höheren Alter ausgegangen werden. Jedoch sollte jede

Hornhaut unabhängig von ihrem Alter auf ihre Transplantationseignung hin begutachtet werden, da keine direkte lineare Beziehung zwischen diesen beiden Parametern besteht.

Es zeigt sich ebenfalls eine Assoziation zwischen dem höheren Spenderalter und der Zunahme des Pleomorphismus ohne ein lineares Verhältnis zueinander ($R^2 = 0,03582$).

Zelldichte und Zellmorphologie nehmen beide mit dem Alter ab.

Es wird vermutet, dass die Endothelzellen in der G1-Zellzyklusphase „eingefroren“ (Joyce, 2003) sind und sich nicht regenerieren können. Dem Zelluntergang wirkt nur eine Zellform- sowie Zellgrößenänderung der umliegenden Zellen die sogenannte „Resilienz“-Fähigkeit der Hornhaut entgegen. So können aus dem demographischen Zellzahlabfall auch die Zunahme des zellulären Pleomorphismus und somit einer Abnahme der hexagonalen Zellen resultieren (Edelhauser, 2000). Wird eine bestimmte Zellzahl unterschritten, kommt es zu einer Dekompensation (Kaufman & Katz, 1977). Bei unkontrolliertem Einstrom durch ein Überschreiten der endothelialen Kapazitäten des aktiven, ATP-abhängige Endotheltransports von Natrium, Kalium und Hydrocarbonat sowie unverschlossene Endothelzelllücken kommt es zur Ausbildung eines Hornhautödems und folglich zu einer Verschlechterung der Sehfähigkeit. Diese pathologischen Prozesse können sowohl durch korneale Erkrankungen als auch in Folge von Traumen wie zum Beispiel eine Transplantation hervorgerufen werden. Diese addieren sich zur physiologischen, altersbedingtes Zellularitätsabnahme.

So sollte zusätzlich zu der Zelldichtenbestimmung als Funktionsmaker für die Hornhäute vor allem älterer Spender auch die Zellmorphologie zu mindestens zusätzlich als Indikator für die Integrität und Funktion einer kornealen Endothelzellschicht herangezogen werden (Padilla, Sibayan & Gonzales, 2004).

In unsere Studie lag in 79,2% der Fälle eine korneale Zelldichte von über 2000 Zellen/mm² vor. Für die Zellmorphologie wurde bei 76,6% der Hornhäute ein Anteil von über 40% an fünf- und sechseckigen Zellen bestimmt. Wie auch für die Zelldichte mit 17,3%, wurden für die Zellmorphologie für 19,8% der Hornhäute keine Angabe gemacht oder es konnte die jeweilige Qualität nicht nachgewiesen werden.

Die Transplantationsrate lag für die gesamte Kohorte bei 66%. Für die Zelldichte wurde ab einem Wert von 2300 Zellen/mm² eine deutliche Zunahme der Transplantationen verzeichnet. So stieg mit einer zunehmenden Güte der Zellmorphologie ebenfalls auch die Korneaverpflanzungsrate an. Die meisten Hornhäute wurden mit einem Anteil von 50 bis 59% an fünf- und sechseckigen Zellen zur Transplantation freigegeben.

Um den Einfluss der Zeit und Endothelkultivierung auf die Hornhäute zu analysieren, wurde zur weiteren Betrachtung eine 128 Hornhäute umfassende Teilkohorte gewählt. Für diese Korneagewebe lässt sich jeweils der komplette Untersuchungszeitraum von vier Messungen (ErstB, ZB, VB, EndB) nachweisen. Die Zelldichte zeigte über die Kulturzeit einen nahezu konstanten Durchschnittswert. Jedoch verursachte die Entquellung vor dem vierten Messpunkt einen geringgradigen Zelldichteverlust. Die Zellmorphologie wies sogar einen minimalen (temporären) Anstieg der durchschnittlichen zellulären Penta- und Hexagonalität. Diese Dynamiken waren auch im Rahmen der Datenauswertung für die gesamte Kohorte über alle 6 Messpunkte zu beobachten. Dieses spricht unter anderem für den adäquaten Umgang mit den Spendergeweben unter Einhaltung der standardisierten Abläufe der Hornhautbank Hamburg.

Die Zellmorphologie durch die Bestimmung des Anteils von fünf- und sechseckiger Zellen weist kein lineares Verhältnis zur Zelldichte für den ersten Messpunkt ($R^2 = 0,20985$) auf. Die Assoziation zwischen der Zunahme der zellmorphologischen Eigenschaft und der Zelldichte lässt aber eine annähernde Voraussage über die Zellmorphologie bei einer bekannten Zelldichte und umgekehrt zu. Für die Messung 2. bis 5. Messung (2. Messpunkt: $R^2 = 0,17083$; 3. Messpunkt: $R^2 = 0,23967$; 4. Messpunkt: $R^2 = 0,13215$; 5. Messpunkt: $R^2 = 0,38408$) weisen die Graphen ebenfalls keinen linearen Zusammenhang zwischen der Zelldichte und der Zellmorphologie auf, doch es ist gut zu erkennen, dass die Streuung der Messwerte den Trendlinien in den Graphen folgt. Somit kann man trotzdem erwarten, dass man bei einer hohen Zelldichte einen hohen Anteil an fünf- und sechseckigen Zellen hat und umgekehrt. Die p-Werte der einzelnen Graphen für die Messung 1. bis 5. sind mit unter 0,01 hoch signifikant.

Obwohl die hohe Anzahl der aus dem Studienvolumen entnommenen Hornhäute (Transplantation und Verwerfung der Hornhäute), Einflüsse durch die Endothelprozessierung (Kultur, Entquellung, Verunreinigungen) oder eine unvollständige Dokumentation über den Messzeitraum, die Analyse der gesamten Kohorte sehr verzerren könnte. So nahm mit der Hornhautanzahl und damit auch die Aussagekraft für die zeitlich späteren Messpunkte (5. Messpunkt: $n = 30$, 6. Messpunkt: $n = 2$) ab.

Die Datenbank umfasst auch Dokumentationsfehler und -lücken, die die Ergebnisse der Studie beeinflussen. Eine weitere Fehlerquelle dieser Studie stellt die Zähl- und Bestimmungsmethoden der Zelldichte und -morphologie dar, bei diesen werden die Parameter jeweils nur für ein einzelnes Endothelquadrat pro Hornhaut bestimmt und dann

für die gesamte Hornhaut hochgerechnet, sodass andere Hornhautareale eine höhere Güte haben oder gar ein Transplantationsrisiko darstellen könnten. Die Untersuchungen der Kohorte über die Prozessierungszeit beinhalten eine Selektionsbias aufgrund des hohen Abgangs der verworfenen und transplantierten Hornhäute. Dieses hat zur Folge, dass die Kohortenzusammensetzung zwischen den Messpunkten variiert.

Ein hoher Anteil an fünf- und sechseckigen Zellen in der kornealen Endothelzellschicht ist entscheidend für die Aufrechterhaltung der Hornhautfunktionen der Transmission und Refraktion des einfallendes Lichtes. Hierzu muss von den Endothelzellen durch einen aktiven Transport über die Zellmembran der osmotischer Gradient aufrecht gehalten werden, um die Ernährung zu gewährleisten und das unkontrollierte Eintreten des Kammerwassers in die Zellen sowie das Endothel zu verhindern. Die hexagonale Zellform scheint die optimierte Form zur lückenlosen Flächenbedeckung zu sein(Remington, 2012). Die zirkuläre Form stellt die optimale Form eine Zelle dar, da zu allen Rändern vom Mittelpunkt der gleiche Abstand ist. Jedoch würden wenn die kreisförmigen Zellen in einer Gewebsschicht nebeneinanderliegen Lücken entstehen. Die hexagonale Konformität verhindert diese Lückenentstehung und bietet dabei nächste Approximation mit einem Kreis. Die Grenzfläche zu allen Nachbarzellen ist gleich groß.

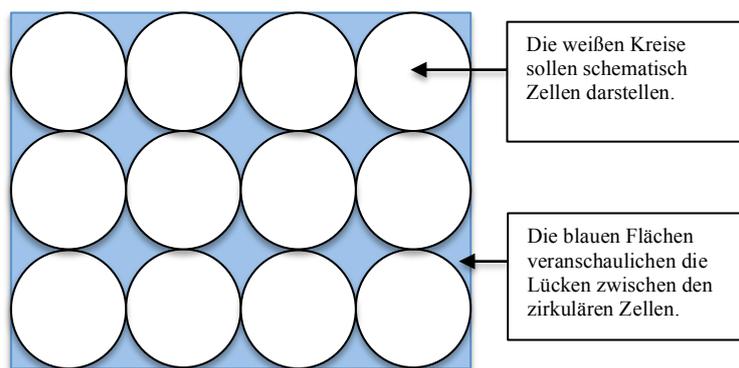


Abb. 29: Schema zirkuläre Zellen und Interzellularraum

Ist ein hoher Anteil an fünf- und sechseckiger Zellen gegeben, ist die Endothelschicht besonders leistungsfähig und bietet zusammen mit einer hohen Zellzahl also auch Zelldichte eine größere „Heilungsreserve“ und folglich eine höhere Sicherheit für das Transplantatüberleben.

Die bis jetzt nur im Rahmen der mikroskopischen Untersuchung der kornealen Spendergewebe sehr grobe bzw. oberflächliche Beurteilung der penta- und hexagonalen

Zellstruktur der Endothelzellen könnte eine Schlüsselkomponente für die bis jetzt unerklärlichen Outcomeunterschiede nach einer Hornhauttransplantation bei einer gleichen Endotheldichte sein.

Die Zellmorphologie und Zelldichte zeigen eine gemeinsame Tendenz und scheinen voneinander abhängig zu sein. Doch sind gerade die 13 Hornhäute besonders interessant, deren Zellmorphologie für eine niedrige Zelldichte widererwartend hochwertig sind. Um diesen Anteil der potentiell transplantationswürdigen jedoch fälschlicherweise verworfenen Hornhäute zu minimieren, sollte auch die Zellmorphologie mitbegutachtet werden und ein unabdingbarer Bestandteil der Hornhautbeurteilung bezüglich der Transplantationseignung sein. So wurden bei der konventionellen Betrachtung der Hornhautendothelien eine Zelldichte über 2000 Zellen/mm² als geeignetes Transplantatkriterium angesehen. Für die Zelldichte wurde ein unterer Transplantationsgrenzwert von 2000 Zellen/mm² in den Transplantationsrichtlinien festgelegt. Die Trendlinie könnte genutzt werden, um eine solche untere Eignungslimitierung auch für die Zellmorphologie festzulegen. Der Grenzwert für die Zellmorphologie in der 1. Messung errechnet sich, wenn man in die Trendgleichung ($y = 36,949 \cdot x + 487,79$) (Kap.4.7.2, Abb.19, Seite 49) den Grenzwert für die Zelldichte $y = 2000$ Zellen/mm² einsetzt. So ergibt sich folgender Wert für den Anteil der penta- und hexagonalen Zellen des Hornhautendothels von 40,93%. So schlagen wir vor, einer Zelldichte von 2000 Zellen/mm² den zugehörigen Wert von 40,93% fünf- und sechseckige Zellen zuzuordnen. Für einen unteren allgemein gültigen Grenzwert für die Zellmorphologie bietet es sich an, einen markanten und gut einprägsamen Wert zu wählen. So könnte ein unterer Transplantationswert für einen Zellmorphologieanteil von 40% fünf- und sechseckiger Endothelzellen der Hornhauttransplantate festgelegt werden.

Aufgrund der Datenanalyse würde sich für eine zellmorphologische Qualitätsgrenze von einem Anteil von 40% fünf- und sechseckiger Zellen anbieten.

Zur Verbesserung der Arbeitsabläufe zur effizienten Prüfung der Transplantationseignung nach der Erhebung des Hornhautbefundes wurde das nachfolgende Konzept Flussdiagramm (Abb. 30) erarbeitet.

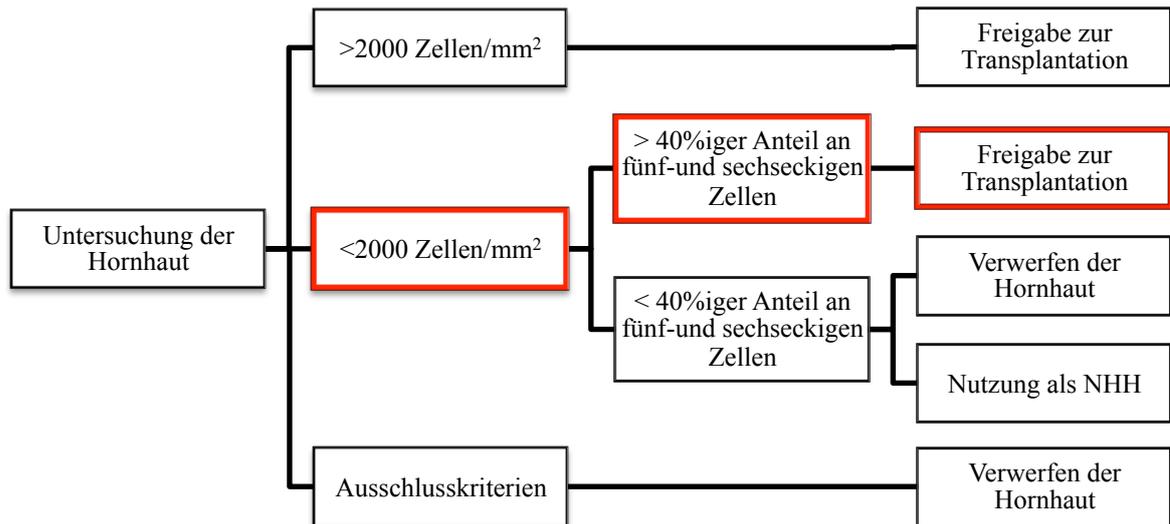


Abb. 30: Schematische Begutachtung eines potentiellen Hornhauttransplantates

Dabei ist es entscheidend, dass 13 der insgesamt 349 verworfenen Hornhäute zwar eine Zelldichte unter 2000 Zellen/mm² jedoch eine hochwertige Zellmorphologie mit über 40% fünf- und sechseckiger Zellen aufwiesen. In 3,7% der Fälle lag trotz der geringen Zelldichte eine sehr funktionsfähige und resistente Zellmorphologie des kornealen Endothels vor. Somit ergibt sich eine gute Prognose für das Überleben dieser Hornhaut auch unter dem Stress der Transplantationsoperation und der Funktionserhaltung im Körper des Empfängers.

Bei einer höheren Nachfrage nach Hornhauttransplantaten als die Hornhautbanken aktuell zur Verfügung stellen können, zählt jede einzelne Hornhaut. So sollte die Transplantationseignungsprüfung der gespendeten Hornhäute nicht nur die Zelldichteermittlung sondern vor allem vor dem Verwerfen eines Spendergewebes die Zellmorphologie durch die Bestimmung des Anteils der fünf- und sechseckiger Zellen beinhalten.

Insgesamt wiesen 190 der verworfenen Hornhäute eine Penta- und Hexagonalität von über 40% auf. Doch es gibt noch zahlreiche Gründe, die unter anderem in den Richtlinien als Ausschlusskriterien festgelegt wurden, sodass eine Hornhaut trotz der hohen Endothelqualität von einer Transplantation ausgeschlossen wurde. Die geringe Zahl der Verkeimungen der Transplantate und der Zellmedien spricht für einen hohen Hygienestandard und professionellen Umgang mit den Hornhautgeweben im Rahmen der Prozessierung. Trotz des hohen operativen Anspruchs an einer Keratoplastik gingen nur wenige Hornhäute durch die Präparation verloren. Sehr viele Hornhäute mussten aufgrund

degenerativer Endothelveränderung und einer Überschreitung des maximalen Transplantatsalters verworfen werden.

Kritisch zu sehen ist die Gruppe der unklaren Todesursachen von 198 Hornhäuten. Hier scheint eine Dokumentationslücke zu bestehen. Offensichtlich wurden die Protokolle der rechtsmedizinischen Leichenschau nicht immer in die Datenbank aufgenommen.

Unter der Trendlinie befinden sich die Hornhäute, für die eine immer höher werdende Zellmorphologie nicht automatisch auch eine höhere Zelldichte bedeutet. Fazit: Gerade für diese Gruppe ist es entscheidend, Hornhäute mit niedrigen Zelldichten nicht einfach zu verwerfen, sondern bei diesen dann die Zellmorphologie anzugucken, um möglichst viele erfolgsversprechende, vitale und qualitativ hochwertige Hornhäute für eine Transplantation zur Verfügung zu stellen.

Schlusssatz:

Die Hypothese nach der die Zellmorphologie unabhängig von der Zellzahl und somit Zelldichte ist, konnte nicht bestätigt werden. Vielmehr besteht ein enger Zusammenhang zwischen der Zelldichte und der Zellmorphologie. Die Zelldichte hat sich als entscheidender Parameter in unseren Studien bestätigt. Die Zellmorphologie sollte aber besonders bei Hornhäuten mit einer Zelldichte knapp unterhalb des Grenzwertes von 2000 Zellen/mm² berücksichtigt werden. Als Grenzwert schlagen wir einen 40%igen Anteil an fünf- und sechseckigen Endothelzellen vor.

6 Zusammenfassung

Viele Studien zuvor haben bereits das Verhältnis zwischen der Endothelzellichte sowie der Zellmorphologie und der Alters- sowie Geschlechterverhältnis festgestellt. Dabei fiel auf, dass mit zunehmendem Alter die Zelldichte und der prozentuale Anteil an hexagonalen Endothelzellen abnimmt. Geschlechterspezifische Unterschiede ergaben sich nicht. Jedoch wurden schließlich insgesamt etwas mehr Hornhäute männlicher Spender transplantiert.

Die endotheliale Reservekapazität der Hornhaut wird durch die altersbedingte Zellularitätsabnahme als auch den Zellverlust nach unterschiedlichen Pathologien wie auch dem Transplantationsprozess vermindert, da die lückenlose Integrität und der Funktionserhalt des kornealen Endothels bei einer fehlenden Regenerationsfähigkeit aufgrund einer Defektdeckung durch eine Zellformveränderung der umliegenden Zellen beruht. Folglich zeigten sich über die Kulturzeit und unter der Prozessierung der potentiellen Hornhauttransplantate konstante Werte für die Zelldichte und Zellmorphologie. Es besteht ein Zusammenhang zwischen den beiden Parametern, sodass mit einer größer werdenden Zelldichte auch ein höherer Anteil an Penta- und Hexagonalität einhergeht. Jedoch ist aufgrund der großen Varianz der Zellmorphologie eine eindeutige Vorhersage über den Anteil der fünf- und sechseckigen Zellen bei einer bekannten Zelldichte nicht möglich. So sollte bei Hornhäuten mit Zelldichten knapp unterhalb des Grenzwertes von 2000 Zellen/mm² die Zellmorphologie bestimmt werden, um potentielle und funktionell hochwertige Hornhäute nicht fälschlicherweise zu verwerfen. Hierzu schlagen wir einen Richtwert für die Penta- und Hexagonalität der Endothelzellen von 40% vor. Die hexagonale Zellmorphologie vereint die höchste zelluläre Produktivität mit der Barriere- sowie Schutzfunktion und bildet zugleich die größte endotheliale Reserve durch das Verformungspotential zur Defektdeckung.

In weiteren Studien ist noch zu klären, ob dieser Wert zu etablieren ist und ob die Bestimmung der Zellmorphologie nicht nur als Grenzwert für Kulturen sondern auch für klinische Aspekte ein Vorteil bietet oder nur für Sonderfälle grenzwertiger Zelldichten mitbeurteilt werden sollte.

7 Abstract

Many previous studies have already established the relationship between endothelial cell density and cell morphology and the age and sex ratio. It was found that with increasing age the cell density and the percentage of hexagonal endothelial cells decreases. No gender-specific differences were found. However, in the end, slightly more corneas from male donors were transplanted.

The endothelial reserve capacity of the cornea is reduced by the age-related decrease in cellularity as well as the cell loss after different pathologies as well as the transplantation process, since the complete integrity and the functional preservation of the corneal endothelium is based on a lack of regenerative capacity due to defect coverage caused by a change in the cell shape of the surrounding cells. Consequently, constant values for cell density and cell morphology were found over the culture time and under processing of the potential corneal grafts. There is a correlation between the two parameters, so that an increasing cell density is accompanied by a higher proportion of penta- and hexagonal cells. However, due to the large variance in cell morphology, a clear prediction of the proportion of penta- and hexagonal cells at a known cell density is not possible. Thus, for corneas with cell densities just below the threshold value of 2000 cells/mm² the cell morphology should be determined in order not to erroneously reject potential and functionally high-quality corneas. For this purpose we suggest a guideline value for the penta- and hexagonality of endothelial cells of 40%. The hexagonal cell morphology combines the highest cellular productivity with the barrier and protective function and at the same time forms the largest endothelial reserve due to the deformation potential for defect coverage.

In further studies it is still to be clarified whether this value should be established and whether the determination of the cell morphology not only offers an advantage as a limit value for cultures but also for clinical aspects or should only be co-evaluated for special cases of borderline cell densities.

8 Literaturverzeichnis

- Arbeitsgemeinschaft Deutscher Hornhautbanken (2001) Durchführungsbestimmungen der Arbeitsgemeinschaft Deutscher Hornhautbanken für die Kultivierung von Spender-Hornhäuten und die Organisation von Hornhautbanken. Seiten 8. [Online im Internet.] URL: https://www.dog.org/wp-content/uploads/2009/09/durchfuehrungsbest_hornhautbank.pdf [Stand: 22.01.2020].
- Ardjomand, N., Komericki, P., McAlister, J.C., Faschinger, C., et al. (2007) 100 Jahre erfolgreiche Hornhauttransplantation. Spektrum der Augenheilkunde. Band 21 (Ausgabe 3), Seite 144-153. [Online im Internet.] URL: doi:10.1007/s00717-007-0202-4 [Stand: 22.01.2020].
- Blatt, H.L., Rao, G.N. & Aquavella, J.V. (1979) Endothelial cell density in relation to morphology. Investigative Ophthalmology & Visual Science. Band 18 (Ausgabe 8), Seite 856-859. [Online im Internet.] URL: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2158929> [Stand: 22.01.2020].
- Borderie, V.M., Boëlle, P.-Y., Touzeau, O., Allouch, C., et al. (2009) Predicted Long-term Outcome of Corneal Transplantation. Ophthalmology. Band 116 (Ausgabe 12), Seite 2354-2360. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/j.ophtha.2009.05.009 [Stand: 22.01.2020].
- Bourne, W.M. & Kaufman, H.E. (1976) Specular Microscopy of Human Corneal Endothelium in VIVO. American Journal of Ophthalmology. Band 81 (Ausgabe 3), Seite 319-323. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/0002-9394(76)90247-6 [Stand: 22.01.2020].
- Bourne, W.M., Nelson, L.R. & Hodge, D.O. (1997) Central corneal endothelial cell changes over a ten-year period. Investigative Ophthalmology & Visual Science. Band 38 (Ausgabe 3), Seite 779-782. [Online im Internet.] URL: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2161780> [Stand: 22.01.2020].
- Cursiefen, C., Schaub, F. & Bachmann, B.O. (2016) Update minimalinvasive lamelläre Keratoplastik: DMEK, DSAEK und DALK. Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde. Band 233 (Ausgabe 9), Seite 1033-1042. [Online im Internet.] URL: doi:10.1055/s-0041-110448 [Stand: 22.01.2020].
- Daxer, A. & Fratzl, P. (1997) Collagen fibril orientation in the human corneal stroma and its implication in keratoconus. Investigative Ophthalmology & Visual Science. Band 38 (Ausgabe 1), Seite 121-129. [Online im Internet.] URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9008637> [Stand: 22.01.2020]
- Deutscher Ärzteverlag GmbH, Redaktion Deutsches Ärzteblatt (2017) Gewebespende: Zahl der Spender hat sich seit 2007 verdreifacht. [Online im Internet.] URL: <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/76475/Gewebespende-Zahl-der-Spender-hat-sich-seit-2007-verdreifacht> [Stand: 22.01.2020].

- Dijk, K. van, Baydoun, L., Konder, R.M. & Melles, G.R.J. (2014) Contact Lenses After Keratoplasty. *Contact Lens Spectrum*. [Online im Internet.] URL: <https://www.clspectrum.com/issues/2014/august-2014/contact-lenses-after-keratoplasty> [Stand: 22.01.2020].
- Edelhauser, H.F. (2000) The Resiliency of the Corneal Endothelium to Refractive and Intraocular Surgery. *Cornea*. Band 19 (Ausgabe 3), Seite 263–273. [Online im Internet.] URL: http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/2000/05000/The_Resiliency_of_the_Corneal_Endothelium_to.2.aspx [Stand: 22.01.2020].
- Engelmann, K., Bednarz, J. & Valtink, M. (2004) Prospects for endothelial transplantation. *Experimental Eye Research*. 78 (3), 573–578. [Online im Internet.] URL: [doi:10.1016/S0014-4835\(03\)00209-4](https://doi.org/10.1016/S0014-4835(03)00209-4) [Stand: 22.01.2020].
- Gipson, I.K. (2007) The Ocular Surface: The Challenge to Enable and Protect Vision: The Friedenwald Lecture. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. Band 48 (Ausgabe 10), Seite 4391–4398. [Online im Internet.] URL: [doi:10.1167/iovs.07-0770](https://doi.org/10.1167/iovs.07-0770) [Stand: 22.01.2020].
- Grehn, F. (2009) *Augenheilkunde*. 31., überarbeitete Auflage. Berlin, Springer-Verlag.
- Grünauer-Kloevekorn, C. & Duncker, G.I.W. (2006) Keratokonus: Epidemiologie, Risikofaktoren und Diagnostik. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. Band 223 (Ausgabe 6), Seite 493–502. [Online im Internet.] URL: [doi:10.1055/s-2005-859021](https://doi.org/10.1055/s-2005-859021) [Stand: 22.01.2020].
- Guthoff, R.F., Zhivov, A. & Stachs, O. (2009) In vivo confocal microscopy, an inner vision of the cornea – a major review. *Clinical & Experimental Ophthalmology*. Band 37 (Ausgabe 1), Seite 100–117. [Online im Internet.] URL: [doi:10.1111/j.1442-9071.2009.02016.x](https://doi.org/10.1111/j.1442-9071.2009.02016.x) [Stand: 22.01.2020].
- Hori, J. (2008) Mechanisms of immune privilege in the anterior segment of the eye: what we learn from corneal transplantation. *Journal of Ocular Biology, Diseases, and Informatics*. Band 1 (Ausgabe 2-4), Seite 94–100. [Online im Internet.] URL: [doi:10.1007/s12177-008-9010-6](https://doi.org/10.1007/s12177-008-9010-6) [Stand: 22.01.2020].
- Jester, J.V. (2008) Corneal crystallins and the development of cellular transparency. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. Band 19 (Ausgabe 2), Seite 82–93. [Online im Internet.] URL: [doi:10.1016/j.semcdb.2007.09.015](https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2007.09.015) [Stand: 22.01.2020].
- Johnson, D.H., Bourne, W.M. & Campbell, R.J. (1982) The Ultrastructure of Descemet's Membrane: I. Changes With Age in Normal Corneas. *Archives of Ophthalmology*. Band 100 (Seite 12), Seite 1942–1947. [Online im Internet.] URL: [doi:10.1001/archopht.1982.01030040922011](https://doi.org/10.1001/archopht.1982.01030040922011) [Stand: 22.01.2020].
- Joyce, N.C. (2003) Proliferative capacity of the corneal endothelium. *Progress in Retinal and Eye Research*. Band 22 (Ausgabe 3), Seite 359–389. [Online im Internet.] URL: [doi:10.1016/S1350-9462\(02\)00065-4](https://doi.org/10.1016/S1350-9462(02)00065-4) [Stand: 22.01.2020].

- Kaiser, M. (2015) Risikofaktoren für ein Hornhaut-Transplantatversagen bei perforierenden Keratoplastiken an der Augenklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München. Ludwig-Maximilians-Universität München. [Online im Internet.] URL:<https://edoc.ub.uni-muenchen.de/19070/> . [Stand: 22.01.2020].
- Kampik, A., Grehn, F., Bialasiewicz, A., Birngruber, R., et al. (2002) Augenärztliche Therapie. (2002, 1. Edition). Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag. [Online im Internet.] URL: doi:10.1055/b-002-8301. [Stand: 22.01.2020].
- Kaufman, H.E., Capella, J.A. & Robbins, J.E. (1966) The Human Corneal Endothelium*. American Journal of Ophthalmology. Band 61 (Ausgabe 5, Teil 1), Seite 835-841. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/0002-9394(66)90921-4 [Stand: 22.01.2020].
- Kaufman, H.E. & Katz, J.I. (1977) Pathology of the corneal endothelium. Investigative Ophthalmology & Visual Science. Band 16 (Ausgabe 4), Seite 265-268. [Online im Internet.] URL: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2175420> [Stand: 22.01.2020].
- Kinoshita, S., Adachi, W., Sotozono, C., Nishida, K., et al. (2001) Characteristics of the Human Ocular Surface Epithelium. Progress in Retinal and Eye Research. [Online] Band 20 (Ausgabe 5), Seite 639-673. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/S1350-9462(01)00007-6 [Stand: 22.01.2020].
- Klauß, V., Nasemann, J., Sachsenweger, M. & Ugi, I. (2002) Duale Reihe Augenheilkunde. 2.Auflage. Georg Thieme Verlag.
- Klyce, S.D. & Crosson, C.E. (1985) Transport processes across the rabbit corneal epithelium: A review. Current Eye Research. Band 4 (Ausgabe 4), Seite 323-331. [Online im Internet.] URL: doi:10.3109/02713688509025145 [Stand: 22.01.2020].
- Laing, R.A., Berrospi, R. & Leiuowitz, M. (1976) Changes in the corneal endothelium as a function of age. Experimental Eye Research. Band 22 (Ausgabe 6), Seite 587-594. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/0014-4835(76)90003-8 [Stand: 22.01.2020].
- Lang, G.K. (2014) Augenheilkunde. 5.überarb.Auflage. Stuttgart, Georg Thieme Verlag.
- Lass, J.H., Gal, R.L., Dontchev, M., Beck, R.W., et al. (2008) Donor age and corneal endothelial cell loss 5 years after successful corneal transplantation. Specular microscopy ancillary study results. Ophthalmology, Ophthalmology. Band 115 (Ausgabe 4), Seiten 627. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/j.opthta.2008.01.004 [Stand: 22.01.2020].
- Laule, A., Cable, M.K., Hoffman, C.E. & Hanna, C. (1978) Endothelial Cell Population Changes of Human Cornea During Life. Archives of Ophthalmology. Band 96 (Ausgabe 11), Seite 2031-2035. [Online im Internet.] URL: doi:10.1001/archopht.1978.03910060419003 [Stand: 22.01.2020].
- Maurice, D.M. (1972) The location of the fluid pump in the cornea. The Journal of Physiology. Band 221 (Ausgabe 1), Seite 43-54. [Online im Internet.] URL: doi:10.1113/jphysiol.1972.sp009737. [Stand: 22.01.2020].

- Maurice, D.M. (1957) The structure and transparency of the cornea. *The Journal of Physiology*. Band 136 (Ausgabe 2), Seite 263-286. [Online im Internet.] URL: doi:10.1113/jphysiol.1957.sp005758 [Stand: 22.01.2020].
- Medawar, P.B. (1948) Immunity to Homologous Grafted Skin. III. The Fate of Skin Homographs Transplanted to the Brain, to Subcutaneous Tissue, and to the Anterior Chamber of the Eye. *British Journal of Experimental Pathology*. Band 29 (Ausgabe 1), Seite 58-69. [Online im Internet.] URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2073079/> [Stand: 22.01.2020].
- Montgomery, F.U., Cichutek, K., Scriba, P.C. & Reinhard, T. (2018) Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank, Erste Fortschreibung. *Deutsches Ärzteblatt*. 18 Seiten. [Online im Internet.] URL: https://www.bundesaerztekammer.de/fileadmin/user_upload/downloads/pdf-Ordner/RL/Rili-Hornhaut.pdf [Stand: 22.01.2020].
- Murphy, C., Alvarado, J. & Juster, R. (1984) Prenatal and postnatal growth of the human Descemet's membrane. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. Band 25 (Ausgabe 12), Seite 1402-1415. [Online im Internet.] URL: <http://iovs.arvojournals.org/article.aspx?articleid=2159614> [Stand: 22.01.2020].
- Niederer, R.L., Perumal, D., Sherwin, T. & McGhee, C.N.J. (2007) Age-related differences in the normal human cornea: a laser scanning in vivo confocal microscopy study. - PubMed - NCBI. 2007. [Online im Internet.] URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17389741> [Stand: 22.01.2020].
- Nucci, P., Brancato, R., Mets, M.B. & Shevell, S.K. (1990) Normal Endothelial Cell Density Range in Childhood. *Archives of Ophthalmology*. Band 108 (Ausgabe 2), Seite 247-248. [Online im Internet.] URL: doi:10.1001/archophth.1990.01070040099039 [Stand: 22.01.2020].
- Padilla, M.D.B., Sibayan, S.A.B. & Gonzales, C.S.A. (2004) Corneal Endothelial Cell Density and Morphology in Normal Filipino Eyes. *Cornea*. Band 23 (Ausgabe 2), Seite 129-135. [Online im Internet.] URL: http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/2004/03000/Corneal_Endothelial_Cell_Density_and_Morphology_in.5.aspx [Stand: 22.01.2020].
- Peh, G.S.L., Beuerman, R.W., Colman, A., Tan, D.T., et al. (2011) Human Corneal Endothelial Cell Expansion for Corneal Endothelium Transplantation: An Overview. *Transplantation*. Band 91 (Ausgabe 8), Seite 811-819. [Online im Internet.] URL: doi:10.1097/TP.0b013e3182111f01 [Stand: 22.01.2020].
- Piatigorsky, J. (2001) Enigma of the Abundant Water-Soluble Cytoplasmic Proteins of the Cornea: The "Refracton" Hypothesis. *Cornea*. Band 20 (Ausgabe 8), Seite 853-858. [Online im Internet.] URL: http://journals.lww.com/corneajrnl/Abstract/2001/11000/Enigma_of_the_Abundant_Water_Soluble_Cytoplasmic.15.aspx [Stand: 22.01.2020].
- Pleyer, U., Bergmann, L., Krause, A. & Hartmann, C. (1996) Autoimmunerkrankungen der peripheren Hornhaut - Immunpathologie, Klinik und Therapie. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. Band 208 (Ausgabe 2), Seite 73-81. [Online im Internet.] URL: doi:10.1055/s-2008-1035173 [Stand: 22.01.2020].

- Reinhart, W.J., Musch, D.C., Jacobs, D.S., Lee, W.B., et al. (2011) Deep Anterior Lamellar Keratoplasty as an Alternative to Penetrating Keratoplasty: A Report by the American Academy of Ophthalmology. *Ophthalmology*. Band 118 (Ausgabe 1), Seite 209-218. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/j.ophtha.2010.11.002 [Stand: 22.01.2020].
- Reinshagen, H., Boehringer, D., Seitz, B. & Reinhard, T. (2015) Aktivitäten der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft: 4. Leistungsbericht 2013. *Der Ophthalmologe*. Band 112 (Ausgabe 1), Seite 70-72. [Online im Internet.] URL: doi:10.1007/s00347-014-3213-y [Stand: 22.01.2020].
- Remington, L.A. (2012) *Clinical Anatomy and Physiology of the Visual System*. 3rd Edition. Elsevier Health Sciences. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/C2009-0-56108-9. [Stand: 22.01.2020].
- Ruberti, J.W. & Zieske, J.D. (2008) Prelude to corneal tissue engineering – Gaining control of collagen organization. *Progress in Retinal and Eye Research*. [Online] Band 27 (Ausgabe 5), Seite 549-577. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/j.preteyeres.2008.08.001 [Stand: 22.01.2020].
- Seitz, B. (2009) Perforierende Keratoplastik – aktuelle Indikationen und Operationstechniken. *Refraktive Chirurgie*. 8 Seiten. [Online im Internet.] URL: <http://www.dgii.org/uploads/jahresband/2010/Seitz.pdf> [Stand: 22.01.2020].
- Seitz, B., Szentmáry, N., Langenbucher, A., Hager, T., et al. (2016) Perforierende Keratoplastik bei fortgeschrittenem Keratokonus – vom Hand-/Motortrepan hinauf zum Excimerlaser und zurück zum Femtosekundenlaser. *Klinische Monatsblätter für Augenheilkunde*. Band 233 (Ausgabe 6), Seite 727-736. [Online im Internet.] URL: doi:10.1055/s-0042-108654 [Stand: 22.01.2020].
- Siu, A. & Herse, P. (1993) The effect of age on human corneal thickness. *Acta Ophthalmologica*. [Online] Band 71 (Ausgabe 1), Seite 51-56. [Online im Internet.] URL: doi:10.1111/j.1755-3768.1993.tb04959.x [Accessed: 14 October 2017].
- Speedwell, L., Novakovic, P., Sherrard, E.S. & Taylor, D.S.I. (1988) The Infant Corneal Endothelium. *Archives of Ophthalmology*. Band 106 (Ausgabe 6), Seite 771-775. [Online im Internet.] URL: doi:10.1001/archophth.1988.01060130841036 [Stand: 22.01.2020].
- Sugrue, S.P. & Zieske, J.D. (1997) ZO1 in Corneal Epithelium: Association to the Zonula Occludens and Adherens Junctions. *Experimental Eye Research*. Band 64 (Ausgabe 1), Seite 11-20. [Online im Internet.] URL: doi:10.1006/exer.1996.0175 [Stand: 22.01.2020].
- Tan, D.T., Dart, J.K., Holland, E.J. & Kinoshita, S. (2012) Corneal transplantation. *The Lancet*. Band 379 (Ausgabe 9827), Seite 1749-1761. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/S0140-6736(12)60437-1 [Stand: 22.01.2020].
- Thompson, R.W., Price, M.O., Bowers, P.J. & Price, F.W. (2003) Long-term graft survival after penetrating keratoplasty. *Ophthalmology*. Band 110 (Ausgabe 7), Seite 1396-1402. [Online im Internet.] URL: doi:10.1016/S0161-6420(03)00463-9 [Stand: 22.01.2020].

- Walter, P. & Plange, N. (2017) Basiswissen Augenheilkunde. Berlin, Heidelberg, Springer-Verlag.
- Wollring, L. (n.d.) Augenärzte informieren: Hornhauttransplantation (Keratoplastik). Berufsverband der Augenärzte Deutschlands e.V. (BVA). [Online im Internet.] URL: <http://cms.augeninfo.de/hauptmenu/presse/statistiken/hornhauttransplantation-keratoplastik.html> [Stand: 22.01.2020].
- Yee, R.W., Matsuda, M., Schultz, R.O. & Edelhauser, H.F. (1985) Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. Current Eye Research. Band 4 (Ausgabe 6), Seite 671-678. [Online im Internet.] URL: doi:10.3109/02713688509017661 [Stand: 22.01.2020].
- Zhou, R. & Caspi, R.R. (2010) Ocular immune privilege. F1000 Biology Reports. [Online] [Online im Internet.] URL: doi:10.3410/B2-3 [Stand: 22.01.2020].
- Ziegler, C. (n.d.) Spaltlampenuntersuchung: Augenärzte-Netz Baden-Württemberg - ABW. [Online im Internet.] URL: <http://www.abw-netz.de/Spaltlampenuntersuchung.19.0.html> [Stand: 22.01.2020].

9 Abkürzungsverzeichnis

IfR: Institut für Rechtsmedizin (am UKE)

BSS: balanced salt solution

ErstB: erste Befundung mit Messung der Hornhaut Parameter (wurde bei allen 1031 HH durchgeführt)

ZB: Zwischenbefundung (158 HH hatten eine ZB, 30 HH zwei und 2 HH drei)

VB: Vorbefundung (hatten 632 HH)

EndB: Endbefundung: Entscheidung für Verbleib (Transplantation oder Verwurf)

ErstB/EndB: gleichzeitig Erst- und Endbefundung

HH: Hornhäute

kN: keine Nennung

10 Danksagung

Diese Arbeit wurde am Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf in der Abteilung Rechtsmedizin unter der Leitung von Prof. Dr. med Klaus Püschel angefertigt. Bei ihm möchte ich mich dafür bedanken, die Möglichkeit bekommen zu haben, an diesem interessantem Thema in seinem Institut forschen zu dürfen.

Dem Leiter der Hornhautbank, meinem Doktorvater PD Dr. Olaf J.C. Hellwinkel gilt mein besonderer Dank für seine Unterstützung in den letzten Jahren und die kritische Beratung bei der Abfassung dieser Arbeit.

Dem Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie und dessen Mitarbeitern bedanke ich mich für ihre Statistik-Beratung.

Ein herzliches Dankeschön möchte ich außerdem den wissenschaftlichen Mitarbeitern und Ärzten der Rechtsmedizin und der Augenklinik sagen.

11 Lebenslauf

Der Lebenslauf entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen.

12 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: *Stein*