

Aus der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS

Direktor: Prof. Dr. med. Berthold Seitz

**Einfluss der Reinraumklasse der Hornhautbank auf die  
Verwerfungsgründe bei Hornhauttransplantaten**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät

der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES zu Homburg 2024

vorgelegt von: Marco Zilles

geboren am 24.08.1983 in Zell/ Mosel

Tag der Promotion: 28.01.2025

Dekan: Prof. Frank Schmitz

Berichterstatter: Prof. Berthold Seitz

Prof. Markus Bischoff

# 1 Inhaltsverzeichnis

1	Inhaltsverzeichnis .....	3
2	Zusammenfassung .....	7
3	Einleitung .....	10
3.1	Die Hornhaut.....	10
3.1.1	Anatomie der Hornhaut .....	10
3.1.2	Immunologische Besonderheiten der Hornhaut .....	13
3.2	Die Keratoplastik .....	14
3.2.1	Historische Entwicklung .....	14
3.2.2	Verschiedene Verfahren der Keratoplastik.....	17
3.3	Indikationen für eine Keratoplastik.....	19
3.3.1	Fuchs-Hornhautdystrophie .....	20
3.3.2	Keratokonus.....	21
3.3.3	Re-Keratoplastik.....	22
3.3.4	Keratitiden .....	22
3.3.5	Verletzungen der Hornhaut .....	23
3.4	Die Hornhautbank.....	24
3.4.1	Rechtliche Grundlagen .....	25
3.4.2	Einwilligung und Eignung des Spenders.....	26
3.4.3	Entnahme und Transport .....	27
3.4.4	Kultivierung und Kontrolle .....	28
3.4.5	Freigabe der Hornhaut.....	30
3.4.6	Verwerfungsgründe .....	31
3.5	LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz .....	32
3.5.1	Hornhautbank bis 2018.....	32
3.5.2	Hornhautbank ab 2019 .....	35
4	Material und Methodik.....	38
4.1	Transplantate.....	38
4.2	Definition der Zielgröße.....	38

4.3	Studiendesign.....	38
4.4	Vergleichbarkeit der Gruppen.....	39
4.5	Erhobene Daten.....	40
4.5.1	Spendervariablen.....	40
4.5.2	Transplantatvariablen.....	40
4.6	Statistische Analyse.....	41
5	Ergebnisse.....	42
5.1	Verwerfungsraten und Keratoplastik à chaud.....	42
5.2	Verwerfungsgründe.....	42
5.2.1	Endothelqualität.....	43
5.2.2	Serologie.....	44
5.2.3	Technische Ursachen.....	44
5.2.4	Bindehautabstrich.....	45
5.2.5	Kontamination.....	46
5.2.6	Medizinische Kontraindikationen.....	47
5.2.7	Morphologische Kontraindikationen.....	48
6	Diskussion.....	50
6.1	Beurteilung der Verwerfungsraten.....	51
6.2	Verwerfungsgründe.....	52
6.2.1	Verwerfung wegen unzureichender Endothelqualität.....	53
6.2.2	Verwerfung wegen Serologie.....	55
6.2.3	Verwerfung wegen technischer Ursachen.....	56
6.2.4	Verwerfung wegen Kontamination des Kulturmediums oder Keimnachweis im Bindehautabstrich.....	57
6.2.5	Verwerfung wegen medizinischer Kontraindikationen.....	59
6.2.6	Verwerfung wegen morphologischer Kontraindikationen/ Narben.....	60
6.3	Bedeutung der Reinraumklasse der Hornhautbank und Einfluss auf die Verwerfungsrate.....	61
6.4	Limitationen der vorliegenden Arbeit.....	62
7	Schlussfolgerung.....	63
8	Literaturverzeichnis.....	64

9	Abbildungs- und Tabellenverzeichnis.....	69
10	Abkürzungsverzeichnis .....	70
11	Publikationen und Dank .....	72
12	Lebenslauf .....	73

Teile der vorliegenden Arbeit wurden vor Einreichung publiziert („Impact of cleanroom status on the reason for discarding organ-cultured corneal transplants in a modern eye bank – More donor corneas thanks to astronaut suit?“ veröffentlicht in *Acta Ophthalmologica*, Erstveröffentlichung am 22.12.2023, online abrufbar unter <https://doi.org/10.1111/aos.16611>).

## 2 Zusammenfassung

Hintergrund und Ziele: In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss der Reinraumklasse und der damit verbundenen Hygienestandards einer Hornhautbank auf die Verwerfungsraten von Spenderhornhäuten in einer deutschen universitären Hornhautbank untersucht.

Material und Methoden: Die Verwerfungsraten und -gründe wurden von 2017 bis 2020 am Klaus-Faber-Zentrum für Hornhauterkrankungen, inkl. der LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz am Universitätsklinikum des Saarlandes analysiert. 1941 Hornhäute von 971 Spendern wurden einbezogen. 1262 Hornhäute wurden von 2017 bis 2019 in einem Reinraum der Klasse D gelagert (Gruppe 1) und in einer Sterilbank mit Reinraumklasse A prozessiert. 679 Hornhäute wurden von 2019 bis 2020 durchgehend in einem Reinraum der Klasse B und in einer Sterilbank mit Reinraumklasse A gelagert und prozessiert (Gruppe 2). Die Daten wurden aus der klinikinternen Dokumentation – sowohl digital als auch in Papierform – in eine Datenbank übertragen und statistisch ausgewertet. Erfasste Verwerfungsgründe waren unzureichende Endothelzellzahl, positive Serologie, technische Ursachen, Keimnachweis im Bindehautabstrich, Kontamination des Kulturmediums, medizinische Kontraindikationen und morphologische Kontraindikationen an der Spaltlampe, z. B. Narben. Die statistische Analyse wurde mit SPSS und verschiedenen statistischen Testverfahren wie Mann-Whitney-U-Test, Chi-Quadrat-Test, Pearson-Korrelation sowie einer multiplen logistischen Regression durchgeführt. Ein p-Wert  $<0,05$  wurde als statistisch signifikantes Ergebnis gewertet.

Ergebnisse: In Gruppe 1 wurden signifikant mehr Hornhäute wegen positiver Serologie verworfen. (6,9%|3,8%,  $p=0,02$ ). Darüber hinaus zeigte sich kein signifikanter Unterschied für die weiteren erfassten Verwerfungsgründe. Die eingeschränkte Endothelqualität ist mit 24,5% (26,3%|21,2%,  $p=0,430$ ) der häufigste Verwerfungsgrund. Sowohl die Kontamination des Kulturmediums (4%|4%,  $p=0,651$ ) als auch ein positiver Bindehautabstrich (8,4%|7,5%,  $p=0,489$ ) als Indikator einer Infektion zeigen keinen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen.

Schlussfolgerung: Die Optimierung der Hygienestandards von Reinraumklasse D auf B führte nicht zu

einer Verringerung der Kontamination. Dies legt nahe, dass aufwändige bauliche Maßnahmen nicht geeignet sind, die Zahl verfügbarerer Transplantate zu erhöhen. Trotz stetig zunehmender Hornhauttransplantationen übersteigt der Bedarf an Spenderhornhäuten gegenwärtig die Zahl verfügbarerer Transplantate, weshalb eine Steigerung der Spendebereitschaft sowie eine optimale Verwertung der verfügbaren Transplantate anzustreben sind.



## **Abstract**

Purpose: This study investigated the influence of cleanroom conditions on the discard rates of donor corneas in a German university eye bank.

Methods: Discard rates were analyzed from 2017 to 2020 at the LIONS Cornea Bank at Saarland University Medical Center. 1941 corneas from 971 donors were included. 1262 corneas (65.1%) were stored in a class D cleanroom from 2017 to 2019 and processed in a cleanroom class A sterile bank (group 1). 679 corneas (34.9%) were continuously stored in a class B cleanroom and processed in a class A cleanroom safety cabinet in the same room from 2019 to 2020 (group 2). The data was transferred from the internal documentation – both digital and in paper form – into a database and statistically analyzed. The target parameter of this work was the number of contamination-related discards. Although they cannot be influenced by the spatial conditions, the discards due to insufficient endothelial quality, serology, contraindications, scars and technical causes were also recorded. The statistical analysis was carried out using SPSS and various statistical test test procedures such as the Mann-Whitney U-test, chi-square test, Pearson correlation and a multiple multiple logistic regression. A p-value <0.05 was considered a statistically significant result.

Results: In group 1, significantly more corneas were discarded due to positive serology (6.9%|3.8%, p=0.02). Furthermore, there was no significant difference for the other reasons for discard recorded. At 24.5% (26.3%|21.2%, p=0.430), insufficient endothelial quality is the most common reason for discard. Both contamination of the culture medium (4%|4%, p=0.651) and a positive conjunctival swab (8.4%|7.5%, p=0.489) as an indicator of infection showed no statistically significant difference between the two groups.

Conclusion: Optimization of hygiene standards from cleanroom class D to B did not reduce contamination. This suggests that complex structural measures are not suitable for increasing the number of available transplants. Despite the steady increase in corneal transplants the demand for donor corneas exceeds the number of available transplants. It is therefore important to increase the willingness to donate and to optimise the utilisation of available transplants.

### 3 Einleitung

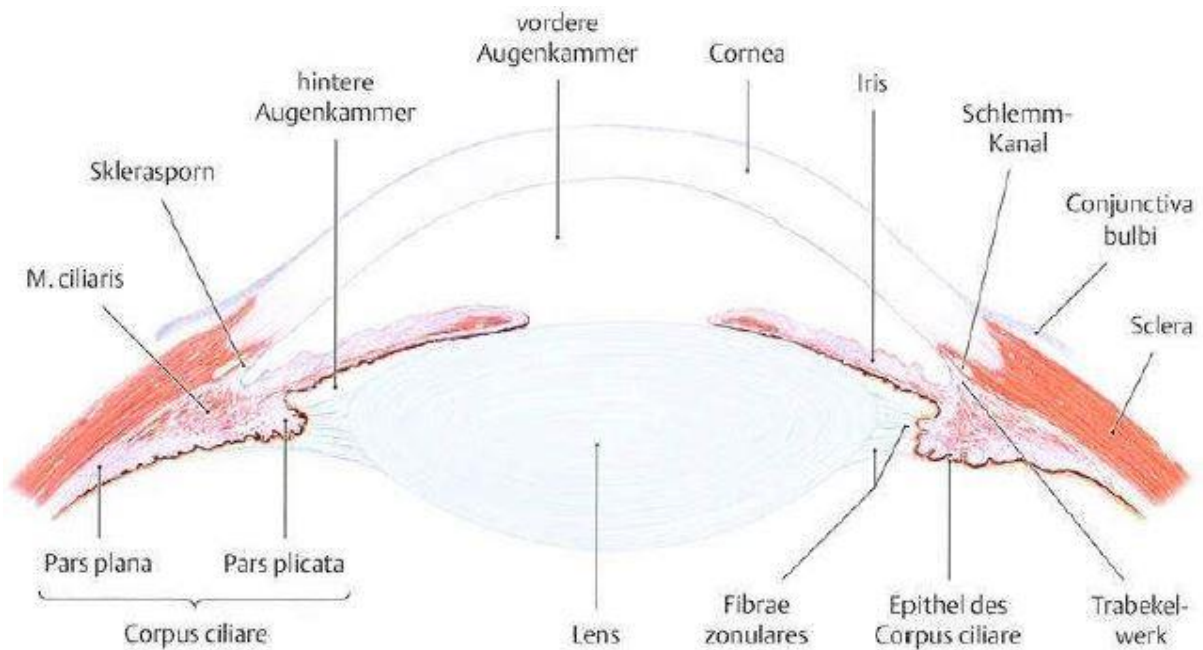
#### 3.1 Die Hornhaut

##### 3.1.1 Anatomie der Hornhaut

Die Hornhaut in ihrer Funktion als „Fenster“ des Auges ist für das Sehen von großer Bedeutung.

Vergleichbar mit dem Uhrglas der Uhr ist die Hornhaut in die Sklera eingelassen (Abb. 1) [28].

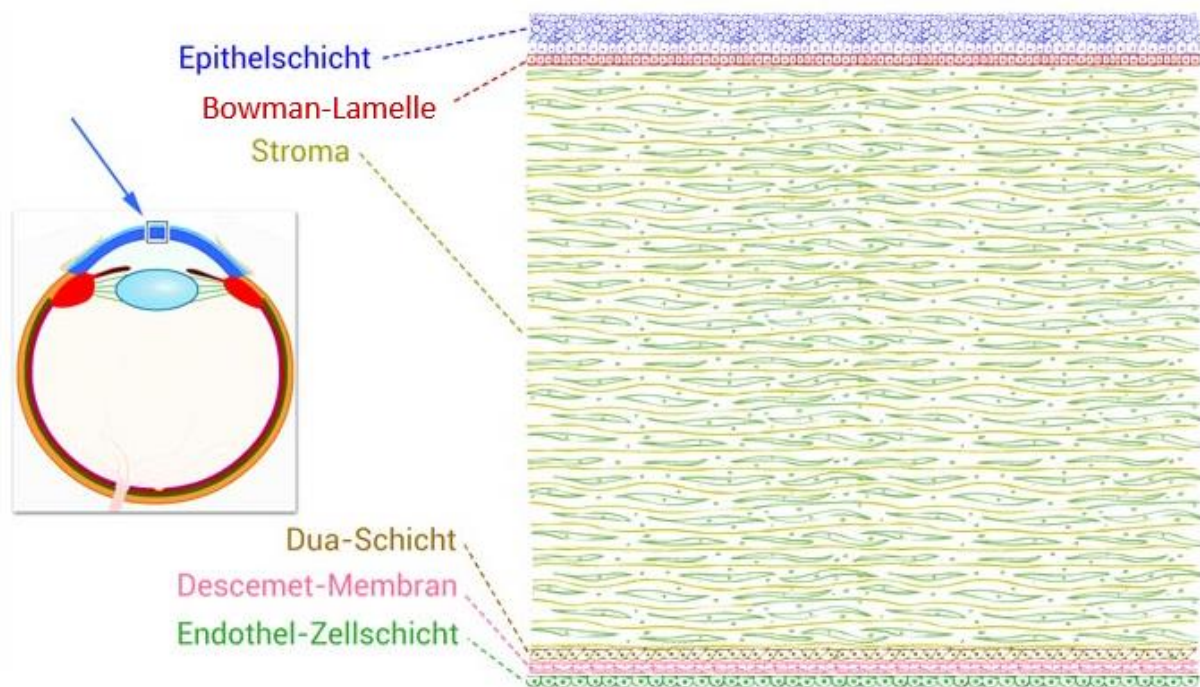
Die Regelmäßigkeit ihrer Oberfläche sowie ihre Transparenz sind im Zusammenspiel mit Linse und Akkommodation wichtig für die scharfe Abbildung von Gegenständen auf der Netzhaut [28].



**Abb. 1:** Schematischer Aufbau des vorderen Augenabschnitts [61]

Die bedeutendsten Faktoren für die insgesamt hohe Brechkraft der Hornhaut von 43 Dioptrien (dpt) sind der Unterschied zwischen den Brechungsindices von Luft (1,0) und Hornhaut (1,33) sowie die Wölbung der Hornhautoberfläche [28]. Der Brechungsindexunterschied an der Vorderseite bedingt 49 dpt. Die negative Brechkraft an der konkaven Hornhauintrückfläche vermindert diese Brechkraft um 6 dpt. Insgesamt trägt die Hornhaut mit 43 dpt den größten Anteil an der Gesamtbrechkraft des dioptrischen Apparates [7].

Die Dicke der Hornhaut beträgt zentral etwa 550  $\mu\text{m}$ , in den peripheren Bereichen ca. 650  $\mu\text{m}$  [28]. Der physiologische Durchmesser der Hornhaut beträgt beim Erwachsenen ca. 10-12 mm [34,56]. Da die Hornhaut als wichtige optische Struktur eines besonderen Schutzes bedarf, besteht neben dem mechanischen Schutz durch die Augenlider eine starke sensible Innervation durch freie Nervenenden des ersten Trigeminusastes [28,56]. Histologisch lassen sich an der Hornhaut fünf Schichten unterscheiden (Abb. 2).



**Abb. 2:** Aufbau der Hornhaut [78]

Die Hornhautoberfläche wird von einem mehrschichtigen, nicht verhornenden Plattenepithel gebildet. Das Epithel kann nach einer Schädigung aus den basalen Zellschichten in der Regel innerhalb von Stunden bis Tagen problemlos regeneriert werden [28]. Diese basalen Zellen sitzen einer festen Schicht aus kollagenem Bindegewebe, der Bowman-Lamelle (Lamina limitans anterior) auf, auf der sie fest verankert sind [28,56,61]. Da der Bowman-Lamelle die Regenerationsfähigkeit fehlt, heilen Verletzungen derselben primär unter Bildung von Hornhautnarben aus. An die Bowman-Lamelle schließt sich das aus kollagenen Fibrillen und Keratozyten bestehende Hornhautstroma an [56]. Die Kollagenlamellen sind von relativ gleichmäßiger

Dicke (25-30 nm) und innerhalb einer Hornhautlamelle exakt parallel angeordnet, wobei ca. 100 - 150 solcher Lamellen das insgesamt etwa 550 µm dicke Hornhautstroma bilden [28]. Diese sehr regelmäßige Schichtung sowie der relativ zell- und wasserarme Zustand bedingen die hohe Transparenz dieses Gewebes [56]. Da das Gewebe nicht vaskularisiert ist, regeneriert es nur langsam und unter Narbenbildung. Die fehlende Vaskularisation stellt allerdings ein immunologisches Privileg dar. Eine Transplantation der Hornhaut kann daher in der Regel mit einem geringeren Risiko immunologisch bedingter Abstoßungsreaktionen durchgeführt werden [28,61]. Zur Vorderkammer hin folgt dem Stroma mit der Descemet-Membran (Lamina limitans posterior) eine regenerationsfähige Schicht. Die aus Kollagen Typ VIII und Laminin bestehende Membran kann bei Verlust durch Endothelzellen repariert werden [28,34].

Zur Vorderkammer hin wird die Hornhaut durch das einschichtige Hornhautendothel begrenzt, welches auf Grund seiner Struktur und Funktion von herausragender Bedeutung ist. Das Endothel wirkt vergleichbar mit einer Pumpe, da es dem Hornhautstroma beim aktiven Transport von Ionen in die Vorderkammer Wasser entzieht, und somit zu dessen Transparenz beiträgt [28]. Dieser Vorgang wird als endotheliale Kompensation bezeichnet. Des Weiteren verhindern die Zonulae occludentes, welche die einzelnen Endothelzellen miteinander verbinden, das Eindringen von Wasser in die Hornhaut, und erfüllen damit eine abdichtende Funktion im Sinne einer Flüssigkeits- und Diffusionsbarriere [56]. Die physiologische Endothel-Zelldichte der Hornhaut liegt bei 2500 Zellen/mm<sup>2</sup>. Da das Endothel selbst nicht regenerativ ist, können Defekte nur durch Ausbreitung benachbarter, intakter Endothelzellen kompensiert werden. Das geht mit Zellvergrößerung und Funktionseinbußen einher.

Sinkt die Endothelzellichte im Rahmen von Verletzungen oder Erkrankungen unter 500 Zellen/mm<sup>2</sup>, so kommt es zu einer Endothelinsuffizienz [28]. Eine solche Hornhaut-Endothel-Epithel-Dekompensation (HEED) führt durch Wassereinlagerungen zum Aufquellen von Hornhautstroma und -epithel, die Hornhaut wird trüb.

Untersuchungen von Dua et al zeigen die mögliche Existenz einer sechsten, bisher unbekanntem

Schicht zwischen hinterem Stroma und Descemet-Membran. Diese azelluläre Schicht wurde als *Dua's layer* bezeichnet und weist den Autoren zufolge vom Reststroma abweichende biomechanische Eigenschaften auf. Ferner soll sie an der Pathogenese verschiedener kornealer Erkrankungen beteiligt sein [16,17]. Ihre Existenz, bzw. ihre klinische Relevanz ist allerdings noch Gegenstand kontroverser Diskussionen [58].

Da das Hornhautgewebe frei von Blutgefäßen ist, wird seine Ernährung über andere Mechanismen sichergestellt. Nach außen sind dabei der Tränenfilm sowie der Sauerstoffgehalt der Luft von Bedeutung. Die seitliche Versorgung erfolgt über das Randschlingennetz der Bindehautgefäße, die inneren Schichten werden über das Kammerwasser ernährt [28]. Im Rahmen chronischer Schäden der Hornhaut kommt es zur Neovaskularisation. Dabei führen oberflächliche Schäden zur Einsprossung von Gefäßen aus der Konjunktiva, bei tieferliegenden Problemen stammen die Gefäßneubildungen aus den vorderen Ziliararterien. Angesichts oft komplexer Schäden zeigen sich im klinischen Alltag häufig gemischte Vaskularisationen [56].

### 3.1.2 Immunologische Besonderheiten der Hornhaut

Die Hornhaut des Auges nimmt auf Grund verschiedener immunologischer Besonderheiten eine Sonderstellung auf dem Gebiet der Transplantationsmedizin ein. Ein Grund für die außergewöhnlich geringe Abstoßungsrate ist das Fehlen von Blut- und Lymphgefäßen. Somit ist die Hornhaut vom üblichen „Immunreflexbogen“ entkoppelt, was das gute Überleben von Hornhauttransplantaten begünstigt [12]. Blut-Kammerwasser- und Blut-Retina-Schranke ergänzen die Separation vom Blutkreislauf.

Neben der Separation vom Blutkreislauf ist die Unterdrückung von Immunreaktionen bedeutsam. Aktivierte Lymphozyten sind in der Lage, die Blut-Retina-Schranke zu überwinden. Deren Funktion wird jedoch durch immunmodulatorische Faktoren im Kammerwasser, immunmodulatorische Liganden auf Zelloberflächen, sowie Antigen-präsentierende Zellen deutlich eingeschränkt.

Der dritte wichtige Baustein des immunologischen Privilegs ist die Regulation der Immunantwort. Ergänzend zur Abgrenzung des Auges vom Immunsystem hat sich auch eine gesonderte Form der Aktiven Immunantwort entwickelt - die *Vorderkammer-assoziierte abweichende Immunantwort (ACAID)*. Das Eindringen eines Erregers in die Vorderkammer des Auges löst eine verzögerte, antigenspezifische Hypersensitivitätsreaktion aus. In deren Rahmen kommt es auch zu direkten Interaktionen zwischen Auge und Milz sowie Thymus und Milz [11,30,67].

## 3.2 Die Keratoplastik

Der Begriff Keratoplastik umschreibt die operative Verpflanzung von Hornhaut oder Hornhautanteilen.

Nachdem der Wiener Augenarzt Eduard Zirm im Jahre 1905 die erste erfolgreiche Keratoplastik durchgeführt hat, ist das Verfahren – auch dank dieser mehr als hundertjährigen Erfahrungswerte – heute die am häufigsten durchgeführte Gewebetransplantation weltweit.

### 3.2.1 Historische Entwicklung

Die Geschichte der Keratoplastik dauert nunmehr bereits seit über 200 Jahren an. Doch nicht die gesamte Epoche ist auch eine Erfolgsgeschichte. Da Trübungen der Hornhäute bereits seit dem Altertum belegt sind, gab es auch seitdem Überlegungen, eine erkrankte Hornhaut zu ersetzen [36].

Im Jahre 1789 erörtert Pellier de Quengsy in seinem Buch „Précis ou Cours d'Opérations sur la Chirurgie des Yeux“ erstmals die Möglichkeit, das trübe Hornhautgewebe durch künstliches Gewebe zu ersetzen [55]. Eine Keratoprothese aus Glas soll dann erstmals 1855 bei einem Menschen implantiert worden sein, und zumindest einige Monate funktioniert haben [43].

Der Begriff „Keratoplastik“ wurde 1824 von Franz Reisinger (1787-1855) geprägt. Dieser experimentierte mit Hornhauttransplantaten bei Kaninchen und Katzen, hat jedoch selbst wohl nie

einen derartigen Eingriff an Menschen durchgeführt [51].

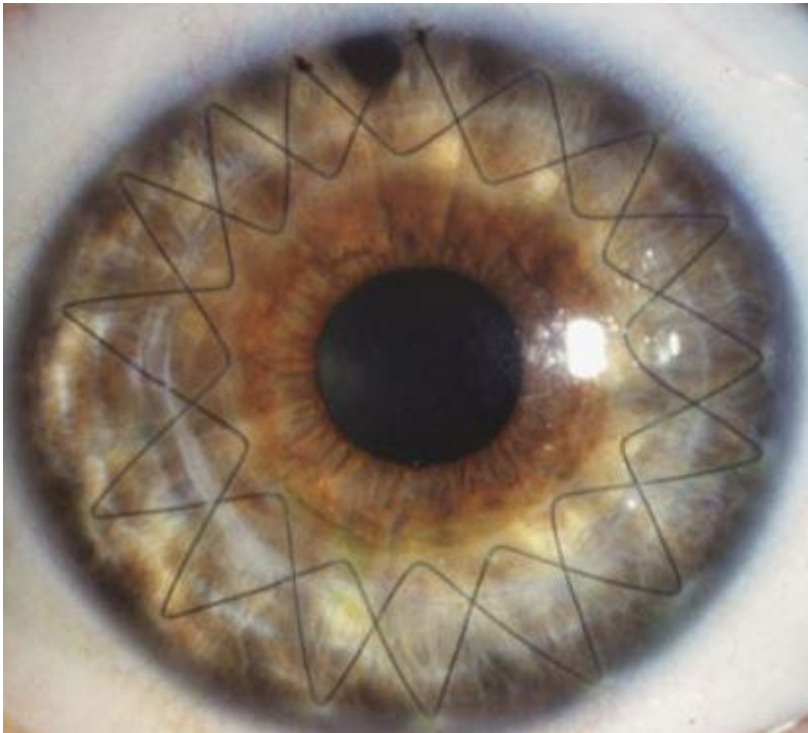
Im Jahre 1879 wurde von Sellerbeck schließlich erstmals eine -zumindest technisch erfolgreiche- homologe Keratoplastik am Menschen durchgeführt. Das Transplantat trübte allerdings bereits 20 Stunden nach der Operation ein [65]. Daneben waren in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts zahlreiche Ärzte mit dem Thema der Hornhautverpflanzung befasst, allerdings blieb die Transplantat-Transparenz ein Problem. Nachdem der Wiener Ordinarius Ernst Fuchs 1894 in einem Aufsatz „Ueber Keratoplastik“ von mehr als 30 erfolglosen Operationen berichtete, galt die Operation zum Ende des 19. Jahrhunderts als aussichtslos [12,43].

Dennoch gelang dem aus Wien stammenden Augenarzt Eduard Zirm 1905 in Olmütz in der heutigen Tschechischen Republik ein Eingriff, der als erste erfolgreiche perforierende Keratoplastik (pKP) in die Geschichte einging. Bei dem Patienten handelte es sich um den 45-jährigen Tagelöhner Alois Glogar, der knapp anderthalb Jahre vor dem Eingriff eine Kalkverätzung beider Augen erlitten hatte. Die verpflanzten Hornhautscheiben stammten von einem 11-jährigen Jungen, der unmittelbar vor der Keratoplastik auf Grund einer beidseitigen penetrierenden Verletzung enukleiert werden musste. Während der Eingriff rechtsseitig fehlschlug und das Transplantat eintrübte, blieb die linke Hornhaut klar und ermöglichte dem Patienten wieder einen geringen Visus [77].

Nachdem Zirm die Hornhaut von frisch enukleierten Augen verwendet hatte, war die Transplantation von Hornhäuten Verstorbener ein weiterer Meilenstein. Vladimir Filatov aus Odessa in der heutigen Ukraine gelang 1927 erstmals die Verpflanzung von Hornhäuten, die Leichen entnommen und speziell präpariert worden waren. Da Filatov auch Bulbi in einer feuchten Kammer vorrätig hielt, kann man ihn als Begründer der Idee einer Hornhautbank betrachten [23,72]. Durch die Möglichkeit, Hornhäute haltbar machen und lagern zu können, verbreitete sich die Keratoplastik rasch.

Als Pionier der perforierenden Keratoplastik in Deutschland gilt Walther Löhlein (1882-1954). Dieser war als Ordinarius in mehreren deutschen Universitätskliniken tätig, und hat sich -nachdem er anfangs auch lamellierende Verfahren anwendete- früh der perforierenden Keratoplastik gewidmet. 1950 veröffentlichte er seine Erfahrung aus etwa 300 durchgeführten Eingriffen, von denen die

Transplantate in 74% der Fälle klar blieben [39]. Im Laufe der Zeit gab es weitere Verbesserungen der operativen Möglichkeiten, wie zum Beispiel die Einführung des Operations-Mikroskops in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts oder die Entwicklung von filigranem Nahtmaterial [55]. Seit den 1970er Jahren hat sich außerdem die doppelt fortlaufende Kreuzstichnaht nach Hoffmann etabliert (Abb. 3).



**Abb. 3:** Z. n. perforierender Keratoplastik mit fortlaufender Kreuzstichnaht nach Hoffmann [28]

Mit dieser Technik gelang es, den postoperativen Astigmatismus zu reduzieren. Sie ist bis heute das Nahtverfahren der Wahl bei Keratoplastiken. Im Laufe der Jahre ist die Hornhaut zum am häufigsten transplantierten Gewebe weltweit geworden. Die Aufbewahrung der Hornhäute im Kulturmedium ist mittlerweile etabliert und unterliegt standardisierten Qualitätskontrollen. Allein in Deutschland werden pro Jahr ca. 8000 Keratoplastiken durchgeführt [12]. Nicht zuletzt deshalb ist es sinnvoll, Patienten und Bevölkerung weiterhin für das Thema Organ- und Gewebespende zu sensibilisieren.



### 3.2.2 Verschiedene Verfahren der Keratoplastik

Nachdem die perforierende Keratoplastik über Jahrzehnte hinweg den Standardeingriff der Hornhaut-Transplantationen darstellte, haben lamelläre Verfahren in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen. Die gebräuchlichsten Verfahren werden im Folgenden kurz vorgestellt.

#### 3.2.2.1 Perforierende Keratoplastik

Bei der perforierenden oder auch penetrierenden Keratoplastik wird ein alle Hornhautschichten umfassendes Transplantat in ein Empfängerbett entsprechender Größe eingefügt. Das bedeutet, dass die zu verpflanzende Hornhaut in ihrer gesamten Dicke herausgelöst werden muss. Dies wurde über Jahre vorwiegend mit verschiedenen Rundmessern, sogenannten Trepanen durchgeführt. Die Entwicklung der Trepane begann 1887 beim Motortrepan nach Arthur von Hippel, bei dem das Rundmesser durch ein Uhrwerk in Rotation versetzt wurde [55]. Moderne Trepane bieten ein Maximum an Präzision durch kontrollierte Schnitt-Tiefen im meter-Bereich. Neben diesen mechanischen Verfahren haben sich in den letzten 30 Jahren auch laserbasierte Trepanationen etabliert. Nachdem 1989 die erste Keratoplastik mittels Excimerlaser durchgeführt wurde, hat sich diese Methode mittlerweile in einigen Zentren zum Standard entwickelt [62].

Der wohl größte Vorteil der lasergestützten Trepanation liegt darin, dass die Laserankopplung ohne direkten Kontakt zur Hornhaut erfolgt. Eine mechanische Deformierung des Transplantats wird vermieden, woraus im Vergleich zur mechanischen Trepanation bessere visuelle Ergebnisse resultieren [62].

Die jüngste technische Weiterentwicklung ist die Trepanation mittels Femtosekunden-Laser (FSL), die jedoch technisch bedingt bei einigen Indikationen – z. B. einem fortgeschrittenen Keratokonus oder offenem Auge – nicht anwendbar ist [62].

Nachdem die pKP über Jahre das Standardverfahren der Hornhauttransplantation war, kommen lamelläre Verfahren mittlerweile in vergleichbarer Häufigkeit zur Anwendung.

### 3.2.2.2 Lamelläre Keratoplastik

Dank technischer Innovationen ist es heutzutage nicht mehr erforderlich, die Hornhaut mit all ihren Schichten zu verpflanzen. Stattdessen stehen verschiedene lamelläre Verfahren zur Verfügung, im Rahmen derer nur die erkrankten Hornhautanteile ausgetauscht werden [41]. Die gängigen Techniken der lamellären Keratoplastik werden im Folgenden kurz vorgestellt.

#### **Tiefe anteriore lamelläre Keratoplastik**

Bei diesem, auch als deep anterior lamellar keratoplasty (DALK) bezeichneten Verfahren werden die vorderen Hornhautschichten, also alle Schichten vor der Descemet-Membran verpflanzt.

Dementsprechend ist die DALK bei allen Erkrankungen indiziert, bei denen das Endothel intakt ist, wie z. B. der Keratokonus, der Hauptindikation dieses Verfahrens. Der bedeutendste Vorteil dieser Technik liegt darin, dass postoperativ keine endothelialen Immunreaktionen auftreten, da das eigene Endothel erhalten bleibt [14]. Mögliche Risiken dieser technisch anspruchsvollen Methode sind etwa intraoperative Verletzungen der Descemet-Membran und des Endothels, postoperativ sind eine frühzeitige Fadenlockerung, Wundheilungsstörungen oder Astigmatismus möglich [14].

#### **Posteriore lamelläre Keratoplastik**

Im Gegensatz zu den vorderen Teiltransplantationen ist die posteriore lamelläre Keratoplastik ein geeignetes Verfahren bei Zuständen mit eingeschränkter Endothelzellfunktion, wie z. B. der Fuchs-Dystrophie oder bei Endothelzellversagen nach einer Keratoplastik [41]. Angestrebt wird dabei eine Verpflanzung von Descemet-Membran und Endothel. Technisch stehen dabei mit der *descemet's stripping automated endothelial keratoplasty* (DSAEK) und der *descemet membrane endothelial keratoplasty* (DMEK) zwei unterschiedliche Verfahren zur Verfügung.

**DSAEK** – Bei diesem Verfahren besteht die Transplantatlamelle aus einer dünnen Schicht des hinteren Stromas, der Descemet-Membran sowie der Endothelschicht. Im Rahmen der DSEK wurde das Transplantat manuell abgelöst. Da dieser technisch anspruchsvolle Eingriff häufig zu

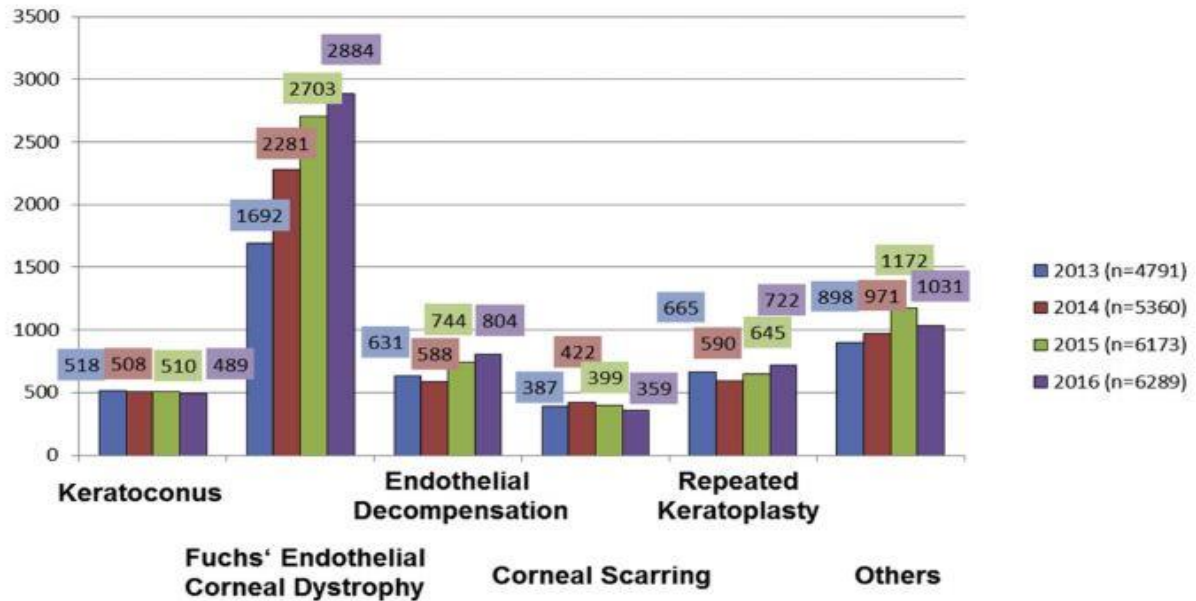
Präparationsverlusten führte, stellte die Einführung des Mikrokeratoms eine deutliche Verbesserung des Standards im Sinne einer Automatisierung (DSAEK) dar. Das Transplantat wird anschließend mittels einer Luftblase nahtfrei an der Rückfläche der Wirtshornhaut fixiert [41]. Daher finden sich kaum fadenassoziierte Komplikationen nach DSAEK. Weitere Vorteile sind die schnelle visuelle Rehabilitation, die geringe Inzidenz intraoperativer Komplikationen sowie das – auf Grund der intakten Stromalamelle – seltenere Auftreten eines postoperativen Astigmatismus [13].

**DMEK** – Bei der DMEK, die eine Weiterentwicklung der DSAEK darstellt, werden Descemet-Membran und Endothel völlig stromafrei transplantiert. Daher ist die verpflanzte Lamelle mit einer Stärke von etwa 15 µm wesentlich dünner als bei der DSAEK. Diese dünne Membran wird beispielsweise über einen Kataraktshooter durch eine kleine Inzision ins Empfängerauge verbracht, dort entfaltet und ebenfalls mit Luft oder Schwefelhexafluorid (SF<sub>6</sub>), einem reaktionsträgen Gas fixiert. Eine Schwachstelle der Methode ist das mögliche Auftreten einer Transplantatdislokation, die eine erneute Luft-, bzw. Gasauffüllung der Vorderkammer zur Refixierung des Transplantats notwendig macht [41]. Von Vorteil ist neben dem geringen operativen Trauma und der nahtfreien Fixierung die zügige und refraktionsneutrale Visusrehabilitation, die laut einer Metaanalyse aus dem Jahr 2018 auch den guten visuellen Ergebnissen der DSAEK überlegen ist [7,13,42].

### 3.3 Indikationen für eine Keratoplastik

Viele verschiedene Ursachen können eine Keratoplastik erforderlich machen. Nach einer Publikation von Flockerzi et al. aus dem Jahr 2018 stellt die Fuchs-Dystrophie im beobachteten Zeitraum zwischen 2013 und 2016 die mit Abstand häufigste Indikation zur Keratoplastik dar (Abb. 4). Der zweithäufigste Anlass war die Dekompensation des Endothels, dicht gefolgt von der Re-Keratoplastik.

## Indications for Keratoplasties in Germany 2013-2016



**Abb. 4:** Indikationen der Keratoplastik in Deutschland von 2013-2016 [24]

### 3.3.1 Fuchs-Hornhautdystrophie

Der Begriff „Hornhautdystrophien“ dient als Sammelbegriff für verschiedenartige erbliche, bilaterale und progressive Krankheitsbilder, die alle mit Störungen des Hornhautstoffwechsels einhergehen und Trübungen der Hornhaut zur Folge haben [28,38]. Diese Krankheitsbilder wurden 2008 erstmals nach festgelegten Kriterien klassifiziert und werden seitdem nach dem Kenntnisstand des zugrundeliegenden Mechanismus in vier Gruppen eingeteilt [38].

Die 1910 erstmals beschriebene Fuchs-Hornhautdystrophie ist die häufigste Entität aus dem Komplex der Hornhaut-Dystrophien und betrifft primär die Zellen des Endothels [25,28]. Die krankhaften Prozesse beginnen meist im mittleren Lebensalter im Sinne einer Verminderung der Endothelzellzahl sowie warzenartiger Veränderungen der Descemet-Membran durch abnorme Endothelzellprodukte [56]. Letztere, als Cornea guttata bezeichneten Veränderungen, beeinträchtigen den Patienten in der Regel nicht. Mit dem weiteren Zugrundegehen des Endothels entfällt dessen

entquellende Funktion, was ein visusrelevantes Ödem in Stroma und Epithel zur Folge hat. In fortgeschrittenen Stadien kann es neben den Hornhauttrübungen zu einer blasenförmigen Abhebung des Hornhautepithels, der sogenannten bullösen Keratopathie kommen. Das Aufplatzen dieser Blasen ist für den Patienten sehr schmerzhaft und bedingt zusätzlich korneale Erosionen. Darüber hinaus kommt es im späten Verlauf der Fuchs-Dystrophie zum fibrotischen Umbau des Hornhautstromas, was zu einem weiteren Transparenzverlust führt [28,73]. Letzten Endes ist eine – heutzutage meist posterior lamelläre – Keratoplastik die Therapie der Wahl.

### 3.3.2 Keratokonus

Innerhalb verschiedener nationaler Register wird die Rate des Keratokonus als Indikation für eine penetrierende Keratoplastik zwischen 8% und 45,6% angegeben [24,31,69,80]. Dabei lag der Anteil in Deutschland laut der Sektion Kornea der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft für das Jahr 2016 bei 8%. Trotz dieses im internationalen Vergleich geringen Anteils zählt der fortgeschrittene Keratokonus zu den Hauptindikationen für eine perforierende Keratoplastik. Im Langzeitverlauf eines Keratokonus müssen bis zu zwei Drittel aller Patienten – 64,2 % nach einer Studie von Sray et al. – an mindestens einem Auge mit einer perforierenden Keratoplastik versorgt werden.

Als Keratokonus bezeichnet man per Definition eine „kegelförmige, meist bilaterale Verkrümmung des Hornhautzentrums mit Trübung des Parenchyms und Hornhautverdünnung“ [34].

Pathophysiologisch scheint eine Schwäche des Hornhautkollagens vorzuliegen [56]. Trotz intensiver Studien sind die Ursachen dieser Veränderung noch nicht abschließend geklärt. Neben einer nachgewiesenen genetischen Komponente werden auch übermäßige mechanische Belastung – zum Beispiel durch Augenreiben – und der Einfluss von Umweltfaktoren diskutiert. Bei einem Teil der Patienten besteht eine allergische Prädisposition, häufig ist der Keratokonus auch mit komplexen Erkrankungen wie Trisomie 21, Marfan-, Ehlers-Danlos und Turner-Syndrom assoziiert [28]. Die Veränderungen der Hornhaut beginnen meist zwischen dem 15. und 30. Lebensjahr und zeigen

Progredienz im Verlauf. Der Patient bemerkt zunächst eine Sehinderung, die aus der Brechkraftzunahme durch die Kegelbildung resultiert. Diese Myopisierung ist in sehr frühen Stadien noch durch Minusgläser korrigierbar [56]. Im Verlauf sind formstabile Kontaktlinsen das Mittel der Wahl [28,56]. Mit zunehmender Wölbung des Hornhautkegels ist ein zufriedenstellender Sitz der Kontaktlinsen allerdings nicht mehr gewährleistet, so dass in diesen Fällen die Indikation zur perforierenden Keratoplastik oder DALK gestellt wird.

Eine Komplikation ist der sogenannte akute Keratokonus. Dabei kommt es durch den Einfluss der Krümmung zum Einriss von Hornhautendothel und Descemet-Membran. In der Folge kommt es durch das Eindringen von Kammerwasser ins Stroma zu einer Hornhauttrübung, die sich klinisch durch eine akute, schmerzhaft Visusverschlechterung, Photophobie sowie starken Tränenfluss bemerkbar macht [56].

### 3.3.3 Re-Keratoplastik

Auch eine initial erfolgreiche Keratoplastik kann aus verschiedenen Gründen eine zweite Transplantation erforderlich machen. Die häufigste Ursache hierfür ist die Hornhaut-Endothel-Epithel-Dekompensation (HEED), die sowohl auf dem Boden der Grunderkrankung als auch im Sinne einer endothelialen Abstoßungsreaktion auftreten kann [19]. Auch refraktive Probleme wie ein hoher irregulärer Astigmatismus können einen erneuten Eingriff erfordern. Nach einer Studie von Al-Mezaine und Waggoner ist dabei der Keratokonus als initiale Indikation mit dem höchsten Transplantatüberleben nach Re-Keratoplastik vergesellschaftet [3].

Allgemein ist die Prognose bei einer Re-Keratoplastik meist schlechter als beim Ersteingriff, bei sorgfältiger Indikationsstellung und Fallauswahl sind dennoch gute Ergebnisse möglich [3].

### 3.3.4 Keratitiden

Die Hornhaut verfügt über verschiedene Mechanismen, um sich trotz permanenten Kontaktes zur

Außenwelt vor Erregern zu schützen. Dazu zählt neben dem reflektorischen Lidschluss auch die Tränenflüssigkeit, die neben ihrer mechanischen Spülfunktion auch antimikrobielles Lysozym enthält. Des Weiteren bildet das hydrophobe Hornhautepithel eine Diffusionsbarriere, die – mit Ausnahme von Gonokokken und Diphtheriebakterien – für Bakterien nicht überwindbar ist [28,34]. Sind diese Abwehrmechanismen im Rahmen von oberflächlichen Verletzungen oder Epitheldefekten eingeschränkt, so kann es zum Durchbrechen von Erregern ins bradytrophe Hornhautgewebe kommen. Dies hat eine jeweils erregertypische Keratitis zur Folge [34].

Mögliche Erreger von Hornhautinfektionen sind Bakterien, Viren, Akanthamoeben und Pilze, über 90% aller erregerbedingten Keratitiden sind jedoch bakteriell verursacht [34]. Nach dem Eindringen des Erregers und Keimbeseidlung des Stromas kommt es durch Infiltration von Immunproteinen zu Trübungen der Hornhaut, evtl. auch zu einem Hypopyon als Folge des Reizzustands. Im Zuge des Einschmelzens des Stromas ist zuletzt nur noch die Descemet-Membran intakt. Bei weiterem Fortschreiten der Entzündung kann diese perforieren und Kammerwasser fließt aus der Vorderkammer ab. Dieses perforierte Ulkus ist eine Indikation zur sofortigen Operation, einer sogenannten *Keratoplastik à chaud* [34].

### 3.3.5 Verletzungen der Hornhaut

Wie stromale Verletzungen an anderen Stellen des Körpers heilen auch solche an der Hornhaut nur unter der Bildung von Narben ab. Da Hornhautnarben, insbesondere wenn diese zentral liegen, die Sehschärfe beeinträchtigen, erfordern Verletzungen der Hornhaut im Anschluss an die Akutphase häufiger eine Keratoplastik.

Ursächlich können z. B. penetrierende Verletzungen des Auges vorliegen. Diese treten typischerweise im Rahmen von Arbeiten mit Hammer und Meißel, rotierenden Maschinen oder Explosionen auf [56]. Gefürchteter als penetrierende oder perforierende Verletzungen sind jedoch Verätzungen, die zu den gravierendsten Notfällen in der Ophthalmologie zählen. Laugenverätzungen sind auf Grund ihres Eindringens in die Tiefe dabei gefährlicher als Verätzungen mit Säuren. Der Kontakt mit Säure

bedingt eine Koagulationsnekrose, die jedoch eine Barriere darstellt und das Eindringen der Säure in tiefere Schichten des Auges verhindert [28,56].

Laugenverätzungen, die häufig durch Kalk oder Putz im Rahmen von Malerarbeiten verursacht werden, führen zu einer Kolliquationsnekrose, d.h. es kommt zur Hydrolyse der kornealen Strukturproteine. Dies erlaubt ein Eindringen der ätzenden Substanz in die Tiefe. In der Folge kann es auch durch eine Alkalisierung des Kammerwassers zu massiven intraokulären Schädigungen, sekundären Glaukomen oder einer Katarakt kommen [28,56].

Da die Schädigung tieferer Schichten des Auges zu einer Gefäßeinsprossung führt, ist eine Keratoplastik nach schweren Verätzungen nicht unkompliziert. Da die Neovaskularisation mit einem deutlich höheren Abstoßungsrisiko einhergeht, muss nach der Keratoplastik in Folge einer Verätzung lange immunsuppressiv behandelt werden [28,56].

### 3.4 Die Hornhautbank

Bereits seit Jahrhunderten beschäftigen sich Menschen mit der Idee, die menschliche Hornhaut eines Auges auf ein krankes Auge zu verpflanzen. Doch nicht immer war bei Bedarf eine entsprechende Hornhaut verfügbar. Motiviert von der Idee, Hornhäute zur Transplantation vorrätig halten und im Bedarfsfall einsetzen zu können wurden verschieden Methoden zur Lagerung der Hornhäute versucht. So gelang es Magitot 1911, eine Hornhaut erfolgreich zu verpflanzen, nachdem sie 8 Tage bei etwa 5°C in hämolysiertem Blut aufbewahrt wurde. Nachdem Filatov 1927 erstmals postmortal entnommenes Gewebe erfolgreich transplantiert hatte, war das Prinzip der Hornhautbank geschaffen [18]. Die erste ihrer Art wurde unter der Leitung von Richard Townley Paton 1944 in New York eröffnet, und zog im Laufe der Zeit zahlreiche weitere Gründungen nach sich. Netzwerke bildeten sich aus [46].

Nach einer weltweiten Erhebung von Philippe Gain und Kollegen wurden im Jahre 2012 184.576 Hornhauttransplantationen in 116 Ländern durchgeführt. Dafür wurden 283.530 Hornhäute aus



742 Hornhautbanken bereitgestellt [26].

Nachdem 1982 in Hamburg die erste Hornhautbank auf deutschem Boden eröffnet wurde, existieren laut der European Eye Bank Association (EEBA) in Deutschland aktuell 28 Hornhautbanken, an denen pro Jahr etwa 9000 Keratoplastiken durchgeführt werden [12,15,72]. Die Hornhautbank an der Augenklinik der Universität des Saarlandes wurde im April 2000 eröffnet. Im Jahr 2023 wurden hier insgesamt 686 Hornhauttransplantationen durchgeführt. Seit der Eröffnung der Hornhautbank im Jahr 2000 erfolgten bis einschließlich 2023 nach eigenen, nicht veröffentlichten Daten 7536 Verpflanzungen.

### 3.4.1 Rechtliche Grundlagen

Die Spende und Transplantation von menschlichem Gewebe sind in Deutschland durch das „Gesetz über Qualität und Sicherheit von menschlichen Geweben und Zellen“, umgangssprachlich auch „Gewebegesetz“ genannt, geregelt. Dieses trat zum 01. August 2007 in Kraft und dient der Umsetzung der EU-Geweberichtlinie 2004/23/EG. Gemäß der Richtlinie sollen EU-weit einheitliche Qualitäts- und Sicherheitsstandards für Gewebe bezüglich Spende, Beschaffung, Testung, Verarbeitung, Konservierung, Lagerung und Verteilung geschaffen werden. Dafür nimmt die EU-Richtlinie Einfluss auf Arzneimittelgesetz (AMG), Transplantationsgesetz (TPG), Transfusionsgesetz (TFG), Apothekenbetriebsordnung (ApBetrO) sowie Betriebsverordnung für Arzneimittelgroßhandelsbetriebe (AM-HandelsV).

Darüber hinaus formuliert die Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich-Institut seit 2014 gemäß § 16b Transplantationsgesetz eine „Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank“, die zuletzt 2018 novelliert wurde [6,10].

Die verschiedenen Bereiche, die durch diese Richtlinie geregelt sind, werden im Folgenden erläutert.

### 3.4.2 Einwilligung und Eignung des Spenders

Gemäß §§ 3 und 4 TPG dürfen Augenhornhäute nur bei einem Spender entnommen werden, der zu Lebzeiten aktiv der Gewebespende zugestimmt hat, oder dessen Angehörige postmortal im Sinne des Verstorbenen schriftlich in die Entnahme eingewilligt haben. Der Tod des Spenders muss nach den Richtlinien der Bundesärztekammer zur Feststellung des irreversiblen Hirnfunktionsausfalls zweifelsfrei bestätigt sein [10].

Der zeitliche Ablauf der Gewebeentnahme ist dahingehend geregelt, dass zwischen dem Todeszeitpunkt des Spenders und dem Eingehen der Hornhäute in das entsprechende Kulturmedium maximal 72 Stunden vergehen dürfen. Im Falle einer Kurzzeitkonservierung des Gewebes beträgt der zulässige Zeitraum 16 Stunden.

Von jedem Spender wird des Weiteren eine möglichst genaue Untersuchung auf Infektionsparameter angestrebt, gesetzliche Mindestanforderung ist dabei die Untersuchung auf

**HIV 1 und 2** (über Anti-HIV-1 und -2)

**Hepatitis B** (über HBsAg und Anti-HBc)

**Hepatitis C** (über Anti-HCV, HCV-NAT) sowie

**Syphilis** (über einen validierten Test-Algorithmus) [10].

Dabei müssen bei verstorbenen Spendern bis zu sieben Tage vor dem Tod entnommene Proben genutzt werden. Ist dies nicht möglich müssen die Blutproben innerhalb von 24 Stunden nach Eintritt des Todes entnommen werden [10]. Insgesamt sind im TPG fest definierte Ausschlusskriterien benannt, zu denen neben der Überschreitung der oben genannten zeitlichen Fristen auch eine unklare Todesursache, zentralnervöse Erkrankungen unklarer Genese (wie M. Alzheimer, M. Parkinson, ALS oder Multiple Sklerose), ein Risiko für Prionenerkrankungen oder aktive systemische Infektionen zählen [10]. Als geeignete Spender gelten demnach Verstorbene, bei denen kein Ausschlusskriterium vorliegt und bei denen nach Beurteilung der Hornhautmorphologie eine physiologische Endothelfunktion zu erwarten ist.

### 3.4.3 Entnahme und Transport

Auch die Entnahme des Gewebes und dessen Transport in die lagernde oder verarbeitende Einrichtung sind gesetzlich festgeschrieben. Die personelle Zuständigkeit obliegt laut Transplantationsgesetz Ärzten oder speziell qualifizierten Personen, die den entsprechenden Eingriff nach fachlicher Anweisung eines Arztes unter dessen Verantwortung durchführen. Die räumliche Gestaltung der Entnahme ist hingegen frei wählbar. So sind Entnahmen sowohl innerhalb von Räumlichkeiten des der Hornhautbank angeschlossenen Krankenhauses möglich, allerdings ist die Gewebeentnahme auch in pathologischen Instituten oder Bestattungsunternehmen zulässig. Der Einsatz eines „mobilen Entnahmeteam“ ist dabei ausdrücklich gestattet. Allerdings sollte grundsätzlich darauf geachtet werden, dass der genutzte Raum einer Zugangsbeschränkung unterliegt und zum Zeitpunkt der Entnahme nicht parallel anderweitig genutzt wird, um einer Kontamination vorzubeugen [10].

Abgesehen von der räumlichen Situation sollte die Entnahme bezüglich der hygienischen Bedingungen und den verwendeten Materialien den Standards eines ophthalmochirurgischen Eingriffs am Lebenden entsprechen. Dazu gehören die ordnungsgemäße Desinfektion und sterile Kleidung des Personals, sowie die Verwendung steriler Instrumente und Entnahmebestecke [10]. Ferner muss von der ausführenden Person ein Entnahmebericht angefertigt werden, der die Umstände des Eingriffs wie Spenderidentität, Beschreibung der entnommenen Gewebe, Daten der Hornhautbank oder Chargennummern der verwendeten Reagenzien dokumentiert [60].

Beim Transport der entnommenen Gewebe liegt das Hauptaugenmerk auf dem Schutz vor Kontamination und dem Erhalt der biologischen Funktionen. Etabliert hat sich der Transport in sterilen, luftdicht verschließbaren Schraubbehältern aus Kunststoff, die bei korneoskleralen Entnahmen mit einem Kulturmedium, bei kompletten Eukleationen mit physiologischer Elektrolytlösung gefüllt sind. Da sowohl die Morphologie als auch die biologische Funktion der Gewebe temperaturabhängig ist, kommt der Temperaturstabilität während des Transports entscheidende Bedeutung zu. Spenderhornhäute, die für eine Organkultivierung vorgesehen sind, können bei +10

bis +40°C transportiert werden, wobei die regelmäßige Kontrolle der Temperatur zu den Aufgaben der Hornhautbank gehört [60].

#### 3.4.4 Kultivierung und Kontrolle

Im Wesentlichen existieren mit der Kryokonservierung, der hypothermen Lagerung und der Organkultur drei Verfahren zur Lagerung von Hornhäuten, die den Erhalt lebender Zellen ermöglichen. Im Folgenden werden diese Verfahren kurz vorgestellt.

**Kryokonservierung:** Bei diesem Verfahren werden lebende Gewebe durch Einfrieren in flüssigem Stickstoff haltbar gemacht. Die Kryokonservierung ist aktuell das einzige Verfahren, das eine unbegrenzte Lagerzeit ermöglicht. Allerdings ist dieses Verfahren auf Grund nicht einschätzbarer Schädigungen des Endothels aus der täglichen Routine verschwunden. Einen Stellenwert hat die Kryokonservierung bei Notfallindikationen, wenn die Verfügbarkeit eines geeigneten Transplantats der entscheidende Faktor zur Rettung des Auges ist [9].

**Hypotherme Lagerung:** Die Kultivierungsbedingungen der Hypothermie sehen die Lagerung des Gewebes im geschlossenen System bei normaler Raumluft in einem Temperaturbereich zwischen +1 und +10°C vor. Etabliert ist eine Lagerung bei einer konstanten Temperatur von +4°C. Hinter diesem Verfahren steht das Prinzip, dass sich durch die Kälte der Bedarf an Stoffwechselenergie reduzieren lässt. Da die niedrige Temperatur jedoch auch negative Auswirkungen auf die Zellen hat, beträgt die maximal zulässige Lagerungsdauer 14 Tage. Während in Westeuropa die Organkultur weiter verbreitet ist, kommt die hypotherme Lagerung in amerikanischen Hornhautbanken regelhaft zur Anwendung [60]. Von Vorteil ist dabei die technisch und finanziell anspruchsarme Kühlschranks-Lagerung. Da die Hornhaut nicht quillt ist eine Untersuchung per Spiegelmikroskopie im Gefäß möglich, des Weiteren ist die Hornhaut bei Bedarf sofort verfügbar [47].

**Organkultur:** Laut einem Bericht der EEBA aus dem Jahr 2010 werden in Europa ca.70% der Spenderhornhäute in Organkultur genommen [60]. Als gebräuchlichstes Kulturmedium dient dabei minimal essential medium (MEM), ein in den Sechzigerjahren des letzten Jahrhunderts von Harry

Eagle entwickeltes Zellkulturmedium, welches unter anderem Vitamine, Salze, Aminosäuren und Glucose enthält [60,75]. Diesem wird häufig fetales bovines Serum (FBS) in 2%iger Konzentration, dazu Antibiotika und Antimykotika zugesetzt [47]. In Abhängigkeit von der Ausgangsmenge des Mediums muss dieses in einem festgelegten Zeitraum während der Kultivierung gewechselt werden. Je geringer dabei die initiale Menge ist, desto früher ist ein Wechsel indiziert [60].

Organkulturen im geschlossenen System können bei Raumluft zwischen +30 und +38°C vier Wochen lang gelagert werden. Zur Vorbereitung der Transplantation wird das Gewebe in ein dextranshaltiges Transport-, bzw. Entquellungsmedium verbracht. Da diese Lagerung vier Tage nicht überschreiten sollte ergibt sich aus 28 Tagen in Kultur und bis zu vier Tagen im Entquellungsmedium eine maximale Lagerungszeit von 32 Tagen, die auch in den Richtlinien der Bundesärztekammer festgeschrieben ist [10,60]. Diese lange Lagerungszeit ermöglicht es, Gewebe vorzuhalten und bei Bedarf flexibel einzusetzen. Ein zusätzlicher Vorteil der langen Lagerung ist die Möglichkeit, eine Kontamination der Hornhaut mit mikrobiellen Erregern vor der Transplantation zu erkennen. Diesen Vorteilen gegenüber stehen die höheren Kosten des Verfahrens sowie die Anforderungen an Technik und Personal [47].

Während der Kultivierung der Gewebe sind bestimmte Kontrolluntersuchungen gesetzlich vorgeschrieben. So muss das Kulturmedium regelmäßig makroskopisch auf Anzeichen einer Kontamination geprüft werden. Derartige Anzeichen sind eine Trübung des Mediums, Ablagerungen im Behältnis oder ein Farbumschlag des im Medium enthaltenen Indikators. Des Weiteren ist sowohl während der hypothermen Lagerung als auch der Organkultur eine mikrobiologische Untersuchung des Kulturmediums vorgesehen. Im Falle der Organkultur sollte die erste Entnahme des Mediums an Tag  $5 \pm 2$  erfolgen, ein äquivalenter Test sollte auch bei kurzzeitkultivierten Hornhäuten erfolgen [60].

Da bei den verwendeten Geweben trotz einer Desinfektion nach der Entnahme (z. B. mit Povidon-Jodlösung) keine Sterilität zu erreichen ist, werden dem Kulturmedium auch Antibiotika und Antimykotika zugesetzt. Zwischen Desinfektion und Antibiotikakontakt muss deshalb eine Probe vom

Gewebe entnommen werden, da zu diesem Zeitpunkt die mikrobiellen Verhältnisse des Gewebes repräsentativ darstellbar sind. Diese Probe kann aus Spülflüssigkeit oder einer Gewebeprobe der Sklera gewonnen werden, gängig ist auch die Durchführung eines Bindehautabstrichs. Seit der ersten Fortschreibung der Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank im Frühjahr 2018 sind die Ergebnisse dieser Bindehautabstriche jedoch nicht mehr als relevant bezüglich der Freigabe der Hornhaut anzusehen und ihre Durchführung ist damit nicht mehr verpflichtend [60].

In der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar wurden die Bindehautabstriche bei der Hornhautentnahme im Rahmen der internen Qualitätssicherung jedoch bis zum 21. Januar 2020 – also über die gesetzliche Anforderung hinaus – als zusätzliche Sicherheitsmaßnahme durchgeführt.

Neben diesen mikrobiologischen Kontrollen muss das eingelagerte Gewebe während der Kultivierung mindestens einmal qualitativ untersucht werden. Dies geschieht im Sinne einer mikroskopischen Untersuchung der Endothelzellschicht, vorzugsweise kurz vor der Transplantation an der entquollenen Hornhaut. Dabei muss die gesamte Endothelfläche beurteilt und die zentrale Endothelzeldichte durch eine geeignete Zählmethode ermittelt werden [60].

### 3.4.5 Freigabe der Hornhaut

Die Freigabe von Hornhäuten ist gemäß §38 Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung (AMWHV) an zwölf bestimmte Kriterien geknüpft.

1. Vollständige und unauffällige Kontraindikationsprüfung des Spenders
2. Vorliegende Einwilligung des Spenders
3. Weniger als 72 Stunden Postmortalzeit (bei Kurzzeitkultivierung 16 Stunden) bis zum Beginn der Kultivierung
4. Negative serologische bzw. molekularbiologische Diagnostik des Spenders
5. Negative Testung der Gewebe während der Entnahme oder Nachweis von Kontamination in diesen

Proben mit entsprechender Risikobewertung

6. Spender, bei denen eine bakterielle Endokarditis dokumentiert wurde, müssen frei von den daran beteiligten Erregern sein
7. Negativer mikrobiologischer Befund des Kulturmediums
8. Keine relevanten, mikroskopisch sichtbaren pathologischen Veränderungen des Gewebes (z. B. Stromatrübungen, Ablösung der Descemet-Membran)
9. Ausreichende Endothelzellvitalität und -morphologie (keine Endothelzellnekrosen oder kein Verlust von mehr als 25% der Endothelzellen während der Kultivierung)
10. Definierte Endothelzellqualität (bei zentraler Endothelzelldichte über 2000 Endothelzellen pro mm<sup>2</sup> Verwendbarkeit für alle Verfahren, bei weniger als 2000 Endothelzellen pro mm<sup>2</sup> in der Endkontrolle ist nur vordere lamelläre KP, tektonische KP, Stroma-Patch und pKP zum temporären Hornhautersatz zulässig)
11. Ordnungsgemäße Kennzeichnung der Behältnisse
12. Die Gesamtlagerdauer darf 32 Tage bei organkultivierten und 14 Tage bei hypotherm gelagerten Spenderhornhäuten nicht überschreiten.

Gemäß §20c AMG darf die Freigabe von Spenderhornhäuten durch die verantwortliche Person oder deren Vertreter erst erfolgen, wenn alle genannten Anforderungen erfüllt sind [60].

#### 3.4.6 Verwerfungsgründe

Verschiedene Gründe können die Transplantierbarkeit einer entnommenen Hornhaut einschränken oder gar unmöglich machen. Die mit 39% häufigste Ursache einer Verwerfung war deutschlandweit im Jahre 2022 die eingeschränkte Qualität des Gewebes. Insbesondere Mängel am Hornhautendothel, die sich durch niedrige Zellzahlen oder großflächige Nekrosen, objektivieren lassen sind hier von Bedeutung. Auffälligkeiten in den gesetzlich vorgeschriebenen serologischen Untersuchungen stellen mit 20% den zweithäufigsten Grund einer Transplantatverwerfung dar. Als dritter bedeutsamer Punkt ist mit 13% die Kontamination zu nennen, wobei bis zur letzten Novellierung der Richtlinie zur

Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank im Frühjahr 2018 sowohl ein Erregernachweis im Bindehautabstrich als auch eine Infektion des Kulturmediums eine Verwerfung notwendig machen konnten [50]. Seit der Fortschreibung der Richtlinie sind Bindehautabstriche für die Freigabe der Hornhaut nicht mehr relevant und ausschließlich die Beurteilung des Kulturmediums von Belang [43].

Als seltenere Ursachen kommen beispielsweise technische Gründe in Betracht. So kann es sowohl bei der Prozessierung der Hornhäute vor der Transplantation, als auch bei der Vorbereitung des Transplantats im OP zur Ruptur desselben kommen. Ein weiterer technischer Verwerfungsgrund ist eine frustrane Blutentnahme beim Spender, da so keine ausreichende serologische Untersuchung durchgeführt werden kann, und eventuelle Kontraindikationen nicht sicher ausgeschlossen werden können.

### 3.5 LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz

Die vorliegende Arbeit vergleicht die Verwerfungsraten der entnommenen Hornhäute an der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz an der Augenklinik der Universität des Saarlandes in den Jahren 2017/18 mit denen ab dem 04.02.2019. An diesem Tag ging in den neu gebauten Räumlichkeiten die erste Hornhaut in Kultur. Diese neuen Räumlichkeiten entsprechen dabei den Anforderungen der höchsten Reinraumklasse nach DIN EN ISO 14644. Um die Unterschiede zwischen den räumlichen Gegebenheiten im Beobachtungszeitraum deutlicher zu machen werden beide Arbeitsplätze im Folgenden erörtert.

#### 3.5.1 Hornhautbank bis 2018

Bis Februar 2019 standen der Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz an der Augenklinik der Universität des Saarlandes lediglich zwei Räume mit einer Größe von etwa je 12 qm zur Verfügung.



Ein Raum erfüllte vorwiegend bürokratische Zwecke. In diesem, in Abbildung 5 dargestellten Raum, dienten mehrere PC-Arbeitsplätze der Organisation und Verwaltung der Hornhautbank.



**Abb. 5:** Büroraum der alten Hornhautbank

Am Übergang von diesem Büro- zum eigentlichen Arbeitsraum war ein Desinfektionsmittelspender installiert. Nach einer hygienischen Händedesinfektion wurden hier Einmalhandschuhe und -kittel über die Arbeitskleidung angelegt. Die Arbeitskleidung der Mitarbeiter bestand entweder aus von der Klinik bereitgestellter Bereichskleidung in Form von Hose und Kasack oder eigener Bekleidung und Kittel [8]. Ergänzend wurden OP-Haube und unsteriler Mundschutz angezogen. So wurde der eigentliche Arbeitsraum betreten, der in Übereinstimmung mit der Norm EN ISO 14664-1 einem Reinraum der Klasse D entsprach. Die Klassifikation der Reinräume orientiert sich dabei unter anderem an der maximal zulässigen Anzahl von Partikeln einer definierten Größe in der Umgebungsluft, die Tabelle 1 zu entnehmen sind.

	Maximal erlaubte Partikelzahl pro m <sup>3</sup> (gleich oder größer als die aufgeführte Größe)			
	Ruhezustand		Betriebszustand	
Klasse	0,5 µm	5,0 µm	0,5 µm	5,0 µm
A	3520	20	3520	20
B	3520	29	352.000	2900
C	352.000	2900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	Nicht festgelegt	Nicht festgelegt

**Tab. 1:** Klassifizierung von Reinräumen und Reinluftanlagen nach Partikelzahl

Die Bearbeitung der Hornhäute im Arbeitsraum fand innerhalb der speziellen Sicherheitswerkbank *HeraSafe HS 12* der Firma Heraeus (Heraeus GmbH, Hanau) statt (Abb. 6). In dieser mikrobiologischen Werkbank der Klasse 2 wird die Luftqualität von mehreren Filtern und einem Luftführungsschema reguliert [32]. Somit entspricht die Partikelanzahl innerhalb der Sicherheitswerkbank einem Reinraum der Klasse A nach der Norm EN ISO 14664-1. Der in der Richtlinie zur Führung einer Hornhautbank der Bundesärztekammer Vorgabe, in der „die Eignung der Sicherheitswerkbank als Reinraum der Klasse A und die Eignung des umgebenden Raumes als Reinraum der Klasse D“ wörtlich fixiert ist, wurde also entsprochen [10].



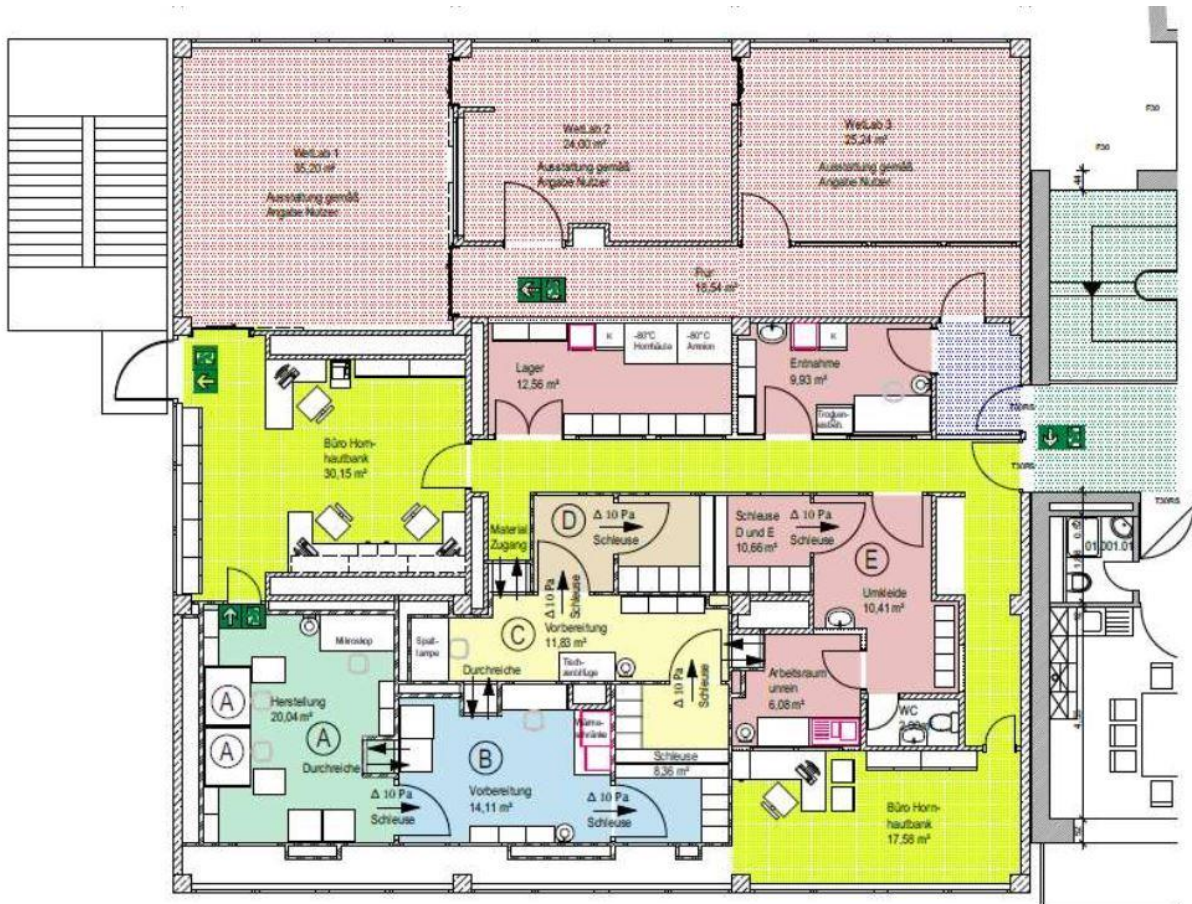
**Abb. 6:** Arbeitsraum der alten Hornhautbank mit der verwendeten Sicherheitswerkbank *HeraSafe HS 12* (Pfeil)

Gelagert wurden die Hornhäute im Brutschrank *HeraCell* der Firma Heraeus (Heraeus GmbH, Hanau). Innerhalb des Brutschranks ist die Partikelanzahl nicht reguliert, auch die Überführung der Transplantate in die Sicherheitswerkbank bedingte Kontakt zur Raumluft.

### 3.5.2 Hornhautbank ab 2019

Am 04.02.2019 wurden die neu geschaffenen Räumlichkeiten des Klaus Faber Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank in Betrieb genommen. Diese umfassen insgesamt etwa 250 qm und wurden nach einem Konzept der Firma *ap-systems Reinraumtechnik* (ap-systems, Reutlingen) gebaut.

Die so entstandene Reinraumanlage (Abb. 7) umfasst Reinräume vom Good Manufacturing Practice (GMP) Grad E – ohne Mindestanforderungen an mikrobiologische Parameter – bis hin zu Reinräumen vom GMP Grad A.



**Abb. 7:** Grundriss der Hornhautbank mit Kennzeichnung der Reinraumklassen („Schalenkonzept“), mit freundlicher Genehmigung von ap-systems, Reutlingen

Die Anordnung der Räume folgt dabei einem Reinheitszonenkonzept, auch Schalenkonzept genannt, welches der Kontaminationskontrolle dient. Dieses besagt, dass reine Bereiche von unreinen abgeschlossen oder nur von Bereichen der nächstniedrigeren Reinheitsklasse umgeben sind. Die Einteilung der Reinraumklassen richtet sich neben der bereits erwähnten Partikelanzahl in der Luft auch nach vorgegebenen mikrobiologischen Limits und bestimmten Luftwechselraten, die in Tabelle 2 dargestellt sind. Hier werden zulässige Höchstmengen an „koloniebildenden Einheiten (KBE) pro m<sup>3</sup>“ festgelegt.

Reinraumklasse	Luftprobe KBE/m <sup>3</sup>	Sedimentations- platten (Ø 90 mm) KBE/ 4 Std.	Kontakt- platten (Ø 55 mm) KBE/ Platte	Handschuh- abdruck KBE/ Hand- schuh	Mindestluft- wechsel (1/ h)
A	<1	<1	<1	<1	80
B	10	5	5	5	60
C	100	50	25	-	30
D	200	100	50	-	15

**Tab. 2:** Mikrobiologische Limits und vorgeschriebene Luftwechselraten in Reinräumen

Die Lüftungsanlage im 20,04 qm großen Herstellungsraum entspricht dabei mit bis zu 170-fachem Luftwechsel pro Stunde den Standards der Kategorie A.

Ergänzend zum Schalenkonzept zur Kontaminationskontrolle und den Luftwechselraten unterliegt die Nutzung der Reinräume einem Bekleidungskonzept. Dieses sieht nach dem Ablegen von Straßenbekleidung und -schuhen unter der Nutzung mehrerer Schleusen das Anlegen von Reinraumunterbekleidung, Haarnetz, Reinraumschuhen, Reinraumoverall sowie sterilen Handschuhen und einem sterilen Mundschutz vor. Während der Einkleidung sind mehrere hygienische Händedesinfektionen durchzuführen.

Durch das Zusammenspiel von Schalenkonzept, Hygienevorschriften und den jeweiligen Luftwechselraten ist die Einhaltung der Partikelreinheitsklassen der Luft sowie der mikrobiologischen Grenzwerte gewährleistet. Angesichts dieser unterschiedlichen räumlichen und hygienischen Bedingungen ist es möglich, dass sich korrelierend zur Umgebung während Lagerung und Prozessierung die Anzahl an Infektionen von Spenderhornhäuten im Kulturmedium verändert. Ziel dieser Arbeit war eine Auswertung, ob durch die verbesserten hygienischen Bedingungen eine Reduktion der kontaminationsbedingten Verwerfungen zu erreichen ist.



## 4 Material und Methodik

### 4.1 Transplantate

Das Beobachtungsgut der vorliegenden Arbeit ist die Gesamtheit aller zwischen dem 01.01.2017 und dem 04.02.2020 am Klaus-Faber-Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz organokultivierten Spenderhornhäute. Dabei handelt es sich um 1941 Hornhäute von 971 Spendern. Die Abweichung zwischen der Anzahl der Spender und der Anzahl der Hornhäute resultiert aus der Tatsache, dass ein Spender bereits einseitig enukleiert war und somit nur eine Hornhaut spenden konnte. Vor der Entnahme der Hornhäute lag in allen Fällen entweder eine Einwilligung des Spenders oder der Angehörigen vor. Das entnommene Gewebe wurde maximal 32 Tage bei 34° C im Kulturmedium eingelagert.

### 4.2 Definition der Zielgröße

Der primäre Endpunkt dieser Untersuchung bestand in der Verwerfung oder Transplantation einer Spenderhornhaut. Sollte sich kein Anlass zur Verwerfung ergeben haben, wurde die Hornhaut transplantiert. Als mögliche Verwerfungsgründe wurden folgende Ursachen festgelegt.

- Unzureichende Endothelqualität - bezogen auf Zelldichte und -qualität
- Hornhautnarben in der Spaltlampenuntersuchung
- Kontamination - nachgewiesen durch Abstrich oder Farbumschlag des Mediums
- Relevanter Keimnachweis im Bindehautabstrich
- Serologie - entsprechend der Untersuchung des Leichenbluts
- Vorliegen einer Kontraindikation - z. B. unklare ZNS - oder Prionenerkrankungen
- Technische Ursachen - z. B. Riss der Hornhaut im Rahmen der Präparation.

### 4.3 Studiendesign

Durchgeführt wurde eine retrospektive Analyse aus den Daten von 1941 Spenderhornhäuten. Erfasst wurden dabei alle Hornhäute, die in einem definierten Zeitraum in der LIONS Hornhautbank Saar-

Lor-Lux, Trier/Westfalz entnommen wurden. Diese wurden entsprechend des Ortes ihrer Lagerung und der damit verbundenen Rahmenbedingungen in zwei Gruppen unterteilt. Ein Kollektiv von 1262 Hornhäuten von 631 Spendern wurde zwischen dem 01.01.2017 und dem 03.02.2019 in den alten Räumen der Hornhautbank in Kultur genommen und prozessiert. Dieser Gruppe gegenübergestellt ist ein Kollektiv von 679 Hornhäuten von 340 Spendern, die zwischen dem 04.02.2019 und dem 03.02.2020 in den neuen Räumlichkeiten kultiviert und prozessiert wurden.

Zu den erhobenen Parametern gehören u.a. persönliche Daten des Spenders wie Geschlecht, Geburtsdatum, Todeszeitpunkt und -ursache. Relevante Daten aus dem Ablauf der Prozessierung sind die Zeitpunkte der Hornhautexplantation sowie der In-Kultur-Nahme. Auch qualitative Parameter wurden erfasst. Hierzu gehört die Zählung der Endothelzellen pro  $\text{mm}^2$  nach Entnahme und am siebten Tag in Kultur sowie die Beurteilung von Narben und kristallinen Auflagerungen. Bezüglich der Verwendung des Transplantats fließen Datum und Technik der Transplantation ein. War eine Verwerfung des Spendergewebes erforderlich, wurde das Datum der Verwerfung sowie deren Ursache erfasst, wobei die Verwerfungsgründe in Kategorien eingeteilt wurden.

#### 4.4 Vergleichbarkeit der Gruppen

Da sich die Betrachtungsdauer beider Gruppen mit zwei vs. einem Jahr unterscheidet, divergieren auch die absoluten Zahlen der beobachteten Hornhäute. In etwa analog zu den zeitlichen Verhältnissen liegen fast doppelt so viele Hornhäute ( $n=1262$ ) in der Gruppe der alten Hornhautbank vor. Die Anzahl von 679 beobachteten Hornhäuten in der Vergleichsgruppe der neuen Hornhautbank lässt jedoch auch eine belastbare Auswertung und damit einen Vergleich der beobachteten Parameter zu. Das Durchschnittsalter aller erfassten Spender lag bei  $73 \pm 14$  Jahren mit einer Spanne von 4 bis 103 Jahren und einem Median von 76 Jahren. In Gruppe 1 lag das Durchschnittsalter der Spender bei  $72 \pm 15$  und einem Median von 75 Jahren, die Spanne lag zwischen 4 und 103 Jahren. In Gruppe 2 betrug das durchschnittliche Alter der Spender  $74 \pm 14$  Jahre bei einem Median von 76 Jahren und einer

Spanne zwischen 17 und 98 Jahren ( $p=0.098$ ). Bezüglich der Geschlechterrelation wiesen beide Gruppen mit 59,1% ( $n=1150$ ) mehr männliche als weibliche Spender auf.

## 4.5 Erhobene Daten

Die Daten, die dieser Auswertung zu Grunde liegen, wurden retrospektiv erfasst. Sie entstammen der internen Dokumentation des Klaus-Faber-Zentrum für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz. Um den Anforderungen des Datenschutzes Rechnung zu tragen, wurden die Daten eines jeden Spenders durch eine fortlaufende Spendernummer pseudonymisiert. Die erhobenen Parameter lassen sich in Spender- und Transplantatvariablen einteilen.

### 4.5.1 Spendervariablen

Zu den Spendervariablen gehören zunächst Geburts- und Todesdatum des Spenders, mit deren Hilfe das Alter ermittelt werden kann. Aus dem Todeszeitpunkt und dem Zeitpunkt der In-Kultur-Nahme ist die post-mortem-Zeit zu bestimmen, die gemäß den gesetzlichen Vorgaben 72 Stunden nicht überschreiten darf. Ebenfalls den gesetzlichen Bestimmungen entsprechend wurden die Ergebnisse der serologischen Untersuchungen erfasst, die Voraussetzung zur Freigabe einer Spenderhornhaut sind. Dokumentiert werden auch die Todesursache, Entnahmeort und die entnehmende Person. Diese Parameter haben für die vorliegende Auswertung jedoch keine Relevanz und werden nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

### 4.5.2 Transplantatvariablen

Als Transplantatvariablen gelten Parameter, die selektiv eine einzelne Hornhaut betreffen. Dazu gehört die Beurteilung von Endothelzellzahl und Endothelqualität, da sich hieraus der Grund für eine



Verwerfung oder eine eingeschränkte Verwendbarkeit ergeben können. Weiterhin relevant sind die Ergebnisse von Bindehautabstrichen und Untersuchungen des Kulturmediums. Sollte sich hier eine Kontamination nachweisen lassen, wäre eine Verwerfung der betroffenen Hornhaut die Folge. Ebenso wird der Gesamtzeitraum in Kultur sowie – falls erforderlich – der Zeitpunkt der Umsetzung ins Entquellungsmedium erfasst. Zusätzlich werden der Linsenstatus und die Art der Verwendung dokumentiert. Da diese für die vorliegende Auswertung keine Relevanz haben, werden sie nur der Vollständigkeit halber erwähnt.

#### 4.6 Statistische Analyse

Die retrospektive Erhebung der Daten erfolgte mittels einer internen Microsoft Access-Datenbank der Klinik für Augenheilkunde am Universitätsklinikum des Saarlandes UKS in Homburg/Saar. Grundlage waren neben Aktenrecherche die Sichtung eines intranetbasierten Speicherprogramms der teilnehmenden Hornhautbank. Die erhobenen Daten wurden in eine Microsoft-Excel-Datei konvertiert, welche in das Statistikprogramm IBM SPSS übertragen wurde.

Die so generierte Tabelle enthielt final Daten von 971 Spendern und 19 auszuwertende Parameter.

Zur Auswertung wurden kategoriale Variablen numerisch kodiert (*Beispiel Gruppenzugehörigkeit:*

*1 = neue Hornhautbank, 2 = alte Hornhautbank*). Zur Durchführung der statistischen Analyse wurde

IBM (IBM, Armonk, NY, USA) SPSS Version 29 verwendet. Je nach Bedarf wurden ein T-Test, ein

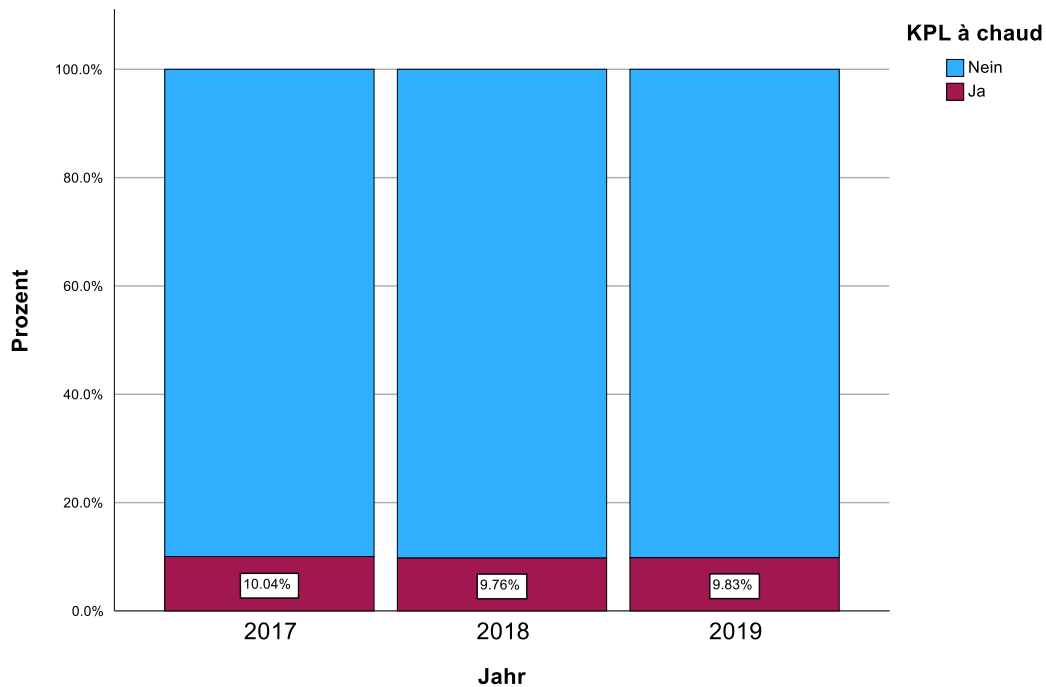
Mann-Whitney-U-Test, ein Chi-Quadrat-Test, eine Pearson-Korrelation sowie eine multiple

logistische Regression verwendet. Ein p-Wert  $<0,05$  wurde als statistisch signifikantes Ergebnis gewertet.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Verwerfungsraten und Keratoplastik à chaud

Insgesamt wurden von 476 endothelbedingt eingeschränkten Spenderhornhäuten 194 für Notfallindikationen freigegeben und à chaud transplantiert. In Gruppe 1 waren es 36,4% (n=121), in Gruppe 2 50,7% (n=73). Da sich hier wegen der ungleichen Beobachtungszeiträume kein Vergleich ziehen lässt, wurde der Anteil an Notfalltransplantationen pro Jahr berechnet und in Abbildung 8 dargestellt. Hier zeigt sich kein signifikanter Unterschied in den beobachteten Jahren.



**Abb. 8:** Anteil an Keratoplastik à chaud pro Jahr

### 5.2 Verwerfungsgründe

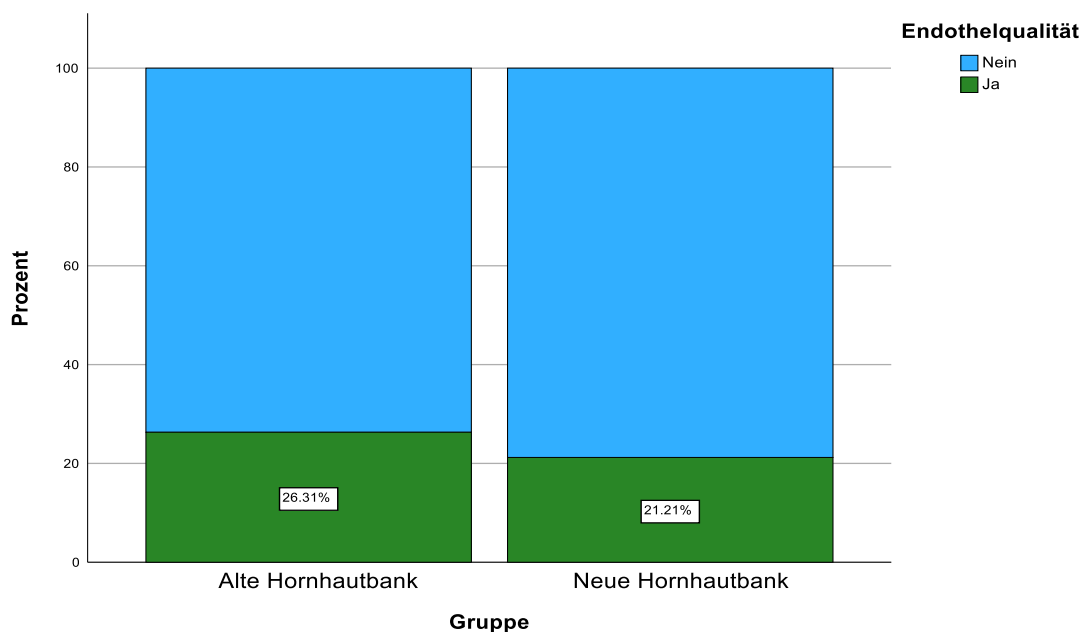
In der folgenden Tabelle 3 werden die Veränderungen der einzelnen definierten Verwerfungsgründe zwischen den beobachteten Gruppen abgebildet, bevor auf die jeweiligen Verwerfungsgründe einzeln eingegangen wird.

Verwerfungsgrund	Gruppe 1	Gruppe 2	Gesamt	p-Wert
Endothelqualität	n=332 (26,3%)	n=144 (21,2%)	476 (24,5%)	0,430
Serologie	n=87 (6,9%)	n=26 (3,8%)	113 (5,8%)	0,020
Technische Gründe	n=20 (1,6%)	n=21 (3,1%)	41 (2,1%)	0,064
Bindehautabstrich	n=106 (8,4%)	n=51 (7,5%)	157 (8,1%)	0,489
Kontamination	n=51 (4%)	n=27 (4%)	78 (4%)	0,651
Kontraindikation	n=23 (1,8%)	n=15 (2,2%)	38 (2%)	0,180
Narben	n=33 (2,6%)	n=11 (1,6%)	44 (2,3%)	0,124

**Tab. 3:** Tabellarische Übersicht über die einzelnen Verwerfungsgründe in den beobachteten Gruppen

### 5.2.1 Endothelqualität

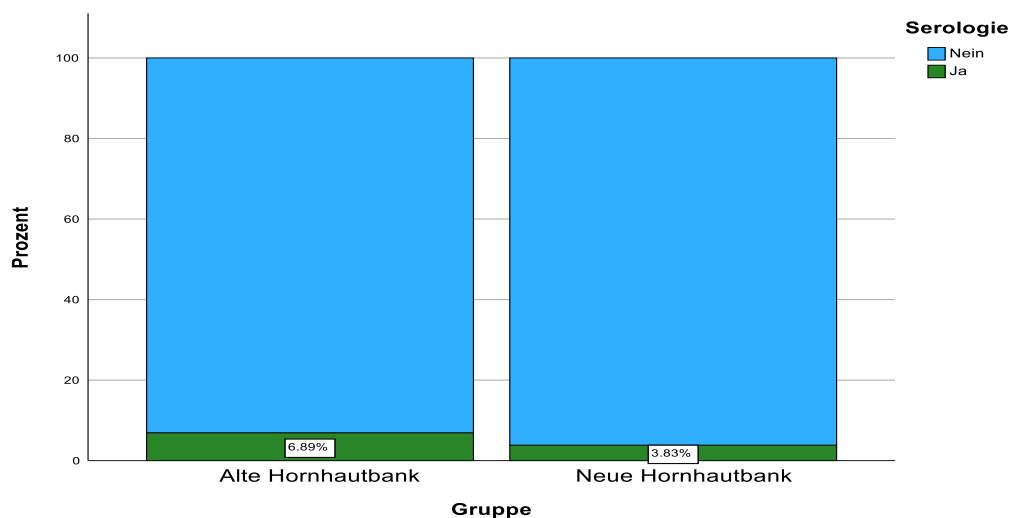
Als einschränkender Faktor für die Verwendbarkeit von Spenderhornhäuten wurde eine Endothelzell-  
dichte von weniger als 2000 Zellen pro mm<sup>2</sup> definiert. Die unzureichende Endothelqualität war in  
beiden Gruppen mit 24,5% (n=476) der mit Abstand häufigste Verwerfungsgrund. In Gruppe 1  
wurden 26,3% (n=332) der Spenderhornhäute verworfen oder nur zur Verwendung für Notfall-  
indikationen freigegeben (Abb. 9). In Gruppe 2 waren 21,2% (n=144) Spenderhornhäute nicht oder  
nur eingeschränkt verwendbar. Der Unterschied war nicht statistisch signifikant (p=0,430).



**Abb. 9:** Endothelbedingte Verwerfung in den beobachteten Gruppen

### 5.2.2 Serologie

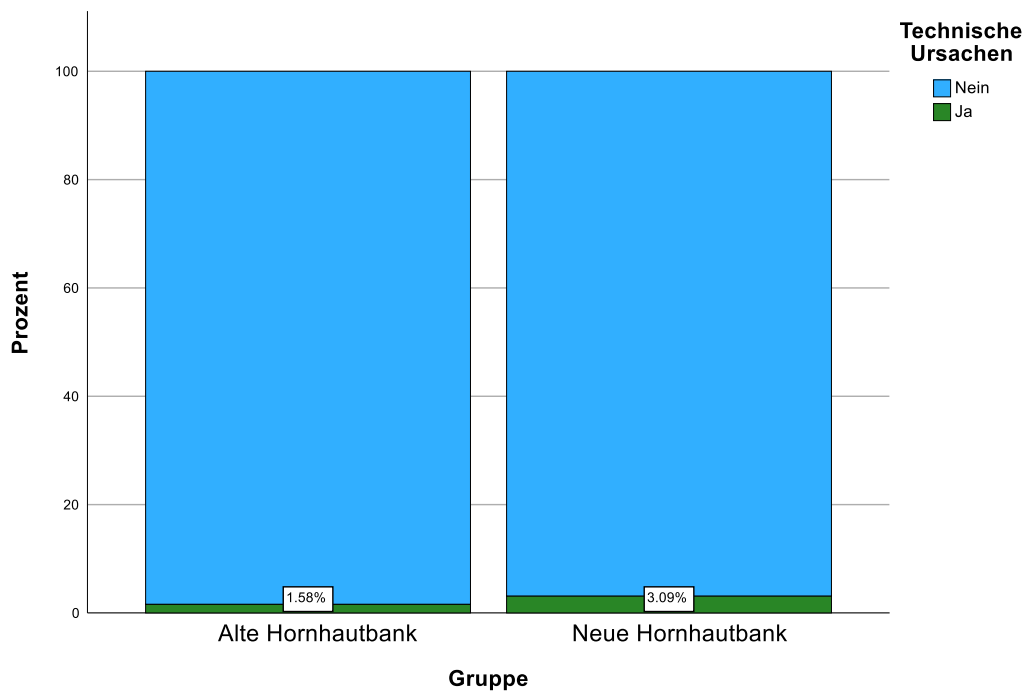
Ein positives serologisches Testergebnis lag in 5,8% (n=113) einer Verwerfung des Spendergewebes zu Grunde. In Gruppe 1 waren 6,9% (n=87), in Gruppe 2 3,8% (n=26) der Spender betroffen (Abb. 10). Dies entspricht einer statistisch signifikanten Reduktion im Chi-Quadrat-Test ( $p=0,020$ ). Der häufigste vorkommende Befund war das s-Antigen des Hepatitis-B-Virus (HbS-Ag).



**Abb. 10:** Serologisch bedingte Verwerfung in den beobachteten Gruppen

### 5.2.3 Technische Ursachen

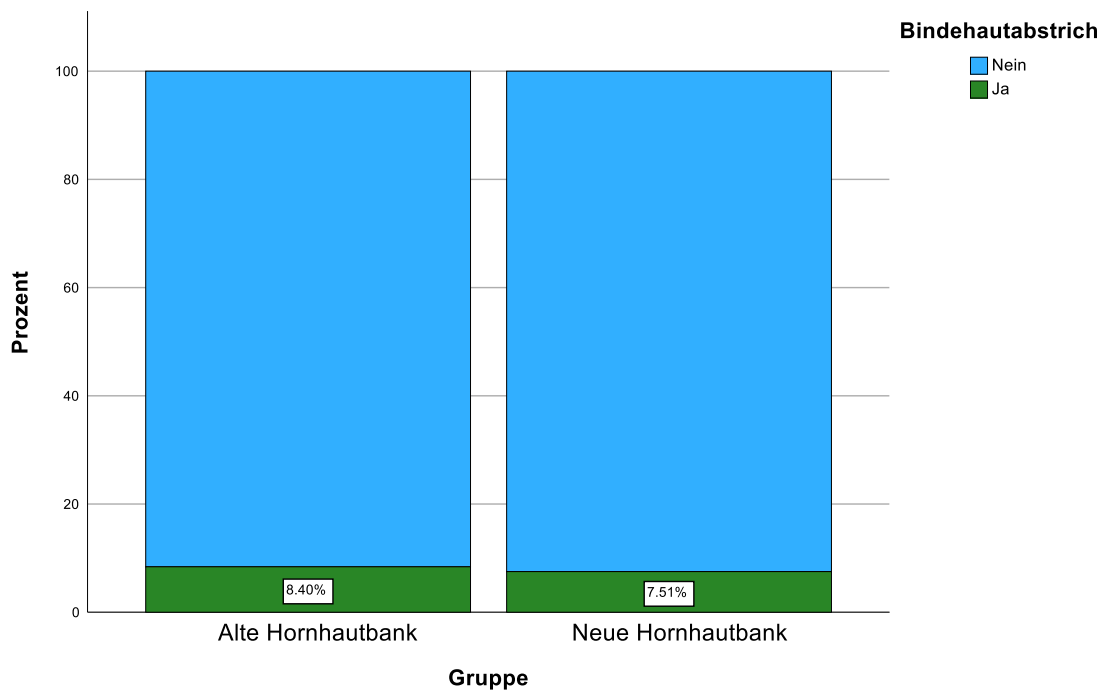
Als technische Ursachen einer Verwerfung gelten u. a. eine frustrane Blutentnahme beim Spender – was die erforderliche serologische Untersuchung unmöglich macht –, die Verletzung des Gewebes bei der Entnahme oder sowie eine Beschädigung des Gewebes im Rahmen der Präparation. Diese traten in 2,1% (n=41) aller Fälle auf (Abb. 11). In Gruppe 1 kam es in 1,6% (n=20) zu technisch bedingten Verwerfungen, in Gruppe 2 waren technische Ursachen in 3,1% (n=21) ausschlaggebend für eine Verwerfung. Dies entspricht keiner signifikanten Zunahme technisch bedingter Verwerfungen ( $p=0,064$ ).



**Abb. 11:** Technisch bedingte Verwerfung in den beobachteten Gruppen

#### 5.2.4 Bindehautabstrich

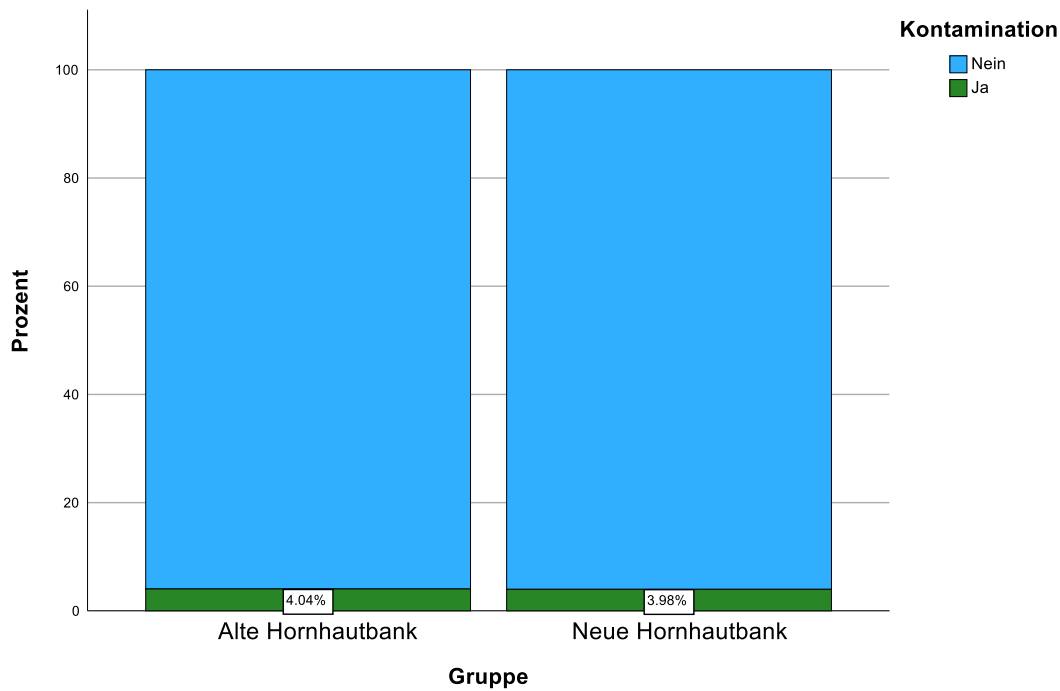
Der Nachweis eines relevanten Erregers im Bindehautabstrich war mit insgesamt 8,1% (n=157) der zweithäufigste nach der unzureichenden Endothelqualität. Der mit Abstand häufigste zu einer Verwerfung führende Keim war mit 90,4% aller nachgewiesenen Erreger *Candida albicans*. Wie in Abbildung 12 dargestellt wurden in Gruppe 1 8,4% (n=106) entsprechende Verwerfungen erfasst, in Gruppe 2 7,5% (n=51). Daraus resultiert keine signifikante Veränderung ( $p=0,489$ ).



**Abb. 12:** Verwerfung wegen positivem Bindehautabstrich in den beobachteten Gruppen

### 5.2.5 Kontamination

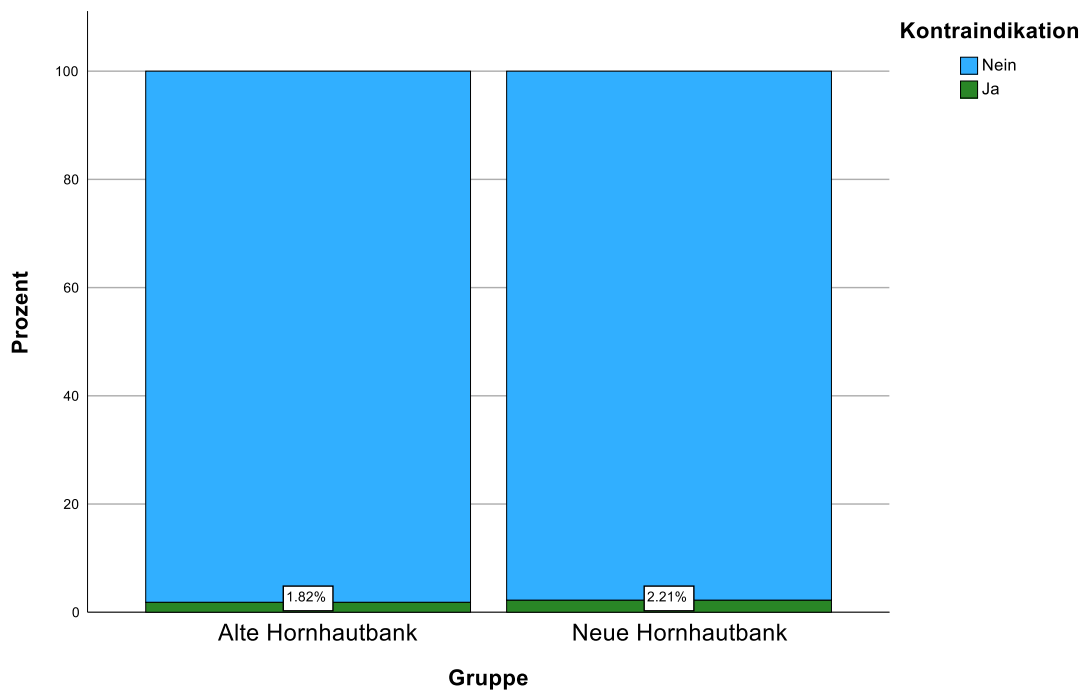
Eine Kontamination des Kulturmediums zählt neben dem Keimnachweis im Bindehautabstrich zu den infektionsbedingten Verwerfungsgründen. Davon betroffen waren insgesamt 4,0% (n=78) aller Spenderhornhäute. Aus einem in Abbildung 13 ersichtlichen Anteil kontaminationsbedingter Verwerfungen von 4,1% (n=51) in Gruppe 1 und 4,0% (n=27) in Gruppe 2 resultiert keine statistisch signifikante Veränderung (p=0,651).



**Abb. 13:** Kontaminationsbedingte Verwerfung in den beobachteten Gruppen

### 5.2.6 Medizinische Kontraindikationen

Zu den medizinischen Kontraindikationen zählen gemäß Transplantationsgesetz bestimmte Erkrankungen des Gewebespenders wie Erkrankungen des zentralen Nervensystems (M. Alzheimer, Amyotrophe Lateralsklerose oder Multiple Sklerose), aktive systemische Infektionen oder ein Risiko für Prionenerkrankungen. Davon betroffen waren insgesamt 2,0% (n=38) aller Spenderhornhäute. In Gruppe 1 betraf dies 1,8% (n=23), in Gruppe 2 2,2% (n=15) (siehe Abbildung 14). Eine statistisch signifikante Veränderung lässt sich nicht ableiten ( $p=0,180$ ).

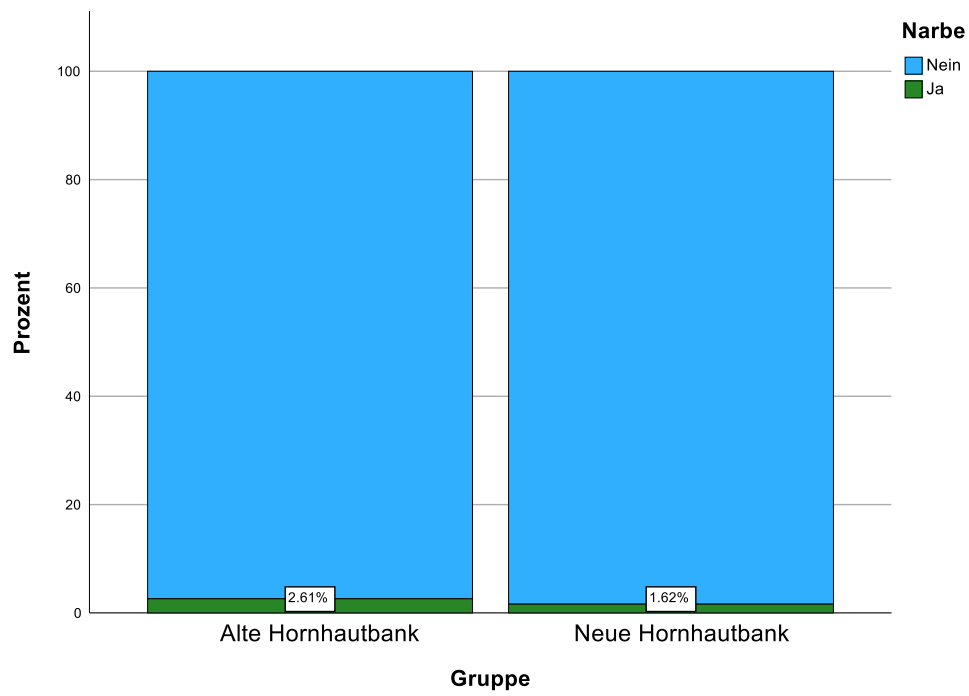


**Abb. 14:** Verwerfung auf Grund von Kontraindikationen in den beobachteten Gruppen

### 5.2.7 Morphologische Kontraindikationen

Als morphologische Kontraindikationen gelten primär in der Spaltlampenuntersuchung auffällige Narben vorangegangener Eingriffe oder Verletzungen, sofern diese keine Transplantation oder nur eine Transplantation im Rahmen eines posterioren lamellären Verfahrens erlauben. Davon waren insgesamt 2,3% (n=44) aller Hornhäute betroffen. In Gruppe 1 mussten 2,6% (n=33) aller Gewebe, in Gruppe 2 1,6% (n=11) entsprechend verworfen bzw. eingeschränkt verwendet werden (Abb. 15). Daraus resultiert eine statistisch signifikante Reduktion ( $p=0,124$ ).





**Abb. 15:** Verwerfung auf Grund morphologischer Kontraindikationen in den beobachteten Gruppen

## 6 Diskussion

Die Keratoplastik ist die am häufigsten durchgeführte Gewebetransplantation der Welt. In Daten der Eye Bank Association of America für das Jahr 2022 wurden 79.126 Transplantationen aus 122.472 gespendeten Geweben gemeldet [21]. Im Jahr 2012 betrug die Anzahl der in den Vereinigten Staaten durchgeführten Hornhauttransplantationen 68.681 [20]. Eine ähnliche Entwicklung zeigte sich in Deutschland. Flockerzi et al. (2018) berichteten von einer Zunahme der bundesweit durchgeführten Hornhauttransplantationen von 4730 Eingriffen im Jahr 2001 auf 7325 im Jahr 2016. Dieser Trend bestätigte sich in den Daten des Deutschen Keratoplastikregisters. Der Leistungsbericht 2013 wies 5378 transplantierte Hornhäute aus [48]. Im Jahre 2022 waren es bereits 7979 bundesweit durchgeführte Transplantationen [50]. Doch obwohl die Zahl an durchgeführten Keratoplastiken seit Jahren kontinuierlich steigt, standen zum 31.12.2019 noch 4807 auf der Warteliste für eine Hornhauttransplantation. Die Wartezeit beträgt dabei im Durchschnitt acht bis zwölf Wochen [64]. Dabei ist die Fuchs-Dystrophie mit 46% die bundesweit häufigste Indikation zur Keratoplastik [24]. Da Endothel-Dystrophien gehäuft im höheren Alter auftreten, ist in Zusammenhang mit der zunehmenden Lebenserwartung perspektivisch von einem steigenden Bedarf auszugehen. Eine wichtige Einflussgröße bezüglich der Versorgung mit der Spendergewebe ist dementsprechend die Spendebereitschaft. Laut Wykrota et al. (2022) lag die durchschnittliche Zustimmungsrates zur Gewebeentnahme bei Verstorbenen am Universitätsklinikum des Saarlandes in den Jahren 2010 bis 2019 bei 23,3% [74]. Bundesweit hat die Zahl der Gewebespenden im Vergleich zur Organspende jedoch kontinuierlich zugenommen. So hat sich die Zahl der Gewebespenden von 865 im Jahr 2007 auf 2343 im Jahr 2016 fast verdreifacht [5]. Diese Entwicklung ist nicht zuletzt dem Umstand geschuldet, dass im Grunde jeder Verstorbene – im Schnitt der letzten zehn Jahre jährlich ca. 900.000 Menschen – für eine Gewebespende geeignet ist, wohingegen lediglich 4.000 Verstorbene nach einem Hirntod für eine Organspende in Frage kommen [5,66].

Die andere wichtige Einflussgröße auf die Transplantationsrate ist die Qualität der gespendeten

Gewebe. Insbesondere mangelnde Qualität des Endothels und infektionsbedingte Ursache – wie Keimnachweis im Bindehautabstrich oder Kontamination des Nährmediums – bedingen häufig eine Verwerfung und senken so die Transplantationsrate. Deshalb sind Hornhautbanken weltweit bemüht, durch verschiedene Maßnahmen die Rate an Transplantatverwerfungen zu senken. Das Ziel dieser Studie war es, einen Einfluss der Reinraumklasse einer Hornhautbank auf die kontaminationsbedingten Verwerfungen zu analysieren. Hierfür wurden sowohl die Verwerfungsrate als auch die einzelnen Verwerfungsgründe von 2017 bis 2020 retrospektiv ausgewertet, wobei ein Kollektiv an Hornhäuten im Reinraum der Klasse D einem Kollektiv an Hornhäuten im Reinraum der Klasse B gegenübergestellt wurde.

Hauptergebnis der vorliegenden Arbeit war eine Senkung der Verwerfungsrate von 49,7% in Gruppe 1 auf 42,3% in Gruppe 2. Trotz der deutlich verbesserten hygienischen Bedingungen im Reinraum der Klasse B wurden in Gruppe 2 nicht weniger Hornhäute kontaminationsbedingt verworfen.

## 6.1 Beurteilung der Verwerfungsraten

Die Daten zur Hornhautspende und -transplantation in der Bundesrepublik Deutschland werden im jährlich erscheinenden Leistungsbericht der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft zusammengefasst. Im Leistungsbericht für das Jahr 2018 wurden 7168 Transplantationen von 10.841 Spenderhornhäuten erfasst. Dies entspricht einer Verwerfungsrate von  $32\pm 17\%$ , was einen im Vergleich zum Vorjahr stabilen Wert darstellt [49]. Im letzten verfügbaren Bericht für das Jahr 2022 waren 7979 Transplantationen von 12.215 Spenderhornhäuten erfasst. Nach Angaben der Autoren wurden 2022 28% der Hornhäute verworfen ( $n=2892$ ). Weitere 5,6% ( $n=684$ ) wurden zur Transplantation freigegeben, jedoch nicht verwendet [50].

Die in dieser Arbeit ermittelte Verwerfungsrate entspricht mit 35,3% in etwa dem Bundesdurchschnitt. Hofmann et al. (2021) haben basierend auf Daten der Deutschen Gesellschaft für Gewebetransplantation 21.454 Hornhautspenden in den Jahren 2014 bis 2018 erfasst. Hierbei zeigte

sich neben einer Gesamtverwerfungsrate von 31,8% auch eine Zunahme der Verwerfungen mit längerer Tod-bis-Entnahme-Zeit [29].

Internationale Daten weisen bezüglich der Verwerfungsrate unterschiedliche Werte auf. Aus den Daten der Eye Bank Association of America ergibt sich für das Jahr 2022 eine Verwerfungsrate von 35,4% [21]. Eine brasilianische Studie hat im Zeitraum von 2011 bis 2015 in mehreren Zentren Südbrahiliens insgesamt 9290 Spenderhornhäute erfasst. Hier wurde die Verwerfungsrate mit 45,6% (n=4235) angegeben [2]. Eine weitere brasilianische Arbeit aus 2021 vom Londrina University Hospital erfasste im Zeitraum von 2016 bis 2018 1418 Spenderhornhäute von 712 Spendern, wobei die Verwerfungsrate mit 52,1% (n=739) angegeben wurde [37]. Achraya et al. (2019) gaben für den Zeitraum von 2012 bis 2017 in einer indischen Hornhautbank eine Gesamtverwerfungsrate von 30,1% an [1]. Insgesamt lagen die Verwerfungsraten mehrheitlich zwischen 30% und 45%. Auffällig hierbei waren regionale Unterschiede in den Verwerfungsraten.

Hierauf wird in der Diskussion der einzelnen Verwerfungsgründe genauer eingegangen. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Verwerfungsraten von 38,6% in Gruppe 1 und 30,5% in Gruppe 2 lagen insgesamt im Schnitt der nationalen und internationalen Vergleichsdaten.

## 6.2 Verwerfungsgründe

In der vorliegenden Arbeit wurden sieben Verwerfungsgründe definiert. Hiervon sind mehrere direkt von bestimmten Eigenschaften des Spenders abhängig. Ein Alter des Spenders von mehr als 80 Jahren wird allgemein als Risikofaktor für eine Transplantatverwerfung angesehen. Röck et al. (2016) analysierten die Daten von 1340 Hornhautspendern in den Jahren 2009 bis 2015. Die Verwerfungsrate lag insgesamt bei 41%. Dabei wurden Hornhäute von Spendern im Alter von 80 Jahren und älter mit größerer Wahrscheinlichkeit wegen Endothelinsuffizienz verworfen ( $p < 0,0001$ ) [54]. Dieses Ergebnis deckt sich mit Daten von Kramp et al. (2020). Hierbei wurden im Rahmen einer monozentrischen Studie 4140 Spenderhornhäute in den Jahren 2006 bis 2016 erfasst. Auch hier zeigte

sich ein Spenderalter über 80 Jahre als signifikant negative Einflussgröße auf die Eignung der Hornhaut ( $p=0,001$ ) [33]. Angesichts des demographischen Wandels ist so eine Zunahme der Verwerfungen aufgrund unzureichender Endothelqualität begünstigt durch ein zunehmend hohes Spenderalter zu erwarten. Nach Daten des statistischen Bundesamts von 2021 liegt die noch verbleibende Lebenserwartung für 65-jährige Männer bei 17, für 65-jährige Frauen bei 21 Jahren [66]. Weitere spenderbezogene Charakteristika mit Einfluss auf Verwerfungen, z. B. vorangegangene Eingriffe oder Vorerkrankungen werden bei den jeweiligen Verwerfungsgründen erörtert.

### 6.2.1 Verwerfung wegen unzureichender Endothelqualität

Eine unzureichende Qualität des Endothels, definiert durch eine Zelldichte  $< 2000$  Zellen pro  $\text{mm}^2$ , war in der vorliegenden Arbeit mit insgesamt 24,6% der mit Abstand häufigste Verwerfungsgrund.

Die bundesweite Rate endothelbedingter Verwerfungen wurde im Leistungsbericht 2018 der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) mit 42% angegeben. Dies liegt sowohl deutlich über dem hier ermittelten Wert als auch über der Angabe von Röck et al. (2016), die eine endothelbedingte Verwerfungsrate von 19,3% beschrieben [54].

International fällt der Vergleich sehr unterschiedlich aus. In einer brasilianischen Studie von Almeida de Freitas et al. (2019) wurden von 9290 im Zeitraum von 2011 bis 2015 erfassten Spenderhornhäuten lediglich 8,5% auf Grund der Qualität des Hornhautgewebes verworfen [2]. Eine weitere brasilianische Publikation von Victor et al. (2019) erfasst 3074 Spenderhornhäute im Zeitraum von 2014 bis 2017. Bei einer Gesamtverwerfungsrate von 40% waren positive oder unklare serologische Untersuchungsergebnisse mit 68% die mit Abstand häufigste Verwerfungsursache. Der Verwerfung auf Grund unzureichender Endothelqualität scheint keine besondere Bedeutung zuzukommen, da die entsprechenden Zahlen nicht aufgeführt sind. Das Durchschnittsalter der Spender lag mit  $40 \pm 15,9$  Jahren jedoch deutlich unter den deutschen Werten [71]. Dies bestätigt den bereits erwähnten Aspekt, dass die unzureichende Endothelqualität mit hohem Spenderalter assoziiert zu sein scheint.

Schön et al. (2021) analysierten Einflussfaktoren auf die Endothelzellichte des Spendergewebes an der Hornhautbank der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz bei 2032 Spenderhornhäuten. Als Faktoren, die mit einer geringeren Endothelzellichte assoziiert sind, zeigten sich neben dem bereits mehrfach belegten höheren Spenderalter auch ein männliches Geschlecht, ein pseudophaker Linsenstatus sowie eine längere Tod-bis-Entnahme-Zeit [59]. Ob entnommene Spenderhornhäute vor Ort transplantiert oder importiert werden hat dabei keinen nachweisbaren Einfluss auf das Langzeitüberleben des Transplantats [70]. Jedoch wird die Endothelzellzahl auch von äußeren Einflüssen beeinträchtigt. Zu diesen zählt u. a. die Temperatur, die abhängig von der Art der Lagerung deutlich variieren kann. Insbesondere in amerikanischen Augenbanken ist die hypotherme Lagerung bei zumeist +4° C Standard, während in Europa die überwiegende Mehrheit der Hornhautbanken die Organkultur in einem Temperaturfenster zwischen +30 und +38° C bevorzugt. Eine Studie von Parek et al. (2018) verglich verschiedene Lagerungsmethoden mit Temperaturen von +4 bis 31° C sowie Lagerungsdauern von sieben bis 35 Tagen. Ergebnis der Analyse war eine ausreichende Viabilität der Hornhautendothelzellen unabhängig von der gewählten Lagerung [45].

Wichtig für die Einschätzung der Verwertbarkeit einer Spenderhornhaut ist nicht zuletzt die genaue Beurteilung deren Qualität. Ein etabliertes Verfahren dafür ist die berührungslose Spiegelmikroskopie, wobei Abweichungen je nach verwendetem Gerät in Kauf genommen werden müssen [27].

Perspektivisch könnte sich auch der Einsatz künstlicher Intelligenz weiterhin verbreiten. Safi et al. (2021) beschrieben, dass bestimmte präoperative morphologische Charakteristika des Spenderendothels mit der Entwicklung einer Cornea guttata nach perforierender Keratoplastik korrelieren. Drei statistisch signifikante Kriterien sind dabei das Vorhandensein von weniger als 50% der Zellen, die hexagonal oder kreisförmig sind, das Vorhandensein von Zellmembrandefekten und -unterbrechungen sowie das Vorhandensein von subepithelialen Strukturveränderungen, den sogenannten Blebs [57]. Die Erkennung derartiger Zellbilder – auch durch Einsatz künstlicher Intelligenz – könnte somit als Indikator für Guttatae auf dem Transplantat dienen und helfen, dass langfristige visuelle Ergebnis zu verbessern.

Der Anteil endothelbedingter Verwerfungen sank in der vorliegenden Arbeit von 26,4% in Gruppe 1 auf 21,2% in Gruppe 2. Unter Einbeziehung der Hornhäute, die mit weniger als 2000 Zellen pro mm<sup>2</sup> für Notfallindikationen freigegeben wurde ergibt sich für Gruppe 2 eine endothelbedingte Verwerfungsrate von 10,5% (n=71). Diese Daten entsprechen einer Publikation von Wykrota et al. (2022), die ebenfalls auf Daten des Klaus-Faber-Zentrums für Hornhauterkrankungen, inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz basiert. Hier wurde ein Rückgang endothelbedingter Verwerfungen von 36% im Jahr 2009 auf 11% im Jahr 2019 berichtet [74]. Mögliche Ursachen für diese Entwicklung könnten unter anderem optimierte Entnahmetechniken, zunehmend kurze Entnahme-Zeiten sowie optimierte Kühlmöglichkeiten sowohl bezüglich der Leiche des Spenders als auch des Gewebes während des Transports sein.

### 6.2.2 Verwerfung wegen Serologie

Um die Sicherheit des Gewebeempfängers zu gewährleisten, dürfen Hornhäute gemäß §38 des Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsgesetzes nur nach negativer serologischer Diagnostik des Spenders freigegeben werden. Ein positiver oder unklarer serologischer Befund war im Jahr 2022 mit 20% (n=587) der zweithäufigste Verwerfungsgrund und hat im Vergleich zum Vorjahr um drei Prozent zugenommen [50]. In der vorliegenden Arbeit lag der Anteil an serologisch begründeten Verwerfungen im Vergleich dazu mit insgesamt 5,9% (n=114) deutlich niedriger. Ein Anteil von 6,9% (n=88) in Gruppe 1 und 3,8% (n=26) in Gruppe 2 bedeutet dabei eine signifikante Reduktion (p=0,020). Der häufigste Befund war dabei der Nachweis des s-Antigens des Hepatitis-B-Virus. Eine Studie von Raj et al. (2018) wies bei 509 erfassten Spendern eine serologisch bedingte Verwerfungsrate von 6,7% (n=34) auf. Dabei waren 4,12% der Spenderseren nicht geeignet für die Diagnostik und 2,4% reagierten auf das Hb-S-Antigen. In einer brasilianischen Arbeit von 2014 wurde der Anteil serologisch bedingter Verwerfungen bei 2476 erfassten Spendern mit 23% beziffert, wobei auch hier Hepatitis B die häufigste Grunderkrankung war [40]. Daten aus China meldeten für den Zeitraum von 1999 bis 2018 bei 5.397 erfassten Spendern eine infektiöse Erkrankung in insgesamt

18,1% als Ursache. Häufigster Erreger war auch hier das Hepatitis-B-Virus [68].

Angesichts dieser sehr variablen Verwerfungsraten ist von einer starken Beeinflussung durch die regionalen Inzidenzen der in Frage kommenden Krankheiten auszugehen.

### 6.2.3 Verwerfung wegen technischer Ursachen

Der Oberbegriff „technische Ursachen“ umfasst Verwerfungen von Spenderhornhäuten bei frustraner Blutentnahme an der Spenderleiche, Beschädigung der Hornhaut im Rahmen der Entnahme – z. B. bei stumpfem Trepan – oder Beschädigung des Gewebes im Rahmen der Präparation.

Letzteres, genauer gesagt eine Ruptur der Descemet-Endothel-Lamelle im Rahmen der Präparation für eine DMEK, war unter den technisch bedingten Verwerfungen die mit Abstand häufigste Ursache.

Im jährlichen Leistungsbericht der DOG werden technisch bedingte Verwerfungen – nicht zuletzt wegen ihrer geringen absoluten Zahlen – nicht gesondert, sondern mit anderen seltenen Verwerfungsgründen unter „Verwerfung wegen sonstiger Ursachen aufgeführt“.

Von den in der vorliegenden Arbeit ausgewerteten mussten insgesamt 2,1% (n=41) aller Hornhäute auf Grund technischer Ursachen verworfen werden. Im Vergleich zwischen den Gruppen zeigte sich keine statistisch signifikante Zunahme ( $p=0,064$ ). Während in Gruppe 1 1,6% (n=20) betroffen waren, stieg der Wert auf 3,1% (n=21) in Gruppe 2. Da der Anteil an technisch anspruchsvollen lamellären Verfahren kontinuierlich zunimmt, könnte die hier beobachtete Zunahme an technisch bedingten Verwerfungen mit dieser Entwicklung korrelieren. Nach Flockerzi et al. (2018) stieg der Anteil an posterior lamellären Keratoplastiken von 1,4% im Jahr 2006 auf 57% im Jahr 2016 [24]. Diese Zahlen sind mit der internationalen Entwicklung vergleichbar. Eine monozentrische Studie aus Barcelona berichtet von der Einführung der DMEK im Jahr 2016, als im ganzen Jahr drei derartige Eingriffe durchgeführt wurden (6,25% aller Keratoplastiken). Bereits 2018 wurden mit 60,2% (n=56) mehrheitlich DMEK durchgeführt [44]. In den Vereinigten Staaten kam es im Zeitraum von 2005 bis 2016 zu einer Zunahme der posterioren Keratoplastiken von 1,4% auf 58,4%. Im gleichen Zeitraum ist der Anteil an perforierenden Eingriffen von 96% auf weniger als die Hälfte (46%) aller



Hornhauttransplantationen gefallen [22]. Angesichts dieses Trends ist es von Bedeutung, die dafür notwendige Präparation der lamellären Transplantate sicher zu beherrschen. Zu diesem Zweck wurde an der Augenklinik der Universitätsklinik des Saarlandes Homburg/Saar ein schrittweises Erlernen der DMEK in der Hornhautbank angeschlossenen Wetlabs ermöglicht. An sechs OP-Mikroskopen in drei permanenten Wetlabs kann an menschlichen Hornhäuten, die nicht zur Transplantation geeignet sind, die erfolgreiche Spenderpräparation trainiert werden. Die sichere Vorbereitung des Empfängers kann an Schweineaugen erlernt werden. Aus Rückmeldungen von Teilnehmern und Dozenten profitieren insbesondere Operateure, die bereits mikrochirurgisch an der Hornhaut tätig sind, von diesem gezielten Training. Damit ist eine Vorbereitung auf technisch anspruchsvolle Verfahren möglich, um die Komplikationsrate perspektivisch zu senken [63]. Die stetig steigenden Zahlen dieser Eingriffe begünstigen den Lerneffekt.

#### 6.2.4 Verwerfung wegen Kontamination des Kulturmediums oder Keimnachweis im Bindehautabstrich

Der Leistungsbericht 2022 der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft führte die Verwerfung wegen Kontamination mit 13% aller Verwerfungen auf [50]. Dabei war die Kontamination der dritthäufigste Verwerfungsgrund, wobei hier nicht zwischen Nachweis eines relevanten Keims im Bindehautabstrich und Kontamination des Kulturmediums unterschieden wurde. Hierbei ist zu erwähnen, dass nach der ersten Fortschreibung der Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Hornhautbank seitens des Gesetzgebers im Jahr 2018 kein Bindehautabstrich mehr vorgeschrieben ist [10]. Fasst man zur besseren Vergleichbarkeit Kontamination des Kulturmediums und Bindehautabstrich zusammen, so ergibt sich in der vorliegenden Arbeit eine gesamte kontaminationsbedingte Verwerfungsrate von 12,2% (n=236), was dem bundesweiten Schnitt von 14% in etwa entspricht. Eine signifikante Reduktion der kontaminationsbedingten Verwerfungen zeigt sich im Vergleich zwischen den einzelnen Gruppen jedoch nicht. In Gruppe 1 waren wegen Nachweis (Abb. 3) eines relevanten Keims im Bindehautabstrich 8,4% (n=106), in Gruppe 2 7,5%

(n=51) aller Spenderhornhäute verworfen worden ( $p=0,489$ ). Eine Kontamination des Kulturmediums führte in Gruppe 1 bei 4,1% (n=23), in Gruppe 2 bei 4,0% (n=27) aller Fälle zur Verwerfung. Daraus folgt, dass auch durch Optimierung der Lagerungsbedingungen im Reinraum keine Beeinflussung einer Kontamination des Transplantats möglich ist.

Röck et al. (2017) analysierten Einflussfaktoren auf die Kontaminationsrate organkultivierter Hornhäute anhand der Daten von 1340 Spenderhornhäuten, die zwischen 2009 und 2014 an der Tübinger Hornhautbank eingelagert wurden. Zur Beurteilung wurden alle Kulturmedien nach drei Tagen Inkubation gewechselt und mikrobiologisch untersucht. Ein erneuter Austausch des Mediums mit anschließender Untersuchung erfolgte zwei Tage vor der Transplantation. Im Ergebnis zeigten sich signifikante Korrelationen zwischen der Todesursache des Spenders und einem erhöhten Kontaminationsrisiko. So erhöht ein Multiorganversagen oder eine Infektion als Todesursache das Risiko einer Hornhautkontamination um mehr als das sieben-, bzw. zehnfache im Vergleich zu zerebrovaskulären oder kardiovaskulären Erkrankungen. Des Weiteren konnte über eine Verknüpfung von mittlerer Temperatur und mittlerer Kontaminationsrate ein vermehrtes Auftreten von Kontaminationen in den wärmeren Monaten – Mai bis September – nachgewiesen werden [53].

Armitage et al. (2014) bestätigten den Einfluss der Todesursache auf das Kontaminationsrisiko. Hier zeigte sich der Tod durch Infektionen, Atemwegserkrankungen und Krebs als kontaminationsbegünstigender Faktor [4]. Andere Ergebnisse legten Linke et al. (2013) aus einer monozentrischen Studie vor. Bei 4546 erfassten, organkultivierten Hornhäuten betrug die mediane kontaminationsbedingte Verwerfungsrate 5,3% bei einer Spanne von 3 – 19%. Eine saisonale Häufung in den wärmeren Monaten zeigte sich nicht. Die häufigste assoziierte Todesursache war Herz-Lungen-Versagen. Die kontaminierten Hornhäute wiesen im Gegensatz zu den nicht betroffenen jedoch eine signifikant kürzere Zeit zwischen Tod und Explantation auf [37].

Nicht zuletzt angesichts der heterogenen Studienlage scheint die Entstehung einer Transplantatinfektion ein multifaktorieller Prozess zu sein. In den vergangenen Jahren konnte die Rate an kontaminationsbedingten Verwerfungen durch Etablierung von Standards bezüglich der

hygienischen Bedingungen im Rahmen der Gewebeentnahme, der kontaktlosen Untersuchung der Hornhaut sowie der standardisierten Testung gesenkt werden. So beschrieben Laun et al. (2022) eine statistisch signifikante Reduktion an Verwerfungen wegen Kontamination nach Einführung eines Qualitätsmanagement (QM) - Systems im Jahre 2010. Lag die Verwerfungsrate von 2006 bis zur Einführung des QM-Systems im November 2010 bei 10,5%, so sank diese nach der Etablierung des QM bis 2016 auf 5,0% [35]. Die aktuell bestehende Rate an kontaminationsbedingten Verwerfungen scheint – zumindest nach den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit – durch hygienische Maßnahmen nicht weiter beeinflussbar.

#### 6.2.5 Verwerfung wegen medizinischer Kontraindikationen

Die Ausschlusskriterien eines Hornhautspenders sind in Anlage 16.1. der Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Betreiben einer Hornhautbank klar definiert. Neben Erkrankungen unklarer Ätiologie in der Vorgeschichte werden auch zentralnervöse Erkrankungen unklarer Genese, bestimmte maligne Entitäten und Prionenerkrankungen aufgeführt. Da Kontraindikationen hierzulande zu den seltenen Verwerfungsgründen gehören, werden auch diese im Leistungsbericht der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft nicht separat aufgeführt. In der vorliegenden Arbeit war die medizinische Kontraindikation mit einem Anteil von 2% (n=38) aller erfasster Hornhäute der seltenste Verwerfungsgrund. Im Vergleich zwischen den Gruppen zeigte sich keine signifikante Änderung ( $p=0,180$ ). In Gruppe 1 wurden 1,8% (n=23), in Gruppe 2 2,2% (n=15) der in Frage kommenden Gewebe verworfen. Dies entspricht der Erwartung, dass eine bestehende medizinische Kontraindikation als spenderbezogene Variable durch Änderung der hygienischen Rahmenbedingungen nicht beeinflussbar ist. Eine Erhebung von Laun et al. (2021), die im Zeitraum von 2006 bis 2016 am selben Institut durchgeführt wurde, wies mit einer Verwerfungsrate wegen Kontraindikation von insgesamt 1,3% vergleichbare Werte auf [35]. Zu bemerken ist hierbei, dass sowohl bei Laun et al. als auch in der vorliegenden Arbeit ausschließlich nachträglich erfasste Kontraindikationen erfasst wurden, also Gewebe betreffend, die bereits entnommen oder in Kultur

genommen wurden. Wurden Spender auf Grund einer bekannten Kontraindikation bereits vor der Entnahme ausgeschlossen, wurde dies nicht erfasst.

Dies könnte bedingen, dass der Anteil an Kontraindikationen in vergleichbaren Studien deutlich höher ausfällt. Laut Röck et al. (2016) stellt die medizinische Kontraindikation im Zeitraum von 2009 und 2015 mit 20,2% die Hauptursache der Verwerfung dar, noch vor einer unzureichenden Endothelqualität [54]. Armitage et al. (2014) gaben den Anteil an Verwerfungen wegen Kontraindikationen bei 20.950 erfassten Spenderhornhäuten mit 10% an [4].

### 6.2.6 Verwerfung wegen morphologischer Kontraindikationen/ Narben

Verletzungen oder refraktive Eingriffe im Leben eines Hornhautspenders hinterlassen auf dem betroffenen Gewebe ihre Spuren. Sind derartige Narben an der Spaltlampe nachweisbar, kann dies dazu führen, dass die betroffene Hornhaut nicht oder nur eingeschränkt für eine Transplantation genutzt werden kann. In der vorliegenden Arbeit waren davon insgesamt 2,3% (n=44) der Spenderhornhäute betroffen. Im Vergleich zwischen den Gruppen zeigte sich kein signifikanter Rückgang der Verwerfungen wegen Narben von 2,6% (n=33) in Gruppe 1 auf 1,6% (n=11) in Gruppe 2 (p=0,124). Laun et al. (2021) gaben den Anteil an narbenbedingten Verwerfungen im Zeitraum von 2006 bis 2016 mit 2,9% (n=122) an [35].

Vergleichende Daten zur narbenbedingten Verwerfung als separat erfasster Verwerfungsgrund sind weder in nationaler noch internationaler Literatur zu finden. Es ist wahrscheinlich, dass derartig bedingte Verwerfungen unter „Verwerfungen aus anderen Gründen“ erfasst werden. Möglich erscheint auch eine Wertung unter „Verwerfung auf Grund mangelnder Endothelqualität“.

Nach den Ergebnissen von Laun et al. und der vorliegenden Arbeit zählen bestehende Narben am Klaus-Faber-Zentrum für Hornhauterkrankungen, inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz zu den seltenen Verwerfungsgründen.

### 6.3 Bedeutung der Reinraumklasse der Hornhautbank und Einfluss auf die Verwerfungsrate

Die Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Hornhautbank der Bundesärztekammer schreibt als Mindestanforderung zur Prozessierung der Gewebe eine Sicherheitswerkbank, die als Reinraum der Klasse A geeignet ist, sowie einen umgebenden Reinraum der Klasse D vor [10]. Dieser Vorgabe entsprechend wurden die Hornhäute, die in der vorliegenden Arbeit der Gruppe 1 zugerechnet werden, gelagert und prozessiert. Mit Neueröffnung des Klaus-Faber-Zentrums für Hornhauterkrankungen, inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz haben sich die Reinraumbedingungen deutlich über die gesetzlichen Mindestanforderungen hinaus verbessert. Neben 150 m<sup>2</sup> für die neue Reinraum-Hornhautbank entstanden die bereits erwähnten Wetlabs zur Ausbildung sowohl von jungen als auch erfahrenen Operateuren. Der Bau dieser zukunftsorientierten Anlage war jedoch mit enormen Kosten verbunden und wäre ohne großzügige Spenden nicht realisierbar gewesen. Allein die Klaus-Faber-Stiftung trug 1,2 Millionen Euro bei, die LIONS Club International Foundation spendete ihrerseits 100.000 \$. Neben den Ausgaben für die Errichtung sind auch die laufenden Kosten einer Reinraum-Hornhautbank beträchtlich. Spezielle Reinraumkleidung sowie aufwändige und regelmäßige Reinigungsarbeiten heben die Gesamtkosten in die Höhe. Daher stellt sich die Frage, ob derartige Investitionen auch durch eine Senkung der Verwerfungsrate gerechtfertigt werden können. Obwohl sowohl national als auch international zuletzt mehr und mehr Reinraum-Hornhautbanken entstanden sind, finden sich zu dieser Fragestellung kaum Vergleichsdaten. So beschreiben beispielsweise Kanavi et al. (2020) den Einfluss verschiedener Keratome auf das Ergebnis, da jedoch alle Kollektive in einem Reinraum der Klasse A prozessiert werden, ist ein Vergleich mit der vorliegenden Arbeit nicht möglich [52]. Auch mehrere Arbeiten zum Einfluss von Qualitätsmanagement auf die Verwerfungsrate können nicht zu einem direkten Vergleich herangezogen werden.

Aus den Daten der vorliegenden Arbeit lässt sich ableiten, dass die Gesamtverwerfungsrate in der

Reinraum-Hornhautbank deutlich unter der Rate an Verwerfungen in Gruppe 1 lag. Die Anzahl kontaminationsbedingter Verwerfungen blieb allerdings konstant. Da die Reinraumklasse die Arbeit auf höchstem hygienischem Niveau ermöglicht, würde sich ein Einfluss der Reinraumklasse also am ehesten im Bereich der kontaminationsbedingten Verwerfungen zeigen. Da sich diese Erwartung in der vorliegenden Arbeit nicht bestätigt und da mehrere Publikationen spenderbezogene Risikofaktoren für eine Infektion des Spendergewebes nachgewiesen haben scheint sich die Rate kontaminationsbedingter Verwerfungen durch die Reinraumklasse des Umgebungsraums nicht weiter senken zu lassen.

#### 6.4 Limitationen der vorliegenden Arbeit

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine monozentrische, retrospektive Analyse. Jede retrospektive Analyse basiert auf der Güte und Vollständigkeit der zu Grunde liegenden Daten. Da die in der Vergangenheit dokumentierten Daten zum Zeitpunkt der Erhebung nicht mehr verifiziert werden können, ist eine Verzerrung durch ungenaue oder fehlerhafte Dokumentation nicht auszuschließen.

Des Weiteren basieren die Daten auf der Betrachtung einer einzelnen Hornhautbank. Aus einer solchen, monozentrischen Analyse ist es auf Grund eines vergleichsweise geringen Kollektivs an erfassten Geweben nicht möglich, allgemeingültige Rückschlüsse abzuleiten.

Des Weiteren sind Einflussfaktoren, die die Verwerfungsrate ebenfalls beeinflussen, oft zwischen den Hornhautbanken bundes- und weltweit abweichend. Dazu zählen unter anderem demographische Aspekte der Spender, Tod-Entnahme-Zeiten, Arten der Gewebelagerung und Abweichungen in Prozessen.

## 7 Schlussfolgerung

Trotz stetig steigender Zunahme von Gewebespenden übersteigt der Bedarf an Spenderhornhäuten in Deutschland das Angebot bei Weitem. Dementsprechend wichtig ist neben der weiteren Steigerung der Spendebereitschaft die Senkung der Verwerfungsrate. In der vorliegenden Arbeit zeigt sich eine Gesamtverwerfungsrate, die mit nationalen und internationalen Daten vergleichbar ist. Die zwischen den Gruppen beobachtete Reduktion der Verwerfungsrate ist hauptsächlich durch eine Senkung der endothelbedingten Verwerfungen und eine höhergradige Ausschöpfung eingeschränkt verwertbarer Gewebe für Notfall-Keratoplastiken getragen. Eine Senkung der kontaminationsbedingten Verwerfungen ließ sich durch die Arbeit im Reinraum der Klasse A nicht erreichen. Angesichts der hohen Kosten für Entstehung und Unterhaltung einer Reinraum-Hornhautbank bedürfen diesbezügliche Investitionen einer kritischen Abwägung. Der aktuell geltende gesetzliche Standard bezüglich der Reinraum-Klasse („A in D“) scheint im Hinblick auf kontaminationsbedingte Verwerfungen ausreichend.

## 8 Literaturverzeichnis

1. Acharya M, Biswas S, Das A, Dave A, Mathur U (2019) Impact of quality assurance on utilization of corneal tissues in a community Eye Bank. *J Curr Ophthalmol* 31:387–393
2. Almeida de Freitas R, Dell’Agnolo CM, Augusto de Melo W, de Andrade L, Pimentel RR, Pelloso SM, Dalva de Barros Carvalho M (2019) Do Donated Corneas Become Transplanted Corneas? The Causes of Discard in Southern Brazil. *Cornea* 38:419–425
3. Al-Mezaine H, Wagoner MD, King Khaled Eye Specialist Hospital Cornea Transplant Study Group (2006) Repeat penetrating keratoplasty: indications, graft survival, and visual outcome. *Br J Ophthalmol* 90:324–327
4. Armitage WJ, Jones MNA, Zambrano I, Carley F, Tole DM, NHSBT Ocular Tissue Advisory Group and Contributing Ophthalmologists OTAG Audit Study 12 (2014) The suitability of corneas stored by organ culture for penetrating keratoplasty and influence of donor and recipient factors on 5-year graft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 55:784–791
5. Ärzteblatt DÄG Redaktion (2017) Gewebespende: Zahl der Spender hat sich seit 2007 verdreifacht. URL: <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/76475/Gewebespende-Zahl-der-Spender-hat-sich-seit-2007-verdreifacht>
6. Ärzteblatt DÄG Redaktion (2018) Bundesärztekammer novelliert Richtlinie zu Spenderhornhäuten. URL: <https://www.aerzteblatt.de/nachrichten/89262/Bundesaerztekammer-novelliert-Richtlinie-zu-Spenderhornhaeuten>
7. Bille JF, Korablinova NA, von Pape U, Schmitt-Lieb A (2005) Das visuelle System des Menschen. Springer, Berlin, Heidelberg. URL: [https://doi.org/10.1007/3-540-26630-5\\_1](https://doi.org/10.1007/3-540-26630-5_1)
8. Bischoff M, Seitz B (2013) QM-Handbuch der LIONS-Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz an der Augenklinik der Universität des Saarlandes.
9. Brunette I, Le François M, Tremblay MC, Guertin MC (2001) Corneal transplant tolerance of cryopreservation. *Cornea* 20:590–596
10. Bundesärztekammer (2018) Richtlinie zur Gewinnung von Spenderhornhäuten und zum Führen einer Augenhornhautbank, Erste Fortschreibung. *Dtsch Arztebl Int*. doi: 10.3238/arztebl.rl\_augenhornhautbank\_02
11. Caspi RR (2006) Ocular autoimmunity: the price of privilege? *Immunol Rev* 213:23–35
12. Cursiefen C, Kruse FE, Seitz B (2005) Hornhauttransplantation: Glänzende Bilanz und viele Perspektiven. URL: <https://www.aerzteblatt.de/archiv/49034/Hornhauttransplantation-Glaenzende-Bilanz-und-viele-Perspektiven>
13. Cursiefen C, Kruse FE (2008) Posteriore lamelläre Keratoplastik (DSAEK). *Ophthalmologe* 105:183–192
14. Cursiefen C, Heindl LM (2011) Perspektiven der tiefen anterioren lamellären Keratoplastik. *Ophthalmologe* 108:833–839
15. Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation (2020) DGFG veröffentlicht Jahresbericht 2019 | Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation. URL: <https://gewebenetzwerk.de/dgfg-veroeffentlicht-jahresbericht-2019/>



16. Dua HS (2013) Human corneal anatomy redefined: A novel pre-descemet's layer (Dua's layer). *Ophthalmology* 120:1778–85
17. Dua HS, Said D (2016) Clinical evidence of the pre-descemet-layer in corneal pathology. *Eye* 30:1144–1145
18. Ehlers N, Hjortdal J, Nielsen K (2009) Corneal grafting and banking. *Dev Ophthalmol* 43:1–14
19. Erb C, Behrens-Baumann W, Fechner PU, Teichmann KD, Herausgeber (2011) *Medikamentöse Augentherapie. 5., vollst. überarb. Aufl.* Thieme, Stuttgart
20. Eye Bank Association of America (2013) Statistical Report 2012. URL: <https://restoresight.org/statistical-report/>
21. Eye Bank Association of America Statistical Report 2022. URL: <https://restoresight.org/members/publications/statistical-report/>
22. Eye Bank Association of America Eye banking statistical report 2019. URL: <https://restoresight.org/what-we-do/publications/statistical-report/>;
23. Filatov VP (1937) Transplantation of the cornea from preserved cadavers' eyes. *Lancet* 229:1395–1397
24. Flockerzi E, Maier P, Böhringer D, Reinshagen H, Kruse F, Cursiefen C, Reinhard T, Geerling G, Torun N, Seitz B, all German Keratoplasty Registry Contributors (2018) Trends in Corneal Transplantation from 2001 to 2016 in Germany: A Report of the DOG-Section Cornea and its Keratoplasty Registry. *Am J Ophthalmol* 188:91–98
25. Fuchs E (1910) Dystrophia epithelialis corneae. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 76:478–508
26. Gain P, Jullienne R, He Z, Aldossary M, Acquart S, Cognasse F, Thuret G (2016) Global Survey of Corneal Transplantation and Eye Banking. *JAMA Ophthalmol* 134:167–173
27. Gasser L, Reinhard T, Böhringer D (2015) Comparison of corneal endothelial cell measurements by two non-contact specular microscopes. *BMC Ophthalmol* 15:87
28. Grehn F (2012) *Augenheilkunde. 31. Edition.* Springer, Berlin
29. Hofmann N, Wittmershaus I, Salz A-K, Börgel M (2021) Cornea Procurement and Processing up to 72 Hours: No Risk for Cornea Transplant Quality. *Transfus Med Hemother* 48:3–11
30. Joachim S, Schmid H (2014) *Die Immunologie des Auges.* *Allergo J* 23:14–15
31. Kanavi MR, Javadi MA, Sanagoo M (2007) Indications for penetrating keratoplasty in Iran. *Cornea* 26:561–563
32. Kendro Laboratory Products GmbH Sicherheitswerkbänke Herasafe HS/HSP. <https://www.manualslib.com/products/Heraeus-Hs-12-12283870.html>
33. Kramp K, Suffo S, Laun D, Bischoff-Jung M, Huber M, Langenbacher A, Seitz B (2020) Analyse von Einflussfaktoren auf die Eignung von kornealem Spendergewebe in der LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz von 2006 bis 2016. *Klin Monbl Augenheilkd* 237:1334–1342
34. Lang GK (2014) *Augenheilkunde. 5. Edition.* Thieme, Stuttgart

35. Laun DE, Suffo S, Kramp K, Bischoff M, Huber M, Langenbucher A, Seitz B (2021) Einfluss der Einführung des Qualitätsmanagementsystems auf die Verwerfungsrate und –gründe von menschlich organokultivierten Spendergewebe der LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz von 2006-2016. *Klin Monbl Augenheilkd* 239:717-723
36. Limmer L, Krieglstein GK (1992) *Augenheilkunde im Rom der frühen Kaiserzeit: A.C. Celsus De medicina libri octo*. Kaden Verlag, Heidelberg
37. Linke S (2013) Risk factors for donor cornea contamination: retrospective analysis of 4546 procured corneas in a single eye bank. *Cornea* 32:141-148
38. Lisch W, Seitz B (2011) Neue internationale Klassifikation der Hornhautdystrophien. *Ophthalmologie* 108:883–897
39. Löhlein W (1950) Erfahrungen auf dem Gebiete der Hornhautüberpflanzung: Rückblick auf etwa 300 eigene Keratoplastiken. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 151:1–45
40. Lunardelli A, Alvarenga RB, Assmann ML, Brum DE de L, Barison MA (2014) Perfil sorológico de candidatos a doação de córneas. *Rev Bras Oftalmol* 73:282–286
41. Maier P, Reinhard T, Cursiefen C (2013) Hauchdünne Hornhauttransplantate – schnelle und gute Sehschärfenerholung. *Dtsch Arztebl Int* 110:365–71
42. Marques RE, Guerra PS, Sousa DC, Gonçalves AI, Quintas AM, Rodrigues W (2019) DMEK versus DSAEK for Fuchs' endothelial dystrophy: A meta-analysis. *Eur J Ophthalmol* 29:15–22
43. Münchow W (1983) *Geschichte der Augenheilkunde*. Thieme
44. Palma-Carvajal F, Morales P, Salazar-Villegas A, Figueroa-Vercellino JP, Spencer F, Peraza-Nieves J, Sabater N, Torras J (2020) Trends in corneal transplantation in a single center in Barcelona, Spain. Transitioning to DMEK. *J Fr Ophtalmol* 43:1–6
45. Parekh M, Peh G, Mehta JS, Ahmad S, Ponzin D, Ferrari S (2019) Effects of corneal preservation conditions on human corneal endothelial cell culture. *Exp Eye Res* 179:93–101
46. Paton D (1991) The founder of the first eye bank: R. Townley Paton, MD. *J Refract Surg* 7:190-195
47. Pels E, Beele H, Claerhout I (2008) Eye bank issues: II. Preservation techniques: warm versus cold storage. *Int Ophthalmol* 28:155–163
48. Reinshagen H, Boehringer D, Seitz B, Reinhard T (2015) Aktivitäten der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft: 4. Leistungsbericht 2013. *Ophthalmologie* 112:70–72
49. Reinshagen H, Maier PC, Böhringer D (2021) Aktivitäten der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft: Leistungsbericht 2018. *Klin Monbl Augenheilkd* 238:186–190
50. Reinshagen H, Böhringer D, Schroeter J, Maier PC (2024) Aktivitäten der Sektion Gewebetransplantation und Biotechnologie der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft: Leistungsbericht 2022. *Klin Monbl Augenheilkd* DOI: 10.1055/a-2274-8147
51. Reisinger F (1824) Die Keratoplastik, ein Versuch zur Erweiterung der Augenheilkunst. *Bayerische Ann Chir Augenheilk* 1:207-215

52. Rezaei Kanavi M, Chamani T, Kheiri B, Javadi MA (2020) Preparation of endothelial keratoplasty lenticules with Gebauer SLC Original versus Moria CBm Carriazo-Barraquer and Moria One-Use Plus microkeratomes. *Indian J Ophthalmol* 68:762–768
53. Röck D, Wude J, Bartz-Schmidt KU, Yoeruek E, Thaler S, Röck T (2017) Factors influencing the contamination rate of human organ-cultured corneas. *Acta Ophthalmol* 95:e706–e712
54. Röck T, Hofmann J, Thaler S, Bramkamp M, Bartz-Schmidt KU, Yoeruek E, Röck D (2016) Factors that influence the suitability of human organ-cultured corneas. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 254:135–141
55. Rohrbach J, Tost F (2004) Geschichte der Keratoplastik. *ZPA Z Prakt Augenheilkd* 25:469–477
56. Sachsenweger M, Klauss V, Nasemann J, Ugi I (2002) *Augenheilkunde*. 2. edition. Georg Thieme Verlag
57. Safi T, Daas L, Kiefer G-L, Sharma M, Ndiaye A, Deru M, Alexandersson J, Seitz B (2021) Semiquantitative Criteria in the Eye Bank That Correlate with Cornea Guttata in Donor Corneas. *Klin Monbl Augenheilkd* 238:680–687
58. Schlötzer-Schrehardt U, Bachmann BO, Tourtas T, Torricelli AAM, Singh A, González S, Mei H, Deng SX, Wilson SE, Kruse FE (2015) Ultrastructure of the posterior corneal stroma. *Ophthalmology* 122:693–699
59. Schön F, Gericke A, Bu JB, Apel M, Poplawski A, Schuster AK, Pfeiffer N, Wasielica-Poslednik J (2021) How to Predict the Suitability for Corneal Donorship? *J Clin Med* 10:3426
60. Schroeter J, Maier P, Bednarz J, Blüthner K, Quenzel M, Pruß A, Reinhard T (2009) *Arbeitsrichtlinien: Gute Fachliche Praxis für Hornhautbanken*. *Ophthalmologie* 106:265–276
61. Schünke M, Schulte E, Schumacher U (2015) *Prometheus – Lernatlas der Anatomie – Kopf, Hals und Neuroanatomie*. 4. Edition. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York
62. Seitz B, Langenbacher A, Naumann GOH (2011) Perspektiven der Excimerlaser-Trepanation für die Keratoplastik. *Ophthalmologie* 108:817–824
63. Seitz B, Daas L, Bischoff-Jung M, Szentmáry N, Suffo S, El-Husseiny M, Viestenz A, Milioti G (2018) Anatomy-based DMEK Wetlab in Homburg/Saar: Novel aspects of donor preparation and host maneuvers to teach descemet membrane endothelial keratoplasty. *Clin Anat* 31:16–27
64. Seitz B *Deutsches Keratoplastikregister 2022*. URL: <https://www.dog.org/wp-content/uploads/2010/02/KPL-Register-2019-DOG-Website.pdf>
65. Sellarbeck SD (1878) Über Keratoplastik. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 24:1-46
66. Statistisches Bundesamt *Sterbefälle in Deutschland bis 2024*. URL: [https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Sterbefaelle-Lebenserwartung/\\_inhalt.html#sprg229094](https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Bevoelkerung/Sterbefaelle-Lebenserwartung/_inhalt.html#sprg229094)
67. Streilein JW (1999) Immunoregulatory mechanisms of the eye. *Prog Retin Eye Res* 18:357–370
68. Tan H, Lin M, Gou Q, Li A, Gu F, Liu Q, Zhang Q, Xu M, Kijlstra A, Yang P, Li H (2021) Trends in Corneal Transplantation and Characteristics of Donors in the Chongqing Eye Bank, China: A Retrospective Study, 1999–2018. *Front Med*. URL: <https://doi.org/10.3389/fmed.2021.750898>

69. Tan JCH, Holland SP, Dubord PJ, Moloney G, McCarthy M, Yeung SN (2014) Evolving indications for and trends in keratoplasty in British Columbia, Canada, from 2002 to 2011: a 10-year review. *Cornea* 33:252–256
70. Tong CM, Ellis D, Nazarali S, Machuk RWA, Kissick B, Kurji K, Climenhaga DB, Mah DY (2024) Survivability of locally prepared versus imported Descemet membrane endothelial keratoplasty grafts in Edmonton. *Can J Ophthalmol* 59:154–159
71. Victor TN da F, Loiola D, Lucas MB, Chalita MC, Sampaio TL, Báo S (2019) Causes of death and discard of donated corneal tissues: Federal District eye bank analysis 2014 -2017. *Rev Bras Oftalmol* 78. URL: <https://doi.org/10.5935/0034-7280.20190133>
72. Wilhelm FW, Herausgeber (2002) *Augenbanken*. de Gruyter, Berlin
73. Wilson SE, Bourne WM (1988) Fuchs' dystrophy. *Cornea* 7:2–18
74. Wykrota AA, Weinstein I, Hamon L, Daas L, Flockerzi E, Suffo S, Seitz B (2022) Approval rates for corneal donation and the origin of donor tissue for transplantation at a university-based tertiary referral center with corneal subspecialization hosting a LIONS Eye Bank. *BMC Ophthalmol* 22:17
75. Yao T, Asayama Y (2017) Animal-cell culture media: History, characteristics, and current issues. *Reprod Med Biol* 16:99–117
76. Zilles M, Flockerzi E, Daas L, Weinstein I, Hamon L, Seitz B (2023) Impact of cleanroom status on the reasons for discarding organ-cultured corneal transplants in a modern eye bank – More donor corneas thanks to astronaut suit? *Acta Ophthalmol* 102:e672-e678
77. Zirm E (1906) Eine erfolgreiche totale Keratoplastik. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 64:580–593
78. Hornhaut (Auge): Aufbau, Funktion, Augenlasern. URL: <https://www.onlineseh-tests.de/auge/hornhaut-auge.php80>.

## 9 Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

**Abb. 1:** Schematischer Aufbau des vorderen Augenabschnitts [61]

**Abb. 2:** Aufbau der Hornhaut [1]

**Abb. 3:** Z. n. perforierender Keratoplastik mit fortlaufender Kreuzstichnaht nach Hoffmann [28]

**Abb. 4:** Indikationen der Keratoplastik in Deutschland von 2013-2016 [24]

**Abb. 5:** Büroraum der alten Hornhautbank

**Abb. 6:** Arbeitsraum der alten Hornhautbank mit der verwendeten Sicherheitswerkbank *HeraSafe HS 12*

**Abb. 7:** Grundriss der Hornhautbank mit Kennzeichnung der Reinraumklassen („Schalenkonzept“), mit freundlicher Genehmigung von ap-systems, Reutlingen

**Abb. 8:** Anteil an Keratoplastik à chaud pro Jahr

**Abb. 9:** Endothelbedingte Verwerfung in den beobachteten Gruppen

**Abb. 10:** Serologisch bedingte Verwerfung in den beobachteten Gruppen

**Abb. 11:** Technisch bedingte Verwerfung in den beobachteten Gruppen

**Abb. 12:** Verwerfung positivem wegen Bindehautabstrich in den beobachteten Gruppen

**Abb. 13:** Kontaminationsbedingte Verwerfung in den beobachteten Gruppen

**Abb. 14:** Verwerfung auf Grund von Kontraindikationen in den beobachteten Gruppen

**Abb. 15:** Verwerfung auf Grund morphologischer Kontraindikationen in den beobachteten Gruppen

**Tab. 1:** Klassifizierung von Reinräumen und Reinluftanlagen nach Partikelzahl

**Tab. 2.:** Mikrobiologische Limits und vorgeschriebene Luftwechselraten in Reinräumen

**Tab. 3:** Tabellarische Übersicht über die einzelnen Verwerfungsgründe in den beobachteten Gruppen

## 10 Abkürzungsverzeichnis

ACAID *Vorderkammer-assoziierte abweichende Immunantwort*

AMG *Arzneimittelgesetz*

AM-HandelsV *Betriebsverordnung für Arzneimittelgroßhandelsbetriebe*

AMWHV *Arzneimittel- und Wirkstoffherstellungsverordnung*

ApBetrO *Apothekenbetriebsordnung*

DALK *deep anterior keratoplasty*

DMEK *Descemet membrane endothelial keratoplasty*

DOG *Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft*

dpt *Dioptrien*

DSAEK *Descemet's stripping automated endothelial keratoplasty*

EEBA *European Eye Bank Association*

FBS *fetales bovines Serum*

FSL *Femtosekunden-Laser*

GMP *Good Manufacturing Practice*

HEED *Hornhaut-Endothel-Epithel-Dekompensation*

KBE *koloniebildende Einheiten*

MEM *minimal essential medium*

pKP *perforierende Keratoplastik*

QM *Qualitätsmanagement*

TFG *Transfusionsgesetz*

TPG *Transplantationsgesetz*

z. B. *zum Beispiel*

## 11 Publikationen und Dank

Teile der vorliegenden Arbeit wurden vorab unter dem Titel „Impact of cleanroom status on the reason for discarding organ-cultured corneal transplants in a modern eye bank – More donor corneas thanks to astronaut suit?“ veröffentlicht (Acta Ophthalmologica, Erstveröffentlichung am 22.12.2023, online abrufbar unter <https://doi.org/10.1111/aos.16611>).

Die vorliegende Arbeit wurde im Juli 2019 in die Promotionsliste der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes aufgenommen. Die Fertigstellung wäre ohne die Hilfe verschiedener Personen und Institutionen jedoch nicht möglich gewesen. Für diese Hilfe in all ihren Formen möchte ich mich an dieser Stelle bedanken.

Mein besonderer Dank gilt zunächst Prof. Dr. med. Berthold Seitz, der mir das Thema überlassen und mich von Beginn an konstruktiv unterstützt hat.

Für seine vielfältige Unterstützung während der Entstehung dieser Arbeit und der verbundenen Publikation danke ich Dr. med. Elias Flockerzi, der als Betreuer stets Geduld und ein offenes Ohr hatte. Für die Unterstützung bei statistischen Auswertungen gilt mein Dank Herrn Cristian Munteanu. Des Weiteren danke ich Christina Turner für ihre Hilfe im Rahmen der o.g. Publikation.

Weiterhin danke ich dem Team des Klaus Faber Zentrums für Hornhauterkrankungen inkl. LIONS Hornhautbank Saar-Lor-Lux, Trier/Westpfalz, das mir wichtige Einblicke in die täglichen Abläufe ermöglicht und mich immer mit Rat und Tat begleitet hat.

Ebenso wichtig wie die fachliche Unterstützung ist selbige im privaten Bereich. Daher danke ich allen voran meiner Mutter, ohne deren Hilfe weder diese Arbeit noch mein Studium im Allgemeinen möglich gewesen wäre.



## **12 Lebenslauf**

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