

Aus der Augenklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. R. Sundmacher

Systemisches Mycophenolatmofetil versus Cyclosporin A

nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik

Ergebnisse einer randomisierten, prospektiven

klinischen Studie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Michael Malinowski

2002

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Alfons Labisch, M.A.
Dekan

Referent: Prof. Dr. med. Thomas Reinhard

Korreferent: Prof. Dr. med. Peter Heering

Elektronische Version im Katalog der Universitäts- und
Landesbibliothek der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf:
www.ulb.uni-duesseldorf.de/diss/med/2003/malinowski.html

In großer Dankbarkeit an meine Familie

1. Einleitung	4
2. Stand der Wissenschaft	7
2.1. Technik der homologen perforierenden Keratoplastik	7
2.1.1. Tripel-Operation	8
2.2. Hornhauttransplantate	9
2.2.1. Transplantatgewinnung	9
2.2.2. Transplantatuntersuchung	9
2.2.3. Transplantatkonservierung	10
2.2.4. Ziel des Transplantatkulturbedehens	11
2.3. Immunologische Aspekte der Keratoplastik	13
2.3.1. HLA-System	13
2.3.2. Immunologisches Privileg der Hornhaut	15
2.4. Normalrisiko-Keratoplastik	16
2.5. Hochrisiko-Keratoplastik	16
2.6. Transplantatprognose verschlechternde Faktoren	18
2.6.1. Wirtshornhautvaskularisation	18
2.6.2. Rekeratoplastiken	19
2.6.3. Limbusnahe Transplantatpositionierung	19
2.6.4. Limbo-Keratoplastik	19
2.6.5. Schwere atopische Dermatitis mit konsekutiv ausgeprägten Veränderungen des vorderen Augenabschnittes	20
2.6.6. Steroidresponse-Glaukom	22
2.7. Chronischer postoperativer Endothelzellverlust	23
2.8. Immunreaktionen	24
2.9. Prophylaxe von Immunreaktionen	25
2.9.1. Cyclosporin A (CSA)	26
2.9.2. Mycophenolatmofetil (MMF)	30

3. Patienten und Methoden	33
3.1 Patienten	33
3.1.1. Patientenalter und Geschlecht	33
3.1.2. Einschlusskriterien und Diagnosegruppen	33
3.1.3. Ausschlusskriterien	35
3.2. Transplantate	36
3.2.1. Herkunft der Transplantate	36
3.2.2. Transplantatentnahme und -konservierung	36
3.2.3. Transplantatspenderalter	39
3.2.4. Transplantatendothel	39
3.2.5. HLA-Typisierung	39
3.2.6. Transplantatdurchmesser	40
3.3. Anästhesie und Operationstechnik	41
3.3.1. Präoperative Vorbereitung und Anästhesie	41
3.3.2. Operationstechnik	41
3.3.3. Weitere simultan durchgeführte Operationen	42
3.3.4. Limbo-Keratoplastik	43
3.4. Postoperatives Vorgehen	44
3.4.1. Standardtherapie	44
3.4.2. Systemisches MMF und CSA	46
3.4.2.1. Patientenvoruntersuchung	46
3.4.2.2. Therapieschemata	46
3.4.2.3. Therapiedauer	47
3.5. Sicherheits- und Effektivitätsparameter der Immunprophylaxe	48
3.6. Langfristiges follow up	48
3.7. Immunreaktionen	49
3.7.1. Einteilung	49
3.7.2. Therapie	49
3.8. Chronischer Endothelzellverlust: Kontrollen, Kalkulation und statistische Auswertung	51
3.9. Datentechnische Methoden und statistische Analyse	54

4. Ergebnisse	55
4.1. Demographie	55
4.2. Transplantatüberleben	56
4.2.1. Eintrübungsursachen	56
4.3. Immunreaktionen	58
4.4. Verteilung der Immunreaktionen	60
4.4.1. Auftreten während/ nach Immunprophylaxe	60
4.4.2. Chronisch/akut	61
4.4.3. Mit/ohne HLA-Matching	61
4.5. Endothelzellverlust	62
4.6. Nebenwirkungen	64
4.7. Vorzeitige Therapieabbrüche	64
 5. Diskussion	 67
5.1. Effektivität	67
5.2. Endothelzellverlust	72
5.3. Sicherheit	73
5.4. Fazit	75
 6. Zusammenfassung	 76
 7. Literatur	 78
 8. Lebenslauf	 91
 9. Danksagung	 93
 10. Abstract	 94

1. Einleitung

Heute, nach fast zweihundertjähriger Entwicklungsgeschichte, begegnet die homologe perforierende Keratoplastik einer allgemeinen Akzeptanz als Therapie der Wahl bei zur Erblindung führenden Hornhauterkrankungen. Die exzellente Prognose der Korneatransplantate kann größtenteils dem immunologischen Privileg des vorderen Augenabschnittes, ACAID (Anterior Chamber Associated Immune Deviation) (Niederkom 1996, Streilein 1996, Streilein 1999), zugeschrieben werden. Durch diese physiologische „Immunsuppression“ wird bei Normalrisiko-Keratoplastiken ohne Anwendung systemischer Immunsuppressiva und HLA-Matching eine 5-Jahres-Transplantat-Überlebensrate von bis zu 95% erreicht (Sharif 1991, Girard 1993, Reinhard 1996, Schönherr 1996, Streilein 1999).

Eine Hauptursache für das Scheitern der Hornhauttransplantation ist die Abstoßungsreaktion. Sie ist bei Normalrisiko-Keratoplastik (Definition: siehe Kapitel „Normalrisiko-Keratoplastik“) allerdings selten. Hingegen werden Hochrisiko-Keratoplastiken (Definition: siehe Kapitel „Hochrisiko-Keratoplastik“) mit weniger erfolgreichen Ergebnissen durchgeführt. Patienten nach Hochrisiko-Keratoplastik erfahren eine Transplantateintrübung als Folge einer Abstoßungsreaktion in bis zu 75% der Fälle innerhalb des ersten postoperativen Jahres (Hill 1994, Reinhard 1996).

Im Hinblick auf diese Daten sollte möglichst keine Hochrisiko-Keratoplastik ohne postoperative systemische Immunsuppression durchgeführt werden. Eine effektive, sichere und gut verträgliche Immunsuppression ist deshalb eine der größten Herausforderungen nach Hochrisiko-Keratoplastik.

So wird systemisches Cyclosporin A (CSA) derzeit in Hochrisiko-Situationen zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Keratoplastik eingesetzt. CSA ist ein Makrolid-Antibiotikum, das über eine Hemmung der Transkription von IL-2 der Aktivierung von T-Lymphozyten entgegen und dadurch immunsuppressiv wirkt. Durch die Verwendung von systemischem Cyclosporin A ist es zu einem deutlichen Rückgang des Transplantatversagens nach Hochrisiko-Keratoplastik gekommen (Hill 1989, Hill 1994, Reinhard 1996, Reinhard 1997). Diese Therapie geht jedoch mit einer relativ hohen Inzidenz an Nebenwirkungen wie Nephrotoxizität, Hepatotoxizität,

arterielle Hypertension einher, die bei etwa 10% der Patienten mit 6- bis 12-monatiger systemischer CSA-Monotherapie auftreten (Reinhard 1997). Um dieses Nebenwirkungsrisiko zu minimieren, sollte der CSA-Blutspiegel Werte von 150 ng/ml nicht überschreiten. Die blutspiegeladaptierte Dosierung erfordert ein arbeits- und kostenintensives drug-monitoring. Alternative Immunsuppressiva mit besserer Verträglichkeit sind also wichtig in der medikamentösen Nachsorge von Hochrisiko-Keratoplastikpatienten.

Als eine aussichtsreiche Alternative zu CSA scheint Mycophenolatmofetil geeignet zu sein. Mycophenolatmofetil (MMF) ist ein Morpholino-Ethyl-Ester der Mycophenolsäure (MPA). Pharmakodynamisch fungiert diese Substanz als ein reversibler Inhibitor der Inosin-Monophosphat-Dehydrogenase, eines Enzyms das die Purin-Synthese an zentraler Stelle kontrolliert (Allison 1977, Morris 1990). Die Mycophenolsäure hemmt reversibel die de-novo Bildung von Guanosin-Monophosphat. Da Lymphozyten im Gegensatz zu anderen Körperzellen, die über einen salvage pathway verfügen, überwiegend von dieser de-novo Synthese abhängig sind, wird die lymphozytäre Purin-Biosynthese nahezu selektiv gehemmt (Morris 1990). Dieser zentrale Angriffspunkt führt zu einer Modulation verschiedener Immunreaktionen (siehe Abbildung 1) wie:

1. Inhibition der T- und B-Zell Aktivierung und Proliferation
2. Inhibition der Glykosylierung von Adhäsionsmolekülen
3. Inhibition der Antikörperproduktion
4. Inhibition der Produktion von Cytokinen (wie IL1 und IL6)

MMF führt im Gegensatz zu alkylierenden Substanzen oder Antimetaboliten nicht zu Chromosomenbrüchen bzw. miscoding, und ist daher nicht karzinogen. MMF hat eine große therapeutische Breite und wird in einer Dosierung von 2x1 g/Tag verabreicht. Die Wirksamkeit und Sicherheit von Mycophenolatmofetil in Kombination mit CSA und Kortikosteroiden zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation konnte bereits in mehreren Studien nachgewiesen werden (European MMF Cooperative Study Group 1995 und 1999, The Tricontinental MMF Renal Transplantation Study Group 1996). Hinsichtlich der perforierenden Hornhauttransplantation wurde in einem tierexperimentellen Modell der Nachweis erbracht, dass MMF das Hornhauttransplantatüberleben signifikant verlängert (Reis 1998). In einer prospektiven, randomisierten Studie mit durchschnittlicher

Nachbeobachtungszeit von 10 Monaten erwies sich MMF als eine effektive und sichere therapeutische Option zu CSA nach Hochrisiko-Keratoplastik (Reis 1999).

Ziel der vorliegenden prospektiven randomisierten, klinischen Studie war es, die Effektivität und Sicherheit von MMF und CSA zur Verhinderung der Transplantatabstoßung nach Hochrisiko-Keratoplastik in einem größeren Patientenkollektiv nach viel längerem, dreijährigem Nachbeobachtungszeitraum, zu vergleichen.

2. Stand der Wissenschaft

Die wesentlichen Voraussetzungen, die Transparenz der Hornhauttransplantate langfristig zu erhalten, sind die perfekte Beherrschung der Technik der perforierenden Keratoplastik, fundierte Kenntnisse sowohl über die Konservierung von Hornhauttransplantaten als auch über die immunologischen Besonderheiten des vorderen Augenabschnittes sowie eine präoperative Einstufung als Normal- oder Hochrisiko-Keratoplastik.

2.1 Technik der homologen perforierenden Keratoplastik

Die häufigste Form der Hornhauttransplantation ist gegenwärtig die homologe perforierende Keratoplastik. Nur in Ausnahmefällen werden autologe Transplantate verwendet. In der Bundesrepublik Deutschland werden jährlich ungefähr 4000 dieser Keratoplastiken mit homologem Material durchgeführt. Die operative Technik der homologen perforierenden Keratoplastik gilt heute bis auf die Beeinflussung des Astigmatismus und des sphärischen Äquivalents als gut gelöst.

Die Trepanation der Wirts- und Spenderhornhaut erfolgt durch verschiedene unter dem Operationsmikroskop einsatzfähige Trepanationssysteme, entweder von epithelial oder von endothelial. Auch heute noch wird der manuell einzusetzende Rundtrepan, der in seiner ursprünglichen Form auf die Entwicklungen von Franceschetti (1939, 1940, 1955) und von Hippel (1878) zurückgeht, verwendet. Naumann (1988) erkannte, dass der Motortrepan im Vergleich zum Handtrepan nach Franceschetti keinen wesentlichen Vorteil brachte. Um gerade Schnittkanten als Voraussetzung für gute Resultate zu erhalten, wurde ein Saugsystem konzipiert, das die führende Hand des Operators unterstützen sollte, also ein fixierendes Trepansystem. Der postoperative Astigmatismus soll so vermindert werden (Bull 1991, Belmont 1993). Ebenfalls versprach die Entwicklung eines Excimer-Laser-Trepanationssystem mit elliptischer Trepanation diese Vorteile, die sich jedoch klinisch bislang nicht eindeutig nachweisen ließen.

Um postoperativ ein gutes Ergebnis zu erhalten, ist die Transplantateinnäherung, die ganz wesentlich von der Erfahrung des Operators abhängt, wahrscheinlich von viel

größerer Bedeutung als die Trepanation. Damit ein Transplantateinheilen ohne chronische Entzündung oder Gefäßeinsprossungen ermöglicht wird, hat sich als Nahtmaterial monofiles Nylon der Stärken 10.0 oder 11.0 bewährt (Mackensen 1966). Das Einnähen kann sowohl in Einzelknüpfnähten als auch fortlaufend erfolgen. Der Vorteil fortlaufender Nähte liegt in der geringeren Gefahr postoperativer Fadenlockerungen. Doppelt fortlaufende gekreuzte radiäre oder diagonale Nähte verhindern klaffende innere oder äußere Wundränder (Hoffmann 1976). Um Wundrupturen zu vermeiden (Buxton 1969, Brown 1971, Deutsch 1994, Grimes 1994), sollte die definitive Entfernung der Fäden frühestens nach einem Jahr erfolgen.

Simultan mit einer perforierenden Keratoplastik können weitere Operationen durchgeführt werden. In diesem Zusammenhang sieht man die gleichzeitige Kataraktoperation mit oder ohne Implantation einer Kunstlinse sowie die vordere Vitrektomie als möglicherweise entscheidende Faktoren für ein klares Transplantatüberleben an.

2.1.1. Tripel-Operation

Bei gleichzeitiger Indikationsstellung einer Keratoplastik und einer Kataraktoperation wird heutzutage von den meisten Operateuren die kombinierte ophthalmochirurgische Vorgehensweise einer Tripel-Operation bevorzugt. Als Tripel-Operation versteht man eine Kombination aus perforierender Keratoplastik, extrakapsulärer Kataraktextraktion (ECCE) und Implantation einer intraokularen Linse.

Vergleicht man die in der Literatur beschriebenen guten Ergebnisse des klaren Transplantatüberlebens nach einer Tripel-Operation mit denen einer zweizeitig organisierten Operation, so gewinnt die Tripel-Operation durch verkürzte postoperative Zeit bis zur Ausbildung eines guten Visus immer mehr an Bedeutung (Hunkeler 1979, Lindstrom 1981, Binder 1985, Crawford 1986, Busin 1987, Kirkness 1987, Skorpik 1988, Dangel 1994). Ob jedoch die Tripel-Operation im Vergleich zur einfachen Keratoplastik einer erhöhten Gefahr eines Transplantatversagens oder einer Immunreaktion ausgesetzt ist, wurde bislang nicht eindeutig geklärt.

2.2. Hornhauttransplantate

2.3.1. Transplantatgewinnung

Mit der von Zirm 1906 erfolgten ersten erfolgreichen homologen Hornhauttransplantation begann eine neue Ära der Keratoplastik. Zirm verwendete homologes Material "gesunder" und junger Spender. Später wurden enukleierte Leichenaugen als neue Transplantatquelle genutzt (Magitot 1912, zitiert in Duke-Elder 1965). Heute gilt, dass eine Transplantatgewinnung innerhalb von 72 Stunden nach Eintreten des Todes durch Enukleation oder durch eine korneosklerale Präparation an der Leiche erfolgen sollte. Spenderhornhäute werden meist durch Enukleation gewonnen, was bei Angehörigen oft auf Ablehnung stößt. Das Einverständnis der Angehörigen ist jedoch für die primäre korneosklerale Präparation sehr viel leichter zu bekommen. Insbesondere bei Transplantatmangel ist die Erhöhung der Akzeptanz der Hornhautspende wichtig.

Ob ein Transplantat für eine Keratoplastik verwendet werden darf, hängt in erster Linie von der Todesursache und den Grunderkrankungen des Spenders ab. Man unterscheidet relative und absolute Kontraindikationen. Krankheiten wie beispielsweise Aids, Slow-Virus-Diseases (Jakob Creutzfeldt'sche Erkrankung) und aktive Hepatitis B und C sind absolute Ausschlusskriterien, während Leukämien, Lues, Sepsis und beim Patienten zuvor abgelaufene operative intraokulare Eingriffe als relative Ausschlusskriterien eine gesonderte Beurteilung erhalten, die in den Instituten unterschiedlich gehandhabt wird (Castroviejo 1968, Beveridge 1972, Offret 1974, de Voe 1975).

2.3.2. Transplantatuntersuchung

Transplantate, die in der Ophthalmochirurgie Verwendung finden, werden nach erfolgter Entnahme mit der Spaltlampe auf Narben, die ein weiteres Ausschlusskriterium darstellen, untersucht. Im nächsten Schritt wird unter dem Spiegel- und Phasenkontrastmikroskop das Transplantatendothel evaluiert. Bei guter Endothelzellichte und homogenem Endothelzellmuster gibt es für das Spenderalter keine

Obergrenze. Bisher konnte kein signifikanter Nachweis eines Einflusses des Spenderalters auf das klare Transplantatüberleben erbracht werden (Rycroft 1955, Forster 1971, Jenkins 1979, Völker-Dieben 1982, Andersen 1988, Chipman 1990, Vail 1994). Liegt jedoch die Endothelzellichte unter 2000 Zellen/mm², oder liegt eine höhergradige Pleomorphie vor, so sollte die Spenderhornhaut nicht transplantiert werden.

Während der Transplantatkonservierung werden serologische Tests zum Ausschluss von Aids und Virushepatitiden vorgenommen. Des Weiteren wird eine HLA-Typisierung aus Spenderblut oder -sklera vorgenommen (Wernet 1998).

2.3.3. Transplantatkonservierung

Schon frühzeitig machte man sich Gedanken über die Lebensfähigkeit von Hornhauttransplantaten in speziellen Kulturmedien. Magitot bewies 1911 tierexperimentell, dass die Erhaltung der Transplantatvitalität in 2 bis 10°C kaltem hämolysierten Blut möglich ist und wies damit weit in die Zukunft. Neben dem konservierenden Serum erkannte man den entscheidenden Einfluss der Temperatur auf den Erhalt der Gewebektivität. Reinin (1967) zeigte anhand von experimentellen Untersuchungen, dass das enukleierte Auge bzw. dessen Endothel bei einer Temperatur von 37°C 6 Stunden überlebt. Bei Herabsetzung der Temperatur verlangsamt sich der Prozess der Nekrose, so dass bei einer Temperatur von 7°C das Transplantat bis zu 48 Stunden post mortem verwendbar ist. Nach Reinin (1967) konnte die Überlebenszeit durch weitere Reduzierung unter 7°C nicht verlängert werden.

Man kann frisch entnommene, kurzzeitkonservierte und langzeitorgankultivierte Hornhäute transplantieren. Die heutzutage gängigsten Methoden der Hornhautkonservierung sind :

1. Kurzzeitkonservierung:

McCarey (1974) entwickelte eine Kurzzeitkonservierung bei 4°C, die das Transplantat für 4 Tage überlebensfähig machte. Nach leichten Modifikationen ist diese Methode

wegen ihrer einfachen Anwendbarkeit die noch heute am weitesten verbreitete Form der Transplantatkonservierung in der klinischen Routine (Bigar 1975, Böhnke 1983, Wilson 1989), vor allem in den USA. Das Medium besteht aus Medium TC 199 (Morgan 1950), Dextran 5%, Penicillin und Streptomycin.

2. Organkultur:

Durch Doughman konnte 1973 eine Langzeitkultivierung von bis zu 6 Wochen (Doughman 1980, Lindstrom 1986) vorgenommen werden. Das Medium dieser Organkultur besteht aus Eagle's Minimum Essential Medium, fetalem Kälberserum, Antibiotika und Antimykotika. Diese erfolgreiche Methode hat mittlerweile in Europa weite Verbreitung erfahren.

Diesen beiden Konservierungsmöglichkeiten steht seit langem die Kryokonservierung der Transplantate gegenüber. Es handelt sich hierbei um eine Langzeitkonservierung, die das Spendermaterial über Jahre verwertbar halten soll. Diese Methode hat sich jedoch nicht durchgesetzt, da durch Einfrieren und Auftauen über 90% der Transplantatendothelzellen nekrotisch werden können (Brunette 1994, Hagenah 1994).

2.3.4. Ziel des Transplantatkulturverfahrens

Ein Ziel des Konservierungsverfahrens der vorliegenden Studie war es, ausreichend Zeit zur Verfügung zu haben, um den Operationszeitpunkt optimal zu organisieren und durch eine HLA-Typisierung bzw. ein HLA-Matching die Inzidenz von Abstoßungsreaktionen zu reduzieren.

Die Keratoplastik unterliegt den gleichen gesetzlichen Qualitätssicherungsvorschriften des Transplantationsgesetzes wie die Transplantation parenchymatöser Organe. Die Langzeitkulturverfahren sind die Methoden der Wahl, da sie die Qualitätssicherungsvorschriften eindeutig am besten erfüllen (Sundmacher 2001). Bis die geforderten virusserologischen Befunde (HbsAg, Anti-HCV, Hepatitis-C-Virus-RNA, HIV-1/2-Antikörper) komplett und verlässlich vorliegen, vergeht ungefähr 1 Woche. Nicht selten müssen die Labor Untersuchungsergebnisse wegen der besonderen Schwierigkeiten der Bestimmung aus Leichenblut wiederholt oder ergänzt werden, was erneut Zeit

kostet. Zusätzlich gibt es noch einen zweiten zeitaufwendigen Faktor, nämlich die Gewebe-Typisierung und das Matching (Wernet 1998). Derzeit sind die Chancen auf ein Zero-Mismatch im A, B, DR -Locus, von dem die Hochrisikopatienten besonders profitieren würden, jedoch noch sehr gering, da man viel zu wenig typisiertes Material hat. Nur wenn man möglichst alle Hornhäute typisiert und dadurch einen viel effizienteren Austausch HLA-typisierter Hornhäute z.B. über BIS (Bioimplant Services Leiden, Niederlande) ermöglicht, steigen die Chancen auf ein Zero-Mismatch deutlich an.

Hinreichende Zeit für alle genannten Untersuchungen gewährt nur die Langzeitorgankultur. Deshalb hat sich die Arbeitsgemeinschaft Deutscher Hornhautbanken entschlossen, Langzeitkulturverfahren zu empfehlen und zu fördern.

Die Langzeitorgankultur wird befürwortet (Sundmacher 2001),

- um primär nicht erkennbare mikrobiologische/virologische Kontaminationen aufzudecken.
- weil mit der Zeit (ca. 14 Tage) die HLA-DR-positiven Langerhans-Zellen das Transplantat verlassen und damit seine immunologische Verträglichkeit besser wird (Holland 1987, Ardjomand 1997).
- um die Vitalität des Spenderendothels verlässlicher abschätzen zu können.
- um Transplantat und Spender in einem großräumigen Versorgungsgebiet optimal zusammenzuführen.

2.3. Immunologische Aspekte der Keratoplastik

2.3.1. HLA-System

Die HLA-Klasse-I-Antigene sind auf menschlichen epithelialen, stromalen und endothelialen Hornhautzellen nachgewiesen worden (Newsome 1974). Die HLA-Klasse-II-Antigene sind primär nur epithelial auf Langerhans-Zellen zu finden (Jager 1992). Nach einer Entzündung werden aber auch Klasse-II-Antigene umfangreich gebildet.

Die Präsenz der spenderspezifischen HLA-Alloantikörper (Völker-Dieben 1989) und zytotoxischer T-Lymphozyten (Irschick 1989) auf abgestoßenen Hornhauttransplantaten stützt die Hypothese, dass das HLA-System in die immunologischen Prozesse während der Abstoßungsreaktion involviert ist. Die HLA-Klasse-II (DR) Mismatches führen bei der Abstoßungsreaktion allogener Transplantate zur Aktivierung regulatorischer T-Lymphozyten, während man HLA-Klasse-I (AB) Mismatches für die Zielscheibe zytotoxischer T-Lymphozyten und Allo-Antikörper hält (Völker-Dieben 2000).

Langerhans-Zellen, die zu den epidermalen HLA-Klasse-II-Antigen-exprimierenden Zellen gehören (Rowden 1981), wurden im zentralen Hornhautepithel abgestoßener allogener Transplantate und in herpetischen Hornhäuten gefunden. In gesunden Hornhäuten wurden die Langerhans-Zellen nur im Limbusbereich gefunden (Pepose 1985). Spenderhornhäute die 14 Tage in Organkultur gehalten werden sind frei von HLA-DR-positiven Langerhans-Zellen (Ardjomand 1997). Der höhere Anteil von Abstoßungsreaktionen bei Transplantationen größerer Transplantate im Vergleich zu Transplantaten mit kleineren Durchmessern kann der Präsenz limbalen Langerhans-Zellen zugeschrieben werden.

Die Entzündung, hervorgerufen durch Infektion oder Abstoßungsreaktion und sogar durch die Transplantationsprozedur selbst, kann die Expression der HLA-Klasse-II-Moleküle auf dem Hornhautendothel induzieren (Claas 1994). Bojsjoly et al. suggerieren die Möglichkeit, dass lockere Nähte, intraokuläre Entzündungen oder

Infektionen die Expression der HLA-AB und –DR Antigene vorantreiben, möglicherweise durch Produktion von Interferon, was die Abstoßung allogener Hornhauttransplantate initiiert (Boisjoly 1986).

Die oben genannten Erwägungen stützen die Hypothese, dass HLA-AB und -DR Histoinkompatibilitäten für das Auftreten immunologischer Abstoßungsreaktionen nach Hornhauttransplantationen verantwortlich sind. In der Vergangenheit zeigten die Studien die den Einfluss des HLA-Matching auf mittelfristiges Transplantatüberleben untersuchten widersprüchliche Ergebnisse (Gibbs 1974, Stark 1978, Ehlers 1979, Foulks 1983, Völker-Dieben 1989, Boisjoly 1990, Baggesen 1991, CCTS 1992, Hoffmann 1994). Die Hauptursache dieser Widersprüche waren technische Unterschiede bei der HLA-Typisierung (Mytilineos 1990). Weitere wichtige potentielle Quellen der Heterogenität der Transplantationsstudienresultate waren die unterschiedliche Vollständigkeit und Zuverlässigkeit der HLA-Typisierungen (Völker-Dieben 2000).

Die Ergebnisse der Studie von Völker-Dieben (2000), in welcher insgesamt 1681 Empfänger von Hornhauttransplantaten involviert waren, zeigen, dass das kombinierte Risiko der Transplantatabstoßung, hervorgerufen durch Immunreaktionen reversibler oder irreversibler Art, bei Empfängern mit hochgradig vaskularisierten Wirtshornhäuten, die eine histoinkompatible Spenderhornhaut erhalten haben, 13.87 mal größer ist, als bei Empfängern, die keine oder nur geringe Vaskularisation der Wirtshornhaut aufweisen und gleichzeitig Transplantate mit höchstens 2 HLA-AB-Mismatches und keinem HLA-DR-Mismatch erhalten haben. Die oben genannte Studie demonstriert das Benefit der HLA-Matching-Prozedur insbesondere für die Transplantatempfänger, die hohes Risiko für immunologische Transplantatabstoßung aufweisen.

Es existieren Hinweise, dass der Endothelzellverlust bei einem guten HLA-Match kleiner ausfällt als bei einem schlechten (Reinhard 2000). Der idiopathische Endothelzellverlust ist definiert als ein bislang unerklärtes Absinken der Endothelzelldichte perforierender Hornhauttransplantate. Dieses Phänomen, dem möglicherweise eine subklinisch verlaufende Immunreaktion zugrunde liegt (Ruusuvaara 1979, Reinhard 2001, Böhringer 2001), begrenzt langfristig das klare Überleben der meisten Transplantate.

Werden diese Tendenzen in weiteren Studien bestätigt, so wäre zukünftig, um das erhöhte Immunreaktionsrisiko und den Endothelzellverlust zu minimieren, für alle perforierenden Keratoplastiken die Verwendung optimal HLA-gematchter Transplantate zu empfehlen.

2.3.2. Immunologisches Privileg der Hornhaut

Die ausgezeichnete Prognose der meisten histoinkompatiblen Hornhauttransplantate nach Normalrisiko-Keratoplastik wird auf das immunologische Privileg der Hornhaut zurückgeführt. Es wird durch die Gesamtheit folgender immunologischen Faktoren bedingt:

- reduzierte Expression von MHC-Klasse-I-Molekülen auf Keratozyten und Hornhautendothel (Fujikawa 1982, Mayer 1983, Abi-Hanna 1988).
- fehlende spontane Expression der MHC-Klasse-II-Moleküle.
- Avaskularität der Empfängerhornhaut.
- geringe Zahl antigen-präsentierender Zellen (APC) im Transplantat (Streilein 1979).
- Sekretion immunmodulierender Moleküle durch die Kornea selbst, z.B.: interleukin-1 (IL-1) receptor antagonist und transforming growth factor-beta (TGF β) (Streilein 1997).
- korneale Expression von Komplement-Inhibitoren (Stuart 1997, Mohan 1997).

In die vordere Augenkammer injizierte Antigene induzieren darüber hinaus eine abweichende immunologische Antwort (Anterior Chamber Associated Immune Deviation, ACAID). Dadurch bleibt bei erneuter Antigenexposition die Immunreaktion von Spättyp (DTH) aus (Friedlaender 1993). Ursache dafür ist die Bildung von Antigen-spezifischen Milzlymphozyten mit „Suppressorfunktion“ bei Erstexposition (Wilbanks 1991, Streilein 1994).

2.4. Normalrisiko-Keratoplastik

Innerhalb der fachwissenschaftlichen Literatur zeichnet sich eine Normalrisiko-Keratoplastik durch eine mittelfristig hervorragende Prognose aus. Bei Normalrisiko-Keratoplastiken wird mit HLA-untypisierten Korneatransplantaten ohne Anwendung systemischer Immunsuppressiva eine 5-Jahres-Transplantat-Überlebensrate von bis zu 95% erreicht (Sharif 1991, Girard 1993, Reinhard 1996, Schönherr 1996, Streilein 1999). Postoperativ bedarf die Normalrisiko-Keratoplastik im Gegensatz zur Hochrisiko-Keratoplastik, die mit wesentlich schlechterer Prognose einhergeht, erheblich weniger therapeutischer Anstrengungen. Die mit einer Prognoseverschlechterung einhergehenden Ausschlusskriterien einer Normalrisiko-Keratoplastik können der Tabelle 1 entnommen werden.

2.5. Hochrisiko-Keratoplastik

Die Kriterien für Hochrisiko-Keratoplastik sind noch nicht standardisiert. In der Literatur wurde für die Definition der Hochrisiko-Keratoplastiken immer das gemeinsame Kriterium des erhöhten Risikos für Immunreaktionen als entscheidend angesehen. Eine Orientierung bei den Einteilungen der Hochrisiko-Keratoplastiken erfolgte nur an der Auftretenswahrscheinlichkeit von Immunreaktionen. Eine differenzierende Versagensanalyse wurde 1983 von Sundmacher und 1995 von Reinhard vorgestellt.

Die Hochrisiko-Keratoplastik wurde durch die in Tabelle 1 aufgeführten Grenz- und Einschlusskriterien definiert. Für jedes einzelne Kriterium ist aus der Literatur bekannt, dass seine Erfüllung in der Regel zu einer Verschlechterung der Prognose führt.

Tabelle 1: Definition der Hochrisikokeratoplastik

1. erhöhtes Risiko für Immunreaktionen	tiefe Wirtshornhaut-vaskularisationen in ≥ 3 Quadranten	Khodadoust 1969, Gibbs 1974, Sundmacher 1977, Alldrege 1981, Völker-Dieben 1982, 1989, Boisjoly 1990, Friedlaender 1993, Vail 1993
	Rekeratoplastik	Sundmacher 1977, Völker-Dieben 1982, Maguire 1993, Vail 1993
	à chaud Keratoplastik	Ehlers 1987, Cowden 1989, Stübinger 1994
	limbusnahe Transplantatposition	Khodadoust 1968, Gibbs 1974, Völker-Dieben 1982, Tuberville 1983, Ehlers 1987, Hoffmann 1989, Boisjoly 1990
	Limbo-Keratoplastik	Sundmacher 1996, Reinhard 1999
2. Epithelheilungsstörungen bei	Neurodemitis	Smolin 1983, Vajpayee 1990 Reinhard 1992, 1999
	Limbusstammzellinsuffizienz	Hanna 1962, Duke-Elder 1965, Allredge 1981, Mc Culley 1983
	rheumatischer Keratitis	Sundmacher 1987
	Sensibilitätsstörungen	Kanski 1987
	endokriner Orbitopathie	Kanski 1987
	schwerer Sicca-Problematik	Kanski 1987
3. zu Rezidiven neigende mikrobielle Grunderkrankungen	Herpeskeratitis	Sundmacher 1978, 1992, Beyer 1989, Mannis 1991, Holbach 1993
	Amöbenkeratitis	Samples 1984, Jones 1986, Cohen 1987
4. Patientenalter	<6 Jahre	Brown 1974, Mackensen 1977, Waring 1977, Stulting 1984, Cowden, 1990, Ehrlich 1991, Reinhard 1993, Althaus 1995
5. Steroid-induziertes Glaukom mit bullöser Keratopathie		Sundmacher 1992, Reinhard 1999

2.6. Transplantatprognose verschlechternde Faktoren

Die wichtigsten mit einer Prognoseverschlechterung einhergehenden Kriterien in der vorliegenden Arbeit sind:

- 1.) korneale Neovaskularisation über drei oder vier Quadranten
- 2.) Rekeratoplastiken
- 3.) große Transplantatdurchmesser und Positionierung des Transplantats nahe an den Limbus
- 4.) hochimmunogene Limbo-Keratoplastik
- 5.) schwere atopische Dermatitis mit konsekutiv ausgeprägten Veränderungen des vorderen Augenabschnittes
- 6.) Steroidresponse-Glaukom

2.6.1 Wirtshornhautvaskularisation

Bei Wirtshornhautvaskularisationen ist das erhöhte Risiko für Immunreaktionen in tierexperimentellen (Khodadoust 1969) und vielen klinischen Studien (Gibbs 1974, Allredge 1981, Völker-Dieben 1982 und 1989, Boisjoly 1990, Vail 1993) gesichert. Die plausibelste Erklärung dafür scheint zunächst eine Erleichterung der afferenten und efferenten Immunabläufe zu sein (Friedländer 1993).

Die im Zentrum vaskularisierter Hornhäute gefundenen Langerhans-Zellen (Gilette 1982) sowie die Hornhautvaskularisation per se beeinträchtigen die Induktion von ACAID (siehe Kapitel: Anterior Chamber Associated Immune Deviation) (Williamson 1987). Welcher der beiden Faktoren den größeren Einfluss hat ist bislang nicht geklärt.

Die Schwelle des Vaskularisationsausmasses, bei welcher von einer Hochrisiko-Keratoplastik die Rede ist, wurde in allen klinischen Studien empirisch festgelegt: Bei Vaskularisationen in drei oder vier Quadranten handelt es sich um Hochrisiko-Keratoplastiken (Völker-Dieben 1989, Hill 1992).

2.6.2. Rekeratoplastiken

Rekeratoplastiken gehen immer mit einem deutlich erhöhten Eintrübungsrisiko einher (Völker-Dieben 1982, Maguire 1993, Vail 1993). Dementsprechend ermittelte Maguire (1993) für die erste Keratoplastik eine Eintrübungswahrscheinlichkeit von 16%, für die dritte Keratoplastik dagegen von 55%.

2.6.3. Limbusnahe Transplantatposition

Je größer ein Transplantat gewählt wird, desto höher ist das Risiko einer immunologisch bedingten Transplantateintrübung in tierexperimentellen (Khodadoust 1968) und klinischen (Gibbs 1974, Völker-Dieben 1982, Tuberville 1983, Ehlers 1987, Hoffmann 1989, Boisjoly 1990) Studien. Ursächlich dafür scheinen die in limbusnaher peripherer Hornhaut erheblich dichter als zentral vorkommenden Langerhans-Zellen zu sein (Klareskog 1979, Merlyn 1981, Gillette 1982).

Ausschlaggebend bei der Risikoeinstufung sollte sein, ob der Limbus der Wirtshornhaut erreicht wird. Das aber hängt nicht nur vom Transplantatdurchmesser, sondern auch vom Wirtshornhautdurchmesser und von der Transplantatposition ab. Daher lässt sich auch die schlechte Prognose eines kleinen, aber limbusnah positionierten Transplantates erklären.

2.6.4. Limbo-Keratoplastik

Die Quelle der Regeneration des Hornhautepithels liegt im basalen Limbusepithel (Chen 1990, Huang 1991, Kruse 1996). In Fällen kompletter Zerstörung des Limbus, insbesondere nach chemischen oder thermischen Traumen, sind schwere Epithelheilungsstörungen mit nachfolgender Konjunktivalisation des Transplantates unvermeidlich (Puangricharn 1995).

Eine konventionelle perforierende Keratoplastik ist in diesen überwiegend ganz verzweifelten präoperativen Zuständen, die eine Substitution des Transplantatepithels durch den Empfänger nicht erlauben, zum Scheitern verurteilt (Hanna 1962). Nur chirurgische Prozeduren, die auf Transplantation intaktes Limbuszellsystems abzielen,

können Patienten mit einer schweren Limbusstammzellinsuffizienz rehabilitieren (Kenyon 1989).

Die Transplantation des Limbusstammzellsystems via lamellärer Korneolimbalen Transplantate (Herman 1983, Kenyon 1989, Tsai 1990, Tsubota 1995, Tan 1996) sowie die Verwendung übergroßer homologer perforierender Transplantate (Duke-Elder 1965) haben technische und immunologische Nachteile.

In der Augenklinik der Universität Düsseldorf wurde eine alternative Methode der homologen Limbusstammzelltransplantation (Limbo-Keratoplastik, HPCLK:homologous penetrating central limbo-keratoplasty) entwickelt (Sundmacher 1996). Es handelt sich um die zentrale Transplantation von exzentrisch trepanierten korneolimbalen Transplantaten, die in ca. 40% ihrer Zirkumferenz limbale Zellen beinhalten. Da bei dieser Vorgehensweise HLA-Klasse-II-positive Langerhans-Zellen mittransplantiert werden, muss von einem hohen Risiko für Immunreaktionen ausgegangen werden.

So waren in einer klinischen Studie 18 von 25 nicht HLA-gematchten Transplantaten nach 41 Monaten eingetrübt. Die Limbo-Keratoplastik wurde in dieser Studie unter postoperativer systemischen CSA-Immunprophylaxe durchgeführt (Reinhard 1999).

Die Limbo-Keratoplastik ist operationstechnisch einfacher durchzuführen und stellt trotz der hohen Abstoßungsrate eine neue, vielversprechende Technik der chirurgischen „Reparatur“ von Zuständen dar, die in Vergangenheit wegen der desolaten Ausgangslage und minimaler Erfolgschancen als nicht kurabel beurteilt wurden. Eine effektive Immunsuppression ist bei der Transplantation dieses hochimmunogenen Gewebes absolut notwendig. Eine Steigerung der Transplantatüberlebensraten ist von der Verwendung HLA-gematchter Transplantate und verbesserter Immunmodulation zu erwarten (Reinhard 1999).

2.6.5. Schwere atopische Dermatitis mit konsekutiv ausgeprägten Veränderungen des vorderen Augenabschnittes

Die atopische Dermatitis ist eine chronische Entzündung, charakterisiert durch eine Vielzahl von Hautveränderungen, die oft die Augenlider einschließen. Daher kann die Lidhaut Papeln, Rhagaden, Lichenifizierungen und die Bindehaut eine gigantomapilläre Hyperplasie oder Granulome aufweisen. Die Bindehaut produziert pathologischen, sehr zähen Schleim und neigt zu Schrumpfung mit nachfolgender Symblepharonbildung und

Lidfehlstellung (Duke-Elder 1965, Smolin 1983, Friedlaender 1993). Der Tränenfilm kann erhöhte Viskosität aufweisen.

Die Hornhaut kann involviert sein und zeigt im Rahmen einer Keratopathia atopica eine Keratitis superficialis punctata, Erosionen, Infiltrate oder Ulzera (Smolin 1983), sowie eine erhöhte Inzidenz eines Keratokonus (Rahi 1977). Auch ist die Inzidenz einer Katarakt und die von Netzhautablösungen gesteigert (Cordes 1946, Vetter 1952, Hurlbut 1954, Coles 1957, Klemens 1962).

Hinzu kommen eine Reihe allgemeiner immunologischer Besonderheiten, die zu viralen und bakteriellen ophthalmologischen Infektionen prädisponieren. So ist die IgE-Konzentration im Serum oft erhöht (Gigli 1979, Smolin 1983, Butrus 1984), was die Atopiker zum Reiben in der Periorbital- und Augenregion verleitet. Dieser mechanische Faktor spielt wahrscheinlich eine wichtige Rolle in der Entwicklung dermatologischer, konjunktivaler und kornealer Läsionen, und möglicherweise die entscheidende in der Entwicklung von Keratokonus, Katarakt und Netzhautablösung (Cameron 1989).

Die perforierende Keratoplastik kann in zwei Indikationsgruppen notwendig werden: Patienten mit Keratokonus oder Keratitis bei schwerem endogenen Ekzem. In beiden Gruppen muss mit folgenden schwierigen postoperativen Komplikationen gerechnet werden:

1. Störungen der Transplantatoberfläche. Das Transplantat ist von erheblichen Epithelheilungsstörungen bedroht, die auf die pathologische Lidkanten-, Bindehaut- und Tränensituation zurückgehen.
2. Virale, bakterielle und mykotische Transplantatinfektionen, verursacht durch die immunologischen Besonderheiten. Die postoperative, topische Kortikosteroidapplikation kann dieses Problem verstärken.
3. Erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Immunreaktionen. Die Hauptursache dafür liegt in der u.U. nicht unerheblichen Wirtshornhautvaskularisation bei atopischer Keratopathie. Durch die ständige Oberflächenirritation bedingte Unmöglichkeit, suffizient lokal Kortikosteroide zu applizieren, kann als weitere Ursache des erhöhten Immunreaktionsrisikos betrachtet werden.

Für die Patienten mit schwerer atopischer Dermatitis und konsekutiv ausgeprägten Veränderungen des vorderen Augenabschnittes erweist sich die systemische Applikation von Ciclosporin A als effektive Prophylaxe zur Vermeidung der Transplantatkomplikationen nach perforierender Keratoplastik (Reinhard 1999).

2.6.6. Steroidresponse-Glaukom

Eine präoperative Glaukomanamnese bedingt eine Verschlechterung der Transplantatprognose (Reinhard 1997). Diese Situation sollte daher den Hochrisiko-Keratoplastiken zugeordnet werden. Bei einem langfristig erhöhten Augeninnendruck kann es durch einen allmählichen Endothelschaden (Reinhard 2001) zum Transplantatversagen kommen.

Mitverantwortlich für postoperative Glaukomprobleme ist eine zur Vermeidung von Immunreaktionen erforderliche Kortikosteroidapplikation (Stewart 1979, Goldberg 1981). Ein Steroid-induziertes Glaukom in Kombination mit bullöser Keratopathie wird als Hochrisiko-Situation betrachtet, da man postoperativ auf topische Steroidapplikation verzichten sollte. In der Literatur ist ein starker Anstieg der Inzidenz von immunologischen Ereignissen in dieser Situation bekannt (Sundmacher 1977, 1983). Ist beispielsweise bereits präoperativ klar, dass es sich bei Patienten um einen sogenannten Kortikosteroidresponder handelt, so muss über eine systemische Ciclosporin A Applikation nachgedacht werden, um die notwendige lokale Kortikosteroiddosis so gering wie möglich halten und so ein Kortikosteroidglaukom vermeiden zu können.

2.7. Chronischer postoperativer Endothelzellverlust

Der chronische Endothelzellverlust ist ein bekanntes Phänomen nach der Mehrzahl perforierender Keratoplastiken (Culbertson 1982, Musch 1991, Bourne 1994, Langenbacher 2000, Reinhard 2002). Er ist definiert als allmähliches Absinken der Endothelzelldichte des Transplantats, ohne dass an der Spaltlampe sichtbare Immunreaktionen beobachtet werden. Der Endothelzellverlust ist in den ersten 3 postoperativen Jahren größer als 5 oder 10 Jahre nach Keratoplastik (Bourne 1994, Kus 1999, Nishimura 1999). Die Ursache des chronischen Endothelzellverlusts nach perforierender Keratoplastik ist nicht bekannt, als mögliche Erklärung wurde bislang eine Umverteilung der Endothelzellen vom Transplantat auf die Wirtshornhaut diskutiert. Dies könnte den stärkeren Verlust an Endothelzellen in der frühen postoperativen Phase erklären. Ist diese Umverteilung aber erst einmal abgeschlossen, sind möglicherweise an der Spaltlampe nicht sichtbare Immunreaktionen Hauptursache des schleichenden Endothelzellverlusts (Ruusuvaara 1979). Inwieweit die Grunderkrankung der Hornhaut und damit auch das Wirtsendothel den chronischen Endothelzellverlust beeinflussen, ist bislang nur in sehr wenigen Studien untersucht worden. Der Zustand des Wirtsendothels spielt hierbei möglicherweise auch eine Rolle (Culbertson 1982, Obata 1991, Ing 1998, Langenbacher 2000, Reinhard 2002). Es gibt Hinweise aus einer retrospektiven Studie, dass das Spenderalter, die Zeit von Spendertod bis Transplantatentnahme und die Organkulturdauer den Endothelzellverlust verstärken können (Böhringer 2002), was jedoch zur Zeit sehr kontrovers diskutiert wird und einer Verifizierung in weiteren prospektiven, randomisierten Langzeitstudien bedarf.

2.8. Immunreaktionen

Nach jeder perforierender Hornhauttransplantation können Immunreaktionen gegen zelluläre Transplantatanteile (Transplantatepithel, -stroma und -endothel) auftreten (Khodadoust 1969, Polack 1972). Immunreaktionen gegen Epithel sind klinisch nur sehr schwierig gegenüber anderen epithelialen Transplantatkomplikationen wie beispielsweise Sicca-Symptomen abzugrenzen. Verlässliche Zahlen zur Inzidenz epithelialer Immunreaktionen kann es aus diesem Grund nicht geben. Immunreaktionen gegen Transplantatstroma und -endothel können dagegen klinisch zweifelsfrei diagnostiziert werden. Stromale Immunreaktionen sind seltener als endotheliale Immunreaktionen. Beide Formen können akut oder chronisch verlaufen (Sundmacher 1977, Allredge 1981, Severin 1986, Pleyer 1990).

Chronische endotheliale Immunreaktionen verlaufen schleichend mit wenigen disseminierten Immunpräzipitaten und zunächst ohne Transplantatepithel- und Stromaödem (Sundmacher 1977 und 1990, Severin 1986 und 1994, Pleyer 1990). Sie führen unbehandelt zu einem progredienten Endothelzellschwund (Sundmacher 1983, Musch 1991), der nicht durch Endothelzellmitosen ausgeglichen werden kann (Kaufman 1966, Doughman 1976). Schließlich kommt es unterhalb von etwa 400 Zellen/mm² zu einem irreversiblen Transplantatversagen durch insuffiziente Dehydratation des hyperosmolaren Transplantatepithels und -stromas (Dikstein 1972, Maurice 1972). Die wirksamste Therapie dieser schleichenden endothelialen Immunreaktionen besteht in einer lokalen Kortikosteroidapplikation (Sundmacher 1977 und 1990, Severin 1994).

Viel häufiger jedoch treten endotheliale Immunreaktionen akut mit diffus verteilten oder in Khodadoust-Linie angeordneten Immunpräzipitaten auf und führen dann über das obligate Transplantatödem zu einer deutlichen Visusabnahme (Sundmacher 1977 und 1990, Severin 1986 und 1994, Pleyer 1990). Nur eine sofort beginnende Therapie mit hochdosierter lokaler und u.U. auch systemischer Kortikosteroidapplikation kann dann ein Transplantatversagen verhindern (Mauemenee 1962, Buxton 1969, Sundmacher 1977, 1983, 1990, Stark 1980, Hill 1991).

2.9. Prophylaxe von Immunreaktionen

Systemisch wird bei Normalrisiko-Keratoplastiken perioperativ für etwa zwei bis drei Wochen ein Kortikosteroid gegeben, z.B. beginnend mit 50 mg Fluocortolon (Sundmacher 1977, 1983). Lokal wird nach Transplantatepithelschluß ein Kortikosteroid, z.B. Prednisolon-21-acetat 1% AT, beginnend mit fünfmal täglich, appliziert und danach monatlich um einen Tropfen reduziert (Sundmacher 1977). Nach zirka fünf Monaten besteht in den meisten Fällen hinreichende immunologische Toleranz.

Bei Hochrisiko-Keratoplastiken ist diese immunologische Toleranz nach Absetzen der lokalen Steroide nicht so stabil, was durch die hohe Transplantateintrübungsrate als Folge von Abstoßungsreaktionen verdeutlicht wird.

Eine langfristige oder evtl. lebenslange Gabe lokaler Steroide ist mit der Gefahr einer Kortikosteroidglaukominduktion (Mandelbaum 1992) und anderer Kortikosteroidnebenwirkungen verbunden. Auch unter höher dosierter lokaler Steroidprophylaxe können in Hochrisikosituationen Abstoßungen vorkommen. Die zusätzliche systemische Applikation von Immunsuppressiva scheint also nach einer Hochrisiko-Keratoplastik ähnlich wie bei der Transplantation parenchymatöser Organe unumgänglich zu sein. Eine effektive, sichere und gut verträgliche Immunsuppression ist deshalb eine der größten Herausforderungen nach Hochrisiko-Keratoplastik.

Im Folgenden werden die in der vorliegenden Studie applizierten systemischen Immunsuppressiva, Cyclosporin A und Mycophenolatmofetil, vorgestellt.

2.9.1. Cyclosporin A (CSA)

Cyclosporin ist ein wasserunlösliches, zyklisches Undekapeptid, das aus dem Pilz *Tolypocladium inflatum* gewonnen wird. Es enthält 11 zum Teil ungewöhnliche und zum Teil methylierte Aminosäuren. Cyclosporin wirkt immunsuppressiv, indem es in die Signalübermittlung zwischen den Lymphozyten eingreift, dies erfolgt über eine Hemmung der Zytokinproduktion, besonders von IL-2 in der frühen Aktivierungsphase von T-Zellen (Abbildung 1).

Anwendung:

Cyclosporin wird mit gutem Erfolg verwendet, um Abstoßungsreaktionen nach Organtransplantationen zu verhindern. So hat sich nach Einführung von Cyclosporin die Erfolgsquote besonders bei Nierentransplantationen, aber auch bei Herz- und Lebertransplantationen deutlich steigern lassen. Versuchweise wird Cyclosporin auch bei Autoimmunerkrankungen eingesetzt. Weitere Indikationen sind schwere endogene Uveitis sowie Behçet-Uveitis mit Beteiligung der Retina, schwerste Formen der Psoriasis und bestimmte Formen des nephrotischen Syndroms.

Seit ca. 15 Jahren wird systemisches Cyclosporin A zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Hochrisiko-Keratoplastik eingesetzt. Dadurch ist es zu einem deutlichen Rückgang des Transplantatversagens nach Hochrisiko-Keratoplastik gekommen (Hill 1989, Hill 1994, Reinhard 1996, Reinhard 1997).

Pharmakodynamik:

Der molekulare Wirkmechanismus wurde vor kurzem aufgeklärt: Cyclosporin lagert sich im Zytoplasma von T-Helferzellen an das Protein Cyclophilin an. Der Komplex aus Cyclosporin A und Cyclophilin hemmt Calcineurin, das als Proteinphosphatphosphatase für die Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF-AT (nukleärer Faktor aktivierter T-Zellen) zuständig ist. Durch die fehlende Dephosphorylierung wird der Übertritt von aktiven NF-AT in den Zellkern und damit die Transkription des IL-2 Gens verhindert. Darüber hinaus greift Cyclosporin A in den Signaltransduktionsweg des T-Zell-Rezeptors ein. Die Freisetzung von Interleukin 2 und die Bildung von Interleukin-Rezeptoren sistieren (Abbildung 1). Dadurch wird die Proliferation von zytotoxischen T-Lymphozyten, deren Aufgabe es ist, die als körperfremd erkannten

Zellen zu zerstören, vermindert. Cyclosporin hemmt die Synthese der Zytokine Interleukin 2 bis 6 und von Interferon Gamma in T-Lymphozyten. Klinisch werden zelluläre Immunreaktionen unterdrückt. Die Tätigkeit phagozytierender Zellen und die Antikörpersynthese können allerdings auch reduziert sein. Die Zellspezifität des am stärksten betroffenen Transkriptionsfaktors NF-AT, der praktisch ausschließlich in T-Lymphozyten vorkommt, erklärt die weitgehende Selektivität dieses Immunsuppressivums. Zunehmend werden jedoch auch Wirkungen auf andere Zellen (z.B. Endothelzellen, Nierenzellen) beobachtet.

Nebenwirkungen:

Die Indikation zum Einsatz von systemischem Cyclosporin A bei perforierender Keratoplastik muss wegen potentiell gravierender Nebenwirkungen wie z.B. Störungen der Nierenfunktion und Anstieg des arteriellen Blutdrucks (Heering 1991) eng gestellt werden. Die Nebenwirkungen der CSA-Therapie sind im allgemeinen dosisabhängig und sprechen auf eine Dosisreduktion an. Da bei Transplantationspatienten höhere Initialdosen benötigt werden, treten Nebenwirkungen dort üblicherweise häufiger und stärker ausgeprägt auf als bei Patienten, die wegen anderer Indikationen behandelt werden. Eine wichtige Sicherheitsmaßnahme zur Therapieüberwachung bei Transplantations-Patienten stellt die Bestimmung der Cyclosporin-Konzentration im Vollblut dar, gemessen mit spezifischen monoklonalen Antikörpern.

Niere: Eine Nierenschädigung steht im Vordergrund der Nebenwirkungen der CSA-Therapie. Bei Konzentrationen im therapeutischen Bereich tritt eine reversible Nierenfunktionsstörung mit erhöhten Serumspiegeln von Kreatinin und Harnstoff auf, bei Vorschädigung der Niere oder in Kombination mit anderen nephrotoxischen Arzneistoffen (z.B.: Aminoglykosiden, Diclofenac) und in hoher Dosierung ist Cyclosporin akut nephrotoxisch. Vor dem Manifestwerden einer Nierenschädigung lässt sich häufig schon eine Minderdurchblutung der Niere feststellen, auch in anderen Gefäßgebieten ist eine Vasokonstriktion beobachtet worden. Eine sorgfältige Überwachung der Nierenfunktion ist wegen der Gefahr einer Niereninsuffizienz erforderlich.

Herz-Kreislauf-System: Der Blutdruck sollte wegen häufig auftretender arterieller Hypertonie unter der CSA-Therapie regelmäßig gemessen werden.

Nervensystem und Sinnesorgane: Häufiges Auftreten von Tremor, Müdigkeit, Kopfschmerzen und Parästhesien in Händen und Füßen.

Leber und Gastrointestinaltrakt: Gastrointestinale Beschwerden sind häufig, z.B. Appetitlosigkeit, Übelkeit, Erbrechen, Durchfall, Gastritis oder Gastroenteritis. Bemerkenswerterweise kommt es häufig zu Gingivitis hypertrophicans. CSA kann zum Anstieg von Bilirubin und Leberenzymen im Serum führen. Eine sorgfältige Überwachung der Leberfunktion ist wegen der Gefahr einer Leberinsuffizienz erforderlich.

Immunsystem: Malignome und lymphoproliferative Störungen können auftreten. Ihre Häufigkeit und Verteilung ähneln denen von Patienten mit konventioneller immunsuppressiver Therapie.

Pharmakokinetik:

Cyclosporin kann oral gegeben werden, weil die körpereigenen Peptidasen das Polypeptid dank seiner Zusammensetzung aus abnormen Aminosäuren nicht abbauen können. Die enterale Aufnahme ist nicht vollständig und schwankt erheblich. Bei gesunden Versuchspersonen liegt die Bioverfügbarkeit zwischen 20 und 50%, bei Transplantationspatienten kann die Unsicherheit noch größer sein. CSA wird in der Leber abgebaut, bei der ersten Leberpassage wird es zu etwa 30% inaktiviert. Maximale Plasmakonzentrationen werden nach einer bis sechs Stunden erreicht. Die Substanz wird mit einer etwa 14stündigen Halbwertszeit in Leber (80%: hepatische Verstoffwechselung) und Niere zu mehr als 30 inaktiven Metaboliten umgewandelt, die vorwiegend biliär ausgeschieden werden. Nur 3% der Dosis werden, vornehmlich als Metaboliten, renal eliminiert. Die Metaboliten können zum Teil an den Wirkungen der Cyclosporin-Medikation beteiligt sein. Die Biotransformation von Cyclosporin wird hauptsächlich von Monooxygenase-Isoenzymen aus der CYP 3 A-Reihe vermittelt. Enzyminduzierende Substanzen wie Phenobarbital können die Cyclosporin-Elimination beschleunigen, Hemmstoffe von CYP 3 A wie Erythromycin und Ketoconazol können die Biotransformation bremsen.

Dosierung:

Wegen der unsicheren Bioverfügbarkeit insbesondere bei Transplantationspatienten und daraus resultierender großer Variabilität der benötigten Dosis erfolgt die Therapie mit Cyclosporin unter fortlaufender Kontrolle der Vollblut- (oder Plasma-) Konzentrationen. Als therapeutisches Fenster werden Talspiegel von 100-200 µg/L (Vollblut)

angestrebt. Die mittlere Tagesdosis beträgt 4-8 mg/kg Körpergew./Tag (täglich zwei Einzeldosen im Abstand von 12 h).

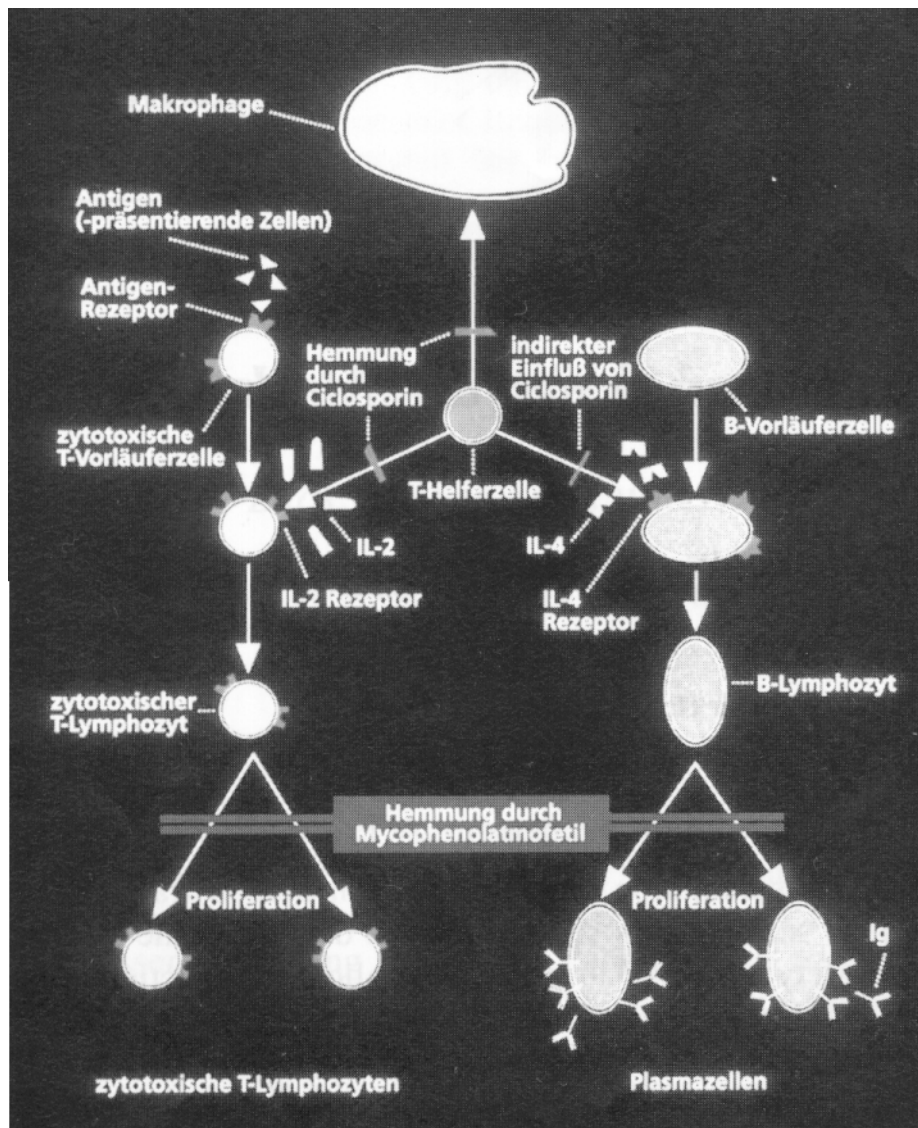


Abbildung 1. Ablauf der Immunkaskade mit Angriffsorten von Cyclosporin A (CSA) und Mycophenolatmofetil (MMF)

2.9.2. Mycophenolatmofetil (MMF)

Mycophenolatmofetil (MMF) ist der Morpholinoethylester der Mycophenolsäure, die selektiv die Proliferation der T- und B-Lymphozyten hemmt (Abbildung 1).

Anwendung

Als Immunsuppressivum aus der Gruppe der Antimetabolite wurde MMF auf seine präventive und therapeutische Wirksamkeit bei akuten Abstoßungsreaktionen nach allogener Transplantation verschiedener solider Organe geprüft. Die Substanz wird in der Regel nach erfolgter Transplantation als Bestandteil von Behandlungsschemata verabreicht, die außerdem Cyclosporin und Kortikosteroide enthalten.

In groß angelegten, randomisierten, kontrollierten Studien an Patienten nach Nieren- bzw. Herztransplantationen konnte die Wirksamkeit und Sicherheit von Mycophenolatmofetil zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nachgewiesen werden (European MMF Cooperative Study Group 1995 und 1999, The Tricontinental MMF Renal Transplantation Study Group 1996). MMF wies eine starke Wirksamkeit im Sinne einer Senkung der Inzidenz akuter Abstoßungsreaktionen im ersten Jahr nach der Transplantation auf. Nach Herz-, Nieren- oder Lebertransplantationen war MMF nachweislich in der Lage, bereits im Gang befindliche akute Abstoßungsreaktionen zum Abklingen zu bringen. Die Wirksamkeit der Immunsuppression durch MMF ermöglicht bei ausgewählten Patienten die Einsparung anderer Immunsuppressiva, insbesondere von Cyclosporin und Kortikosteroiden.

Hinsichtlich der perforierenden Hornhauttransplantation wurde in einem tierexperimentellen Modell der Nachweis erbracht, dass MMF das Hornhauttransplantat-überleben signifikant verlängert (Reis 1998). In einer prospektiven, randomisierten Studie mit durchschnittlicher Nachbeobachtungszeit von 10 Monaten erwies sich MMF als eine effektive und sichere therapeutische Option zu CSA nach Hochrisiko-Keratoplastik (Reis 1999).

Pharmakodynamik

Mycophenolsäure (MPA), der pharmakologisch wirksame Metabolit von MMF, hemmt unkompetitiv, selektiv und reversibel die Inosinmonophosphatdehydrogenase (IMPDH), ein Schlüsselenzym des "de novo" -Synthesewegs für Purine. Da Lymphozyten bei

ihrer Proliferation auf diesen Stoffwechselweg angewiesen sind, während allen anderen Körperzellen ein zweiter Syntheseweg, der Wiederverwertungsstoffwechselweg (salvage-pathway), zur Verfügung steht, werden sie in deutlich stärkerem Maße von der antiproliferativen Hemmung betroffen (Abbildung 1). Hinzu kommt, dass in aktivierten T- und B-Lymphozyten die Isoform 2 der IMPDH exprimiert wird, die fünfmal sensitiver auf eine Hemmung durch MPA reagiert als die Isoform 1, mit der beispielsweise neutrophile Granulozyten arbeiten. Nervenzellen sind von der Enzymhemmung durch MPA nicht betroffen, da sie Purine über den Wiederverwertungsstoffwechselweg synthetisieren.

Nebenwirkungen

Die Sicherheit des Medikamentes wurde bisher an über 2000 Patienten nach Organtransplantation untersucht, bei dieser Indikation in Kombination mit Cyclosporin und Steroiden, überdies an über 600 Patienten mit Rheumatoider Arthritis in Monotherapie bzw. mit niedrig dosierten Steroiden.

Gastrointestinales System: Am häufigsten wurden gastrointestinale Nebenwirkungen wie Übelkeit, Erbrechen, Diarrhöen, Bauchschmerzen oder Appetitlosigkeit beobachtet. In selteneren Fällen traten schwere gastrointestinale Ereignisse in Form von Magenulzeration, Gastritis, Magen-Darm-Blutungen und akuter Pankreatitis auf.

Blutbildendes System: Insbesondere Leukozytopenie, Anämie, Thrombopenie.

Immunsystem: Eine im Vergleich zu Plazebo erhöhte Inzidenz verschiedener Arten von Infektionen. Lymphome (0,5-1%) und andere Malignome insbesondere der Haut (1-2%).

Anhand der klinischen Daten in Monotherapie konnte eindeutig gezeigt werden, dass MMF keine Nephro-, Neuro-, oder Hepatotoxizität besitzt und zudem nicht diabetogen wirkt. Niedrigere Dosen (2g/Tag) werden allgemein besser vertragen als höhere (3g/Tag). Unerwünschte Nebenwirkungen in Zusammenhang mit der Gabe von MMF waren nach Dosisreduktion bzw. Absetzen der Substanz reversibel.

Pharmakokinetik

Mycophenolatmofetil wird nach oraler Gabe nahezu vollständig im Dünndarm resorbiert; die Bioverfügbarkeit im Vergleich zu intravenöser Verabreichung beträgt 93%. Schon während und unmittelbar nach der Resorption wird die Esterbindung von

MMF gespalten, sodass nach etwa einer Stunde die maximale Konzentration an Mycophenolsäure (MPA) im Plasma erreicht wird. In der Leber erfolgt eine Glucuronidierung zu MPAG, das pharmakologisch inaktiv ist und zu ca. 87% über den Urin ausgeschieden wird. Die Plasmahalbwertszeit von MPA beträgt etwa 16-18 h, die Plasma-Clearance 11,6 L/h. MPAG unterliegt einer enterohepatischen Rezirkulation, was zu einem zweiten Anstieg der Plasmakonzentration von MPA ca. 6-12 h nach oraler Gabe von MMF führt. Nach Gabe von klinisch relevanten Dosen ist MPA zu 97% und MPAG zu 82% an Plasmaalbumin gebunden.

Dosierung

In Deutschland ist Mycophenolatmofetil als CellCept® seit Februar 1996 für die Prophylaxe der akuten Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation zugelassen und über Apotheken erhältlich (Tabletten à 0,5 mg).

Dosierung: 2 x 1-1,5 g/Tag. Beginn innerhalb 72 h nach Transplantation. Bei schwerer Niereninsuffizienz (GFR<25ml/min) beträgt die maximale Tagesdosis 2g unter Überwachung der Nierenfunktion. Eine Dosisanpassung bei Leberinsuffizienz ist nicht erforderlich. Die Patienten die an unserer Studie teilnahmen erhielten für die Dauer von 6 Monaten, beginnend am Operationstag, eine Tagesdosis von 2x1 g.

3. Patienten und Methoden

3.1. Patienten

Dieser Arbeit liegt eine monozentrische Studie zugrunde, in welche 56 Patienten mit einer perforierenden Hochrisiko-Keratoplastik in einem Zeitraum von Februar 1997 bis September 1999 eingeschlossen wurden. Die Nachbeobachtungszeit dieser Studie wurde im August 2000 beendet. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität genehmigt und nach den Richtlinien der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Alle Patienten haben eine schriftliche Einwilligung für die postoperative systemische Therapie mit einem der beiden Immunsuppressiva gegeben. Die Randomisierung in die Therapiegruppen erfolgte zum Zeitpunkt der Aufnahme auf die Warteliste für die Transplantation. In die CSA-Gruppe wurden 27 Patienten, in die MMF-Gruppe 29 Patienten randomisiert. Es wurden ausschließlich Patienten mit erhöhtem Risiko für ein immunologisch bedingtes, postoperatives Transplantatversagen in die Studie aufgenommen.

3.1.1. Patientenalter und Geschlecht

Insgesamt wurden 56 perforierende Hochrisiko-Keratoplastiken durchgeführt. Es nahmen an der Studie 27 männliche und 29 weibliche Patienten teil. Das Alter des jüngsten Patienten betrug 18 Jahre, das des ältesten 87 Jahre. Das mittlere Alter der Patienten der gesamten Studie betrug 55,1 Jahre: 57,7 Jahre in der CSA- und 52,5 Jahre in der MMF-Gruppe (Tabelle 2).

3.1.2. Einschlusskriterien und Diagnosegruppen

Als Einschlusskriterien galten folgende Hochrisikofaktoren: tiefe Neovaskularisation des Transplantatbetts über zumindest drei Quadranten, Re-Keratoplastik,

Transplantation einer hochimmunogenen Hornhaut (Limbo-Keratoplastik), schwere atopische Dermatitis mit konsekutiven Veränderungen des vorderen Augenabschnittes wie z.B.: Keratitis bzw. Keratokonus, Steroid-induziertes Glaukom und Positionierung des Transplantats nahe an den Limbus (Tabelle 2).

Tabelle 2.: Transplantatempfängerdaten

	CSA	MMF
Patienten	27	29
männlich/weiblich (χ^2 -Test: $p=0,60$)	13/14	14/15
mittleres Alter (Jahre)(t-Test: $p=0,30$)	57,7 (28-87)	52,5 (18-86)

Hochrisikofaktoren und ihre Verteilung (χ^2 -Test: $p=0,80$)

a) Transplantatversagen nach vorhergehender Keratoplastik	15	19
¹ Keratokonius	3	5
² Granuläre/gittrige Dystrophie	3	3
Hornhautnarben	3	4
Bullöse Keratopathie	3	5
Fuchs'sche Dystrophie	2	2
Bakterielles Ulkus	1	0
b) ³ Steroidglaukom (bullöse Keratopathie)	4	2
c) Schwere atopische Dermatitis (Keratokonius/Keratitis)	2	3
d) Limbo-Keratoplastik (granuläre/gittrige Dystrophie)	3	1
e) Tiefe Vaskularisation in ≥ 3 Quadranten (Narben)	3	2
f) Limbusnahe Transplantatpositionierung (bei exzentrischem Keratokonus)	0	2

¹ Bei 8 Keratokonus-Patienten, die zur Durchführung einer Re-Keratoplastik kamen (3 in der CSA-, 5 in der MMF-Gruppe) wurde die erste Keratoplastik außerhalb der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt. Die Re-Keratoplastik war

aufgrund eines endothelialen Transplantatversagens in 4 Fällen (2 in der CSA-, 2 in der MMF-Gruppe) notwendig, in 2 Fällen wegen Transplantatnarben nach Blepharokeratokonjunktivitis (0 in der CSA-, 2 in der MMF-Gruppe) und in den restlichen 2 Fällen wegen refraktiver Gründe (1 in der CSA-, 1 in der MMF-Gruppe).

² Bei den 6 Patienten mit granulärer und gittriger Hornhautdystrophie wurde die Re-Keratoplastik wegen des Rezidives der zugrundeliegenden Dystrophie durchgeführt. Bei allen 6 Patienten die sich schon früher zumindest einmal einer superfiziellen Keratektomie unterzogen haben, wurde die Rekeratoplastik als Limbo-Keratoplastik (siehe Kapitel Limbo-Keratoplastik) durchgeführt.

³ Ein Steroid-induziertes Glaukom in Kombination mit bullöser Keratopathie wurde als Hochrisiko-Situation betrachtet, da man postoperativ auf topische Steroid-Applikation verzichten sollte. In der Literatur ist ein starker Anstieg der Inzidenz von immunologischen Ereignissen in solcher Situation bekannt (Sundmacher 1977, 1983).

3.1.3. Ausschlusskriterien

Ausschlusskriterien waren Malignome, eine durchgemachte oder aktive maligne Erkrankung, Leber-, Nieren- oder gastrointestinale Erkrankungen insbesondere akuter peptisch-ulzerativer Art. Als Ausschlusskriterien galten außerdem serologische Evidenz für HIV oder HbsAg, therapiebedürftige akute oder systemische Infektionen, Schwangerschaft oder inadäquate Kontrazeption sowie ein Lebensalter unter 18 Jahren. Patienten mit okulären Herpesinfektionen oder akuter mikrobieller Keratitis wurden ebenfalls von der Studie ausgeschlossen.

3.2. Transplantate

3.2.1. Herkunft der Transplantate

Die in der Studie verwendeten Spenderhornhäute wurden bis auf ein Transplantat in der CSA-Gruppe von der LIONS-Hornhautbank Nordrhein-Westfalen an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf zu Verfügung gestellt. Das oben genannte Transplantat wurde von der Hornhautbank BIS (Bioimplant Services Leiden, Niederlande) bezogen. Die Transplantate entstammten Spendern, die über das Institut für Rechtsmedizin sowie die internistischen und chirurgischen Intensiv- und Pflegestationen der Medizinischen Einrichtungen der Heinrich-Heine-Universität rekrutiert werden konnten. Vor Entnahme wurde in allen Fällen das Einverständnis der nächsten Angehörigen eingeholt.

3.2.2. Transplantatentnahme und -konservierung

Die Gewinnung der Spenderhornhäute durch Enukleation stößt bei Angehörigen oft auf Ablehnung. Deshalb werden in den medizinischen Einrichtungen der Universität Düsseldorf seit Ende 1994 die Spenderhornhäute nur noch korneoskleral entnommen, durch diese Entnahmetechnik wird die Akzeptanz der Hornhautspende bei dem herrschenden Transplantatmangel erhöht. Für die hier vorliegende Studie wurden die Spenderhornhäute als Korneoskleralscheiben (Hudde 1997) innerhalb von 72 Stunden post mortem an der Leiche entnommen (CSA-Gruppe: durchschnittlich 17,7 h, MMF-Gruppe: 11,5 h p.m.).

Es wurden ausschließlich organkultivierte Transplantate verwendet, die nach den Kriterien der EEBA konserviert wurden (EEBA 2000).

Als Transportmedium für den Transport der Korneoskleralscheiben vom Entnahmeort zur Hornhautbank wurde Likorol® verwendet. Anschließend, noch am Entnahmetag, wurden die Korneoskleralscheiben spaltlampenmikroskopisch und mit dem Phasenkontrastmikroskop begutachtet und in Organkultur (Doughman 1980, Böhnke

1991) bei 34 °C genommen. Von der Entnahme bis zur Keratoplastik wurden die Transplantate für mindestens 10 bis maximal 32 Tage in Organkultur gehalten. Sie befanden sich durchschnittlich 17,3 (10-32) Tage in der CSA-Gruppe bzw. 17,0 (12-27) Tage in der MMF-Gruppe nach Entnahme am Spender in der Organkultur.

Eine Transplantation erfolgte frühestens am 10. Tag, um zu gewährleisten, dass ausreichend Zeit für einen mikrobiologischen Keimnachweis blieb. Ferner wurden aus Post-mortem-Blut serologische Ausschlusskriterien (HBs-AG, HCV-AK, HIV-AK) ermittelt und eine Spendertypisierung (HLA I: A, B, C; HLA II: DR, DQ) durchgeführt. Als zur Transplantation geeignet wurden nur Transplantate mit mikrobiologisch unauffälligem Organkulturmedium sowie einer Endothelzelldichte von über 2000 Zellen/mm² präoperativ angesehen.

Alle relevanten Spender- und Transplantatdaten können der folgenden Tabelle 3 entnommen werden.

Tabelle 3. : Spender- und Transplantatdaten

		CSA	MMF	Stat. Test (p)
Spenderalter (Jahre)		61,1 (32-84)	55,1 (19-87)	t-Test (0,19)
Zeit von Spendertod bis Transplantatentnahme (Stunden)		17,7 (0,5-72,0)	11,5 (0,5-43,5)	t-Test (0,17)
Organkulturdauer (Tage)		17,3 (10-32)	17,0 (12-27)	t-Test (0,72)
Endothelzelldichte prä-operativ (Anzahl und Spannweite [Zellen/mm ²])		2400 2088-3000	2410 2050-3060	t-Test (0,72)
Transplantat-	7,7mm (n)	22	21	χ^2 -Test (0,32)
durchmesser	8,2 mm (n)	3	6	
	8,7 mm (n)	1	1	
	9,2 mm (n)	0	1	
	9,7 mm (n)	1	0	
HLA mismatches	0 (n)	2	0	χ^2 -Test (0,59)
	1 (n)	2	2	
	2 (n)	0	1	
	3 (n)	1	2	
	4 (n)	4	3	
	5 (n)	4	5	
	6 (n)	2	5	
Spender HLA-untypisiert (n)		12	11	

3.2.3. Transplantatsspenderalter

Das Alter des jüngsten Transplantatsspenders lag bei 19 Jahren, das des ältesten bei 87 Jahren, wobei das mittlere Spenderalter in der gesamten Studie 58,1 Jahre betrug (CSA: 61,1, MMF: 55,1 Jahre) (Tabelle 3).

3.2.4. Transplantatendothel

Die Qualitätssicherung des Transplantatendothels wurde mit Hilfe eines EDV-gestützten Planimetriesystems durchgeführt. Dieses wurde in Zusammenarbeit mit dem Fachbereich Elektrotechnik und Informatik der Fachhochschule Niederrhein in Krefeld entwickelt. Dieses System zur Endothelevaluation liefert digitalisierte Bilder vom Transplantatendothel, die automatisch analysiert werden (Reinhard 1999). Die automatisch erhobenen Befunde wurden zusätzlich von 2 fachkundigen Untersuchern validiert. So war eine hohe Objektivität und Präzision der Befunde gewährleistet. Nur Transplantate mit einer Endothelzelldichte von mindestens 2000 Zellen/mm² wurden für die Transplantation freigegeben. Die Auswahl der Transplantate entsprach den EEBA Kriterien (EEBA 2000). Die präoperative Endothelzelldichte der Spenderhornhäute betrug in der CSA-Gruppe durchschnittlich 2400 (2088-3000) Zellen/mm² und in der MMF-Gruppe 2410 (2050-3060) Zellen/mm² (Tabelle 3).

3.2.5. HLA-Typisierung

In unserer Studie führten wir eine serologische Gewebstypisierung für MHC-I Antigene (major histocompatibility class I antigens: A, B) sowie eine genetische Typisierung mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR, DNA-Gewebstypisierung) für MHC-II Antigene (DR-Antigene) der Spender und Empfänger durch. Die HLA-Typen der Transplantatsspender und -empfänger konnten in der CSA-Gruppe in 15 Fällen und in der MMF-Gruppe in 18 Fällen bestimmt werden. Die Ergebnisse der Matching-Prozedur sind der Tabelle 3 zu entnehmen.

3.2.6. Transplantatdurchmesser

Bei den 56 durchgeführten Keratoplastiken (CSA: 27, MMF: 29) wurden für die Transplantattrepanation während der Operation überwiegend Trepane der Größe 7,7mm gewählt, das bedeutet: bei insgesamt 43 (CSA: 22, MMF: 21) von 56 Trepanationen oder in 76,8% der Fälle (Tabelle 3).

Man zählte 13 Transplantate (CSA: 5, MMF: 8) mit einem größerem Durchmesser. Eine Transplantatgröße von 8,2mm wurde bei 9 Patienten gewählt (CSA: 3, MMF: 6), 8,7mm bei 2 (CSA: 1, MMF: 1), 9,2mm bei einem Patienten (CSA: 0, MMF: 1) und schließlich 9,7mm bei einem weiteren Patienten (CSA: 1, MMF: 0).

3.3. Anästhesie und Operationstechnik

3.3.1. Präoperative Vorbereitung und Anästhesie

Die Keratoplastiken wurden in aller Regel in Retrobulbäranästhesie vorgenommen. Die Patienten erhielten etwa 30 Minuten davor als Sedativum je nach Körpergewicht 2 bis 10 mg Diazepam. Es wurde ein intravenöser Zugang gelegt, danach wurden 250 mg Azetazolamid infundiert, um Augeninnendruckanstieg zu vermeiden. Bei der Retrobulbäranästhesie wurden 5-10 ml eines Bupivacain-Mepivacain-Hyaluronidase-Epinephrin-Gemisches retrobulbär injiziert und ein Okulopressor mit circa 40 mmHg angelegt, um den Glaskörperdruck weiter zu senken.

Eine Allgemeinanästhesie war nur selten notwendig, beispielsweise bei Patienten mit mangelnder Kooperation, bei geistig Behinderten, bei langdauernden Operationen und bei Patienten mit Ängsten vor einer Lokalanästhesie.

3.3.2. Operationstechnik

Alle Keratoplastiken wurden von drei erfahrenen Operateuren durchgeführt. In beiden Therapiegruppen wurde dieselbe Operationstechnik (Ethibond® 10-0, Ethicon, Deutschland) verwendet.

Die Trepanation der Spenderhornhaut wurde mittels Handtrepan nach Franceschetti von endothelialer Seite vorgenommen. Die Größe des Transplantates wurde dem Befund angepasst und vom Durchmesser so groß gewählt, dass sie 0,2 mm bis 0,5 mm größer als das Transplantatbett der Wirtshornhaut war.

Bei der perforierenden Keratoplastik wurde zunächst nach Einsetzen eines Lidsperrers am Patienten eine Bindehautdesinfektion mit PVP-Jod-1,25%-Lösung durchgeführt und anschließend gründlich mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Es folgte ein Anschlingen des Musculus rectus superior und des Musculus rectus inferior. Man trepanierte von der epithelialen Seite des Wirtes. Bei unvollständiger Wirtshornhauttrepanation wurde die Wirtshornhaut mittels Rundscherer ausgeschnitten. Gegebenenfalls wurden hintere Stufen mit einer Vannas-Scherer begradigt.

Wenn nur eine perforierende Keratoplastik durchgeführt wurde, setzte man Thymoxamin und Acetylcholin zur Pupillenverengung ein. Das Transplantat wurde nach Beschichtung des Transplantatendothels mit Hyaluronsäure in die Wirtshornhautöffnung eingebracht. Mit vier 10-0 Nylon Einzelknüpfnähten bei 3, 6, 9 und 12 Uhr erfolgte zunächst die vorübergehende Fixation. Danach wurde eine doppelt gekreuzte diagonale Naht nach Hoffmann (Hoffmann 1976) mit zweimal acht Durchstichen gelegt. Die Einzelknüpfnähte wurden wieder entfernt und bei Bedarf zusätzliche, nur randadaptive Einzelnähte zugefügt. Man vertiefte anschließend die Vorderkammer mit BSS. Am Ende der Operation wurde ein Gemisch aus 0,5 ml Gentamycin 4 % und 0,5 ml Dexamethason-21-acetat 0,8 % subkonjunktival injiziert. Die Entfernung des ersten fortlaufenden Fadens wurde nach frühestens 12 Monaten, die des zweiten Fadens frühestens nach 18 Monaten in Tropfanästhesie mit Proxymetacain-Augentropfen vorgenommen.

3.3.3. Weitere simultan durchgeführte Operationen

Bei insgesamt 21 (37,5 %) Patienten wurden (11 in der CSA- und 10 in der MMF-Gruppe) simultan weitere operative Eingriffe durchgeführt. Es wurden sowohl Iriseingriffe wie vordere und hintere Synechiolysen, Iridektomien, Iridotomien, Irisnähte und Irisplastiken, als auch kataraktchirurgische Eingriffe wie extrakapsuläre Kataraktextraktionen mit Hinterkammerlinsenimplantationen und glaskörperchirurgische Eingriffe wie vordere Vitrektomien mit der Hornhautverpflanzung kombiniert (Tabelle 4).

Unter den 56 Hochrisiko-Keratoplastiken, wurden 9 Tripel-Operationen (4 in der CSA- und 5 in der MMF-Gruppe) durchgeführt (Tabelle 4). Hier handelte es sich um kombinierte Operationen aus perforierender Keratoplastik, extrakapsulärer Linsenentfernung (ECCE) und Hinterkammerlinsenimplantation in den Kapselsack. Bei einem Patienten aus der MMF-Gruppe wurde die Keratoplastik mit der Rekonstruktion des vorderen Augenabschnittes kombiniert: Synechiolyse, Exzision aller Nachstarreste und Aniridie-IOL-Einnähung.

Tabelle 4.: Weitere simultan durchgeführte Operationen

	CSA	MMF	Stat. Test (p)
Patienten mit weiteren simultan durchgeführten Operationen	11/27 (35,7 %)	10/29 (34,5 %)	χ^2 -Test (0,63)
darunter Tripel-Operationen	4/27 (25,9 %)	5/29 (20,7 %)	χ^2 -Test (0,54)

3.3.4. Limbo-Keratoplastik

In hier vorliegender Studie wurde bei insgesamt 13 Patienten (23,2%) eine Spenderhornhaut mit sichelförmigem Limbusanteil implantiert. Die Limbo-Keratoplastik wurde bei 8 Patienten aus der CSA- und 5 Patienten aus der MMF-Gruppe durchgeführt. Insbesondere wurde die Limbo-Keratoplastik bei allen Patienten mit einer granulären oder gittrigen Hornhautdystrophie vorgenommen. Bei 6 Patienten (3 in CSA- und 3 in MMF-Gruppe) handelte es sich wegen des Rezidivs der zugrundeliegenden Dystrophie um eine Re-Keratoplastik (Tabelle 5).

Tabelle 5.: Limbo-Keratoplastik

	CSA	MMF	Stat. Test (p)
Limbo-Keratoplastik	8/27 (29,6 %)	5/29 (17,2 %)	χ^2 -Test (0,27)
Granuläre/gittrige Dystrophie	3	1	
Rezidiv einer granulären/gittrigen Dystrophie (Z.n. Keratoplastik)	3	3	
Chronische Blepharokonjunktivitis mit Limbusstammzellinsuffizienz	1	1	
Z.n. Verätzung	1	0	

3.4. Postoperatives Vorgehen

3.4.1. Standardtherapie

Lokal wurde in beiden Therapiegruppen wenigstens bis zur kompletten Transplantatepithelisierung Gentamycin-0,5%-Augensalbe 5mal täglich appliziert. Beide Therapiegruppen bis auf die Patienten mit Steroid-Glaukom erhielten nach Epithelialisierung zusätzlich Prednisolon-21-acetat-1%-Augentropfen (Inflanefran forte®), 5mal täglich im ersten, 4mal im zweiten, 3mal im dritten, 2mal im vierten und 1mal im fünften postoperativen Monat (Tabelle 6). Danach wurden in aller Regel keine lokalen Kortikosteroide mehr appliziert. Eine intensive Oberflächenpflege mit Tränenersatzmitteln und Filmbildnern unterschiedlicher Viskosität (5mal täglich) und Dexpanthenol-Augensalbe zur Nacht wurde unmittelbar postoperativ angesetzt und auch langfristig weitergeführt.

Systemisch wurden postoperativ in beiden Gruppen bis auf die Patienten mit Steroid-Glaukom 1 mg Fluocortolon (Ultralan®) je kg Körpergewicht oral verabreicht und innerhalb von 3 Wochen ausgeschlichen. Zusätzlich wurden postoperativ 250 mg Azetazolamid oral verordnet, um einen Augeninnendruckanstieg zu vermeiden. Dieses Standardtherapieschema wurde nach den individuellen Erfordernissen des einzelnen Patienten modifiziert.

Nach Möglichkeit wurde bei jeder perforierenden Keratoplastik postoperativ nach folgendem Schema behandelt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Therapieschema nach einer perforierenden Keratoplastik

Lokale Therapie

Medikament	Darbietungsform	Konzentration	Verabreichung	Besonderheiten
Gentamycin	AS	0,5%	5xtägl.	bis zur kompletten Transplantatepithelisierung, wenigstens jedoch bis zum vierten postoperativen Tag
Prednisolon-21-acetat	AT	1 % 1 % 1 % 1 % 1 %	5xtägl./1.Monat 4xtägl./2.Monat 3xtägl./3.Monat 2xtägl./4.Monat 1xtägl./5.Monat	danach keine Kortikosteroide mehr
Tränenersatzmittel	AT		5xtägl.	langfristig
Dexpanthenol	AS		zur Nacht	langfristig

Systemische Therapie

Fluocortolon	oral	1-1,5 mg/kg	täglich	postoperativ, innerhalb von drei Wochen ausschleichend
Acetazolamid	oral	2x250 mg	am Operationstag	

3.4.2. Systemisches MMF und CSA

Nachfolgend werden Ausschlusskriterien, Therapieschemata und Applikationsdauer der MMF- und CSA-Immunprophylaxe dargestellt.

3.4.2.1. Patientenvoruntersuchung

Vor Einleitung der systemischen MMF- bzw. CSA-Prophylaxe wurde eine internistische Untersuchung in der Abteilung für Nephrologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf im Hinblick auf Kontraindikationen durchgeführt. Insbesondere wurden Malignome, Leber-, Nieren- oder gastrointestinale Erkrankungen ausgeschlossen. Als Ausschlusskriterien galten ferner eine durchgemachte oder aktive maligne Erkrankung, serologische Evidenz für HIV oder Hbs-Ag, therapiebedürftige akute oder systemische Infektionen, ulzerative gastrointestinale Erkrankungen, inadäquate Kontrazeption, Schwangerschaft, sowie ein Lebensalter unter 18 Jahren. Patienten mit okulären Herpesinfektionen oder akuter mikrobieller Keratitis wurden ebenfalls von der Studie ausgeschlossen. Die 56 Studienpatienten wurden zum Zeitpunkt der Aufnahme auf die Warteliste für die Keratoplastik in die Therapiegruppen randomisiert, 27 Patienten in die CSA und 29 in die MMF-Gruppe. Abhängig von der Therapiegruppe wurde zusätzlich zum Standardtherapieschema (Tabelle 6) die Immunsuppression mittels CSA- bzw. MMF eingeleitet.

3.4.2.2. Therapieschemata

CSA (Sandimmun optoral ®) wurde 2mal täglich oral appliziert, wobei die individuelle Dosis an den EDTA-Vollbluttspiegeln, 12 Stunden nach der letzten Einnahme, im monoklonalen TDx ausgerichtet wurde (monoclonaler TDx, Abbott Exsym). Als Sollgröße wurden die nach Nierentransplantation üblichen langfristigen Vollbluttspiegel zwischen 120 und 150 ng/ml gewählt. MMF (CellCept ®) wurde in einer festen Tagesdosis von 2x1 g/Tag oral verabreicht (Tabelle 7).

Die Dauer der Prophylaxe wurde auf 6 Monate zuzüglich 2 Monate Ausschleischphase angesetzt.

Tabelle 7: Systemische Immunsuppression mit CSA und MMF: Therapieschemata

Dauer der Immunsuppression mit CSA/MMF: 6 Monate, zuzügl. 2 Monate Ausschleichsphase
 Dauer der Ausschleichsphase: abhängig vom ophthalmologischen Befund

Abhängig von der Randomisierung in Therapiegruppe :

Medikament	Darbietungsform	Einzeldosis	Verabreichung	Besonderheiten
CSA oder	oral	10-250 mg	2xtägl. (blutspiegeladaptierte Verabreichung)	Vollbluttalspiegel: 120 – 150 ng/ml (monoclonaler TDx)
MMF	oral	1000 mg	2xtägl.	

3.4.2.3. Therapiedauer

Die tatsächliche Applikationsdauer der CSA- bzw. MMF-Immunprophylaxe variierte und wurde vom ophthalmologischen Befund im Einzelfall abhängig gemacht. Die tatsächliche, mittlere Applikationsdauer von systemischem Cyclosporin A lag bei 9,07 (1,7-15,2) Monaten. Hierin eingerechnet ist eine durchschnittlich zweimonatige Ausschleichsphase mit Reduzierung der täglichen CSA-Dosis um 50 mg alle zwei Wochen. Die Therapiedauer mit systemischem MMF inklusive die Ausschleichsphase betrug 8,29 (2,0-18,2) Monate (Tabelle 8).

Tabelle 8: CSA-/MMF-Therapiedauer und Nachbeobachtungszeit

	CSA	MMF	Stat. Test (p)
Therapiedauer (Monate)	9,07 (1,7-15,2)	8,29 (2,0-18,2)	t-Test (0,43)
Nachbeobachtungszeit (Monate)	19,3 (7-36)	19,8 (6-36)	t-Test (0,80)

3.5 Sicherheits- und Effektivitätsparameter der Immunprophylaxe

Die Sicherheitsanalyse der Studie bezog sich auf die erhobene internistische Untersuchungsbefunde, Laborparameter und spontan berichtete Nebenwirkungen. Sicherheitsparameter der Studie waren Nebenwirkungen und die Notwendigkeit des vorzeitigen Absetzens der Medikamente.

Die Effektivitätsparameter der CSA-/MMF-Therapie waren klares Transplantatüberleben, das Vorkommen klinisch manifester Immunreaktionen, die beispielsweise mit Endothelpräzipitaten, Khoudadoust Linie oder Stroma-Ödem einhergehen, und das Ausmaß des postoperativen Endothelzellverlusts der Transplantate.

3.6. Langfristiges follow up

Die Patienten wurden nach der stationären Entlassung zu Kontrolluntersuchungen einbestellt, um insbesondere die Effizienzparameter der Studie wie klares Transplantatüberleben, Immunreaktionen und Endothelzellverlust, sowie medikamentöse Nebenwirkungen wie Hepato-, Nephro-, Neuro- und Gastroenterotoxizität zu überwachen.

Postoperative ophthalmologische Kontrollen waren nach 1, 3, 6, 9 und 12 Monaten, danach jährlich vorgesehen. Darüberhinaus wurde jeder Patient über mögliche postoperative Komplikationen aufgeklärt und ausdrücklich darauf hingewiesen, bei allen Problemen unverzüglich den Augenarzt aufzusuchen oder sich direkt an die Augenklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf zu wenden. Jede Kontrolluntersuchung umfasste eine Visusbestimmung mit bester Korrektur, eine Spaltlampenuntersuchung, die Bestimmung der Endothelzelldichte und die applanatorische oder palpatorische Augeninnendruckbestimmung, sowie eine ophthalmoskopische Untersuchung in Mydriasis.

Die begleitende internistische Überwachung während und nach der CSA- bzw. MMF-Prophylaxe wurde von der Abteilung für Nephrologie der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf in Zusammenarbeit mit dem jeweiligen Hausarzt übernommen. Die internistischen Kontrollen sahen die Anamnese zu Nebenwirkungen, körperliche Untersuchungen und Labortests vor.

Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit aller Patienten betrug 19,5 (6-36) Monate (Tabelle 8).

3.7. Immunreaktionen

3.7.1. Einteilung der Immunreaktionen

Als akut wurden endotheliale Immunreaktionen bezeichnet, wenn ein Transplantat-ödem mit Transplantatendothelpräzipitaten vorlag. Als chronisch wurde eine endotheliale Immunreaktion eingestuft, wenn frische und pigmentierte Transplantatendothelpräzipitate ohne Transplantatepithelödem und/oder -stromaödem, wohl aber mit umschriebenem, spiegelmikroskopisch sichtbarem Endothelzellödem vorlagen.

Akute stromale Immunreaktionen wurden diagnostiziert, wenn Transplantateinschmelzungen, chronische stromale Immunreaktionen hingegen, wenn stromale nummuläre Transplantattrübungen jeweils ohne Anhalt für eine infektiöse Ursache vorlagen.

Wegen der Schwierigkeiten der Abgrenzung epithelialer Immunreaktionen von anderen epithelialen Störungen wurde auf eine Auswertung epithelialer Immunreaktionen verzichtet.

3.7.2. Therapie der Immunreaktionen

Bei akuten endothelialen und stromalen Immunreaktionen wurden lokal stündlich Prednisolon-21-acetat-1%-Augentropfen getropft, subkonjunktival 1 ml Dexamethason-21-acetat 0,8% gespritzt und systemisch 1-1,5 mg Fluocortolon/kg Körpergewicht gegeben. Diese Therapie wurde in Abhängigkeit vom individuellen klinischen Befund ausgeschlichen (Tabelle 9).

Tabelle 9: Therapieschema bei akuten Immunreaktionen

LOKAL

Medikament	Darbietungsform	Konzentration	Verabreichung	Besonderheiten
Prednisolon-21 -acetat	AT	1 %	stündlich	bis zum Verschwinden aller Aktivität
Dexamethason-21-acetat	subkonjunktival gespritzt	0,8%	einmalig mit stationärer Aufnahme	

SYSTEMISCH

Fluocortolon	oral	1-1,5mg/kg Körpergewicht	täglich	bis zum Verschwinden aller Aktivität, danach Ausschleichen
--------------	------	--------------------------	---------	--

Bei chronisch endothelialen und stromalen Immunreaktionen wurden fünfmal Prednisolon-21-acetat-1%-Augentropfen täglich verordnet, die in Abhängigkeit vom individuellen klinischen Befund langsam reduziert wurden (Tabelle 10).

Tabelle 10: Therapieschema bei chronischen Immunreaktionen

LOKAL

Medikament	Darbietungsform	Konzentration	Verabreichung	Besonderheiten
Prednisolon-21-acetat	AT	1%	5xtägl./1.Monat	bis zum Verschwinden aller Aktivität
		1%	4xtägl./2.Monat	
		1%	3xtägl./3.Monat	
		1%	2xtägl./4.Monat	
		1%	1xtägl./5.Monat	danach keine Kortikosteroide mehr

3.8. Chronischer Endothelzellverlust: Messungen, Kalkulation und statistische Auswertung

Die postoperative Messung der Endothelzelldichte wurde bei jeder Nachuntersuchung durchgeführt. Die Endothelaufnahmen des Transplantatzentrums wurden mit dem Non-Kontakt Spiegelmikroskop Robo Noncon (Konan, Japan) durchgeführt. Die mit Hilfe dieses Spiegelmikroskops aufgenommenen Endothelbilder können halbautomatisch und reproduzierbar ausgewertet werden (Hadjian 1997, Landes 1995, Olsen 1979).

Um relevante Endothelzelldichte-Steigungswerte mit Hilfe von Extrapolationsverfahren ermitteln zu können, wurden in die Endothelanalyse nur Patienten ohne Immunreaktionen oder Transplantatversagen eingeschlossen, zusätzliches Auswahlkriterium war die Erfassung von mindestens drei einzelnen postoperativen Endothelzelldichtewerten für jeden Patienten. Auf diese Weise wurde versucht, die den idiopathischen Zellverlust überlagernde, das Endothel zusätzlich schädigende Prozesse wie z.B. endotheliale Abstoßungsreaktionen (Musch 1991), auszugrenzen.

Für jeden Patienten wurden die Endothelzelldichtewerte gegen die Zeit aufgetragen. Danach erfolgte die Berechnung der Steigung der durch diese Werte gelegten Regressionsgeraden (Annahme eines linearen Verlaufs des Endothelzellverlusts, siehe Abbildung 2) (Böhringer 2001, Langenbucher 2000). Regressionsmodelle sind mathematische Funktionen, die den Verlauf einer vorgegebenen Punktwolke - im gegebenen Anwendungsfall die Endothelzellmesswerte zu den entsprechenden Messzeitpunkten - mit einem mathematischen Graphen möglichst treffend idealisieren. Außerdem wurde die Zerfallskonstante einer durch diese Werte gelegten Exponentialkurve ermittelt (Annahme eines exponentiellen Verlaufs des Endothelzellverlusts, siehe Abbildung 3) (Böhringer 2001, Langenbucher 2000).

Das statistisch signifikant höhere Bestimmtheitsmaß des exponentiellen Modells (die Güte der Datenbeschreibung wird formell durch das Bestimmtheitsmaß ausgedrückt) deutet darauf hin, dass der idiopathische Endothelzellverlust nach perforierender Keratoplastik einer exponentiellen Dynamik folgt. Daneben haben diverse Querschnittsuntersuchungen (interindividuell gemittelte Endothelzelldichtewerte) einen exponentiellen Abfall der Zelldichte beobachtet (Bourne 1983, Bourne 1994, Matsuda

1985, Nishimura 1999). Das mittlere Bestimmtheitsmaß des linearen Modells (Aussagekraft der Steigung) ist allerdings nur 3 % geringer als das des exponentiellen Modells (Böhringer 2001).

Die Prüfung der Endothelzellichte-Verlustwerte auf statistische Signifikanz erfolgte mittels t-Test für unabhängige Stichproben.

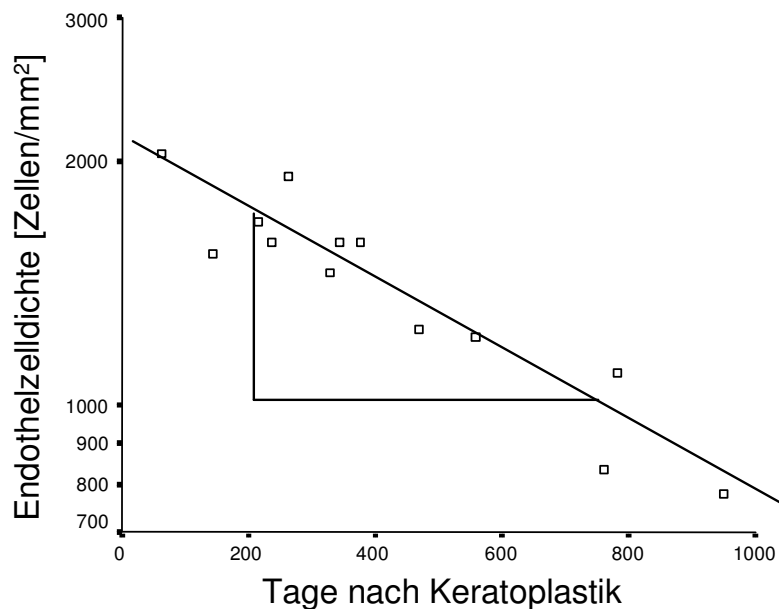


Abbildung 2. Postoperative Endothelzellichte eines Patienten (Grunderkrankung: Keratokonus) aufgetragen gegen die entsprechenden postoperativen Messzeitpunkte. Die Messwerte sind halblogarithmisch gegen die Zeit aufgetragen. Eingezeichnet ist die lineare Regressionsgerade.

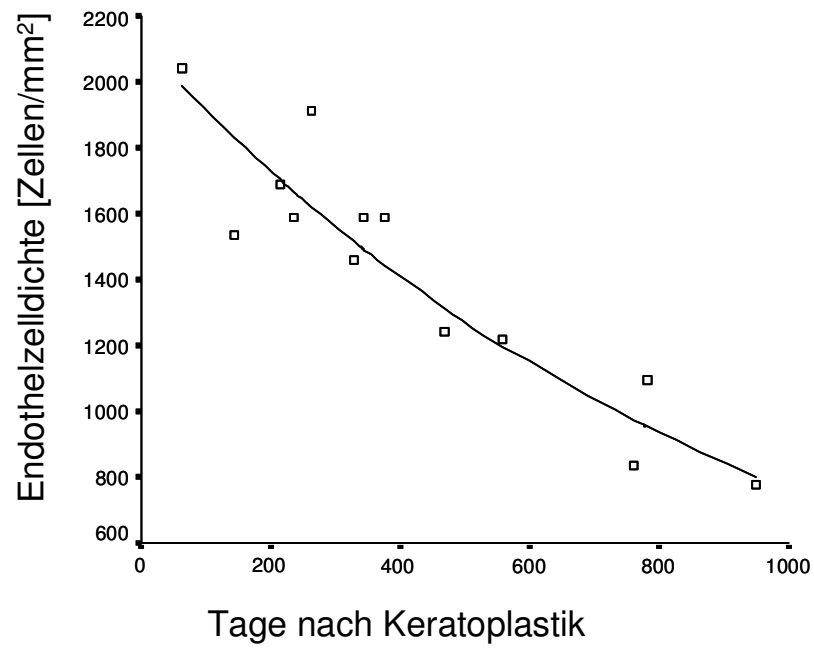


Abbildung 3. Identische Messwerte wie in Abbildung 2 aufgetragen gegen die entsprechenden postoperativen Messzeitpunkte. Eingezeichnet ist die exponentielle Regressionskurve.

3.9. Datentechnische Methoden und statistische Analyse

Die Nachbeobachtungsdaten wurden durch Zuhilfenahme des Datenverarbeitungsprogrammes Microsoft Excell, in einem speziell entwickelten Rechenblatt erfasst. Die weitere Verarbeitung dieser Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS in der Version 10 unter dem Betriebssystem Windows NT 4.

Die Zielgrößen waren der Anteil klarer Transplantate und der Anteil der Transplantate ohne Immunreaktionen. Diese Zielgrößen mit ihren zeitlichen Verläufen wurden für beide Behandlungsgruppen (CSA und MMF) mit der Methode von Kaplan und Meier berechnet (Kaplan 1958). Die mit dem Kaplan-Meier-Estimator berechneten Überlebenskurven (Life-table-Kurven) stellen den 3-jährigen Verlauf der Effizienzparameter der Studie dar.

Die Differenzen zwischen den beiden Therapiegruppen und die statistischen Signifikanzen wurden mit dem Log-Rank-Test berechnet (Mantel-Cox-Test) (Mantel 1966). Statistische Signifikanzen wurden als Wert p angegeben und die Ergebnisse im Falle $p < 0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

Die Daten beider Therapiegruppen (Patientenalter, follow-up, Spenderalter, Zeit zwischen Tod des Spenders und Transplantatentnahme, Organkulturdauer, prä- und postoperative Endothelzelldichte) wurden mit dem t-Test auf Unterschiedlichkeit hin getestet.

Die Verteilung der Operationsindikationen, des Transplantatdurchmessers, der HLA-Daten, Verteilung von Nebenwirkungen wurden entsprechend mit dem χ^2 -Tests (Chi-Quadrat-Test) auf Abhängigkeit von der Behandlungsgruppe getestet.

Die Verteilung hinsichtlich der Ursachen für ein irreversibles Transplantatversagen wurde mittels Chi-Quadrat-Test nach Pearson verglichen. Monovariate Analysen zur Ermittlung von Einflußfaktoren im Hinblick auf das klare Transplantatüberleben wurden im Cox Modell durchgeführt.

4. Ergebnisse

Hier werden die interessierenden Auswertungsgrößen der vorliegenden Studie dargestellt. Der Anteil klarer Transplantate nach drei Jahren sowie der Anteil der nicht von Immunreaktionen betroffenen Hochrisiko-Keratoplastiken wurde für jede Therapiegruppe nach der Kaplan Meier Methode (1958) berechnet. Darüber hinaus wurden die Verteilungsmuster der Immunreaktionen verglichen (Auftreten vor/nach Beendigung der Immunsuppression, endothelial/stromal, akut/chronisch). Schließlich wurden auch die postoperativen Endothellzelldichteverläufe der beiden Therapiegruppen verglichen.

4.1. Demographie

Die homologen perforierenden Hochrisiko-Keratoplastiken wurden an insgesamt 56 Patienten (27 männliche, 29 weibliche) mit einem mittleren Alter von 55 (18-87) Jahren vorgenommen. 27 Patienten erhielten CSA und 29 Patienten MMF. Die demographischen Daten der Patienten mit den dazugehörigen p-Werten (statistische Signifikanz) sind in Tabelle 2 (S.34) dargestellt. Es bestand kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den zwei Therapiegruppen bezüglich durchschnittlichem Empfängeralter, Geschlecht, Operationsindikation, Spenderalter, Zeit vom Spendertod bis zur Transplantatentnahme, Spenderendothelzellzahl, HLA-Daten, Hornhautkulturdauer, Transplantatdurchmesser und follow-up (Tabellen 2,3 und 8).

4.2. Transplantatüberleben

Im ersten postoperativen Jahr oder während der medikamentösen Immunsuppression wurde in keiner der beiden Therapiegruppen eine Transplantateintrübung beobachtet. Während der gesamten Nachbeobachtungszeit von drei Jahren trübten 4 Transplantate in der CSA- und 2 in der MMF-Gruppe ein (Tabelle 11).

Der nach Kaplan Meier berechnete Anteil der klaren Transplantate lag drei Jahre postoperativ bei 69,3% in der CSA-Gruppe und bei 73,9% in der MMF-Gruppe (Abbildung 4). Der Log-Rank-Test zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied hinsichtlich des Transplantatsüberlebens zwischen den beiden Therapiegruppen ($p=0,33$).

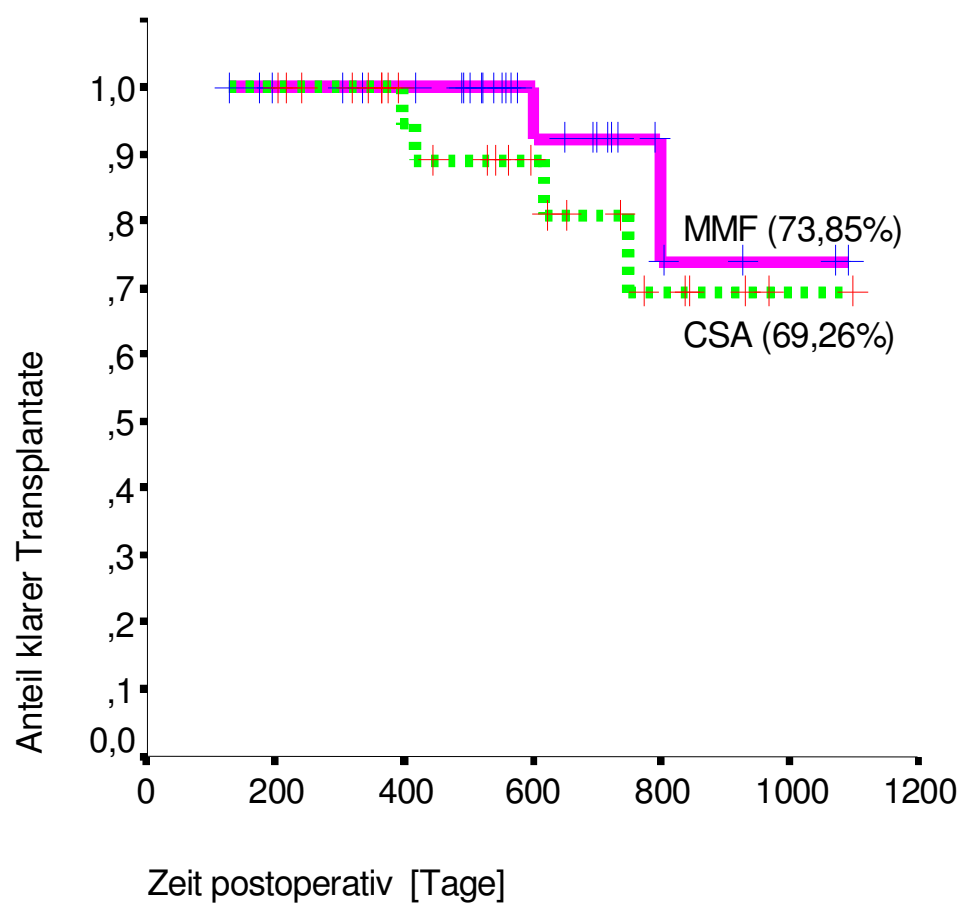
4.2.1. Eintrübungsursachen

Glaukome waren mit 3 von insgesamt 6 Transplantateintrübungen (2 Fälle in der CSA-Gruppe, 1 Fall in der MMF-Gruppe) erste Eintrübungsursache (50%). Chronisch endotheliale Immunreaktionen waren für 2/6 (33%) die zweite Ursache des Transplantatversagens (1 Fall in der CSA-Gruppe, 1 Fall in der MMF-Gruppe). Eine Transplantatinfektion führte in einem Fall in der CSA-Gruppe zur Transplantateintrübung. Alle Transplantatversagen ereigneten sich nach Beendigung der Immunprophylaxe (Tabelle 11).

Tabelle 11: Transplantateintrübungen und ihre Ursachen

	CSA-Patienten (n)	MMF-Patienten (n)
Transplantatversagen		
Unter/nach Immunsuppression	0/4	0/2
Ursache des Transplantatversagens		
Immunreaktion	1	1
Glaukom	2	1
Tiefe stromale Transplantatinfektion	1	0

Abbildung 4: Anteil klarer Transplantate nach Kaplan und Meier (1958) (Log-Rank-Test: $P=0,33$)



4.3. Immunreaktionen

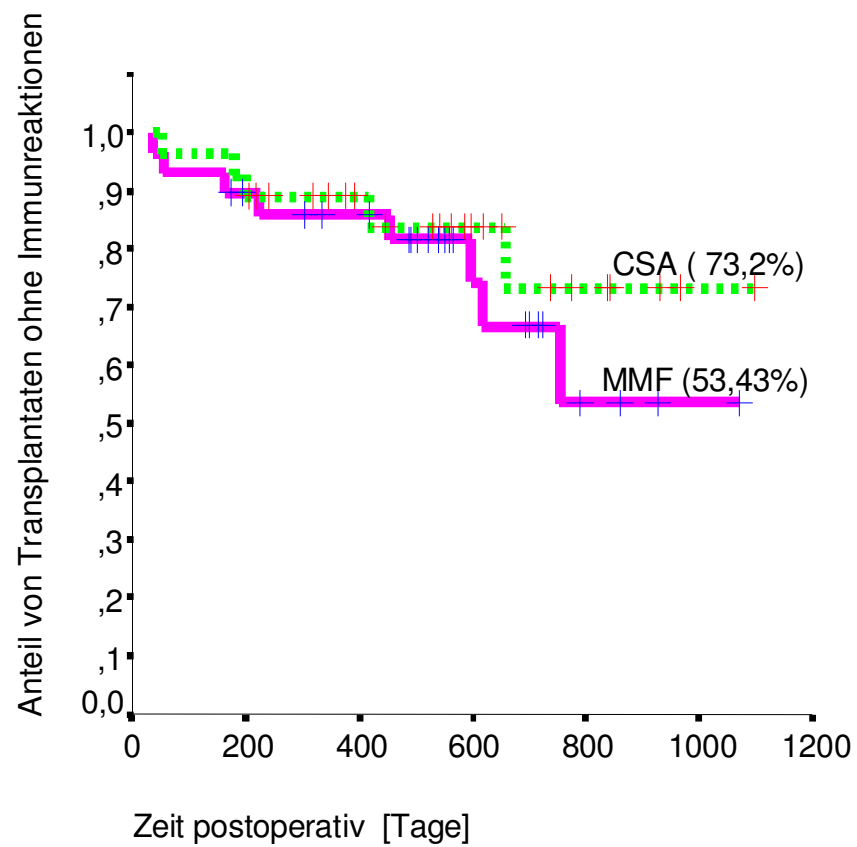
Die Immunreaktionen, alle von endothelialem Typ, traten bei 5 Patienten in der CSA- und bei 8 Patienten in der MMF-Gruppe auf. Von den insgesamt 13 Immunreaktionen verliefen 69% chronisch und 31% akut (Tabelle 12).

In beiden Therapiegruppen waren die meisten Immunreaktionen reversibel (4/5 oder 80% Reversibilität in der CSA- und 7/8 oder 87,5% Reversibilität in der MMF-Gruppe). Sie konnten bis auf 2 Fälle mit lokaler und systemischer Steroidtherapie effektiv behandelt werden (Tabellen 9 und 10).

Der nach Kaplan und Meier berechnete Anteil von Transplantaten ohne Immunreaktion betrug nach dreijähriger postoperativer Beobachtungszeit 73,2% in der CSA-Gruppe und 53,4% in der MMF-Gruppe (Abbildung 5).

Der Log-Rank-Test zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied für die Inzidenz von Immunreaktionen zwischen beiden Gruppen ($p=0,46$). Der entsprechende Fehler zweiter Ordnung (beta-Wert) für den Log-Rank-Test der Abbildung 5 (Anteil der Transplantate ohne Immunreaktionen) betrug 0,42. Das bedeutet, bei der Anzahl von 56 Patienten in dieser Studie wäre ein bestehender Unterschied zwischen den Behandlungsergebnissen nur mit einer Wahrscheinlichkeit von 58% (power of the test) zu finden.

Abbildung 5: Anteil von Transplantaten ohne Immunreaktionen nach Kaplan und Meier (1958) (Log-Rank-Test: $P=0,46$)



Die Inzidenz der Abstoßungsreaktionen ist in Tabelle 12 dargestellt.

Tabelle 12: Immunreaktionen

(+ : zwei akute Immunreaktionen bei einem Patienten unter CSA-Therapie)

		CSA-Patienten (n)	MMF-Patienten (n)
Anzahl der Patienten mit Immunreaktionen		5	8
unter Immunsuppression	chronisch	2	2
	akut	1+	1
nach Immunsuppression	chronisch	1	4
	akut	1	1

4.4. Verteilung der Immunreaktionen

4.4.1. Auftreten während/nach der systemischen Immunprophylaxe

Die Anzahl der Immunreaktionen während der systemischen CSA-Immunsuppression betrug 3 (2 chronische und 1 akute mit Doppelepisode), nach Beendigung der CSA-Therapie 2 (1 chronische und 1 akute).

Unter der MMF-Prophylaxe traten 3 Immunreaktionen auf (2 chronische und 1 akute), nach Absetzen des MMF wurden 5 Immunreaktionen (4 chronische und 1 akute) beobachtet.

4.4.2. Chronisch/akut

In hier vorliegender Studie war in beiden Therapiegruppen der größere Anteil der Immunreaktionen chronisch (9 von 13 oder 69%), der geringere Anteil entfiel auf akute Immunreaktionen (4 von 13 oder 31%).

In der CSA-Gruppe waren 3 von 5 Immunreaktionen chronischer Art (60%). Unter den 2 akuten Immunreaktionen in der CSA-Gruppe wurde bei einem Transplantat noch während der Immunsuppression eine Doppelepisode hinsichtlich der akuten Abstoßungsreaktion beobachtet.

In der MMF-Gruppe waren 6 von 8 Immunreaktionen chronischer Art (75%), die restlichen zwei akut.

4.4.3. Mit/ohne HLA-Matching

Weder die 2 Patienten aus der CSA-Gruppe ohne HLA-Inkompatibilitäten (Tabelle 3, S.38, HLA-Daten) noch die 2 CSA-Patienten mit 6 HLA-Inkompatibilitäten waren von Abstoßungsreaktionen oder Transplantateintrübungen betroffen. Eine Abhängigkeit der Immunreaktionen von HLA-Matching konnte in dieser Studie nicht aufgezeigt werden.

In der MMF-Gruppe waren 2 der 5 Patienten mit 6 HLA-Mismatches von einer reversiblen endothelialen Immunreaktion betroffen (1 chronische, 1 akute), bei einem anderen Patienten mit 6 HLA-Inkompatibilitäten kam es zum Transplantatversagen infolge einer Glaukomdekompensation.

4.5. Endothelzellverlust

Um relevante Endothelzelldichte- (EZD-) Steigungswerte mit Hilfe von Extrapolationsverfahren ermitteln zu können wurden in die Endothelanalyse nur Patienten ohne Immunreaktionen bzw. Transplantatversagen mit mindestens 3 einzelnen postoperativen EZD-Werten eingeschlossen.

Es konnten bei insgesamt 62.5% (35/56) der Studienpatienten mindestens 3 einzelne postoperative EZD-Werte gemessen werden. Bei der Endothelanalyse wurden jedoch 24 Patienten (22/56, 48%) berücksichtigt. Dies waren in CSA-Gruppe 40,7% (11/27) und in MMF-Gruppe 44% (13/29) der Patienten. Die restlichen Daten wurden wegen Transplantatversagen bzw. Immunreaktionen von der Kalkulation ausgeschlossen.

Bei der Annahme eines linearen Verlaufs des Endothelzellverlusts lag der tägliche Endothelzellverlust pro Quadratmillimeter in der gesamten Studie durchschnittlich bei 1,27 Endothelzellen. Das waren in der CSA-Gruppe 1,50 versus 1,08 Zellen/(Tagxmm²) in der MMF-Gruppe. Bei einem p-Wert von 0,31 im Signifikanztest bestand hinsichtlich des Endothelzelldichteverlustes kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Therapiegruppen (Tabelle 13).

Auch die Analyse mittels des exponentiellen Modells ergab keine statistisch signifikante Differenzen zwischen CSA- und MMF-Gruppe (t-Test: p=0,58). Der postoperative Verlust an Endothelzellen lag in der CSA-Gruppe bei 36,1% pro Jahr, in der MMF-Gruppe ergab er 28,9% pro Jahr.

Tabelle 13.: Endothelzell-dichte-Verlust

Berechnung nach linearem Modell (t-Test: $p=0,31$)

Maßzahl: Steigung, Einheit: Zellen je mm^2 und je Tag(d) oder $[(\text{mm}^2 \text{ d})^{-1}]$

	CSA	MMF	Insgesamt
Endothelzell-dichte-Steigungswerte	-1,50	-1,08	-1,27
Standardabweichung	1,75	1,17	1,01

Berechnung nach exponentiellem Modell (t-Test: $p=0,58$)

Maßzahl: Zerfallskonstante, Einheit: Verlustereignisse je Tag(d) oder $[\text{d}^{-1}]$

	CSA	MMF	Insgesamt
Zerfallskonstante	$-12,30 \times 10^{-4}$	$-9,37 \times 10^{-4}$	$-10,70 \times 10^{-4}$
Standardabweichung	$9,10 \times 10^{-4}$	$13,29 \times 10^{-4}$	$11,41 \times 10^{-4}$
Jährliche Endothelzellverlustrate	36,1%	28,9%	32,3%

4.6. Nebenwirkungen

Insgesamt traten unerwünschte Nebenwirkungen bei 11 Patienten in der CSA-Gruppe und 6 Patienten in der MMF-Gruppe auf, wobei bei manchen Patienten mehrere Nebenwirkungen nebeneinander auftraten (Tabelle 14).

In der CSA-Gruppe wurden folgende Nebenwirkungen beobachtet: Hepatotoxizität (3 Patienten mit Transaminasenerhöhung), arterielle Hypertension (3 Patienten), Gingivaprobleme wie z.B. Gingivahyperplasie, Stomatitis, Gingivablutungen (3 Patienten), neurovegetative Störungen (1 Patient mit Hyperhidrosis, 2 Patienten mit Muskelschmerzen).

In der MMF-Gruppe wurden bei 6 Patienten neurovegetative Störungen (z.B. : Tremor, Vertigo, Hyperhidrosis, Juckreiz, Nausea, Abgeschlagenheit) und bei 2 Patienten Hepatotoxizität (Transaminasenerhöhung) beobachtet.

In keiner der beiden Therapiegruppen wurden opportunistischen Infektionen, gastrointestinale Störungen, Leukopenien oder Anämien diagnostiziert.

Hinsichtlich der Verteilung unerwünschter Nebenwirkungen konnte im χ^2 -Tests ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Therapiegruppen nicht aufgezeigt werden (Tabelle 14).

4.6. Vorzeitige Therapieabbrüche

In der CSA-Gruppe war das vorzeitige Absetzen der immunsuppressiven Prophylaxe bei zwei Patienten erforderlich (Tabelle 14). Bei einem Patienten in der CSA Gruppe musste das Medikament wegen Hepatotoxizität (steigende gamma-GT) fünf Monate nach Therapiebeginn abgesetzt werden. Im zweiten Fall wurde drei Monate nach der Operation wegen schwerer Gingivahyperplasie von CSA auf MMF umgestellt. In der Studie wurde dieser Patient in der CSA-Gruppe weitergeführt.

Die immunsuppressive Prophylaxe mit MMF musste ebenso bei zwei Patienten abgebrochen werden (Tabelle 14). In der MMF Gruppe wurde bei einem Patienten die Diagnose eines Hodgkin Lymphoms ein Monat nach Beginn der Therapie gestellt. Bei einem zweiten Patienten, mit schwerem atopischem Ekzem, wurde die Therapie nach zwei Monaten von MMF auf CSA umgestellt. Die Umstellung erfolgte nicht wegen unerwünschter Nebenwirkungen, sondern wegen mangelnder Besserung der Hautsymptomatik, welche sich aber nach der Umstellung auf CSA deutlich besserte. In der Studie wurde dieser Patient in der MMF-Gruppe weitergeführt, und zeigte genauso wie der oben erwähnte Patient mit der Umstellung von CSA auf MMF kein Auftreten von Abstoßungsreaktionen bzw. Transplantatversagen, wodurch kein Einfluss auf Studienergebnisse bestand.

Tabelle 14: Sicherheitsdaten (χ^2 -Tests: $p=0.12$)

(* : jeweils ein Patient mit vorzeitigem Therapieabbruch)

	CSA-Patienten	MMF-Patienten
Unerwünschte Nebenwirkungen	11	6
¹ Hepatotoxizität	3*	2
² arterielle Hypertension	3	0
² Neurovegetative Störungen	3	6
³ Gingivaprobleme	3*	0
⁴ Hodgkin-Lymphom (1 Monat nach Keratoplastik)	0	1*
⁵ Rezidiv eines Akustikusneurinoms (7 Monate nach Keratoplastik)	0	1
Exazerbation atopischer Dermatitis	0	1*
Vorzeitige Therapieabbrüche	2	2

¹ Bei den Patienten mit beobachteter Hepatotoxizität handelte sich in der CSA-Gruppe in zwei Fällen um passagere Transaminasenerhöhung unter der Immunsuppression mit spontaner Remission nach wenigen Wochen, im dritten Fall kam es zu Besserung nach Ausschleichen der CSA-Therapie.

In der MMF-Gruppe war die Transaminasenerhöhung unter der Immunsuppression in einem Fall passagerer Art, in zweitem Fall bestanden erhöhte Transaminasenwerte auch zwei Jahre nach Ausschleichen des Immunsuppressivum weiter.

² Bei den Patienten mit arterieller Hypertension bzw. neurovegetativen Störungen unter der MMF- oder CSA-Therapie wurde ein kompletter Rückgang dieser Nebenwirkungen nach Ausschleichen der Immunsuppression gesehen.

³ Bei den Patienten mit Gingivaproblematik unter der CSA-Immunsuppression handelte sich in zwei Fällen um einmal berichtete, vorübergehende Stomatitis bzw. Zahnfleischbluten. Bei dem dritten Patienten kam es zur Remission der Gingivahyperplasie innerhalb weniger Wochen nach Umstellung der Therapie auf MMF.

⁴ Bei der Patientin mit zunächst diagnostiziertem Hodgkin-Lymphom handelte es sich nach Abschluß aller Untersuchungen um hochmalignes Non-Hodgkin-Lymphom, das nach einer Chemotherapie und lokaler Bestrahlung der befallenen retroaurikulären Lymphknoten komplett rückgängig war und bisher (follow-up bis April 2002) kein Rezidiv zeigte.

⁵ Die Patientin mit dem Rezidiv eines Akustikusneurinomes hat vier Jahre nach dem Therapieende (follow-up bis April 2002) einen stationären Befund, der wegen seiner relativ geringgradigen Ausdehnung keiner operativen Behandlung bedarf und in jährlichen Intervallen mittels CT weiter kontrolliert wird.

5. Diskussion

5.1. Effektivität

Der Vergleich der Transplantatüberlebenswahrscheinlichkeiten, der Immunreaktionen, der Endothelzellverlustwerte und der beobachteten Nebenwirkungen gibt Aufschluss darüber, ob sich die Therapie mit Mycophenolatmofetil als effiziente und sichere Immunprophylaxe zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Hochrisiko-Keratoplastik erwiesen hat, was für Cyclosporin A in vorangehenden Studien bereits gezeigt werden konnte (Hill 1989, Hill 1994, Reinhard 1996, Reinhard 1997).

Die generelle Akzeptanz der perforierenden Keratoplastik als Therapie der Wahl bei zur Erblindung führenden Hornhauterkrankungen kann der ausgezeichneten Prognose der Korneatransplantate nach Normalrisiko-Keratoplastik zugeschrieben werden. Faktoren wie Avaskularität der Empfängerkernea, reduzierte Expression von MHC-Klasse-I-Molekülen, Fehlen der MHC-Klasse-II-Moleküle, Sekretion immunmodulierender Moleküle durch die Kornea selbst, die korneale Expression von Komplement-Inhibitoren sowie ACAID (Anterior Chamber Associated Immune Deviation, siehe S.15) bedingen gemeinsam das immunologische Privileg des vorderen Augenabschnittes (Niederkom 1996, Streilein 1996, Streilein 1999).

Durch diese „physiologische Immunsuppression“ wird bei Normalrisiko-Keratoplastiken ohne HLA-Matching und ohne Anwendung systemischer Immunsuppressiva eine 5-Jahres-Transplantatüberlebensrate von bis zu 95% erreicht (Sharif 1991, Girard 1993, Reinhard 1996, Schönherr 1996, Streilein 1999).

Patienten nach Hochrisiko-Keratoplastik hingegen erfahren eine durch Immunreaktion bedingte Transplantateintrübung in bis zu 75% innerhalb des ersten postoperativen Jahres (Hill 1994, Reinhard 1996). Die am weitesten verbreiteten Kriterien für Hochrisiko-Keratoplastiken sind tiefe korneale Neovaskularisationen über drei oder vier Quadranten, Re-Keratoplastiken und große Transplantate mit Positionierung in der Nähe des Limbus (Tabelle 1). Ferner führen schwere atopische Dermatitiden mit konsekutiv ausgeprägten Veränderungen des vorderen Augenabschnittes, Steroidresponse-Glaukome und hochimmunogene Limbo-Keratoplastiken zu einem

signifikant erhöhten Risiko für ein postoperatives Transplantatversagen, was in retrospektiven Studien nachgewiesen werden konnte (Sundmacher 1992). Im Hinblick auf diese Daten sollte grundsätzlich keine Hochrisiko-Keratoplastik ohne postoperative Immunsuppression durchgeführt werden.

Der Nutzen von systemischem CSA als potentes Medikament zur Reduktion der Immunreaktionen nach Organtransplantation ist eindeutig erwiesen (Land 1987). Die Effektivität von Cyclosporin A in der Immunprophylaxe nach Hochrisiko-Keratoplastik wurde in mehreren experimentellen (Kruse 1991, Coupland 1994) und klinischen (Hill 1989, 1994, Reinhard 1997) Studien überprüft. Durch die Verwendung von systemischem CSA ist es zu einem deutlichen Rückgang des Transplantatversagens nach Hochrisiko-Keratoplastik gekommen (Reinhard 1996). Diese Therapie geht jedoch mit einer relativ hohen Inzidenz an unerwünschten Nebenwirkungen einher, die annähernd 10% der Patienten zu vorzeitigem Absetzen des Medikamentes zwingen (Reinhard 1997). Neben der relativ hohen Nebenwirkungsrate hat CSA noch einen entscheidenden Nachteil, nämlich die Notwendigkeit der blutspiegeladaptierten Dosierung. Wegen der unsicheren Bioverfügbarkeit und daraus resultierender großer Variabilität der benötigten Dosis erfolgt die Therapie mit Cyclosporin unter fortlaufender CSA-Blutspiegelkontrolle. Die CSA-Dosierung ist also mit einem arbeits- und kostenintensiven Follow up durch das notwendige regelmäßige Drug-monitoring verbunden.

Es besteht der Bedarf nach alternativen immunmodulierenden Präparaten, nicht zuletzt wegen der relativ hohen Nebenwirkungsrate von CSA. In hier vorliegender Studie wurde Mycophenolatmofetil als erstes Immunsuppressivum seit der Einführung von systemischem CSA in die Korneachirurgie vor 15 Jahren, in einer prospektiven randomisierten Studie zur Verhinderung der Abstoßungsreaktion nach Hochrisiko-Keratoplastik getestet. MMF zeigte sich hier ebenso effektiv wie CSA in der Prophylaxe der allogenen Abstoßungsreaktion nach Hochrisiko-Keratoplastik.

Im ersten postoperativen Jahr oder während der medikamentösen Immunsuppression wurde in keiner der beiden Therapiegruppen eine Transplantateintrübung beobachtet. Drei Jahre postoperativ lag der nach Kaplan und Meier berechnete Anteil der klaren

Transplantate bei 69,3% in der CSA-Gruppe und bei 73,9% in der MMF-Gruppe. Der Anteil von Transplantaten ohne Immunreaktion betrug nach gleicher Nachbeobachtungsperiode 73,2% in der CSA-Gruppe und 53,4% in der MMF-Gruppe. Der Log-Rank-Test zeigte keinen statistisch signifikanten Unterschied hinsichtlich der Effizienz (Transplantatsüberleben, Immunreaktionen, Verlust der Endothellzellen) zwischen systemischer CSA- und MMF-Therapie nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik. Dies ist ein Hinweis darauf, dass die Effektivität der Immunprophylaxe mit systemischem MMF so gut ist wie die der Referenz-Substanz CSA.

Allerdings betrug der Fehler zweiter Ordnung (beta-Wert) für den Log-Rank-Test der Abbildung 5 (Anteil der Transplantate ohne Immunreaktion, S.59) nur 0,42: d.h. bei der Anzahl von 56 Patienten in dieser Studie wäre ein bestehender Unterschied zwischen den Behandlungsergebnissen nur mit einer Wahrscheinlichkeit von 58% (power of the test) zu finden. Um nun die Aussage, dass beide Behandlungsschemata äquivalent sind, abzusichern, sollte der Fehler zweiter Art (beta) nicht größer als 5% (0,05) sein. Dies wäre mit einer Patientenzahl von 250 pro Therapiegruppe zu erreichen. Diese hohe hypothetische Zahl von 500 Patienten unterstreicht, dass der Unterschied in der Effektivität beider Therapieschemata nur sehr geringfügig sein kann.

Der bei weitem größte Teil der chronischen Immunreaktionen wurde als Zufallsbefund bei Routinekontrollen im Rahmen der Nachbeobachtung festgestellt, was bedeutet, dass die chronischen Verläufe vom einweisenden Augenarzt als solche nicht erkannt wurden und dass hier ein allgemeiner Fortbildungsbedarf besteht. Die Diagnose akuter und chronischer Immunreaktionen ist in der Regel mit Hilfe der Spaltlampe auch in der Praxis des einweisenden Augenarztes zu stellen. Weiterführende Untersuchungen, die eine Immunreaktion dann bestätigen, können nach Einweisung in ein spezialisiertes Zentrum vorgenommen werden. Hierzu zählt seit langem die Spiegelmikroskopie des Transplantatendothels. Eine neuere, aber bereits jetzt sehr wichtige weitere Möglichkeit, den Verdacht auf eine Immunreaktion zu erhärten, stellt die Tyndallometrie dar. Pionierarbeit auf diesem Gebiet hat die Erlanger Klinik geleistet (Küchle 1993).

In beiden Therapiegruppen der vorliegenden Studie wurden überwiegend Immunreaktionen chronischer Art beobachtet (9 von 13 oder 69%), der geringere Anteil entfiel auf akute Immunreaktionen (31%). In der CSA-Gruppe waren 3 von insgesamt 5 Immunreaktionen chronischer Art (60%). In der MMF-Gruppe erlitten insgesamt 8

Patienten eine Immunreaktion während der gesamten Nachbeobachtungszeit, also entweder unter der MMF-Therapie oder nach ihrem Ausschleichen. Bei diesen Patienten war das neue Immunsuppressivum insuffizient, eine komplette Immuntoleranz herbeizuführen. Jedoch waren 6 von diesen 8 (75%) Immunreaktionen chronischer Art und genauso wie eine von den 2 akuten Abstoßungsreaktionen mit Hilfe sofort eingeleiteter Steroidtherapie (Tabellen 9 und 10) reversibel.

Diese in beiden Therapiegruppen beobachtete Verlagerung von akuten zu den milderen chronisch-endothelialen Immunreaktionen konnte bereits als Hauptmechanismus von CSA bei der Verbesserung der Transplantatüberlebensrate in früheren Studien demonstriert werden (Reinhard 1997). Aus einer klinischen Studie über akute und chronische Immunreaktionen nach Normalrisiko-Keratoplastik (Reinhard 1997) geht hervor, dass eine drastische Verschlechterung der Transplantatprognose auf 38,7 % klarer Transplantate 3 Jahre postoperativ, bei Auftreten einer oder mehrerer akuter Immunreaktionen zu erwarten ist. Chronische Immunreaktionen allein beeinträchtigen die mittelfristige Prognose hingegen nicht auffällig, was bedeutet, dass hier die Endothelschädigung eher mäßig ist.

Unter der MMF-Immunprophylaxe ist das Verhältnis akuter und chronischer Immunreaktionen, ähnlich wie unter CSA-Therapie, deutlich zugunsten der therapeutisch wesentlich besser beeinflussbaren chronischen Verläufe verschoben. Diese Verschiebung in Richtung chronischer Reaktionen führte dazu, dass in beiden Therapiegruppen die meisten Immunreaktionen reversibel waren (4/5 oder 80% Reversibilität in der CSA- und 7/8 oder 87,5% Reversibilität in der MMF-Gruppe). Die Immunreaktionen konnten also, alle bis auf die 2 Fälle, mit lokaler und systemischer Steroidtherapie effektiv behandelt werden (Tabellen 9 und 10), und dies erklärt, warum letztendlich in beiden Therapiegruppen annähernd 70% der Transplantate klar erhalten werden konnten.

Hinsichtlich des Auftretens akuter Immunreaktionen wurden in beiden Therapiegruppen gleiche Anzahl und Verteilungsmuster beobachtet. Es kam in jeder Gruppe zu zwei akuten Abstoßungsreaktionen, eine unter der Immunsuppression eine nach ihrer Beendigung. In beiden Therapiegruppen kam es infolge der akuten Immunreaktion zu einem Transplantatversagen.

In groß angelegten, randomisierten, kontrollierten Studien an Patienten nach Nieren- bzw. Herztransplantationen wies MMF eine starke Wirksamkeit im Sinne einer Senkung der Inzidenz akuter Abstoßungsreaktionen im ersten Jahr nach der Transplantation auf. Nach Herz-, Nieren- oder Lebertransplantationen war MMF nachweislich in der Lage, bereits im Gang befindliche akute Abstoßungsreaktionen zum Abklingen zu bringen (Mycophenolate Mofetil Acute Renal Rejection Study Group 1998, European MMF Cooperative Study Group 1995 und 1999, Tricontinental MMF Renal Transplantation Study Group 1996). Die Frage, ob eine ähnlich starke Wirksamkeit von MMF bei der Beherrschung akuter Immunreaktionen nach Hochrisiko-Keratoplastik besteht, könnte in weiteren Studien mit größeren Patientenkollektiven untersucht werden.

Möglicherweise wurde bei den Patienten mit Immunreaktionen nur eine Art von inkompletter Immuntoleranz induziert. Das erste Transplantatversagen in der MMF-Gruppe ist 2 Jahre postoperativ aufgetreten. Denkbare Schlussfolgerung wäre, dass die pharmakologisch induzierte Immuntoleranz nach diesem Zeitraum wenigstens in einigen Augen abnimmt. Hier drängt sich die Frage auf, ob eine Langzeitmedikation mit systemischen Immunsuppressiva gerechtfertigt ist, um eine langfristige Immuntoleranz und damit eine Verbesserung der langfristigen Transplantatüberlebensrate aufrechtzuerhalten. Unter Betrachtung der ähnlichen Effizienz beider in dieser Studie getesteter Medikamente und des höheren Risikos schwerer unerwünschter Nebenwirkungen in der CSA-Gruppe, scheint MMF besser für eine Erweiterung der Behandlungsperiode geeignet zu sein. Außerdem ist, im Gegensatz zu CSA, eine blutspiegeladaptierte Dosierung von MMF nur in besonderen Situationen wie Therapieversagen oder schweren unerwünschten Nebenwirkungen notwendig, wodurch geringere Kosten für Nachbeobachtung (z.B. Drug monitoring) verursacht werden. Schließlich macht die große therapeutische Breite das MMF für Patienten mit suboptimaler Compliance, die ihren Ophthalmologen oder Hausarzt nicht auf regulärer Basis besuchen, besser geeignet.

5.2. Endothelzellverlust

Die Endothelzelldichte von Hornhauttransplantaten nach perforierender Normalrisiko-Keratoplastik fällt aus noch ungeklärter Ursache auch in Abwesenheit von klinisch erkennbaren Immunreaktionen kontinuierlich ab (Bourne 1983, Bourne 1994, Bourne 1995, Ing 1998, Musch 1993, Nishimura 1999). Dieser postoperative Verlust an Transplantatendothelzellen liegt deutlich über der natürlichen altersabhängigen Endothelzellverlustrate von nur 0,5 % pro Jahr (Yee 1985). So ist ein jährlicher Endothelzellrichteverlust von 7,8 % im Zeitraum von 3 bis 5 Jahren nach der Keratoplastik beschrieben (Bourne 1994). Nach 10 Jahren sind dann nur noch 35 % der unmittelbar postoperativ vorhandenen Endothelzellen verblieben (Nishimura 1999). Folglich ist nicht auszuschließen, dass trotz dem primär langen klaren Transplantatüberleben von über 30 Jahren bei einzelnen Patienten nach Normalrisiko-Keratoplastik (Kus 1999), aufgrund eines Transplantatendothelversagens öfters eine Re-Keratoplastik notwendig werden könnte.

Der Pathomechanismus des idiopathischen Endothelzellverlustes nach Keratoplastik ist noch nicht geklärt. Wahrscheinlich ist, dass Endothelapoptose, zelluläre Umverteilungsprozesse von zentral nach peripher und eine über die Zeit konstant einwirkende z.B. subklinisch immunologische Endothelzellnoxe, also auch ein immunologischer Endothelzellabbau, in unterschiedlichem Ausmaß parallel ablaufen (Böhringer 2001).

In einer retrospektiven Studie über die Einflussfaktoren auf den chronischen Endothelzellverlust nach Normalrisiko-Keratoplastik beträgt der postoperative Verlust an Endothelzellen in einer homogener Patientengruppe 16,7% pro Jahr (Böhringer 2002). Bei der Annahme des entsprechenden exponentiellen Verlaufs des postoperativen Endothelzellverlusts lag dieser in unserer Hochrisiko-Keratoplastik-Studie mit insgesamt 32,3% pro Jahr deutlich höher.

Bei dem oben genannten, auf seine Homogenität hochsignifikant korrelierten Patientenkollektiv mit Normalrisiko-Keratoplastik nach Keratokonus wurden nach Möglichkeit alle mit Transplantatverschlechterung einhergehenden Einflüsse ausgeschlossen, auch zusätzliche Risikofaktoren wie z.B. weitere intraokulare Prozeduren oder Glaukom wurden ausgeschlossen. Dies erklärt auch das bessere Abschneiden der Normalrisiko-Keratoplastik hinsichtlich der Endothelzellverlustrate.

Eine alleinige Ursache oder ein einziger vorherrschender Einflussfaktor für den

erhöhten Endothellzellverlust in der hier vorliegenden Hochrisiko-Keratoplastik-Studie ist schon selbst deshalb nicht zu finden, weil die Patienten eine inhomogene Prognose im Hinblick auf das Transplantatüberleben aufweisen. Diese Inhomogenität der Transplantatprognose ist auf unterschiedliche, in beiden Therapiegruppen (CSA/MMF) jedoch gleich verteilte Hochrisiko-Diagnosegruppen zurückzuführen. Die insgesamt schlechtere Prognose der Hochrisiko-Keratoplastik wird außer den Hochrisikofaktoren durch die den idiopathischen Zellverlust überlagernden, das Endothel zusätzlich schädigenden Prozesse wie z.B. weitere simultan durchgeführte Eingriffe oder ein nicht reguliertes Glaukom verstärkt.

Bei der Annahme des exponentiellen Verlaufs des postoperativen Endothellzellverlusts lag dieser in unserer Hochrisiko-Keratoplastik-Studie bei 28,9% pro Jahr in der MMF-Gruppe und bei 36,1% pro Jahr in der CSA-Gruppe. Auch im linearen Verlauf lag der tägliche Endothellzellverlust pro Quadratmillimeter zugunsten der MMF-Gruppe bei 1,08 Zellen gegenüber 1,50 Zellen/(Tag x mm²) in der CSA-Gruppe. Jedoch konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen beiden Therapiegruppen weder im exponentiellen noch im linearen Berechnungsmodell des chronischen postoperativen Endothellzellverlusts nachgewiesen werden.

5.3. Sicherheit

Die unerwünschten Nebenwirkungen wurden in der CSA-Gruppe bei 11 Patienten beobachtet, während sie in der MMF-Gruppe bei nur 6 Patienten erfasst wurden.

Die in der CSA-Gruppe aufgetretenen Nebenwirkungen waren vor allem Hepatotoxizität, arterielle Hypertension und Gingivaprobleme, ferner kam es zu neurovegetativen Störungen.

Die Hauptnebenwirkungen in der MMF-Gruppe waren neurovegetative Störungen wie z.B. Tremor oder Vertigo, ansonsten trat Hepatotoxizität auf. Diese Nebenwirkungen wurden durch die meisten betroffenen Patienten gut toleriert, ferner wurde ihr Rückgang nach Ausschleichen der immunsuppressiven Therapie gesehen. Interessanterweise fanden wir keine gastrointestinalen Nebenwirkungen in der MMF-Gruppe. Diese Nebenwirkung konnte in bis zu 45% der Patienten nach

Nierentransplantation gesehen werden (Morris 1990), und wird mit dem generell schlechteren Allgemeinzustand dieser Patienten im Vergleich zu den Keratoplastik-Patienten erklärt.

In der CSA-Gruppe führten eine Hepatotoxizität (Transaminasenerhöhung der Leberwerte fünf Monate nach Therapiebeginn) sowie eine ausgeprägte Gingivahyperplasie (mit anschließender Umstellung auf MMF drei Monate nach Therapiebeginn) zweimal zum vorzeitigen Absetzen der Immunsuppression.

Die zwei Therapieabbrüche in der MMF-Gruppe, sind schwerer mit dem Studienmedikament in Zusammenhang zu bringen. Ein Therapieabbruch in der MMF-Gruppe erfolgte wegen der Diagnose eines Hodgkin Lymphoms ein Monat nach Transplantation. Da MMF kein alkylierendes Agens ist, und nicht zu DNA miscoding führt, sollte die Manifestation dieser Erkrankung ganz allgemein der Immunsuppression mit konsekutiv eingeschränkter Immunsurveillance zugeordnet werden. Das kurze Intervall zwischen Therapiebeginn und Manifestation des Lymphoms macht auch eine Koinzidenz beider Ereignisse wahrscheinlich. Vermutlich ist auch eine Koinzidenz für das 7 Monate nach der Keratoplastik diagnostizierte Rezidiv des Akustikusneurinoms in der MMF-Gruppe zutreffend. Bei einem Patienten mit atopischem Ekzem wurde wegen mangelnder Besserung der dermatologischen Symptomatik von MMF auf CSA gewechselt, es handelte sich hier um den zweiten Therapieabbruch in der MMF-Gruppe. Diese Entscheidung zur Umstellung auf CSA basierte auf unserer vorhergehenden positiven klinischen Erfahrung mit CSA bei atopischer Dermatitis und kann daher nicht als klares Therapieversagen eingestuft werden.

In beiden Therapiegruppen wurden keine opportunistischen Infektionen, gastrointestinale Störungen, Leukopenien oder Anämien diagnostiziert. Obwohl viel mehr Patienten aus der CSA-Gruppe durch die Nebenwirkungen betroffen wurden, konnte hinsichtlich der Verteilung unerwünschter Nebenwirkungen im χ^2 -Test ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den beiden Therapiegruppen nicht aufgezeigt werden.

5.4. Fazit

Zusammengefasst, konnte hinsichtlich der Effizienz eine statistisch signifikante Differenz zwischen systemischer MMF- und CSA-Therapie nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik nicht gezeigt werden. In diesem weltweit größtem Patientenkollektiv zeigte sich die Therapie mit Mycophenolatmofetil als effiziente und sichere Prophylaxe zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Hochrisiko-Keratoplastik. Mycophenolatmofetil stellt damit eine vielversprechende therapeutische Option für Patienten nach Hochrisiko-Keratoplastik dar.

Die große therapeutische Breite und die damit verbundene Einsparung von Blutspiegelmessungen stellt insbesondere im Vergleich zum bisherigen Standard – Cyclosporin A – einen entscheidenden logistischen Vorteil, wie auch eine Verbesserung der Lebensqualität der Patienten dar. Dies macht das Mycophenolatmofetil zur einer insbesondere für ophthalmologische Patienten attraktiven Alternative. Allerdings geht die pharmakologisch induzierte Immuntoleranz nach längerem Zeitintervall zurück, deshalb sollte zukünftig die Langzeittherapie mit MMF nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik in weiteren kontrollierten Studien untersucht werden.

6. Zusammenfassung

Hintergrund: Eine effektive und sichere Immunsuppression ist eine wichtige Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche Hochrisiko-Keratoplastik. Obwohl die postoperative Prophylaxe mit Cyclosporin A (CSA) zu einem deutlich verbesserten Transplantatüberleben führt, ist diese Therapie aufgrund des Nebenwirkungsspektrums nicht bei jedem Patienten einsetzbar. Die Wirksamkeit und Sicherheit von Mycophenolatmofetil (MMF) zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation konnte bereits in mehreren Studien nachgewiesen werden. Ziel dieser prospektiven, randomisierten klinischen Studie war es, die Effektivität und Sicherheit von systemischem MMF zur Verhinderung der Abstoßungsreaktion nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik im Vergleich zum bisherigen Standard - Cyclosporin A - zu untersuchen.

Patienten und Methoden: Patienten vor Hochrisiko-Keratoplastik wurden durch Ziehung eines Loses der immunsuppressiven Therapie mit CSA oder MMF zugeteilt. Seit März 1997 erhielten 27 Patienten systemisches CSA und 29 Patienten systemisches MMF. Die Immunsuppression wurde am Operationstag begonnen und für die Dauer von 6 Monaten mit anschließender Ausschleichsphase verabreicht. CSA wurde blutspiegeladaptiert verabreicht (Vollbluttalspiegel: 120-150 ng/ml), MMF in einer Dosis von 2x1g/Tag. Alle Patienten erhielten zusätzlich eine dreiwöchige postoperative Basisimmunsuppression mit oralen Kortikosteroiden. Die Therapieeffektivität wurde anhand der Anzahl von Immunreaktionen und/oder Transplantatversagen, die Therapiesicherheit anhand der Therapienebenwirkungen erfasst.

Ergebnisse: Während des ersten postoperativen Jahres kam es zu keiner Transplantateintrübung. Zwei Jahre postoperativ waren 82%/92% und 3 Jahre postoperativ 69%/74% der Transplantate in der CSA-/MMF-Gruppe klar (Kaplan Meier Werte, $p=0,33$, Log-Rank-Test). Insgesamt wurden 4 Transplantatversagen in der CSA- und 2 in der MMF-Gruppe beobachtet. Drei Jahre postoperativ waren 73% der Transplantate in der CSA- und 53% in der MMF-Gruppe frei von Immunreaktionen (Kaplan Meier $p=0,46$, Log-Rank-Test). Man beobachtete in der CSA-Gruppe 5 Immunreaktionen (3 unter Therapie/2 nach Ausschleichen; 3 chronische/2 akute) und

in der MMF-Gruppe insgesamt 8 Immunreaktionen (3 unter Therapie/5 nach Ausschleichen; 6 chronische/2 akute). In beiden Therapiegruppen waren die meisten Immunreaktionen unter einer kombinierten systemischen und lokalen Steroidtherapie reversibel (4/5 in der CSA-Gruppe und 7/8 in der MMF-Gruppe). Unerwünschte Nebenwirkungen traten bei 11 Patienten in der CSA- und bei 6 Patienten in der MMF-Gruppe auf. In beiden Therapiegruppen musste die Immunsuppression bei jeweils 2 Patienten vorzeitig beendet werden.

Schlussfolgerung: Hinsichtlich der Effizienz konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen sechsmonatiger systemischer CSA- und MMF-Immunsuppression nach Hochrisiko-Keratoplastik nicht gezeigt werden. Die Therapie mit Mycophenolatmofetil zeigte sich als effiziente und sichere Prophylaxe zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Hochrisiko-Keratoplastik. Der Hauptmechanismus des verlängerten Transplantatüberlebens unter MMF-Therapie war eine Verschiebung von akuten zu chronischen, therapeutisch besser beeinflussbaren Immunreaktionen, was für CSA bereits in früheren Studien demonstriert werden konnte. MMF stellt damit eine vielversprechende Alternative zu CSA-Immunsuppression nach Hochrisiko-Keratoplastik dar. Die Einsparung von Blutspiegelmessungen stellt insbesondere im Vergleich zum bisherigen Standard - Cyclosporin A - einen entscheidenden logistischen Vorteil, wie auch eine Verbesserung der Lebensqualität der Patienten dar. Die pharmakologisch induzierte immunologische Toleranz erfährt nach ca. 2 Jahren einen langsamen Abfall. Aus diesem Grunde sollte eine Langzeit-Immunsuppression mit systemischem MMF in weiteren Studien evaluiert werden.

7. Literatur

- Abi-Hanna D, Wakefield D, Watkins S (1988) Transplantation 45:610
- Allison A, Hovi R, Watts A, Webster A (1977) The role of de novo purine synthesis in lymphocyte transformation. Ciba Found Symp 48: 207
- Allredge OC, Krachmer JH (1981) Clinical types of corneal transplant reaction. Arch Ophthalmol 99: 599–604
- Althaus C, Sundmacher R (1995) Keratoplasty in newborns with Peter's anomaly. Ger. J. Ophthalmol.
- Andersen J, Ehlers N (1988) The influence of donor age and post mortem time on corneal graft survival and thickness when employing banked donor material. Acta Ophthalmol. 66: 313-317
- Ardjomand N, Komericki P, Radner H, Aigner R, Reich ME (1997) Korneale Langerhans-Zellen. Verhalten während der Lagerung in Organkultur. Ophthalmologie 94: 703-706
- Baggesen K, Ehlers N, Lamm LU (1991) HLA-DR/RFLP compatible corneal grafts. Acta Ophthalmol. 69: 229-233
- Bardsley-Elliot A, Noble S, Foster RH (1999) Mycophenolatmofetil. Adis Drug Evaluation, BioDrugs 1999 Nov; 12 (5): 363-410
- Beebe WE, Starita RJ, Fellman RL, et al (1989) Molteno implant and anterior chamber tube shunt to encircling band (ACTSEB) in the treatment of postkeratoplasty glaucoma. Ophthalmology (1989) 96, Supplement, p. 101
- Beyer CF, Arens MQ, Hill GA, et al (1989) Oral Acyclovir reduces the incidence of recurrent Herpes simplex keratitis in rabbits after penetrating keratoplasty. Arch. Ophthalmol. 107: 1200-1205
- Belmont SC, Zimm JL, Storch RL, et al (1993) Astigmatism after penetrating keratoplasty using the Krumeich guided trephine system. Refract. Corneal Surg. 9: 250-254
- Beveridge BF (1972) Eye Banking. In: Corneal grafting by Casey, T.A.. Butterworths 1972, p. 13
- Bigar F, Kaufmann HE, McCarey BE, Binder PS (1975) Improved corneal storage for penetrating keratoplasties in man. Am. J. Ophthalmol. 79: 115-120
- Binder PS (1985) Intraocular lens powers used in the tripel procedure. Ophthalmology 92: 1561-1566
- Böhnke M, Draeger J (1983) Klinische Ergebnisse nach perforierender Keratoplastik unter Verwendung verschiedenartig konservierter Hornhäute. Fortschr.Ophthalmol. 80: 422-425
- Böhnke M (1991) Spendergewebe für die Keratoplastik. Klin Monatsbl Augenheilk 198:562-571
- Böhringer D, Reinhard T, Godehardt E, Sundmacher R (2001) Regressionsanalyse des idiopathischen Endothelzellverlustes nach perforierender Keratoplastik: Grundlage für die

Langzeitanalyse von Endothelschädigungsfaktoren in einer retrospektiven Studie. Klin Monatsbl Augenheilkd 218:1-6

Böhringer D, Reinhard T, Spelsberg H, Sundmacher R (2002) Influencing factors on chronic endothelial cell loss characterised in a homogenous group of patients. Br J Ophthalmol 86: 35-38

Boisjoly HM, Roy R, Bernard PM (1990) Association between corneal allograft reactions and HLA compatibility. Ophthalmology 97: 1689-1698

Boisjoly HM, Roy R, Dube I, et al. (1986) HLA-A,B and DR matching in corneal transplantation. Ophthalmology 1986; 93(10): 1290

Bourne WM (1983) Morphologic and functional evaluation of the endothelium of transplanted human corneas. Trans Am Ophthalmol Soc 81:403-450

Bourne WM, Nelson LR, Hodge DO (1994) Continued endothelial cell loss ten years after lens implantation. Ophthalmology 101:1014-1023

Bourne WM, Hodge DO, Nelson LR (1994) Corneal endothelium five years after transplantation. Am J Ophthalmol 118:185-96

Bourne WM (1995) Functional measurements on the enlarged endothelial cells of corneal transplants. Trans Am Ophthalmol Soc 93:65-79.

Brown SI, Tragakis P (1971) Wound dehiscence with keratoplasty: Complication of the continuous-suture technique. Am. J. Ophthalmol. 71: 115-116

Brown SI (1974) Corneal transplantation of the infant cornea. Tr. Am. Acad. Ophthalmol. Otol. 78: 461-466

Brunette I, Shi ZH, Michaluk D (1994) Tissue culture of cryopreserved corneas. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 35: 1859

Bull H, Deutschmann S, Schlote HW (1991) Doppelt geführtes Vakuumtrepanationssystem "Asmotom". Fortschr. Ophthalmol. 88: 574-576

Bundesärztekammer (2000) Richtlinien zum Führen einer Hornhautbank. Dtsch Aertztebl 97:1805-1807

Busin M, Arffa RC, McDonald MB, Kaufman HE (1987) Combined penetrating keratoplasty, extracapsular cataract extraction, and posterior chamber intraocular lens implantation. Ophthalmic Surg. 18: 272-275

Butrus SI, Leung DYM, Gellis S et al (1984) Vernal conjunctivitis in the hyperimmunoglobulinemia E syndrome. Ophthalmology 91: 1213-1216

Buxton JN, Apissen JG, Hoeffle FB (1969) Corticosteroids in 100 keratoplasties. Am. J. Ophthalmol. 67: 46-51

Cameron JA, Al-Rajhi AA, Badr JA (1989) Corneal ectasias in vernal keratoconjunctivitis. Ophthalmology 96:1915

Castroviejo R (1968) Keratoplastik. Georg Thieme Verlag Stuttgart

CCTS (1992) Effectiveness of histocompatibility matching in high-risk corneal transplantation. Arch. Ophthalmol. 110: 1392-1403

- Charlin R, Polack FM (1982) The effect of elevated intraocular pressure on the endothelium of corneal grafts. *Cornea* 1: 241-249
- Chen JY, Tseng SCG (1990) Corneal epithelial wound healing in partial limbal deficiency. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 31:1301-1314
- Chen YF, Gebhardt BM, Reidy JJ, et al (1990) Cyclosporine-containing collagen shields suppress allograft rejection. *Am. J. Ophthalmol.* 109:132-137
- Chipman ML, Basu PK, Willett PJ, Cherry PMH, Slomovic AR (1990) The effects of donor age and cause of death on corneal graft survival. *Acta. Ophthalmol.* 68: 537-542
- Class FHJ, Roelen DL, D'Amaro J, Völker-Diebiën HJ. The role of HLA in corneal transplantation. In: Zierhut M, ed. *Immunology of corneal transplantation*. Buren, The Netherlands: Aeolus Press Scientific Publishers, 1994: 47
- Cohen EJ, Parlato CJ, Arentsen JJ, et al (1987) Medical and surgical treatment of *Acanthameba* keratitis. *Am. J. Ophthalmol.* 103: 615-625
- Coles RS, Laval J (1957) Retinal detachments occurring in cataract associated with neuro-dermatitis. *Arch. Ophthalmol.* 48: 30-39
- Cordes FC, Cordero-Moreno R (1946) Atopic cataracts. *American J. Ophthalmol.* 29: 402-407
- Coupland SE, Klebe S, Karow AC, Krause L, Bartlett RR, Hoffmann F (1994) Leflunomide (HWA-486) in the allogenic rat penetrating keratoplasty model. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35:1878
- Cowden JW, Copeland RA, Schneider MS (1989) Large diameter therapeutic penetrating keratoplasties. *Refract. Corneal Surg.* 5: 244-248
- Cowden JW (1990) Penetrating keratoplasty in infants and children. *Ophthalmology* 97: 324-329
- Crawford GJ, Stulting RD, Waring GO, et al (1986) The triple procedure: analysis of the outcome, refraction and intraocular power calculation. *Ophthalmology* 93: 817-824
- Culbertson WM, Abbott RL, Forster RK (1982) Endothelial cell loss in penetrating keratoplasty. *Ophthalmology* 89:600-604
- Dangel ME, Kirkham SM, Phipps MJ (1994) Posterior capsule opacification in extracapsular cataract extraction and the triple procedure: a comparative study. *Ophthalmic-Surg.* 25: 82-87
- Deutsch C, Engelmann K, Klee C, et al (1994) Inzidenz der Hornhautfadennachlegung nach perforierender Keratoplastik. *Ophthalmologie* 91, Supplement 1: 27
- De Voe AG (1975) Complications of keratoplasty. The Gifford Lecture. *Am. J. Ophthalmol.* 79: 907-912
- Dikstein S, Maurice DM (1972) The metabolic basis to the fluid pump. *J. Physiol.* 221:29-41
- Doughman DJ, van Hom D, Rodman WP et al (1976) Human corneal endothelial layer repair during organ culture. *Arch. Ophthalmol* 94:1791-1796
- Doughman DT (1980) Prolonged donor cornea preservation in organ culture: Long-term clinical evaluation. *Trans Am Ophthalmol Soc LXXCVIII*:567-628

- Duke-Elder S (1965) Diseases of the outer eye. Conjunctival diseases. In: Syst. of Ophthalmol., Kimpton, London, 1965, vol. 8: 446-448
- Duke-Elder S, Leigh A (1965) Diseases of the outereye. Corneal grafts. In: Duke-Elder (ed) System of ophthalmology, vol 8. Kimpton, London, pp: 648-661
- EEBA (European Eye Banks Association) (2000). Directory, Arhus, Denmark
- Ehlers N, Kissmeyer-Nielsen F (1979) Corneal transplantation and HLA histocompatibility. *Acta Ophthalmol.* 57:738-741
- Ehlers N, Anderson J (1987) Treatment of central corneal ulcers by a choud transplantation of organ culture preserved donor tissue. *Acta Ophthalmol.* 516-520
- Ehrlich CM, Rootman DS, Morin JD (1991) Corneal transplantation in infants, children and young adults: Experience of the Toronto Hospital for Sick Children, 1979-88. *Can. J. Ophthalmol.* 26: 206-210
- European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group (1995) Placebo controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporin A and corticosteroids for the prevention of acute rejection. *Lancet* 345:1321–1325
- European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group (1999) Mycophenolate mofetil in renal transplantation: 3 years results from the placebo-controlled trial. *Transplantation* 68:391-396
- Forster RK, Fine M (1971) Relation of donor age to success in penetrating keratoplasty. *Arch. Ophthalmol.* 85: 42-47
- Foulks GN, Sanfilippo FP, Locasio JA et al (1983) Histocompatibility testing for keratoplasty in high-risk patients. *Ophthalmology* 90: 239-244
- Franceschetti A (1939) L'Evolution de la keratoplastie. *Schw. Med. Wochenschr.* 69: 1015-1020
- Franceschetti A (1940) Das Schicksal der Hornhauttransplantate. *Klin. Mbl. Augenheilk.* 104: 333-335
- Franceschetti A (1955) The different techniques of corneal grafting and their indications. *Am. J. Ophthalmol.* 39: 61-66
- Friedlaender MH (1993) Allergy and Immunology of the eye. Raven press, New York, second edition, 1993
- Fujikawa LS, Colvin RB, Bhan AK, et al (1982) *Cornea* 1:213
- Gibbs DC, Batechelor R, Werb A (1974) The influence of tissue-type compatibility on the fate of full-thickness corneal grafts. *Trans. Ophthalmol. Soc.* 94: 101-126
- Gigli I, Baer RL (1979) Atopic dermatitis. In: *Dermatology in general medicine*. Editor T.B. Fitzpatrick. McGraw-Hill Book Company, New York, DUseldorf, London, Tokyo, pp. 520-528
- Gillette TE, Chandler JW, Greiner JV (1982) Langerhans cells on the ocular surface. *Ophthalmology* 89:700-711

- Girard LJ, Esnaolo N, Rao R (1993) Allograft rejection after penetrating keratoplasty for keratoconus. *Ophthalmic Surg* 24:40–43
- Goldberg DB, Schanzlin DJ, Brown SI (1981) Incidence of increased intraocular pressure after keratoplasty. *Am. J. Ophthalmol.* 92: 372-377
- Grimes SR, Stulting RD, Lynn MJ (1994) Predictive factors for post-penetrating keratoplasty wound dehiscence. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 35: 1475
- Hadjian R, Kloss A, Hartmann U, Hagenah M, Winter R (1997) Vergleich der Endothelzellichte bei Verwendung von Kontakt und Non-Kontakt Endothelmikroskopie. *Ophthalmologie* 94:SI48
- Hanna C, Irwin ES (1962) Fate of cells in the corneal graft. *Arch. Ophthalmol.* 68:810-817
- Hagenah M, Potsch T, Winter R (1994) Cryopreservation of human donor comeas with Dextran. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 35(4): 1859
- Heering P, Kutkuhn B, Kreuzpaitner G, et al (1991) Untersuchungen zur Nierenfunktion nierengesunder Patienten unter Ciclosporin. *Klin. Wochenschrift* 69:880-886
- Herman WK, Doughman DJ, Lindstrom RL (1983) Conjunctival autograft transplantation for unilateral ocular surface diseases. *Ophthalmology* 90:1121-1126
- Hill JC (1989) The use of cyclosporine in high risk keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 107:506–510
- Hill JC, Maske R, Watson P (1991) Corticosteroids in corneal graft rejection. *Ophthalmology* 98:329-333
- Hill JC (1992) The use of systemic Cyclosporine to prevent graft rejection in highly vascularized corneas. *Ophthalmology* (1992), Supplement, p. 124
- Hill JC (1994) Systemic cyclosporine in high risk keratoplasty. Short- versus long-term therapy. *Ophthalmology* 101:128–133
- Hippel, A. von (1878) Über Transplantation der Cornea. *Graefe's Arch.Ophthalmol.* 24: 237-256
- Hoffmann F (1976) Nahttechnik bei perforierender Keratoplastik. *Klin. Mb. Augenheilk.* 584-590
- Hoffmann F, Pahlitzsch T (1989) Predisposing factors in corneal graft rejection. *Cornea.* 8: 215-219
- Hoffmann F, Tregel M, Noske W, et al (1994) HLA-A and –DR match reduces the allograft rejection after keratoplasty. *Ger.J.Ophthalmol.* 3:100-104
- Holbach LM, Bayer J, Seiti B (1993) Herpes simplex Keratitis. *Ophthalmologie* 90: 698-702
- Holland EJ, De Ruyter DN, Doughman DJ (1987) Langerhans cells in organ culture corneas. *Arch Ophthalmol* 105:542-545
- Huang AJW, Tseng SCG (1991) Corneal epithelial wound healing in the absence of limbal epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 32:96-105
- Hudde R, Reinhard T, Möller M, Schelle C, Spelsberg H, Cepin A, Sundmacher R (1997) Korneosklerale Transplantatentnahme an der Leiche. *Ophthalmologie* 94:780-784

Hunkeler JD, Hyde LL . (1979) The triple procedure: combined penetrating keratoplasty, cataract extraction and lens implantation. Am. Intraocular Implant Soc. J 5: 222-224

Hurlbut WB, Domonkos AN (1954) Cataract and retinal detachment associated with atopic dermatitis. Arch. Ophthalmol. 52: 852-857

Ing JJ, Ing HH, Nelson LR, Hodge DO, Bourne WM (1998) Ten-year postoperative results of penetrating keratoplasty. Ophthalmology 105:1855-1865

Irschick E, Miller K, Berger M (1989) Studies on the mechanism of tolerance induced by short term immunosuppression with cyclosporin in high risk corneal allograft recipients: I. Analysis of CTL precursor frequencies. Transplantation 1989: 48:986

Jager M (1992) Corneal Langerhans cells and ocular immunology. Regional Immunology, 1992, vol. 4: 186-195

Jenkins MS, Lempert SL, Brown SI (1979) Significance of donor age in penetrating keratoplasty. Ann. Ophthalmol. 11: 974-976

Jones DB (1986) Acanthameba the ultimate opportunist? Am. J. Ophthalmol. 102:527-530

Kallmann CL (2000) Die Normalrisikokeratoplastik: Der Einfluß von Spender- und Empfängervariablen auf das mittelfristige Ergebnis einer Normalrisikokeratoplastik

Kanski JJ, Spitznas M (1987) Lehrbuch der klinischen Ophthalmologie. Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1987

Kaplan EL, Meier P (1958) Nonparametric estimation from incomplete observations. J Am Stat Assoc 53:457-481

Kaufman HE, Capella JA, Robbins JE (1966) The human corneal endothelium. Am. J. Ophthalmol. 61:835-841

Kenyon KR, Tseng SCG (1989) Limbal autograft transplantation for ocular surface disorders. Ophthalmology 96: 709-723

Khodadoust AA (1968) Penetrating keratoplasty in the rabbit. Am. J. Ophthalmol. 66: 899-905

Khodadoust AA, Silverstein AM (1969) Transplantation and rejection of individual cell layers of the cornea. Invest. Ophthalmol. 8: 180-195

Khodadoust AA, Silverstein AM (1972) Studies on the nature of the privilege enjoyed by corneal allografts. Invest. Ophthalmol. 11: 137-148

Kirkness CM, Cheong PYY, McG. Steele AD (1987) Penetrating keratoplasty and cataract surgery: The Advantages of an extracapsular technique combined with posterior chamber intraocular implantation. Eye 1: 557-561

Klareskog L, Forsum U, Malmnits T, et al (1979) Expression of Ia antigen-like molecules on cells in the corneal endothelium. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 310-313

Klemens F (1962) Dermatoze, Katarakt und Ablatio retinae. Klin. Mbl. Augenheilk. 140: 657-663

Kruse HA, Bechrakis NE, Heimann H, Diamantstein T, Hoffmann F (1991) Specific immunosuppressive therapy by monoclonal antibodies on rejection of orthoptic corneal allogenic grafts in the rat. Invest Ophthalmol Vis Sci 32:1119

- Kruse F (1996) Die Stammzellen des Limbus und ihre Bedeutung für die Regeneration der Hornhautoberfläche. *Ophthalmologie* 93: 633-643
- Küchle M, Nguyen NX, Naumann, GOH (1993) Quantification of aqueous flare with the laser flare cell meter following penetrating keratoplasty and in acute graft rejection. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34:1100
- Kus MM, Seitz B, Langenbucher A, Naumann GO (1999) Endothelium and pachymetry of clear corneal grafts 15 to 33 years after penetrating keratoplasty. *Am J Ophthalmol* 127:600-602
- Land W (1987) Optimal use of Sandimmun in organ transplantation. Springer, Berlin Heidelberg New York, pp 7–24
- Landesz M, Siertsema JV, Rij GV (1995) Comparative study of three semiautomated specular microscopes. *J Cat Refr Surg* 21:409-416
- Langenbucher A, Nguyen NX, Kus MM, Blüthner K, Küchle M, Seitz B (2000) Regressionsverhalten des Hornhautendothels nach nichtmechanischer perforierender Keratoplastik. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 216:393–399
- Lindstrom RL, Harris WS, Doughman DJ (1981) Combined penetrating keratoplasty, extracapsular cataract extraction, and posterior chamber lens implantation. *Am Intraocular Implant. Soc. J.* 7:130-132
- Lindstrom RL, Doughman D, Skelnik D, Mindrup E (1986) Minnesota System Corneal Preservation. *Br. J. Ophthalmol.* 70: 47-54
- Mackensen G (1966) Suture material and technique of suturing in microsurgery. *Adv. Ophthalmol.* 20: 88-95
- Mackensen G, Sundmacher R, Trauzettel S (1977) Keratoplastik im Kindesalter. *Klin. Mbl. Augenheilk.* 171:199-209
- Magitot A (1911) Recherches experimentales sur la survie possible de la cornee conservee en dehors de l'organisme et sur la keratoplastie differee. *Ann. Oculist.* (Paris, 1911), p. 1-34
- Maguire MG, Stark WJ, Gottsch JD, et al (1994) Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Ophthalmology* 101: 1536-1547
- Mandelbaum S (1992) Glaucoma associated with corneal disorders. In: Duane's Clinical Ophthalmology, vol. 3, chapter 54 F:8-13
- Mannis MJ, Plotnik RD, Schwab IR, et al (1991) Herpes simplex dendritic keratitis after keratoplasty. *Am. J. Ophthalmol.* 111: 480-484
- Mantel N (1966) Evaluation of survival data and two new rank order statistics arising in its consideration. *Cancer Chernother Rep* 50:163-170
- Matsuda M, Bourne WM (1985) Long-term morphologic changes in the endothelium of transplanted comeas. *Arch Ophthalmol* 103: 1343-1346
- Maumenee AE (1951) The influence of donor-recipient sensitization on corneal grafts. *Am. J. Ophthalmol.* 11:146-154

- Maumenee AE (1962) Clinical aspects of the corneal homograft reaction. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1:244-252
- Maurice DM (1972) The location of the pump in the cornea. *J. Physiol.* 221:43-54
- Mayer DL, Daar AS, Casey TA, et al (1983) *Transplant Proc* 15:126
- McCarey BE, Kaufmann HE (1974) Improved corneal storage. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 13:165-173
- McCulley JP (1983) Chemical injuries. In: *The cornea*. Editors Smolin, Thoft, Little, Brown and Company, Boston, Toronto, 1983, pp. 422-435
- Merlyn MR, Rowden G, Hackett J, et al (1981) Langerhans cells in the normal conjunctiva and peripheral cornea of selected species. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 21:759-765
- Mycophenolate Mofetil Acute Renal Rejection Study Group (1998) Mycophenolate mofetil for the treatment of a first acute renal allograft rejection. *Transplantation* 1998 Jan 27; 65:235-241
- Mohan RR, Liang O, Kim WJ, et al (1997) *Exp Eye Res* 65:575
- Morgan J, Morton HJ, Parker RC (1950) Nutrition of animal cells in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 73:1-8
- Morris R, Hoyt E, Murphy P (1990) Mycophenolalic acid and morpholinoethylester (RS-61443) is a new immunosuppressant that prevents and halts heart allograft rejection by selective inhibition of T- and B-cell purine synthesis. *Transplant Proc* 22:1659
- Musch DC, Schwartz AE, Fitzgerald-Shelton K (1991) The effect of allograft rejection after penetrating keratoplasty on central endothelial cell density. *Am J Ophthalmol* 111:739-742
- Mytilineos J, Scherer S, Opelz G (1990) Comparison of RFLP DR beta and serological HLA-DR typing in 1500 individuals. *Transplantation* 50:870-873
- Naumann GOH, Sautter H (1988) *Chirurgie der Kornea*. In: *Kirschnersche allgemeine und spezielle Operationslehre*. Springer-Verlag, Berlin, New York, Tokyo, 1988, Band 1, S. 491-566
- Newsome DA, Takasugi M, Kenyon K et al. (1974) Human corneal cells in vitro: morphology and histocompatibility (HL-A) antigens of pure cell populations. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 13:23-32
- Niederkom JY, Mellon J (1996) Anterior chamber-associated immune deviation promotes corneal allograft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 37: 2700-2707
- Nishimura JK, Hodge DO, Bourne WM (1999) Initial endothelial cell density and chronic endothelial cell loss in corneal transplants with late endothelial failure. *Ophthalmology* 106:1962-1965
- Obata H, Ishida K, Murao M, Miyata K, Sawa M (1991) Corneal endothelial cell damage in penetrating keratoplasty. *Jpn J Ophthalmol* 35:411-416
- Offret G, Pouliquen Y (1974) *Les homogreffes de la corne*. Masson und Cie, Paris 1974
- Olsen T (1979) Non-contact specular microscopy of human corneal endothelium. *Acta Ophthalmol* 57: 986-998

Pepose JS, Nestor MS, Gardner KM et al (1985) Composition of cellular infiltrates in rejected human corneal grafts. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 222:128-133

Pleyer U, Weidle EG, Lisch W, Steuhl KP, Möhrle C, Richter U, Zierhut M, Selbmann HK (1990) Klinische Verlaufsformen immunologischer Transplantatreaktionen nach perforierender Keratoplastik. *Fortschr Ophthalmol* 87:14-19

Polack F (1972) Scanning electron microscopy of corneal graft rejection: Epithelial rejection, endothelial rejection, and formation of posterior graft membranes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 11:1-14

Puangricharern V & Tseng SCG (1995) Cytologic evidence of corneal diseases with limbal stem cell deficiency *Ophthalmology* 102:1476-1485.

Rahi A, Davies P, Ruben M, et al (1977) Keratokonus and coexisting atopic disease. *Brit. J. Ophthalmol.* 61: 761-764

Reinhard T, Sundmacher R (1992) Perforierende Keratoplastik bei endogenem Ekzem: Eine Indikation für systemisches Ciclosporin-A, eine retrospektive Studie Über 18 Patienten. *Klin Monatsbl Augenheilk* 201:159-163

Reinhard T, Sundmacher R (1993) Mittelfristige Ergebnisse nach perforierenden Keratoplastiken im Säuglings- und Kleinkindesalter. *Sitzungsberichte der 154. Versammlung des Vereins Rheinisch-Westfälischer Augenärzte*, 16.-17.05.1992, Zimmermann Druck und Verlag, 5983 Balve, 1993, S.55-61

Reinhard T (1995) Die Hochrisikokeratoplastik: Eine Analyse ihrer Pathogenesegruppen und deren therapeutischer Beeinflußbarkeit

Reinhard T, Sundmacher R, Heering P (1996) Systemic ciclosporin A in high risk keratoplasties. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 234:115-121

Reinhard T, Sundmacher R (1997) Systemische Cyclosporin-A Prophylaxe nach Keratoplastiken mit erhöhtem Risiko für Immunreaktionen als einzigem erhöhten Risikofaktor. *Ophthalmologie* 94:496-500

Reinhard T, Hutmacher M, Sundmacher R, Godehardt E (1997) Akute und chronische Immunreaktionen nach perforierender Keratoplastik mit normalem Immunrisiko. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 210:139-143

Reinhard T, Kallmann C, Cepin A, Godehard E, Sundmacher R (1997) The influence of glaucoma history on graft survival after penetrating keratoplasty. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 235:553-557

Reinhard T, Ruzicka T, Sundmacher R (1999) Pathogenese, Klinik und Therapie der Augenbeteiligung bei Atopie. *Ophthalmologie* 96:473-488

Reinhard T, Sundmacher R, Spelsberg H, Althaus C (1999) Homologous penetrating central limbo-keratoplasty (HPCLK) in bilateral stem cell insufficiency. *Acta Ophthalmol Scand* 77:663-667

Reinhard T, Spelsberg H, Holzwarth D, et al. (1999) Wissensbasierte Bildanalyse des Endothels von Hornhauttransplantaten. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 214:407-11

Reinhard T, Sundmacher R (2000) Perspektiven der perforierenden Keratoplastik. *Ophthalmologie Suppl* 1, 2000, 97:10

Reinhard T, Reis A, Malinowski M, Godehardt E, Sundmacher R (2000) Systemisches Mycophenolatmofetil (MMF) und Cyclosporin A (CSA) nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik – 3-Jahres-Ergebnisse einer randomisierten, prospektiven Studie. *Ophthalmologie Suppl* 1, 2000, 97:26

Reinhard T, Böhringer D, Sundmacher R (2001) Accelerated chronic endothelial cell loss after penetrating keratoplasty in glaucoma eyes. *J Glaucoma* 10(6):445-451

Reinhard T, Böhringer D, Hüschen D, Sundmacher R (2001) Beeinflussung des langfristigen klaren Transplantatüberlebens nach perforierender Keratoplastik bei Keratokonus und Fuchs Endotheldystrophie durch den chronischen Endothelzellverlust (im Druck)

Reinhard T, Reis A, Böhringer D, Malinowski M, Voiculescu A, Heering P, Godehardt E, Sundmacher R (2001) Systemic mycophenolate mofetil in comparison with systemic cyclosporin A in high-risk keratoplasty patients: 3 years' results of a randomised prospective clinical trial. *Graefe's Arch Clin Exp Ophthalmol* 239:367-372

Reinin M, Lax S, Lichte H, Twiss R (1967) *Acta Ophthalmol* 154:39

Reis A, Reinhard T, Sundmacher R, Braunstein S, Godehardt (1998) A comparative investigation of FK506 and cyclosporin A in murine corneal transplantation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 236:785-789

Reis A, Reinhard T, Godehardt E, Braunstein S, Sundmacher R (1998) Effect of mycophenolate mofetil, cyclosporin A, and both in a murine corneal graft rejection model. *Br J Ophthalmol* 82:700-703

Reis A, Reinhard T, Voiculescu A, Kutkuhn B, Spelsberg H, Althaus C, Sundmacher R (1999) Mycophenolate mofetil versus cyclosporin A in high-risk keratoplasty patients: a prospective, randomised clinical trial. *Br J Ophthalmol* 83:1268–1271

Rowden G (1981) The Langerhans cell. *Crit Rev Immunol* 1981: 3(2):95

Ruusuvaara P (1979) Histocompatibility and corneal graft endothelium. *Acta Ophthalmol.* 57:968-981

Rycroft BW (1955) History. In: Rycroft, B.W. (ed). *Corneal grafts*, pp 6-7. Butterworth und Co, London (1955)

Samples JR, Binder PS, Luibel FJ, et al (1984) Acanthameba keratitis. Possibly acquired from a hot tub. *Arch. Ophthalmol.* 102:707-710

Schönherr U, Martus P, Händel A, Naumann GOH (1996) Transplantatreaktion nach Keratoplastik wegen Keratokonus. *Ophthalmologie* 93:227–231

Severin M (1986) Immunreaktionen nach Keratoplastik. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 188:200–208

Severin M (1994) *Perforierende Keratoplastik*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York

Sharif KW, Casey TA (1991) Penetrating keratoplasty for keratoconus: complications and long-term success. *Br J Ophthalmol* 75:142–146

Skorpik C, Menapace R, Gnad HD, Grasl M (1988) The tripel procedure - Results in cataract patients with corneal opacity. *Ophthalmologica* 196: 1-6

- Smolin G (1983) The cornea. Little, Brown and Company, Boston, Toronto, S. 234-243
- Stark WJ, Taylor HR, Blas WB et al. (1978) Histocompatibility (HLA) antigens and Keratoplasty. Am. J. Ophthalmol. 86:595-604
- Stark WJ (1980) Transplantation immunology of penetrating keratoplasty. Tr. Am. Ophthalmol. Soc., 1980, p. 1079-1117
- Stewart RH, Kimbrough RL (1979) Intraocular pressure response to topically administered Fluorometholone. Arch. Ophthalmol. 97: 2139-2140
- Streilein JW, Toews GB, Bergstresser PR (1979) Nature 282:326
- Streilein JW, Sonoda Y (1994) Anterior chamber privilege in relation to keratoplasty. In: Immunology of corneal transplantation. Editors: Zierhut, Pleyer, Thiel. Aeolus Press, Buren, Netherlands, 1994, pp. 117-134
- Streilein JW (1996) Peripheral tolerance induction: lessons from immune privileged sites and tissues. Transplant-Proc 28 (4): 2066-2070
- Streilein JW (1997) : In Pleyer U, Hartmann C, Sterry W (eds): Proceedings of Symposium: Bullous Oculo-Muco-Cutaneous Disorders. Buren, The Netherlands: Aeolus Press; 1997, p 43
- Streilein JW, Yamada J, Dana MR, Ksander BR (1999) Anterior chamber-associated immune deviation, ocular immune privilege, and orthotopic corneal allografts. Transplant Proc 31:1472-1475
- Stuart PM, Griffith TS, Usui N, et al (1997) J Clin Invest 99:396
- Stübinger N, Pleyer U, Thiel HJ (1994) Allograft rejection in keratoplasty a chaud. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 35: 1875
- Stulting RD, Summers KD, Cavanagh HD, Waring III GO, Gammon JA (1984) Penetrating keratoplasty in children. Ophthalmol. 91: 1222-1230
- Sundmacher R (1977) Immunreaktionen nach Keratoplastik. Klin Monatsbl Augenheilkd 171:705-722
- Sundmacher R (1978) Trifluordymidinprophylaxe bei Steroidtherapie herpetischer Keratouveitiden. Klin Monatsbl Augenheilk 173:516-519
- Sundmacher R, Steffanson A, Mackensen G (1983) Verlaufsbeobachtungen nach Keratoplastik. Klin Monatsbl Augenheilkd 80: 224-227
- Sundmacher R, Müller O (1983) Endothelzellverluste nach Keratoplastik. Spiegelmikroskopische Verlaufsbeobachtungen bei Immunreaktionen gegen Transplantatendothel. Klin Monatsbl Augenheilk 182:86-90
- Sundmacher R, Peter HH (1987) Cyclosporin-A systemisch nach Keratoplastik wegen rheumatischer Hornhautperforation und essentieller Bindehautschrumpfung. Spektrum Augenheilk 1:1-5
- Sundmacher R (1990) Keratoplastik. Fortschr Ophthalmol 87, Supplement, S. 206-214
- Sundmacher R, Reinhard T, Heering P (1992) Six years experience with systemic cyclosporin A prophylaxis in high-risk perforating keratoplasty patients. German J Ophthalmol 1:432-436

- Sundmacher R, Reinhard T (1996) Central corneolimbal transplantation under systemic Ciclosporin A cover for severe limbal stem cell deficiency. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 234:122-125
- Sundmacher R, Reinhard T (2001) Bedarfsdeckung mit qualitätsgesicherten Hornhauttransplantaten. *Ophthalmologe* 98:277-284
- Tan DTH, Ficker LA, Buckley RJ (1994) Limbal transplantation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 35: 1913
- Tan DTH, Ficker LA, Buckley RJ (1996) Limbal Transplantation. *Ophthalmology* 103:29-36
- The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study group (1996) A blinded, randomised clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 61:1029–1037
- Troutman RC, Lawless MA (1987) Penetrating keratoplasty for keratoconus. *Cornea* 6:298–305
- Tsai RJ, Sun T, Tseng SCG (1990) Comparison of limbal and conjunctival autograft transplantation in corneal surface reconstruction in rabbits. *Ophthalmology* 97: 446-455
- Tsubota K, Toda I, Hiroshi S (1995) Reconstruction of the corneal epithelium by limbal allograft transplantation for severe ocular surface disorders. *Ophthalmology* 102:1486-1496
- Tuberville AW, Foster CS, Wood TO (1983) The Effect of Donor Cornea Epithelium Removal on the Incidence of Allograft Rejection Reactions. *Ophthalmol.* 90: 1351-1356
- Tuberville AW, Tomoda T, et al (1984) Timolol and postoperativ intraocular pressure. *Am. Intraocular Implant Soc. J.* 10: 180-181
- Vail A, Gore SM, Bradley BA, et al (1993) Corneal transplant follow-up study. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 34: 1366
- Vail A, Gore SM, Bradley BA, Easty DL, Rogers CA, Armitage WJ (1994) Influence of donor and histocompatibility factors on corneal graft outcome. *Transplantation* 58: 12101216
- Vajpayee RB, Gupta SK, Barejy U, et al (1990) Ocular atopy and mycotic keratitis. *Ann. Ophthalmol.* 22: 369-372
- Vetter G (1952) Eine weitere Beobachtung von doppelseitiger Amotio bei Cataracta syndermatotica bilateralis. *Klin. Mbl. Augenheilk.* 120: 264-265
- Völker-Dieben HJM, Kok-Van Alphen CC, Lansbergen Q, Persijn GG (1982) Different influences on corneal graft survival in 539 transplants. *Acta. Ophthalmol.* 60: 190-202
- Völker-Dieben HJM (1989) Corneal transplantation: State of the art. *Transplantation Proceedings* 21: 3116-3119
- Völker-Dieben HJM, D'Amato J, Kruit PJ et al (1989) Interactions between prognostic factors for corneal allograft survival. *Transplantation Proceedings* 21: 3135-3138
- Völker-Dieben HJM, Claas FHJ, Schreuder GMT, Schipper RF, Pels E, Persijn GG, Smits J, D'Amato J (2000) Beneficial effect of HLA-DR matching on the survival of corneal allografts. *Transplantation* 70:640-648

Waring GO, Laibson P (1977) Keratoplasty in infants and children. Tr. Am. Acad. Ophthalmol. Otol. 83: 283-296

Wernet P, Kögler G, Ericzmann J et al. (1998) Rapid method for successful HLA class I and II typing from cadaveric blood for direct matching in cornea transplantation. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol 236:507-512

Wilbanks GA, Streilein JW (1991) Studies on the induction of anterior chamber associated immune deviation (ACAID). J. Immunol. 146:2610-2617

Williamson JSP, DiMarco S, Streilein JW (1987) Immunobiology of Langerhans cells on the ocular surface. Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 28:1527-1532

Wilson SE, Bourne WM, (1989) Corneal preservation. Survey Ophthalmol. 33:237-259

Yee RW, Matsuda M, Schultz RO, Edelhauser HF (1985) Changes in the normal corneal endothelial cellular pattern as a function of age. Curr Eye Res 4: 671-678

Zirm E (1906) Eine erfolgreiche totale Keratoplastik. Graefes Arch. Ophthalmol. 64: 581-593

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Michael Malinowski
Geburtsdatum	05.08.73
Geburtsort	Myslowitz/Polen
Staatsangehörigkeit	deutsch
Eltern	Anna Malinowski, geb. Zajac, Augenärztin Silvester Malinowski, praktischer Arzt
Schwester	Eva Malinowski
Konfession	römisch-katholisch

Schulbildung

1980 - 1984	Grundschule in Myslowitz/Polen
1984 - 1988	Grundschule in Tichau/Polen
1988 - 1993	Städtisches Gymnasium Rückertstraße in Düsseldorf
Juni 1993	Abitur, Städtisches Gymnasium Düsseldorf

Zivildienst

1993 - 1994	Sozialdienst katholischer Frauen und Männer in Düsseldorf
-------------	---

Akademische Ausbildung

1994 - 2000	Studium der Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
1999 - 2000	Praktisches Jahr an den Universitätskliniken Düsseldorf in den Abteilungen für Augenheilkunde, Kardiologie und Unfallchirurgie

Beruflicher Werdegang

1/2001 - 5/2001	Arzt im Praktikum in der augenärztlichen Praxis, Dr. Malinowski in Wuppertal
5/2001 - 7/2002	Arzt im Praktikum in der augenärztlichen Gemeinschaftspraxis und Tagesklinik, Dr. Hermeking in Wuppertal
7/2002	Approbation als Arzt durch den Regierungspräsidenten zu Düsseldorf
7/2002	Assistenzarzt in der Abteilung für Augenheilkunde des Klinikum Wuppertal GmbH

Aus dieser Studie gingen folgende Publikationen hervor:

1. Reinhard T., Reis A., **Malinowski M.**, Godehardt E., Sundmacher R. (2000)

Systemisches Mycophenolatmofetil (MMF) und Cyclosporin A (CSA) nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik - 3-Jahres-Ergebnisse einer randomisierten, prospektiven Studie.

Der Ophthalmologe, Band 97, Supplement 1, August 2000, Seite: 26

2. Reinhard T., Reis A., Böhringer D., **Malinowski M.**, Voiculescu A., Heering P., Godehardt E., Sundmacher R. (2001)

Systemic mycophenolate mofetil in comparison with systemic cyclosporin A in high-risk keratoplasty patients: 3 years' results of a randomised prospective clinical trial.

Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology (2001) 239:367-372

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen herzlich bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herzlich danke ich Herrn Universitätsprofessor Dr. med. R. Sundmacher für die Möglichkeit der Promotion an seiner Klinik.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. T. Reinhard für seine intensive Betreuung und freundliche Unterstützung bei der Durchführung und Fertigstellung der Arbeit.

Herrn Prof. Dr. med. P. Heering danke ich für die Übernahme des Koreferates.

Herrn Prof. Dr. rer. nat. E. Godehardt danke ich als drittem Prüfer im mündlichen Teil der Promotionsprüfung.

Bei Herrn Privatdozent Dr. med. Alexander Reis bedanke ich mich für seine stetige Bereitschaft zur Diskussion der Ergebnisse und für seine wertvollen Anregungen zur praktischen Durchführung der Arbeit.

Herrn Dr. med. Daniel Böhringer möchte ich an dieser Stelle für die Hilfe bei der Einarbeitung in die benötigten Techniken der Datenerhebung und -Auswertung sowie für die wertvollen Ratschläge danken.

Den Mitarbeitern der Augenklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf danke ich für die gute Zusammenarbeit und die Unterstützung bei der Datenerhebung.

Letzlich danke ich meinen Eltern Anna und Silvester Malinowski sowie meiner Schwester Eva und meiner Freundin Katharina für ihre Geduld und ihre Unterstützung.

Abstract: Systemisches Mycophenolatmofetil versus Cyclosporin A nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik: Ergebnisse einer randomisierten, prospektiven klinischen Studie

Vorgelegt von Michael Malinowski

Hintergrund: Eine effektive und sichere Immunsuppression ist eine wichtige Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche Hochrisiko-Keratoplastik. Obwohl die postoperative Prophylaxe mit Cyclosporin A (CSA) zu einem deutlich verbesserten Transplantatüberleben führt, ist diese Therapie aufgrund des Nebenwirkungsspektrums nicht bei jedem Patienten einsetzbar. Die Wirksamkeit und Sicherheit von Mycophenolatmofetil (MMF) zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation konnte bereits in mehreren Studien nachgewiesen werden. Ziel dieser prospektiven, randomisierten klinischen Studie war es, die Effektivität und Sicherheit von systemischem MMF zur Verhinderung der Abstoßungsreaktion nach perforierender Hochrisiko-Keratoplastik im Vergleich zum bisherigen Standard - Cyclosporin A - zu untersuchen.

Patienten und Methoden: Patienten vor Hochrisiko-Keratoplastik wurden durch Ziehung eines Loses der immunsuppressiven Therapie mit CSA oder MMF zugeteilt. Seit März 1997 erhielten 27 Patienten systemisches CSA und 29 Patienten systemisches MMF. Die Immunsuppression wurde am Operationstag begonnen und für die Dauer von 6 Monaten mit anschließender Ausschleichsphase verabreicht. CSA wurde blutspiegeladaptiert verabreicht (Vollbluttalspiegel: 120-150 ng/ml), MMF in einer Dosis von 2x1g/Tag. Alle Patienten erhielten zusätzlich eine dreiwöchige postoperative Basisimmunsuppression mit oralen Kortikosteroiden. Die Therapieeffektivität wurde anhand der Anzahl von Immunreaktionen und/oder Transplantatversagen, die Therapiesicherheit anhand der Therapienebenwirkungen erfasst.

Ergebnisse: Während des ersten postoperativen Jahres kam es zu keiner Transplantateintrübung. Zwei Jahre postoperativ waren 82%/92% und 3 Jahre postoperativ 69%/74% der Transplantate in der CSA-/MMF-Gruppe klar (Kaplan Meier Werte, $p=0,33$, Log-Rank-Test). Insgesamt wurden 4 Transplantatversagen in der CSA- und 2 in der MMF-Gruppe beobachtet. Drei Jahre postoperativ waren 73% der Transplantate in der CSA- und 53% in der MMF-Gruppe frei von Immunreaktionen (Kaplan Meier $p=0,46$, Log-Rank-Test). Man beobachtete in der CSA-Gruppe 5 Immunreaktionen (3 unter Therapie/2 nach Ausschleichen; 3 chronische/2 akute) und in der MMF-Gruppe insgesamt 8 Immunreaktionen (3 unter Therapie/5 nach Ausschleichen; 6 chronische/2 akute). In beiden Therapiegruppen waren die meisten Immunreaktionen unter einer kombinierten systemischen und lokalen Steroidtherapie reversibel (4/5 in der CSA-Gruppe und 7/8 in der MMF-Gruppe). Unerwünschte Nebenwirkungen traten bei 11 Patienten in der CSA- und bei 6 Patienten in der MMF-Gruppe auf. In beiden Therapiegruppen musste die Immunsuppression bei jeweils 2 Patienten vorzeitig beendet werden.

Schlussfolgerung: Hinsichtlich der Effizienz konnte ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen sechsmonatiger systemischer CSA- und MMF-Immunsuppression nach Hochrisiko-Keratoplastik nicht gezeigt werden. Die Therapie mit Mycophenolatmofetil zeigte sich als effiziente und sichere Prophylaxe zur Verhinderung der allogenen Abstoßungsreaktion nach Hochrisiko-Keratoplastik. Der Hauptmechanismus des verlängerten Transplantatüberlebens unter MMF-Therapie war eine Verschiebung von akuten zu chronischen, therapeutisch besser beeinflussbaren Immunreaktionen, was für CSA bereits in früheren Studien demonstriert werden konnte. MMF stellt damit eine vielversprechende Alternative zu CSA-Immunsuppression nach Hochrisiko-Keratoplastik dar. Die Einsparung von Blutspiegelmessungen stellt insbesondere im Vergleich zum bisherigen Standard - Cyclosporin A - einen entscheidenden logistischen Vorteil, wie auch eine Verbesserung der Lebensqualität der Patienten dar. Die pharmakologisch induzierte immunologische Toleranz erfährt nach ca. 2 Jahren einen langsamen Abfall. Aus diesem Grunde sollte eine Langzeit-Immunsuppression mit systemischem MMF in weiteren Studien evaluiert werden.

Augenklinik, Heinrich-Heine-Universität, Moorenstr. 5, D-40225 Düsseldorf



Abstract: Systemic mycophenolate mofetil in comparison with systemic cyclosporin A in high-risk keratoplasty patients: results of a randomized prospective clinical trial

Background: With the use of systemic cyclosporin A (CsA), graft prognosis after high-risk penetrating keratoplasty has improved considerably. However, the application of CsA is limited owing to a variety of severe side effects. In this prospectively randomized study mycophenolate mofetil (MMF), a safe and efficient immunosuppressive medication after renal transplantation, was compared with CsA after high-risk penetrating keratoplasty.

Methods: Twenty-nine high-risk keratoplasty patients were treated with MMF 2x1 g daily; another 27 patients received CsA, aiming at blood trough levels of 120-150 ng/ml. Systemic immunosuppression was scheduled for 6 months. In both groups oral corticosteroids (fluocortolone 1 mg/kg) were administered for 3 weeks postoperatively.

Results: During the first year after operation, no graft failure was recorded. Two years postoperatively 92%/82% and 3 years postoperatively 74%/69% of grafts were clear in the MMF and CsA group, respectively (Kaplan Meier $P=0.33$, log-rank test). In total, two graft failures were recorded in the MMF group and four in the CsA group. Three years postoperatively 53% of the grafts were rejection-free in the MMF group and 73% in the CsA group (Kaplan Meier $P=0.46$, log-rank test). Eight endothelial immune reactions were observed in the MMF group (three under systemic immunosuppression/five thereafter; six mild/two severe) and five in the CsA group (three under systemic immunosuppression/two thereafter; three mild/two severe). Side effects occurred in six patients under MMF and 11 under CsA.

Conclusions: Concerning efficacy, no statistically significant difference between systemic MMF and systemic CsA administered for 6 months after high-risk penetrating keratoplasty could be shown. Systemic MMF was proven to be at least as safe as CsA. The main mechanism in improving graft survival is a shift from severe to milder endothelial immune reactions, as already demonstrated for CsA. Thus, MMF may become an alternative to CsA for immunosuppression after penetrating high-risk keratoplasty. About 2 years postoperatively, pharmacologically induced relative immunological tolerance slowly decreases. Therefore, long-term administration of systemic MMF should be evaluated in further studies.