

# Vorpräparierte Hornhauttransplantate für die DMEK

## Standardisierte und kontrollierte Herstellung in der Gewebekbank

Bisher werden in Deutschland die meisten Transplantate für die DMEK (Descemet Membran Endothel Keratoplastik) unmittelbar vor Beginn des Eingriffs im Operationssaal präpariert. Dabei kann jedoch der Herstellungsprozess schlecht standardisiert oder validiert werden. Dichte, Morphologie und Vitalität der Endothelzellen können nach dem Abschluss der Präparation in der Regel ebenso wenig kontrolliert werden wie die mikrobiologische Reinheit. Eine Alternative bietet sich mit der Verwendung eines in der Gewebekbank vorpräparierten Transplantates.

Dr. rer. nat. Nicola Hofmann, Dr. rer. nat. Mareike Derks, Dr. rer. nat. Ingrida Majore, Dr. med. Lutz Blomberg und Martin Börgel (Hannover) erläutern ein neues Präparationsverfahren der Gewebekbank der Deutschen Gesellschaft für Gewebetransplantation.

**F**ür die Behandlung von Hornhauterkrankungen, die durch Insuffizienz des Hornhautendothels verursacht werden, wird immer häufiger die Descemet Membrane Endothelial Keratoplasty (Descemet-Endothelkeratoplastik/DMEK) eingesetzt. Durch die DMEK wird die erkrankte Endothelschicht der Augenhornhaut bei Erkrankungen des Hornhautendothels ersetzt, die keiner konservativen Behandlung mehr zugänglich sind, bei denen zum Zeitpunkt der Operation noch keine irreversible, optisch relevante Eintrübung oder Vernarbung der Wirtshornhaut stattgefunden hat. Die häufigsten Indikationen für einen gesonderten Ersatz der beiden inneren Schichten der Hornhaut – der Descemetmembran

und des Endothels – sind die Fuchs'sche Endotheldystrophie, Formen der bullösen Keratopathie und Endothelversagen nach bereits durchgeführter perforierender Keratoplastik, DSAEK (Descemet Stripping Automated Endothelial Keratoplasty) oder traumatisch durchgeführter Kataraktoperation.

Dieses sind die am häufigsten auftretenden Hornhauterkrankungen in Industrienationen und sie nehmen durch die höhere Lebenserwartung der Bevölkerung weiter zu. Bei dieser Technik der Keratoplastik wird beim Empfänger eine Deszemetorhexis – das Entfernen der Descemetmembran und des erkrankten Hornhautendothels – durchgeführt. Diese beiden Hornhautschichten werden danach durch ein Transplantat ersetzt, das aus Descemetmembran und gesundem Endothel eines Spenders besteht. Die Trübung und Dekompensation der Hornhaut, die durch pathologische Veränderungen in der Endothelschicht verursacht wurden, bilden sich nach der Transplantation der beiden unteren Hornhautschichten wieder zurück. Durch die DMEK wird nicht nur die Funktionalität des Hornhautendothels, sondern auch die Anatomie der Augenhornhaut korrekt wiederhergestellt. Die Vorteile dieser Operationstechnik gegenüber der konventionellen perforierenden Hornhauttransplantation sind eine schnellere und bessere Wiederherstellung der Sehschärfe, da nicht die komplette Hornhaut transplantiert wird, sondern nur die betroffene Endothelzellschicht auf der Descemetmembran. Weitere Vorzüge sind eine signifikante Minderung des Astigmatismus sowie eine Verringerung des Risikos immunologischer Abstoßungsreaktionen, da das Hornhautgewebe nicht durchblutet wird und die allogenen Hornhauttrans-

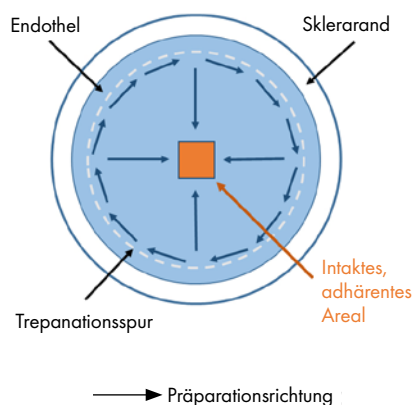


Abb. 1: Prinzip des haftenen vorpräparierten Transplantats (Skizze des Präparationsschemas).

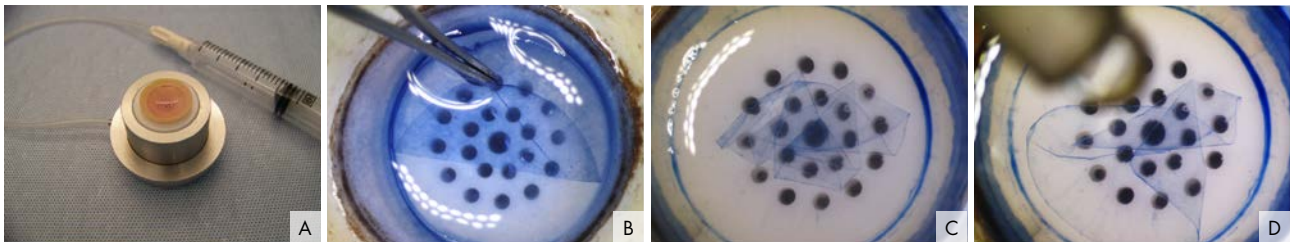


Abb. 2: Herstellungsprozess des vorpräparierten Hornhauttransplantats für DMEK. (A) Fixierung der Korneoskleralscheibe auf einem Stanzblock und Platzieren des Stanzblocks unter dem Stereomikroskop. (B) Abpräparieren der Deszemetmembran entlang der Trepanationsspur von vier Seiten unter Verwendung einer DMEK-Präparationspinzette. (C) Ein kleines Areal in der Mitte der Hornhaut bleibt intakt. (D) Zurücklegen der Deszemetmembran auf das Stroma durch Auftropfen des Entquellungsmediums.

plantate generell eine geringe Immunogenität besitzen. Bei der gesonderten Transplantation der beiden unteren Hornhautschichten wird das Risiko von immunologischen Abstoßungsreaktionen noch weiter reduziert, da deutlich weniger antigenes Material vom Spender auf den Empfänger übertragen wird.

Da die sehr dünnen Transplantate in die Vorderkammer des Auges durch kleine Einschnitte am Limbus eingebracht werden, wird auch das Risiko von schwerwiegenden intra- und postoperativen Komplikationen, wie explosive Blutungen, Infektionen und Wundheilungsstörungen, deutlich verringert. Darüber hinaus ist der chirurgische Eingriff minimal und es gibt keine nahtassozi-

ierten Komplikationen. Die nur etwa 15 µm dicken Transplantate für DMEK werden in der Regel manuell erzeugt. Bisher werden in Deutschland die meisten Transplantate für DMEK von den Ophthalmochirurgen kurz vor Beginn des Eingriffs im Operationssaal präpariert. Dabei kann jedoch der Herstellungsprozess der Transplantate schlecht standardisiert oder validiert werden. So werden zum Beispiel sowohl in der Organkultur als auch hypotherm gelagerte Hornhäute verwendet und unterschiedliche Präparationstechniken angewandt. Dichte, Morphologie und Vitalität der Endothelzellen können nach dem Abschluss der Präparation in der Regel ebenso wenig kontrolliert werden, wie die mikrobiologische



Abb. 3: Sicherer Versand im praktischen Versandbehälter.

Reinheit. Die Qualität der so hergestellten Transplantate bleibt damit letztendlich ungewiss. Außerdem birgt der Herstellungsprozess ein relativ hohes Misserfolgsrisiko, was zum problematischen Verlust des Spendergewebes führen kann.

Durch die Verlagerung der Herstellung des Hornhauttransplantats für die DMEK in eine Gewebe- beziehungsweise Hornhautbank wird der Herstellungsprozess zweifellos verbessert und so die Transplantate für den Patienten sicherer und qualitativ hochwertiger gemacht. Die Vorpräparation der Transplantate in der Gewebebank verringert das Verschnittisiko im OP, das Risiko postoperativer Komplikationen und reduziert Zeit sowie Kosten des operativen Eingriffs signifikant. Die Vorgehensweise erleichtert und vereinfacht die DMEK auch für den Chirurgen wesentlich.

Das Ziel der Deutschen Gesellschaft für Gewebetransplantation (DGFG) war daher die Etablierung der Herstellung vorpräparierter Hornhauttransplantate für die DMEK in einer Gewebebank, um vorgenannte Defizite und Risiken auszuschließen. Dabei ist

die Herstellung der vorpräparierten Transplantate in einer Gewebebank jedoch auch mit Herausforderungen verbunden. Im Vordergrund stehen hierbei die Gewährleistung einer optimalen Qualitätskontrolle eines jeden vorpräparierten Transplantats und die Gestaltung eines sicheren Transports der sehr dünnen und sensiblen Transplantate zum Transplantationszentrum.

## Methode

Um die oben genannten Probleme zu lösen, haben wir das Konzept eines haftenden vorpräparierten Transplantats entwickelt (Abb. 1). Für die Herstellung des vorpräparierten Hornhauttransplantats für DMEK wird die „humane Augenhornhaut, organkultiviert, DGFG“ (bereits erteilte Genehmigung PEI.G.11566.01.1) im ersten Präparationsschritt auf einem Stanzblock (Abb. 2A) mit der Endothelseite nach oben fixiert und mittels einer Hornhautstanze von der Endothelseite leicht angestanz (nicht perforierend trepaniert). Der von der DGFG benutzte Standarddurchmesser des Trepans beträgt 8,5 mm, auf Wunsch können aber auch andere Größen verwendet werden. Zur Visualisierung der Trepanationsspur erfolgt nach dem Anstanzen eine Trypanblaufärbung. Danach wird die in der Peripherie durchtrennte Deszemetmembran von der Trepanationsspur beginnend so abpräpariert, dass ein kleines Areal in der Mitte intakt bleibt, das heißt nicht vom Hornhautstroma getrennt wird (Abb. 2B und 2C). Nach dem Abschließen der Präparation wird die Deszemetmembran mit den Endothelzellen durch Auftropfen des Entquellungsmediums zurück auf das Stroma gelegt (Abb. 2D). Das intakt gebliebene Areal fixiert das vorpräparierte Transplantat auf der Innenfläche der Hornhaut. Die Adhäsionskräfte zwischen den abgelösten Bereichen der Deszemetmembran und dem Hornhautstroma sind dabei ausreichend stark, um eine gründliche Qualitätskontrolle zu ermöglichen und einen sicheren Transport der vorpräparierten Transplantate zu gewährleisten. Die Ermittlung von Endothelzelldichte, -morphologie und -vitalität erfolgt sowohl vor als auch unmittelbar nach der Präparation sowie vier Tage nach der Herstellung zur finalen Freigabe. Zudem findet vor Versand (Abb. 3 zeigt das Versandgefäß) der vorpräparierten Transplantate eine mikrobiologische Kontrolle statt. Das endgültige Ablösen des Transplantats erfolgt unmittelbar vor dem Beginn des operativen Eingriffs und wird von dem Ophthalmochirurgen selbst durchgeführt.

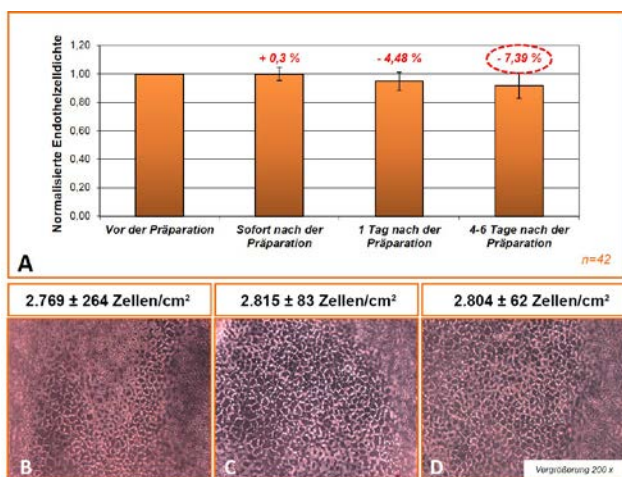


Abb. 4: Ergebnisse der Qualitätskontrolle bei der Endothelzellzählung. (A) Verlauf der Endothelzelldichte nach der Präparation (in Prozent). (B) Morphologie der Endothelzellen vor, (C) einen Tag nach und (D) vier Tage nach der Präparation.

## Ergebnisse

Zur Entwicklung des hier vorgestellten Präparationsverfahrens wurden für die Transplantation ungeeignete organkultivierte Hornhäute verwendet, die eine noch ausreichende Endothelzelldichte und -vitalität aufwiesen. Die Untersuchung der Endothelzelldichte, -morphologie und -vitalität zeigte dabei, dass die Endothelzelldichte unmittelbar nach der Präparation lediglich um 0,02 Prozent und innerhalb

eines Tages danach um weniger als fünf Prozent abnimmt. Auch vier bis sechs Tage nach Herstellung war der Endothelzellverlust mit etwa acht Prozent akzeptabel (Abb. 4A bis 4D).

Diese Ergebnisse haben letztlich das Erlangen einer nationalen Genehmigung für das Inverkehrbringen der vorpräparierten Transplantate in Deutschland ermöglicht. Im Dezember 2015 hat das Paul-Ehrlich-Institut der DGFG die Genehmigung für die Gewebezubereitung „Vorpräpariertes Hornhauttransplantat für DMEK“ (PEI.G.11785.01.1) erteilt. Seitdem sind bereits mehr als 100 vorpräparierte Transplantate, kurz LaMEK, an verschiedene Zentren abgegeben worden. Die Rückmeldungen der Transplanteure sind dabei überwiegend sehr positiv.

### Fazit und Ausblick

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die vorpräparierten Transplantate für DMEK in der Gewebekbank mit einer Erfolgsquote von  $\geq 95$  Prozent und einem mittleren Endothelzellverlust von weniger als zehn Prozent hergestellt werden können. Die Vorpräparation der Transplantate in einer Gewebekbank erlaubt eine Herstellung unter Reinraumbedingungen und eine Standardisierung des Herstellungsprozesses. Dadurch und durch die mikrobiologischen Kontrollen nach der Herstellung sowie der Qualitätskontrolle jedes lamellären Transplantats vor Versand, werden nur Transplantate mit ausgezeichneter Qualität abgegeben. Die mit einer weniger hohen Qualität eines Transplantats möglicherweise verbundenen, postoperativen Komplikationen können so minimiert und Zeit und Kosten des operativen Eingriffs signifikant reduziert werden. Das Ablösen des Transplantats ist einfach und kann direkt vor dem operativen Eingriff durchgeführt werden. Der Einsatz der derart vorpräparierten Hornhauttransplantate für die DMEK macht die Anwendung im OP für den Ophthalmochirurgen einfacher und den Eingriff für den Patienten damit auch sicherer. Zukünftig soll die Handhabung der empfindlichen Transplantate im Operationssaal noch leichter gemacht werden. Dazu werden derzeit Untersuchungen zum Versand der vorpräparierten Hornhautlamellen bereits in den Implantationskartuschen durchgeführt. Die abschließenden Präparationsschritte sollen damit auch unter Reinraumbedingungen in der Gewebekbank durchgeführt werden. Dabei muss jedoch sichergestellt werden, dass die finale Qualität des Transplantates der herkömmlichen Verfahrensweise entspricht oder sie übertrifft. Das Ziel der DGFG ist es, auf Grundlage dieser Ergebnisse, auch für dieses Versandverfahren eine Genehmigung durch das PEI zu erhalten.

---

**Dr. Nicola Hofmann**

Deutsche Gesellschaft für

Gewebetransplantation gGmbH, Hannover

E-Mail: nicola.hofmann@gewebenetzwerk.de