

Hornhauttransplantation – eine Erfolgsgeschichte „ohne Ende“

Ein Bericht zur Klinik und Forschung im Bereich der Hornhauttransplantation

K. Engelmann^{1,2,3}, J. Teichmann^{4,2}

1. Was ist Gewebemedizin?

1.1. Was ist der Unterschied zwischen einem Gewebe wie der Hornhaut des menschlichen Auges und einem Organ?

Ein Organ hat einen in sich geschlossenen Kreis an Leitungsbahnen und

Gefäßen und kann nur so lebensfähig sein. Die Leitungsbahnen sind dabei zentralisiert und verzweigen sich dann im Organ. Gewebe dagegen sind über individuelle Gefäßnetze durchblutet (zum Beispiel Haut) oder aber auch nicht durchblutet (zum Beispiel Hornhaut des Auges, Knorpel).

Darüber hinaus bestehen Organe aus verschiedenen Geweben. Hier muss das Herz-Kreislauf System des Verstorbenen bis zur Entnahme des Organs aufrechterhalten werden. Die großen Leistungen der Organtransplantation seien unbenommen – hier wird am Beispiel der Hornhaut (Kornea) des menschlichen Auges darge-

stellt, wie erfolgreich die Transplantation von Geweben sein kann.

Die Kornea begrenzt das Auge nach außen und bildet das klare „Fenster“ für den Lichteinfall in das Augen-

¹ Klinik für Augenheilkunde
Klinikum Chemnitz gGmbH
Flemmingstraße 2, 09116 Chemnitz
E-Mail: k.engelmann@skc.de,
augenklinik@skc.de

² Institut für Anatomie, Medizinische
Fakultät Carl Gustav Carus
Technische Universität Dresden
Fetscherstraße 74, 01307 Dresden
E-Mail: k.engelmann@skc.de

⁴ Leibniz-Institut für Polymerforschung
Dresden e.V., Max Bergmann Zentrum
für Biomaterialien, Institut für
Biofunktionelle Polymermaterialien
Hohe Straße 06, 01069 Dresden
E-Mail: teichmann@ipfdd.de

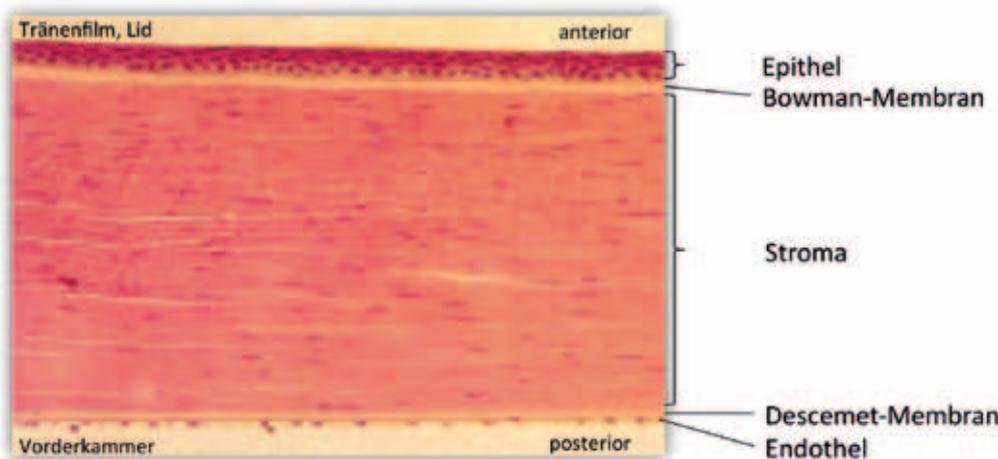


Abb. 1: Die Abbildung zeigt die anatomische Struktur einer menschlichen Hornhaut im histologischen Schnitt (© Anatomisches Institut, Universitätsklinikum Dresden)

innere. Über komplexe Reaktionen durch die Zellen des Augeninneren (Netzhaut, Retina) entsteht ein Bild im Gehirn des Menschen. Das Auge wird aufgrund seiner Komplexität auch als ein vorgelagerter Anteil des Gehirns beschrieben. Die Bildentstehung – das Sehen des Menschen – ist angewiesen auf eine vollständig durchsichtige Kornea ohne Verkrümmung oder Narben. Durch ihre natürliche Eigenschaft, also die Durchsichtigkeit oder Transparenz der gesamten Hornhaut, unterscheidet sich die Kornea grundsätzlich von anderen Geweben des menschlichen Körpers. Nur in der Hornhaut ist das Bindegewebe (Hornhautstroma) durchsichtig, ganz im Gegenteil zum Beispiel zur Haut. Diese Transparenz wird durch einen sehr strukturierten Aufbau der bindegewebigen Lamellen des Hornhautstromas bewirkt (Abb. 1). Für die Durchsichtigkeit ist die Kornea außerdem frei von Gefäßen und wird indirekt durch die Tränenflüssigkeit ernährt und besonders auch über das Kammerwasser, das im Inneren des Auges produziert wird. Die Kornea wird nach außen durch ein regenerierbares mehrschichtiges Epithel begrenzt. Die wissenschaftliche Grundlagenforschung hat sich in der vergangenen Dekade intensiv mit der Regeneration des cornealen Epithel und den daran beteiligten adulten Stammzellen beschäftigt und basierend hierauf wurden Methoden zur Epithelstammzelltransplantation bis zur klinischen Anwendung entwi-

ckelt. Damit wurde am Auge eine der ersten erfolgreichen autologen Stammzelltransplantationen etabliert (Li 2003, Chen 2000, Pelligrini 2013).

Nach Innen ist die Hornhaut durch das einschichtige Endothel begrenzt. Das Endothel ist bei Wundheilungsstörungen oder Erkrankungen nur geringfügig regenerierbar, gilt also als ein postmitotisches Gewebe. Postmitotisch bedeutet, dass Zellen sich nicht mehr durch Zellteilung erneuern können und damit kann ein solches Gewebe sich nicht von allein „ersetzen“ bzw. regenerieren. Bei der in Deutschland am häufigsten Erkrankung der Kornea, der Hornhautdystrophie (Fuchs'sche Endotheldystrophie), oder bei der Dekompensation des Endothels nach komplizierter Vorderabschnittschirurgie, ist daher eine natürliche Regeneration nicht zu erwarten. Zudem ist ein Endothelzellverlust auch unter normalen Bedingungen mit zunehmendem Lebensalter und auch nach einer erfolgreichen Hornhauttransplantation zu beobachten (Bourne 1978, 1994). Zusammen mit der Erkrankung des Keratokonus, bei der es zu einer Vorwölbung des Hornhautstromas kommt, stehen die genannten Erkrankungen in Industrienationen bei der Hornhauttransplantation mit mehr als einem Viertel aller Transplantationen im Vordergrund (Park 2105). Die klassische Methode, um eine nicht mehr funktionstüchtiges Endothel der Hornhaut zu ersetzen, ist die perforie-

rende Keratoplastik (durchgreifende Hornhauttransplantation). In der jüngeren Zeit wurde die Zelltransplantation des Hornhautendothels (Endothelkeratoplastik) zunehmend populär, bei der nur der hauchdünne Zellrasen des Endothels samt Basel Lami transplantiert wird (lamelläre Keratoplastik). Diese Methode hat dazu geführt, dass die lamellären Techniken innerhalb der letzten Jahre von 5 auf 58% in den USA anstiegen, während die perforierende Keratoplastik von 95 % auf 58 % zurückging (Park 2015). Für beide Methoden ist die Spende einer Hornhaut durch einen Verstorbenen notwendig.

1.2. Wie wird ein Gewebe transplantiert? – Die Hornhauttransplantation (Keratoplastik) als Beispiel

Die perforierende oder penetrierende Keratoplastik ist eine der ältesten Transplantationen der Medizin. Die Hornhaut war vor bereits über 100 Jahren das erste erfolgreich transplantierte Gewebe (Ardjomand 2007). Es folgte eine Reihe von Experimenten mit Tieren, bis die Grundlagen für die perforierende Keratoplastik schließlich 1872 von Power entwickelt wurden. Berücksichtigt wurde bereits damals die Verwendung frischen homologen Gewebes, die Schonung des Endothels, eine sorgfältige Nahttechnik und die Vermeidung von Infektion. Mit Erweiterung der Kenntnisse über Anatomie und Physiologie der Kornea wurden zudem verbesserte Voraussetzungen für die Transplantation einer Hornhaut geschaffen. Die erste erfolgreiche perforierende Keratoplastik der Weltliteratur, seiner Zeit als Hornhautpfropfung bezeichnet, wurde 1906 von Eduard Zirm (1863 – 1944) publiziert. Einem 45-jährigen Patienten (Alois Glogar), der nach Kalkverätzung beidseitig durch Hornhautnarben erblindet war, wurde eine Kornea von einem Auge eines 11-jährigen Spenders übertragen (Zirm 1906). Erfolgreiche Transplantationsergebnisse waren allerdings in der ersten Hälfte des letzten Jahrhunderts eher die Ausnahme als die

Regel. Inzwischen haben jedoch Verbesserungen der chirurgischen Techniken, die Einführung neuer Nahtmaterialien und die Verwendung hochvisköser Substanzen ein traumatisch bedingtes Transplantatversagen praktisch eliminiert. Während das Verständnis für ein erfolgreiches Hornhauttransplantat vor 100 Jahren noch fehlte, haben sich sowohl die Operationstechniken als auch die konservative Therapie zum Teil grundlegend geändert (Ardjomand 2007). Abb. 2 zeigt eine erfolgreich durchgeführte Keratoplastik.

Kaum eine andere Transplantation weist so viele Besonderheiten wie die Keratoplastik auf. Die Kornea ist nicht nur das erste erfolgreich übertragene humane Gewebe, sie nimmt auch bezüglich der Häufigkeit eine Spitzenposition ein. Bis zu 46.513 Hornhauttransplantationen (im Jahr 2014) werden jährlich allein in den USA vorgenommen (Park 2014, Pleyer, 2003a, b; Pleyer und Bertelmann, 2005). Die perforierende Keratoplastik ist heute ein Routineeingriff zur Verbesserung der Sehfähigkeit bei zahlreichen Hornhauterkrankungen. Sie ist heute auch die häufigste Übertragung humanen Gewebes. In Deutschland werden laut dem Keratoplastikregister der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG), welches seit 2002 geführt wird, etwa bis zu 4.800 Keratoplastiken pro Jahr durchgeführt, weltweit sind es ca. 100.000 Keratoplastiken pro Jahr (Reinhard und Sundmacher, 2000; Pleyer, 2003a;). Im Gegensatz zur Transplantation von Organen wird die gefäßlose Hornhaut seltener abgestoßen. Dennoch gibt es Patienten und Erkrankungen, bei denen mit einer Immunreaktion und Abstoßung des Transplantats gerechnet werden muss (Pleyer 2009). Diese Patienten benötigen eine besondere Betreuung.

Heutzutage wird die Hornhauttransplantation in der Regel in einer Vollnarkose durchgeführt. Beim Patienten wird mit speziell entwickelten rotierend schneidenden Trepanen („rundes Messer“) zumeist unter

Zuhilfenahme einer Vakuumeinrichtung die eingetrübte Hornhaut herausgeschnitten und in diese Lücke wird das ebenfalls kreisrund zurecht geschnittene Spendergewebe eingepasst. Der Chirurg näht das zarte Gewebe mit fortlaufenden Nähten ein, die erst nach ca. einem Jahr entfernt werden (Abb. 2). Bis heute ist man noch auf die „Handarbeit“ des Chirurgen angewiesen. Auch kann die natürliche Hornhaut bis heute noch nicht durch eine künstliche ersetzt werden, auch wenn in extremen Krankheitsfällen als Ausnahme sogenannte Keratoprothesen entwickelt wurden. Die Hornhauttransplantation ist nur deshalb so erfolgreich, weil die Spendebereitschaft der Bevölkerung erfreulich gut und weitgehend auch konstant ist. Dennoch kann nach einer bereits vor Jahren durchgeführten Analyse der Bedarf an Spenderhornhäuten in Deutschland nicht vollständig gedeckt werden und es sind organisatorische Strategien auch bei den Kostenträgern gefragt, um die Versorgung zu verbessern (Seitz 2004, Sundmacher 2001).

1.3. Kann eine Hornhaut vom Körper des Empfängers abgestossen werden? Welche Unterschiede bestehen zu Organen?

Im Gegensatz zu Organen wird die Hornhaut nicht so häufig abgestoßen. Ein Grund hierfür ist das Fehlen von Blutgefäßen. Abstoßungsreaktionen werden unter anderem über Zellen vermittelt, die durch Blutgefäße an den Ort des Transplantats kommen, aber auch über andere zelluläre Mechanismen, da das Auge über eine sehr spezielle Immunantwort verfügt. Eine Abstoßung einer Spenderhornhaut ist somit besonders dann möglich, wenn es zum Beispiel zu Einsprossung von Gefäßen in die erkrankte Hornhaut des Patienten gekommen ist. Derartige Veränderungen passieren zum Beispiel nach Entzündungen, speziell, wenn Herpesviren beteiligt sind (Abb. 3) Die häufigste Ursache für ein Transplantatversagen ist somit immer noch die akute immunologische Transplantatabstoßung. Die

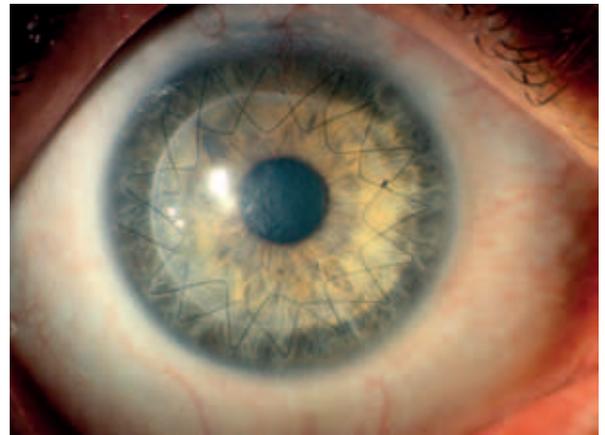


Abb. 2: Die Abbildung zeigt ein mit einer doppelt-fortlaufenden 10/0 Nylon-Naht adaptiertes Hornhauttransplantat
© eigenes Archiv



Abb. 3: Die Abbildung zeigt Hornhautnarben und Gefäß-einsprossung nach einer Herpesvirenerkrankung. Es besteht ein hohes Risiko für eine Transplantatabstoßung im Falle einer Keratoplastik
© eigenes Archiv

Häufigkeit der akuten immunologischen Transplantatreaktion wird in unterschiedlichen Studien zwischen 5 % und 60 % angegeben. Diese großen Schwankungen beruhen darauf, dass Studien und Untersuchungen zu diesem Themenkreis überwiegend mit kleinen Patientenzahlen durchgeführt werden. Groß angelegte Studien fehlen hierzu. Relativ gesichert und durch retrospektive Untersuchungen entsprechend einheitlich belegt ist allerdings die sehr hohe Rate der Abstoßungen (nämlich 50 – 60 %) bei Patienten mit einem hohen Risiko für die Abstoßung. Hier handelt es sich meistens um retrospektive Untersuchungen der 2- bis 5-Jahres-Überlebensrate des Transplantates (zum Beispiel Übersicht bei Wachtlin 2003, Volker-Dieben 2003).

Diese Patienten müssen nach der Hornhauttransplantation für einige



Abb. 4: Dargestellt ist das Auge eines Patienten mit dem seltenen Fall eines sekundären Keratokonus und vaskulisierten Hornhautnarben nach Chlamydienkeratitis (a). 4 Tage nach Keratoplastik zeigte sich eine schwere entzündliche Reaktion. Es besteht die Gefahr der Transplantatabstoßung (b). 8 Monate nach Beginn der Immunsuppression mit Mycophenolat Mofetil (MMF) zeigte sich ein deutlich sichtbarer Rückgang der Hornhautvaskularisation (c). © eigenes Archiv (präsentiert in Promotionsarbeit M. Soares Wulff)

Monate, selten lebenslang, mit einem das Immunsystem supprimierendem Medikament behandelt werden, welches das Immunsystem in seiner Reaktionsfähigkeit unterdrückt und damit die Abstoßung eines Gewebes vermeiden hilft oder zumindest die Gefahr deutlich reduziert (Bertelmann 2013). Dagegen müssen Organ-Transplantierte derartige Medikamente lebenslang einnehmen. Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine Abstoßung des Hornhautgewebes erhalten – wenn möglich – auch eine Spenderhornhaut, die einen ähnlichen „Gewebe-typ“ wie der Patient selber aufweist. Jeder Mensch ist durch ganz spezifische Gewebemerkmale charakterisiert, die sogenannten HLA-Antigene der Klasse I und II (Human-Leukocyte-Antigens). Diese Merkmale befinden sich auch in der Hornhaut des Menschen und werden dort von bestimmten Zellen exprimiert, zum Beispiel den Langerhans'schen Zellen. Im Falle eines hohen Risikos wird für den Patienten deutschlandweit eine Gewebe-typisierte Spenderhornhaut mit möglichst hoher Übereinstimmung der HLA-Merkmale gesucht. Die Gefahr einer Transplantatabstoßung ist dann deutlich reduziert (Reinhardt 2003). Die Wartezeit auf ein solches Transplantat liegt derzeit bei bis zu einem Jahr, während Patienten für ein nicht-typisiertes Transplantat in Deutschland nur bis zu sechs Monaten warten müssen (zum Beispiel Jahresbericht der DGFG). Abb. 4 zeigt, wie gut sich ein Befund nach Keratoplastik unter einer immunsuppressiven Behandlung entwickeln kann.

Klinisch lässt sich der epitheliale von dem stromalen und dem endothelia-

len Typ der Abstoßung unterscheiden. Die epitheliale Form der Abstoßung ist selten, wird daher auch häufig klinisch übersehen. Epithel-Wundheilungsstörungen initial nach der Keratoplastik können ein Ausdruck dieser Form sein. Die endotheliale Form ist die sicherlich am häufigsten klinisch Erkennbare. Bemerkenswert ist hier die Entwicklung einer „Abstoßungslinie“ am Endothel, der Khodadoust-Linie, bestehend aus absterbenden Endothelzellen und Makrophagen. Sie markiert die Abstoßungsgrenze im Gewebe. Die gängigen Therapiestrategien richten sich in erster Linie auf die Vermeidung dieser Form der Transplantatabstoßung.

Nach Pleyer (2003b) ist die Indikation zur systemischen immunsuppressiven Therapie in drei Gruppen unterteilbar:

1. hohes Risiko einer Immunreaktion: eine über zwei Quadranten und tief vaskularisierte Empfängerhornhaut, limbusnahes Transplantat, wiederholte Re-Keratoplastik (drei Transplantate an einem Auge oder vier Transplantate beidseits);

2. ausgeprägtes trockenes Auge: trockenes Auge jeglicher Ätiologie, Limbus-Stammzelldefizienz mit labilem Oberflächenepithel der Kornea, genetisch-bedingt verändertes Konjunktiva- und Hornhautepithel mit Immundefizienz und hohem Superinfektionsrisiko wie zum Beispiel bei endogenem Ekzem oder Neurodermitis;

3. systemische (Auto-) Immun-erkrankung: schwere rheumatoide Arthritis, ausgeprägtes endogenes Ekzem wie Neurodermitis, Psoriasis, Rosacea.

1.4. Wie läuft eine Gewebespende ab?

Spenderhornhäute stammen von verstorbenen Menschen, die zu ihrer Lebenszeit eine Einwilligung zur Verwendung Ihrer Hornhaut (zum Beispiel über einen Organspenderausweis) gegeben haben. Es ist aber auch möglich, dass Angehörige informiert wurden und somit nicht zwingend eine schriftliche Einwilligung des Verstorbenen vorliegen muss. Erforderlich bleibt aber immer die Zustimmung durch einen engen Angehörigen. Dieses Vorgehen ist in Deutschland und Europa gesetzlich geregelt. Nach der Entnahme einer Spenderhornhaut, die unter möglichst sterilen Bedingungen erfolgt, werden die Augen der Verstorbenen so gut mit Prothesen versorgt, dass kaum ein Unterschied zur natürlichen Situation zu erkennen ist. Die Spenderhornhäute werden auf schnellstem Weg in eine Hornhautbank gebracht und dort dem Prozess der Organkonservierung unterworfen, der ebenfalls in Deutschland streng geregelt ist durch die Richtlinien der Deutschen Hornhautbanken, die gerade erst im Jahr 2014 unter Federführung der Gemeinschaft Deutscher Hornhautbanken erneuert wurden durch die Bundesärztekammer (BÄK-Richtlinie 2014). Eine Spenderhornhaut kann bis zu 72 Stunden nach dem Tode eines Menschen entnommen werden. In geeigneten Aufbewahrungslösungen kann die Spenderhornhaut für ca. vier Wochen gelagert werden. Der genaue Ablauf wird im folgenden Abschnitt beschrieben. Um die inzwischen hohen Anforderungen durch die gesetzlichen Vorgaben gut ein-

halten zu können, haben sich viele Chirurgen, Kliniken und Hornhaut- oder Gewebekbanken mit der Deutschen Gesellschaft für Gewebetransplantation zusammengeschlossen, um im Netzwerk eine Qualitäts-gesicherte Versorgung der Patienten zu gewährleisten (siehe hierzu auch Beitrag in diesem Heft von Herrn Tino Schaft „Gewebspenden gesucht“).

1.5. Wie wird eine Spenderhornhaut bis zur Transplantation aufbewahrt und gibt es Regularien dazu?

Die Organkonservierung von Spenderhornhäuten ist Mitte der 1980er-Jahre in Europa entwickelt worden. Es entstanden Hornhautbanken, in denen das Gewebe nach der Spende aufbereitet und aufbewahrt wurde. Während in Europa und auch Deutschland vorwiegend eine sogenannte „Warm“-Kultivierung für ca. vier Wochen zwischen 31 und 37 °C erfolgt, wird in den USA die Kurzzeitkonservierung für maximal eine Woche bei niedrigen Temperaturen (ca. 6 °C) bevorzugt (Pels 2008; Armitage 2011). Die Methoden sind in den Hornhautbanken Europas stark angeglichen, insbesondere zur Sicherung der Qualität. So muss seit Einführung des Gewebegesetzes im Jahr 2007 sichergestellt werden, dass bestimmte Kriterien im Umgang mit Gewebe für Patienten eingehalten werden. So darf beispielsweise kein Keim durch eine Spenderhornhaut auf den Empfänger übertragen werden. Dazu sind aufwendige mikrobiologische Untersuchungen auch des Spenderblutes notwendig. Dieser Aufwand hat sich gelohnt, denn Komplikationen wie die Übertragung von Keimen oder anderen Erkrankungen auf den Empfänger werden seit Jahren in der Augenheilkunde nicht beobachtet. Um auch Informationen zum Stand der Spende und Organkultivierung zu bekommen, haben sich die Hornhautbanken in Europa und Deutschland für Konferenzen, Datenaustausch und Berichterstattungen zusammengeschlossen (European Eye Bank Association (EEBA), Gemeinschaft Deutscher Hornhautbanken). In den vergange-

nen Jahren sind durch die europaweite Umsetzung des Gewebegesetzes so große Anforderungen an die Hornhautbanken gestellt worden, sodass der hohe behördliche und gesetzliche geforderte Aufwand unter anderem zur notwendigen Sicherstellung der Qualität von Spendergewebe heute von Augenärzten und Personal in Augenkliniken oder Augenbanken kaum oder nicht mehr geleistet werden kann. So ist in Deutschland eine weitere Organisationsform entstanden, die Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation (DGFG), vormals DSO-G.

Die DGFG übernimmt für eine ganze Anzahl von Hornhautbanken und Kliniken die Organisation der Spenderhornhaut-Gewinnung und Prozessierung und stellt die Versorgung der Chirurgen und Patienten mit Hornhauttransplantaten deutschlandweit sicher (siehe auch Bericht Tino Schaft in diesem Heft). So hat mit der Gewebegesetzgebung eine neue Ära im Bereich der Gewebemedizin begonnen, die zunächst sicherstellte, dass die gesetzlichen Vorgaben im Sinne eines hohen Patientenschutzes eingehalten werden und eine deutschlandweite, Wartelistenbasierte Verteilung von Spenderhornhäuten erfolgt. Die kommende Herausforderung an Hornhautbanken und Chirurgen wird es nun sein, die Qualität der Gewebe, auch die der Spenderhornhäute zu verbessern (sogenanntes „Tissue Engineering“). So ist denkbar, durch geeignete Methoden das Transplantat- oder Endothelüberleben in der Organkultur zu verbessern, da immer noch bis zu 40 % der Spenderhornhäute nach Berichten der Hornhautbanken wegen einer ungenügenden Endothelzell-dichte (gefordert sind mindestens 2.000 Zellen/mm²) verworfen werden. Auch Manipulationen auf zellulärer Ebene gerade der postmitotischen Endothelzellen sind denkbar (Fuchsluger 2011, Valtink 2012), auch werden zelluläre Mechanismen zur Prävention der Abstoßung erforscht. Wie die Forschung auf die klinische Anwendung Einfluss nehmen kann oder bereits genommen hat, wird im

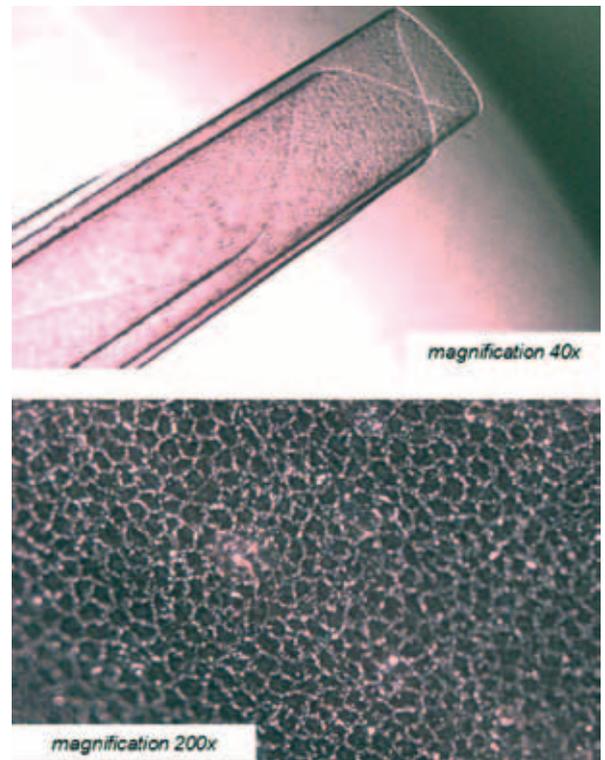


Abb. 5: Pre-Cut-Technik: Die dünne Endothellamelle rollt sich nach Präparation ein (a). Das Endothel zeigt nach der Präparation einen guten morphologischen Zustand. (Quelle: I. Majore, DGFG)

Folgenden an zwei Beispielen im Bereich des Tissue Engineering vorgestellt.

1.6. Welche speziellen und neueren Möglichkeiten der Keratoplastik gibt es? – Beispiel Endotelkeratoplastik

Wie bereits oben ausgeführt, können sich die Endothelzellen einer menschlichen Hornhaut nicht oder nur wenig teilen (Abb. 5). Bei Erkrankung oder Verlust des Endothels ist daher eine Transplantation die einzige Therapieoption. Das korneale Endothel ist als dünne Lamelle, bestehend aus der endothelialen Zellschicht mit seiner Basallamina (Descemet Membran) oder einem dünnen Stromaanteil, dank technischer und wissenschaftlicher Fortschritte inzwischen transplantierbar. Hierbei wird die Endothelzellschicht von einer Spenderhornhaut entweder manuell oder mittels einer Schneidtechnik, zum Beispiel mit dem Femtosekundenlaser, entfernt und dem Patienten transplantiert. Diese Methode hat sich in den letz-

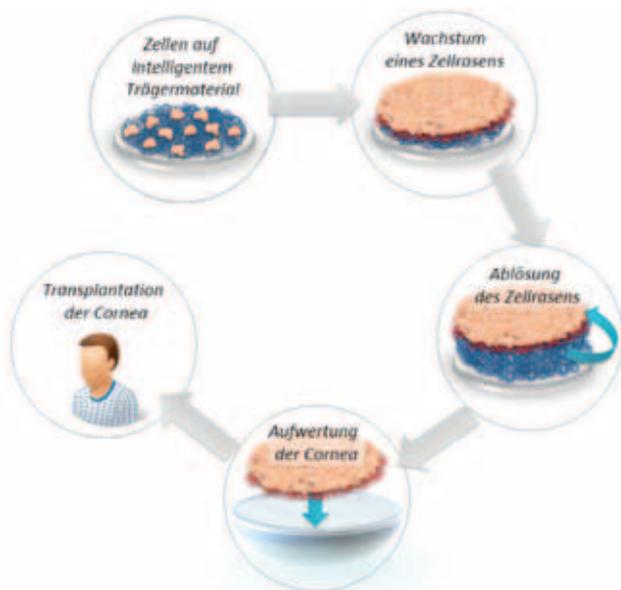


Abb. 6: Theoretischer Ablauf einer Endothelkeratoplastik mit angezüchteten cornealen Endothelzellen © J. Teichmann

ten Jahren zum Beispiel bei Endothelerkrankungen durchgesetzt (Dapanol, Eberwein). Bestehen zusätzlich Narben in der Hornhaut, muss weiterhin die gesamte Hornhaut transplantiert werden. Diese neue Methode hat viele Vorteile, so erholt sich zum Beispiel die Sehfähigkeit des Patienten schneller und das komplizierte Einnähen der Hornhaut wird dem Chirurgen erspart (zur Übersicht siehe Nanavaty 2014). Daten aus einem australischen Register weisen allerdings darauf hin, dass nach wie vor die perforierende Keratoplastik langfristig sehr erfolgreich gegenüber den lamellären Techniken ist und ein besseres Transplantatüberleben zeigt. In dieser Studie wurden 13.920 perforierende Keratoplastiken mit 858 lamellären Keratoplastiken und 2.287 Endotheltransplantationen verglichen (Coster 2014). Solche Daten weisen auch auf die große Lernkurve in der Mikrochirurgie mit dem Handling einer feinen Zelllamelle hin. Dennoch zeigen die Daten, dass derartige Probleme zukünftig zu lösen sind, um die Qualität der lamellären Techniken im Langzeitverlauf zu verbessern. Der wohl größte Anspruch ist dabei die Vermeidung des doch erheblichen Endothelzellverlustes der winzigen Transplantate, die bisher per Hand und einer Art Spritze in das Auge des Patienten eingebracht werden

müssen (Danashgar, Gimeno Patel). Immer noch werden hohe Endothelzellverluste durch die Handhabung der dünnen Zellschicht beschrieben, die sechs Monate nach der Transplantation signifikant hoch im Vergleich zur perforierenden Keratoplastik sein können (Cheng 2009). Dieser starke anfängliche Endothelzellverlust scheint sich mit der Zeit postoperativ zu relativieren und ist nach zwei Jahren im Vergleich lange nicht mehr so hoch, beträgt aber immer noch ca. 39 % nach der Endothelkeratoplastik (Feng 2014). Eine große Herausforderung ist die Verbesserung der Präparation von Spenderhornhäuten und eine sinnvolle Entwicklung ist die Herstellung von sogenanntem „Precut“-Gewebe. Dabei wird die Endothellamelle durch geschultes Personal in der Hornhautbank soweit vorbereitet und vom Hornhautstroma abgelöst, dass der Chirurg diese Tätigkeit nicht mehr im OP-Saal allein durchführen muss. Diese Methode zeigt gute Ergebnisse (Ragunathan 2014, Terry 2009). Auch die DFG hat diese PreCut-Methode entwickelt, um sie nach Erhalt aller behördlichen Genehmigungen den Chirurgen zur Verfügung zu stellen (Majore 2015). Abb. 6 zeigt die präparierte Endothellamelle.

Ein Ziel weiterer Forschung bleibt aber weiterhin die Verbesserung des Überlebens der postmitotischen Endothelzellen der Spenderhornhaut. Dieses allein bewirken methodische Verbesserungen nicht. Daher sind zukünftig zellbiologische Methoden notwendig, um die Endothelzelltransplantation soweit zu entwickeln, dass Transplantate mit hohen Endothelzellichten verfügbar sind und diese wichtigen Zellen nicht durch die Handhabung bei der Operation geschädigt werden.

Ein Ansatz kann die Anzüchtung von Endothelzellen oder der Transport ganzer Zellschichten auf geeigneten „Unterlagen“ (Matrices) sein. In der eigenen Arbeitsgruppe bestehen lange Jahre Erfahrung mit der Anzüchtung der cornealen Endothelzellen, die unter der Anwendung

von Spezialmedien gelingt (Engelmann 2010, Jäckel 2011). Die zellbiologische Forschung wurde in den vergangenen Jahren, um die Suche nach geeigneten „Unterlagen“ (Matrices) für die Zellen erweitert, um diese in hoher Zelldichte anzüchten, aber auch transportieren zu können. Dazu wurden thermo-responsive Trägerflächen zur Züchtung von transplantierbaren Endothelzelllayern entwickelt. Diese Träger sind in gewisser Weise „intelligent“ und ermöglichen es, dass Zellrasen sich komplett ablösen können für eine weitere Nutzung (Teichmann 2013).

Bisher mussten Zellen im Verband immer durch Enzyme behandelt werden, damit sie sich von ihren Unterlagen trennen konnten, um zum Beispiel für Transplantationen in vitro genutzt zu werden (Engelmann 2004). Die neuen Techniken mit den Trägerflächen ermöglichen unter üblichen Kultivierungsbedingungen bei 37 °C die Anheftung von Zellen und die Ausbildung geschlossener Zellrasen.

Wird die Temperatur abgesenkt, so verändern sich die physikalischen und chemischen Eigenschaften des Trägers und es kommt zur Ablösung des Zellrasens (Elluohmi 2010). Diese Vorgehensweise stellt eine sehr schonende Herangehensweise für die Gewinnung von intakten Zellrasen unter Erhaltung der zellulären Funktion dar. Derartige Trägerflächen müssen aber auch den Bedingungen der sehr empfindlichen menschlichen Zellen angepasst werden, was ebenfalls Teil der Arbeit innerhalb der eigenen Forschungsgruppe war und ist.

Die Züchtung und die experimentelle Transplantation eines Zellrasens aus humanem cornealem Endothel ist nun möglich geworden (Teichmann). Derartig erzeugte Endothelzellrasen zeigten sowohl vor als auch nach der durch Absenkung der Temperatur bewirkten Ablösung ein charakteristisches Erscheinungsbild und zeigen auch die Endothel-typischen Eigenschaften. Die Arbeitsgruppe arbeitet weiter an der Entwicklung bis zum Einsatz in der Klinik.

2. Was kann „Tissue Engineering“ der Kornea für die Klinik noch leisten?

Beispiel Stammzelltransplantation des Epithels der Hornhaut

Die Kornea weist im Bereich des Übergangs von der Bindehaut zur Hornhaut einen Randbereich auf, der Limbus genannt wird. In diesem Limbusbereich wurden bereits vor Jahren erfolgreich sogenannte adulte Stammzellen gefunden, die für die Regeneration der Oberfläche der Hornhaut (Korneales Epithel) zum Beispiel nach Verletzungen zuständig sind. Diese Zellen werden bereits erfolgreich für das Tissue Engineering eingesetzt. So hat die Transplantation epithelialer Stammzellen bereits klinische Anwendung gefunden (Pinnamaneri 2012). Es gibt Anzeichen, dass sich in diesem Bereich in der Tiefe des Gewebes auch weitere Stammzellen zum Beispiel für stromale Zellen befinden, die aber noch nicht ausreichend charakterisiert sind (Amano 2006). Die epithelialen Stammzellen befinden sich in Gewebenischen (Vogt'sche Palisaden) und sind fähig zur Teilung und zur Selbsterneuerung, was ihren Stammzellcharakter bewahren hilft. Innerhalb dieser Zellpopulation gibt es allerdings auch Zellen mit einem großen Teilungspotenzial, die zu Epithelzellen ausreifen und aus der Nische am Limbus heraustreten können. Diese entwickeln sich zu differenzierten Hornhautepithelzellen und bedecken durch Migration an der Augenoberfläche die vordere Kornea (Lavker 2004). Wird der Limbus verletzt oder durch Autoimmunerkrankungen geschädigt, kommt es zu Störungen dieser natürlichen Wundheilungskaskade. Um Patienten mit schweren Limbusstammzell-Defekten helfen zu können, ist seit vielen Jahren die Epithelstammzelltransplantation untersucht worden und findet inzwischen klinische Anwendung. Wie wirksam eine Limbusstammzell-Transplantation ist, wurde inzwischen in vielen Fallpublikationen gezeigt (Nakamura 2004, Dapeno 2009). Damit diese Zellen außerhalb des Auges angezüchtet werden können, wird eine Biopsie

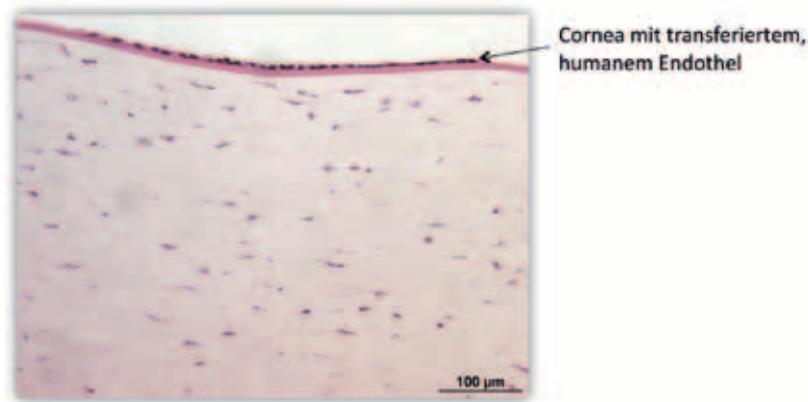


Abb. 7: Sagittalschnitt der Hornhaut eines Schweins nach Transplantation eines künstlich generierten cornealen Endothelzelllayers © J. Teichmann

aus dem gesunden Bereich des nicht betroffenen Auges des Patienten entnommen und diese Zellen werden nach bestimmten Protokollen und mit definierten Nährlösungen isoliert und vermehrt. Wie wichtig genau diese sehr definierte Arbeit für den späteren klinischen Erfolg ist, darauf verweist Pellegrini et al., die über eine Langzeitstudie mit 152 Patienten nach autologer Stammzelltransplantation berichten (Pellegrini 2013). Es ist somit heutzutage noch immer keine Routine menschliche Zellen in einer gleichmäßigen Qualität und mit einer vergleichbaren Überlebensrate in der Zellkultur zu halten. Verbesserungen sind vermutlich ebenso wie beim kornealen Endothel notwendig, um den Zellen einen geeigneten Untergrund zu bieten (Matrix oder Substrat). Sehr gut bewährt hat sich hierfür die Amnionmembran, auf der die Zellen sowohl anzüchtbar als auch transplantierbar sind (Eberwein 2012). Im Tissue Engineering wird aber auch hier nach Alternativen gesucht, um eine Unabhängigkeit von biologischen Materialien zu erreichen. So ist der Einsatz sogenannter „intelligenter“, Polymer-basierter Zellkulturträger ein Ziel verschiedener Forschungsansätze, die sich mit der Transplantation von Zellrasen beschäftigen (Nishida 2004). Auch wird nach Lösungen gesucht, die Transplantation auch unabhängig von der Patienten-Spende durchzuführen, da viele Erkrankungen beidseits auftreten und daher bei vielen Patienten mit geschädigter Hornhautoberfläche kein gesundes Gewebe zur

Anzüchtung gewonnen werden kann – ein weiteres Ziel des Tissue Engineerings

3. Schlussfolgerung

Die Hornhauttransplantation ist ein Goldstandard bei der Erneuerung einer eingetrübten Hornhaut und sie hilft Erblindung zu vermeiden. Wohl für kein anderes Gewebe wurden die organisatorischen Belange und methodischen Techniken für Gewinnung, Lagerung und Transplantation so stark erforscht, verbessert und qualitätskontrolliert, wie für die Spenderhornhaut. Die hohe Anzahl von Transplantationen zeigt, wie erfolgreich und sicher die Hornhauttransplantation ist. Zudem hat das Tissue Engineering im Bereich der Hornhautchirurgie die Klinik erreicht. Benötigt werden aber weitere Anstrengungen in der angewandten Forschung. Somit ist die Hornhauttransplantation mit ihren Variationen als eine Erfolgsgeschichte anzusehen, bei der bisher kein Ende abzusehen ist. Die Entwicklung hin zur Zelltransplantation und Zellmanipulation im Bereich kornealer Zellen ist nicht mehr aufzuhalten und wird weitere Erfolge bringen.

Literatur bei den Verfassern

Korrespondenzanschrift:
Prof. Dr. med. habil. Katrin Engelmann
Klinikum Chemnitz gGmbH
Klinik für Augenheilkunde
Flemmingstraße 2, 09116 Chemnitz