

AUS DER AUGENKLINIK DES
UNIVERSITÄTSKLINIKUMS BENJAMIN FRANKLIN
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN

GESCHÄFTSFÜHRENDER DIREKTOR: PROF. DR. M. H. FOERSTER

Vitrifikation

von

Hornhautlamellen

INAUGURALDISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE
DES FACHBEREICHS
HUMANMEDIZIN
DER FREIEN UNIVERSITÄT BERLIN



VORGELEGT VON CHRISTIAN MELTENDORF
AUS BERLIN

Referent: Prof. Dr. F. Hoffmann

Korreferent: Prof. Dr. H. Bleckmann

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 6. April 2001

„Nature dictates that biological material will decay and die. The structure and function of organisms will change and be lost with time, as surely in laboratory cultures as in the biologist who study and manipulate them.“

Mark R. Mc Lellan and John G. Day

Inhaltsverzeichnis

1	Grundlagen und Problemstellung	7
1.1	Anatomie und Physiologie der Hornhaut.....	7
1.2	Hornhauttransplantation	12
1.2.1	Perforierende Keratoplastik	12
1.2.2	Lamelläre Keratoplastik	13
1.2.3	Hintere lamelläre Keratoplastik	14
1.3	Hornhautbanken.....	15
1.4	Routineverfahren der Hornhautkonservierung.....	16
1.4.1	Kurzzeit-Konservierung	16
1.4.2	Intermediäre Konservierungsverfahren.....	17
1.4.3	Organkultur.....	18
1.5	Die Gefrierkonservierung der Hornhaut	19
1.5.1	Eigenschaften und Grundlagen der Gefrierkonservierung ..	19
1.5.2	Gefrierschutzmittel/Kryoprotektoren	21
1.5.3	Ergebnisse bisheriger Versuche zur Gefrierkonservierung von Hornhäuten.....	26
1.5.4	Vitrifikation als Möglichkeit der Gefrierkonservierung.....	27
1.6	Ziele dieser Arbeit.....	35
2	Material und Methoden.....	38
2.1	Das Hornhautgewebe	38
2.2	Präparation der Hornhautlamellen.....	38
2.3	Das Berlin-Mikrokeratom	40

2.4	Vitrifikationsmedium	42
2.5	Einschleusung des Vitrifikationsmediums.....	43
2.6	Der Gefriergutbehälter	45
2.7	Das Vitrifikationsverfahren	47
2.8	Das Auftauverfahren.....	49
2.9	Ausschleusung des Vitrifikationsmediums	49
2.10	Die Organkultur	50
2.11	Die Vitalfärbung	51
2.12	Fotodokumentation und Endothelzellanalyse	53
2.13	Übersicht über den gesamten Verfahrensablauf.....	54
3	Ergebnisse	56
3.1	Endothelzellanalyse unbehandelter Hornhautlamellen	56
3.2	Verträglichkeit der Oberfläche des Gefriergutträgers mit dem Hornhautendothel	58
3.3	Vitrifikation von Hornhautlamellen bei -140°C	59
3.4	Fotografische Dokumentation der Devitrifikation bei Raumtemperatur	66
3.5	Endothelzellanalyse nach erfolgter Vitrifikation bei -196°C und Erwärmung im Wasserbad	67
3.6	Toleranz des Hornhautendothels gegenüber dem verwendeten Organkulturmedium	69
3.7	Toleranz des Hornhautendothels gegenüber der verwendeten Vitrifikationslösung.....	71

4	Diskussion	76
4.1	Erzielte Fortschritte	76
4.2	Vorteile und Perspektiven der Vitrifikation	79
4.3	Toxizität der Kryoprotektoren	80
4.4	Devitrifikation	82
4.5	Berücksichtigung der post-mortem-Zeit	84
4.6	Aussagekraft der Endothelzellanalyse.....	84
4.7	Vorschläge für Untersuchungen zur weiteren Verbesserung des Vitrifikationsverfahrens	85
5	Zusammenfassung	88
6	Literaturverzeichnis.....	90
7	Danksagung.....	96
8	Curriculum vitae	97

7 Danksagung

An erster Stelle danke ich Herrn Prof. Dr. F. Hoffmann für die Vergabe des interessanten Themas dieser Arbeit und seine mir zur Verfügung gestellte Zeit. In zahlreichen Gesprächen habe ich große Unterstützung erfahren. Die Arbeit unter seiner Anleitung hat in mir die Freude an der Augenheilkunde und Forschung geweckt.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Priv. Doz. Dr. D. Hinch, der mit seinen Anregungen, zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Herrn Dipl. Phys. S. Schröder aus der Forschungsabteilung der Augenklinik der Charité danke ich für die Unterstützung beim Aufbau des Verfahrens zur computer-gestützten Endothelzellanalyse.

Frau H. Zimmermann-Höffken aus dem Forschungslabor der Augenklinik des Universitätsklinikums Benjamin Franklin danke ich für die zahlreichen Hilfestellungen während der experimentellen Laborarbeit.

8 Curriculum vitae

Christian Gerhard Ulrich Meltendorf

geboren am 12. Oktober 1972 in Berlin

1979-1983	Evangelische Grundschule Steglitz (Berlin-Steglitz)
1983-1985	Grundschule unter den Kastanien (Berlin-Lichterfelde)
1985-1992	Lilienthal-Oberschule (Berlin-Lichterfelde)
Schulabschluß:	Abitur im Mai 1992

09/92-11/93	Zivildienst als Krankenpflegehelfer im Auguste-Viktoria-Krankenhaus Berlin
-------------	--

1993-1995	Studium der Humanmedizin an der Universität Göttingen
1995-1996	Fortsetzung des Studiums an der TU Dresden
1996-2000	Fortsetzung und Abschluß des Studiums an der FU Berlin

03.11.2000	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
------------	--

Berlin, im November 2000