

## 5 Zusammenfassung

Die Gefrierkonservierung von Spenderhornhäuten zu Transplantationszwecken hat im Gegensatz zu anderen klinisch genutzten Konservierungsverfahren den Vorteil der zeitlich unbegrenzten Lagerung des Gewebes. Eine Möglichkeit der Gefrierkonservierung ist die Vitrifikation, bei der im Gegensatz zum herkömmlichen Einfrieren eine zellschädigende Eiskristallbildung und die damit einhergehenden osmotischen Belastungen der Zellen vermieden werden können. Vielmehr kommt es bei der Vitrifikation zu einer extremen Viskositätserhöhung wäßriger Lösungen während des Abkühlens. Die Molekülbewegungen sind dabei so stark eingeschränkt, daß die im Gefriergut enthaltene Flüssigkeit die mechanischen Eigenschaften eines Festkörpers annimmt. Voraussetzung für die Vermeidung der Kristallbildung und des Kristallwachstums bei der Vitrifikation ist die Verwendung von Gefrierschutzmitteln in hoher Konzentration und eine schockartige Abkühlung des Gefriergutes.

Die sowohl beim herkömmlichen Einfrieren, als auch bei der Vitrifikation auftretenden Probleme verhinderten bislang einen routinemäßigen Einsatz dieser Konservierungsverfahren.

In der hier vorgestellten Arbeit ist es nun erstmals gelungen, sechs Hornhautlamellen zu vitrifizieren, ohne daß es dabei zu einer Eis- oder Rißbildung im Gefriergut gekommen ist. Grundlage für diesen Erfolg waren drei Modifikationen des Vitrifikationsverfahrens.

1. Statt der bislang für Gefrierversuche verwendeten Korneoskleralscheiben wurden in dieser Untersuchung hintere Hornhautlamellen verwendet. Die damit einhergehende Volumenreduktion bedingt eine geringere Wärmekapazität des zu vitrifizierenden Gewebes. Auf diese Weise ist ein schnellerer und besser zu kontrollierender Wärmeaustausch zwischen Hornhautgewebe und Kühlmedium erreicht worden.
2. Die Wärmekapazität des Gefriergutes wurde auch durch Verwendung eines neuartigen Gefriergutträgers (Kapton<sup>®</sup>/Teflon<sup>®</sup> „Peel Pouch“) verringert, der aufgrund seiner Beutelform ein sehr geringes Volumen besitzt. Die Beschichtung des Gefriergutträgers mit Teflon verhindert eine Endothelschädigung bei direktem Kontakt seiner Oberfläche mit dem Hornhautendothel. Der dadurch mögliche enge

Kontakt der Hornhaut mit dem Gefriergutträger und dessen sehr geringe Wandstärke verbessern ebenfalls den Wärmeaustausch. Die Transparenz des Kapton<sup>®</sup>/Teflon<sup>®</sup> „Peel Pouch“ ermöglicht die Beobachtung des Abkühl- und Aufwärmvorganges und die fotografische Befundung der erfolgreichen Vitrifikation von Hornhautlamellen.

3. Die für die Vitrifikation notwendige schockartige Abkühlung bis  $-140^{\circ}\text{C}$  wurde mit einer neu entwickelten Einfriervorrichtung unter Verwendung von Methylcyclopentan und Propan als Kühlmittel erreicht. Die weitere, eine Reißbildung vermeidende Abkühlung bis  $-179^{\circ}\text{C}$  konnte dann in einem programmierbaren Einfrierautomaten mit einer Kühlrate von  $2^{\circ}\text{C}/\text{min}$ . erfolgen.

Da das Endothel trotz der erfolgreichen Vitrifikation der Hornhautlamellen nach dem Erwärmen deutliche Zeichen einer Schädigung zeigte, sollten die dafür als Ursache in Frage kommende Toxizität der Gefrierschutzmittel und die während des Aufwärmvorganges auftretende Eisbildung (Devitrifikation) weiter untersucht werden. Hierfür bieten sich die Erprobung neuer Gefrierschutzmittel, veränderte Protokolle für die Erwärmung des Gefrierortes und weitere Modifikationen der Einfriervorrichtung an.