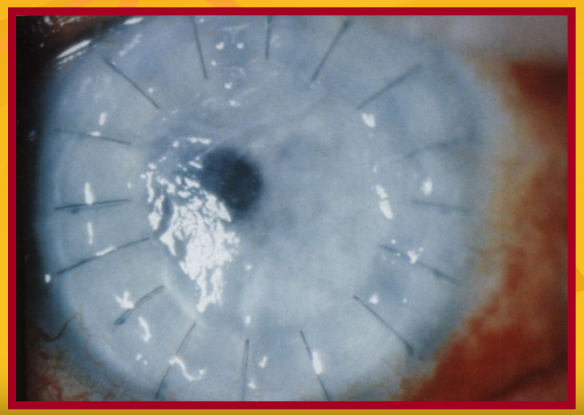
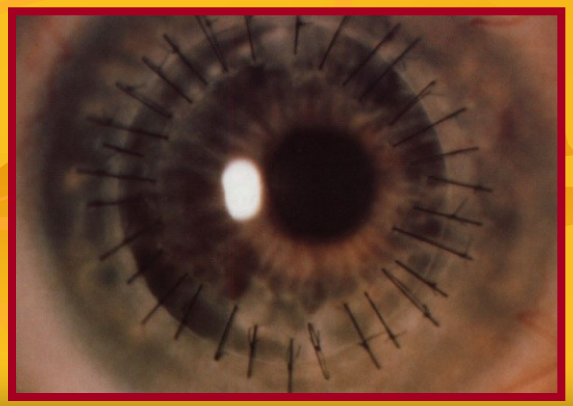
Transplantace rohovky

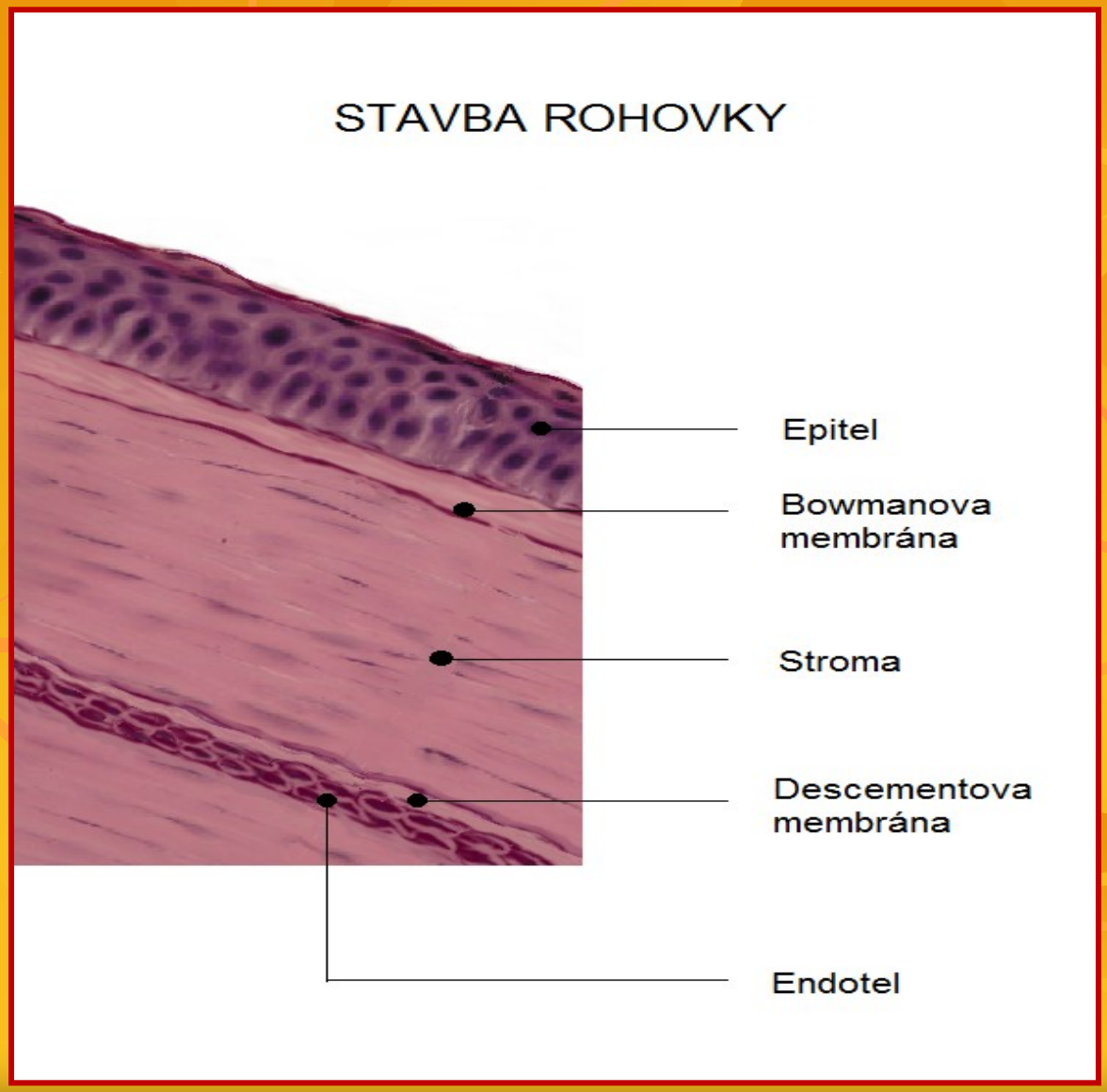
Horáčková Monika

Oční klinika FN Brno Bohunice



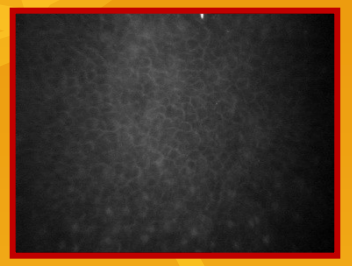


Histologie rohovky – 5 vrstev



Stavba rohovky – epitel a Bowmanova membrána

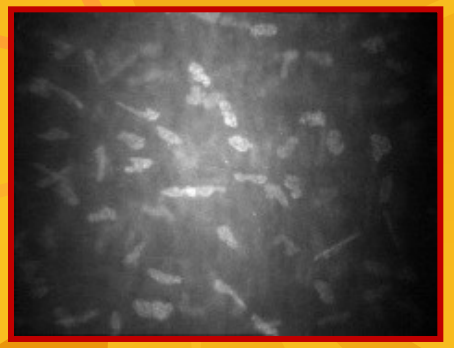
- Epitel (5-6 vrstev, buňky polygonální, kubické a bazální cylindrické, aktivní obnova buněk ochrana povrchu oka před infekcí a mechanickým poškozením



- Bazální vrstva epitelu (2 vrstvy-lamina densa a lamina lucida, tloušťka 40-60 nm, produkce epitel.buňkami), vliv na adhezi, migraci a diferenciaci epitel.buněk, regeneruje
- Bowmanova membrána- mezi bazál.membránou a stromatem, 12 μm silná, nebuněčná, produkce keratocyty, neregeneruje,nejasná funkce

Stavba rohovky - stroma

- Stroma rohovky (90% tloušťky)- extracelulární matrix + keratocyty, udržuje tvar rohovky a zajišťuje hydrataci
- Hustota keratocytů klesá od epitelu směrem k endotelu (nejnižší v zadním stromatu)
- Udržuje tvar a fyziologickou hydrataci rohovky



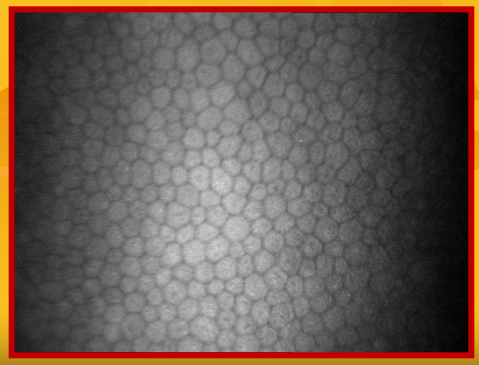
- Duova vrstva- odděluje poslední vrstvu keratocytů od Descemetské membrány, 15μm, avaskulární (nově popsána v r. 2013)

Stavba rohovky – Descemetská membrána

- Descemetská membrána - bazální membrána endotel.buněk
- 2 vrstvy- přední, tvoří se již prenatálně,
  3 µm silná
- Zadní vrstva- homogenní, tvoří se až postnatálně
- V periferii Hassallovy –Henleovy výběžky- výběžky descemetu směrem do endotelu

Stavba rohovky - endotel

- Endotel - 1 vrstva pravidelných hexagonálních buněk, velmi citlivých na poškození
- Neregenerují
- Metabolicky nejaktivnější
- Udržuje přiměřenou hydrataci rohovky a tím zajišťuje transparenci
- Endotel. buňky produkují komponenty Descemetské membrány



Rohovka je avaskulární tkáň

- je vyživována cestou výživných metabolitů (aminokyseliny a glukosa) a zásobována kyslíkem třemi cestami:
- difúzí z kapilár limbu
- difúzí a aktivním transportem z komorové tekutiny (hlavně glukóza)
- difúzí z prekorneálního slzného filmu (hlavně kyslík)

Výsadní imunologické postavení rohovky

- Avaskularita
- Chybějící lymfatická drenáž
- Nízký počet antigen prezentujících Langerhansových buněk
- ACAID fenomén- určitý stupeň inhibice buněčné imunity v přední komoře (Krachmer, 2011)
- Pro transplantaci rohovky není nutná AB0 a HLA typizace

Transplantace rohovky

- První úspěšná transplantace r. 1905 prof. Zirm v Olomouci
- Patří mezi nejúspěšnější alogenní transplantace (až 95%)
- Náhrada deformované, semitransparentní nebo ztenčelé rohovky dárcovskou rohovkou (v celé tloušťce, určité části rohovky)

Vhodná dárcovská rohovka k transplantaci příprava ve tkáňové bance

Serologické vyšetření dárce

- AIDS (HIV 1,2 Ag)
- Hepatitis B a C
- Syfilis
- CMV, HTLV, EBV
- Tkáň z čelního laloku mozku dárce – patogenní priony (Jacobs-Creutzfeldtova choroba, Gerstmann-Sträussler-Scheinkerova choroba, fatální familiární insomnie aj.)

Hypotermické skladování dárcovské rohovky v TB

- Skladování při teplotě 2-8 ºC v médiu (Eusol-C)
- Minimalizace buněčných procesů
- Doba uchování max. 14 dní (nejlépe 7 dní)
- Nevýhoda: krátká doba uchování, nedochází k reparaci endotelu
- Výhoda: okamžitá dostupnost rohovky pro transplantaci

Uchovávání dárcovské rohovky v tkáňových kulturách v TB

- Skladovací médium- bez osmoticky aktivních látek, teplota 35-37ºC
- Transportní médium (2-5 dní před transplantací,min. 24 hod)- obsahuje osmoticky aktivní látky (Dextran T 500), odčerpání vody a ztenčení rohovky
- Doba skladování max. 35 dní (28 + 7 dní)
- Nutná kontrola sterility
- Technicky náročnější a dražší metoda
- Reparace endotelu i epitelu, snížení počtu antigen prezentujích buněk
- Riziko kontaminace event.mechanického poškození

Hodnocení dárcovské rohovky

Makroskopické a biomikroskopické

- Abnormality tvaru a zakřivení rohovky
- cizí těleso, nečistoty
- stromální zákaly
- známky chirurgických zákroků
- výrazné defekty epitelu
- jizvy event. přítomnost vascularizace
- známky patolog. stavů (depozita aj.)

Hodnocení dárcovské rohovky

- Vyšetření rohovky na štěrbinové lampě
- Zrcadlová mikroskopie - (hodnocení rohovky přímo v nádobce se skladovacím mediem)

  hodnocení endotelu rohovky (tloušťka rohovky, hustota endotelu, pleomorfismus a polymegetismus)
- Světelná mikroskopie (invertovaný mikroskop) – hodnocení rohovky v Petriho misce, celkový stav rohovky, stav endotelu vč. kvantifikace mrtvých buněk

Hodnocení endotelu

- ECD (denzita endotel.buněk)- min. 2000-2500 bb/mm²
- Procentuální zastoupení mrtvých buněk endotelu (pod 5%) po obarvení Trypanovou modří
- Bobtnání mezibuněčných prostor (% zbobtnalé plochy endotelu event. pravidelnost bobtnání)
- Polymegetismus (rozdíl ve velikosti EB, koeficient variace CV) a pleiomorfismus (rozdíl ve tvaru EB), kvalita endotelu
- Záhyby Descemetské membrány (pod 10 záhybů)

Hodnocení endotelu a stromatu

- Změny na úrovni jádra endotel.buněk (většinou jádra nejsou patrná)
- Cizí tělesa a precipitáty

- Hodnocení stromatu (čiré, bez patolog.abrnomalit)
- Nubekuly a makuly, leukom, fasety, depozita při stromálních dystrofiích

Hodnocení epitelu

- Rozsáhlé eroze či absence epitelu (ne u pacienta s poruchou hojení povrchu oka)
- Cizí tělíska, dendritické buňky, vascularizace

Ideální rohovka pro transplantaci

- nesmí být zdrojem kontaminace (ba, viry, priony)
- zdravá, bez mechanických, degenerativních, či jiných poškození
- kvalita endotelu - počet buněk (min. 2000 buněk na mm^2)
- refrakčně vhodná
- bez antigen-prezentujících buněk
- HLA typizovaná
- neztluštělá (bez edému)

Produkty tkáňové banky

- Celá rohovka (korneosklerální terč

  o průměru cca 17 mm)

  Příprava rohovkových lamel pro zadní lamelární keratoplastiku - v arteficiální Barronově komoře manuální preparací

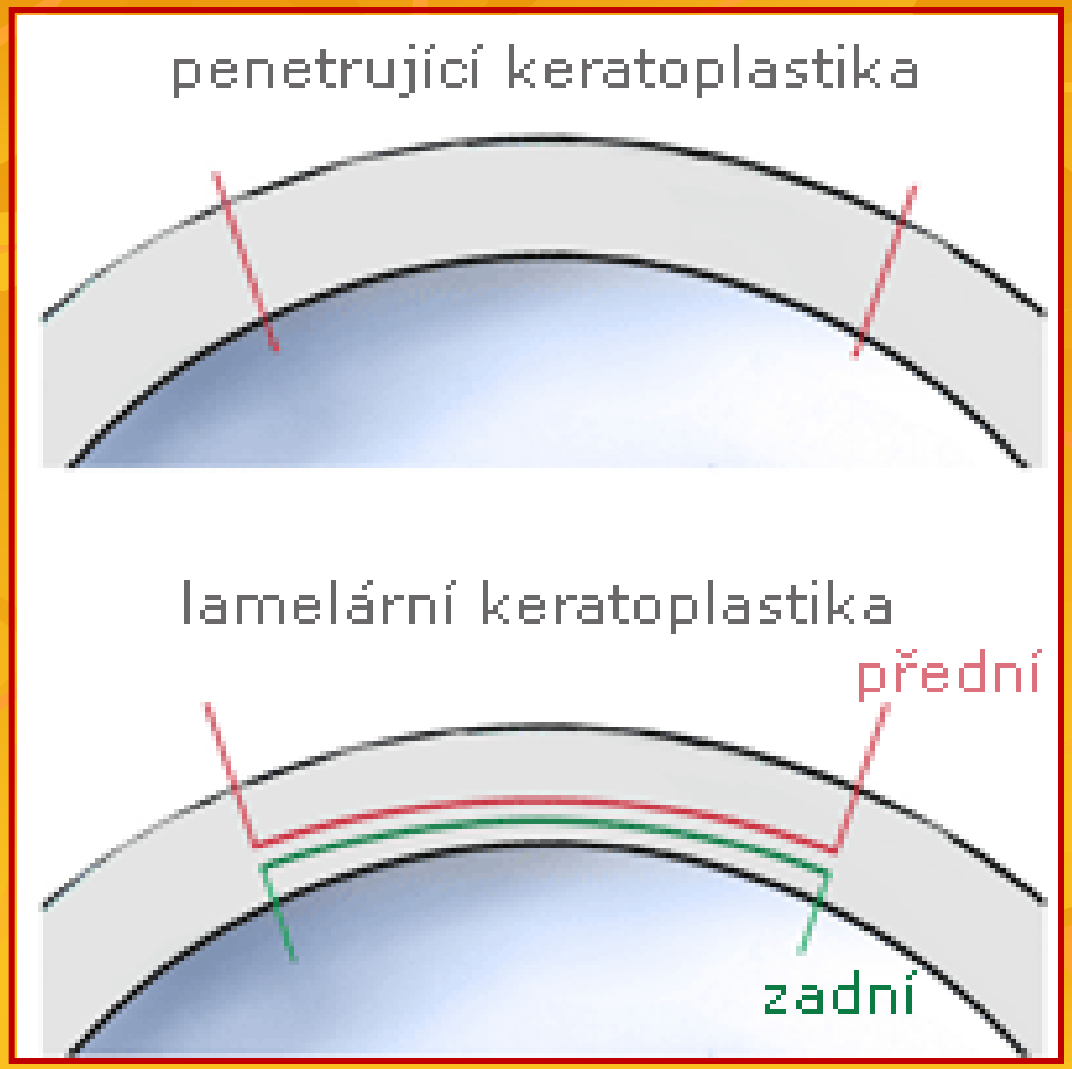
  technika big-bubble

  odstranění cca 80% stromatu v periferii a celé stroma v centru terče

  6,0 mm centrum jen endotel a Descemet

  v periferii stromální lem

Typy rohovkových transplantací

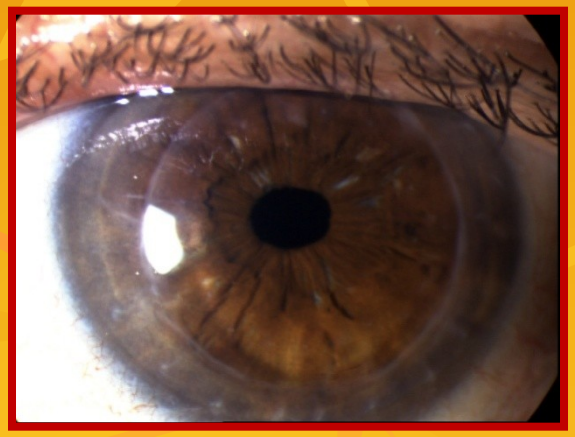


Výměna rohovky v celé tloušťce

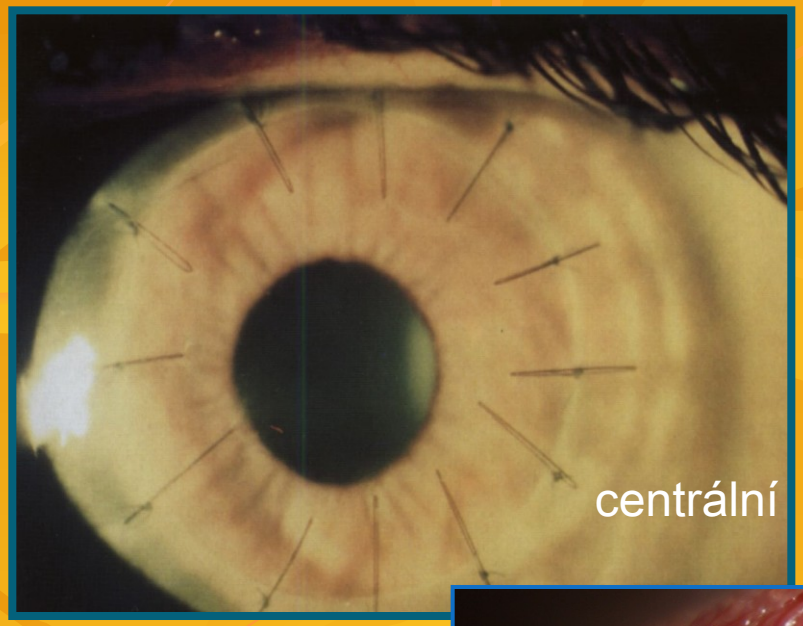
Výměna určité vrstvy rohovky

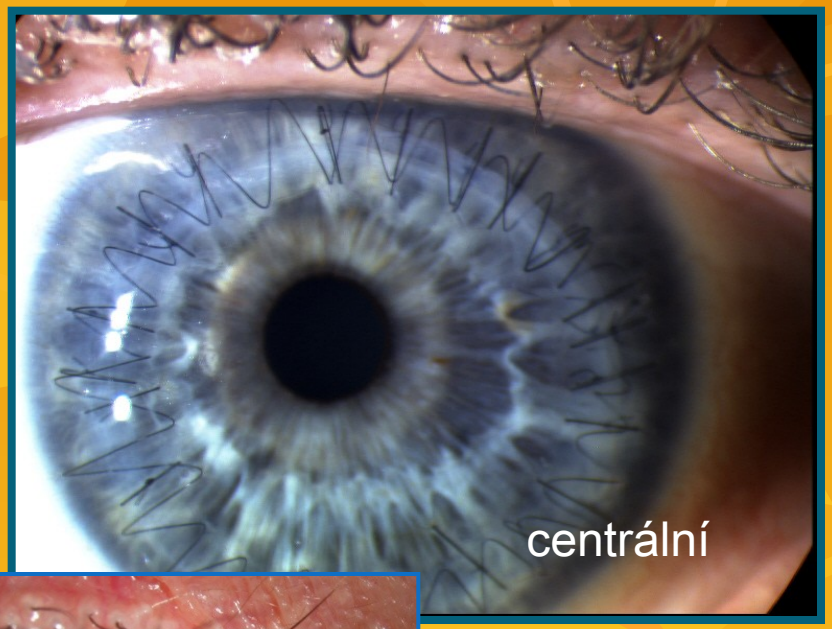
Typy keratoplastik

- **Perforující (penetrující)- nahrazení rohovky v celé tloušťce**
  - Centrální
  - Excentrická (u recid. pterygií)
  - Riziková
  - Neriziková
  - Dle indikace:
  - **optická, terapeutická, tektonická, kosmetická**



Typy perforujících keratoplastik





Neriziková perforující keratoplastika

- Optická:
  - Keratokonus
  - Bulózní keratopatie
  - Rohovkové dystrofie (granulární, makulární, Fuchsova endoteliální dystrofie)
  - Jizvy po zánětech, po úrazech
- Terapeutická
  - Stp. keratitidách
  - Rohovkový leukom bez hluboké vaskularisace

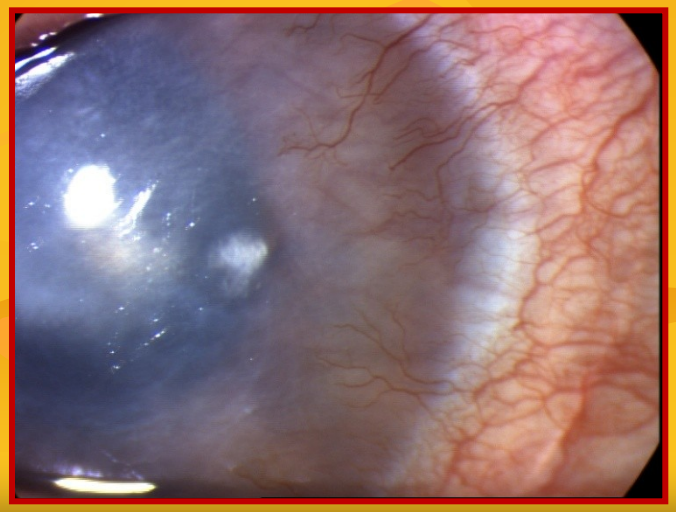
Obecné zásady indikace nerizikové perforující keratoplastiky

- Zraková ostrost 5/20 a horší
- Zraková ostrost 5/50 a horší u oculus ultimus
- Avaskulární rohovka
- Klidný bulbus
- Kompenzovaný nitrooční tlak

- Kompenzovaná systémová choroba (DM, autoimunitní choroby, leukémie v remisi)

Riziková perforující keratoplastika

- Optická indikace:
  - Keratoconus s hlubokou vaskularizací periferie rohovky 2 mm přes limbus
  - Rohovkové jizvy s hlubokou vaskularizací
  - Centrální zákaly rohovky, rohovkové dystrofie s hlubokou vaskularizací
  - Keratopathia bullosa s hlubokou vaskularizací
  - Rekeratoplastika
- Terapeutická indikace
  - Stp. keratitidách s hlubokou vaskularizací
- Tektonická

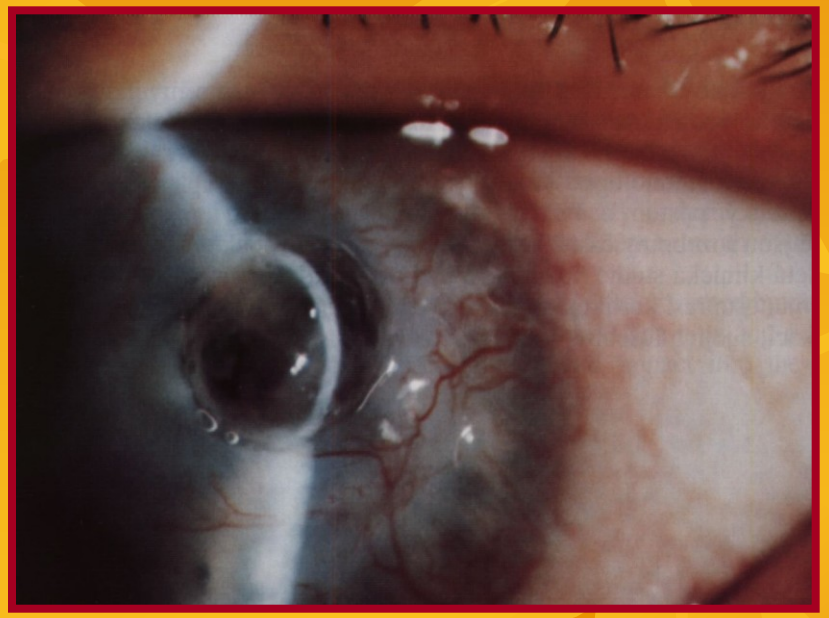


Obecné zásady indikace rizikové perforující keratoplastiky

- Visus horší než 5/50 (výjma hrozící perforace)
- Zklidněný stav oka
- Kompezovaný primární či sekundární glaukom
- Kompletní interní vyšetření včetně kreatininové clearence k možnosti nasazení systémové imunosuprese
  - Vyšetření ledvinných funkcí, jaterní enzymy, krevní obraz, hypertenze, diabetes mellitus kompenzovaný

Keratoplastika à chaud

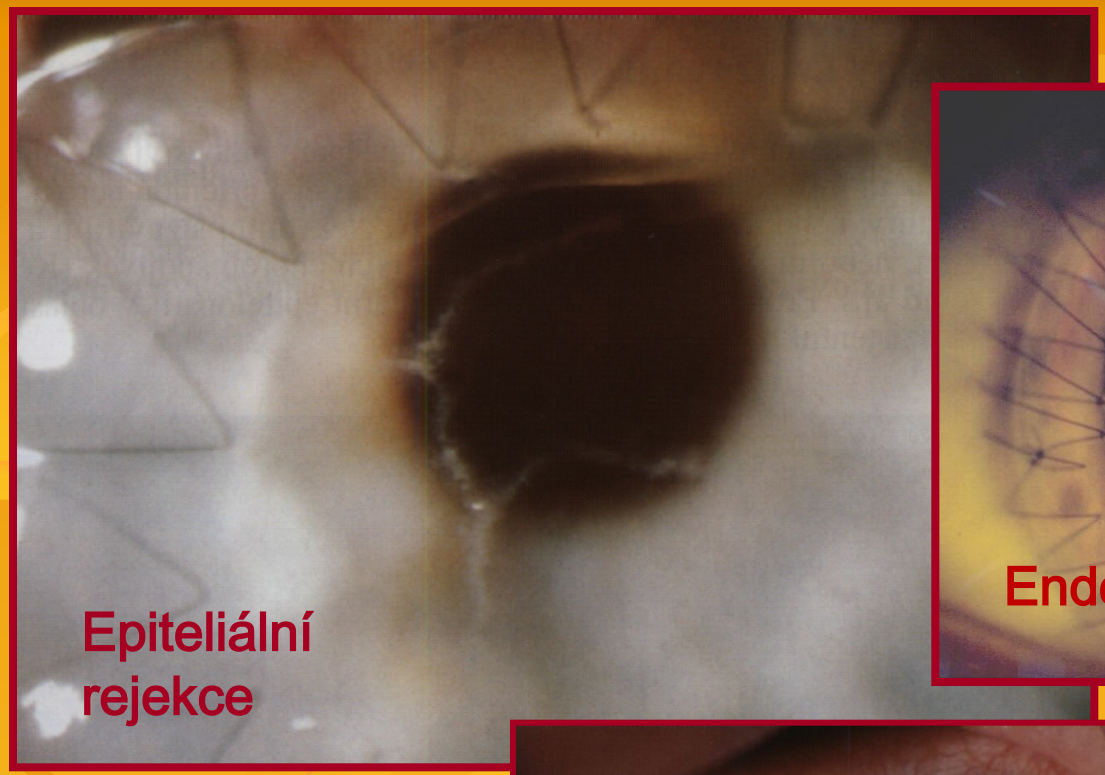
- Tektonická riziková keratoplastika
- Descemetokéla
- Hrozící perforace
  - Akutní hospitalizace
  - Akutní operace



- Snaha předejít této akutní příhodě - včas odeslat!!!

Komplikace perforujících keratoplastik

- Peroperačně otevřený bulbus
- Rejekční reakce
- Mechanické komplikace (prasklá sutura)
- Infekce
- Sekundární glaukom
- Extrakce sutury min. po 12 měsících
- Pooperační ametropie

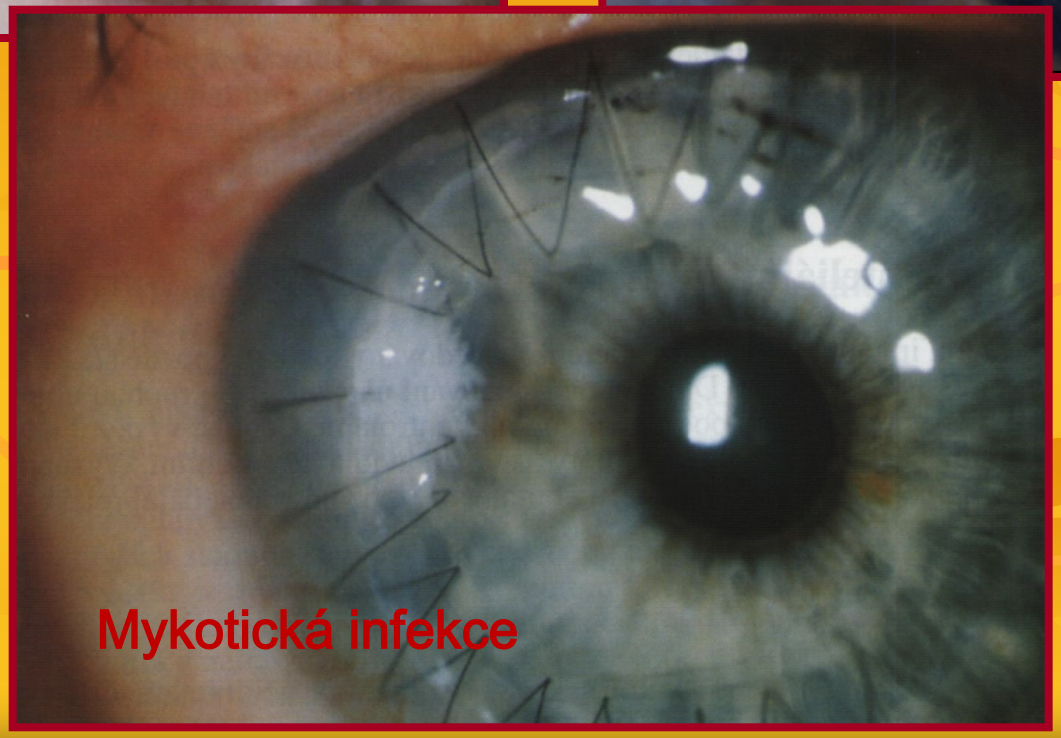

Epiteliální
rejekce

Endotel. rejekce

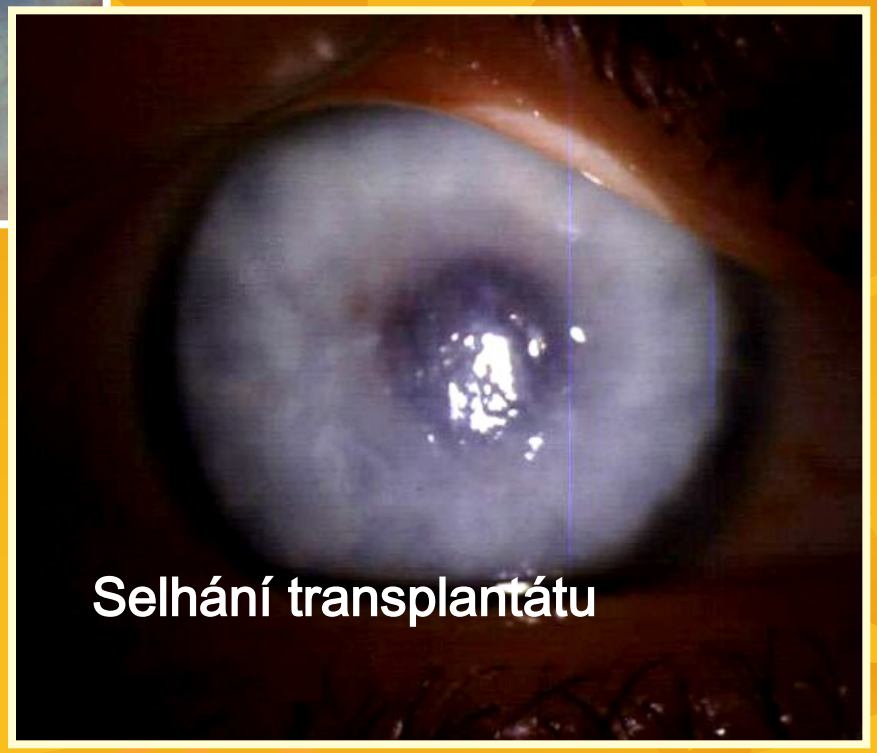
Totální rejekce

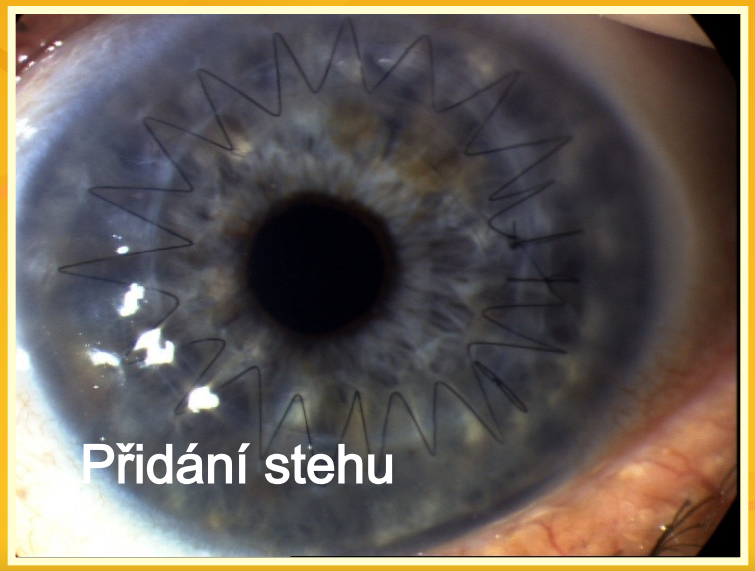
Rozvolněný steh

Infiltrace na terči


Mykotická infekce

Sekundární
glaukom


Selhání transplantátu


Přidání stehu

Typy keratoplastik

- **Lamelární – nahrazení určité vrstvy rohovky**
  - Přední lamelární (ALK, DALK)
  - Zadní lamelární (DLEK, DSEK, DSAEK, DMEK-S, DMEK, PDEK)
  - Epikeratoplastika (štěp na Bowmanovu membránu)
  - Centrální a excentrická (u PUK, Terienovy degenerace rohovky, marginální pelucidní degenerace rohovky)

Obecné zásady indikace k lamelárním transplantacím (DALK, DMEK)

- Zraková ostrost 0,5 a horší
- Avaskulární rohovka
- Klidný bulbus
- Kompenzovaný nitrooční tlak

- Kompenzovaná systémová choroba (DM, autoimunitní choroby, leukémie v remisi)

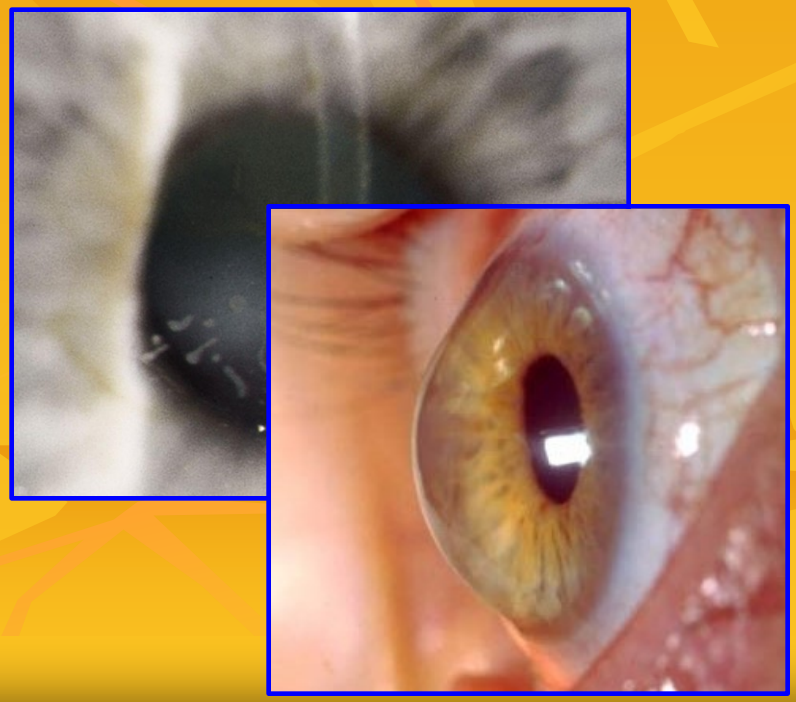
Přední lamelární keratoplastika (ALK, DALK)

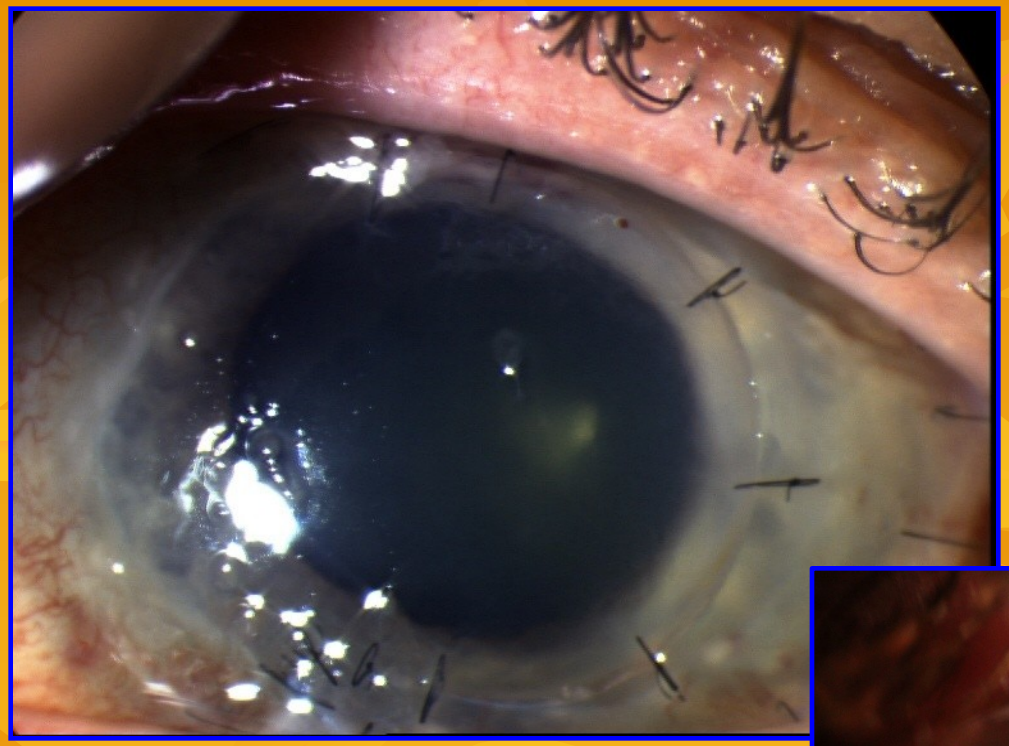
- nahrazení epitelu s Bowmanovou membránou a různou tloušťkou stromatu (zachování Descemetské membrány a endotelu)
- indikace: keratokonus

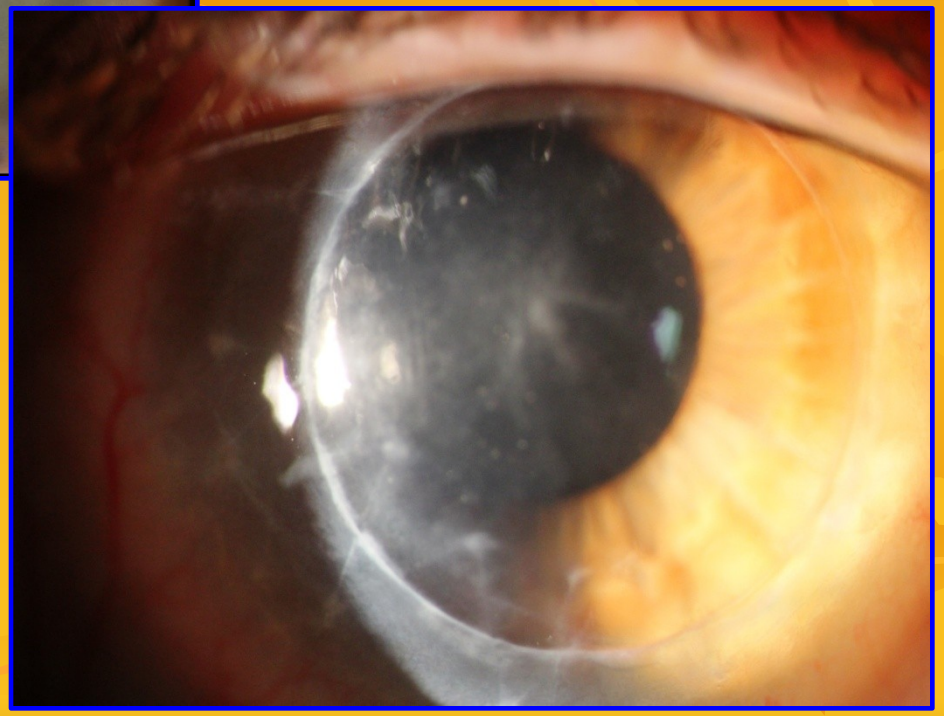
  rohovkové jizvy

  dystrofie rohovky

(epiteliální, dystrofie Bowmanovy membrány, stromální d.)





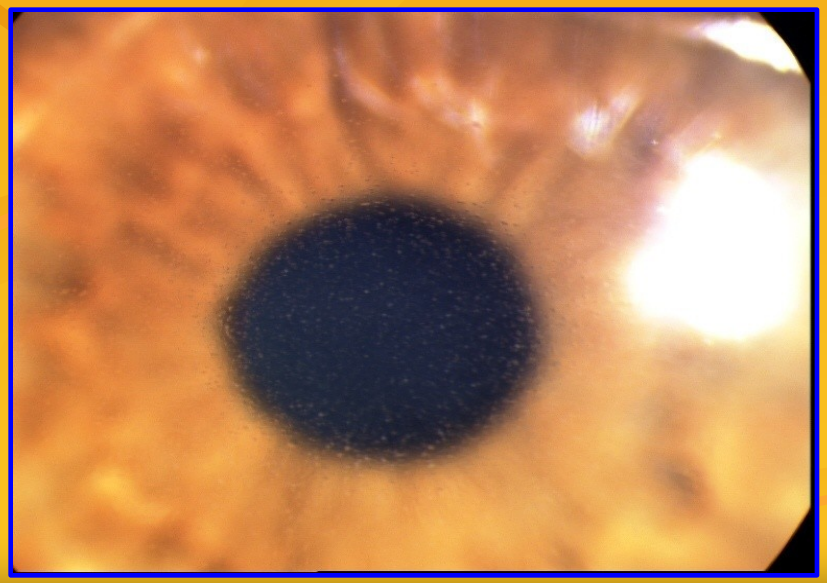


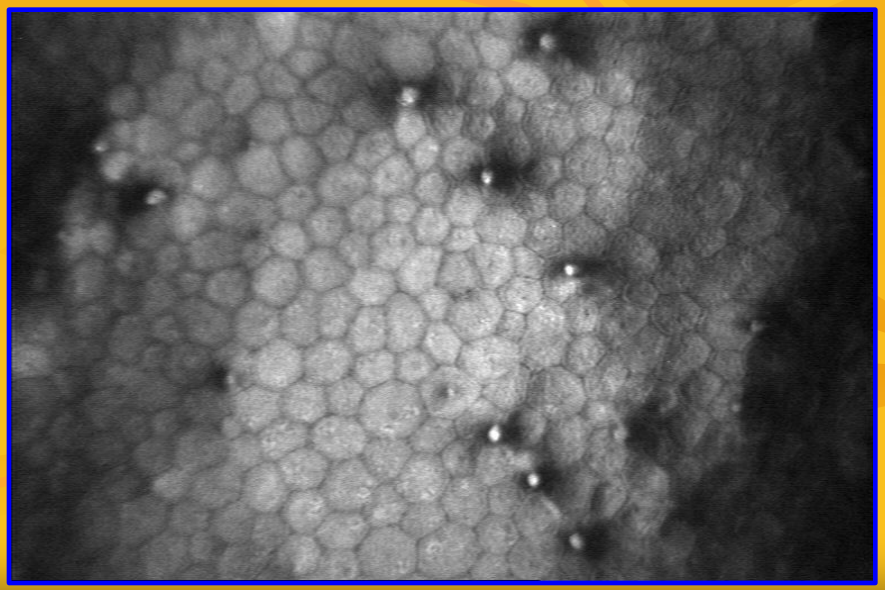
Klinický nález po DALK-

před a po extrakci sutury

Zadní lamelární transplantace
(DLEK, DSEK, DSAEK, PDEK,DMEK)

- Výměna endotelu a Descemetské membrány event. přilehlé části zadních vrstev stromatu rohovky
- Indikace: bulózní keratopatie (pooperační pseudofakická), Fuchsova endotel. dystrofie





Indikace k zadní lamelární transplantaci rohovky

- ICE syndrom
- Zadní polymorfní dystrofie rohovky
- Selhání endotelu rohovky po perforující keratoplastice
- KI: rohovkové ektázie

jizvy a stromální dystrofie

přední rohovkové dystrofie a degenerace

Typy zadních lamelárních transplantací

- DSEK – příprava tenké lamely (endotel + Descemetská membrána+ zadní vrstvy stromatu rohovky) pomocí manuální preparace
- DSAEK – příprava tenké lamely pomocí mikrokeratomu, méně časově náročná technika
- „Pre- cut lamela“ – již připravená lamela z oční tkáňové banky přímo k implantaci
- DMEK – lamely z Descemetské membrány a endotelu cca 10 μm
- DMEK – S – lamela z Descemetské membrány a endotelu se stromálním lemem
- PDEK- pre-Descemt s endothelial keratoplasty

Technika operace DMEK

Příprava EDM (endotelo- Descemetské membrány)

sloupnutí (stripping)z dárcovské kadaverózní rohovky

trepanace o půměru 8,5 -9 mm, stranové označení lamely

Obarvení EDM Trypanovou modří

Rohovkový řez 3,2 mm + 3 pomocné paracentézy

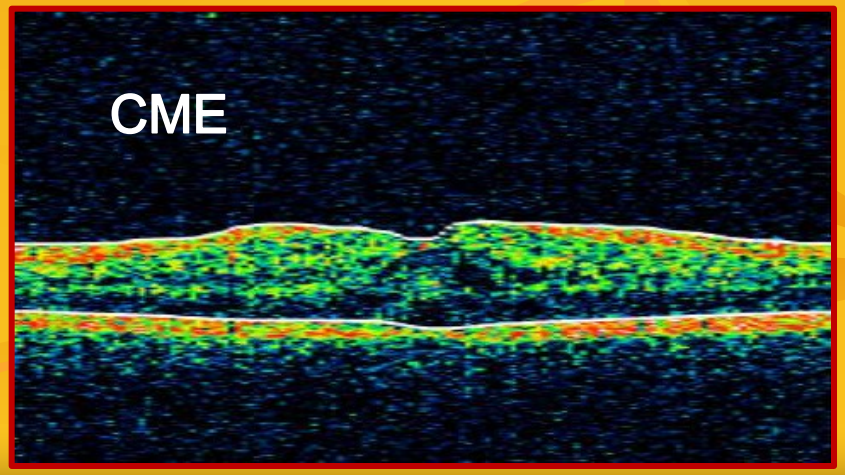
Odstranění vlastního endotelu špátlí (Descemetorhexis)

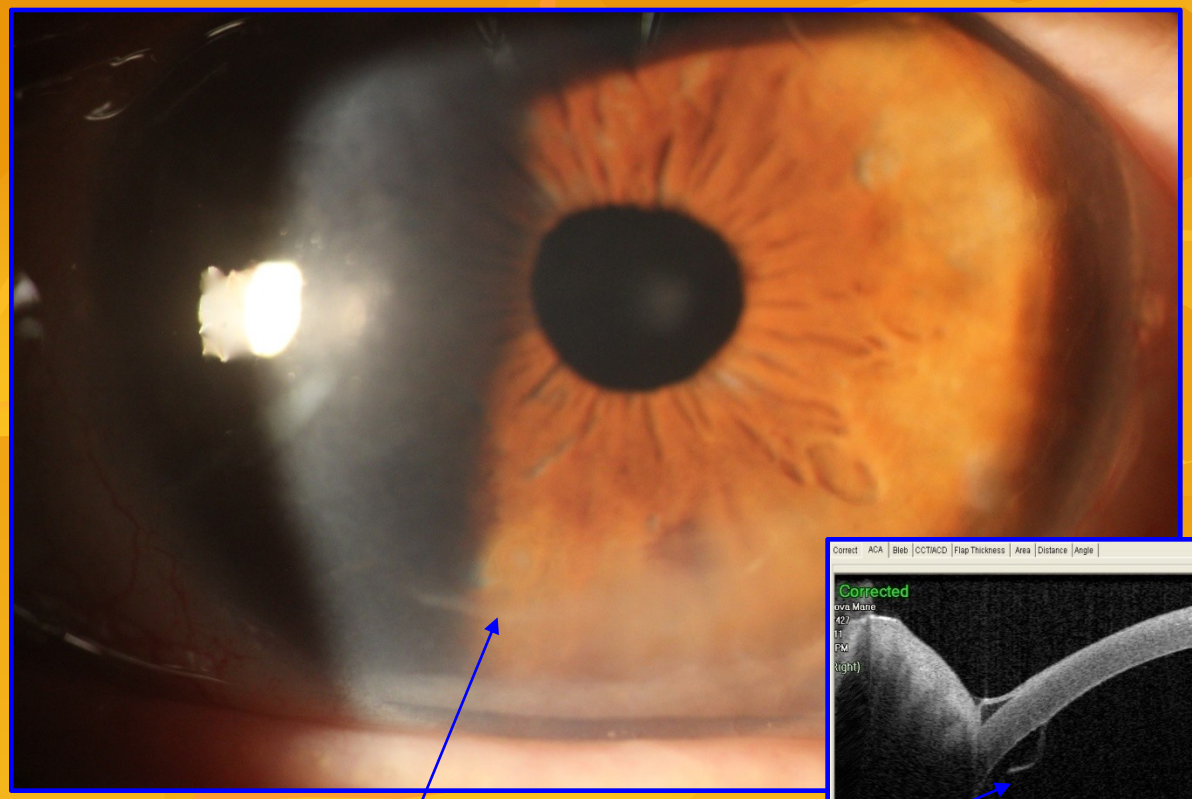
Implantace svinuté a obarvené EDM do PK

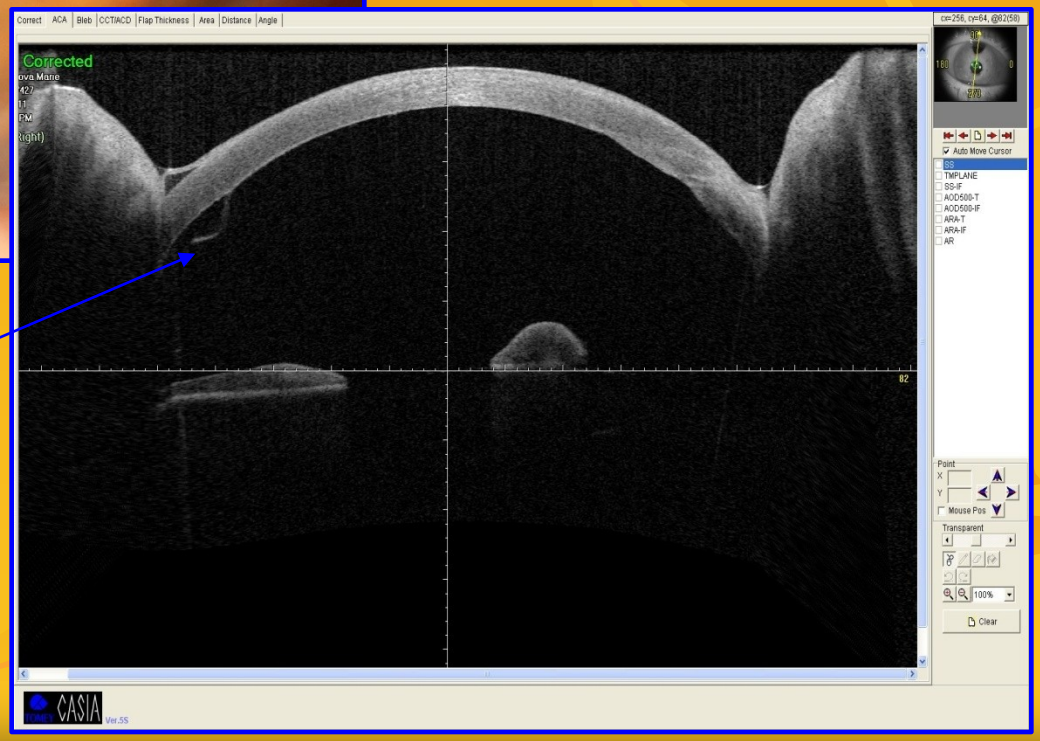
Rozložení EDM pomocí vody a vzduchu endotelem do PK

Aplikace vzduchové bubliny do PK

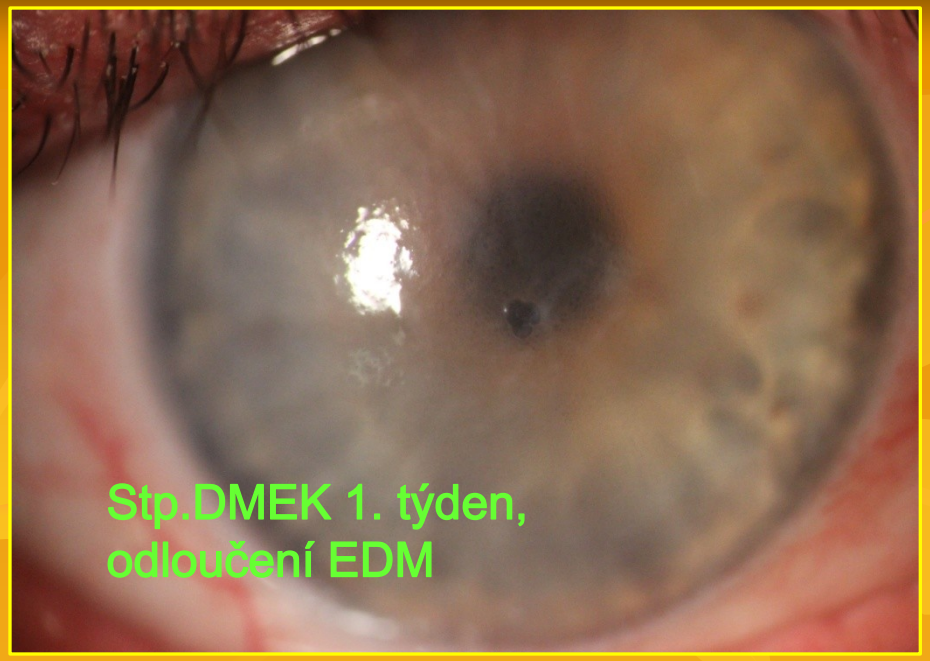
Komplikace lamelárních transplantací

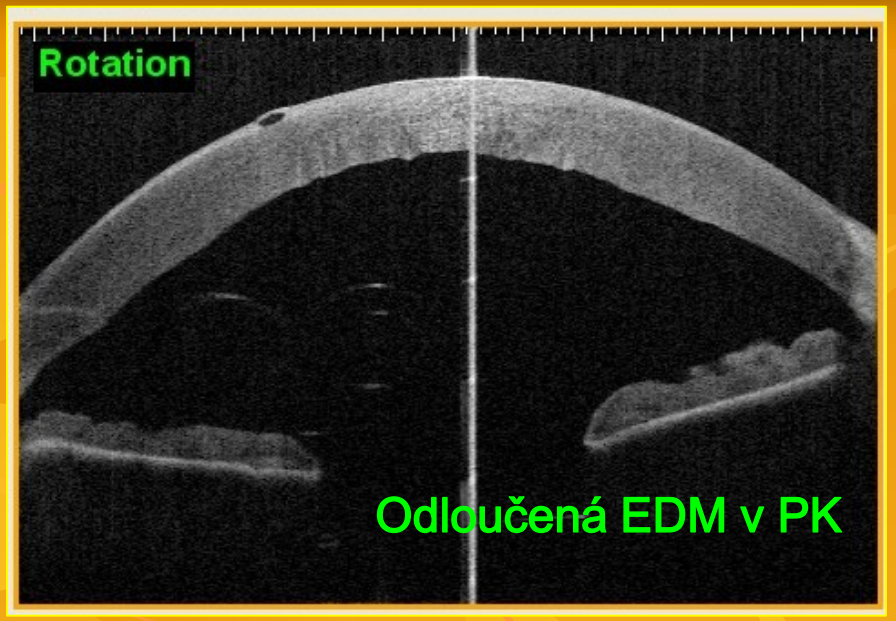


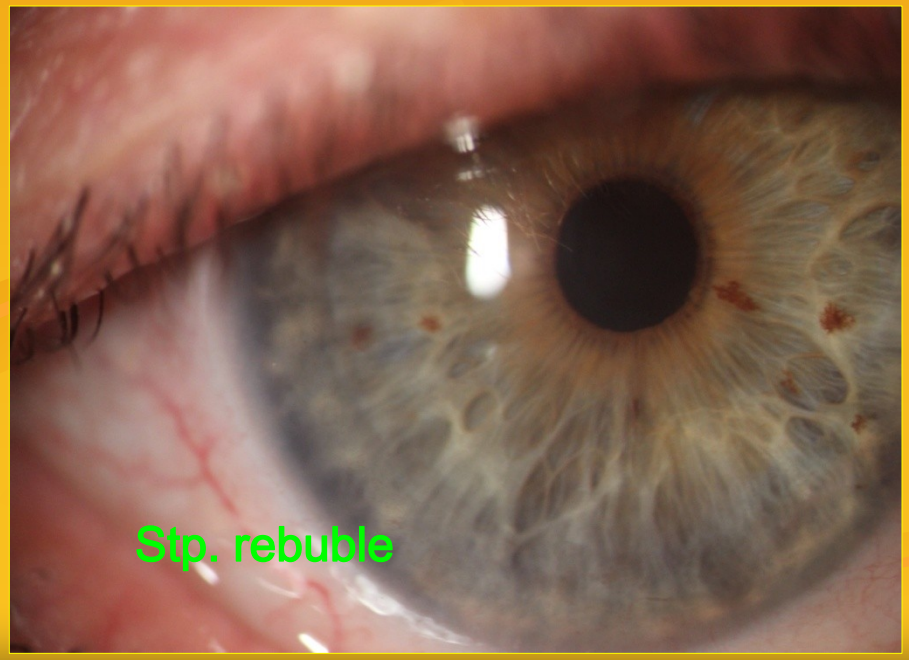


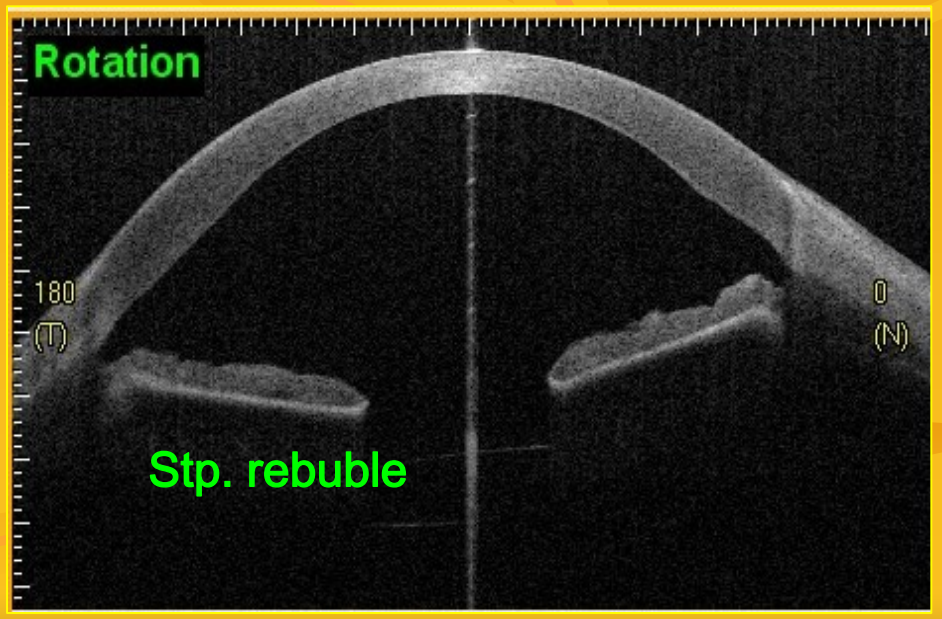


Pooperační non-adherence EDM, pás bul


Stp.DMEK 1. týden,
odloučení EDM


Rotation
Odloučená EDM v PK


Stp. rebuble


Rotation
180
(T)
0
(N)
Stp. rebuble

Výhody lamelárních transplantací

- Zachování integrity bulbu peroperačně
- Urychlení pooperačního hojení
- Nižší riziko rejekčních reakcí oproti PKP
- Rychlejší zraková rehabilitace
- Lepší dosažená UCVA i BCVA
- Nižší pooperační ametropie (poop.astigmatismus)
- Není nutná celková pooperační imunosupresivní terapie
- Náročnost chirugického výkonu!

Závěr

- Trendem je přechod k lamelárním transplantacím (přední a zadní lamelární)
- Perforující keratoplastika má v transplantologii stále svoje místo
- Nutné dlouhodobé kontroly pacienta a nastavení individuální léčby
- Mezioborová spolupráce mezi tkáňovou bankou a oftalmologem