

Ramon Klaus Bodo Tschierschke
Dr. med.

Evaluation verschiedener Dezellularisierungsprotokolle an ovinen Aortenklappen

Promotionsfach: Chirurgie

Doktorvater: Univ. Prof. Dr. med. A. Lichtenberg

Im Bereich der kardiovaskulären Forschung ist es sinnvoll nach Alternativen zu den aktuell verwendeten Herzklappenprothesen zu suchen, da diese ein Risikopotential aufweisen. Eine Möglichkeit stellen hier autologe, Tissue-Engineerte Herzklappen dar. Bevor man jedoch von einer solchen Herzklappe sprechen kann, muss man sich die Frage nach der zu Grunde liegenden Matrix stellen. Verschiedene Autoren postulieren die Überlegenheit einer dezellularisierten Herzklappe als Grundgerüst für eine spätere Rebesiedlung im Vergleich zu synthetischen Polymeren. Zudem gibt es sehr viele verschiedene Methoden diese Dezellularisierung zu erreichen. Im Rahmen dieser Arbeit wurden sechs bekannte Verfahren miteinander verglichen.

In der HE-Färbung konnte bei vier Protokollen eine weitgehende Azellularität nachgewiesen werden. Eine Dezellularisierung mit Trypsin/EDTA und eine Dezellularisierung mit PEG in Kombination mit Deoxycholat erbringt keine zufriedenstellende Dezellularisierung. Auch die Kombination von PEG mit SDS und das Protokoll nach Rieder et al. liefert keine vollständige Azellularität. Allen Protokollen gemein ist, dass auch nach mikroskopisch vollständiger Dezellularisierung noch kleinste DNA-Fragmente nachweisbar sind. Deren Immunogenität und Thrombogenität ist unwahrscheinlich, bedarf jedoch noch weiterer Untersuchungen. Bei der Betrachtung der extrazellulären Matrix fällt auf, dass alle Dezellularisierungsverfahren diese in unterschiedlichem Maße schädigen. Einzig der Gehalt an Glucosaminoglykanen bleibt nahezu unberührt von den Verfahren. Der Kollagenfaserverband scheint hingegen stark geschädigt zu sein. Auch die elastischen Fasern, welche für die mechanischen Eigenschaften der Herzklappe notwendig sind, werden angegriffen. Dies spiegelt sich auch in der durchgeführten biomechanischen Analyse wider, wo sich, insbesondere bei den mit Trypsin oder mit dem Protokoll nach Borschel et al. dezellularisierten Herzklappen, eine erniedrigte Energiedichte und somit indirekt eine verminderte Elastizität nach der Dezellularisierung zeigt.

Dezellularisierte Herzklappenmatrices stellen, anders als glutaraldehydfixierte Herzklappen, nicht die endgültige Prothese dar, sondern dienen als Grundgerüst für autologe Zellen um somit einen körpereigenen Klappenersatz zu schaffen. Die dezellularisierten Herzklappen weisen mit Ausnahme derjenigen, bei denen Trypsin verwendet worden ist, eine intakte Basalmembran auf. Im Falle des von Borschel beschriebenen Protokolls und der Dezellularisierung mit SDS und PEG zeigt jedoch der Zytotoxizitätstest, dass eine in-vitro Besiedlung nicht möglich ist. Die anderen Verfahren sind aus toxikologischer Sicht unbedenklich.

Summa summarum lässt sich der Schluss ziehen, dass jedes Dezellularisierungsverfahren die Herzklappenmatrix auf die eine oder andere Art und Weise beeinflusst. Das beste Dezellularisierungsergebnis erreicht man mit dem von Borschel et al. beschriebenen Verfahren. Auf diese Art dezellularisierte Herzklappen eignen sich aus oben genannten Gründen nicht für die in-vitro Besiedlung, sondern können nur in-vivo rebesiedelt werden. Für die in-vitro Rebesiedlung ist am besten eine Prothese geeignet, welche mit einer Lösung aus SDS und Deoxycholat dezellularisiert wird. Die anderen evaluierten Verfahren weisen kein zufriedenstellendes Dezellularisierungsergebnis auf und sollten daher keine Anwendung finden.