

Sina Franziska Heimer
Dr. med.

Einfluss extrakorporaler Stoßwellen und adipogener Stammzelltherapie auf freie Lappentransplantate am standardisierten Lappenmodell der Ratte

Promotionsfach: Chirurgie
Doktorvater: Prof. Dr. med. G. Germann

Bei der freien Gewebetransplantation mit mikrovaskulärem Anschluss ist das Transplantat unumgänglich einer Periode der Ischämie und anschließenden Reperfusion ausgesetzt. Bei einer über die Norm verlängerten kritischen Ischämiezeit besteht die Gefahr der Ausbildung eines Ischämie-/ Reperfusionsschadens. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit dem Versuch der Reduzierung des Ischämie-/ Reperfusionsschadens durch die Anwendung adipogener Stammzellen und/oder extrakorporaler Stoßwellen am standardisierten Lappenmodell der Ratte. Dabei wurden die benötigten, fettabgeleiteten Stammzellen aus Spendertieren eigens isoliert, kultiviert und passagiert. Durch den Nachweis spezifischer Oberflächenmarker konnten die adipogenen Stammzellen (ADSCs) in der FACS-Analyse eindeutig charakterisiert werden. Des Weiteren wurden die ADSCs präoperativ mit einem lipophilen Fluoreszenz-Farbstoff (DiI) markiert, was einen postoperativen Stammzellnachweis im Gewebe zuließ.

Der erweiterte epigastrisch adipokutane Hautfettlappen wurde von kranial nach kaudal gestielt an der linken und rechten A. und V. epigastrica superficialis gehoben. Die unter dem Operationsmikroskop freipräparierten Gefäßstiele wurden im Anschluss für eine Ischämiedauer von drei Stunden mit Gefäßclips abgeklemmt. Nach Ablauf der Ischämiezeit konnten die adipogenen Stammzellen in die rechte V. epigastrica superficialis appliziert und der Blutfluss des rechten Gefäßstiels unterbunden werden, während die Blutversorgung der Lappenplastik durch die linke A. und V. epigastrica superficialis aufrechterhalten wurde. Nach Rücknaht der Lappenplastik auf eine Silikonfolie erfolgte in bestimmten Versuchsgruppen eine zusätzliche bzw. alleinige Verabreichung extrakorporaler Stoßwellen nach standardisiertem Schema.

Der Einfluss der einzelnen Therapieformen auf die ischämisch vorgeschädigte Lappenplastik wurde am fünften postoperativen Tag verifiziert. Hierbei erfolgte die klinische Evaluation mittels Planimetrie, Perfusions-Fluoroskopie, Ermittlung der Gefäßdichte durch immunhistochemische Anfärbung der gewonnenen Gewebeproben und Genexpressionsanalyse (qRT-PCR). Des Weiteren gelang der Nachweis der systemisch verabreichten, adipogenen Stammzellen in den erweiterten epigastrisch adipokutanen Lappenplastiken im Fluoreszenzmikroskop nach immunfluoreszentscher Anfärbung des Umgebungsgewebes.

In vorliegender Studie konnte erstmalig gezeigt werden, dass die Applikation extrakorporaler Stoßwellen zu einer deutlichen Verbesserung im Ischämie-/ Reperfusionsschaden und zu einer Steigerung der Gefäßdichte führt. Die pro-angiogen wirksamen Faktoren VEGF-A, VCAM-1, das pro-inflammatorische Ptger2 und das anti-inflammatorisch wirksame Interleukin 10 waren signifikant überexprimiert, während sich TNFa signifikant unterexprimiert zeigte. Auch durch die Applikation adipogener Stammzellen ist eine Zunahme des Lappenüberlebens zu erreichen; eine signifikant erhöhte Gefäßdichte konnte in

diesem Zusammenhang allerdings nicht nachgewiesen werden. Dabei waren die Faktoren Ccl2 und VCAM-1 signifikant überexprimiert und TNF α signifikant unterexprimiert. Bei der simultanen Anwendung beider Therapieoptionen wurden sowohl die Gefäßdichte als auch das Lappenüberleben gesteigert, jedoch konnte kein additiver Effekt beobachtet werden. Signifikant überexprimiert waren in diesem Zusammenhang die Faktoren VEGF-A, VCAM-1 und Interleukin 10, signifikant unterexprimiert der Faktor TNF α .

In vorliegender Arbeit wurde erstmals die Anwendung adipogener Stammzellen und extrakorporaler Stoßwellen in der freien Lappenplastik etabliert. Die adipogene Stammzelltherapie zeigt direkte und indirekte Effekte im Zielgewebe. So besitzen ADSCs die Fähigkeit, sich in Endothelzellen zu differenzieren und an der Gefäßneubildung teilzunehmen. Daneben besteht ihr parakriner Effekt in der Sekretion zytoprotektiver Wachstumsfaktoren, welche wiederum eine wichtige Rolle bei der Angiogeneseinduktion spielen. Extrakorporale Stoßwellen hingegen können einem entstehenden Ischämie-/ Reperfusionsschaden vorbeugen, indem es in einer frühen Phase zur Überexpression angioaktiver Faktoren und Supprimierung pro-inflammatorischer Faktoren kommt, während in einer späten Phase neugebildete Gefäße in das Gewebe einsprossen. Bei der Kombination beider Verfahren konnte im Vergleich zu den Einzeltherapien kein signifikanter Unterschied erzielt werden.