

Natalie Czerny
Dr. med.

Erstellung und Evaluation eines Protokolls zur Dezellularisierung von porcinen Lungen als Grundlage für einen tissue engineeren Organersatz

Fach/Einrichtung: Chirurgie
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Alexander Weymann

Durch den weltweiten Mangel an Spenderorganen bemüht sich die Forschung um Alternativen zur Organtransplantation. Hierbei werden zwei Wege verfolgt. Zum einen die Lockerung der Kriterien, die ein Spender erfüllen muss und zum anderen die Herstellung von künstlichen Organen im Labor.

Letzteres, das Tissue Engineering von ganzen Organen, im Speziellen der Lunge, war Gegenstand dieser Arbeit. Da Lungenerkrankungen, die zu terminalem Organversagen führen, zunehmen und der Mangel an Spenderlungen im Vergleich zu anderen Organen besonders hoch ist, ist hier die Bemühung um Alternativen zur Transplantation besonders wichtig.

Die Grundlage eines tissue engineeren Organs ist es, ein azelluläres Grundgerüst mit erhaltener extrazellulärer Matrix zu entwickeln. Das wurde in der vorliegenden Arbeit realisiert, indem porcine Lungen mit einem Dezellularisierungsprotokoll, basierend auf Lösungen aus Natrium Deoxycholat und Triton X-100, behandelt wurden.

Anschließend wurden die dreidimensionalen dezellularisierten Lungen-Grundgerüste auf den DNA-Gehalt, die Integrität der extrazellulären Matrix und ihre biomechanischen Eigenschaften untersucht und mit nativen porcinen Lungen verglichen.

Mittels Photometrie wurde eine signifikante Reduktion des DNA-Gehalts der dezellularisierten Lungen um 80% gemessen. Die Hematoxylin-Eosin- und die DAPI-Färbung zeigten die weitestgehende Zellfreiheit des Lungengewebes mit Ausnahme der größeren Bronchialknorpel. Die in intaktem Knorpel enthaltenen Chondrozyten haben jedoch, wie einige Studien zeigen, nicht unbedingt eine immunogene Wirkung.

Die Untersuchungen der Integrität der extrazellulären Matrix zeigte keine relevante Reduktion des Gehalts der Proteine nach der Dezellularisierung. Die Kollagen- und Elastin-Fasern der dezellularisierten Lungen in den histologischen Färbungen schienen aber etwas aufgelockerter als in den Präparaten der nativen Lungen. Auch die Glykosaminoglykane, als weitere wichtige extrazelluläre Matrix-Proteine, waren nach der Dezellularisierung noch vorhanden wie durch die Alcian Blue Färbung histologisch gezeigt werden konnte.

Bei den biomechanischen Tests am Beatmungsgerät zeigte sich eine etwas erhöhte Compliance der dezellularisierten Lungen im Vergleich zu den nativen Lungen, was der Auflockerung der extrazellulären Matrixproteine geschuldet sein könnte. Insgesamt ließen sich die Lungen bei den Tests gut blähen und zeigten somit erhaltene mechanische Eigenschaften.

Mit dem in dieser Arbeit beschriebenen Verfahren konnten komplette porcine Lungen erfolgreich dezellularisiert werden, um ein zellfreies Grundgerüst mit weitestgehend erhaltener extrazellulärer Matrix und biomechanischer Funktionalität zu schaffen.

Damit ist die Grundlage für eine Rebesiedlung geschaffen und somit rückt auch das Ziel, in Zukunft komplette tissue engineeren Lungen klinisch einzusetzen, ein Stück näher.