

Nicola Roushansarai  
Dr. med.

## **Der Einfluss humaner mesenchymaler Stromazellen auf die Angiogenese im arteriovenösen Schleifenmodell**

Fach/Einrichtung: Plastische Chirurgie  
Doktorvater: Priv. Doz. Dr. med. Volker J. Schmidt

Im Fokus des Tissue Engineerings steht die Ausbildung einer ausgereiften Gefäßstruktur, wobei insbesondere der Einsatz mesenchymaler Stromazellen in Hinblick auf die Wundheilung und Angiogenese vielversprechend ist. Im axial vaskularisierten arteriovenösen Schleifenmodell dienten mesenchymale Stromazellen bereits erfolgreich der Optimierung der Vaskularisation. Hierbei wurde der Einsatz im immunkompetenten Empfängertier noch nicht betrachtet. Ziel der vorliegenden Arbeit war daher die Generierung eines vaskularisierten Gewebekonstrukts unter Verwendung lokal applizierter humaner mesenchymaler Stromazellen. Als zentraler Bestandteil diente eine axial vaskularisierte, angioinduktive Gefäßschleife. Innerhalb der lokalen mesenchymalen Stromazellbehandlung wurden die direkte und die vorkultivierte Applikation untereinander sowie gegenüber einer initial azellulären Kollagen-Elastin-Matrix verglichen.

Anhand der zweidimensionalen histomorphometrischen Analyse konnte erstmalig die Ausbildung eines ausgereiften Gefäßnetzwerks nach humaner mesenchymaler Stromazellbehandlung im arteriovenösen Schleifenmodell nachgewiesen werden. In allen genannten Versuchsgruppen zeigte sich eine zunehmende Vaskularisation bis in die Peripherie ausgehend von der Hauptgefäßachse mit der Bildung zellreichen Granulationsgewebes nach arteriovenöser Schleifenanlage. Die vorkultivierte lokale Applikation erbrachte hierbei eine höhere Gefäß- und Zelldichte mit einer homogenen Vaskularisation bis in die Peripherie im Vergleich zur direkten lokalen Applikation. Interessanterweise konnte in diesen Versuchsgruppen eine frühere Vaskularisation im Vergleich zur Kollagen-Elastin-Kontrolle nachgewiesen werden. Zu den späten Zeitpunkten offenbarte sich in den Versuchsgruppen nach mesenchymaler Stromazellbehandlung jedoch eine signifikant geringere Vaskularisation gegenüber der Kollagen-Elastin-Kontrolle. Nach der lokalen Behandlung mit mesenchymalen Stromazellen konnte eine frühe Migration von Zellen vor allem in der Nähe der Hauptgefäße beobachtet werden, während es bei der Kollagen-Elastin-Kontrolle zu einem gleichmäßigen Anstieg der Zellanzahl kam. Die Veränderung der Zellmigrationskinetik und Angiogenesecharakteristik könnte im Zusammenhang mit einem veränderten Hypoxiegradienten interpretiert werden, der bereits bei Anlage der arteriovenösen Schleife durch die mesenchymalen Stromazellen hervorgerufen wird. Dieser könnte eine frühe Vaskularisation und Zellmigration bedingen. Hierneben wäre die Aktivierung des Immunsystems durch die xenogenen Zellen ein möglicher Erklärungsansatz für die frühe Zellmigration.

Nach immunhistochemischer Antikörperfärbung sowie nach Markierung mit einem lipophilen Fluoreszenzfarbstoff gelang indes ein Nachweis humaner Stromazellen zu jedem Zeitpunkt bis Tag 28 nach Anlage der arteriovenösen Gefäßschleife. Es konnte eine Abnahme der mesenchymalen Stromazellen insbesondere zu den frühen Zeitpunkten von Tag 2 bis Tag 14 beobachtet werden. Hierbei kam es interessanterweise bei der vorkultivierten Applikation zu einer geringen Zunahme der mesenchymalen Stromazellen von Tag 14 zu Tag 28. Die Kinetik der Stromazellanzahl kann zum einen Hypoxie-bedingt und zum anderen durch eine aktivierte Immunantwort

interpretiert werden. Hieran beteiligt waren Makrophagen und T-Zellen, wobei sich unter anderem eine TH17 vermittelte Reaktion nachweisen ließ. Insgesamt ergab sich in der Immunfluoreszenzfärbung ein Nachweis vitaler mesenchymaler Stromazellen bis Tag 28. Das arteriovenöse Schleifenmodell gewährleistete somit die Kultivierung humaner Stromazellen zusammen mit der Ausbildung eines ausgereiften vaskularisierten Gewebekonstrukts.

Dies ist vor allem in Bezug auf eine klinische Anwendung, wie bei der Behandlung chronischer Weichteildefekte, von Interesse. Einerseits könnte hier das Gewebekonstrukt selbst zur Weichteildeckung verwendet werden. Andererseits könnten die enthaltenen mesenchymalen Stromazellen eine langfristige Wirkung auf die Wundheilung ausüben. In der vorliegenden Abhandlung konnten Vorteile einer vorkultivierten lokalen Applikation hinsichtlich der Vitalität mesenchymaler Stromazellen und der Vaskularisation des Gewebekonstrukts gegenüber einer direkten lokalen Applikation gezeigt werden. Zusammenfassend besitzt das vorliegende Modell Potenzial bei der Untersuchung und Weiterentwicklung des vaskulären Tissue Engineerings zur klinischen Anwendung humaner mesenchymaler Stromazellen.