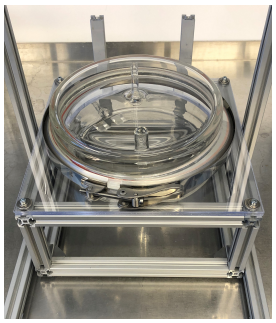
Automatische Konservierung von humanen Gewebe für den klinischen Einsatz

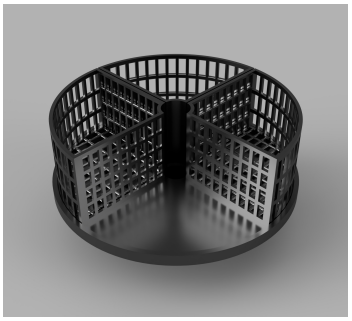
B.Eng, Felix Schmitz, Dr. Klaus Barthel, Dr. Oliver Bloch
Auto Tissue Berlin GmbH

Hintergrund

Die Gewebespende von Mensch zu Mensch (Homograft) trägt bereits seit über 100 Jahren (1) dazu bei Erkrankungen und Verletzungen erfolgreich zu behandeln. Um die Funktionsfähigkeit der Spendergewebe zu erhalten und eine langfristige Lagerung zu ermöglichen wird primär die Methode der Kryokonservierung angewendet. Hierbei werden die Gewebe in Frostschutzmittel und flüssigem Stickstoff auf unter -130 °C heruntergekühlt und gelagert. Mit dieser Methode können die Zellen und Gewebestrukturen nicht optimal erhalten werden. Zusätzlich führen die umständlichen Lagerungs- und Transportbedingungen zu einer reduzierten Verfügbarkeit der Spendergewebe. Eine Alternative stellt die Konservierung durch Dezellularisierung dar. Bei dieser Methode werden alle Zellen aus dem Gewebe entfernt, dieses muss nicht für die Lagerung eingefroren werden und ist im Kühlschrank nach aktuellem Wissensstand bis zu 24 Monate haltbar.



Erster Entwurf eines möglichen Reaktor-gefäßes



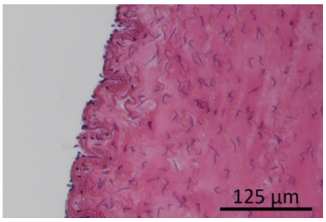
CAD Design eines möglichen Gewebebehälters für den Reaktor

Durchführung

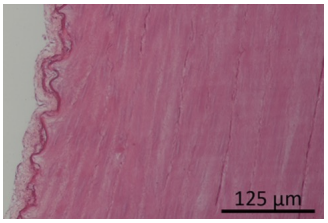
In diesem Projekt soll eine Apparatur zur Konservierung von humanen Spendergeweben mittels Dezellularisierung erforscht werden. Die Apparatur soll dabei aus einer adaptiven Kammer bestehen, in welche die Gewebe zur Behandlung eingebracht werden. Die Kammern variieren je nach Gewebetyp (Herzklappen, Blutgefäße, Herzbeutel, Haut und Augenhornhäute), um eine optimale Konservierung sicherzustellen. Die Kammern werden an einen Pumpkreislauf angeschlossen, welcher für eine optimale Umspülung der Gewebe mit den entsprechenden Lösungen sorgt. Zu beachtende, zu messende und zu dokumentierende Parameter für die Konservierung sind die Volumenströme, Drücke, Füllstände, Volumen, Konzentrationen, Temperaturen, pH-Werte, Sterilität, Schaumbildung, etc. Sobald die Gewebe in die Apparatur eingebracht und das Gerät mit sterilen Lösungen beladen wurde, soll die Konservierung der Gewebe vollautomatisch erfolgen. Am Ende kann ein steriles und haltbares Produkt direkt aus der Anlage in einen Kühlschrank überführt werden, wo es für mehrere Jahre lagerungsfähig ist und bei Bedarf unmittelbar zur Verfügung steht.

Konservieren durch Dezellularisieren biologischer Gewebe

Eine Alternative zur Krykonservierung der Spendergewebe könnte die Methode der Dezellularisierung mit anschließender Sterilisation darstellen. Bei der Dezellularisierung werden die Zellen durch chemische, physikalische und/ oder enzymatische Prozesse vollständig aus dem Gewebe entfernt, wobei die Gewebestruktur (die extrazelluläre Matrix: EZM), mit ihren mechanischen und strukturellen Eigenschaften erhalten bleibt. Dieser Prozess muss für jeden Gewebetyp individuell erstellt und etabliert werden. Ein solcher Prozessen besteht aus einer Vielzahl von verschiedenen aufeinander abgestimmten Schritten, die in ihrer Summe in der Lage sind die Gewebe vollständig zu dezellularisieren. Bei der Dezellularisierung werden die Zellen und zellulären Strukturen in einem ersten Schritt aufgebrochen, um sie dann in den weiteren Schritten gezielt, durch Diffusion und Extraktion, vollständig aus dem Gewebe zu entfernen.



Histologischer HE gefärbter Schnitt einer bovinen Karotide. Deutlich zu erkennende Zellrückstände. (4)



Histologischer HE gefärbter Schnitt einer dezellularisierten bovinen Karotide. Keine erkennbaren Zellrückstände. (4)

Diese Art der Konservierung weist deutliche Vorteile gegenüber der Kryokonservierung auf. Durch die Dezellularisierung der Spendergewebe werden Abstoßungsreaktionen-auslösende Strukturen auf den Oberflächen der Zellen mit den Zellen zusammen entfernt, was die Implantation der Gewebe in jeglichen Empfänger (unabhängig vom HLA- und Blutgruppensystem) ermöglicht und entsprechend die Verträglichkeit verbessert (2). Auf diese Weise behandelte Homografts müssen unter Umständen nicht ausgetauscht werden (Haltbarkeit kryokonservierter Homografts ca. 15 Jahre (3)) und bleiben für die restliche Lebensdauer des Patienten funktionstüchtig. Die Bereitstellung einer Apparatur für die automatisierte Konservierung von Spendergeweben in Kliniken und Gewebebanken könnte die Verfügbarkeit dieser maßgeblich erhöhen und jedes Jahr eine Vielzahl von Leben retten oder verbessern.

Zusätzlich wäre eine solche Apparatur auch für die Forschung in Kliniken attraktiv, da durch die Automatisierung der Personalaufwand, der für solche Prozesse notwendig ist, deutlich reduziert werden kann. Somit ist es leichter diese Prozesse zu Implementieren. Weiterhin ist es leichter mit den automatisierten Prozessen reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen, die für eine spätere klinische Anwendung unabdingbar sind.

Ziel des Projekts

In diesem Projekt soll eine Apparatur erforscht werden, in der Spendergewebe eingebracht und vollautomatisch nach einem definierten Verfahren (z.B. dem patentierten Verfahren der Auto Tissue Berlin GmbH) dezellularisiert und sterilisiert werden kann. Im Vergleich zur Kryokonservierung werden dabei alle Spenderzellen und zellulären Bestandteile entfernt, um die Verträglichkeit des Spendergewebes maßgeblich zu erhöhen. Gleichzeitig wird die Gewebestruktur nicht beschädigt und die Wiederbesiedlung mit körpereigenen Zellen begünstigt. Die Verfügbarkeit einer solchen Apparatur und eines entsprechenden Verfahrens würde es Gewebebanken und Kliniken ermöglichen Spendergewebe schnellstmöglich und vollautomatisch unter Berücksichtigung aller gesetzlichen Vorgaben und Richtlinien aufzuarbeiten. Gleichzeitig haben Gewebebanken und Kliniken die Möglichkeit eigene Verfahren für spezielle Gewebe zu etablieren. Am Ende steht ein sterilisierter Homograft, welcher für mindestens zwei Jahre im Kühlschrank direkt im OP Bereich gelagert werden kann und somit jederzeit bei Bedarf zur Verfügung steht.

Quellenangaben
1) Blesin JM. **DGFG Jahresbericht 2019**. Deutsche Gesellschaft für Gewebetransplantation mbH. Hannover 2020.
2) Urciuolo A, De Coppi P. **Decellularized tissue for muscle regeneration**. Int J Mol Sci. 2018;19(8):1-11.
3) Kilian E, Fries F, Kowert A, Vogt F, Kreuzer E, Reichart B. **Homograft implantation for aortic valve replacement since 15 years: Results and follow-up**. Heart Surg Forum. 2010;13(4):238-42.
4) Daugs A, Hutzler B, Meinke M, Schmitz C, Lehmann N, Markhoff A, Bloch O. **Detergent-Based decellularization of bovine carotid arteries for vascular tissue engineering**. Ann Biomed Eng. 2017;45(11):2683-92.

EUROPÄISCHE UNION
Europäischer Fonds für regionale Entwicklung

Dieses Projekt wurde kofinanziert durch den Europäischen Fonds für regionale Entwicklung (EFRE).