

Hochdruck-behandelte Knorpel- und Faszientransplantate zur Rekonstruktion von Gewebedefekten in der Kopf-Hals-Chirurgie: *In vitro*-Charakterisierung der Zellvitalität, Morphologie und Biomechanik

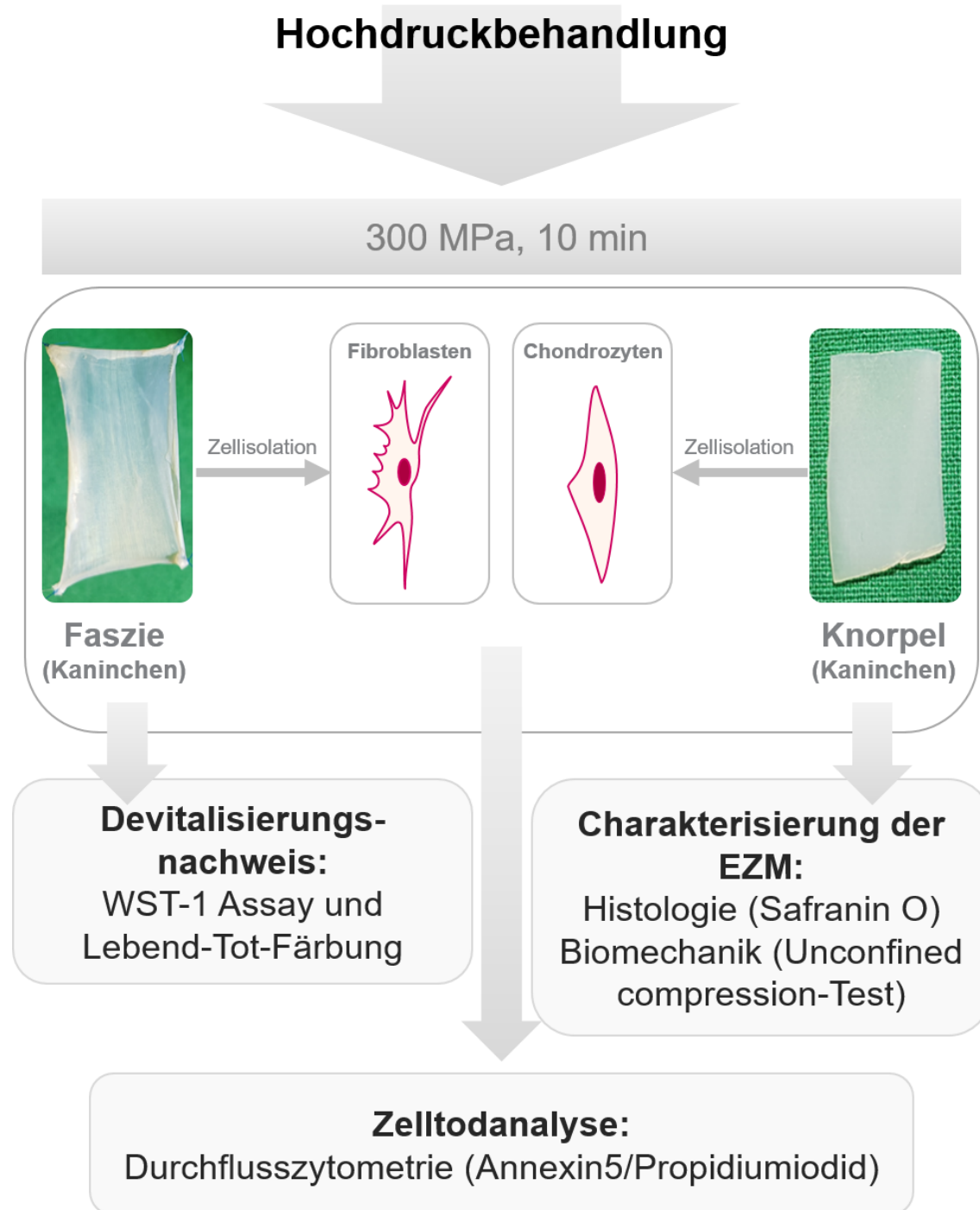
F. Poosch¹, L. Kirchner¹, J. Waletzko², M. Schulze³, A. Jonitz-Heincke⁴, M. Dau², A. Springer⁵, M. Seidenstücker⁶, R. Bader⁴, D. Strüder¹, R. Mlynski¹

Universitätsmedizin Rostock: ¹ Klinik und Poliklinik für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Kopf- und Halschirurgie "Otto Körner"; ² Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und plastische Gesichtschirurgie; ³ Institut für Anatomie; ⁴ Orthopädische Klinik und Poliklinik, Forschungslabor für Biomechanik und Implantattechnologie; ⁵ Institut für Pathologie, Elektronenmikroskopisches Zentrum; Universitätsklinikum Freiburg; ⁶ Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie, Labor für muskuloskeletale Forschung

Einleitung

Mit der zunehmenden Bedeutung der regenerativen Medizin ist der Bedarf von Allografts in der Kopf-Hals-Chirurgie stetig gestiegen. Die konventionelle Gewebeaufbereitung ist allerdings invasiv und führt zur Schwächung der biomechanischen Eigenschaften. Im Gegensatz dazu hat die hydrostatische Hochdrucktechnologie das Potential, Knorpel und Faszien zu devitalisieren und trotzdem eine biomechanisch stabile extrazelluläre Matrix (EZM) zu erhalten.

Material & Methoden



Ergebnisse - Faszie

Nachweis der Devitalisierung



Abb. 1: Analyse der ausgewachsenen Fibroblasten nach der Hochdruckbehandlung und 2-wöchiger Inkubation der Faszienstücke a/b: Lebend-Tot-Färbung mit Calcein-Acetoxy-methylester (grüne Fluoreszenz: vitale Zellen) und Ethidium-Homodimer (rote Fluoreszenz: tote Zellen), Messbalken: 100 µm c: WST-1 Assay: n ≥ 3, * p < 0,05 (Mann-Whitney-U-Test)

- keine vitalen Zellen (Abb. 1a/b)/keine Stoffwechselaktivität (Abb. 1c) nach Behandlung mit 300 MPa nachweisbar

Durchflusszytometrische Analyse

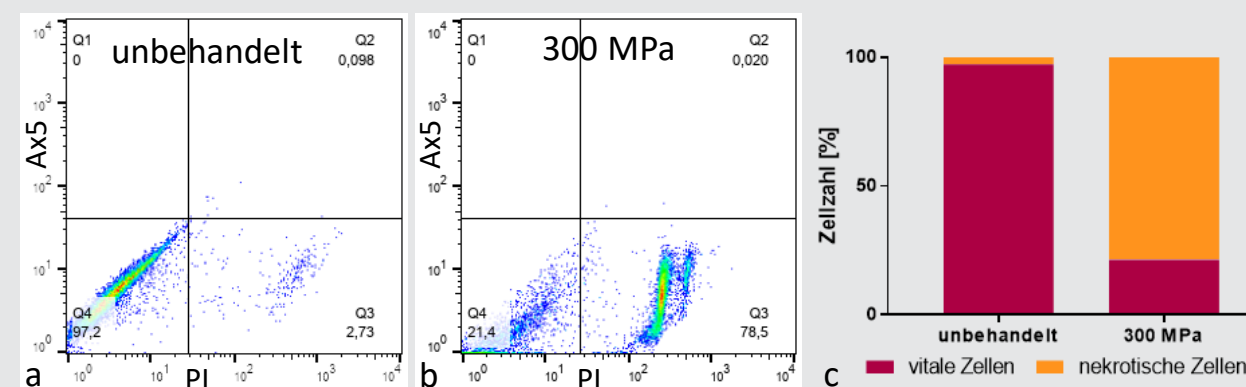


Abb. 2: Durchflusszytometrische Analyse der zuvor aus *Fasciae latae* isolierten und hochdruckbehandelten Fibroblasten mit Hilfe von Ax5/PI a/b: Nachweis der Art des Zelltodes (Ax5: Apoptose, PI: Nekrose) c: Darstellung des prozentualen Anteils vitaler und nekrotischer Zellen

- Reduktion des Anteils vitaler Zellen nach Druckbehandlung von 97 auf 21 %

Schlussfolgerung

- Faszien werden durch die Hochdruckbehandlung mit 300 MPa vollständig devitalisiert.
- Die Struktur und die Biomechanik der Knorpel bleiben auch nach der Hochdruckbehandlung mit 300 MPa weitgehend erhalten.
- Der Zelltod von Fibroblasten und Chondrozyten ist abhängig vom angelegten Druck und bei 300 MPa überwiegend nekrotisch.

Ergebnisse - Knorpel

Charakterisierung der EZM

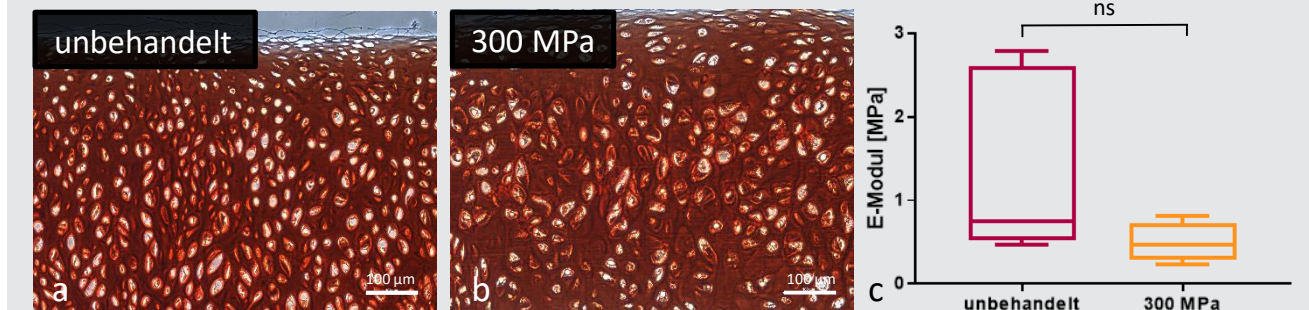


Abb. 3: Charakterisierung der EZM nach der Hochdruckbehandlung von Knorpel a/b: Safranin O-Färbung, Messbalken: 100 µm c: Darstellung des durch den Unconfined compression-Test ermittelten E-Moduls der Knorpelstücke. n ≥ 3, Mann-Whitney-U-Test, ns: nicht signifikant

- keine wesentlichen Unterschiede der Matrixintegrität und des E-Moduls durch Hochdruckbehandlung

Durchflusszytometrische Analyse

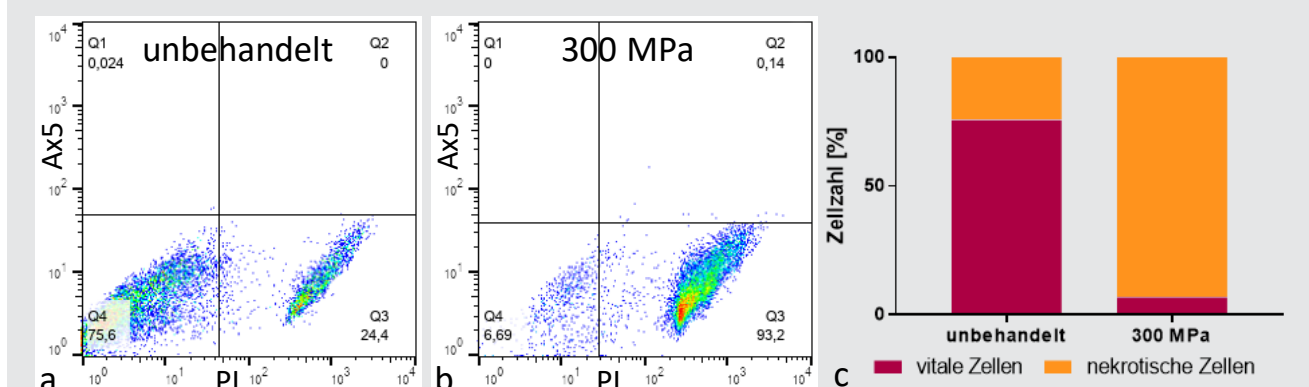


Abb. 4: Durchflusszytometrische Analyse der zuvor aus Knorpel isolierten und hochdruckbehandelten Chondrozyten mit Hilfe von Ax5/PI a/b: Nachweis der Art des Zelltodes (Ax5: Apoptose, PI: Nekrose) c: Darstellung des prozentualen Anteils vitaler und nekrotischer Zellen

- Reduktion des Anteils vitaler Zellen nach Druckbehandlung von 76 auf 7 %