Klinik und Poliklinik für Allgemeine Chirurgie, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie - AG Prädiktive Diagnostik

Arbeitsgruppe Prädiktive Diagnostik

Die Arbeitsgruppe Prädiktive Diagnostik der Klinik und Poliklinik für Chirurgie (Leitung: PD Dr. Michael Schlosser) untersucht die lokalen und systemischen Entzündungs- und Immunreaktionen nach Implantation von Biomaterialien, wie z.B.

- Titan-basierten Implantaten mit verschiedenen Oberflächenmodifikationen
- Implantate aus synthetischen Polymeren wie Polyester- und PTFE-basierte Gefäßprothesen mit unterschiedlichen Beschichtungen wie Kollagen, Albumin u.a.
- resorbierbare Materialien, wie z.B. keramische Implantate aus Hydroxylapatit, PLA-basierte Vliese und natürliche Polymere wie Kollagen-Matrizes

Die Untersuchungen betreffen zum einen die morphometrische histologisch-immunhistochemische Differenzierung der lokalen Entzündungsreaktionen sowie von Regenerationsprozessen im Periimplantatgewebe und zum anderen den Nachweis von Implantat-spezifischen Antikörpern sowie die Analyse des Serumprofils pro- und anti-inflammatorischer Zytokine zur Analyse von systemischen Reaktionsmustern im zeitlichen Verlauf.

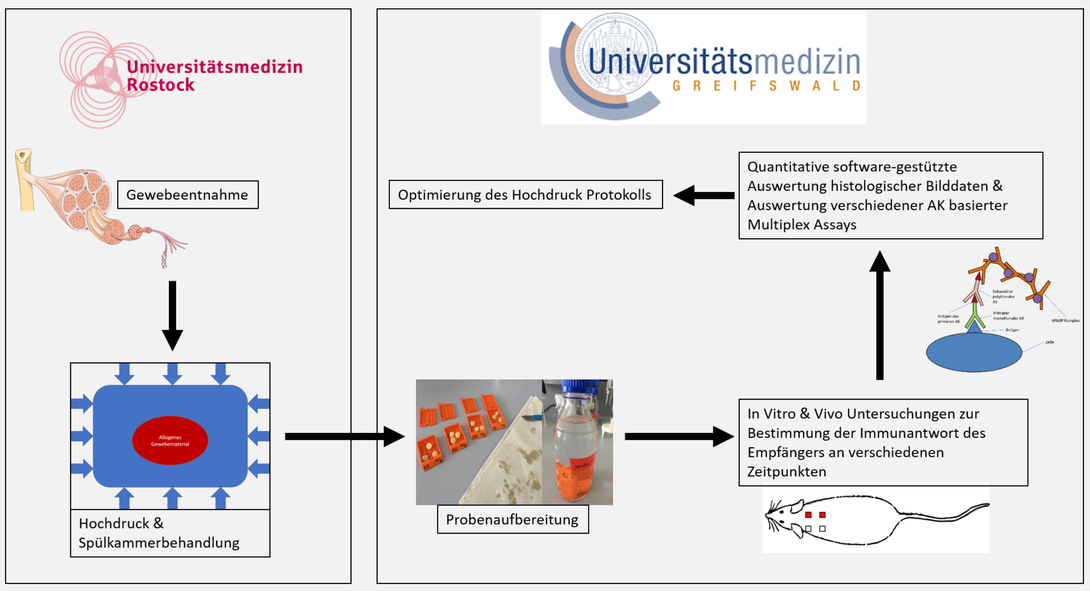
***HOGEMA**: **HO**chdruck **GE**webe **MA**terialien*

„Erforschung neuartiger Ansätze zur Bereitstellung allogener Gewebeersatzmaterialien auf Basis der hydrostatischen Hochdruckbehandlung“

Die Hydrostatische Hochdrucktechnologie (HHD) bietet Möglichkeiten, verschiedene Gewebe unterschiedlichem Ursprungs schnell und schonend zu devitalisieren, ohne dabei deren strukturellen Eigenschaften negativ zu beeinflussen. Die HHD-Technologie soll die Behandlung von Gewebedefekten mit allogenem Transplantatgewebe ermöglichen und dazu genutzt werden, neue Perspektiven für die Aufbereitung von humanen Allografts aus Stütz- (Knochen, Knorpel) und Bindegewebe (Faszie) zu schaffen. Im Bereich der Regenerativen Medizin stellt diese Technologie somit einen wesentlichen Fortschritt zu derzeitigen Verfahren dar. Hierfür soll die Technologieplattform in Form eines Spülsystems erweitert werden, um das devitalisierte Gewebe nach erfolgter HHD-Behandlung schonend und effizient von Zell- und Geweberesten zu befreien, um dieses als strukturell und biomechanisch stabiles Allograft-Transplantat nutzen zu können. Innerhalb des Verbundvorhabens HOGEMA sollen die Gewebe nach der Prozessierung umfangreich in der Zellkultur sowie in tierexperimentellen Studien charakterisiert werden, um die Machbarkeit für die spätere klinische Applikation zu prüfen. Mit dem vorgestellten Forschungsvorhaben soll somit ein Grundstein für eine zukünftige Translation in den klinischen Alltag gelegt werden.

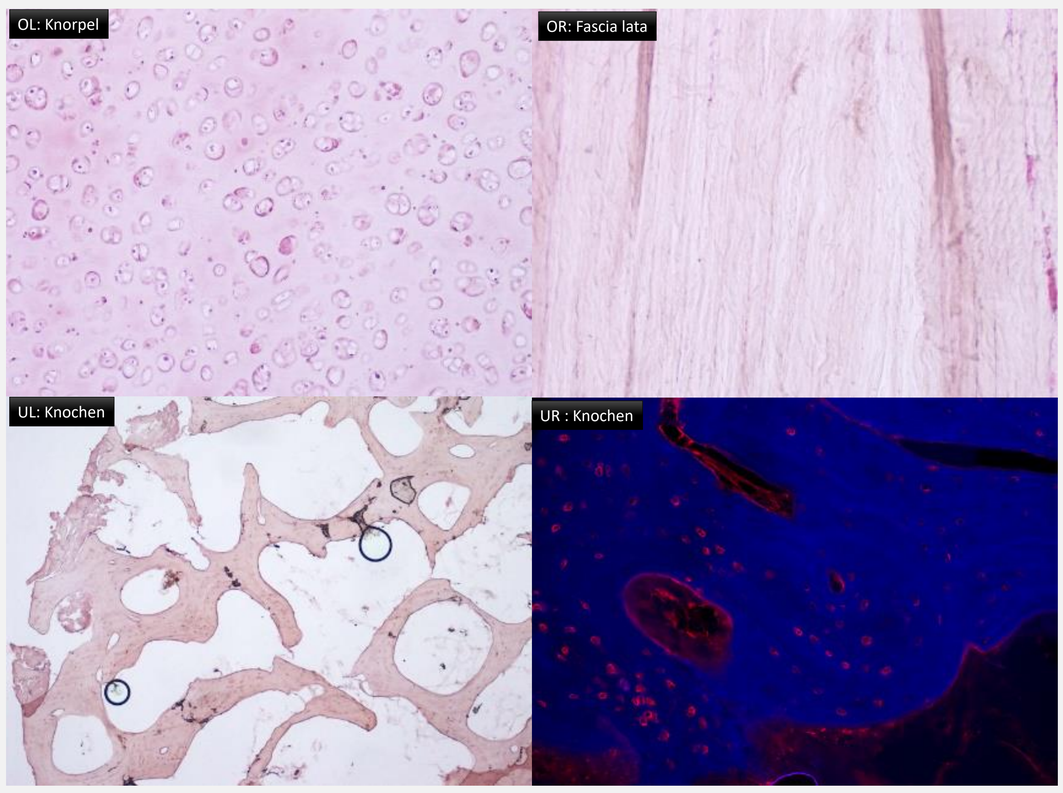
Das Projekt HOGEMA verfolgt folgende Hauptziele:

- Bereitstellung von mittels Hochdruck dezellularisierten und sterilisierten Gewebeallografts für Knochen, Knorpel und Faszie
- Entwicklung eines Spülkammersystems
- Translation des Systems in die klinische Applikation

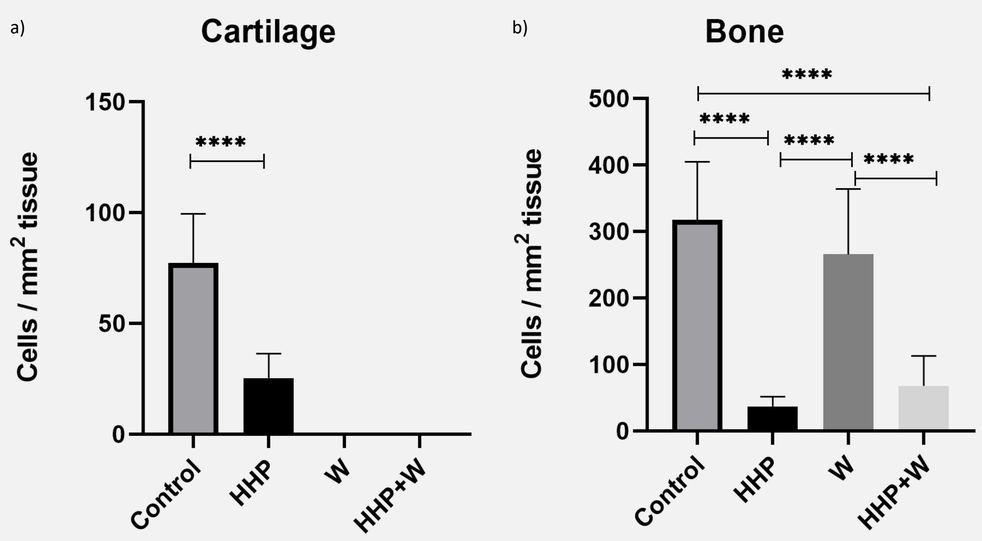


Quantitative (immun)histologische Bildauswertung

Zur Differenzierung der lokalen Entzündungs- und Immunreaktionen im Tiermodell Ratte ist die intramuskuläre Implantation der HHD-behandelten und dezellularisierten Proben im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen vorgesehen. Für die Analyse der lokalen Gewebereaktion ist die simultane Implantation von bis zu vier Proben pro Versuchstier möglich. Die Explantation der Proben mit dem Peri-Implantatgewebe erfolgt 7, 14 und 56 Tage nach Implantation (n=8 Tiere/Zeitpunkt). Dieses Studiendesign umfasst die akute und die chronische Phase der lokalen Gewebereaktionen und beruht auf Erfahrungen aus vorherigen Untersuchungen. Nach der Explantation werden Kryostatschnitte histochemisch (HE, Fluoreszenz) und immunhistochemisch (verschiedene Entzündungs- und Immunzellen, Regenerationsmarker Nestin und Proliferationsmarker Ki-67) gefärbt. Durch digitale Bildanalyse mikroskopischer Aufnahmen erfolgt die Quantifizierung mittels Zellzählung bzw. Flächenmessung. Abweichend vom obigen Studiendesign ist auch eine Einzelimplantation entsprechender Proben möglich. Dies ermöglicht neben der Untersuchung der lokalen Gewebereaktionen auch wöchentliche Blutabnahmen und damit eine Analyse systemischer Parameter wie Implantat-spezifischer Antikörper sowie die Differenzierung von inflammatorischen Zytokinen im Serum.



Representative histologische Aufnahmen von Knorpelgewebe HE gefärbt 10x Vergrößerung (OL), Fasziengewebe HE 20x Vergrößerung (OR), Knochengewebe HE 4x Vergrößerung (UL), Knochengewebe, fluoreszenzbasiertes DAPI/TUNEL-Assay 40x Vergrößerung (UR).



Vergleich der detektierten Zellen pro Gewebefläche im a) Knorpel- und b) Knochengewebe in unbehandeltem Kontrollgewebe (Control), mit Hochdruck behandeltem Gewebe (HHP; 450mPa für Knorpel, 250 mPa für Knochen), mit Spülkammer behandeltem Gewebe (W) sowie mit einer Kombination aus hydrostatischem Hochdruck und Spülkammer behandeltem Gewebe (HHP+W). Biologische Replikate: Knorpel n=3; Knochen n=3-5.

„HHD erwies sich als vielversprechende Methode, allogenes Gewebematerial matrixschonend zu dezellularisieren.“