

Einleitung

Der Herzklappenersatz ist nach der koronaren Bypassoperation die am häufigsten durchgeführte Herzoperation. Es gibt mechanische und biologische Herzklappen.

Mechanische Herzklappen, die 1951 von Hufnagel und Kollegen erstmalig klinisch implantiert wurden, bringen erhebliche Einschränkungen für Patienten mit sich (1). Diese sind aufgrund der lebenslangen Antikoagulation sowohl durch thromboembolische Komplikationen als auch durch Blutungen gefährdet. Die Blutungsgefahr liegt zwischen 0,5% (2) und 30% (3) pro Patient und Jahr. Eine Studie von Casselman et al wies nach, dass nach 30 Jahren suffizienter Antikoagulation bei lediglich 23,3% der Patienten keine der beschriebenen Komplikationen auftraten (4). Aufgrund dieser Problematik musste nach Alternativen gesucht werden, bei denen auf eine dauerhafte Antikoagulation verzichtet werden kann.

Über die erste klinische Implantation einer biologischen Herzklappe berichtete Murray im Jahre 1955. Hierbei wurde eine menschliche Aortenklappe, ein sogenannter Allograft, in die Aorta descendens implantiert (5). 1968 beschrieben Bentall und De Bono (6) den kompletten Ersatz der Aortenklappe und der Aorta ascendens. Klinische Nachuntersuchungen zeigten, dass eine in Antibiotika konservierte humane Herzklappe eine gute hämodynamische Funktion aufweist (7,8). Die Herzklappensegel sind für lange Zeit zart. Kommissuren und Aortenwand zeigen jedoch bereits nach kurzer Zeit Verkalkungen (9). Wegen der klinischen Vorteile, insbesondere bei der Operation angeborener Herzfehler, bei jungen Patienten, sowie aufgrund guter Ergebnisse bei der Operation der akuten Klappenendokarditis, nahm die Nachfrage nach Allografts ständig zu. Herzklappen menschlichen Ursprungs stehen lediglich in einer begrenzten Anzahl zur Verfügung und es entstand eine Diskrepanz zwischen Angebot und Nachfrage. Das führte dazu, dass diese Herzklappen heutzutage fast ausschließlich für Kinder verwendet werden (10).

Eine weitere Einschränkung der Anwendung von Allografts besteht in operativ technischen Schwierigkeiten bei der Implantation. Da kein Gerüst vorhanden ist, können erhebliche Probleme bei der exakten anatomischen Anpassung auftreten.

Um diese Nachteile und Schwierigkeiten zu umgehen, wurden biologische Herzklappen auf der Basis tierischen Gewebes, sog. Xenografts entwickelt. Das brachte den Vorteil, dass diese Herzklappen die Nachfrage decken konnten und eine große Skala

unterschiedlicher Klappengrößen zur Verfügung stand. Bei der Entwicklung der Xenografts, mussten verschiedene Probleme wie optimale Konservierung und Vermeidung von Abstoßungsreaktionen gelöst werden. Außerdem war die Herzklappe so zu gestalten, dass eine möglichst einfache Implantation möglich wurde. Die ersten Xenografts wurden mit Formalin fixiert. Hierbei zeigten sich bereits nach relativ kurzer Zeit Probleme (11,12,13), die auf die Instabilität der Konservierungsmethode zurückzuführen sind (14). Carpentier (15) und Hancock (16) führten gleichzeitig die Anwendung von Glutaraldehyd ein. Dies brachte eine deutliche Verbesserung der Stabilität des Kollagen. Außerdem wurden keine immunologischen Reaktionen gesehen und die Inzidenz thromboembolischer Komplikationen war gering. Carpentier implantierte Ende der sechziger Jahre bei Patienten mit kongenitalen Vitien diese glutaraldehydfixierten Schweineherzklappen (15). Durch Verbesserungen des Gerüsts, indem kein starres sondern ein flexibles Gerüst eingeführt wurde, konnten die früh- und mittelfristigen Funktionswerte deutlich verbessert werden (17,18). Die Langzeitergebnisse zeigten jedoch erhebliche Veränderungen sowohl an der Herzklappenwand als auch am Klappensegel (19,20,21). Besonders ausgeprägt waren diese Veränderungen bei Kindern (22,23,24). Carpentier beschrieb in einer Veröffentlichung das Problem und empfahl, bei Kindern nicht länger glutaraldehydfixierte Herzklappen einzusetzen (15). Das Gleiche wurde auch bei dialysepflichtigen Patienten gesehen, daher wird bei dieser Patientengruppe der Einsatz von Bioprothesen ebenfalls nicht empfohlen (25).

Ionescu (26,27) führte in 1973 eine neue Generation von Xenografts aus Rinderperikard ein, welches ebenfalls mit Glutaraldehyd fixiert und auf ein Gerüst montiert wurde. Die so entstandenen Klappensegel waren im Vergleich zu nativen Schweineherzklappensegeln sehr homogen und zeigten eine überlegene hämodynamische Funktion. Die frühpostoperativen Nachuntersuchungen ergaben gute Resultate (28,29). Die Langzeitergebnisse zeigten jedoch Rupturen von Klappensegeln (30) und ein Überwachsen von entzündlichem Gewebe, welches zur Schrumpfung der Segel führte (31,32,33).

Weitere Verbesserungen der Bioprothesen bestanden einerseits in der Entwicklung von Herzklappen ohne Verwendung eines Gerüsts und andererseits in der Anwendung chemischer Verbindungen zum Neutralisieren des Glutaraldehyd.

Die freie Aldehydgruppe der Fixierungslösung Glutaraldehyd war ein erster Ansatzpunkt. Verschiedene Studien wurden durchgeführt, bei denen Substanzen, die freie Aldehydgruppen binden (34,35,36,37), zum Einsatz kamen.

Die Anwesenheit von Membranphospholipiden ist ein weiterer wichtiger ursächlicher Faktor für Verkalkungen (38). Das Entfernen dieser Phospholipide konnte zu einer weiteren Verbesserung führen.

Eine dritte These erklärt, dass durch die Anwesenheit von devitalisierten Zellen ohne funktionsfähige Kalziumpumpe die Möglichkeit besteht, dass Kalziumphosphatkristalle gebildet werden können (39,40).

Alle diese Techniken, sowohl einzeln angewendet, als auch in Kombination haben das Problem der Verkalkung biologischen Gewebes bisher nicht zufriedenstellend lösen können. Bei den Bioprothesen bestand also weiter Forschungs- und Entwicklungsbedarf. Hierbei bieten Techniken des Tissue Engineering eine hervorragende Plattform. Tissue Engineering beinhaltet die Herstellung einer Matrix, die dann *in vitro* oder *in vivo* mit patienteneigenen Zellen besiedelt wird. Diese lebenden patienteneigenen Zellen ermöglichen, analog zur natürlichen Herzklappe, Wachstum und Reparaturvorgänge am implantierten Gewebe. Um die Effektivität des Tissue engineering nachzuweisen erschien es vorteilhaft eine Matrix auf biologischer Grundlage zu entwickeln. So konnte frei von zusätzlichen Imponderabilien, wie sie bei der Anwendung synthetischer, biodegradierbarer Matrizen beobachtet wurden (41) der Effekt der Besiedlung herausgearbeitet werden. Es wurde ein Dezellularisierungsverfahren für biologisches Gewebe entwickelt. Dieses Gewebe, frei von Zellen und toxischen Rückständen des Verfahrens, erlaubt eine *in vitro* Besiedlung mit Endothelzellen.

Mit der Herstellung dieser Matrix ist es möglich, erstmals alle negativen Faktoren der konventionellen Bioprothesenherstellung gleichzeitig auszuschalten. Da die Matrix ohne Verwendung von Glutaraldehyd hergestellt wird, brauchen die freien Aldehydgruppen nicht neutralisiert zu werden. Weiterhin ist die Matrix frei von Membranphospholipiden, da alle Zellen aus dem Gewebe entfernt wurden. Hierdurch wird ebenfalls die Bildung von Kalziumphosphatkristallen unterbunden.

Der Dezellularisierungsprozess darf nicht zu aggressiv sein, da sonst das Kollagen-Elastin Gerüst der Klappenmatrix beschädigt wird. Dies würde einen erneuten Ansatz zur Gewebeverkalkung bieten und die Stabilität der Herzklappe gefährden (42,43). Da die Matrix mit den äußerst empfindlichen Endothelzellen besiedelt werden soll, muss sie frei von allen toxischen Rückständen des Dezellularisierungsvorganges sein.

Die vorliegende Arbeit beschreibt :

1. die Entwicklung eines geeigneten Tiermodells,
2. Untersuchungen zum Überleben von Endothelzellen während eines Transportes, was für die Logistik bei der Anwendung wichtig ist,
3. hämodynamische *in vitro* Eigenschaften einer dezellularisierten Herzklappe von Schwein,
4. die Evaluation des neuartigen Implantats im Tiermodell,
5. die Einführung der Dezellularisierungstechnologie mit anschließender *in vitro* Besiedlung mit autologen Endothelzellen in die Klinik.

In Bereich der Herzchirurgie konnte somit erstmals eine Herzklappenprothese implantiert werden, die mit Methoden des Tissue Engineering hergestellt wurde.