

Diskussion

Methoden der Plasmagewinnung

Die Standardmethode autologen Fibrinkleber in Blutbanken herzustellen ist fibrinogenreiches Kryopräzipitat aus autologem Plasma zu isolieren (Dresdale, Rose et al. 1985). Der entscheidende Vorteil dieser Methode ist, dass sie die Fällung des Fibrinogens ohne die Beimengung anderer Stoffe zum Plasma erlaubt. Bei entsprechenden Voraussetzungen ist auch das Arbeiten im geschlossenen System möglich, welches ein Höchstmaß an Sicherheit im Hinblick auf Kontamination gewährleistet (Spotnitz, Mintz et al. 1987; Kjaergard, Weis-Fogh et al. 1992). Die Art und Weise Kryopräzipitat herzustellen variiert im Detail zwischen den einzelnen Herstellern (Gammon, Avery et al. 1998). Obwohl die gebräuchlichste Quelle zur Fibrinogengewinnung die Verwendung von Gefrierfrischplasma (FFP) darstellt, wurden auch Methoden beschrieben Fibrinogen mittels Plasma aus manueller Blutentnahme (Park, Siedentop et al. 1997), Plasmapherese (Komatsu and Yoshida 2001), perikardialem Blut (Kjaergard, Weis-Fogh et al. 1993), intraoperativ gewonnenem plättchenarmem Plasma (Quigley, Perkins et al. 1993) oder auch aus plättchenreichem Plasma zu gewinnen (Oz, Jeevanandam et al. 1992; Takakura, Kurosawa et al. 1994).

Präparation der Fibrinogenkomponente

Die zu Beginn verwendete Methode zur Präparation der Fibrinogenkomponente in einem geschlossenen System mittels Kryopräzipitation im Plasmabeutel ist als Routineverfahren in der Transfusionsmedizin etabliert (Radosevich, Goubran et al. 1997). Aus diesem Grund wurde dieses Vorgehen zunächst als gut in das Gesamtkonzept zu integrierende Methode ausgewählt. Nach einer ersten Versuchsreihe, erschien eine Trennung des Fibrinogens vom Überstandsplasma mit einem angemessenen Reinheitsgrad nach dieser Methode jedoch nicht ohne weiteres möglich. Ist für eine klinische weitere Aufarbeitung zu Cohnfraktionen eine weitgehend reine Trennung des Kryopräzipitates vom Plasmaüberstand nicht unbedingt notwendig, so kann bei der Thrombinpräparation ein zu hoher Fibrinogengehalt im Überstandsplasma zu einer Fibrinbildung in der Chromatographiesäule führen und diese unbrauchbar machen. Darüberhinaus führt

ein zu hoher Plasmagehalt im Kryopräzipitat zu einer zu geringen Fibrinogenkonzentration in der Fibrinogenkomponente des Klebers, die sich wiederum negativ auf die Festigkeit der Fibrinmatrix auswirkt (Laitakari and Luotonen 1989). Für die Präparation einer Fibrinmatrix im Tissue Engineering wurde deshalb das im Ergebnisteil beschriebene angepasste Verfahren der Kryopräzipitation im Falconröhrchen gewählt.

Entwicklung von Herstellungsverfahren zur Thrombingewinnung - offenes versus geschlossenes Systeme.

Da von Beginn an eine klinische Anwendbarkeit der autologen Fibrinmatrix angestrebt wurde, sollte ein Herstellungsprozess entwickelt werden der ein Arbeiten unter sterilen Bedingungen erlaubt, einfach zu handhaben ist, einen geringen gerätetechnischem Aufwand benötigt, in angemessener Zeit durchführbar ist und reproduzierbare Ergebnisse liefert.

Im ersten Ansatz in dem ein Einmalbeutelset entwickelt wurde, stand die einfache Handhabung unter Einhaltung der Sterilität im Vordergrund. Das entwickelte Set bedurfte nur weniger Arbeitsschritte und erlaubte auch ein Arbeiten außerhalb der Sterilbank. Mit den zur Verfügung stehenden Mitteln konnte jedoch nur ein Set entwickelt werden welches technisch nicht ausgereift war und welches eine sehr hohe Schwankungsbreite der Thrombinaktivität zwischen 0,4 und 600 NIH zur Folge hatte. Reproduzierbare Ergebnisse konnten hiermit demnach nicht erzielt werden. In zwei von zehn Durchläufen wurden jedoch mit 560 und 600 NIH sehr hohe Thrombinkonzentrationen gemessen, welche zeigen, dass unter besseren Konstruktionsbedingungen möglicherweise auch die Vorteile eines solchen geschlossenen Systems nutzbar gemacht werden könnten. Der Weg einer vereinfachten Handhabung im Beutelset musste deshalb zugunsten einer höheren Reproduzierbarkeit der Thrombinaktivitäten verlassen werden. Obwohl die Schwankungsbreite der Thrombinaktivität mit Werten zwischen 51,9 und 414 NIH/ml weiterhin hoch lag, konnte das Erreichen eines Mindestmaßes der Thrombinaktivität von 10 NIH/ml mit der autoklavierbaren Glaseinheit verwirklicht werden. Durch Anpassen der Präparationstechniken konnte schließlich auch die Präparationszeit von 90 auf etwa 20min verkürzt werden.

Aktuelle Entwicklungen auf dem Gebiet der autologen Plasmaseparation

Die prinzipielle Richtigkeit des hier verfolgten Ansatzes der autologen Plasmaaufbereitung wird durch die parallelen Arbeiten anderer Forschungsgruppe unterstrichen. Besonders hervorzuheben sind vor allem zwei Systeme die mittlerweile Marktreife erlangt haben. Hier handelt es sich um das CryoSeal®-System der Firma Thermogenesis, so wie das Vivostat®- System der Firma Vivolution.

Das CryoSeal®- System

Das CryoSeal®-System ist eine Einheit, mit welcher die völlig automatische Aufbereitung von autologem Fibrinkleber auch aus einer kleinen Menge Plasma möglich ist. Sowohl autologes Thrombin als auch autologes Fibrinogen werden mit diesem System aus dem Plasma isoliert. Das Herstellungsverfahren selbst ist einfach, nicht zeitaufwändig und leicht in den klinischen Alltag zu integrieren, eine hohe Anreicherung von Fibrinogen kann mit diesem System jedoch nicht erreicht werden (Buchta, Dettke et al. 2004). Möglicherweise sind die mit diesem System zu erreichenden Konzentrationen jedoch für die Zwecke des Tissue Engineerings ausreichend, Studien dazu fehlen jedoch.

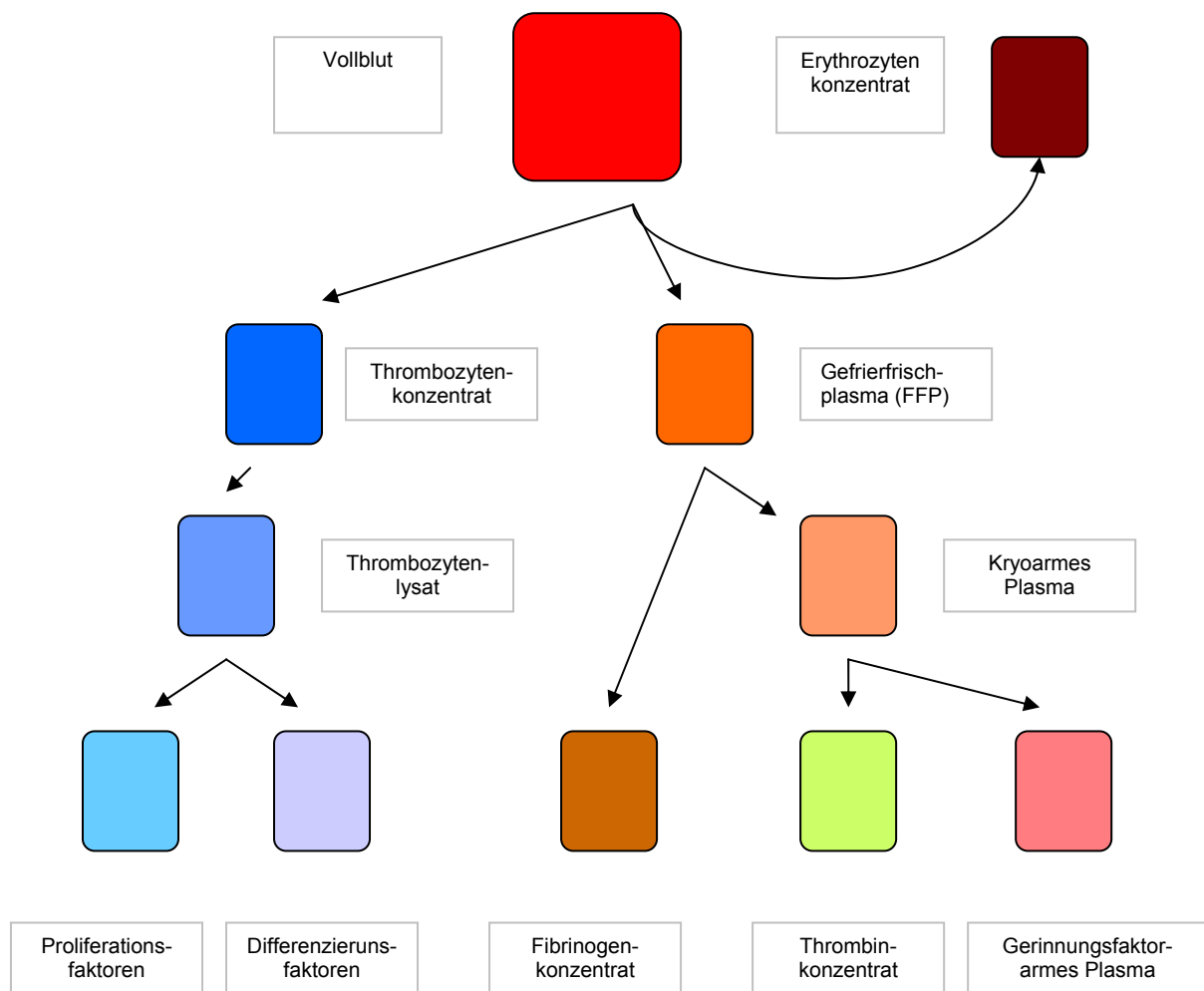
Das Vivostat®- System

Ein völlig anderer Weg wird durch das Vivostat® System der Firma Vivolutions beschrieben. Hier wird Fibrinogen nicht durch Präzipitation aus dem Plasma isoliert, sondern es erfolgt eine Katalysation von Fibrinogen durch biotiniertes Batroxobin (ein Schlangengift), dieses so gewonnene Fibrinopeptid kann erneut gelöst werden um als autologes Fibrin eingesetzt zu werden (Kjaergard and Trumbull 1998). Bei diesem Ansatz wird Thrombin zur Polymerisation von Fibrinogen nicht mehr benötigt. Über den Einfluss der hier verwendeten Zusatzstoffe auf Zellen in Zellkultur und Transplantaten gibt es bisher keine Untersuchungen.

Gesamtkonzept einer Aufbereitung von autologem Plasma für das Tissue Engineering

In der Weiterentwicklung des hier erarbeiteten Verfahrens der Präparation von autologem Thrombin könnte ein Gesamtkonzept der Separation von autologem Plasma in die für das Tissue Engineering benötigten Komponenten entstehen.

Neben Fibrinogen und Thrombin zur Herstellung einer Matrix werden auch Serum und Wachstumsfaktoren als weitere Plasmabestandteile zur Ernährung, Proliferation und Differenzierung von Zellen in Monolayerkultur und zur in-vitro Kultur von Transplantaten benötigt (Badrul, Aminuddin et al. 2004). Im Hinblick auf klinische Anwendungen muss auch hier autologes Plasma beziehungsweise Serum an Stelle von fötalem Kälberserum verwendet werden (Chua, Aminuddin et al. 2004), welches der Einfachheit halber oft zu Forschungszwecken eingesetzt wird (Weiser, Bhargava et al. 1999). Dieses kommt wegen möglicher immunologischer Komplikationen sowie der Übertragung von Prionen für einen klinischen Einsatz jedoch nicht in Frage. Es konnte außerdem bereits gezeigt werden das mit humanem Serum sogar höhere Proliferationsraten von Chondrozyten in Monolayerkultur als mit fötalen Kälberserum zu erreichen sind (Gruber, Sittinger et al. 1996). Einen weiteren vielversprechenden Ansatz stellt die Isolation autologer Wachstumsfaktoren aus Thrombozyten dar. Es ist bekannt, dass in Thrombozyten eine Vielzahl an Wachstumsfaktoren enthalten sind (Marx, Carlson et al. 1998). Durch einfrieren und anschließendes Auftauen eines Thrombozytenkonzentrates lässt sich auf sehr einfache Weise eine hoch konzentrierte Lösung mit autologen Wachstumsfaktoren herstellen (Pacifci, Casella et al. 2002). Mit einem so hergestellten Wachstumsfaktorkonzentrat konnte die Proliferationsrate von Chondrozyten in Monolayerkultur gesteigert werden, eine Beschleunigung oder Verbesserung der Redifferenzierung von Chondrozyten in 3-D Kultur konnte mit den in dieser Untersuchung verwendeten Konzentrationen in Nährmedium jedoch nicht erreicht werden (Kaps, Loch et al. 2002). Möglicherweise lassen sich durch andere Methoden der Freisetzung von Wachstumsfaktoren aus Thrombozyten, wie zum Beispiel durch die Beimengung von ADP, Thrombin oder Kollagenen jedoch auch isoliert solche Wachstumsfaktoren freisetzen die eine Redifferenzierung von Chondrozyten unterstützen (Maloney, Silliman et al. 1998; Carter, Jolly et al. 2003; Anitua, Andia et al. 2004; Martineau, Lacoste et al. 2004). Weiterführende Untersuchungen könnten also wie in Abb. 12 gezeigt möglicherweise zu einer autologen Gewinnung aller für das Tissue Engineering notwendigen Plasmabestandteile führen.



(Abb. 12)

Ein gegensätzlicher Trend liegt in der Entwicklung von serumfreien Medien (Fitzsimmons, Sanyal et al. 2004; Kim, Yoo et al. 2004; Mandl, Jahr et al. 2004; Glowacki, Yates et al. 2005) sowie in der Verwendung von rekombinant hergestellten Gerinnungs- und Wachstumsfaktoren (Butler, van Cott et al. 1997). Der Vorteil von serumfreien im Vergleich zu serumhaltigen Medien liegt in einer besseren Standardisierbarkeit, da serumhaltige Medien immer physiologischen Schwankungen der einzelnen Inhaltsstoffe unterliegen werden. Das Zusammenspiel der einzelnen Wachstumsfaktoren ist jedoch äußerst komplex und bisher nicht vollständig geklärt (van Osch, Mandl et al. 2002).

Verwendung der autologen Fibrinmatrix zur plastisch-rekonstruktiven Wiederherstellung eines Ohrmuscheldefektes mittels Tissue Engineering am Patienten

Durch das innerhalb dieser Arbeit entwickelte Verfahren der autologen Thrombinpräparation, konnte erstmals ein rein autologes dreidimensionales Transplantat aus Chondrozyten und einer Fibrinmatrix hergestellt werden. Erstmals wurde somit auch autolog hergestelltes Thrombin klinisch eingesetzt. Bisher wurden klinisch entweder Fibrinogen und Thrombin aus gepooltem Plasma oder mit bovinem Thrombin polymerisiertes autologes Fibrinogen verwendet. Die Anwendung von bovinem Thrombin hat jedoch in der Vergangenheit in einigen Fällen zu schweren und schwersten Nebenwirkungen bis hin zum Tod geführt (Berguer, Staerckel et al. 1991; Muntean, Zenz et al. 1997).

Durch Implementierung von Techniken aus der Epithetik war es möglich eine genaue Abformung des Defektes zu erhalten und ein Transplantat anzufertigen welches die feine Architektur des menschlichen Ohres wiedergab und zum Zeitpunkt der Implantation exakt in den bestehenden Defekt passte. Die aus Rippenknorpel gewonnenen Chondrozyten blieben während der Zeit der in-vitro Kultur mit autologem Serum vital und begannen eine extrazelluläre Matrix zu produzieren. Während dieses Reifungsprozesses gewann das Transplantat an Festigkeit und konnte durch die Zugabe eines Antifibrinolytikums (Meinhart, Fussenegger et al. 1999) in das Kulturmedium im Gegensatz zu früheren Untersuchungen bei denen Chondrozyten in Fibrin kultiviert wurden (Ting, Sims et al. 1998) formstabil gehalten werden. Neben der bereits bekannten erhöhten Proliferationsrate, einer besseren Akkumulation von Proteoglykanen und Beibehaltung einer knorpeltypischen Morphologie von Chondrozyten in autolog hergestelltem Fibrinogen im Vergleich zu Fibrinogen aus gepooltem Plasma (Fortier, Brofman et al. 1998), fiel bei den hier durchgeführten Untersuchungen auf, dass Produkte aus gepooltem Plasma gelegentlich eine Tendenz zur Schrumpfung nach Präparation der Matrix zeigten. Das Phänomen der Transplantatschrumpfung während der in-vitro Kultur kann durch Fibrinolyseinhibitoren (Meinhart, Fussenegger et al. 1999) eingedämmt werden, das Schrumpfen kommerzieller Produkte direkt nach Präparation ist dagegen nicht kalkulierbar. Dies könnte in einem geringeren Anteil von Faktor XIII in kommerziellen Produkten begründet liegen, der für die Quervernetzung der Fibrin Monomere verantwortlich ist (Dickneite, Metzner et al. 2002). Eine andere Möglichkeit ist, daß

durch die Schritte die zur Virusinaktivierung in gepooltem Plasma notwendig sind die Konformation von Fibrinogen oder Faktor XIII verändert wird, aus denen sich dann veränderte biochemische und biomechanische Eigenschaften ergeben, so wie es durch die Behandlung mit Gammastrahlen zur Sterilisation von Fibrinogen bereits bekannt ist (Stemmerger 1998). Die Evaluation der Qualität des Transplantates nach Implantation stellte eine Schwierigkeit dar, da es von dem verwendeten Fazienlappen und von Spalthaut überdeckt war. In der ersten Woche kam es außerdem noch zu einer Schwellung des Lappens. Nach Rückgang der Schwellung und einer regelrechten Wundheilung konnte eine feine elastische Struktur zwischen den Hautschichten palpirt werden. Das plastische Ergebnis betreffend war die Helix nicht zufrieden stellend geformt und auch die Hautfarbe des Spalthauttransplantates setzte sich von der Umgebung ab. Ein Grund für die nicht befriedigende Formerhaltung mag in der gewählten Operationstechnik begründet liegen. Bei aurikulären Rekonstruktionen bei denen Kunststoffe verwendet werden ist es essentiell dass das Gerüst vollständig durch einen temporoparietalen Fazienlappen bedeckt wird um eine Extrusion des Implantates zu verhindern (Romo, Fozo et al. 2000). In diesem Fall wurde der Faszienlappen vor allem verwendet um eine ausreichende vaskuläre Versorgung und eine Ernährung des Transplantates zu gewährleisten, in Kombination mit der Spalthaut wurde die Bedeckung des Transplantates jedoch insgesamt etwas zu kräftig um eine optimale Formung der Helix zu erlauben. Trotz der Einschränkungen hinsichtlich der ästhetischen Gesichtspunkte zeigte das Transplantat keinerlei Anzeichen von Abstoßung, es traten keine Entzündungsreaktionen auf und insgesamt wurde eine regelrechte Wundheilung beobachtet. Nach drei Monaten fühlte sich der Knorpel fester und weniger flexibel an, so dass angenommen werden kann, daß zumindest bis zu einem gewissen Grad eine Umwandlung in Bindegewebe stattgefunden hat. Darüber hinaus wurde die Ohrmuschel im Bereich des Transplantates etwas dünner, da auch von einer teilweisen Resorption ausgegangen werden muss (Ting, Sims et al. 1998). Bis zu einem bestimmten Grad ist ein fibrotischer Umbau für die hier beschriebene Indikation durchaus zu tolerieren, da die Anforderungen an die biomechanischen Eigenschaften des Neoknorpels in der plastisch-rekonstruktiven Chirurgie eher in der Formerhaltung als der Kompensation von Druck-, Scher- oder Biegekräften liegen. Vor allem eben die Notwendigkeit eine präzise und bestimmte Form einzuhalten ist es, die das Tissue Engineering von Knorpel in der plastischen Chirurgie im Vergleich

zur Behandlung von Gelenksdefekten erschwert. Möglicherweise ist einer der wesentlichen Gründe die das Tissue Engineering von Ersatzknorpel bei Gelenksschäden erleichtert, dass ein Gelenk nach Implantation von gezüchtetem Knorpel wie ein nahezu perfekter Bioreaktor funktioniert. Im Gelenk ist das Implantat vor fibrotischen Einwachsungen sowie vor entzündlichen und immunologischen Reaktionen geschützt. Die Ernährung wird durch Synovialflüssigkeit gewährleistet (Hegewald, Ringe et al. 2004) und das Transplantat ist von nativem Knorpel umgeben, was einen zusätzlich positiven Einfluß auf die Gewebereifung hat (Hunter and Levenston 2002). Wahrscheinlich ist, dass auch das Fehlen einer schützenden Perichondriumschicht und die nicht vollständige Ausreifung zum Zeitpunkt der Implantation, dass gezüchtete Knorpelimplantate in der plastisch-rekonstruktiven Chirurgie für Resorption anfällig macht (de Tulio, Okamoto et al. 1992).

Neuere Ansätze zum Schutz von gezüchtetem Knorpel

Durch verschiedene Ansätze ist mittlerweile versucht worden die Bildung von Knorpelmatrix zu unterstützen und damit die Stabilität der Transplantate zu erhöhen. Durch eine Verlängerung der in-vitro Kulturzeit auf bis zu 12 Wochen konnte eine erhöhte Matrixbildung vor Transplantation erreicht werden (Kamil, Kojima et al. 2003), allerdings ist zu bedenken, daß lange in-vitro Kulturzeiten auch die Herstellungskosten für Transplantate erheblich erhöhen und damit dazu beitragen einen Einsatz im klinischen Alltag zu erschweren. Um die Matrixbildung zu Beschleunigen wurde auch versucht biomechanisch auf Chondrozyten einzuwirken. Aber obwohl bekannt ist, dass gepulster Ultraschall niedriger Intensität die Chondrogenese in-vitro beschleunigt, zeigten in-vivo Untersuchungen an der Nacktmaus keinerlei positiven Effekt auf eine Gewebereifung (Duda, Kliche et al. 2004) auch eine biomechanische Stimulation durch dynamische Kompression war nicht erfolgreich (Hunter, Imler et al. 2002). Dahingegen konnten in einem rotierenden Bioreaktor Zelldifferenzierung und Matrixbildung auch ohne zusätzliche Biomaterialien erreicht werden (Marlovits, Tichy et al. 2003). Zelldifferenzierung und Matrixreifung von Knorpelgewebe können auch durch Wachstumsfaktoren wie z.B. FGF, IGF, TGF, und bone morphogenetic proteins (BMPs) stimuliert werden (van Osch, Mandl et al. 2002). Wachstumsfaktoren können die Proliferationsrate der Chondrozyten erhöhen (Kaps, Loch et al. 2002), Dedifferenzierungsprozesse

während der Proliferation vermindern (Mandl, Jahr et al. 2004) und eine Redifferenzierung unterstützen (van Osch, van der Veen et al. 1998). Vor allem BMPs tragen nicht nur zur Knorpelreifung bei, sondern schützen darüber hinaus vor unspezifischen Entzündungen und invasiven Destruktionen. Insbesondere BMP-7 bewirkt offenbar eine Verstärkung der Matrixsynthese, eine Unterdrückung von fibrösen Infiltrationen in gezüchteten Knorpel und verhinderte so eine Zerstörung der Transplantate (Kaps, Bramlage et al. 2002). Insgesamt ist jedoch der Einfluss und das Zusammenwirken der einzelnen Faktoren ein schwer zu überschauender Bereich. Vor allem weil einige Faktoren in-vitro und in-vivo sogar zum Teil gegensätzliche Wirkungsweisen gezeigt haben (Westreich, Kaufman et al. 2004). In einem anderen Ansatz konnte gezeigt werden, dass die Verkapselung mit einem artifiziellen Perichondrium aus einer semipermeablen Polyelektrolyt Membran in der Nacktmaus einen ausreichenden Schutz gegen resorptive Prozesse bieten kann (Haisch, Groger et al. 2004). Mit einer Schutzkapsel aus Gold konnte Knorpel in Form eines menschlichen Ohres auch in einem immunkompetenten Tier zur Ausreifung gebracht werden (Kamil, Vacanti et al. 2004). Im Tierversuch ist es zum Teil gelungen gezüchteten Knorpel vor der Infiltration mit Bindegewebe durch Immunmodulation mit Cortison zu schützen, gleichzeitig führte das Cortison jedoch auch zu einer Induktion der Bildung von trabekulärem Knochen innerhalb der Transplantate (Haisch, Wanjura et al. 2004). Mittels heterotoper Transplantation wird versucht gezüchteten Knorpel an einem geeigneten Ort innerhalb des Körpers reifen zu lassen um ihn erst in einem zweiten Schritt an der eigentlichen Defektstelle zu implantieren. So wird über die Bildung von Knorpelgewebe nach Implantation von demineralisierter Knochenmatrix zwischen Perichondrium und Ohrknorpel in einem neun Jahre alten Patienten berichtet. Nach sechs Wochen war die demineralisierte Knochenmatrix größtenteils in knorpelartiges Gewebe umgewandelt. Dieser neu gebildete Knorpel wurde dann entnommen und verwendet um einen Defekt im Nasenseptum zu decken (Pirsig, Bean et al. 1995). Diese Anwendung kommt dem eines körpereigenen Bioreaktors, ähnlich der Situation im Kniegelenk am nächsten. Das Transplantat ist hier durch das umgebende Perichondrium geschützt, wird von ihm ernährt und durch das Einwachsen von Knorpelzellen zu Knorpel umgewandelt. Ein weiterer Vorteil den menschlichen Körper als natürlichen Bioreaktor einzusetzen ist, dass hierdurch die Zeit der in-vitro Kultur verkürzt wird. Lange Kulturzeiten im Labor erhöhen die Kosten zur Herstellung von Transplantaten und können so ein

weiteres Hindernis für einen breiten klinischen Einsatz darstellen. Um die Möglichkeit einer Anwendung von gezüchtetem Knorpel für die laryngotracheale Rekonstruktion am Schwein zu untersuchen wurden autologe Chondrozyten in einem biodegradierbarem Polymer (Pluronic F-127) aufgenommen und subkutan auf dem Rücken des Tieres implantiert. Nach acht Wochen wurden diese dann entfernt und zur Rekonstruktion eines laryngotrachealen Defektes verwendet. Innerhalb des drei monatigen Untersuchungszeitraumes wurde der gezüchtete Knorpel mit Respirationsepithel überdeckt und an der Defektstelle integriert (Kamil, Eavey et al. 2004). Durch die Kombination von gerüstartigen und gelartigen Biomaterialien konnte eine initial höhere biomechanische Festigkeit, sowie eine bessere Redifferenzierung erreicht werden (Sittinger, Perka et al. 1999; Marijnissen, van Osch et al. 2002). Obwohl Transplantate aus auf diese Weise kombinierter Biomaterialien erfolgreich in die Gelenkschirurgie implementiert werden konnten (Erggelet, Sittinger et al. 2003), kam es bei der Verwendung außerhalb eines Gelenkes insbesondere durch die Stützmaterialien zu zum Teil heftigen entzündlichen und immunologischen Reaktionen (Cao, Rodriguez et al. 1998). Ein anderer Ansatz, die formgebende Struktur dieser Kunststoffe besser nutzen zu können ist, diese mit gezüchteter Knorpelmasse zu umhüllen und so vor Entzündungsreaktionen zu schützen. Um die komplizierte und feine Architektur einer Ohrmuschel dauerhaft zu erhalten ist hier auch über nicht-resorbierbare Biomaterialien nachgedacht worden (Arevalo-Silva, Eavey et al. 2000; Kamil, Kojima et al. 2003).

Schlussfolgerungen

Die hier durchgeführten Untersuchungen konnten zeigen, daß es möglich ist aus patienteneigenem Plasma eine rein autologe Fibrinmatrix herzustellen. Durch die Präparation von autologem Thrombin konnte bovines Thrombin ersetzt werden, welches in der Vergangenheit in einigen Fällen zu schwersten Nebenwirkungen mit Todesfolge geführt hat. Das als Nebenprodukt des Herstellungsprozesses entstandene gerinnungsfaktorarme Plasma konnte als autologer Zusatz für Nährmedien verwendet werden. In Verbindung mit autologen Chondrozyten aus der Rippe eines Patienten wurde mit der autologen Fibrinmatrix ein präzise geformtes, dreidimensionales Knorpeltransplantat aus rein autologen Komponenten gefertigt. In Anbetracht des erheblichen operativen und labortechnischen Aufwandes wurde jedoch was die plastische Langzeitstabilität betrifft insgesamt kein optimales Ergebnis erzielt zu einem späteren Zeitpunkt wurde daher die Ohrmuschel durch Conchaknorpel der Gegenseite verstärkt. Insbesondere auf die in-vivo Integration der gezüchteten Transplantate und den Schutz vor den Reaktionen des umgebenden Gewebes sollte in Zukunft noch näher eingegangen werden. Eine essentielle Voraussetzung für die erfolgreiche Anwendung von gezüchtetem Knorpel in der plastisch-rekonstruktiven Chirurgie ist wohl eine perichondriumähnliche Schicht zum Schutz der Transplantate. Die Erhaltung einer präzisen und bestimmten Form bleibt weiterhin die größte Herausforderung, bevor ein breiter Einsatz in der plastisch-rekonstruktiven Chirurgie realisierbar ist, insbesondere für den möglichen Ersatz einer ganzen Ohrmuschel.