

1 Abstract

Hintergrund: Primäre humane Hepatozyten (PHH) bilden einen wesentlichen Bestandteil aktueller Metabolisierungsstudien im Rahmen der Medikamentenforschung und sind unverzichtbar für die Entwicklung Zell-basierter klinischer Therapien. Aufgrund der eingeschränkten Anzahl geeigneter Zellquellen ist die Verfügbarkeit humaner Leberzellen stark limitiert, zusätzlich steigt die Nachfrage an Zellen kontinuierlich an. Um eine ausreichende Versorgung mit PHH gewährleisten zu können, müssen die vorhandenen Ressourcen für die Zellisolierung optimal ausgeschöpft sowie die verfügbaren Zellen effektiv eingesetzt werden. Ziel dieser Studie ist es daher, durch die Optimierung der Zellisolierung aus Leberteileresektaten sowie der Kryokonservierung von humanen Hepatozyten, diesem Versorgungsengpass entgegenzuwirken.

Methoden: Humane Hepatozyten wurden unter Anwendung eines standardisierten 2-Schritt-Kollagenase-Perfusions-Protokolls aus Leberteileresektaten isoliert. Die Ausbeute vitaler Leberzellen wurde anschließend mit klinischen Charakteristika der Gewebespende (n = 50) korreliert, um so prognostische Faktoren für die Gewebespende zu definieren. Bei einem Teil der Spender (n = 15) wurde analog auch die Kultivierbarkeit und Funktion der frisch isolierten Hepatozyten untersucht. Das Verfahren der Kryokonservierung von PHH wurde durch den Zusatz des Disaccharids Trehalose als weiteres Kryoprotektivum optimiert. Hierzu wurden Hepatozyten verschiedener Spender (n = 9) unter Verwendung eines kontinuierlichen, computer-kontrollierten Protokolls eingefroren und nach dem Auftauen hinsichtlich Zellvitalität und Zellfunktion mit einer Kontrollgruppe verglichen.

Ergebnisse: Die Erkrankung des Spenders hat einen signifikanten Einfluss auf das Ergebnis der Leberzellisolierung: Gewebe von Patienten mit gutartigen Lebererkrankungen ergab die höchste Zellausbeute, gefolgt von Gewebe, das aufgrund von sekundären und primären malignen Tumoren reseziert wurde. Relevanter Prognosefaktor für die Funktion der PHH ist eine pathologische Erhöhung der Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT) im Spenderserum auf über 60 U/l: die Vitalität, das Gesamtprotein und die Albumin-Synthese dieser Zellen waren signifikant erniedrigt. Trehalose zeigt eine zytoprotektive Wirkung bei der Kryokonservierung von PHH. Eine Konzentration von 0,2M im Kryo-Medium ergab eine signifikante Erhöhung der Zellvitalität, der Adhärenzfähigkeit, des Gesamtproteins sowie der Albumin-Synthese. Zudem waren die Marker der Zellschädigung signifikant reduziert.