

## Tissue engineering van aortakleppen gebaseerd op een gebreide scaffold



M. van Lieshout

research scientist  
Technische Universiteit  
Eindhoven

### INLEIDING

Aan het begin van de aorta bevindt zich de aortaklep. Wanneer deze klep niet meer goed functioneert kan dit leiden tot lichamelijke klachten. Een gangbare behandeling voor het falen van de aortaklep is vervanging ervan. Prothesen die hiervoor gebruikt worden zijn van menselijke oorsprong, van dierlijke oorsprong of van kunststof. Belangrijke nadelen van de drie verschillende soorten prothesen zijn schaarste van de menselijke (donor-)kleppen, relatief snelle slijtage van de dierlijke kleppen en de intrinsieke neiging van bloed te stollen op kunststof kleppen.

### TISSUE-ENGINEERING

In theorie levert tissue-engineering een aortaklep die deze nadelen niet heeft en bovendien in potentie meegroeit met de ontvanger ervan, zichzelf kan repareren en zich kan aanpassen wanneer veranderende omstandigheden in het lichaam dit vergen. Volgens de in dit onderzoek gehanteerde vorm van tissue-engineering worden vaatcellen gedoneerd door de potentiële ontvanger van een nieuwe aortaklep. Deze worden vermenigvuldigd, gezaaid op een biologisch afbreekbare ondergrond (de scaffold) en gekweekt tot

een nieuwe klep, die geïmplanteed kan worden en niet gevoelig is voor afstoting omdat hij na afbraak van de scaffold volledig autoloog is. Echter, de in het afgelopen decennium getissue-engineerde aortakleppen bleken niet sterk genoeg te zijn om de grote drukgradiënten over de aortaklep te kunnen weerstaan.

### ONDERZOEKSDOEL

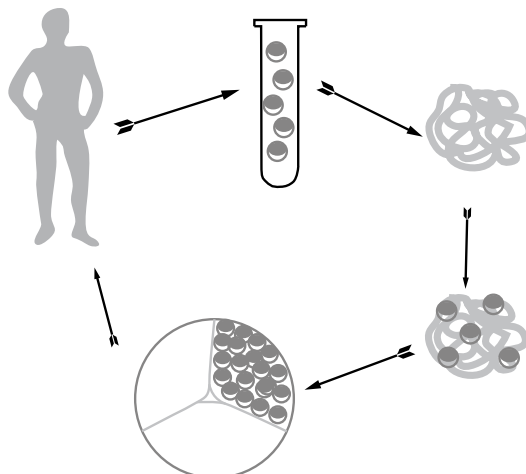
Dit onderzoek heeft als doel een scaffold te ontwikkelen die voldoende sterk is om daarmee een hartklep te kunnen maken die wel sterk genoeg is om als aortaklep te kunnen functioneren.

### POLY(E-CAPROLACTON)

De in dit onderzoek beschreven scaffold is gebreid van poly(e-caprolacton) en bedekt met fibrinegel. Poly(e-caprolacton), (PCL), is een langzaam afbrekend, hydrofoob en door de FDA voor implantatie goedgekeurd polyester. Het afbraakproces van PCL is uitgebreid bestudeerd en verloopt in minimaal twee fases. In de eerste fase vindt homogeen verspreid door het gehele materiaal non-enzymatische hydrolyse plaats. In de laatste fase fragmenteert het PCL, waarna de fragmenten door middel van fagocytose worden opgeruimd door macrofagen. De uiteindelijke metaboliet van PCL wordt afgevoerd uit het lichaam. De immunreactie die PCL oproept is uit in vivo studies in dieren mild gebleken. De berekende periode van afbraak voor het in dit onderzoek gebruikte PCL is 27 maanden.

### ZAAIEN

Cellen suspenderen in een trombine-oplossing en zaaien op een drager van geleurende fibrine blijkt een efficiënte zaaimethode te zijn. Bij deze methode is slechts één stap benodigd en de proliferatie en



figuur: Schema tissue-engineering

extracellulaire matrixproductie van de ingesloten cellen wordt niet geremd door de aanwezigheid van fibrine om de cellen heen. Bovendien dicht fibrinegel de relatief grote poriën in het breiwerk en verschaft de aanwezigheid van fibrinegel de cellen de mogelijkheid de poriën te overgroeien.

#### SCAFFOLD

De in dit onderzoek beschreven aortaklepscaffold is gebreid uit een verwarde multifilament draad van poly(e-caprolacton). Deze scaffold bleek na tien miljoen belastingscycli niet beschadigd te zijn. De gebreide scaffold werd bedekt met fibrinegel. Zowel het breiwerk als de fibrine zijn biocompatibel gebleken met de humane myofibroblasten die er uiteindelijk op en in gekweekt worden. De met fibrine bedekte, maar nog niet met cellen bezaaide scaffold is in fysiologische druk- en stromingsomstandigheden geplaatst en bleek goed te openen en te sluiten, maar wel zeer veel lekkage te vertonen.

#### RESULTAAT

Acht gebreide kleppen werden bezaaid met in fibrine ingesloten humane myofibroblasten en gekweekt onder medium-perfusie in bioreactoren. De klepbladen waren volledig dichtgegroeid na vier weken in vitro kweek. De gekweekte kleppen zijn getest onder aortadruk en -stroming en bleken hierbij alle acht intact te blijven. Zeven van de acht kleppen openden en sloten goed en toonden geen lekkage door de gesloten klep, maar het gemiddelde sluitvolume van deze zeven kleppen was groter dan het sluitvolume van de referentieklep, een varkensklepprothese die geschikt is voor menselijk gebruik. Vijf van de acht kleppen bleken een sluitvolume te hebben van minder dan 10%, hetgeen acceptabel is volgens ISO normering van niet-actieve hartklepprothesen.

#### CONCLUSIE

Het blijkt dus mogelijk te zijn in vitro functionele aortakleppen te maken door

middel van tissue-engineering gebaseerd op een gebreide klep. Deze kleppen zijn sterk genoeg voor stromings- en drukomstandigheden in de aorta. Hoe deze kleppen zich zullen gedragen in vivo en hoe het weefsel van deze aortakleppen zal zijn nadat de scaffold is afgebroken, blijven vraagstukken die nader onderzocht dienen te worden.



*foto: gebreide aortaklep scaffold in een bioreaktor.  
(foto Bart van Overbeeke)*