Autologe Fetttransplantation in der Brustchirurgie – Klinische und Experimentelle Konzepte: vom Lipofilling bis zum Fettgewebe Tissue Engineering

Autologous Fat Grafts and Supportive Enrichment with Adipose Tissue Stromal Cells

Autoren M. Karagianni[1], U. Kraneburg[1], H. Klüter[1], H.-G. Machens[2], K. Bieback[1], J.-T. Schantz[2], N. Papadopulos[2]

Institute [1] Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg; DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg – Hessen
[2] Klinikum rechts der Isar, Klinik und Poliklinik für Plastische Chirurgie und Handchirurgie, Technische Universität München

Schlüsselwörter
- autologe Fetttransplantation
- Lipofilling
- stromale Fettvorläuferzellen (ASC)
- mesenchymale stromale Zellen (MSC)
- zellassistierte autologe Fetttransplantation (CAL)
- Gewebegesetz, ATMP

Key words
- autologous fat grafting
- lipofilling
- adipose tissue stromal cells (ASC)
- mesencymal stromal cells (MSC)
- cell-assisted lipotransfer (CAL)
- Tissue and Cell Directive, ATMP

eingereicht 13.3.2012
akzeptiert 30.1.2013

Bibliografie
DOI http://dx.doi.org/10.1055/s-0033-1334908
Handchir Mikrochir Plast Chir 2013; 45: 93–98
© Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York
ISSN 0722-1819

Korrespondenzadresse
Dr. Marianna Karagianni
Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie, Universität Heidelberg, Medizinische Fakultät Mannheim; DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg – Hessen gGmbH
Friedrich-Ebert-Straße 107
68167 Mannheim
marianna.karagianni@medma.uni-heidelberg.de

Zusammenfassung

Die Fettabsaugung ist ein weit verbreiteter Eingriff in der ästhetischen Chirurgie zur lokalen Fettreduktion. In den letzten Jahrzehnten findet das anfallende Gewebe zunehmend Anwendung als biokompatibler Gewebefüller insbesondere auf dem Gebiet der ästhetischen Gesichtschirurgie und in der Narbenkorrektur. Darüber hinaus kann die autologe Fetttransplantation, auch bekannt als Lipofilling, oder Lipotransfer eine Alternative zur Implantat-Brustrekonstruktion oder -Brustaugmentation bieten. Bisher ist allerdings die postoperative Resorption des Fetttransplantates limitierend, sodass häufig mehrere Eingriffe benötigt werden, um das erwünschte klinische Ergebnis zu erreichen. Der therapeutische Effekt der Eigenfetttransplantation beschränkt sich nicht nur auf den Gewebeaufbau als Füllersubstanz, sondern Eigenfett werden gleichwohl durchblutungsfördernde und wundheilende Eigenschaften zugeschrieben. Letzteres ist nicht den ausdifferenzierten Adipozyten, sondern den undifferenzierten stromalen Zellen (adipose derived stromal cells, ASC) zuzuordnen. Diese Erkenntnis führte zu der Weiterentwicklung der autologen Fetttransplantation durch Anreicherung des Eigenfettes mit autologen ASC, bekannt als zellassistierte Fettgewebetransplantation oder zellassistierter Lipotransfer (Cell assisted Lipotransfer, CAL). Vor einer allgemeinen Etablierung dieses Verfahrens sind jedoch systematische Analysen zur Beantwortung offener Fragen notwendig. Diese betreffen sowohl die operative Technik als auch qualitative Aspekte, die die Herstellung der supportiven Zellfraktion auf Basis der gesetzlichen Rahmenbedingungen für die Zelltherapie in Deutschland umfassen. Nicht zuletzt müssen Fragen der Stammzellbiologie im Rahmen des zellulären Differenzierungspotenziales in vivo geklärt werden.

Abstract

Liposuction is a most common surgical procedure in aesthetic surgery that aims at the local fat reduction. The obtained adipose tissue is currently used as a biocompatible filler. Autologous fat transplantation, also known as lipofilling, has become an attractive treatment method in the field of aesthetic facial surgery and scar tissue reconstruction. Lipofilling may also offer an alternative method to prosthetic breast surgery. Nevertheless, postoperative fat tissue resorption is still a limitiation to lipofilling in breast reconstruction leading to multiple revisions in order to reach the requested clinical outcome. The therapeutic effect of autologous fat grafts does not solely lie in its role as a filler material, but also in its wound healing and angiogenetic properties. The latter is not attributed to the mature adipocytes, but rather to the undifferentiated adipose derived stromal cells (ASC). Thus enrichment of the fat graft with autologous ASC, known as cell-assisted lipotransfer (CAL) may lead to further optimisation of lipofilling concerning fat graft survival. Still aiming to establish the application of autologous fat grafts and ASC in breast reconstruction, there is a necessity for systematic analyses in order to resolve questions regarding the operational technique and qualitative aspects of the ASC manufacturing in accordance with pharmaceutical guidelines and regulations in Germany. Besides, some open questions need to be addressed regarding the ASC differentiation potential in vivo.

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Die Fettabsaugung zur lokalen Fettreduktion hat sich als einer der am häufigsten durchgeführten ästhetischen Eingriffe etabliert. Sie ist mit einem vergleichsweise geringen Patientenrisiko behaftet und wird in der Regel ambulant durchgeführt. Bereits Anfang des 20. Jahrhunderts haben erste Studien Fettgewebe als einen langlebigen biokompatiblen Gewebefüller beschrieben. Jedoch erst mit Optimierung der Fettabsaugungstechniken erreichte die Fetttransplantation eine Renaissance [1]. Anwendungsbeispiele im Rahmen großer klinischer Studien umfassen die autologe Fetttransplantation:

- zur Brustrekonstruktion nach Mastektomie oder Lumpektomie (multizentrische Phase III Studie) [2],
- zur Brustaugmentation mit BRAVA Vorbehandlung (multizentrische Studie an 86 Patienten) [3],
- bei HIV-Fett-Gesichtsatrophie (retrospektiv, ein Zentrum > 300 Patienten) [4] oder
- in der ästhetischen und rekonstruktiven Gesichtschirurgie [5].

Weitere kleinere Studien mit limitierter Patientenzahl, wie die autologe Fetttransplantation bei Inkontinenz mit Sphinkterinsuffizienz [6], zur Behandlung von ausgeprägten Verbrennungsnarben [7], in der ästhetischen Handchirurgie [8] oder bei der Rhizarthrose [9], spiegeln die Vielfalt der Anwendungsmöglichkeiten wieder. Abgesehen von der Funktion des Eigenfettgewebes als Füllersubstanz werden nach dem Lipofilling pleiotrope Effekte beobachtet, wie die Reduzierung der subkutanen Hautatrophie i.S. einer Hautverjüngung [8] sowie die Verbesserung der Durchblutung und der Wundheilung lokal im Bereich der Injektion [7]. Aus diesem Grund wird Eigenfettinjektion inzwischen auch zur Behandlung von chronischen Beinulcera bei Diabetes oder venöser Insuffizienz klinisch geprüft (www.clinicaltrials.gov, Suchbegriffe: fat graft, diabetic ulcers).

Die Eigenfetttransplantation ist somit im Gebiet der ästhetischen und rekonstruktiven Brustrekonstruktion von großem Interesse [10]. Der autologe Fettgewebetransfer bietet sich als ergänzende Therapie zur konventionellen Lappenplastik bei der rekonstruktiven Brustchirurgie und als Alternative zu Implantaten in der ästhetischen Brustchirurgie an [11]. Eine Limitation der Anwendung von größeren freien Eigenfetttransplantaten ergibt sich jedoch aus der Beobachtung von Fettnekrosen, sowie der Bildung von Ölzysten und Granulomen, mit konsekutiver Resorption des Transplantats, die wiederholte Eingriffe erforderlich machen [12]. Eine entsprechende präoperative Gewebekonditionierung, wie z. B. mit dem BRAVA Verfahren, erlaubt es pro operativer Sitzung größere Fettgewebemengen zu transplantieren. Vielversprechend ist in dieser Hinsicht die Supplementierung des autologen Fetttransplantates mit adulten Stamm- oder Vorläuferzellen um die de novo Adipo- und Angiogenese zu fördern [10]. Neben den Adipozyten als Füllmaterial ist Fettgewebe eine reiche Quelle stromaler Zellen (adipose-derived stromal cells, ASC) [13]. Unter diesem Begriff werden in dieser Übersicht Zellen zusammengefasst, die sich nach enzymatischem Kollagenandau und Zentrifugation des Fettgewebes im Pellet frisch isolieren lassen, anlehnend an der Terminologie von Yoshimura et al., die den Einsatz von ASC in einer der ersten Studien zur Brustrekonstruktion demonstriert haben [14]. Im heterogenen Zellgemisch der ASC finden sich u. a. adulte Vorläuferzellen, Präadipozyten, Endothelzellen, Endothelvorläuferzellen, Perizyten und glatte Muskelzellen (smooth muscle cells, SMC) [15]. Die adulten Vorläuferzellen, die sich durch die Expansion in entsprechenden Kulturschalen über ihre Eigenschaft an Plastik zu adhärieren zu den sogenannten mesenchymalen Stroma- oder Stammzellen (adipose tissue derived MSC, AT-MSC) entwickeln, sind hier von besonderem Interesse. Sie vereinen eine Vielzahl von Eigenschaften, die für zelltherapeutische Anwendungen potentiell relevant sind: Differenzierungspotenzial, immunregulatorische Eigenschaften und Sekretion von zahlreichen pro-regenerativen, anti-apoptotischen, anti-fibrotischenr Faktoren [16]. Angesichts der klinischen Anwendung von Fettvorläuferzellen ergibt sich die Notwendigkeit für einen neuen Konsensus, um die frisch isolierte heterogene Zellfraktion der ASC, von der kulturadaptierten/expandierten homogenen Zellfraktion der AT-MSC nomenklatorisch voneinander zu trennen [17]. Eine Terminologie für die MSC hat die ISCT (International Society for Cell Therapy) im Jahre 2006 eingeführt, um die MSC als Basis für eine standardisierte, einheitliche klinische Anwendung zu definieren [18]. Die ISCT definiert MSC als expandierte Zellen, die bestimmte Eigenschaften aufweisen: a) die Plastikadhärenz, b) ihr Differenzierungspotenzial in Osteoblasten, Adipozyten und Chondroblasten in vitro, sowie c) einen definierten Immunphänotyp (positiv (≥ 95 %) für CD 105, CD 73 und CD 90 und negativ (≤ 2 %) für CD 34, CD 45, CD 14, CD 11b, CD 79a, CD 19 und HLA-DR) [18]. Für die Charakterisierung der unkultivierten, frisch isolierten Vorläuferzellen ist bislang kein spezifisches Oberflächenantigen identifiziert, welches die prospektive Selektion der AT-MSC aus der Fraktion der ASC durch Zellseparation ermöglicht.

AT-MSC, deren Bereitstellung eine aufwändige in vitro Zellexpansion nach der Isolation der ASC als Herstellungsschritt beinhaltet, finden in der plastischen Chirurgie bisher keine breite Anwendung (http://clinicaltrials.gov, Suchbegriffe: adipose reconstructive interventions).

Dagegen werden ASC bereits in der autologen zellassistierten Fettrekonstruktion (CAL) der Brust angewandt, wie vorgestellt durch die Studien von Yoshimura et al. [19] und Sterodimas et al. [20]. Die kombinierte Applikation von Eigenfett und ASC, die jedoch ohne nähere qualitative und quantitative Charakterisierung der heterogenen ASC-Zellfraktion erfolgte, hat gezeigt, dass die unerwünschte Resorption des Fettgewebes dadurch reduziert werden kann. Weitere Studien sind in diesem Kontext jedoch dringend notwendig, um den Übergang zu einem etablierten und standardisierten zelltherapeutischen Verfahren bzw. Produkt für die Brustrekonstruktion zu erreichen. Um die therapeutische Wirksamkeit zu belegen und andererseits unerwünschte Reaktionen im Empfänger zu vermeiden, müssen insbesondere präparative und operative Aspekte der Zellherstellung eingehender untersucht werden. Unerwünschte Reaktionen und Risiken in der Zelltherapie umfassen ein Entartungsrisiko, die Infektionsübertragung, allergische Reaktion auf die in der Zellpräparation verwendeten Reagenzien sowie die Differenzierung in nicht erwünschtes Gewebe (z. B. eine Ossifikation im Fettgewebe) [10, 16].

Das Tissue Engineering von Fettgewebe stellt einen zunehmend bedeutenden Bereich in der Regenerativen Medizin dar. Ziel aktueller Forschungsvorhaben ist die seitengleich symmetrische Rekonstruktion der Brust hinsichtlich der Oberflächenkontur, der Gewebe-Eigenschaften und des Volumens [21]. Dabei sind Form und Größe der Brust individuell verschieden und verändern sich in Bezug auf Hautelastizität, Gewebevolumen und Form im Laufe des physiologischen Alterungsprozesses [21]. Vor diesem Hintergrund entstehen Ansätze, die 3-D-bildgebende Verfahren wie CT, Kernspin oder 3-D-Laser-Oberflächenscan mit dem Design patientenspezifischer biodegradierbarer Biomaterialien verbinden, und darüber hinaus eine geeignete zelluläre Komponente integrieren [22]. Ein attraktiver Ansatz stellt das ‚Additive Manufacturing' dar [23]. Basierend auf bildgebende

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Datensätze werden bei diesem Verfahren komplexe Implantate aus Biomaterialien und Zellen hergestellt. Nachwievor handelt es sich hier um experimentelle Verfahren, die jedoch schrittweise die Brustrekonstruktion nachhaltig beeinflussen werden.

Autologes Fettgewebe als Gewebefüller – Präparative Aspekte, die das Eigenfetttransplantat und die ASC beeinflussen

Autologes Fettgewebe besitzt die Voraussetzungen eines nahezu idealen Füllstoffs, da es biokompatibel, leicht gewinnbar, vielseitig anwendbar und langlebig ist. Eine Limitation der Behandlung mit Eigenfett ist jedoch die postoperative Fettnekrose und Resorption mit Ausbildung von Ölzysten, die mit einem Verlust von 30–50% des Fetttransplantat-Volumens einhergehen können [10, 11]. Aspekte, die den Erfolg der autologen Fettgewebetransplantation – insbesondere den Anstieg der Überlebenszeit des Eigenfetttransplantates – beeinflussen, sind nach heutigem Kenntnisstand die Vitalität und Reinheit der reifen Adipozyten im Fetttransplantat. Ebenso entscheidend ist die „Dosis", also die Zahl der transplantierten ASC, die durch ihre angiogenen und adipogenen Eigenschaften die Revaskularisierung und Fettdifferenzierung unterstützen können [24, 25]. Um die Vitalität des verwendeten Transplantates zu steigern, wurden unterschiedliche Fettentnahme- und Präparationstechniken getestet. Wegweisend in der Fettentnahme war die Entwicklung der sogenannten Colemantechnik, die durch die schonende gleichmäßige Entnahme des Lipoaspirates zur Besserung der Zellvitalität im Aspirat und zu der konsekutiven Vermeidung der Bildung von Ölzysten und Granulomen beiträgt [26]. Bezogen auf die Durchführungstechnik der Lipoaspiration konnten keine Unterschiede zwischen Aspiration durch eine Spritze oder Vakuumpumpe festgestellt werden [27]. Widersprüchliche Ansichten herrschen im Vergleich der Entnahmemethode durch die Resektion im Vergleich zu der Lipoaspiration. Studien weisen dabei sowohl auf eine niedrigere [28], wie auch höhere [29] Vorläuferfrequenz in Resektaten. Auch der in der Entnahmepumpe verwendete Unterdruck scheint einen Einfluss auszuüben. Ein niedriger Saugdruck von −350 mmHg zeigte einen günstigeren Effekt auf die Vorläuferausbeute als −700 mmHg [30].

Was die Verarbeitung des Lipoaspirates betrifft, um die Fettfraktion von der Tumeszenzflüssigkeit zu trennen, sind unterschiedliche Methoden beschrieben: Das Dekantieren nach längerer Liegezeit, die Zentrifugation sowie das Waschen oder Filtern des Aspirates. Das Dekantieren des Lipoaspirates nach längerer Liegezeit, erwies sich eher als ungeeignet, da dadurch die Verunreinigung des Fettgewebetransplantates durch Erythrozyten hoch und die ASC-Konzentration zu niedrig ist um die Vitalität des Transplantates zu fördern [24]. Durch die Methode der Zentrifugation wird das Lipoaspirat in 3 Fraktionen aufgetrennt: a) die Tumeszenzflüssigkeit, b) die reifen Adipozyten und c) das Pellet, das reich an stromalen Zellen ist [24, 31]. Wie Conde-Green et al. demonstrieren, kann durch die Anwendung des Pellets eine Optimierung des Transplantatüberlebens erreicht werden [24]. Die Fraktion der reifen Adipozyten im Überstand konnte im Gegenteil zu keiner Optimierung beitragen. Bezogen auf eine vermeintliche mechanische Belastung des Gewebes durch die Zentrifugation, konnten Pulsfort et al. zeigen, dass die Zentrifugationsbeschleunigung keinen nachteiligen Einfluss auf die Überlebensrate der isolierten Adipozyten hat [32]. Waschen oder Filtern des Lipoaspirates stellt eine Alternative zur Zentrifugation dar [33]. Beide Techniken unterstützen das Transplantatüberleben durch das Entfernen der Tumeszenzflüssigkeit [34] und der freien Lipide. Letztere werden durch die zerstörten Adipozyten während der Fettabsaugung freigesetzt und können nach Injektion eine Entzündung auslösen. Beide Methoden, das Waschen oder Filtern des Lipoaspirates, führen ferner dazu, dass der Blutanteil des Fetttransplantates reduziert wird, was vermutlich das Transplantatüberleben verbessern kann [31].

Ferner gibt es Hinweise, dass die anatomische Lokalisation der Lipoaspiration und die angewandte Entnahmetechnik die Anzahl und Qualität der stromalen Zellen im Lipoaspirat beeinflussen können. Jedoch sind die Daten zur favorisierten anatomischen Lokalisation der Lipoaspiratentnahme nicht schlüssig. Padoins et al. weisen auf eine höhere Anzahl an Vorläuferzellen im Lipoaspirat vom Unterbauch im Vergleich zum Oberschenkel [35] hin, während Jürgens et al. eine höhere Vorläuferfrequenz im Oberschenkelfettgewebe als im abdominalen Fettgewebe beschreiben [36]. Darüber hinaus wurden unterschiedliche Lokalisationen mit einem variablen adipogenen Differenzierungspotenzial [37] und Apoptoseanfälligkeit der ASC assoziiert [38]. Zusammenfassend erweisen sich die schonende Gewebeentnahme, die Zentrifugation sowie das Waschen oder Filtern des Lipoaspirates und schließlich die Verwendung einer ASC reichen Fettfraktion als förderlich für das Transplantatüberleben. Zur weiterführenden systematischen Analyse der Vielfalt an Parametern, die das Lipoaspirat und die Vorläuferausbeute beeinflussen können, sind prospektive vergleichende in vitro Studien von einer ausreichend hohen Spenderzahl zur qualitativen und funktionellen Analyse des Lipoaspirates und der ASC notwendig.

ASC: präparative und qualitative Aspekte der Herstellung für die klinische Anwendung

Mesenchymale stromale Vorläuferzellen erzielen ein großes Interesse als Kandidaten für autologe und allogene Zelltherapie-Ansätze aufgrund ihrer immunmodulatorischen- und parakrinen Eigenschaften sowie ihrem Differenzierungspotenzial [16]. ASC, die AT-MSC, wie oben geschildert beinhalten, können als Träger dieser Eigenschaften bei der autologen zellassistierten Fettrekonstruktion (CAL) insbesondere in der Brustrekonstruktion unterstützend wirken, wie erste Studien belegen [19, 20]. Derzeit wird intensiv an Prozessen zur Entwicklung und Optimierung der Bearbeitungsverfahren erforscht, mit dem Ziel diese in eine kontrollierte Arzneimittelherstellung zu überführen. So werden für die Herstellung von ASC mit dem Ziel der Anreicherung des autologen Fetttransplantates mittlerweile geschlossene Systeme angeboten [39]. Die Prozessierung mit solchen Vorrichtungen erlaubt eine besser standardisierbare Präparation. Dennoch sind die Entnahme und direkte Applikation am Patientenbett nicht geeignet, wenn die nähere qualitative Analyse der applizierten Gewebezubereitung nicht durchgeführt werden kann [16]. Eine nähere Untersuchung der gewonnenen ASC ist unabdingbar um die Zelldosis oder des adipogenen Differenzierungspotenzials der Vorläuferzellen, erfassen zu können. Diesbezüglich zeigen eigene Vorarbeiten, dass das Differenzierungspotenzial der Fettvorläuferzellen in Fett und Knochen eine hohe Spendervariabilität zeigt [40]. Parameter, die die Qualität und Frequenz der ASC beeinflussen können, sind abgesehen von der anatomischen Lokalisation und der Entnahmetechnik, die Lagerungsbedingungen des Lipoaspirates, die enzymatische Kollagenlyse, die Zentrifugation, die Kryokonservierung, sowie

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

ferner Alter und Begleiterkrankungen des Patienten. Die Beantwortung dieser Fragen erfordert weitere klinische Studien. Dies setzt wiederum eine standardisierte, vergleichbare Qualität der individuellen ASC-Präparate voraus, bzw. die Gewährleistung einer sicheren und hochwertigen Produktion durch eine gestaffelte Prozedur aus Gewebeprozessierung und Qualitätsprüfung nach guter fachlicher Praxis (GFP) und guter Herstellungspraxis (good manufacturing practice, GMP) [41].

Gesetzlicher Rahmen der Zelltherapie

Herstellung und Anwendung zelltherapeutischer Präparate wird in Deutschland im Arzneimittelgesetz geregelt. Wichtige europäische Grundlagen bilden u.a. die Geweberichtlinie (RL/2004/23/EG) bzw. die direkt rechtlich verbindliche EU-Verordnung für neuartige Therapien (EG) Nr. 1394/2007. Grundsätzlich sehen die EU-Regelungen zunächst die Erlangung einer behördlichen Genehmigung für die Entnahme, Testung, Herstellung und in den meisten Fällen auch die Zulassung, bzw. eine Genehmigung für die Abgabe oder klinische Anwendung des hergestellten Präparates vor. Bereits im Jahre 2004 wurde in Deutschland diesbezüglich das Gewebegesetz geschaffen und damit die EU-Regelungen im Arzneimittelgesetz (AMG), Transplantationsgesetz (TPG) und Transfusionsgesetz (TFG) implementiert.

Für humane Gewebe und Gewebezubereitungen zur Anwendung am Menschen muss danach eine Erlaubnis zur Gewinnung und zur Be- und Verarbeitung nach §§20b bzw. 20c des AMG erlangt werden. Die im §20c AMG gestellten Anforderungen an die Herstellung sind im Vergleich zu Anforderungen zur Erlangung einer Herstellungserlaubnis nach §13 AMG verringert. Ansprechpartner ist jedoch in beiden Fällen die für die jeweilige Einrichtung für die Arzneimittelüberwachung zuständige Landesbehörde. Für ein Inverkehrbringen der hergestellten Gewebezubereitung, was das Vorhalten zur Abgabe bzw. die Abgabe an Dritte bedeutet, wird weiterhin eine Genehmigung der Bundesoberbehörde (Paul-Ehrlich-Institut) nach §21a des AMG benötigt.

Derzeit sehen die Behörden autologes Fettgewebe in der Anwendung der Transplantation zur Fettrekonstruktion nur solange als eine „klassische Gewebezubereitung“ unter diesem regulatorischen Weg [43], soweit a) kein industrielles Herstellungsverfahren angewandt wird, b) etablierte Herstellungsschritte eingehalten werden und c) keine substantielle Verarbeitung des Gewebes stattgefunden hat.

Wird von den Behörden die Gewebezubereitung in der geplanten klinischen Anwendung als „Arzneimittel für neuartige Therapien“ (advanced therapy medicinal products, ATMP) eingestuft, so wird eine Herstellungserlaubnis nach §13 des AMG für die Herstellung bzw. bei Abgabe an Dritte eine europäische Zulassung für das Inverkehrbringen notwendig. Wichtige Begriffsbestimmungen, im Kontext des gesetzlichen Rahmens werden im AMG und im Transplantationsgesetz TPG definiert: Arzneimittel für neuartige Therapien (ATMP) sind nach dem AMG §4 Abs. 9: Gentherapeutika, somatische Zelltherapeutika oder biotechnologisch bearbeitete Gewebeprodukte nach der Verordnung (EG) Nr. 1394/2007.

Grundlage für eine Klassifizierung als ATMP ist 1) die Einstufung des Herstellungsverfahrens als industrielles Verfahren, oder noch nicht hinreichend bekanntes Herstellungsverfahren, ferner 2) die Anwendung eines Zellpräparates im Bereich des sogenannten „non-homologous use“. Letzteres ist vor allem für Progenitor- und Stammzell-abgeleiteten Zellpräparationen oft maßgeblich.

Prozessiertes Fettgewebe kann daher durch den Umfang der Bearbeitungsschritte oder der geplanten klinischen Anwendung als ATMP, bzw. als biotechnologisch bearbeitetes Produkt eingestuft werden, wenn dem applizierten Gewebe „Eigenschaften zur Regeneration, Wiederherstellung oder zum Ersatz menschlichen Gewebes“ zugeschrieben werden bzw. wenn das Fettgewebe bei der therapeutischen Anwendung seine ursprüngliche Funktion nicht erfüllt (non homologous use)

Eine Ausnahme von der Notwendigkeit einer EU-Zulassung bildet die sogenannte Regelung des §4b AMG, der sogenannten Krankenhausausnahme („hospital exemption“), eine spezielle nationale Regelung für nicht routinemässig-hergestellte ATMP [42] Auch für derartige Hospital-Exemption-Produkte ist eine Herstellungserlaubnis nach §13 AMG erforderlich, eine Abgabe an Dritte ohne bestehende europäische Zulassung kann jedoch innerhalb Deutschlands erfolgen sofern eine Genehmigung durch das PEI erteilt wurde. Als „nicht-routinemässig“ hergestellte Produkte stuft der Gesetzgeber insbesondere Arzneimittel,

1. die in geringem Umfang hergestellt werden, und bei denen auf der Grundlage einer routinemäßigen Herstellung Abweichungen im Verfahren vorgenommen werden, die für einen einzelnen Patienten medizinisch begründet sind, oder
2. die noch nicht in ausreichender Anzahl hergestellt worden sind, sodass die notwendigen Erkenntnisse für ihre umfassende Beurteilung noch nicht vorliegen.

Aufgrund der steigenden Komplexität und Anforderungen der gesetzlichen Regularien und Erlaubnisverfahren bietet das PEI Beratungsgespräche an, um für das jeweilige Produkt frühzeitig das Entwicklungsprogramm und den jeweils passenden regulatorischen Weg zu diskutieren. Bezogen auf die Fragestellung der Klassifikation ist zusätzlich eine Einbeziehung bei der für die Arzneimittelüberwachung zuständigen Landesbehörde empfehlenswert.

Risiken der autologen Fettgewebetransplantation in der Brustrekonstruktion

Die Risiken der Zelltherapie mit stromalen Vorläuferzellen sind noch nicht eingehend untersucht. MSC setzen nicht nur eine Vielzahl von Faktoren frei, die Angiogenese, Proliferation und Immunantworten beeinflussen, sie können in Abhängigkeit des umliegenden Milieus in unterschiedliche Gewebetypen differenzieren [44]. Es ist dabei noch nicht hinreichend beschrieben, ob diese Eigenschaften, die im Allgemeinen als förderlich für die Geweberegenation gelten, im Zusammenhang mit Tumorerkrankungen zu abweichenden Resultaten führen könnten [45]. Präklinische Daten in vitro und in vivo weisen auf eine Förderung des Wachstums von Brustkrebs-Zelllinien sowie von entarteten Zellen aus humanen Brustkrebs-Lysaten durch in Zellkultur expandierte AT-MSC hin [46]. Das Risiko der Neoplasie ist somit besonders bei der Anwendung von autologen ASC nach Langzeitkultivierung präsent und muss sowohl klinisch als auch in vitro analysiert werden [10, 16], zudem die entarteten Zellen, Mechanismen der Abstoßung entgehen können.

Die Risiken der Eigenfettinjektion wurden in den letzten 10 Jahren weitgehend klinisch untersucht. Langzeitkomplikationen, die mit der Anwendung von autologem Fettgewebe in der Vergangenheit assoziiert wurden, sind Tumorentstehung und

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

Entartung. Schon im Jahr 1987 positionierte sich die American Society of Plastic and Reconstructive Surgeons (ASPS) mit einer einstimmigen Ablehnung von Brustaugmentationen mit autologen Fetttransplantationen [47]. Nach der autologen Fettinjektion waren aufgrund der teilweisen Resorption des Gewebes Befunde aufgetreten, die einer Brustkrebserkrankung ähnelten [47]. Radiologische Folgestudien konnten die Befürchtungen der ASPS jedoch nur zum Teil bestätigen: Unabhängig voneinander stellten Studien fest, dass in den meisten Fällen gutartige postoperative Verkalkungen zuverlässig von Karzinomen unterschieden werden können [48]. Im Jahre 2007 wurde ein neuer ASPS-Ausschuss zur Beurteilung der Sicherheit und Effektivität der autologen Fettinjektion [12] gegründet. Durch die retrospektive Evaluation von 283 Patienten, die bis zu 10 Jahre nachbehandelt wurden, errechnete sich das Gesamt-Komplikationsrisiko nach Eigenfettinjektion in die Brust auf 12,7%, das Infektionsrisiko 1,1%, Kalzifizierung 4,9%, und Fettnekrose 5,7%. Der ASPS-Ausschuss gab folglich im Jahr 2009 die Empfehlung für die autologe Fettinjektion bei den Indikationen der Mikromastie, Postlumpektomie, Postmastektomie, bei angeborenen Brustdefomitäten (Poland-Synrom), sowie bei Deformitäten nach Bestrahlung (Evidenzlevel III, IV, V). Der Fetttransfer, wie schlussgefolgert wird, kann anhand von weltweit durchgeführten klinischen Studien und der Erfahrung in Händen spezialisierter Chirurgen, als eine effektive und weitgehend sichere Operationsmethode angesehen werden [12]. Darüber hinaus konnte in einer kürzlich veröffentlichten multizentrischen Studie mit einer großen Kohorte von 646 Fetttransplantationen eine ausreichende Patientensicherheit bei der Brustrekonstruktion durch Fetttransplantation in Brustkrebspatienten dargestellt werden [2]. Allerdings blieb die Frage der Sicherheit in der Gruppe der Patientinnen mit intraepithelialer Dysplasie [49] offen, da in dieser Patientengruppe nach Eigenfetttransplantation ein erhöhtes Rezidivrisiko zu der Kontrollgruppe beobachtet wurde. Zusammenfassend ist vor allem bei Patientinnen mit Brustkrebs in ihrer Anamnese, und mit einer familiären Prädisposition bzw. bei Trägerinnen des Brustkrebsgens 1 und 2 (BRCA-1 oder -2 Gen) eine erhöhte Aufmerksamkeit mit präoperativer Mammografie, engmaschiger Nachbehandlung und Gewebebiopsie bei unklaren radiologischen Befunden indiziert.

Schlussfolgerung

Die Fettabsaugung ist heute ein weit verbreitetes risikoarmes ambulantes Verfahren zur lokalen Fettreduktion. Das anfallende Lipoaspirat findet in den letzten Jahren zunehmend Verwendung als biokompatibler Gewebefüller bei einer Reihe von kosmetischen und rekonstruierenden Eingriffen. Nachteil dieser Methode bezogen auf die Brustrekonstruktion, ist die postoperative Resorption, die wiederholte Eingriffe erforderlich macht. Aus dem Fettgewebe gewonnene ASC besitzen die Kapazität zur Revaskularisation und Wiederherstellung des Gewebes. Studien, die die zellassistierte autologe Fettgewebetransplantation untersucht haben, weisen bereits auf eine Optimierung des operativen Erfolges hin. Dennoch ist eine standardisierte Methode noch nicht etabliert und Empfängerrisiken sind nicht abschließend geklärt. Vor der klinischen Anwendung ist deshalb die Entwicklung standardisierter Protokolle notwendig, welche die Aspekte der Entnahme, Präparation, Herstellung der supportiven Zellfraktion und Anwendung berücksichtigen, konform zu den gesetzlichen Anforderungen in Deutschland, um den Wege zur klinischen Anwendung zu bahnen.

Outlook

Die Perspektiven der autologen zellassistierten Fettgewebetransplantation umfassen aktuell insbesondere das Gebiet der Brustchirurgie sowie nach Erweiterung der Indikation, die Fettgewebetransplantation bei großen Gewebedefekten, z. B. im Gebiet der Rekonstruktion bei angeborenen Weichteildefekten, nach Trauma, oder bei chronisch entzündlichen Erkrankung i.S. einer Wundheilungsstörung. Das Potenzial der ASC ist noch nicht ausgeschöpft, die Indikation für ihre Anwendung wird die Regenerative Medizin in Zukunft begleiten.

Danksagung

Wir bedanken uns bei Herrn Dr. Ralf Sanzenbacher, Stellvertretenden Leiter des Fachgebiets „Tissue Engineering/Somatische Zelltherapeutika“ des Paul-Ehrlich-Instituts für die wertvolle Konsultation und fachliche Prüfung des Abschnittes "Gesetzlicher Rahmen der Zelltherapie".

Dr. med. Marianna Karagianni
geb. am 30.11.1977 in Athen, Griechenland. 1996-2004 Studium der Humanmedizin an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, 2004-2006 Assistenzärztin in der Abt. für Nephrologie am Universitätsklinikum Heidelberg, seit 2006 Assistenzärztin am Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie, Medizinische Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg; DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg – Hessen (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. H. Klüter), seit 2010 Fachärztin für Transfusionsmedizin, seit 2011 stellvertretende Stufenplanbeauftragte, Wissenschaftlicher Schwerpunkt: Herstellung von adulten Vorläuferzellen für die klinische Anwendung, 2011 Promotion an der medizinischen Fakultät Mannheim, Universität Heidelberg mit dem Titel: „Adipogenic Differentiation Potential of Mesenchymal Stromal Cells from Cord Blood, Adipose Tissue and Bone Marrow“.

Interessenkonflikt: Nein

Literatur

1 *Hoehnke C, Eder M, Papadopulos NA et al.* Minimal invasive reconstruction of posttraumatic hemi facial atrophy by 3-D computer-assisted lipofilling. J Plast Reconstr Aesthet Surg 2007; 60: 1138–1144
2 *Petit JY, Lohsiriwat V, Clough KB et al.* The oncologic outcome and immediate surgical complications of lipofilling in breast cancer patients: a multicenter study – Milan-Paris-Lyon experience of 646 lipofilling procedures. Plast Reconstr Surg 2011; 128: 341–346
3 *Khouri RK, Eisenmann-Klein M, Cardoso E et al.* Brava and Autologous Fat Transfer Is a Safe and Effective Breast Augmentation Alternative: Results of a Six-Year, Eighty-One Patients Prospective Multicenter Study. Plast Reconstr Surg 2012; 129: 1173–1187
4 *Uzzan C, Boccara D, Lachere A et al.* Treatment of facial lipoatrophy by lipofilling in HIV infected patients: Retrospective study on 317 patients on 9 years. Ann Chir Plast Esthet 2012; 57: 210–216

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.

5 *Yeh CC*, *Williams EF 3rd*. Long-term results of autologous periorbital lipotransfer. Arch Facial Plast Surg 2011; 13: 252–258
6 *Lee PE*, *Kung RC*, *Drutz HP*. Periurethral autologous fat injection as treatment for female stress urinary incontinence: a randomized double-blind controlled trial. J Urol 2001; 165: 153–158
7 *Patel N*. Fat injection in severe burn outcomes: a new perspective of scar remodeling and reduction. Aesthetic Plast Surg 2008; 32: 470–472
8 *Giunta RE*, *Eder M*, *Machens HG et al.* Structural fat grafting for rejuvenation of the dorsum of the hand. Handchir Mikrochir Plast Chir 2010; 42: 143–147
9 *DelBene M*, *Melotto A*, *Borgonovo A et al.* Rizoartrosi: Esperienza di trattament con lipofilling negli stadi iniziali e paragone con infiltrazione locale di acido jaluronico. 4th international symposium Fat Injection and Tissue Regeneration 2011
10 *Prantl L*, *Heine N*. Options for regenerative therapy in the field of breast surgery. Handchir Mikrochir Plast Chir 2012; 44: 103–111
11 *Illouz YG*, *Sterodimas A*. Autologous fat transplantation to the breast: a personal technique with 25 years of experience. Aesthetic Plast Surg 2009; 33: 706–715
12 *Gutowski KA*. Current applications and safety of autologous fat grafts: a report of the ASPS fat graft task force. Plast Reconstr Surg 2009; 124: 272–280
13 *Kern S*, *Eichler H*, *Stoeve J et al.* Comparative analysis of mesenchymal stem cells from bone marrow, umbilical cord blood, or adipose tissue. Stem Cells 2006; 24: 1294–1301
14 *Yoshimura K*, *Sato K*, *Aoi N et al.* Cell-assisted lipotransfer for cosmetic breast augmentation: supportive use of adipose-derived stem/stromal cells. Aesthetic Plast Surg 2008; 32: 48–55 discussion 56–47
15 *Lin CS*, *Xin ZC*, *Deng CH et al.* Defining adipose tissue-derived stem cells in tissue and in culture. Histol Histopathol 2010; 25: 807–815
16 *Bieback K*, *Kinzebach S*, *Karagianni M*. Translating research into clinical scale manufacturing of mesenchymal stromal cells. Stem Cells Int 2011; 2010: 193519
17 *Gimble JM*, *Bunnell BA*, *Chiu ES et al.* Concise review: Adipose-derived stromal vascular fraction cells and stem cells: let's not get lost in translation. Stem Cells 2011; 29: 749–754
18 *Dominici M*, *Le Blanc K*, *Mueller I et al.* Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. Cytotherapy 2006; 8: 315–317
19 *Yoshimura K*, *Suga H*, *Eto H*. Adipose-derived stem/progenitor cells: roles in adipose tissue remodeling and potential use for soft tissue augmentation. Regen Med 2009; 4: 265–273
20 *Sterodimas A*, *de Faria J*, *Nicaretta B et al.* Autologous fat transplantation versus adipose-derived stem cell-enriched lipografts: a study. Aesthet Surg J 2011; 31: 682–693
21 *Chhaya MA*, *Melchels FPW*, *Wiggenhauser PS et al.* Breast Reconstruction using biofabrication-based tissue engineering strategies. Biofabrication. Elsevier Publishing; 2012: in press
22 *Wiggenhauser PS*, *Muller DF*, *Melchels FP et al.* Engineering of vascularized adipose constructs. Cell Tissue Res 2012; 347: 747–757
23 *Melchels FPW*, *Domingos MAN*, *Klein TJ et al.* Additive manufacturing of tissues and organs. Progress in Polymer Science 2012; 37: 1079–1104
24 *Conde-Green A*, *Baptista LS*, *de Amorin NF et al.* Effects of centrifugation on cell composition and viability of aspirated adipose tissue processed for transplantation. Aesthet Surg J 2010; 30: 249–255
25 *Gehmert S*, *Hidayat M*, *Sultan M et al.* Angiogenesis: the role of PDGF-BB on adipose-tissue derived stem cells (ASCs). Clin Hemorheol Microcirc 2011; 48: 5–13
26 *Coleman SR*. Long-term survival of fat transplants: controlled demonstrations. Aesthetic Plast Surg 1995; 19: 421–425
27 *Fraser JK*, *Wulur I*, *Alfonso Z et al.* Differences in stem and progenitor cell yield in different subcutaneous adipose tissue depots. Cytotherapy 2007; 9: 459–467
28 *Schreml S*, *Babilas P*, *Fruth S et al.* Harvesting human adipose tissue-derived adult stem cells: resection versus liposuction. Cytotherapy 2009; 11: 947–957
29 *Torio-Padron N*, *Huotari AM*, *Eisenhardt SU et al.* Comparison of Pre-Adipocyte Yield, Growth and Differentiation Characteristics from Excised versus Aspirated Adipose Tissue. Cells Tissues Organs 2010; 191: 365–371
30 *Mojallal A*, *Auxenfans C*, *Lequeux C et al.* Influence of negative pressure when harvesting adipose tissue on cell yield of the stromal-vascular fraction. Biomed Mater Eng 2008; 18: 193–197
31 *Sommer B*, *Sattler G*. Current concepts of fat graft survival: histology of aspirated adipose tissue and review of the literature. Dermatol Surg 2000; 26: 1159–1166
32 *Pulsfort AK*, *Wolter TP*, *Pallua N*. The effect of centrifugal forces on viability of adipocytes in centrifuged lipoaspirates. Ann Plast Surg 2011; 66: 292–295
33 *Ueberreiter K*, *von Finckenstein JG*, *Cromme F et al.* BEAULI – a new and easy method for large-volume fat grafts. Handchir Mikrochir Plast Chir 2010; 42: 379–385
34 *Keck M*, *Zeyda M*, *Gollinger K et al.* Local anesthetics have a major impact on viability of preadipocytes and their differentiation into adipocytes. Plast Reconstr Surg 2010; 126: 1500–1505
35 *Padoin AV*, *Braga-Silva J*, *Martins P et al.* Sources of processed lipoaspirate cells: influence of donor site on cell concentration. Plast Reconstr Surg 2008; 122: 614–618
36 *Jurgens WJ*, *Oedayrajsingh-Varma MJ*, *Helder MN et al.* Effect of tissue-harvesting site on yield of stem cells derived from adipose tissue: implications for cell-based therapies. Cell Tissue Res 2008; 332: 415–426
37 *Tchkonia T*, *Giorgadze N*, *Pirtskhalava T et al.* Fat depot origin affects adipogenesis in primary cultured and cloned human preadipocytes. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2002; 282: R1286–R1296
38 *Niesler CU*, *Siddle K*, *Prins JB.*. Human preadipocytes display a depot-specific susceptibility to apoptosis. Diabetes 1998; 47: 1365–1368
39 *Duckers HJ*, *Pinkernell K*, *Milstein AM et al.* The Bedside Celution system for isolation of adipose derived regenerative cells. EuroIntervention 2006; 2: 395–398
40 *Bieback K*, *Hecker A*, *Schlechter T et al.* Replicative aging and differentiation potential of human adipose tissue-derived mesenchymal stromal cells expanded in pooled human or fetal bovine serum. Cytotherapy 2012; 14: 570–583
41 *Bieback K*, *Schallmoser K*, *Kluter H et al.* Clinical Protocols for the isolation and expansion of mesenchymal stromal cells. Transfusion Medicine and Hemotherapy 2008; 35: 286–294
42 *Buchholz CJ*, *Sanzenbacher R*, *Schule S*. The European hospital exemption clause-new option for gene therapy? Hum Gene Ther 2012; 23: 7–12
43 *Rennekampff HO*, *Reimers K*, *Gabka CJ et al.* Current perspective and limitations of autologous fat transplantation – "consensus meeting" of the German Society of Plastic, Reconstructive and Aesthetic Surgeons at Hannover; September 2009. Handchir Mikrochir Plast Chir 2010; 42: 137–142
44 *Schantz JT*, *Woodruff MA*, *Lam CX et al.* Differentiation potential of mesenchymal progenitor cells following transplantation into calvarial defects. J Mech Behav Biomed Mater 2012; 11: 132–142
45 *Wong RS*. Mesenchymal stem cells: angels or demons? J Biomed Biotechnol 2011; 2011: 459510
46 *Zimmerlin L*, *Donnenberg AD*, *Rubin JP et al.* Regenerative therapy and cancer: in vitro and in vivo studies of the interaction between adipose-derived stem cells and breast cancer cells from clinical isolates. Tissue Eng Part A. 2011; 17: 93–106
47 *ASPRS, committee*. Report on autologous fat transplantation. ASPRS Ad-Hoc Committee on New Procedures, September 30, 1987. Plast Surg Nurs 1987; 7: 140–141
48 *Delay E*, *Garson S*, *Tousson G et al.* Fat injection to the breast: technique, results, and indications based on 880 procedures over 10 years. Aesthet Surg J 2009; 29: 360–376
49 *Petit JY*, *Botteri E*, *Lohsiriwat V et al.* Locoregional recurrence risk after lipofilling in breast cancer patients. 2012; 23: 582–588

Dieses Dokument wurde zum persönlichen Gebrauch heruntergeladen. Vervielfältigung nur mit Zustimmung des Verlages.