



Journal Club Juni-2025

Ex vivo Plazentaperfusion – ein humanes Plazenta-Modell zur Testung physiologischer Vorgänge und toxikologischer Einflüsse

Einleitung

Die menschliche Plazenta stellt ab der zehnten Schwangerschaftswoche eine komplexe Barriere zwischen mütterlichem und fetalem Blut dar, die bis zur Geburt immer dünner wird, um den steigenden bidirektionalen Stoffaustauschbedarf gewährleisten zu können. Sie übernimmt essenzielle Funktionen für den Gasaustausch, den Nährstofftransport sowie die hormonelle und immunologische Regulation. Die ex vivo duale Perfusion eines Plazentakotyledons ist eine experimentelle Methode, bei der ein Teil der Plazenta nach der Geburt mittels einer komplexen Konstruktion aus Pumpen, Schläuchen, Kanülen, Oxygenatoren und weiteren Bestandteilen perfundiert wird. Hierbei werden der mütterliche und der fetale Kreislauf getrennt gehalten, was mittels zahlreicher Kontrollparameter permanent überwacht wird. Dieses Modell erlaubt es, physiologisch relevante Bedingungen im Labor meistens bis zu 6 Stunden zu simulieren und so den Transfer von Substanzen und die Funktion der Plazenta in einem rein humanen System zu untersuchen.

Die Methode wurde erstmals in den 1970er Jahren von Henning Schneider beschrieben und seither vielfach weiterentwickelt (Schneider, 1972). Sie gilt als die einzige ethisch unbedenkliche Technik, mit der der vollständige transplazentare Transfer von Medikamenten, Umweltgiften, Nanopartikeln oder Krankheitserregern direkt im vitalen intakten menschlichen Gewebe untersucht werden kann. Der besondere Vorteil liegt in der Erhaltung der natürlichen Gewebearchitektur der Plazenta. Auch physiologischer Transport, hormonelle Sekretion, vaskuläre Reaktionen oder immunologische Vorgänge können analysiert werden.

Die Plazentaperfusion ist besonders bedeutsam, da die menschliche Plazenta hinsichtlich Struktur und Transportmechanismen stark von tierischen Modellen abweicht. Tierstudien, etwa mit Nagetieren, liefern daher oft nur begrenzt übertragbare Daten. Die humane Plazentaperfusion kann so nicht nur bessere Risikobewertungen für fetale Exposition ermöglichen, sondern gewinnt im Zuge der 3R-Initiative (Replace, Reduce, Refine) und der neuen EU-Richtlinien (ICH S5(R3)) zunehmend an regulatorischer Relevanz (Schneider, 2022).

Im Folgenden werden 3 Studien beispielhaft vorgestellt, eine, in der das Medikament durch die Plazentaschranke auf die fetale Seite übertritt, eine andere, in der dies nicht geschieht, und eine dritte, in der der Übertritt von mütterlichen Zellen in die fetalen Kompartimente gezeigt werden konnte.

Studie zum Übertritt von Tofacitinib durch die Plazentaschranke

Tofacitinib ist ein niedermolekularer Januskinase-(JAK)-Inhibitor, der zur Behandlung von rheumatoider Arthritis, Psoriasis-Arthritis und Colitis ulcerosa zugelassen ist. Da viele Autoimmunerkrankungen Frauen im gebärfähigen Alter betreffen, ist der Einsatz solcher Medikamente in der Schwangerschaft ein relevantes Thema. Aufgrund begrenzter klinischer Daten zur Sicherheit von Tofacitinib in der Schwangerschaft wurde in dieser Studie der transplazentare Transfer des Wirkstoffs ex vivo mithilfe der dualen Plazentaperfusion untersucht.

Hierzu wurden drei Plazenten aus termingerechten, komplikationslosen Geburten für 180 Minuten mit Tofacitinib (100 nM) perfundiert. Das Medikament wurde dem mütterlichen Kreislauf zugeführt. Als Referenzsubstanz für passive Diffusion diente Antipyrin. Bereits nach 180 Minuten zeigte sich ein nahezu vollständiges Konzentrationsgleichgewicht zwischen mütterlichem und fetalem Kompartiment, vergleichbar mit dem Verhalten von Antipyrin.

Die Ergebnisse belegen, dass Tofacitinib die Plazentaschranke rasch und in erheblichem Maße überquert. Daraus ergibt sich, dass nach mütterlicher Gabe des Medikaments eine substanzielle fetale Exposition wahrscheinlich ist – insbesondere im dritten Trimenon. Obwohl aus Tierversuchen teratogene Effekte bekannt sind, ist die klinische Evidenz in der Frühschwangerschaft bisher begrenzt und beruht hauptsächlich auf Fallberichte und Registerdaten (Eliesen, 2024).

Kein Durchtritt von Von-Willebrand-Faktor durch die Plazentaschranke

Der Von-Willebrand-Faktor (VWF) ist ein großes multimeres Glykoprotein, das eine zentrale Rolle in der primären Hämostase spielt und als Trägerprotein für Faktor VIII fungiert. Bei einem Mangel oder einer Funktionsstörung des VWF entsteht die Von-Willebrand-Erkrankung (VWD), die häufigste angeborene Blutgerinnungsstörung. In der Schwangerschaft kann eine Therapie mit rekombinantem VWF (rVWF) zur Vermeidung maternaler Komplikationen erforderlich sein. Aufgrund der großen Molekülgröße (~500–20.000 kDa) wurde bereits vermutet, dass rVWF die Plazentaschranke nicht überwinden würde, was jedoch zuvor nicht systematisch untersucht wurde. Ein Übertritt könnte gravierende Folgen für den Fetus haben, der häufig nicht denselben Mangel aufweist wie die Mutter.

Diese Studie überprüfte mithilfe der *ex vivo* dualen Plazentaperfusion an 21 intakten termingerechten Plazenten, ob rVWF vom maternalen in den fetalen Kreislauf übertritt. Dabei wurden verschiedene Konzentrationen von rVWF (physiologisch bis 10-fach erhöht) in den maternalen Kreislauf eingebracht und über zwei Stunden perfundiert. Antipyrin und Kreatinin dienten als etablierte Kontrollsubstanzen zur Beurteilung der Barrierefunktion. Die Integrität und Vitalität der Plazenta wurden durch metabolische Parameter und Druckverläufe kontinuierlich überwacht.

In keinem Fall konnte rVWF im fetalen Kreislauf detektiert werden – unabhängig von Dosis und Zeit. Hingegen nahm die rVWF-Konzentration im maternalen Medium im Verlauf geringfügig ab, vermutlich durch Bindung, Aufnahme oder Abbau im Gewebe.

Die Ergebnisse belegen, dass rVWF die menschliche Plazenta nicht durchdringt. Damit erscheint das Risiko einer fetalen Exposition bei maternaler Therapie äußerst gering. Diese Daten unterstützen die potenzielle Sicherheit von rVWF in der Schwangerschaft, zumindest unter physiologischen Plazentabedingungen (Pastuschek, 2021).

Übertritt von mütterlichen Immunzellen durch die humane Plazenta

Es wurde bereits in früheren Arbeiten mütterliche Zellen im fetalen Nabelschnurblut gefunden, so dass es wahrscheinlich erschien, dass Zellen zwischen Mutter und Fötus die Plazentaschranke überqueren, wodurch ein sogenannter Mikrochimärismus entsteht. Dabei können genetisch fremde Zellen oft dauerhaft im Körper des Empfängers verbleiben. Obwohl fetale Zellen häufiger in der Mutter nachweisbar sind als umgekehrt, ist die Migration maternaler Immunzellen in den Fötus bislang nur wenig erforscht. Die Mechanismen und beteiligten Zelltypen sind nach wie vor weitgehend unklar, da geeignete humane Modelle fehlen.

In dieser Studie wurde mithilfe des *ex vivo* Plazentaperfusionsmodells untersucht, ob und in welchem Umfang mütterliche Immunzellen in fetales Plazentagewebe eindringen oder sogar in fetale Gefäße gelangen können. Hierzu wurden periphere mononukleäre Blutzellen (PBMC) von zehn gesunden Spenderinnen kurz vor der Geburt isoliert, mit einem Fluoreszenzfarbstoff markiert und über die maternale Zirkulation durch Plazentakotylen perfundiert. Anschließend wurden Gewebeschnitte immunhistologisch auf eingewanderte T-Zellen (CD3⁺) und natürliche Killerzellen (CD56⁺) untersucht.

Ex vivo perfundierte, fluoreszenzmarkierte mütterliche Zellen waren in allen untersuchten Plazenten nachweisbar. Die meisten dieser Zellen waren an den Synzytiotrophoblasten adhärert, einige wenige drangen bis ins fetale Gewebe oder sogar in fetale Blutgefäße vor. T-Zellen wurden deutlich häufiger

als NK-Zellen gefunden. Morphologische Veränderungen deuteten auf einen aktiven, mehrstufigen Migrationsprozess hin, ähnlich der Leukozytendiapedese. Eine leichte Tendenz zu höherer Zellmigration in männliche Plazenten wurde beobachtet, war aber statistisch nicht signifikant (Morales-Prieto, 2024).

Diese Studie ist eine Grundlage, um in nachfolgenden Untersuchungen die genauen Mechanismen des Zellübergangs analysieren zu können. Es können dann Faktoren getestet werden, die den Übertritt spezifischer Immunzellklassen beschleunigen oder reduzieren können. Die Ergebnisse könnten sich teilweise auch auf andere Gewebe übertragen lassen.

Allgemeine Problematik der ex vivo Plazentaperfusion

In der Praxis zeigt sich, dass verschiedene Labore die Methode mit teils erheblichen Unterschieden anwenden – etwa bezüglich der Perfusat-Medium-Zusammensetzung, des Sauerstoffangebotes, der Flussraten oder der Qualitätskontrollen. Diese Variabilität erschwert die Vergleichbarkeit von Studien und stellt ein Hindernis für eine breitere regulatorische Anerkennung dar. Die vorwiegend europäischen Arbeitsgruppen, die die ex vivo Plazentaperfusion anwenden, arbeiten in jährlichen Workshops sowie in weiteren Treffen an der Standardisierung zentraler Parameter und planen ein mehrstufiges Pilotprojekt, um den Einfluss von Variablen wie Sauerstoffverbrauch, Glukosemetabolismus, Proteinbiosynthese oder Markertransfer auf die Ergebnisqualität zu bewerten.

Die beteiligten Arbeitsgruppen diskutieren auch typische Limitationen des Modells, wie die kurze Lebensfähigkeit des Gewebes nach der Geburt, potenzielle Lecks durch Gewebeschäden, Schwierigkeiten bei der Anpassung der Flussraten an die Gewebemasse oder die Berücksichtigung von Plazenten pathologischer Schwangerschaften. Dennoch bleibt die Methode ein einzigartiges humanes Modell, insbesondere für die Pharmakokinetik Forschung, Toxikologie, Umweltmedizin und Entwicklungsbiologie, dessen Nutzung und Akzeptanz in der regulatorischen Bewertung von Arznei- und Schadstoffen dringend weiter erhöht werden sollte, um human-spezifische Vorgänge und Effekte erkennen zu können.

Quellen

Eliesen GAM, Fransen M, van Hove H, van den Broek PHH, Greupink R. Placental transfer of tofacitinib in the ex vivo dual-side human placenta perfusion model. *Curr Res Toxicol.* 2024 Jan 8; 6:100149. doi: 10.1016/j.crtox.2024.100149.

Morales-Prieto DM, Wieditz K, Götze J, Pastuschek J, Weber M, Göhner C, Groten T, Markert UR. Transplacental migration of maternal natural killer and T cells assessed by ex vivo human placenta perfusion. *Placenta.* 2024; 146:42-49.

Pastuschek J, Bär C, Göhner C, Budde U, Leidenmuehler P, Groten T, Schleußner E, Markert UR. Ex vivo human placental transfer study on recombinant Von Willebrand factor (rVWF). *Placenta.* 2021 Aug; 111:69-75.

Schneider H, Panigel M, Dancis J. Transfer across the perfused human placenta of antipyrine, sodium and leucine. *Am J Obstet Gynecol.* 1972 Nov 15;114(6):822-8. doi: 10.1016/0002-9378(72)90909-x.

Schneider H, Albrecht C, Ahmed MS, Broekhuizen M, Aengenheister L, Buerki-Thurnherr T, Danser AHJ, Gil S, Hansson SR, Greupink R, Lewis RM, Markert UR, Mathiesen L, Powles-Glover N, Wadsack C, Brownbill P. Ex vivo dual perfusion of an isolated human placenta cotyledon: Towards protocol standardization and improved inter-centre comparability. *Placenta.* 2022 May 13; 126:83-89. doi: 10.1016/j.placenta.2022.05.003.

Prof. Dr. Udo Markert
Placenta-Labor
Klinik für Geburtsmedizin
Universitätsklinikum Jena
www.placenta-labor.de