

Zahra Bagher Mofidi

Dr. med.

**Untersuchungen zur Wirkung von Vitamin C auf Knochenzellkulturen aus arthrotischem und gesundem Knochen**

Klinisches Studium in Freiburg

Praktisches Jahr in Mannheim

Promotionsfach: Orthopädie

Doktorvater: Priv.Doiz. Dr.med. J. Graf

Die in vitro Kultivierung von Knochenzellen erlaubt die Durchführung von Untersuchungen einzelner Parameter und zellulärer Reaktionen an einem definierten Modell unter standardisierten Bedingungen.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, welchen Einfluß der Zusatz von Vitamin C zu Knochenzellkulturen aus arthrotischem Knochen und gesundem Knochen hat. Hierbei interessierte speziell, ob sich Arthrosezellkulturen bei einer Therapie mit Vitamin C von gesunden Zellkulturen im Hinblick auf die Verdopplungszeit und die Kollagenproduktion unterscheiden, und ob es dabei Unterschiede gibt zwischen Arthrosezellen, die mit Vitamin C behandelt wurden und Arthrosezellen, die kein Vitamin C erhielten. Des weiteren sollte geprüft werden, ob der Anteil AP-positiver Zellen und die Kollagen Typ I-Syntheseleistung der untersuchten Zellkulturen korrelieren.

Kleine Knochenfragmente aus arthrotisch veränderten femoralen Kniegelenkskompartimenten sowie spongiöse Knochenproben von Patienten ohne klinische, röntgenologische oder morphologische Zeichen einer Arthrose wurden in Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) inkubiert, bis sich ein konfluenter Zellrasen gebildet hatte. Mit Zellen aus der zweiten Passage wurden die Verdopplungszeit und die Kollagensyntheseleistung bestimmt.

Außerdem wurde der Anteil der Zellen ermittelt, die sich mit einer für Alkalische Phosphatase (AP) spezifischen Färbung anfärben ließen (Anteil AP-positiver Zellen). Die Bestimmung der Verdopplungszeit erfolgte durch fünfmaliges, über zehn Tage verteiltes Auszählen der Zellen in der Neubauer-Zählkammer, die Menge gebildeten Kollagens wurde mit einem ELISA zur Bestimmung des C-terminalen Propeptids von Kollagen Typ I (PICP) gemessen. Die Wirkung von 2 µg/ml Ascorbinsäure auf diese Parameter wurde in parallelen Zellkulturen auf jeweils derselben Platte untersucht. Die Kultivierung mit Ascorbinsäure betrug 96 Stunden.

Arthrotische Knochenzellen unterschieden sich weder in ihrer Verdopplungszeit noch in ihrem Anteil an AP-positiven Zellen signifikant von den gesunden Knochenzellen. Auffällig war die große Streuung beider Parameter in den beiden Zellpopulationen. Arthrotische Knochenzellen gaben signifikant weniger PICP in den Überstand ab als gesunde Knochenzellen.

Wurden die Knochenzellen mit Vitamin C stimuliert, steigerte sich die Syntheseleistung der arthrotischen Zellen, während die gesunden Zellen nicht auf Vitamin C reagierten.

Die Kollagen Typ I-Syntheseleistung arthrotischer Zellen unter Vitamin C-Stimulation konnte jedoch nicht auf das Niveau gesunder Zellen angehoben werden. Auch hier war eine große Heterogenität in der Reaktion der Zellen feststellbar. Während die Zellen einiger Arthrotiker kaum auf die Vitamin C-Behandlung reagierten, wurden andere zu einer starken PICP-Sezernierung angeregt. Betrachtete man die Kollagensyntheseleistung der AP-positiven Zellen, so betrug diese bei nicht mit Vitamin C stimulierten arthrotischen Zellen lediglich 34 % derjenigen der gesunden Zellen. Die Behandlung mit Vitamin C steigerte die Kollagensynthese

der arthrotischen AP-positiven Zellen auf 60 % der von gesunden Zellen erbrachten Kollagensyntheseleistung.

Bei gesunden Spendern bestand eine negative Korrelation zwischen Spenderalter und Kollagen

Typ I-Syntheseleistung der Knochenzellen, die unter Vitamin C-Stimulation signifikant war. Bei Knochenzellen von arthrotischen Patienten war eine Altersabhängigkeit der Kollagen Typ I-Synthese weder mit noch ohne Vitamin C festzustellen. Zwischen der Kollagen Typ I-Syntheseleistung

und der Verdopplungszeit bestand weder für die arthrotischen noch für die gesunden Knochenzellen ein Zusammenhang.

Eine Störung des Kollagen Typ I-Stoffwechsels im subchondralen Knochengewebe von Arthrotikern war bisher nicht bekannt. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung bestätigen morphologische und klinische Befunde, die Veränderungen im subchondralen Knochengewebe bereits in frühen Stadien der Arthrose nachweisen konnten. Die für die vorliegenden Untersuchungen eingesetzte Methode der in vitro Kultivierung von Knochenzellen

arthrotischer Patienten eröffnet neue Möglichkeiten zur Untersuchung des Pathomechanismus der Arthrose.