

Pamela Teubert

Dr. sc.hum.

Eigenschaften, Differenzierungsfähigkeit und osteogene in vivo Potenz von humanen mesenchymalen Stammzellen aus unterschiedlichen Spendergeweben

Promotionsfach: Orthopädie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Arash Moghaddam-Alvandi

Das Reaming-Irrigator-Aspirator-(RIA)-System[®] der Firma DePuy Synthes wurde zur Gewinnung qualitativ hochwertiger autologer Knochenmarksspongiosa aus langen Röhrenknochen (wie Tibia oder Femur) unter geringer Druckerzeugung entwickelt. Es wird im klinischen Alltag als Alternative zum Gold Standard, die Transplantation autologer Beckenkammspongiosa, vermehrt angewendet, da es Vorteile wie eine geringe Entnahmemorbidität, eine Vielzahl an Wachstumsfaktoren mit sich bringt und zudem in großem Volumen gewonnen werden kann. Das entnommene Material, auch Reaming-Material genannt, ist ein vitales Transplantat das in verschiedenen Bereichen der Orthopädischen und Unfallchirurgischen Medizin als osteogener Faktor zusammen mit osteoinduktiven und –konduktiven Faktoren in Tissue Engineering Strategien eingesetzt wird. Trotz seines Einsatzes in der klinischen Forschung, ist das Reaming-Material auf experimenteller Ebene bislang kaum untersucht worden. Daher sollte in der vorliegenden Arbeit die Isolation von MSCs aus Reaming-Material etabliert, die phänotypischen Oberflächenantigene der MSCs ermittelt, die Gen- und Proteinexpression anerkannter osteogener Markermoleküle untersucht, sowie die Knochenneubildung mit MSCs aus Reaming-Material *in vitro* und *in vivo* verifiziert werden. Zudem sollte ein Vergleich zwischen MSCs aus unterschiedlichen Gewebequellen (Reaming-Material, Beckenkammaspirat und Fettgewebe) von ein und demselben Spender angestellt werden.

Dazu wurde vom selben Patienten Reaming-Material vom Femur, Fettgewebe aus dem Oberschenkel sowie Beckenkammaspirat aus dem Knochenmark entnommen und mesenchymale Stammzellen (MSCs) isoliert. Das Reaming-Material, ein Feststoff, wurde separiert und ein Teil in nativer Form als („Native RIA-MSCs“) ausgelegt. Der andere Teil wurde filtriert und die Zellsuspension als „Filtrat RIA-MSCs“ kultiviert. Zudem wurde auch die RIA Spülflüssigkeit als „Flüssige RIA-MSCs“ analysiert. Die MSCs der RIA-Fractionen wurden auf ihre Charaktereigenschaften und Differenzierungsfähigkeit hin untersucht und mit den MSCs aus den Gewebequellen Fettgewebe (Fett-MSCs) und Beckenkammaspirat (KM-

MSCs) verglichen. Bei der Überprüfung und Validierung von Charaktereigenschaften humaner MSCs wurde auf die von Dominici und Kollegen publizierte Arbeit zurückgegriffen. Diese beschreiben, dass humane MSCs an Kunststoff adhären, ein bestimmtes Expressionsmuster von Oberflächenantigenen aufzeigen und zudem als multipotente Zellen osteogen, chondrogen und adipogen differenzieren können. Bei der vorliegenden Arbeit stand die osteogene Differenzierung im Fokus, da sich die Unfallchirurgische Forschung primär mit der Regeneration von Knochen beschäftigt und weil Reaming-Material, ebenso wie Beckenkammaspirat, aus knöcherner Umgebung stammt. Deshalb wurde die osteogene Differenzierung von MSCs aus den oben genannten Gewebequellen nicht nur *in vitro* analysiert, sondern die ektote *in vivo* Potenz der MSCs aus Reaming-Material zusätzlich in einem Mausmodell ermittelt. Zudem wurde ein CFU-F Assay durchgeführt, der die Menge isolierter MSCs aus den verschiedenen Gewebequellen anzeigt. Darüber hinaus wurden verschiedene anerkannte osteogene Markermoleküle, die an der Osteoblastizytären Differenzierung beteiligt sind, histologisch sowie auf Gen- und Proteinexpressionsebene mittels qRT-PCR bzw. Western Blot untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass alle RIA-Fractionen mesenchymale Stammzellen enthalten, da alle genannten Charaktereigenschaften nachgewiesen werden konnten. Auf Grund der knöchernen Gewebequelle und dem damit verbundenen Vorhandensein eines adäquaten Zellenvironements lassen sich die RIA-Fractionen sowohl *in vitro* als auch *in vivo* ähnlich erfolgreich osteogen differenzieren wie MSCs aus Beckenkammaspirat. Lediglich MSCs aus Fettgewebe sind nicht so gut osteoblastizytär differenzierbar. Daher ist der Einsatz von MSCs aus Reaming-Material als neue Gewebequelle zur Therapie von Knochendefekten angemessen.