

Kira Kornienko

Dr. med.

Der *in vitro*-Einfluss von Bone Morphogenetic Protein 7 auf mesenchymale Stammzellen unterschiedlicher Spendermaterialien

–

Ein Vergleich der osteogenen Potenz, der mittels Reamer/Irrigator/Aspirator-System und Beckenkammaspirat gewonnenen mesenchymalen Stammzellen

Fach/ Einrichtung: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Gerhard Schmidmaier

Große Knochendefekte und nicht heilende Knochenbrüche stellen weiterhin ein Problem der modernen Unfallchirurgie dar. In der Behandlung ist der Goldstandard bislang die autologe Spongiosaplastik aus dem Beckenkamm. Nachteile dieses Verfahrens sind aber die hohe Komorbidität sowie die begrenzte Verfügbarkeit. Als alternative Behandlungsstrategie kann auch das Reamer/Irrigator/Aspirator System (RIA) genutzt werden. Vorteile birgt das RIA-Verfahren durch Gewinnung größerer Volumina, geringerer Komplikationsrate auf Spenderseite sowie der Möglichkeit der Wiederholung nach einigen Monaten.

Beide Formen der Materialgewinnung zeichnen sich als eine Quelle humaner mesenchymaler Stammzellen (MSC) mit osteogener Potenz aus. Zusätzlich zur Stimulation der Knochenheilung kommen Knochenwachstumsfaktoren, wie zum Beispiel Bone Morphogenetic Protein 7 (BMP 7), zur Anwendung.

In dieser Studie wurde das RIA System mit der Methode des Beckenkammaspirats verglichen. Ziel war es zu zeigen, dass mittels des RIA Systems gleichwertige mesenchymale Stammzellen mit osteogener Potenz gewonnen werden können. Des Weiteren war es Teil der Arbeit herauszufinden, inwiefern die Zugabe und Dosis des Knochenwachstumsfaktors BMP 7 auf die osteoinduktive Wirkung v.a. der RIA-MSC Einfluss nimmt.

Es wurden elf Patienten mit atrophen Pseudarthrosen in die Studie eingeschlossen. In einer Operation wurden jeweils Beckenkammaspirat und RIA-Material entnommen und *in vitro* die gewonnenen MSC kultiviert und mittels Durchflussszytometrie charakterisiert. Anschließend wurden die Zellen in Osteogenese, Chondrogenese und Adipogenese überführt. Zur osteogenen Differenzierung wurden jeweils 0,1 µg/ml und 1 µg/ml BMP 7 hinzugegeben. Außerdem gab es eine Kontrollgruppe ohne Zusatz von BMP 7 zum isolierten Vergleich der RIA-MSC mit Knochenmark(KM)-MSC. Das osteogene Potenzial wurde histologisch mittels Alizarin-Rot-Färbung und der Aktivität der Alkalischen Phosphatase (ALP) quantifiziert.

Sowohl das mittels des RIA Systems als auch das mittels des Beckenkammaspirats gewonnene Material konnte als Quelle von MSC identifiziert werden. Weiterhin zeigte sich, dass die RIA-MSC gleichwertiges osteogenes Potenzial im Vergleich zu den Beckenkamm-MSC aufwiesen. Damit haben sich die RIA-MSC als attraktive

Alternative etabliert. Die Applikation von BMP 7 zeigte weder eine dosisabhängige Steigerung noch vermehrte Calciumablagerungen. Im Trend zeigten sich die höchsten Ergebnisse in der Differenzierung ohne die Applikation von BMP 7.

Die Verwendung des RIA Systems bringt im klinischen Alltag viele Vorteile. Im Vergleich zum Beckenkammaspirat wird gleichwertiges Material in größeren Mengen und mit weniger Spendermorbidity gewonnen. Die durchgeführte Studie hat die osteogenen Eigenschaften der gewonnenen Zellen aus Reaming-Material und Beckenkammaspirat veranschaulicht. Insgesamt zeigten die RIA-MSC gleichwertige Ergebnisse im Hinblick auf die osteogene Differenzierung im Vergleich zum Goldstandard. Daher stellen die aus Reaming-Material gewonnenen MSC eine attraktive Alternative, zum Einen im Hinblick auf die Knochenneubildung und zum Anderen im klinischen Alltag zum Beckenkammaspirat, dar. Allerdings zeigte sich kein Mehrgehalt in der Differenzierung zu Osteoblasten nach der Applikation von BMP 7 *in vitro*, sodass weiterführende Erkenntnisse über den Wachstumsfaktor und seine Beständigkeit sowie das immunologische Setting in der Osteogenese erst gewonnen werden müssten.

Im Hinblick auf nachfolgende Studien könnte zur weiteren Steigerung der osteogenen Potenz ein weiterer Wachstumsfaktor wie zum Beispiel Bone Morphogenetic Protein 2 (BMP 2) zum Einsatz zum bestehenden Protokoll kommen.

Eine weitere Überlegung wäre es, die Stimulation mit Wachstumsfaktoren an Osteoblasten durchzuführen, da MSC in ihrer Differenzierung noch nicht so weit fortgeschritten sind und die Applikation von BMP 7 eventuell zu früh stattgefunden hat.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass das RIA-System mittlerweile ein etabliertes Verfahren in der Gewinnung mesenchymaler Stammzellen darstellt. Die gewonnenen Zellen weisen eine große osteogene Potenz auf und aufgrund der geringeren Spendermorbidity des Verfahrens sowie vermehrter Materialgewinnung stellt das RIA-System eine attraktive Alternative zum Beckenkammaspirat dar.