

Melanie Elke Höllig  
Dr. med.

## **Histologische Evaluation der osteogenen in vivo- und in vitro-Potenz humaner mesenchymaler Stammzellen unterschiedlicher Herkunftsgewebe unter dem Einfluss von Bone Morphogenetic Protein 7**

Fach/Einrichtung: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Arash Moghaddam-Alvandi

Der Goldstandard in der Therapie von Pseudarthrosen ist derzeit die autologe Beckenkamm-spongiosaplastik. Reaming-Material, welches mit Hilfe des Reamer-Irrigator-Aspirator-Systems gewonnen wurde, stellt eine alternative Quelle autologen Knochenmaterials dar, die mit geringeren Hebestellenmorbiditäten einhergeht. RIA-Material wird zunehmend klinisch eingesetzt und enthält mesenchymale Stammzellen, welche zu osteogener Differenzierung und folglich Bildung neuen Knochens fähig sind. BMP-7 ist ein biologischer Wachstumsfaktor, der aufgrund seiner osteoinduktiven Eigenschaften ebenfalls therapeutisch genutzt wird. In der klinischen Anwendung ist die Kombination von Beckenkamm-spongiosa mit BMP-7 bereits etabliert, wohingegen es noch keine Untersuchungen bezüglich der in vivo- Interaktion von RIA-MSc mit BMP-7 gibt.

In dieser Arbeit sollten die osteogenen Potenzen in vivo von RIA-MSc und KM-MSc verglichen und der Einfluss unterschiedlicher Konzentrationen BMP-7 untersucht werden. Aus RIA-Material und Beckenkamm-Aspirat von 11 humanen Spendern wurden MSc isoliert und bis Passage 2 kultiviert. Der Stammzellcharakter aller verwendeten Zellpopulationen wurde in vitro nachgewiesen, d.h. die Expression der Oberflächenantigene wurde analysiert und die trilineare (adipogene, chondrogene, osteogene) Differenzierungsfähigkeit untersucht. Die osteogene Potenz in vivo wurde mit Hilfe eines ektopen Tiermodells quantitativ und qualitativ analysiert. Hierbei wurden mit MSc und BMP-7 besiedelte Konstrukte in immundefiziente Mäuse implantiert und für acht Wochen belassen. Die Auswertung erfolgte mittels histologischer Färbungen, wie HE-, HES-, Safranin O/Fast Green- und Toluidinblau-Färbung, sowie einer immunhistochemischen Färbung.

Der Stammzellcharakter konnte für alle untersuchten Zellpopulationen nachgewiesen werden. Die qualitative in vivo-Analyse zeigte die Neubildung mineralisierten Knochengewebes. Die Bildung von Knorpelgewebe konnte histologisch ausgeschlossen werden. In quantitativer Hinsicht wurde der prozentuale Anteil des Knochens an der Gesamtfläche der Konstrukte bestimmt. In der RIA-Gruppe beobachteten wir einen signifikant höheren Anteil in Konstrukten ohne Stimulation und nach Zusatz von 0,1µg/ml BMP-7 verglichen mit der Beckenkammgruppe. Zwischen Konstrukten, denen BMP-7 in der Konzentration 1µg/ml zugegeben wurde, zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gewebequellen. Wir analysierten zudem den Verlauf der osteogenen Potenz durch die Stimulation mit BMP-7. In der RIA-Gruppe konnte ein signifikanter Anstieg der Knochenbildung bei Stimulation mit 0,1µg/ml BMP-7 beobachtet werden. Durch höhere Konzentrationen des Wachstumsfaktors konnte keine signifikante Veränderung mehr erzielt werden. In der KM-MSc-Gruppe stieg der Anteil sowohl nach Zugabe von 0,1µg/ml als auch 1µg/ml BMP-7 signifikant an. Aus den Ergebnissen konnte der Schluss gezogen werden, dass RIA-MSc in Hinblick auf osteogene Potenz überlegen gegenüber KM-MSc sind und sie außerdem auf schon geringe Konzentrationen von BMP-7 mit einer Steigerung der osteogenen Potenz reagieren. KM-MSc konnten ebenfalls durch BMP-7 stimuliert werden, reagierten jedoch weniger sensibel, sodass eine höhere Konzentration des Wachstumsfaktors verwendet werden musste, um den gleichen Effekt wie in der RIA-Gruppe zu erzielen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit bieten Raum zur Überlegung neuer Therapiekonzepte in der Pseudarthrosentherapie, wie die zunehmende Anwendung des RIA-Materials als Standardtherapie und die Kombination desselben mit BMP-7 und anderen Wachstumsfaktoren. So könnte die Verwendung von Platelet Rich Plasma, welches BMP-7 und andere Wachstumsfaktoren in vergleichsweise geringen Konzentrationen enthält, in Kombination mit RIA-Material eine neue Therapieoption darstellen. Auf diese Weise könnten einerseits die klinischen Erfolgsraten gesteigert und andererseits die Kosten der Therapie erheblich gesenkt werden. Folglich sind die Ergebnisse dieser Arbeit von sowohl hoher klinischer als auch ökonomischer Relevanz.