

Matthäus Markus Prokscha

Dr. med.

Das osteogene Potential von humanen mesenchymalen Stammzellen unterschiedlicher Herkunftsgewebe und verschiedener Knochenersatzstoffe im Rahmen des Knochen Tissue Engineerings

Fach: Orthopädie

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

Die Behandlung großer Knochendefekte, unter anderem auch der Pseudarthrosen und Critical size defects, stellt ein immer noch nicht zufriedenstellend gelöstes Problem in der Orthopädie und Unfallchirurgie dar. Das Diamond-Konzept fasst die wesentlichen klinischen Faktoren zusammen, die für die erfolgreiche Konsolidierung zuvor genannter Knochendefekte, eine Rolle spielen. Dazu zählen: Mechanische Stabilität, Vaskularisation, Wachstumsfaktoren, mesenchymalen Stammzellen und osteokonduktive und -induktive Knochenersatzstoffe. Vor allem die beiden letzten genannten werden im Rahmen des Knochen Tissue Engineering intensiv laborexperimentell, in vitro und in vivo, untersucht, um ein Optimum zu finden. Der bisherige Goldstandard zum Gewinnen von humanen mesenchymalen Stammzellen, die dann in den Bereich der Defektstelle eingebracht werden können, ist die Transplantation autologer Beckenkamm-spongiosa. Diese ist mit klinischen Nachteilen, vor allem auch mit einer limitierten Verfügbarkeit verbunden. Das „Reamer-Irrigator-Aspirator“-System® (RIA-System®) kann eine Alternative hierzu darstellen. Aufgrund der limitierten Verfügbarkeit autologer Knochenersatzstoffe spielen biokompatible, osteokonduktive und osteoinduktive, gleichzeitig aber auch mechanisch stabile Knochenersatzstoffe eine wichtige Rolle im Rahmen der Defektfüllung. Bislang konnte hier noch kein zufriedenstellendes synthetisches Material gefunden werden. Ein neues innovatives, vielversprechende Material stellt hochporöses, dreidimensionales, mit biologisch abbaubaren Polymeren beschichtetes, bioaktives Glas dar.

In dieser Arbeit wurde zunächst im ersten Abschnitt die osteogene in vivo Potenz von hMSC gewonnen aus RIA-Material, gegenüber der osteogenen Potenz von hMSC gewonnen aus Knochenmarksaspirat aus dem Beckenkamm verglichen. Im zweiten Abschnitt wurde untersucht, ob dreidimensionale, hochporöse, mit biologisch abbaubaren Polymeren beschichtete bioaktive Gläser osteokonduktiv und- induktiv sind und in Kombination mit hMSC zur ektopen in vivo de novo Knochenbildung führen.

Zunächst wurden, für weiterführende in vivo Versuche, hMSC aus RIA-Material (RIA-MSC) und Knochenmarksaspirat des Beckenkamms (KM-MSC) isoliert. Diese wurden dann, nach den international gültigen Kriterien (Plastikadhärenz, Oberflächenantigenexpressionsmuster, Multipotenz), in vitro, als hMSC definiert. Für den ersten, in vivo, Abschnitt der Arbeit wurden die RIA-MSC und KM-MSC von zehn Spenderpatienten verwendet. Es wurden je zwei Konstrukte pro Spender und Herkunftsgewebe der hMSC (RIA-Material oder Knochenmarksaspirat) aus hMSC und β -TCP gebaut. Diese wurden dann für acht Wochen ektop in SCID-Mäuse implantiert. Für den zweiten, in vivo Abschnitt der Arbeit wurden jeweils vier Konstrukte aus dreidimensionalen, hochporösen, mit biologisch abbaubaren Polymeren beschichteten (gelatin-coated, cross-linked-gelatin-coated oder PHBV-coated), bioaktiven Gläsern und KM-MSC gebaut. Auch diese wurden für acht Wochen in SCID-Mäuse implantiert. Vor und nach der Implantation erfolgte in beiden Abschnitten ein microcomputertomographischer (mCT) Scan der Konstrukte. Die Datensätze wurden standardisiert, nutzerunabhängig und reproduzierbar mit Hilfe des Heidelberg-mCT-Analyzers ausgewertet. Abschließend erfolgte eine qualitative histologische Untersuchung. Im ersten Abschnitt wurde eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung verwendet. Im zweiten Abschnitt kamen, neben dieser, vier weitere Färbungen (Toluidinblau, Hämatoxylin-Eosin-Safranin, Movat-Pentachrom und Safranin O/Fast-Green) zum qualitativen und spezifischen Nachweis des Vorhandenseins von Knochen, zum Einsatz.

Im ersten Abschnitt dieser Arbeit konnte, unter zusammenfassender Berücksichtigung der mCT Analysen und histologischen Ergebnisse, gezeigt werden, das hMSC gewonnen aus RIA-Material, in vivo ein mindestens genauso hohes, tendenziell sogar höheres osteogenes Potential, im Vergleich zu hMSC aus Knochenmarksaspirat des Beckenkamms besitzen. Im zweiten Abschnitt konnte, unter zusammenfassender Berücksichtigung der mCT Analysen und histologischen Ergebnisse, erstmalig gezeigt werden das dreidimensionale, hochporöse, mit biologisch abbaubaren Polymeren beschichtete, bioaktive Gläser in vivo osteokonduktiv und-induktiv sind. Sie führen, in Kombination mit KM-MSC, zur ektopen de novo Knochenbildung. Es zeigte sich ein Vorteil für die Gelatine-beschichteten bioaktiven Gläser. Es sollten weitere, größer angelegte Studien mit diesem neuen, innovativen, vielversprechenden Knochenersatzstoff durchgeführt werden, um auf lange Sicht den klinischen Einsatz beim Patienten zu ermöglichen.