

Samet Sözeri  
Dr. med.

## **Eine vergleichende Untersuchung der hemmenden Wirkung von Steroidhormonen auf die durch Zytokine stimulierte Knochenresorption in einem Knochen-Organ-Kultur-Modell**

Geboren am 18.07.1967 in Bursa / Türkei  
Reifeprüfung am 01.06.1984 in Bursa / Türkei  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1984 bis WS 1992  
Physikum: - (da Vorklinik in der Türkei absolviert)  
Klinisches Studium in Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn  
Praktisches Jahr in Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg (Kreiskrankenhaus Mosbach)  
Staatsexamen am 04.11.1992 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. Dr. Chr. Kasperk

Die Rolle der Sexualhormone bei der Prophylaxe und der Pathogenese der Osteoporose ist unumstritten. Bei der Entstehung der Osteoporose haben die lokalen Faktoren eine Schlüsselfunktion. Nach wie vor unklar ist der exakte Wirkmechanismus der Sexualhormone und das genaue Zusammenspiel zwischen Sexualhormonen und lokalen Faktoren.

Ziel dieser Arbeit war es, in einem Knochen-Organ-Modell einerseits die knochenresorptionsstimulierende Wirkung der lokalen Faktoren,  $\text{TNF}\alpha$  und  $\text{IL-1}\beta$ , andererseits die knochenresorptionshemmenden Wirkungen der Sexualhormone, zu untersuchen. Als Modellsystem diente eine Knochenorgan-Kultur mit Mäuse-Kalvarien von neugeborenen Mäusen. Um die Wirkung der Sexualhormone auf die Knochenresorption in vitro zu untersuchen, ist ein Modell vorteilhaft, welches eine erhöhte Ca-Freisetzung zeigt, wodurch die hemmenden Wirkungen deutlicher dargestellt werden können. Daher wurde die Knochenresorption mit den Zytokinen  $\text{IL-1}\beta$  und  $\text{TNF}\alpha$  stimuliert.

Die Arbeit setzt sich aus zwei Teilen zusammen. Zunächst werden Experimente durchgeführt, um die günstigsten experimentellen Bedingungen für das verwendete Knochen-Organ-Modell zu erarbeiten. Es wurden zwei Präinkubationsbedingungen (24 Stunden Präinkubation mit  $1 \mu\text{M}$  Indomethacin und 6 Stunden Präinkubation mit

5  $\mu\text{M}$  Indomethacin-Kälberserum-Lösung, anschließend 48 Stunden Präinkubation mit CMRL-Kälberserum-Lösung) miteinander verglichen. Durch die längere Präinkubation kann die spontane  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung deutlicher reduziert werden. Die Stimulierbarkeit der  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung durch  $\text{TNF}\alpha$  wird nach 54-stündiger Präinkubation signifikant gesteigert. Möglicherweise spielt dabei die autologe Zytokinproduktion ( $\text{TNF}\alpha$  und IL-6) eine Rolle, die bei der längeren Präinkubation effektiver reduziert werden kann. Da die 54-stündige Präinkubation durch die Reduzierung der spontanen Knochenresorption und durch die gesteigerte Stimulierbarkeit durch die Zytokine günstigere Ausgangsbedingungen bietet, wurden die nachfolgenden Steroid-Experimente mit dieser längeren Präinkubation durchgeführt.

Vergleicht man IL-1 $\beta$  mit  $\text{TNF}\alpha$  hinsichtlich ihrer Wirkung auf die  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung, so zeigt sich für IL-1 $\beta$  und  $\text{TNF}\alpha$  eine dosisabhängige Stimulierung der Knochenresorption in dem Maus-Kalvaria-Knochenorgan-Modell. Wegen der gut reproduzierbaren potenten Wirkung einer  $\text{TNF}\alpha$  Konzentration von 10 ng/ml auf die  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung (66% über Kontrollniveau) wurden die Kombinationsexperimente mit Steroidhormonen mit dieser  $\text{TNF}\alpha$  Konzentration durchgeführt.

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden Experimente mit den Sexualhormonen DHT, DHEA und 17 $\beta$ -Östradiol durchgeführt. Bei der durch 10 ng/ml  $\text{TNF}\alpha$  stimulierten  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung zeigen sich die am stärksten hemmend wirkenden Sexualhormonkonzentrationen im Bereich von 1pM bis 100pM. Höhere und niedrigere Konzentrationen haben jeweils eine geringere Wirkung auf die Hemmung der  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung und damit auf die Knochenresorption im verwendeten Knochenorgan-Modell. Der wirksamste Konzentrationsbereich von 1pM-100pM entspricht etwa dem physiologischen Konzentrationsbereich der Steroidhormone von Mäusen, was die biphasische Wirkungsweise miterklären kann. Die potenteste hemmende Wirkung auf die  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung im Mauskalvarien-Knochenorgan-Modell wird für DHT bei 1 pM, für DHEA bei 100pM und für Östradiol bei 10pM beobachtet; DHT erweist sich in diesen Experimenten als das wirksamste

Sexualhormon, gefolgt von Östradiol. Hinsichtlich einer hemmenden Wirkung auf die durch  $\text{TNF}\alpha$  stimulierte  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung zeigt DHEA die geringste hemmende Wirkung auf die  $\text{Ca}^{45}$ -Freisetzung. Es wird deutlich, daß die untersuchten Steroidhormone DHT, DHEA und  $17\beta$ -Östradiol die  $\text{TNF}\alpha$ -stimulierte Knochenresorption im verwendeten Knochenorgan-Modell hemmen.