

Georg Walter Omlor
Dr.med.

Mechanisch induzierte Bandscheibendegeneration und –regeneration:

molekularbiologische und radiologische Veränderungen der Bandscheibe am in vivo Tiermodell

Geboren am 17.6.1980 in Neunkirchen

Staatsexamen am 9.12.2005 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Orthopädie

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Claus Carstens

Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Effekte mechanischer Kompression und Distraction des Zwischenwirbelsegmentes am Tiermodell auf biomechanischer, radiologischer, molekularbiologischer und histologischer Ebene zu analysieren. Insgesamt wurden 70 ausgewachsene Kaninchen der Rasse New Zealand White verwendet. Über einen dorsalen Zugang wurden 4 Belastungsträger an 2 Kirschner-Drähten befestigt, sodass der Kompressions- oder Distractionsapparat im Fixateur-externe-Prinzip atraumatisch auf die Belastungsträger aufgesetzt werden konnte, um mit einer externen Kraft von 200 N zu belasten bzw. 120 N zu entlasten.

Im Vorversuch wurden zur Überprüfung der biomechanischen Verhältnisse intradiskale Druckmessungen *in vivo* und *ex vivo* durchgeführt. Kontrolltiere zeigten einen physiologischen Druck von 0,36 MPa. *In vivo* führte Kompression zu einer unmittelbaren Druckerhöhung, Distraction zu einer unmittelbaren Druckminderung. Nach abgeschlossener Kompression zeigte sich jedoch *ex vivo* im Vergleich zu den Kontrolltieren ein niedrigeres Druckniveau, was durch den degenerationsbedingten Rückgang der intrinsischen Wasserbindungsfähigkeit der Bandscheibe erklärt wurde. Nach Distraction zeigte sich eine Stabilisierung des intradiskalen Druckniveaus.

In Hauptversuch A wurde der stadienhafte Verlauf experimenteller Bandscheibendegeneration in Abhängigkeit von der Dauer der axialen Kompression untersucht. Es erfolgten konventionelle Röntgendiagnostik, Magnetresonanztomographie, Gen-Expressionsanalyse mittels konventioneller PCR und realtime RT PCR sowie immunhistologische Färbungen mikroskopischer Schnitte nach 1-, 28- und 56-tägiger

Kompression im Vergleich zu unbehandelten und schein-komprimierten Kontrolltieren. Radiologisch bestätigte sich die Annahme stadienabhängiger Bandscheibendegeneration. Die Bandscheibenhöhe verminderte sich, Endplattensklerose und kernspintomographische Signalveränderungen im Bereich der Endplatten nahmen zu und die Signalintensität als Parameter des Hydrierungszustandes der Bandscheibe nahm ab. Die Gen-Expressionsanalyse zeigte frühe molekulare Veränderungen im Rahmen der experimentellen Bandscheibendegeneration. Extrazelluläre Matrixgene wurden durch zwei grundlegende Verläufe charakterisiert: Kollagen I und II, Biglycan und Decorin zeigten einen frühen Anstieg der Gen-Expression, gefolgt von einem Abfall nach länger andauernder Kompressionsbehandlung. Dieser Verlauf wurde interpretiert als Gegenantwort des Gewebes auf den einwirkenden Stress, um einem Verlust extrazellulärer Matrix früh entgegenzuwirken. Mit zunehmender Kompressionsdauer schien es jedoch zu einer Erschöpfungsreaktion mit zellulärer Dysfunktion zu kommen. Die als Degenerationsmarker bekannten Matrixkomponenten Fibromodulin und Fibronectin zeigten keinen Abfall sondern einen kontinuierlichen Anstieg und untermauern somit die Annahme zunehmender Bandscheibendegeneration. Katabole Faktoren (MMP-13), anti-katabole Faktoren (TIMP-1) und anabole Faktoren (BMP-2) waren im zeitlichen Verlauf kontinuierlich hochreguliert mit Maxima nach Langzeitkompression, was als Ausdruck einer zunehmenden Imbalance der Remodellingprozesse gewertet werden kann. Immunhistologisch wurde die Annahme stadienhafter Degenerationsprozesse weiter erhärtet. Es zeigten sich zunehmend Rissbildungen, eine ungeordnetere Anordnung der Kollagenfasern, ein Rückgang BMP-2 und Kollagen II positiver Zellen sowie ein Verlust der klaren Trennung von Anulus und Nukleus. Der Anteil an notochordalem Gewebe im Nukleus nahm ab.

In Hauptversuch B wurden analog zu der Methodik von Hauptversuch A Veränderungen nach axialer Distraktionsbehandlung des initial komprimierten Zwischenwirbelsegmentes untersucht. Die bislang unbekanntes biologischen Effekte dynamischer Distraktions- und Stabilisierungssysteme sollten tierexperimentell analysiert werden. Nach Distraktion zeigte sich röntgenologisch wieder eine Normalisierung der Bandscheibenhöhe. Im MRT fand sich ein Rückgang von Signalabweichungen im Endplattenbereich sowie eine Rehydrierung des Nukleus mit Zunahme der Signalintensität. Die Matrixgen-Expression war im Vergleich zu Schein-Distraktion für Kollagen I und Biglycan hochreguliert, im Vergleich zu Langzeitkompression zusätzlich für Kollagen II und Decorin hochreguliert und für den Degenerationsmarker Fibromodulin herunterreguliert. Im Vergleich zu 56-tägiger Kompressionsbehandlung waren die modulierenden Faktoren MMP-13, TIMP-1 und BMP-2

herunterreguliert. Die starke Matrixhochregulation nach Distraktionsbehandlung wurde ebenfalls als zelluläre Gegenantwort auf die zuvor erzeugte matrixschädigende Degeneration gewertet. Bei günstigeren Rahmenbedingungen mit potentiell verbesserter Stoffwechselsituation der Bandscheibe resultierte jedoch ein anaboler und regenerativer Gesamteffekt. Immunhistologisch zeigten sich entsprechend weniger Rissbildungen, eine wieder deutlichere lamelläre Struktur des Anulus, mehr notochordales Gewebe sowie eine Zunahme BMP-2 und Kollagen II positiver Zellen.

Zukünftige Therapieoptionen können an Hand des nun biomechanisch, radiologisch, molekularbiologisch und histologisch etablierten Tiermodells weiter untersucht werden, wobei insbesondere die Kombination biologischer Therapieansätze mit dynamischen Distraktions- und Stabilisierungsverfahren viel versprechend zu sein scheint.