



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

**Einfluß von Thrombozyten und thrombozytärer Faktoren auf
Proliferation und Differenzierung osteoblastärer Zellen**

Autor: Stephanie Lauber
Institut / Klinik: Institut für Transfusionsmedizin und Immunologie
Doktorvater: Prof. Dr. H. Klüter

Thrombozyten sind kernlose Zellfragmente, ihre physiologische Aufgabe ist der Verschluß von Defekten der Blutgefäße. In dieser Arbeit wurde der Effekt verschiedener Thrombozytenpräparationen auf osteoblastäre Zellen untersucht, um den klinischen Einsatz thrombozytärer Wachstumsfaktoren verbessern und erweitern zu können. Thrombozyten sind reich an Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Bereits seit etwa 20 Jahren werden Thrombozytenpräparationen in diversen Teilbereichen der Medizin zur Stimulation der Geweberegeneration lokal appliziert. Wundheilung und Knochenregeneration sind sehr komplexe Vorgänge. Eine Vielzahl an Wachstumsfaktoren ist an deren Regulation beteiligt. Über die biologischen Wirkungen einzelner oder die Interaktion weniger Faktoren gibt es in der Literatur bereits ausführliche *in vitro* und *in vivo* Daten. Allerdings bestehen kaum Untersuchungen über die Effekte der Thrombozyten als Ganzes und der Gesamtheit ihrer Wachstumsfaktoren. Die Auswirkungen dieses Gemischs an verschiedenen Substanzen unterscheiden sich möglicherweise stark von den Effekten einzelner Faktoren. In dieser Arbeit wurden deswegen zur Stimulation osteoblastärer Zellen nicht einzelne Wachstumsfaktoren, sondern die zellulären bzw. löslichen Thrombozytenfaktoren eingesetzt. Es wurden isolierte Thrombozyten, Thrombozytenmembranen sowie der aktivierte Faktorenüberstand (Thrombozytenreleasate) verwendet. Es galt nun diese stimulatorischen Effekte hinsichtlich Proliferation, Differenzierung und Produktion extrazellulärer Matrix näher zu charakterisieren. An humanen osteoblastären Zellen wurden diese Einflüsse *in vitro* studiert. Zur Beurteilung des Differenzierungsgrades der stimulierten osteoblastären Zellen wurde auf molekularbiologischer Ebene die Expression des osteoblastären Transkriptionsfaktors Cbfa1 untersucht. Des Weiteren wurde ein dreidimensionales Zellkulturmodell mit Plasmageltechnik etabliert. Zellen wurden auf Membraneinsätzen kultiviert und migrierten in eine Fibrinmatrix, die verschiedene Thrombozytenkonzentrationen enthielt. Dadurch stand ein *ex vivo* Modell des klinischen Einsatzes von Thrombozytenpräparaten in der Knochenregeneration zur Verfügung. Die Einflüsse der Thrombozyten auf Proliferation und Migration konnten somit in einem Modell untersucht werden, das der Situation *in vivo* ähnelt.

In dieser Studie förderte die Zugabe von Thrombozyten und thrombozytären Faktoren in das Kulturmedium bzw. in eine Plasmamatrix die Proliferation von osteoblastären Zellen. Die Proliferation im Monolayer wurde sowohl durch Thrombozytenmembranen, als auch durch den aktivierten Faktorenüberstand angeregt. Marker der osteoblastären Differenzierung wie die Alkalische Phosphatase, Bone Sialoprotein und Kollagen I blieben dabei erhalten, eine Steigerung konnte jedoch nicht beobachtet werden. Die Produktion extrazellulärer Matrix nahm durch Thrombozytenstimulation deutlich zu. Auf molekularbiologischer Ebene zeigte sich eine deutlich erhöhte Expression des osteoblastären Transkriptionsfaktor Cbfa1 bei Osteoblasten durch die Stimulation mit Thrombozyten. Weiterhin wurde ein dreidimensionales Zellkulturmodell etabliert. Das Einwachsen von Osteoblasten in eine Plasmamatrix konnte gezeigt werden. Durch die Zugabe von Thrombozyten wurde diese Migration massiv gesteigert.

Diese *in vitro* Ergebnisse unterstützen die lokale Anwendung von Thrombozytenpräparaten zur Knochenregeneration. Sie stellen ein effektives und sicheres Mittel zur Unterstützung der Wundheilung dar. In klinischen Studien müsste die Relevanz der *in vitro* Ergebnisse noch bestätigt werden, hier würde sich insbesondere ein Tiermodell anbieten. Somit könnten weitere Erkenntnisse über die biologischen Auswirkungen der Thrombozytenpräparate während der Therapie gewonnen werden.