

Ricarda Blum

Die Wirkung von adenoviral verabreichtem Bone Morphogenetic Protein-2 auf ovine Knochenzellen mit einem Vergleich zu humanen und murinen Zellen

Geboren am 19.04.1979 in Ludwigsburg

Staatsexamen am 04.05.2007 an der Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg

Promotionsfach: Orthopädie

Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. W. Richter

Trotz moderner Operationsverfahren heilen 10 % aller Knochenbrüche nur unzureichend aufgrund verschiedener Ursachen wie Defekte kritischer Grösse, Heilungsstörungen durch Diabetes oder Osteoporose. Der osteogene Wachstumsfaktor Bone Morphogenetic Protein-2 (BMP-2) ist in der Lage, die Knochenheilung zu stimulieren und ist in rekombinanter Form seit kurzem für den klinischen Einsatz in der Behandlung offener Tibiafrakturen zugelassen. Allerdings werden sehr grosse Mengen dieses Proteins benötigt und der Wirkspiegel schwankt nach Applikation stark. Um diese Schwankungen zu umgehen, würde sich der Gentransfer anbieten, der die Zellen dazu anregt, den Wachstumsfaktor selbst zu produzieren. In einer vorangegangenen Studie wurde nach Applikation von BMP-2 mittels viralem Gentransfer (AdBMP-2) beim Schaf im Gegensatz zu Studien im Ratten- und Kaninchenmodell keine Stimulation der Frakturheilung, sondern eine Verzögerung dieser beobachtet.

Ziel dieser Studie war somit herauszufinden, ob das humane BMP-2 auf ovine Knochenzellen eine Wirkung zeigt und ob Unterschiede in der Wirkung auf murine und humane Zellen bestehen.

Primäransätze von murinen, humanen und ovinen Knochen- und Knochen-vorläuferzellen wurden mit rhBMP-2, AdBMP-2 und einem leeren Vektor behandelt oder als Kontrolle unbehandelt belassen. Die Wirkung der Wachstumsfaktoren wurde anhand der Aktivitätsmarker ALP und Calcium-Inkorporation bestimmt.

Eine Transfektion von Knochenzellen mit AdBMP-2 führte zu einer deutlichen Zunahme der Expression von BMP-2, welches im Zellkulturmedium nachgewiesen werden konnte. Diese BMP-2 Überexpression führte zu einer Zunahme der Aktivität der Alkalischen Phosphatase

und Mineralisation. Diese kann als Steigerung der Osteoblastenaktivität bzw. Differenzierung der Vorläuferzellen in aktive Osteoblasten interpretiert werden und war bei allen Zellen nachweisbar. Die Knochenzellen ovinen und murinen Ursprungs zeigten einen stärkeren Anstieg nach Gabe von AdBMP-2 als die humanen Zellen. Weiterhin wurde keine signifikante Stimulation der Osteoblastenaktivität nach Gabe von rhBMP-2 beobachtet, was die höhere Effizienz des Gentransfers aufgrund der post-translationalen Modifikation der Proteine zeigt.

Somit konnte gezeigt werden, dass BMP-2 bei adenoviraler Applikation eine stimulierende Wirkung auf Osteoblasten und BMSC hat, und dass diese der rekombinanten Applikation überlegen ist. Um genauere Aussagen bezüglich der interindividuellen Unterschiede machen zu können, müssten weitere Ansätze gemacht werden.