

Nina Ritter
Dr. med. dent.

Modulation der Gen- Transkription parodontaler Zellen: Eine *in vitro*- Untersuchung im Kontext zur kieferorthopädischen mechanischen Kraftapplikation

Geboren am 11.01.1980 in Heidelberg
Staatsexamen am 21.12.2005 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Mund-Zahn-Kieferheilkunde
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. P. Tomakidi

Während der kieferorthopädischen Zahnbewegung kommt es bedingt durch mechanische Kräfte zu Umbauprozessen im Bereich des Parodontalligaments (PDL) und des Alveolarknochens. Hierbei wirken Kräfte auf die extrazelluläre Matrix und die Zellen des PDL sowie des Alveolarknochens. Trotz bestehender *in vivo* und *in vitro* Studien ist die Wirkung orthodontisch-mechanischer Kräfte auf die Zellen der oben genannten Gewebe auf molekularem Niveau noch nicht vollständig geklärt. Hauptfrage der vorliegenden Arbeit war es daher zu klären, ob es unter dem Einfluss mechanischer Zugkräfte von durchschnittlich 2,5% in Primärkulturen von Parodontalligament-Fibroblasten (PDLF) und Osteoblasten des Alveolarknochens (OA) zu Veränderungen der *mRNA* Gen-Transkription ausgewählter Kandidatengene kommt. Ferner galt es zu klären, ob die Dauer der Kraftapplikation von 6 und 12 Stunden hierbei eine Rolle spielt und, ob sich PDLF und OA diesbezüglich unterscheiden. Dabei rekrutierten sich die insgesamt 17 analysierten Kandidatengene aus den biologischen Funktionsbereichen (i) Differenzierung Hartgewebe bildender Zellen, (ii) Induktion von Umbauprozessen, (iii) Anti- und proapoptotische Signale und (iv) Inflammation. Zur Beantwortung der Fragestellung erfolgten die Transkriptionsanalysen zunächst mittels semiquantitativer (sq) RT-PCR.

Die Ergebnisse zeigten, dass in PDLF fast alle ausgewählten Kandidatengene in ihrer *mRNA* Gen-Transkription moduliert wurden, wobei es hierbei zur signifikanten Steigerung und teilweise sogar zur Induktion der Gen- Transkription der Kandidatengene kam. In OA fiel die Modulation deutlich geringer aus. Hier war nur bei vereinzelt Genen eine Verstärkung oder eine Induktion zu erkennen. Ferner wiesen ungedehnte Kontrollkulturen von OA eine verglichen zu PDLF deutlichere Basistranskription für manche Gene auf. Prinzipiell wurde die Transkription der Zielgene auch durch die Dauer der Kraftapplikation beeinflusst. Hierbei zeigte sich in PDLF nach 6 Stunden in der Regel ein höheres Transkriptionsniveau als nach 12 Stunden. Bei den OA waren die Transkriptionsniveaus im Falle der induzierten Gene nach 12 Stunden und für die Gene mit einer Verstärkung der Transkription nach 6 Stunden charakteristischer.

Auf Grund der Ergebnisse der Transkriptionsanalyse mittels sq RT-PCR wurden selektiv PDLF nach 6 Stunden Dehnung im Vergleich zu ungedehnten Zellen auf *cDNA* Gen-Chips/Arrays untersucht, um eine putative Beteiligung von Genen der Signalwege von Apoptose sowie dem Transkriptionsfaktor *NFκ-B*, der in Zusammenhang mit der Apoptose steht, zu prüfen. Diese Analyse ergab, dass von den insgesamt 192 Genen auf den beiden Arrays insgesamt 36 Gene eine Kraft- bedingte signifikante Steigerung ihrer Transkription aufwiesen, wobei 16 dem *NFκ-B* und 20 dem Apoptose-Array zuzuordnen waren. Hierzu zählten Gene wie *IL-1β*, das in der Lage ist Apoptose zu induzieren sowie *FAS*, *CRADD* und *bad* aus dem Bereich der Apoptose-Rezeptoren, der Adapter-Moleküle und der intrinsischen Apoptose. Auch das *NFκ-B* -Gen selbst war stark erhöht, was vor allem vor dem Hintergrund interessant erscheint, dass sich die ambivalente, also anti-, aber auch pro-apoptotische Rolle dieses Transkriptionsfaktors wissenschaftlich immer mehr bestätigt. Für die fünf genannten

Gene ließ sich die signifikant erhöhte Transkription infolge mechanischer Kraftbelastung durch die quantitative Real- Time RT-PCR bestätigen.

Somit zeigen die Untersuchungen der vorliegenden Arbeit, dass statische mechanische Dehnungs-/Zugkräfte von durchschnittlich 2,5% in Zellen von für die kieferorthopädische Zahnbewegung entscheidenden Geweben die *mRNA* Synthese von Zielgenen teilweise drastisch modulieren. Hierbei ließen sich Unterschiede hinsichtlich der Dauer der Kraftereinwirkung, aber auch in Abhängigkeit vom Zelltyp feststellen. In Bezug auf den Zelltyp erschienen PDLF im Vergleich zu OA Kraft- sensitiver für die analysierten Zielgene. Diese Unterschiede gegenüber mechanischer Kraftbelastung können in der primären Rezipientenrolle des PDL gegenüber applizierten Kräfte *in vivo* begründet liegen, sich aber auch aus der von Natur aus unterschiedlichen Elastizität des PDL als Weichgewebe und dem Alveolarknochen als Hartgewebe ergeben.

Durch die Transkriptionsanalysen konnte eine Vielzahl bisher noch nicht beschriebener Kraft-sensitiver Gene identifiziert werden, die im Kontext zur kieferorthopädischen Zahnbewegung stehen können. Die zunehmende Identifizierung Mechano-sensitiver Gene führt zu einem immer besseren Verständnis der orthodontischen Zahnbewegung auf molekularem Niveau. Die progressive Charakterisierung solcher Gene kann prospektiv auch von Nutzen für die Diagnose und Therapie in der Kieferorthopädie sein.