

Fabian Westhauser

Dr. med.

Mikro-Computertomographische Evaluation der *in-vivo* Knochenbildungsfähigkeit humaner mesenchymaler Stammzellen unterschiedlicher Herkunftsgewebe unter dem Einfluss von Bone Morphogenetic Protein-7

Einrichtung: Orthopädie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Arash Moghaddam-Alvandi

Die Behandlung großer Knochendefekte und die Therapie von Knochenheilungsstörungen stellt die Orthopädie und Unfallchirurgie vor zunehmende Herausforderungen und verlangt die Entwicklung und den Einsatz neuer, innovativer Therapiekonzepte. Dabei ist vor allem die Behandlung therapierefraktärer Pseudarthrosen besonders anspruchsvoll. Neben dem Goldstandard der Spongiosaplastik zur Behandlung von Knochendefekten etabliert sich in den letzten Jahren das Reamer/Irrigator/Aspirator® (RIA)-System, durch das große Mengen autologer Spongiosa mit idealen biologischen Eigenschaften aus dem Markraum großer Röhrenknochen gewonnen werden kann. Darüber hinaus werden durch die lokale Applikation von Differenzierungsfaktoren wie Bone Morphogenetic Protein-7 (BMP-7) die Regenerationsfähigkeit und der Stoffwechsel des Knochens verbessert. Neben einer guten klinischen Datenlage fehlen bislang experimentelle Daten zur *in-vivo* Interaktion von BMP-7 und aus RIA-Material und Beckenkammspongiosa isolierten mesenchymalen Stammzellen.

In dieser Studie wird der Einfluss von BMP-7 auf aus RIA-Material und Knochenmarkaspirat des Beckenkamms gewonnenen humanen mesenchymalen Stammzellen (MSC) vergleichend in einem *in-vivo* Modell analysiert. Die Quantifizierung des neugebildeten Knochengewebes erfolgte durch mikro-Computertomographische (mCT) Analyse.

Von elf Spendern wurden nach etablierten Verfahren MSC aus humanem RIA-Material (RIA-MSC) und Knochenmarkaspirat (BMSC) des Beckenkamms isoliert. Die MSC wurden anschließend auf β -Tricalciumphosphat (β -TCP)-Scaffolds aufgetragen. Von jedem Spender wurden dabei für jeden Stammzelltyp jeweils sechs Scaffolds erstellt: zwei ohne BMP-7-Zugabe, zwei mit der Zugabe von BMP-7 in der Konzentration von 0,1 μ g/ml und zwei mit der Zugabe von 1 μ g/ml konzentriertem BMP-7. Nach Verkleben mittels Fibrin-Thrombin-Kleber wurden die Konstrukte für einen Zeitraum von acht Wochen ekto in immundefiziente (SCID)-Mäuse implantiert. Vor Implantation (T0) und nach Explantation (T1) erfolgte die mCT-gestützte Analyse der Konstrukteigenschaften. Durch einen eigens für diese Studie entwickelten Softwarealgorithmus, den Heidelberg-mCT-Analyzer, wurden standardisiert,

objektivierbar, nutzerunabhängig und reproduzierbar knochenbildungskorrelierende Parameter wie Scaffoldvolumen, Oberfläche, Porenanzahl, etc. und damit die Menge des neugebildeten Knochengewebes quantifiziert.

Dabei konnte gezeigt werden, dass eine Stimulation durch BMP-7 die Knochenneubildung unterstützt. Je höher dabei die BMP-7-Dosis, desto besser die osteogene Differenzierung. Ebenso differenzieren RIA-MSC tendenziell besser osteogen als BMSC. Ferner zeigen RIA-MSC ein besseres Ansprechen auf die Stimulation mit BMP-7 im Vergleich zu BMSC. Des Weiteren ist es mit dem Heidelberg-mCT-Analyser gelungen, einen standardisierten Auswertungsalgorithmus zur Bewertung der *in-vivo* Knochenneubildung zu etablieren.

In einem experimentellen Setting unter Verwendung humaner MSC in einem *in-vivo* Modell ist demonstriert worden, dass BMP-7 zur Stimulation von Knochenwachstum eingesetzt werden kann. Die positiven Ergebnisse aus zahlreichen klinischen Studien konnten in diesem Modell objektivierbar nachgestellt werden. Außerdem wurde aufgezeigt, dass RIA-Material als Quelle osteogen potenter MSC genutzt werden kann. Das mCT in Verbindung mit dem Heidelberg-mCT-Analyser konnte im Rahmen dieser Studie erfolgreich als valides Instrument zur Detektion, Analyse und Quantifizierung neugebildeten Knochengewebes eingesetzt werden.

Die Ergebnisse aus dieser Arbeit geben Anstoß zu weiterer Forschung, beispielsweise zu einer mCT-gestützten Charakterisierung der Interaktion von BMSC und RIA-MSC mit unterschiedlichen Scaffoldmaterialien oder zur Analyse der Interaktion mit anderen klinisch eingesetzten Differenzierungsfaktoren wie BMP-2. Unter Verwendung der neu entwickelten mCT-gestützten Evaluationsmethodik kann die von Knochenersatzstoffen ausgehende Knochenneubildung selbst bei niedriger Tierzahl durch repetitiven mCT-Einsatz in Verlaufsbeobachtungen quantifiziert werden.