

Christian Häußler

Dr. med. dent.

**Untersuchungen zur Genregulation des Neuronalen Guidance Moleküls SLIT2 und seiner Rezeptoren ROBO1 und ROBO2 in Osteoblasten des Alveolarkammes und PDL Fibroblasten nach in vitro Applikation kieferorthopädischer Belastungsmuster.**

Fach/Einrichtung: Mund-Zahn-Kieferheilkunde

Doktorvater: Prof. Dr. med. dent. Christopher J. Lux

Zum genaueren Verständnis der Remodellierungsvorgänge, die während kieferorthopädischer Zahnbewegung innerhalb des parodontalen Umfelds des Zahnes auftreten, wurde die Analyse der biologischen Grundlagen in den vergangenen Jahren intensiviert. Hierbei ist die Identifizierung von molekularen Faktoren, die durch die während der Zahnbewegung auftretenden Kräfte moduliert werden, das Ziel. Besonderes Augenmerk ist dabei auf die Frage gerichtet, wie solche Faktoren die Remodellierungsvorgänge während der Zahnbewegung beeinflussen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, im Sinne einer Pilotstudie, die mögliche mechanische Regulation sowie den Einfluss einer inflammatorischen Komponente auf die Expression von SLIT2 und seinen Rezeptoren ROBO1 und ROBO2 in primären humanen PDL Fibroblasten und verschiedenen Osteoblastenpopulationen des Alveolarkamms auf der Transkriptionsebene zu bestimmen. Insgesamt sollte mit dieser Studie überprüft werden, ob das neuronale Guidance Molekül Slit2 eine Rolle bei der Knochenremodellierung während der orthodontischen Zahnbewegung spielen könnte und ob die intensivere Untersuchung zur Aufklärung der detaillierten Signalkaskade sinnvoll erscheint.

In den vergangenen Jahren waren auch Neuronale Guidance Moleküle und ihre Wirkung auf die an der Zahnbewegung beteiligten Zellen Teil der Forschung. Für die Familie der Ephrine wurde bereits eine mögliche Rolle an der Zahnbewegung nachgewiesen. Für das Neuronale Guidance Molekül SLIT2 und seine Rezeptoren ROBO1 und ROBO2 wurde in vorausgegangenen publizierten Studien gezeigt, dass es die Differenzierung von Osteoblasten vermindern kann und daher als potentiell resorptionsfördernder Faktor während der Zahnbewegung bedeutsam sein könnte. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde daher die Regulation von SLIT2 sowie ROBO1 und ROBO2 in primären humanen Fibroblasten des PDL sowie humanen alveolären Osteoblasten unter Bedingungen untersucht, die die Druck-

und Zugseiten während der orthodontischen Zahnbewegung nachstellen. Auf der Druckseite wird die Zahnbewegung von einer sterilen Inflammation begleitet. Diese wurde hier durch die Applikation von Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) simuliert.

Ich konnte in meiner Arbeit zeigen, dass SLIT2, ROBO1 und ROBO2 sowohl von Osteoblasten des Alveolarkammes als auch von Fibroblasten des parodontalen Ligaments auf mRNA Ebene exprimiert werden. Unter Einfluss von Zugbelastung waren SLIT2, ROBO1 und ROBO2, in Osteoblasten, mechanisch reguliert. Dabei war das System aus SLIT2 und seinen Rezeptoren in seiner Expression vermindert. In den PDL Fibroblasten war unter Zugbelastung eine Veränderung der Genexpression von SLIT2, ROBO1 und ROBO2 nach Krafteinfluss erkennbar. Es konnte jedoch kein einheitliches Muster dieser Regulation definiert werden. Die Belastung durch Druck veränderte in Osteoblasten das Expressionsmuster von SLIT2, ROBO1 und ROBO2. Innerhalb der untersuchten Populationen konnte jeweils zu Beginn der Druckbelastung eine Induktion von SLIT2 beobachtet werden. Für die Rezeptoren ROBO1 und ROBO2 konnte keine erhöhte mRNA Produktion gezeigt und daher keine Steigerung der Rezeptordichte abgeleitet werden. In PDL Fibroblasten bewirkte die Kompressionsbelastung eine transiente SLIT2 Transkriptionsinduktion nach sechs Stunden. Die Rezeptoren ROBO1 und ROBO2 wurden jedoch durch Kompressionsbelastung herunter reguliert. Aufgrund der engen anatomischen Nähe der PDL Fibroblasten zum Alveolarfortsatz und der in Osteoblasten unverändert hohen Expression der ROBO-Rezeptoren erscheint eine Wirkung auf diese möglich. Bei der Analyse der inflammatorischen Stimulation von Osteoblasten mit IL-1 $\beta$  deuteten die Ergebnisse darauf hin, dass IL-1 $\beta$  auch Einfluss auf die SLIT2/ROBO vermittelte Hemmung der Osteoblastendifferenzierung ausübt, indem es die Expression von SLIT2 und seiner Rezeptoren fördert. Eine gegenläufige Inhibierung des Rezeptors war nicht zu erkennen. Bei der Analyse der inflammatorischen Stimulation von PDL Fibroblasten mit Interleukin-1 $\beta$  deuteten die Ergebnisse des Experimentes einen Einfluss von IL-1 $\beta$  auf das SLIT2/ROBO System an. Durch Interleukin-1 $\beta$  wurde die mRNA von SLIT2 sowie des ROBO1 Rezeptors verstärkt produziert. Bei Stimulation mittels IL-1 $\beta$  waren SLIT2 sowie seine Rezeptoren ROBO1 und ROBO2 zeitlich begrenzt induziert. Der Einfluss der Kompression verstärkte dabei den Effekt der Inflammation noch weiter. Dieser Effekt war bis maximal sechs Stunden Kompressionsbelastung sowohl in PDL Fibroblasten, als auch in Osteoblasten nachweisbar. Im Rahmen der Experimente konnte man eine mechanische Regulation von SLIT2 und seinen Rezeptoren ROBO1 und ROBO2 erkennen. Besonders die Kombination aus Inflammation und Kompression deutet darauf hin, dass ein möglicher proresorptiver Effekt von SLIT2 in

der Frühphase der Zahnbewegung vorhanden sein könnte. Diese mögliche Rolle sollte im Rahmen weiterer Experimente auf Proteinebene verifiziert werden.