

Andreas Kammerer

Dr. med.

Titel:

**Evaluation des Einflusses der lokalen Applikation von Bone morphogenetic protein 7 auf die Angiogenese und Inflammation in der Pseudarthrosentherapie anhand von serologischer Zytokinexpressionsanalyse.**

Fach/Einrichtung: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Arash Moghaddam-Alvandi

Zusammenfassung:

Eine Pseudarthrose ist gekennzeichnet durch die Beendigung aller Prozesse der Knochenheilung, ohne eine stabile Überbrückung des Frakturgebiets geschaffen zu haben. Den Goldstandard der Therapie stellt die autologe Transplantation von Spongiosa dar. Mehrere Studien belegten einen Vorteil bei gleichzeitiger Applikation des Knochenwachstumsfaktors Bone Morphogenetic Protein 7 (BMP-7). Essentiell zur Heilung sind die mechanischen Komponenten einer stabilen Matrix und einer osteokonduktiven Leitschiene sowie die von der Angiogenese und somit der Blutversorgung abhängigen knochenbildenden Zellen und ein osteoinduktiver Stimulus. Dieser durch Zytokine in der frühen inflammatorischen Phase vermittelte Stimulus stellt den essentiellen Beginn der Knochenheilungskaskade dar. In bisherigen Studien konnte im Vergleich mit dem Goldstandard ein Therapievorteil der zusätzlichen Applikation von BMP-7 gezeigt werden, dessen Einfluss auf die frühe Entzündungsphase und auf die Angiogenese im Frakturspalt bislang wenig erforscht ist. Hypothese dieser Arbeit ist, dass diese verbesserte Heilungsrate aufgrund von additiver BMP-7 Applikation auf einer verstärkten Induktion der Inflammationsreaktion sowie einer Stimulation der Angiogenese beruht.

Insgesamt wurden seit 2009 50 Pseudarthrosepatienten der Berufsgenossenschaftlichen Unfallklinik Ludwigshafen sowie 59 Pseudarthrosepatienten der Unfallchirurgischen Universitätsklinik Heidelberg in die Studie eingeschlossen. Durch Matching konnten zwei Gruppen von Pseudarthrosepatienten mit einer Gruppengröße von zehn Patienten gebildet werden. Die Kontrollgruppe wurde mit dem Goldstandard der autologen Spongiosatransplantation behandelt. Bei den Patienten der Studiengruppe wurde zusätzlich BMP-7 appliziert. Den Patienten wurde sowohl präoperativ als auch postoperativ nach einem strukturierten Studienprotokoll an sieben Terminen Serum entnommen sowie der Heilungsfortschritt klinisch als auch radiologisch evaluiert. Zur Analyse des Einflusses von BMP-7 auf die Entzündungsreaktion wurde eine verblindete Messung der Zytokine vascular endothelial growth factor (VEGF), Tumornekrosefaktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), Interleukin 6 (IL-6) und Interleukin 8 (IL-8) mit Luminex Performance Human High Sensitivity Assays (Quantikine<sup>®</sup>, RD Systems, Minneapolis, MN, USA) durchgeführt. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test aufgezeigt. Als statistisch signifikant wurde  $p=0,05$  festgelegt.

Im Vergleich der Serumexpressionen der Zytokine zwischen den beiden Gruppen zeigt sich in der Studiengruppe nach Applikation von BMP-7 ein deutlich stärkerer Anstieg und höherer Peak für VEGF und IL-6. Beide Zytokine zeigen in der frühen inflammatorischen Phase signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. Trotz fehlender signifikanter Unterschiede beobachtet man beim Vergleich der Serumlevel von TNF- $\alpha$  und IL-8 ein deutlich rascheres Ansteigen zu einem deutlich früheren Peak in der Studiengruppe nach BMP-7 Applikation. Diese Ergebnisse legen nahe, dass diese Modulation der Serumlevel der Zytokine auf der Applikation von BMP-7 beruht.

In dieser Arbeit können zwei verschiedene Mechanismen der Stimulation der Angiogenese aufgezeigt werden. Die direkte Stimulation erfolgt über VEGF. IL-6, TNF- $\alpha$  und IL-8 fungieren als Kostimulatoren, die ihrerseits eine Modulation der Serumexpression von VEGF und somit eine indirekte Stimulation der Angiogenese bewirken. Obige Ergebnisse legen den Schluss nahe, dass die Applikation von BMP-7 über beide Mechanismen zu einer Verstärkung der Angiogenese führt.

Die Heilungskaskade wird durch die inflammatorische Phase der Frakturheilung und damit einhergehender Freisetzung proinflammatorischer Zytokine aktiviert infolge einer Stimulation der Zellproliferation und -migration. Die proinflammatorischen Zytokine IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-8 und VEGF sind laut aktueller Studienlage maßgeblich an der frühen inflammatorischen Phase beteiligt. Die Studienergebnisse lassen folgern, dass BMP-7 über oben beschriebene Modulation der Serumexpression der Zytokine eine Stimulation dieser inflammatorischen Phase bewirkt.

Angiogenese sowie die inflammatorische Phase der Frakturheilung sind essentielle Faktoren im Heilungsprozess. Somit kann anhand der untersuchten Zytokinexpressionsmuster die Hypothese bestätigt werden, dass die zusätzliche Applikation von BMP-7 zur Therapie mit dem Goldstandard durch eine verstärkte und früher einsetzende Angiogenese und Inflammation zu einer Verbesserung der Knochenheilung führt.