

Oliver Michael Frisch  
Dr. med.

## **Evaluation der angiogenetischen und osteogenetischen Kapazität in axial vaskularisierten Knochenkonstrukten des Tissue Engineering unter hoch dosierter Bestrahlung**

Fach: Chirurgie  
Doktormutter: Frau Prof. Dr. med. Leila Harhaus

Bei der hier vorliegenden Arbeit handelt es sich um ein Forschungsprojekt aus dem Bereich des *Tissue Engineering*. In diesem Rahmen wurde ein etabliertes Modell aus dem Bereich des *Tissue Engineering* von Knochengewebe aufgegriffen und erstmals einer Belastungsprobe im Sinne einer ionisierenden Bestrahlung ausgesetzt. So sollte neben wissenschaftlichen Interessen der mögliche klinische Einsatz eines derartigen Konstrukts für die Defektdeckung einer primären Rekonstruktion nach Tumorchirurgie evaluiert werden.

Im Allgemeinen geht es beim *Tissue Engineering* um Gewebezüchtung, die künstlich initiiert wird. Die Prinzipien des *Tissue Engineering* bauen auf vier Komponenten auf. Dazu gehören Zellen, ein strukturelles und formgebendes Grundgerüst, die Steuerung der Signaltransduktion durch Wachstumsfaktoren sowie die Aufrechterhaltung des Stoffwechsels durch eine suffiziente Gefäßversorgung (*in vivo*) oder eine entsprechendes Kulturmedium (*in vitro*). Die Zusammenstellung der einzelnen Komponenten sollte ein optimales Zusammenspiel und eine Ergänzung dieser untereinander mit sich bringen.

Der Fokus der Auswertung dieser Arbeit lag in den Auswirkungen einer ionisierenden Bestrahlung auf die Angiogenese und osteogene Differenzierungskapazität in einem axial vaskularisierten Konstrukt.

Im vorliegenden Versuch wurden 51 Ratten mit einem in der Leiste liegenden Kammerkonstrukt ausgestattet. 15 Tiere wurden ohne eine axiale Vaskularisierungsachse und 36 Tiere mit einer arteriovenösen Gefäßschleife durch direkte Anastomosierung der Femoralisgefäße operiert. Die Konstrukte mit axialer Vaskularisierung wurden zwei Wochen nach Implantation einer Bestrahlung ausgesetzt. Dosierung und Zeitpunkt waren der adjuvanten Bestrahlung bei Patienten mit Tumoren von Kopf und Hals äquivalent. Es wurden Einzeldosen in Höhe von 9, 12 und 15 Gy appliziert. Die Auswertungen fanden zu den Zeitpunkten von 4 und 7 Wochen nach Implantation statt. Eine Kontrollgruppe ohne Bestrahlung und die Konstrukte ohne axiale Vaskularisierung wurde zu den Zeitpunkten von 2, 4 und 7 Wochen nach Implantation ausgewertet. Es erfolgte die makroskopische Beurteilung und eine histologische Auswertung im Bezug auf entstandenes Gewebe und Vaskularisierung aller Konstrukte. Die Präparate mit arteriovenöser Gefäßschleife wurden weiterhin durch eine Mikrocomputertomographie und die Analyse einer Polymerase-Kettenreaktion ausgewertet. Histologisch wurde in diesen Präparaten auch die arterielle Wanddicke gemessen sowie immunhistologische Färbungen in Bezug auf Apoptose und Proliferation durchgeführt.

Die Auswertung der Konstrukte ohne arteriovenöse Schleife bestätigte durch schlecht ausgeprägte Vaskularisationen und die entsprechend geringe Gewebebildung die Notwendigkeit der axialen Vaskularisierung in unserem Konstrukt Aufbau.

Die Auswertung der Mikrocomputertomographie zeigte in Bezug auf das entstandene vaskuläre Netz innerhalb der axial vaskularisierten Konstrukte kaum erfassbare Unterschiede

zwischen den Gruppen mit und ohne Bestrahlung. Eine Einengung des arteriellen Lumens wurde festgestellt und zeigte sich durch eine strahlungsabhängige deutliche Verdickung der arteriellen Gefäßwand. Zum Auswertungszeitpunkt von vier Wochen nach Implantation zeigten sich Gewebsbildung und Vaskularisation in den mit 12 und 15 Gy bestrahlten Gruppen signifikant geringer als in der Kontrollgruppe. Gleichzeitig wurde in diesen Gruppen eine signifikante erhöhte Zahl an nekrotischen Zellen im Vergleich zur Kontrolle festgestellt. Makroskopisch zeigte sich dabei keine Nekrose. Die Auswertung der Proliferation zu diesem Explantationszeitpunkt zeigte signifikant niedrigere Werte für die Gruppen mit Bestrahlungsdosen von 9 und 12 Gy.

Interessant an der Auswertung der Konstrukte sieben Wochen nach Implantation war, dass die Gruppen mit Bestrahlung einen deutlich stärker ausgeprägten Wachstumsfortschritt im Vergleich zum ersten Auswertungspunkt zeigten als die Kontrollgruppe. Dies wurde so interpretiert, dass auch nach der hochdosierten Strahlung weiter Angiogenese und mit dieser Gewebegeneration in den Konstrukten stattfand.

In Bezug auf die osteogene Differenzierungskapazität in diesem Modell der Knochenregeneration konnte mithilfe der Polymerase-Kettenreaktion in allen bestrahlten Gruppen zum Zeitpunkt der Explantation die Expression von Genen nachgewiesen werden, die für Osteogenese typisch sind. Zusätzlich fand sich in einem Präparat der Gruppe mit einer Bestrahlung von 15 Gy und Explantation nach sieben Wochen eine Insel von Knochengewebe.

Zusammenfassend konnte in dem hier vorliegenden Versuch erstmals gezeigt werden, dass die Kapazität zu Angiogenese und osteogener Differenzierung in einem axial vaskularisierten Konstrukt kritischer Größe auch nach hochdosierter Bestrahlung erhalten bleibt und die Bildung von Knochengewebe unter diesen Bedingungen möglich ist.