

## Zusammenfassung

Matthias Gerstner

Dr. sc. hum.

### **Influence of Heparan Sulfate Deficiency on the Mechano-Response of Cartilage**

Fach/Einrichtung: Orthopädie

Doktormutter: Prof. Dr. rer. biol. hum. Wiltrud Richter

Arthrose (engl. osteoarthritis, OA) ist eine degenerative Gelenkerkrankung, die hohe Kosten für das Gesundheitssystem verursacht und sich aufgrund der steigenden Prävalenz im Alter, verbunden mit dem derzeitigen demographischen Wandel, zu einer zunehmenden sozioökonomischen Herausforderung entwickelt. Bislang stehen keine effizienten pharmakologischen oder zellulären Therapien zur Behandlung von OA zur Verfügung.

Interessanterweise haben mehrere unabhängige Studien gezeigt, dass Mäuse mit verringerten Spiegeln an Heparansulfat (HS) nach Gelenkdestabilisation vor OA geschützt sind. Die zugrundeliegenden Mechanismen blieben allerdings ungeklärt. Insbesondere, ob reduzierte HS-Level einen Einfluss auf die Belastungsantwort der Chondrozyten hatten, wurde bislang nicht berücksichtigt. Ziel dieser Arbeit war es, aufzudecken, ob verringerte HS-Level die Belastungsantwort von Chondrozyten beeinflussen und welche Signalwege für die Chondroprotektion von HS-defizientem Knorpel unter mechanischer Belastung relevant sein könnten.

Die Erzeugung mutanten Knorpelersatzgewebes aus genetisch veränderten humanen Chondrozyten scheitert an der geringen Transfektionseffizienz der Primärzellen; allerdings sind einige HS-defiziente Mauslinien verfügbar. Deshalb wurden die Isolation und Kultur muriner Rippenchondrozyten (engl. murine ribcage chondrocytes, mRCs) und eine Methode zur Züchtung murinen Knorpelersatzgewebes etabliert. Expandierte mRCs (Passage 0) zeigten einen stabilen Chondrozytenphänotyp ohne Anzeichen hypertropher Fehldifferenzierung während der Knorpelreifung und lagerten Glykosaminoglykane (GAG) und Kollagen Typ II im Trägermaterial ab. Quantitativ bestätigten ein GAG/DNA-Gehalt und eine Härte vergleichbar mit humanem Knorpelersatzgewebe, die hohe Qualität des Modells.

Die etablierte Methode wurde angewendet, um zum ersten Mal HS-defizientes Knorpelersatzgewebe aus mRCs von *Ext1<sup>gt/gt</sup>*-Mäusen und zugehörigen WT-Kontrolltieren zu züchten. HS-defiziente Chondrozyten zeigten eine erhöhte BMP-Sensitivität sowie eine gesteigerte GAG-Produktion im Knorpelersatzgewebe, die zur Kompensation eines GAG-Verlusts während einer frühen OA oder bei Überbelastung beitragen könnte. Um den Einfluss von HS auf die Belastungsantwort der Chondrozyten aufzudecken, wurde das Knorpelersatzgewebe im Bioreaktor dynamischer uneingeschränkter Kompression ausgesetzt. Während gängige mechanosensitive Signalwege und molekulare Faktoren unabhängig vom HS-Spiegel induziert wurden, antwortete HS-defizienter Knorpel mit einer anti-apoptotischen Genexpressionssignatur und Suppression von pro-apoptotischem *Bnip3* nach Belastung, was wir als eine günstigere Belastungsantwort als im WT-Knorpel interpretieren.

Insgesamt wurde in dieser Arbeit zum ersten Mal ein Einfluss von Heparansulfat auf die Belastungsantwort von Knorpelgewebe belegt und drei potentiell chondroprotektive Parameter aufgedeckt, die in HS-reduziertem Knorpel zum Schutz vor mechanisch induzierter OA beitragen könnten: eine erhöhte BMP-Sensitivität und GAG-Produktion HS-defizienter Chondrozyten, sowie die Ausbildung einer anti-apoptischen Genexpressionssignatur nach Belastung. Diese Ergebnisse ermutigen dazu, translationale Folgestudien anzuschließen. Diese sollen zeigen, ob HS-Kompetition dem GAG-Verlust während OA entgegenwirken, degenerative Belastungsantworten verringern und das Fortschreiten einer OA nach Gelenkdestabilisation verlangsamen könnte.