

Tobias Weber
Dr. med.

Interferenzstrom als Induktor zellulärer Prozesse bei Primärkulturen humaner osteoblastärer Zellen: Einfluss auf cAMP-Gehalt, Proliferation, Kollagensynthese und Alkalische Phosphatase-Aktivität – Eine experimentelle Studie

Geboren am 20.04.1972 in Heidelberg
Reifeprüfung am 21.06.1991 in Heidelberg
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1993 bis SS 2000
Physikum am 28.03.1995 an der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg
Ärztliche Prüfung am 25.05.2000 an der Universität Heidelberg abgelegt.

Promotionsfach: Orthopädie
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. M. Lukoschek

Im Rahmen der vorgelegten experimentellen Arbeit sollten mögliche Wirkungen des therapeutisch genutzten Interferenzstroms auf primäre Knochenzellen in vitro untersucht werden. Die Untersuchungen basieren im wesentlichen auf den Arbeiten des Forschungszentrums Karlsruhe, die sich seit einigen Jahren mit der Wirkung elektromagnetischer Felder und Ströme und insbesondere von niederfrequent modulierten Mittelfrequenzströmen auf primär nicht erregbare Zellen befassen.

Als Untersuchungsobjekt dienten primäre humane Osteoblasten aus Knochenzellkulturen, die aus unterschiedlichen Knochenbiopsien des Femurs gewonnen und bereits einige Zeit in Kultur gehalten wurden.

Es konnte gezeigt werden, dass nach Behandlung mit Interferenzstrom (Amplitudenmodulierten Wechselströmen einer Trägerfrequenz von 4000 Hz wie sie in der Elektrotherapie eingesetzt werden) Eigenschaften dieser primär nicht erregbaren Zellen verändert werden. Zur Strombehandlung wurde ein speziell für die Dauerbehandlung konstruiertes Expositionsgefäß (Konstruktion und Ausführung: IMB, Forschungszentrum Karlsruhe) eingesetzt. Mit Hilfe dieses Behandlungsgefäßes war es möglich, die auf Zellkulturfiltern in Multiwell-Platten kultivierten Zellen direkt in das Stromflussgebiet zwischen den Elektroden zu bringen. Die applizierte Stromstärke betrug $250 \mu\text{A}/\text{cm}^2$.

Um zu klären, ob osteoblastäre Zellen überhaupt auf eine IFS-Behandlung reagieren, wurde deren intrazelluläre Konzentration des sekundären Botenstoffes cAMP nach einmaliger IFS-Behandlung ($250 \mu\text{A}/\text{cm}^2$, 5 min) bestimmt und auf die jeweils mitgeführte Kontrolle bezogen. Für die Kurzzeitbehandlung wurden die Modulationsfrequenzen 10, 50 und 100

Hz eingesetzt, da diese in verschiedenen anderen Zellsystemen zu signifikanten Veränderungen dieses wichtigen sekundären Botenstoffes geführt hatten. Auch die humanen osteoblastären Zellen reagierten mit frequenzabhängigen, signifikanten Veränderungen der cAMP-Konzentration: bei 10 und 100 Hz kam es zur signifikanten cAMP-Erhöhung und bei 50 Hz zur signifikanten cAMP-Erniedrigung. Diese cAMP-Änderungen sind gleichsinnig wie die bei Fibroblasten und HL60-Zellen beobachteten.

Da cAMP auch bei der Induktion von Proliferation und Differenzierung eine wichtige Rolle spielt, sollte überprüft werden, ob wiederholte IFS-Behandlung auch solche komplexeren zellulären Eigenschaften bei primären osteoblastären Zellen beeinflussen kann. Die osteoblastären Zellen wurden hierfür jeweils wiederholten Interferenzstrom-Behandlungen ausgesetzt, da solche komplexeren Zellantworten nach einmaliger Beeinflussung nicht zu erwarten sind. Es wurde für alle folgenden Experimente IFS der Modulationsfrequenz 100 Hz eingesetzt; es erfolgten 16 Behandlungen à 15 Minuten in dreistündigem Abstand.

Für die Untersuchung zur Beeinflussung des Proliferationsverhaltens wurde die DNA-Synthese über den Einbau des Thymidin-Analogs BrdU mit Hilfe eines ELISA-Tests bestimmt. Es zeigten sich keine signifikanten Veränderungen nach wiederholter IFS-Behandlung.

Eine mögliche Beeinflussung von Differenzierungsleistungen durch Mehrfachbehandlung mit IFS sollte an für Knochengewebe typischen Funktionen überprüft werden. Hierfür wurde die Synthesekapazität für Kollagen Typ-I und die Bestimmung der Aktivität der alkalischen Phosphatase (AP) gewählt. Für die Kollagen-Untersuchungen wurde der Gehalt des C-terminalen Propeptids des Kollagen I (PICP) bestimmt, AP wurde mit Hilfe des Alkphase B Assay ermittelt und auf die ebenfalls bestimmte Gesamtprotein-Menge bezogen. Sowohl die PICP-Bestimmung als auch die Bestimmung der alkalische Phosphatase ergab einen Anstieg gegenüber der Kontrolle: PICP 122% (nicht signifikant), AP 118% (signifikant). Die Einzelwerte streuten jedoch stark, was durch die Untersuchung einer relativ geringen Zahl unterschiedlicher primärer Zellpopulationen bedingt sein dürfte.

Da die wichtige Matrixkomponente Kollagen I und das Knochenenzym alkalische Phosphatase nach wiederholter IFS-Behandlung (100 Hz Modulationsfrequenz) induziert werden, wohingegen die Zellproliferation unbeeinflusst bleibt, deuten die Ergebnisse insgesamt darauf hin, dass es bei primären osteoblastären Zellen zu einer Induktion in Richtung Zelldifferenzierung kommt. Die hier vorgestellten Ergebnisse stehen in Einklang

mit dem Konzept, wonach die Zellmembran als „primäres Interaktionstarget“ für die Ströme angesehen wird. Selbst diese sehr schwachen mittelfrequenten Ströme, die denen bei der IFS-Therapie entsprechen, scheinen über die Zellmembran Signaltransduktions-Prozesse in der Zelle beeinflussen zu können. Dies führt offensichtlich dazu, dass die Zellen in Richtung Matrixsynthese stimuliert werden und es zu einer Induktion des Knochenstoffwechsels kommt. Wenn sich die nur als vorläufig anzusehenden Ergebnisse durch weitere Untersuchungen bestätigen und ergänzen lassen, könnten sich vielfältige Ansätze für eine Erweiterung des Einsatzgebietes der Interferenzstrom-Therapie ergeben.