

Simon Johannes Decker
Dr. med.

Evaluation der Zytokompatibilität sowie des osteogenen und angiogenen Potentials ionischer Zersetzungsprodukte Bor-supplementierter bioaktiver Gläser *in vitro* und *in ovo*

Fach/Einrichtung: Orthopädie

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

Mit einem steigenden Bedarf an neuen, innovativen Knochenersatzmaterialien zur Behandlung großer Knochendefekte oder Knochendefektheilungsstörungen gewinnt der Bereich des Knochen Tissue Engineering, der bereits seit langem Bestandteil orthopädischer Forschung ist, zunehmend an Relevanz. Bioaktive Gläser stellen aufgrund ihrer osteokonduktiven und -induktiven Eigenschaften eine attraktive Gruppe von Biomaterialien für diese Anwendung dar. Seit der Entwicklung von 45S5-BG wurden die Kompositionen bioaktiver Gläser stetig weiterentwickelt und optimiert. In diesem Rahmen entstand das ICIE16-BG, das verbesserte Verarbeitungseigenschaften aufweist und *in vitro* dem Benchmark 45S5-BG hinsichtlich der Zytokompatibilität überlegen ist, sowie pro-osteogene Einflüsse zeigt. Weiterhin gewinnt die Supplementierung bioaktiver Gläser mit therapeutisch aktiven Ionen zur gezielten Beeinflussung ihrer Eigenschaften an Bedeutung, im Fokus stehen dabei pro-osteogene und pro-angiogene Wirkungen. Insbesondere der Förderung der Angiogenese, die vor allem mit zunehmender Komplexität der untersuchten Modelle an Relevanz gewinnt, wird eine bedeutende Rolle zugeschrieben. Für das Spurenelement Bor sind sowohl osteo- als auch angiogene Eigenschaften bekannt, in Studien mit Bor-versetzten bioaktiven Gläsern konnten bereits positive Effekte auf die Osteo- und Angiogenese beobachtet werden.

In dieser Arbeit wurden drei neuartige, auf dem ICIE16-BG basierende bioaktive Gläser, die mit unterschiedlichen Bor-Anteilen supplementiert wurden, in Hinblick auf deren Einflüsse auf die Viabilität (Zytokompatibilität), osteogene Differenzierung sowie angiogene Eigenschaften humaner aus dem Knochenmark gewonnener mesenchymaler Stromazellen *in vitro* und *in ovo* evaluiert und mit denen von unmodifiziertem ICIE16-BG verglichen. Hierfür wurde ein indirektes Zellkultursetting genutzt, in welchem die Einflüsse der ionischen Zersetzungsprodukte der bioaktiven Gläser auf die Zellen untersucht wurden. Der Fokus lag insbesondere auf der Analyse der angiogenen Eigenschaften der ionischen Zersetzungsprodukte unter Verwendung des Chorioallantoismembran Assays, der für diesen Zweck (Verwendung mit humanen, aus dem Knochenmark gewonnenen mesenchymalen Stromazellen und ionischen Zersetzungsprodukten) erstmals etabliert wurde. Mittels optischer Emissionsspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma wurde außerdem die Ionenfreisetzung aus den bioaktiven Gläsern untersucht.

Zunächst wurden im Sinne einer Konzentrationsfindung die Auswirkungen einer Kultivierung der humanen, aus dem Knochenmark gewonnenen mesenchymalen Stromazellen mit drei verschiedenen Konzentrationen der ionischen Zersetzungsprodukte (10 mg/ml, 1 mg/ml und 0,1 mg/ml) evaluiert. Die vielversprechendste Konzentration von 1 mg/ml wurde im Anschluss für alle weiteren *in vitro*- und *in ovo*-Versuchsteile ausgewählt. Die ionischen Zersetzungsprodukte der borhaltigen bioaktiven Gläser zeigten einen konzentrationsabhängigen Einfluss auf die Zellviabilität: Während geringe bis moderate Konzentrationen der Bor-Ionen positive Effekte auf die Zellviabilität hatten, wurden negative Effekte beobachtet, wenn die Konzentration freigesetzter Bor-Ionen zu hoch wurde. Insgesamt waren die ionischen Zersetzungsprodukte der borhaltigen bioaktiven Gläser, insbesondere im Vergleich mit denen des Bor-freien ICIE16-BG, zytokompatibel und somit nicht zytotoxisch. *In vitro* hatten ionische Zersetzungsprodukte der Bor-supplementierten bioaktiven Gläser leicht

pro-osteogene Einflüsse, weiterhin waren limitiert pro-angiogene Effekte zu beobachten. In ovo war ein mit zunehmender Bor-Konzentration stärkerer, klar positiver Einfluss auf die Angiogenese zu beobachten. Die Unterschiede zwischen den beiden Versuchsteilen in Bezug auf das angiogene Potential sind möglicherweise über die unterschiedliche Versorgungssituation von Zellen in den verschiedenen Versuchssettings zu erklären. Das verdeutlicht, dass die Entwicklung und Etablierung neuer, innovativer Modelle, wie etwa dem Chorioallantoismembran Assay, die zwischen herkömmlichen zweidimensionalen in vitro-Zellkultursettings und in vivo-Modellen eingeordnet werden können, von großer Bedeutung ist: Diese können eine vertiefende Untersuchung des osteo- sowie angiogenen Potentials von Biomaterialien, sowie einen besseren Einblick in das Zusammenspiel zwischen Angio- und Osteogenese („angiogenic-osteogenic coupling“) ermöglichen.

Es konnte also gezeigt werden, dass ionische Zersetzungsprodukte der borhaltigen ICIE16-BGs die drei grundlegenden Anforderungen der Zytokompatibilität, Osteo- und Angiogenese, die an Biomaterialien, die als Knochenersatzmaterialien genutzt werden sollen, gestellt werden, erfüllen. Hervorzuheben sind insbesondere die in ovo beobachteten pro-angiogenen Einflüsse. Eine Supplementierung des ICIE16-BGs mit Bor stellt folglich eine attraktive Option zur Modifikation und Optimierung dessen Eigenschaften dar, sodass sich die untersuchten borhaltigen bioaktiven Gläser für eine weitere Evaluation in nachfolgenden Studien qualifizieren.