

Bruno Reible

Dr. med.

Die osteogene Differenzierung humaner mesenchymaler Stammzellen *in vitro* in Abhängigkeit ihrer Gewebsherkunft nach Stimulation mit Insulin-like Growth Factor 1 und Bone Morphogenetic Protein 7

Fach/Einrichtung: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Arash Moghaddam

Pseudarthrosen sind für die betroffenen Patienten mit erheblichen Einschränkungen des psychischen und physischen Wohlbefindens assoziiert und gehen häufig mit einer langwierigen und komplexen Therapie einher. Die Defektaugmentation mittels autologer Stammzelltransplantation im Rahmen der operativen Versorgung von Pseudarthrosen ist eine etablierte Methode zur Verbesserung des therapeutischen Outcomes. In komplexen Fällen kann eine weitere Augmentation des autologen Graftmaterials mittels Differenzierungsfaktoren erfolgen, deren klinischer Nutzen allerdings teils kontrovers diskutiert wird.

Das Ziel der Studie stellt eine Gegenüberstellung eines zur klinischen Anwendung zugelassenen Differenzierungsfaktors (Bone Morphogenetic Protein 7, BMP-7) mit einem bislang nicht bei der Therapie von Pseudarthrosen genutzten Differenzierungsfaktor (Insulin-like Growth Factor 1, IGF-1) dar. Darüber hinaus wurde untersucht, ob die Entnahmestelle des autologen Graftmaterials sowie die Dauer der Stimulation durch den Differenzierungsfaktor die osteogene Differenzierung der aus dem Graftmaterial isolierten humanen mesenchymalen Stammzellen beeinflusst.

Für die Durchführung der Versuche wurden humane mesenchymale Stammzellen (MSC) zur Gegenüberstellung einmal aus Beckenkamm-Aspirat (BMSC) und zusätzlich aus mittels des Reamer-Irrigator-Aspirator-Systems (RIA) gewonnener Spongiosa (RMSC) isoliert. Die Zellen wurden in Zellkultur mit unterschiedlichen Konzentrationen an BMP-7 und IGF-1 stimuliert und die Aktivität der alkalischen Phosphatase (ALP) sowie die extrazelluläre Kalziumablagerung als Surrogatparameter der osteogenen Differenzierung gemessen. Diese Stimulation wurde in einem Versuchsarm kontinuierlich durchgeführt, in einem zweiten lediglich für 24 Stunden, um den Einfluss der Stimulationsdauer auf die osteogene Differenzierung zu untersuchen.

Hieraus ergaben sich drei Nullhypothesen:

1. „Die anatomische Herkunft der MSC ist für ihre osteogene Differenzierung *in vitro* in Zusammenhang mit der Stimulation durch Differenzierungsfaktoren nicht relevant“.
2. „Eine kurzzeitige Stimulation von MSC mit Differenzierungsfaktoren führt im Vergleich zu einer unstimulierten Kontrollgruppe zu einer signifikanten Erhöhung der osteogenen Differenzierung *in vitro*“.
3. „Die Stimulation von MSC mit IGF-1 (oder BMP-7) führt im Vergleich zu einer unstimulierten Kontrollgruppe zu keiner signifikanten Erhöhung der osteogenen Differenzierung *in vitro*“.

Die erzielten Ergebnisse zeigten, dass BMSC wie RMSC gleichermaßen über das Potential zur osteogenen Differenzierung verfügen, beide durch IGF-1 und BMP-7 stimuliert werden und somit grundsätzlich für die Defektaugmentation im Rahmen des Diamantkonzepts geeignet sind. Die Nullhypothese 1 konnte somit nicht widerlegt werden.

Ebenfalls geben die Ergebnisse den Hinweis, dass eine einmalige Applikation von Differenzierungsfaktoren nicht ausreichend ist, um MSC *in vitro* zur osteogenen

Differenzierung zu stimulieren. Dagegen führt eine kontinuierliche Zugabe schon nach 7 Tagen zu einer gesteigerten Freisetzung von Kalzium, während die Aktivität der ALP erst nach 14 Tagen deutlich erhöht ist. Nullhypothese 2 konnte also durch die durchgeführten Versuche widerlegt werden.

Ferner konnte in dem verwendeten in vitro-Ansatz IGF-1 die osteogene Differenzierung ebenso effektiv stimulieren wie BMP-7, im niedrigen Konzentrationsbereich sogar besser. Die Nullhypothese 3 konnte folglich ebenfalls widerlegt werden. IGF-1 könnte somit potentiell alternativ oder ergänzend zu BMP-7 zur Stimulierung der Osteogenese eingesetzt werden. Natürlich sind vor einem klinischen Einsatz weitere Studien notwendig, um mögliche Nebenwirkungen abzuklären.