

Merve Viktoria Saur

Dr. med.

***In-vitro and in-vivo evaluation of the osteogenic and angiogenic properties of a zinc-substituted borosilicate glass***

Fach/Einrichtung: Orthopädie

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Fabian Westhauser

Auf dem Gebiet der Knochenersatzmaterialien im Rahmen des Knochengewebe-Engineerings nehmen bioaktive Gläser (BGs) eine wichtige Stellung ein. Die Erforschung variabler Zusammensetzungen dieser vielversprechenden Materialien ist ein wesentlicher Bestandteil der orthopädischen Grundlagenforschung. Mit der Entwicklung der bioaktiven Glaskomposition 45S5 durch Professor Larry Hench in den späten 1960er Jahren wurde der Grundstein für bioaktive Gläser gelegt. Seitdem wurden die Zusammensetzungen variiert und erweitert, um optimierte Eigenschaften zu erreichen. Durch die Zugabe von Kalium- und Magnesiumoxid entstand das 1393-BG von Brink et al., welches schließlich in der Weiterentwicklung des 0106-B1-BG durch den Ersatz von Siliziumdioxid durch Bortrioxid resultierte. Die Charakterisierung der Eigenschaften von 0106-B1-BG zeigte, dass es in Bezug auf Viabilität und osteogene Differenzierung mit 45S5-BG gleichwertig ist und sogar verbesserte angiogene Eigenschaften aufweist.

Es wird erwartet, dass durch eine weitere Modifizierung des 0106-B1-BG mit der Anreicherung anderer Ionen seine Eigenschaften weiter verbessern werden können. In dieser Arbeit wurden drei neuartige bioaktive Gläser auf Basis von 0106-B1-BG mit unterschiedlichen Zinkgehalten untersucht (1-Zn: 1 Gew.-%, 2-Zn: 2,5 Gew.-%, 3-Zn: 5 Gew.-% ZnO) in Austausch für Calciumoxid. Die Gläser wurden auf ihre Eigenschaften *in-vitro* im direkten Kontakt mit aus Knochenmark gewonnenen mesenchymalen Stromazellen untersucht. Zunächst wurde die Wirkung der Kultivierung mit verschiedenen Konzentrationen von bioaktivem Glas (0.01 mg / mL, 0.1 mg / mL, 1 mg / mL) bewertet, um die Zytokompatibilität sicherzustellen. Die vielversprechendste Konzentration von 1 mg / mL wurde für den weiteren *in-vitro*-Teil der Studie verwendet. Hier wurde die Biokompatibilität

anhand der Zellviabilität und der Zellzahl bewertet. Zur Untersuchung der osteogenen Potenzials der bioaktiven Gläser wurde die Genexpression von *alkaline phosphatase*, *collagen type 1*, *osteocalcin*, und *osteopontin* sowie deren Einfluss auf die Zellen in Bezug auf Proteinexpression und extrazelluläre Ablagerung von Kollagen und Kalzium untersucht. Zur Bewertung des angiogenen Potenzials wurde die Expression von *vascular endothelial growth factor*, *placental growth factor*, und *Endothelin 1* auf Gen- und Proteinebene untersucht. Darüber hinaus wurde ein *Tube Formation Assay* mit humanen umbilikalen Endothelzellen durchgeführt. In einem Defektmodell kritischer Größe bei Ratten wurde das osteogene und angiogene Potenzial des vielversprechendsten bioaktiven Glases – 3-Zn-BG – mit dem höchsten Zinkgehalt *in-vivo* weiter untersucht. Hier wurden Mikrocomputertomographie-Daten verwendet, um die Bildung von neuem Gewebe qualitativ und quantitativ zu untersuchen, die Ergebnisse wurden durch Daten aus der anschließenden histologischen Untersuchung von *tartrate-resistant acid phosphatase*, *Movat's pentachrome*, und *cluster of differentiation 31* der Defektregionen ergänzt. Die Untersuchung der Zink-supplementierten bioaktiven Gläser zeigte im Vergleich zum Referenzglas 0106-B1-BG keine Einschränkung hinsichtlich der Biokompatibilität. Gleichzeitig wurde *in-vitro* ein positiver Effekt auf die osteogene Differenzierung sowie ein pro-angiogenes Potenzial der Zink-supplementierten bioaktiven Gläser gezeigt, während das 3-Zn-BG minimal überlegen war. Auf dieser Grundlage wurde das 3-Zn-BG mit dem 0106-B1-BG in einem Defektmodell kritischer Größe *in-vivo* verglichen und zeigte gleichwertige Eigenschaften in Bezug auf die Knochenneubildung und den Abbau des eingesetzten Materials. Im Gegensatz zu 0106-B1-BG wies es eine geringere Osteoklastenpräsenz auf, jedoch aber ein vergleichbares angiogenes Potenzial. Die Divergenz der *in-vitro*- und *in-vivo*-Ergebnisse kann auf das weniger komplexe biologische Umfeld in der verwendeten zweidimensionalen Zellkultur zurückgeführt werden. Die gleichzeitig komplexe Funktion von Zink in vielen verschiedenen Signalwegen in einem Organismus sowie seine entzündungshemmenden Eigenschaften spielen ebenfalls eine wichtige Rolle, die nicht unterschätzt und weiter untersucht werden sollten.

Die vorliegende Arbeit hat gezeigt, dass die biologischen Eigenschaften der 0106-B1-BG-Zusammensetzung durch die Zugabe von Zink verändert werden können. Aufgrund der positiven Ergebnisse stellt die Supplementierung mit Zink eine attraktive Option zur Modifizierung dar und sollte in nachfolgenden Studien weiter untersucht werden.