

Markus Schaaf-Keim

## **Etablierung eines Nukleotomiemodells am Göttinger minipig**

Geboren am 15.01.1974 in Mannheim

Staatsexamen im Juni 2008 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Orthopädie

Doktorvater: Prof. Dr. med. C. Carstens

Bandscheibendegenerationsbedingte lumbale Rückenschmerzen sind ein sehr häufiges Problem. Es stehen in Zukunft immer mehr therapeutische Optionen bei dieser Erkrankung zur Verfügung, die an geeigneten Tiermodellen überprüft werden müssen. Außerdem fehlen noch entsprechende Referenzdaten vor allem im Bereich der Molekularbiologie. Das Göttinger minipig wurde als Tierart ausgewählt und zeigte sich im Laufe dieser Arbeit als sehr geeignet. Unser Ziel ein Bandscheibendegenerationsmodell zu etablieren und Referenzdaten zu gewinnen ist uns gelungen.

Anhand eines standardisierten Vorgehens induzierten wir mittels Durchführung einer Nukleotomie mittels Schneidebiopsienadel eine Bandscheibendegeneration, die anhand histologischer Untersuchungen und entsprechenden bildgebenden Verfahren bestätigt worden ist. Wir überprüften die Veränderungen im zeitlichen Verlauf 3 Wochen und 24 Wochen postoperativ. Histologisch ließen sich hierbei vor allem im zentralen Bereich des Nucleus pulposus degenerative Zeichen erkennen. Diese wurden anhand eines modifizierten Degenerationsscores objektiviert. Mittels MRT und konventioneller Röntgendiagnostik stellten wir im postoperativen Verlauf eine Höhenminderung des Intervertebralraumes in den nukleotomierten Segmenten fest, die sich sofort 3 Wochen postoperativ zeigte und nach 24 Wochen immer noch auf niedrigerem Niveau im Vergleich zu präoperativ vorhanden war. Ebenfalls mittels MRT wurden Dehydratationszustände der Bandscheibe nach 3 Wochen postoperativ festgestellt, die zum späteren Zeitpunkt nach 24 Wochen auf gleichem Niveau blieben. Veränderungen der Knochendichte in angrenzenden Bereichen des Wirbelkörpers mittels quantitativer CT zeigten sich keine.

Anhand molekularbiologischer Untersuchungen wurden initiale zellbiologische Veränderungen nachgewiesen. Die mRNA ist das Korrelat der Genexpression und konnte mit molekularbiologischen Methoden detektiert und quantifiziert werden. Es wurden

einerseits Daten gewonnen, die den zeitlichen Verlauf der mRNA Mengenveränderung bei Bandscheibendegeneration aufzeigte und andererseits die Verteilung der mRNA Menge im Nucleus und Anulus innerhalb der einzelnen Gruppen darstellte. Zusammenfassend wurden folgende Daten gewonnen:

Man erkennt unter den signifikanten Veränderungen der Genexpression im Anulus fibrosus eine relative Abnahme des Genproduktes von MMP3 in der 3 Wochen Gruppe bezogen auf die Kontrollgruppe, eine relative Zunahme des Genproduktes von MMP13 in der 3 Wochen Gruppe bezogen auf die Kontrollgruppe, eine relative Zunahme des Genproduktes von Decorin, Aggrecan, MMP3 und beta-Aktin in der 24 Wochen Gruppe bezogen auf die 3 Wochen Gruppe und eine relative Zunahme des Genproduktes von MMP13 und beta-Aktin in der 24 Wochen Gruppe bezogen auf die Kontrollgruppe. Im Nucleus pulposus erkennt man eine relative Abnahme des Genproduktes von Aggrecan, MT1-MMP, TIMP2 und beta-Aktin in der 3 Wochen Gruppe bezogen auf die Kontrollgruppe, eine relative Abnahme des Genproduktes von TIMP3 in der 24 Wochen Gruppe bezogen auf die 3 Wochen Gruppe, eine relative Abnahme des Genproduktes von TIMP2 und TIMP3 in der 24 Wochen Gruppe bezogen auf die Kontrollgruppe, eine relative Zunahme des Genproduktes von Decorin, Kollagen 1 und Kollagen 2 in der 3 Wochen Gruppe bezogen auf die Kontrollgruppe, eine relative Zunahme des Genproduktes von Decorin, Aggrecan, MMP3, TIMP1, TIMP2, beta-Aktin und BMP2 in der 24 Wochen Gruppe bezogen auf die 3 Wochen Gruppe und eine relative Zunahme des Genproduktes von Decorin, MMP3, MMP13, Kollagen 1, TIMP1 und BMP2 in der 24 Wochen Gruppe bezogen auf die Kontrollgruppe.

Die Verteilung der mRNA Mengen sah im Nucleus bezogen auf den Anulus wie folgt aus: Man erkennt innerhalb der Kontrollgruppe eine geringere mRNA Menge bei Decorin, MMP3, MMP13, Kollagen 1, Kollagen 2, TIMP3 und BMP2, innerhalb der 3 Wochen eine geringere mRNA Menge bei Decorin, MMP3, MMP13, Kollagen 1, Kollagen 2, TIMP3 und BMP2, innerhalb der 24 Wochen Gruppe eine geringere mRNA Menge bei MMP3, Kollagen 1, Kollagen 2 und TIMP3, innerhalb der Kontrollgruppe eine höhere mRNA Menge bei MT1-MMP, TIMP2 und beta-Aktin und innerhalb der 24 Wochen Gruppe eine höhere mRNA Menge bei MT1-MMP.

Durch biomechanische Messungen wurde nur bei Betrachtung der gleichen Gruppen, nicht aber bei Betrachtung der unterschiedlichen Gruppen zueinander eine signifikante Änderung der Bewegungsamplitude festgestellt. Dies war bei der Kontrollgruppe ohne Nukleotomie und der gleichen Gruppe mit Nukleotomie in Flexion/Extension und

Lateralflexion der Fall. Es zeigte sich jedoch lediglich eine Tendenz zur Zunahme des Bewegungsumfangs. Durch die Durchführung der Nukleotomie ist somit keine gravierende Instabilität entstanden. Dies bedeutet, dass es keine Einschränkungen bei Verwendung unseres Tiermodells in Bezug auf eine Instabilität gibt.

Unser Tiermodell bietet somit viele Möglichkeiten zur weiteren Untersuchung und Therapie der Bandscheibendegeneration.