

Int Poster J Dent Oral Med 2010, Vol 12 No 1, Poster 480

In vitro Besiedlung verschiedener Matrixmaterialien mit porcinen Chondrozyten

Sprache: Deutsch

Autoren:

Dr. med. Tobias Nitsche, Dr. med. Dr. med. dent. Stephan T. Becker, Dr. med. dent. Eleonore Behrens, Prof. Dr. rer. nat. Yahya Açil, Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Jörg Wiltfang, Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Patrick H. Warnke, Faculty of Health Sciences, Bond University, Gold Coast, Australia

Datum/Veranstaltung/Ort:

21.-23. Mai 2009

59. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Kieferchirurgie
Wiesbaden

Einleitung

Beim Tissue Engineering von Gelenknorpelzellen ist die Wahl der geeigneten Matrix von entscheidender Bedeutung. Dabei muss einerseits das Wachstum von Chondrozyten mit Bildung von Knorpelgewebe und andererseits eine Verbindung und Übergang zum subchondralen Knochen möglich sein.

Material und Methoden

In einem in vitro Versuchsaufbau wurden porcine hyaline Chondrozyten aus Gelenknorpel gewonnen und in Zellkultur angezchtet. Mit den Chondrozyten erfolgte eine Besiedlung von fünf verschiedenen Matrixmaterialien (Chondro-Gide®, TissueFleece-Membran, Bio-Oss®-Spongiosa-Block, selbstentwickelte Gerüstblöcke aus Tricalciumphosphat (TCP) und Hydroxylapatit (HA)). 10 Minuten, 1 Stunde und 24 Stunden nach Besiedlung wurde die Zellvitalität anhand von FDA- und PI-Färbungen überprüft und die Biokompatibilität mit Hilfe des LDH-Zellzytotoxizitätstests und Zellproliferationstests (BrdU-, MTT- und WST-Tests, je n=8) analysiert. Weiterhin erfolgte eine rasterelektronenmikroskopische Beurteilung.

Ergebnisse

Zu allen untersuchten Zeitpunkten fanden sich auf den Matrixmaterialien vitale Chondrozyten (s. Abb. 1). Die Biokompatibilitätsanalyse zeigte in allen durchgeführten Biokompatibilitätstests eine gute Verträglichkeit der untersuchten Probenkörper. Die Untersuchung der Zelltoxizität mit dem LDH-Test ergab nach 24h für Chondro-Gide® $5,17 \pm 2,32$, für TissueFleece $5,60 \pm 2,52$, für Bio-Oss® $17,74 \pm 3,25$, für TCP $0,36 \pm 4,41$ und für HA $0,25 \pm 2,95$ (Angaben in %). Damit waren alle untersuchten Materialien im Bereich der Negativkontrolle (s. Abb. 2). Elektronenmikroskopisch konnte auf allen Materialien ein Wachstum der Chondrozyten dargestellt werden (s. Abb. 3).

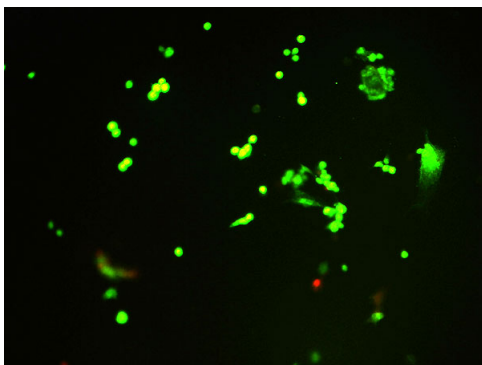


Abb. 1a: Fluoreszenzmikroskopie der Chondrozyten 24 Stunden nach Färbung mit Fluorescein-Diacetat (FDI) und Propidium-Iodid (PI). Die grüne Färbung und die nur vereinzelt auftretende rote Färbung der Zellen sprechen für eine hohe Zahl an vitalen Zellen auf allen untersuchten Biomaterialien. Chondro-Gide.

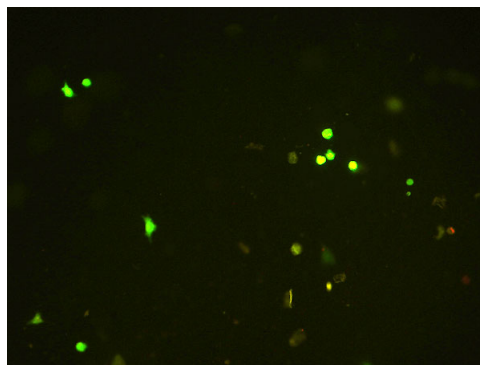


Abb. 1b: Bio-Oss.

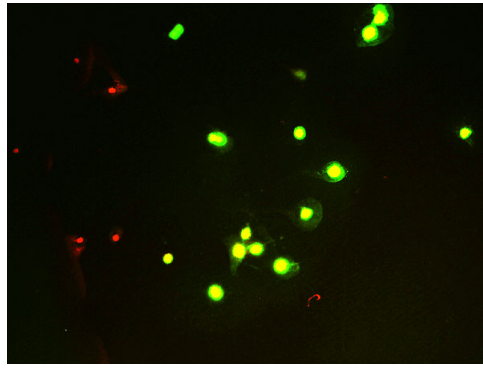
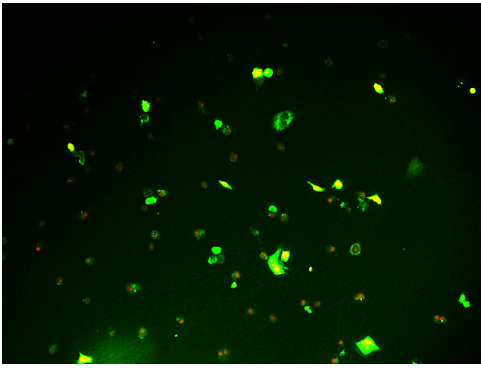


Abb. 1c: Hydroxylapatit.

Abb. 1d: Tricalciumphosphat.

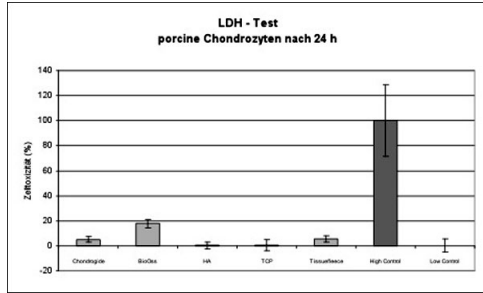
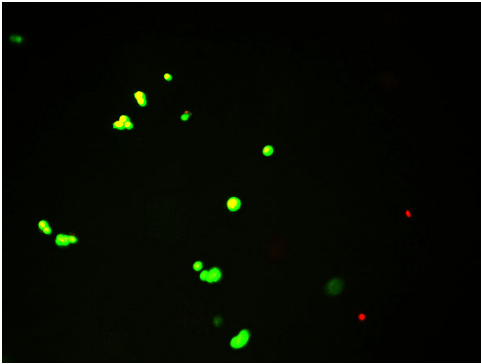


Abb. 1e: TissueFleece.

Abb. 2: LDH-Zelltoxizitätstest mit Eluat von den unterschiedlichen Matrixmaterialien nach 24 Stunden. Alle Materialien waren im Bereich der Negativkontrolle. Dies spricht für eine hohe Biokompatibilität.

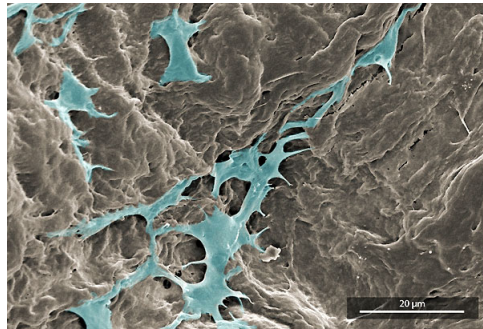
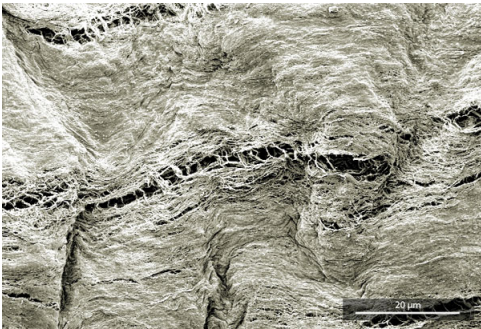


Abb. 3a: Elektronenmikroskopische Bilder der Matrixmaterialien vor und nach Besiedlung mit porcinen Chondrozyten. Man erkennt adhärenzte Zelle, die mit Ihren Zellfortsätzen auf den Materialien haften. Chondro-Gide vor Besiedlung.

Abb. 3b: Chondro-Gide nach Besiedlung.

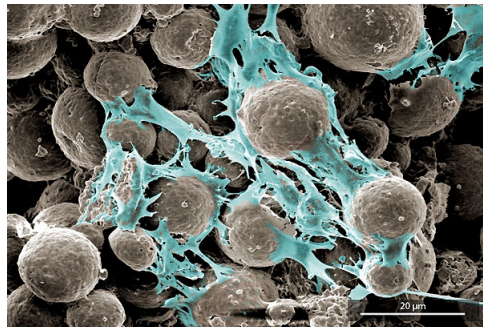
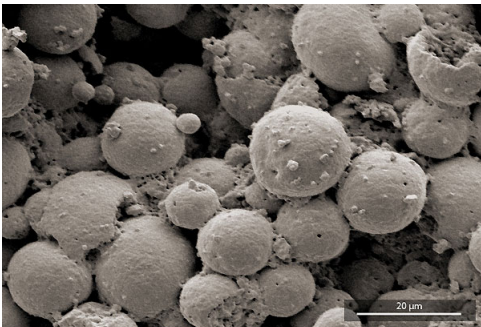


Abb. 3c: Hydroxylapatit vor Besiedlung.

Abb. 3d: Hydroxylapatit nach Besiedlung.

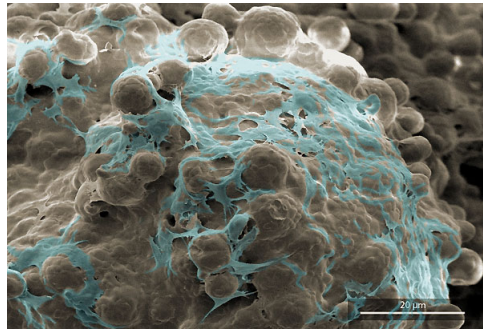
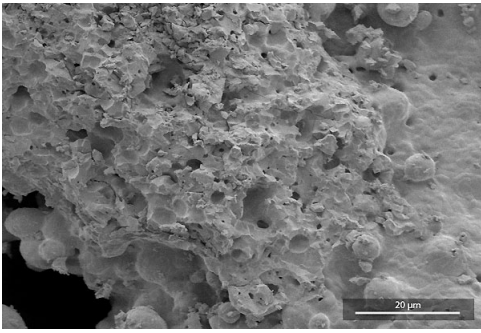


Abb. 3e: Tricalciumphosphat vor Besiedlung.

Abb. 3f: Tricalciumphosphat nach Besiedlung.

Schlußfolgerungen

Die untersuchten Matrixmaterialien eignen sich als Trägermaterial zur Züchtung von Chondrozyten in vitro. Als nächster Schritt soll nun eine Übertragung ins Tiermodell die Eignung in vivo untersuchen.

Dieses Poster wurde übermittelt von **Dr. Tobias Nitsche**.

Korrespondenz-Adresse:

Dr. Tobias Nitsche

Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
 Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
 Arnold-Heller-Straße 3, Haus 26
 24105 Kiel

Poster Faksimile:

In vitro Besiedlung verschiedener Matrixmaterialien mit porcinen Chondrozyten

Tobias Nitsche¹, Stephan T. Becker¹, Eleonore Behrend¹, Yahya Aqil², Jörg Wiltfang¹, Patrick H. Warnke¹
¹ Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel, Arnold-Heller-Str. 3, Haus 26, 24105 Kiel
² Faculty of Health Sciences, Bond University, Gold Coast, Australia

Eisleitung

Biere: Tissue Engineering von Gelenkkörperzellen ist die Wahl der geeigneten Matrix von unterschiedlicher Beschichtung. Dabei muss einerseits das Wachstum von Chondrozyten mit Bildung von Knorpelgewebe und andererseits eine Verfestigung und Übergang zum subchondralen Knochen möglich sein.

Material und Methoden

In einem in vitro Versuchsaufbau wurden porcine hyaline Chondrozyten aus Gelenkkörper genommen und in Zellkultur angezchtet. Mit diesen Chondrozyten erfolgte eine Besiedlung von fünf verschiedenen Matrixmaterialien (Chondro-Gel®¹, Tissueflex-Block², Bio-Ox®/Spengler-Block³, selbstvernetzliche Gele-Blocke aus Tricalciumphosphat (TCP) und Hydroxyapatit (HA)⁴, 10 Minuten, 1 Stunde und 24 Stunden nach Besiedlung wurde die Zellviabilität anhand von FDA- und PI-Färbungen überprüft und die Biokompatibilität mit Hilfe des LDH-Zellzytotoxizitätsassays und Zellzytometerassays (BrdU, MTT- und WST1) (n=8) analysiert. Weiterhin erfolgte eine rasterelektronenmikroskopische Beurteilung.

Abb. 1: Rasterelektronenmikroskopische Bilder der Chondrozyten 24 Stunden nach Färbung mit fluoreszenz-markiertem (FDA) und Propidium-Iodid (PI). Die grüne Färbung und die rote, membran-zuführende Färbung der Zellen sprechen für eine hohe Zahl an vitalen Zellen auf allen untersuchten Matrixmaterialien. Abb. 1b-f: nach 24h: Chondro-Gel®, Bio-Ox®, HA, TCP, Tissueflex.

Abb. 2: LDH-Zellzytotoxizität mit Hilfe von drei unterschiedlichen Matrixmaterialien nach 24 Stunden. Alle untersuchten Materialien waren im Bereich der Biokompatibilität. Dies spricht für eine hohe Biokompatibilität.

Abb. 3: Rasterelektronenmikroskopische Bilder der Matrixmaterialien vor und nach Besiedlung mit porcinen Chondrozyten. Man erkennt auf weißen Zellen, die mit ihrer Zellfortsätze auf den Materialien haften.

> Ergebnisse:

Zur allen untersuchten Zeitpunkt fanden sich auf allen Matrixmaterialien viele Chondrozyten (n. MTT). Die Biokompatibilitätsanalyse zeigte in allen durchgeführten Biokompatibilitätstests eine gute Verträglichkeit der untersuchten Probeabträger. Die Untersuchung der Zellviabilität mit dem LDH-Test ergab nach 24h für Chondro-Gel® 5,17 ± 2,32, für Tissueflex 5,60 ± 2,52, für Bio-Ox® 17,78 ± 2,25, für TCP 25,36 ± 4,42 und für HA 22,52 ± 2,95 (Angaben in %). Damit waren alle untersuchten Materialien im Bereich der Biokompatibilität (s. Abb. 2). Rasterelektronenmikroskopisch konnte auf allen Materialien ein Wachstum der Chondrozyten dargestellt werden (s. Abb. 3).

> Zusammenfassung

Die untersuchten Matrixmaterialien eignen sich als Trägermaterial zur Züchtung von Chondrozyten in vitro. Als nächster Schritt soll nun eine Übertragung ins Tiermodell die Eignung in vivo untersuchen.

Dankagung:

Die Autoren bedanken sich bei Gerd Otto, Andreas Behrend, Professor Bodo Klitz, Professor Hermann Sauer sowie der Fachplänechen Union für die finanzielle Unterstützung im Rahmen des Myovent Project (FFG-NEST 02885).