

Diese Hochschulschrift finden Sie original in Printform
zur Ausleihe in der

Zweigbibliothek Medizin

Nähere Angaben zu Standort, Öffnungszeiten usw.
finden Sie auf der Homepage der SLUB.

Auf den folgenden Seiten finden Sie

- Titelblatt und
- Inhaltsverzeichnis der Hochschulschrift.

Ossifizierung von Knochenersatzmaterial mit mesenchymalen Stammzellen in vitro

DISSERTATIONSSCHRIFT

zur

Erlangung eines

doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

der Medizinischen Fakultät Carl Gustav Carus

der Technischen Universität Dresden



vorgelegt von

Gretel Wittenburg

geboren in Wismar

Dresden, 20. Dezember 2010

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Klinische Problematik von Knochendefekten	1
1.2	Standardtherapie	1
1.3	Knochen-Tissue-Engineering	1
1.4	Problemstellung der Arbeit	3
1.5	Ziel der Arbeit	4
1.6	Gliederung der Arbeit	5
2	Biologische Grundlagen	7
2.1	Knochengewebe	7
2.1.1	Knochen: Struktur und Entwicklung	8
2.1.2	Knochenbestandteile	9
2.1.3	Knochenneubildung und Mineralisierung	11
2.1.4	Knochenzellen	13
2.1.5	Knochenremodellierung	17
2.1.6	Knochenerkrankungen und Therapien	19
2.2	Mesenchymale Stammzellen	26
2.2.1	Definition und Begriffsbildung	26
2.2.2	Knochenmark als Stammzellnische	28
2.2.3	Charakterisierung von MSC	30
3	Stand der Forschung	34
3.1	Knochenersatzmaterial	34
3.1.1	Polymere	36
3.1.2	Keramiken	37
3.1.3	Vorstellung der verwendeten Trägermaterialien	39
3.2	Aktivierung von Knochenersatzmaterial	41
3.2.1	Vaskularisierung	42
3.2.2	Ossifikation	42

4	Methoden	44
4.1	Anreicherung von mesenchymalen Stammzellen	45
4.1.1	Isolierung und Expansion von MSC	45
4.1.2	Hypoxische Behandlung	46
4.1.3	Magnetische Lineage Depletion	46
4.2	Charakterisierung von mesenchymalen Stammzellen	47
4.2.1	Durchflusszytometrie	47
4.2.2	Differenzierungstests	49
4.3	Biologische Herstellung von Knochenersatz	51
4.3.1	Vorbehandlung des Trägermaterials	51
4.3.2	Besiedlung des Trägermaterials	56
4.4	Analyseverfahren zum Nachweis der Ossifikation	56
4.4.1	Histologische Färbungen	56
4.4.2	Confocalmikroskopie	58
4.4.3	Rasterelektronenmikroskopie	58
4.4.4	Molekularbiologische Nachweisreaktionen	59
4.5	Statistische Auswertung	64
5	Ergebnisse	65
5.1	Zellkultur: mMSC aus GFP-Aktin-C57Bl/6	65
5.1.1	Charakterisierung und Homogenität	70
5.1.2	Differenzierung	73
5.2	Ossifikation ohne Differenzierungsmedium	75
5.2.1	Dentalkegel	75
5.2.2	Calcibon, BONITmatrix, NanoBone	77
5.3	Ossifikation mit vordifferenzierten Osteoblasten	78
5.3.1	Vordifferenzierung der Osteoblasten	78
5.3.2	Dentalkegel	80
5.3.3	Calcibon, BONITmatrix, NanoBone	82
5.4	Ossifikation mit Differenzierungsmedium	84
5.4.1	Dentalkegel	84
5.4.2	Calcibon, BONITmatrix und NanoBone	86

6 Diskussion	93
6.1 Mesenchymale Stammzellen aus GFP-Aktin-C57Bl/6	94
6.1.1 Isolation und Anreicherung	94
6.1.2 Wachstumsbeschleunigung durch Hypoxie	95
6.1.3 Charakterisierung der mesenchymalen Stammzellen . . .	97
6.2 Biologisch hergestellter Knochenersatz	100
6.2.1 Material mit Stammzellen ohne Differenzierungsmedium	101
6.2.2 Material mit vordifferenzierten Stammzellen	101
6.2.3 Material mit Stammzellen und Differenzierungsmedium .	103
7 Ausblick	109
8 Zusammenfassung	112
9 Summary	115
Literaturverzeichnis	117
Linkverzeichnis	138
Abbildungsverzeichnis	139
Tabellenverzeichnis	139
Abkürzungsverzeichnis	141
Material	144
Curriculum Vitae	150
Danksagung	152
Erklärung	153
Thesen	154