

Int Poster J Dent Oral Med 2005, Vol 7 No 01, Poster 266

## Die Fibrinmembran als Scaffold für ein rein autologes Bone Tissue Engineering

**Sprache:** Deutsch

**Autoren:**

Tim Nolting,  
Dr. Thomsas Szuwart,  
Priv.-Doz. Dr. Hans-Peter Wiesmann,  
Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. Ulrich Joos,  
Priv.-Doz. Dr. Dr. Johannes Kleinheinz,  
Klinik und Poliklinik für Mund-, und Kiefer- Gesichtschirurgie, Universität Münster

**Datum/Veranstaltung/Ort:**

30.09.2004 - 02.10.2004  
128. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
Stuttgart, Deutschland

Poster Award

DGZMK/Dentsply/BZÄK Förderpreis

SENSODYNE  
Poster-Studien Award  
2006

Sensodyne-Poster-Studien-Award 2006 für das beste Poster in 2005

### Einleitung

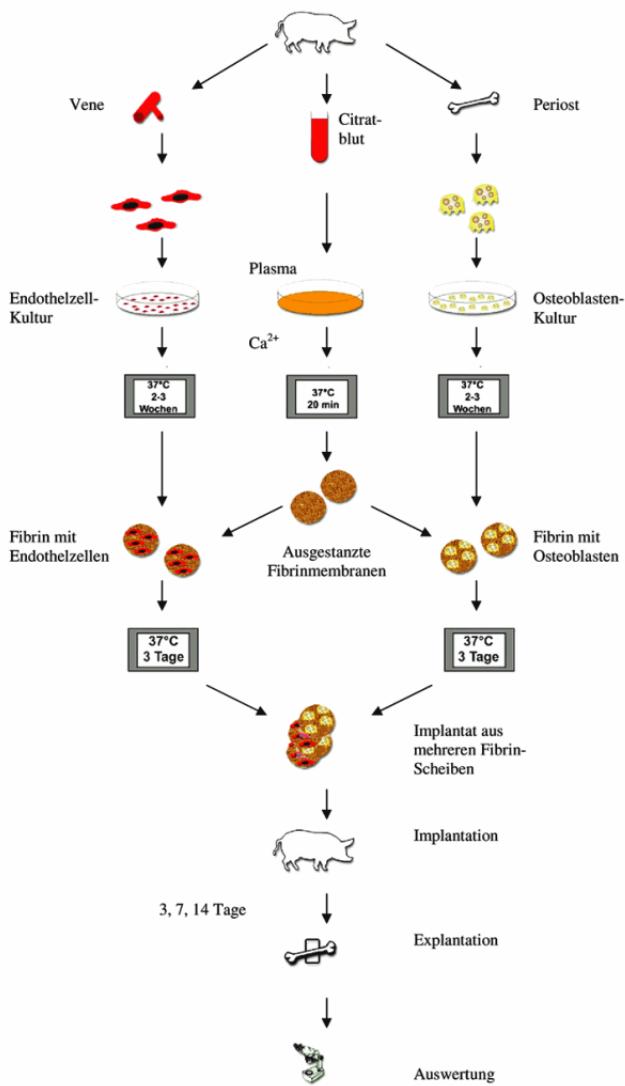
Autologer Knochen gilt auch heute noch als Knochenersatzmaterial der ersten Wahl zur regeneration knöcherner defekte. Der Vorteil der Osteokonduktivität und -induktivität wird jedoch nachteilig beeinflusst durch das limitierte Angebot und die erhöhte Spendermorbidity. Die erfolgreiche Integration extrakorporal erzeugter gewebeimplantate in einen knöchernen Defekt benötigt eine optimale Zusammensetzung der Gewebe-Matrix sowie darin enthaltener spezifischer Gewebszellen. Für den Knochen bedeutet dies, eine Struktur zu finden, die der natürlichen kollagenen Struktur entspricht und die die Kultivierung und Anzüchtung von allen für die osteogenese entscheidend benötigten Zellen ermöglicht.

### Problemstellung

Ziel der Studie war es, durch Tissue Engineering einer primären vaskularisierten Implantatkonstruktion auf Basis einer Fibrin-matrix eine schnellere und funktionellere Ausheilung so genannter "Critical size defects" (CSD) zu erreichen und dabei ausschließlich autologe Zellen und Gewebsanteile zu verwenden.

### Material und Methoden

Aus dem venösen Citratblut Göttinger Minischweine wurde eine autologe Fibrin-Matrix hergestellt. Aus dem Periost der Schädelkalotte wurden Osteoblasten, aus Jugularvenen der Tiere Endothelzellen gewonnen und angezüchtet. Beide Zelltypen wurden auf 5 mm große und 1 mm dicke Fibrinscheiben ausgesiedelt. Die Adhäsion (Fibronectin, VE-Cadherin), die Proliferation (Auszählung) und zelluläre Differenzierung (von Willebrand Faktor, Osteocalcin) wurde in vitro histologisch, immunhistologisch und ultrastrukturell untersucht. Je 3 Scheiben der auf diese Weise autolog hergestellten Implantatteile wurden sandwichartig in vivo in definierte 5 mm breite und 7 mm tiefe CSD's im Corpus mandibulae der Versuchstiere eingebracht. Die knöcherne Regeneration wurde zu definierten Zeitpunkten von 3, 7, und 14 Tagen nach Sacrifizierung der Tiere ebenfalls histologisch, immunhistologisch und ultrastrukturell ausgewertet.



## Ergebnisse

Für beide Zellreihen zeigte sich *in vitro* eine ausgeprägte Adhäsion auf der Matrix wenige Stunden nach Aussiedlung und eine hohe Proliferationsrate mit Ausbildung konfluierender Zellschichten nach 3 Tagen. Die Differenzierungsmarker wiesen für die Osteoblasten eine gesteigerte Expressionsrate extrazellulärer Matrixproteine auf, die Endothelzellen bildeten nach Konfluenz und Ausbildung von zell-zell-Kontakten zyklische Strukturen aus. Die *in vivo* Versuche ergaben eine gesteigerte, dichtere Regeneration im Bereich der knöchernen Defekte. Nach 3 Tagen waren ausgeprägte kapilläre Einsprossungen in die Matrix, nach 7 Tagen erste Mineralisationskeime im Fibrinnetzwerk nachweisbar. Nach 14 Tagen nach Implantation zeigte sich eine fast vollständige Osteoneogenese im Bereich der CSD's. Die knöcherne Regeneration der Defekte breitet sich, im Vergleich zu den Kontrollen doppelt so schnell aus.



Abb. 1: Herstellung der Fibrinmembran

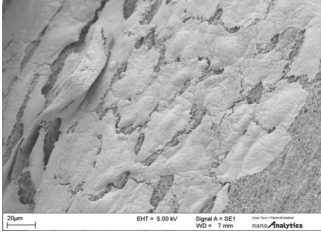


Abb. 2: REM-Nachweis von Endothelzellen auf der Fibrinmembran nach 1 Tag

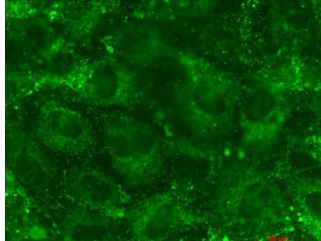


Abb. 3: Endothelzellen auf Fibrin nach 3 Tagen (vWF 40x)

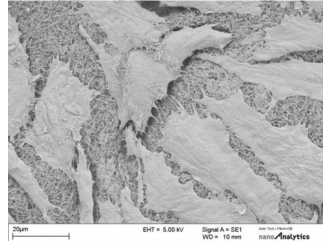


Abb. 4: REM-Nachweis von Osteoblasten auf der Fibrinmembran nach 1 Tag

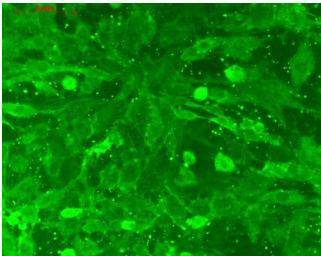


Abb. 5: Osteoblasten auf Fibrin nach 3 Tagen (Osteocalcin 20x)



Abb. 6: Implantat in situ eines artifiziiell geschaffenen Critical size bone defects (Mandibula eines Göttinger Minischweins)

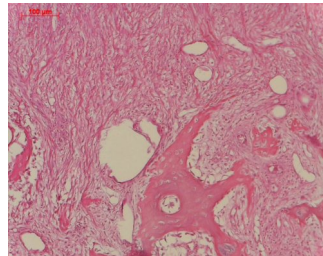


Abb. 7: Kapilläre Sprossung nach 7 Tagen (HE 20x)

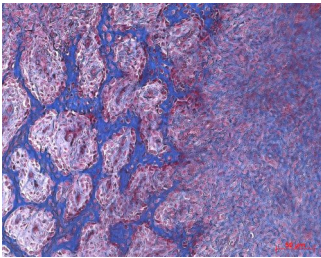


Abb. 8: Osteogenese nach 7 Tagen in vivo (Azan 20x)



Abb. 9: Fluoreszenznachweis der implantierten Osteoblasten nach 7 Tagen (Eigenfluoreszenz 40x)

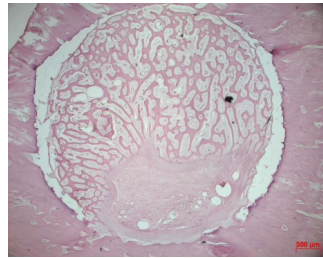


Abb. 10: Implantat nach 14 Tagen in situ mit großflächiger Osteogenese und kapillären Strukturen (HE 4x)

## Diskussion

Fibrin stellt somit eine ideale Grundmatrix für das rein autologe Bone Tissue Engineering dar, mit deutlichen Vorteilen im Zellverhalten und bei der Inkorporation in den Defekt gegenüber Alternativkonstrukten.

*Dieses Poster wurde übermittelt von Priv.-Doz. Dr. Dr. Johannes Kleinheinz.*

### Korrespondenz Adresse:

*Priv.-Doz. Dr. Dr. Johannes Kleinheinz*  
 Klinik und Poliklinik für Mund-, und Kiefer- Gesichtschirurgie  
 Universitätsklinikum Münster  
 Waldeyerstr. 30  
 48149 Münster

18



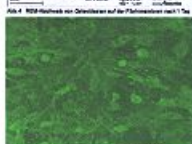
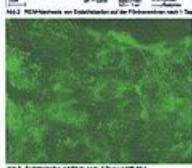
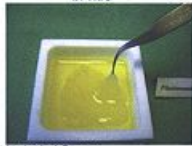
# Die Fibrinmembran als Scaffold für ein rein autologes Bone Tissue Engineering

T Nolting<sup>1</sup>, Th Szuwart<sup>2</sup>, H P Wiesmann<sup>1</sup>, U Joos<sup>1</sup>, J Kleinheinz<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinik und Poliklinik für Mund- und Kiefergesichtschiirurgie, Waldayerstr. 30 D-48149 Universität Münster  
<sup>2</sup>Institut für Anatomie, Vesaliusweg 2-4 D-48149 Universität Münster



in vitro



## Zielesetzung

Autologer Knochen gilt auch heute noch als Knochenersatzmaterial der ersten Wahl zur Regeneration knöcherner Defekte. Der Vorteil der Osteokonduktivität und -induktivität wird jedoch nachteilig beeinflusst durch das limitierte Angebot und die erhöhte Spendermorbidity. Die erfolgreiche Integration extrakorporal erzeugter Gewebimplantate in einen knöchernen Defekt benötigt eine optimale Zusammensetzung der Gewebematrix sowie darin enthaltener spezifischer Gewebszellen.

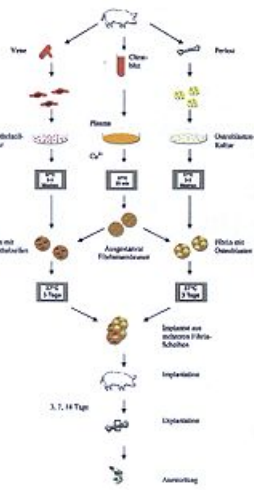
Für den Knochen bedeutet dies, eine Struktur zu finden, die der natürlichen kollagenen Struktur entspricht und die die Kultivierung und die Anzüchtung von allen für die Osteogenese entscheidend benötigten Zellen ermöglicht.

Ziel der Studie war es, durch Tissue Engineering einer primär vaskularisierten Implantatkonstruktion auf Basis einer Fibrinmatrix eine schnellere und funktionellere Ausheilung so genannter "Critical size defects" (CSD) zu erreichen und dabei ausschließlich autologe Zellen und Gewebsteile zu verwenden.

## Material und Methoden

Aus dem venösen Citratblut Göttinger Minischweine wurde eine autologe Fibrinmatrix hergestellt.

Aus dem Periostr der Schädelkalotte wurden Osteoblasten, aus Jugularvenen der Tiere Endothelzellen gewonnen und angezüchtet. Beide Zelltypen wurden auf 5mm große und 1mm dicke Fibrinscheiben ausgesiedelt. Die Adhäsion ( Fibronectin, VE-Cadherin ), die Proliferation (Auszählung) und zelluläre Differenzierung ( von - Willebrand - Faktor, Osteocalcin) wurde in vitro histologisch, immunhistologisch und ultrastrukturell untersucht.



Je 3 Scheiben der auf diese Weise autolog hergestellten Implantateile wurden sandwichartig in vivo in definierte 5 mm breite und 7 mm tiefe Critical size defects im Corpus mandibulae der Versuchstiere eingebracht. Die knöcherne Regeneration wurde zu definierten Zeitpunkten von 3, 7, 14 Tage nach Sacrifizierung der Tiere ebenfalls histologisch, immunhistologisch und ultrastrukturell ausgewertet.

## Ergebnisse

Für beide Zellreihen zeigte sich in vitro eine ausgeprägte Adhäsion auf der Matrix wenige Stunden nach Aussiedelung und eine hohe Proliferationsrate mit Ausbildung konfluierender Zellschichten nach 3 Tagen. Die Differenzierungsmarker wiesen für die Osteoblasten eine gesteigerte Expressionsrate extrazellulärer Matrixproteine auf, die Endothelzellen bildeten nach Konfluenz und Ausbildung von Zell-Zell-Kontakten zyklische Strukturen aus. Die in vivo Versuche ergaben eine gesteigerte, dichtere Regeneration im Bereich der knöchernen Defekte. Nach 3 Tagen waren ausgeprägte kapilläre Einsprossungen in die Matrix, nach 7 Tagen erste Mineralisationskeime im Fibrinnetzwerk nachweisbar. Nach 14 Tagen nach Implantation zeigte sich eine fast vollständig Osteoneogenese im Bereich der Critical size defects. Die knöcherne Regeneration der Defekte breitete sich im Vergleich zu den Kontrollen signifikant doppelt so schnell aus.

## Zusammenfassung

Fibrin stellt somit eine ideale Grundmatrix für das rein autologe Bone Tissue Engineering dar mit deutlichen Vorteilen im Zellverhalten und bei der Inkorporation in den Defekt gegenüber Alternativkonstruktionen.

in vivo

