

## **ArthroMo – Etablierung und Validierung eines humanen 3D *in vitro* Arthrose-Modells**

– Bericht –

Zur Herstellung der Knorpelkonstrukte wurden zunächst Zellen (mesenchymale Stromazellen) aus menschlichem Knochenmark isoliert, das bei routinemäßigen orthopädischen Operationen entfernt wird. Diese Zellen haben die Fähigkeit, sich weiter zu teilen und sich so zu vermehren. Nach einer entsprechenden Expansionszeit wurden die Zellen charakterisiert und für die Verarbeitung an unseren Kooperationspartner (fzmb GmbH, Bad Langensalza) gesendet. Die Knorpelkonstrukte werden auf Basis eines patentierten Verfahrens hergestellt und über einen Zeitraum von 3 Monaten mechanisch stimuliert. Die mechanische Stimulation dient dazu, dass die Zellen sich zu Knorpelzellen entwickeln und eine knorpelähnliche Gewebestruktur bilden. Anschließend haben wir in einem ersten Schritt untersucht, ob die Knorpelkonstrukte einen vergleichbaren Aufbau aufweisen wie nativer, menschlicher Knorpel und ob sie die gleichen Substanzen produzieren und in das Gewebe abgeben. Wir konnten feststellen, dass die Zellen in den 3D-Verbänden Knorpel-typische Proteine und Signalstoffe herstellen. Weiterhin konnten wir eine vergleichbare Struktur und Anordnung der Zellen mittels Histologie und Mikroskopie beobachten. Aufgrund der Ähnlichkeiten zu nativem Knorpel eignen sich diese Konstrukte hervorragend als Basis für die Entwicklung eines *in vitro* Arthrose-Modells.

Um die Konditionen eines arthritischen Knorpels *in vitro* abzubilden, wurden die Knorpelkonstrukte mit entzündungsfördernden Faktoren (Interleukin-1 und Tumornekrosefaktor) behandelt. Die von uns verwendeten Faktoren spielen auch im Patienten eine wichtige Rolle, da sie mitverantwortlich sind für die Entstehung und Aufrechterhaltung der Arthrose und der Gelenkdegeneration. Die Konstrukte wurden dazu über 3 Wochen mit diesen Faktoren kultiviert. Um die Veränderungen vergleichen zu können, gab es eine weitere Gruppe, die ohne Zugabe von weiteren Faktoren kultiviert wurde und den gesunden Gelenkknorpel darstellte. Nach 3 Wochen haben wir die Kontrollgruppe und die Gruppe, die mit den entzündlichen Faktoren stimuliert wurden, für die weiteren Untersuchungen aufgearbeitet. Zusätzlich haben wir einige der Konstrukte, die vorher mit den entzündungsfördernden Faktoren behandelt wurden, für weitere 3 Wochen in normalem Medium kultiviert.. Damit wollten wir herausfinden, ob die Knorpelkonstrukte fähig sind, sich von der entzündlichen Stimulation erholen („regenerieren“) zu können. Unsere Ergebnisse zeigten, dass die mit Entzündungsfaktoren behandelten Knorpelkonstrukte ähnliche Veränderungen aufweisen wie der Knorpel beim Krankheitsbild der frühen Arthrose:

Die mikroskopische Struktur und Anordnung der Zellen ist verändert und diffuser, und die Konstrukte verlieren ihre Festigkeit (vermehrte Wassereinlagerung im Gewebe). Außerdem setzten Knorpelzellen nach der Stimulation selbst viele entzündliche und weitere Faktoren frei, die die Gewebestruktur abbauen können. Erstaunlicherweise konnten wir auch sehen, dass die Konstrukte der Regenerationsgruppe weniger dieser Faktoren produzierten und wieder eine geordnete Struktur annehmen bzw. eine intakte Gewebematrix wiederherstellen.

Da unsere Ergebnisse äußerst vielversprechend sind, gehen wir davon aus, dass wir nach weiterer Optimierung eine geeignetes *in vitro Modell* zur Testung von neuen Therapieansätzen zur Verfügung stellen können. Neben der Einsparung von Tieren im Tierversuch wird durch solch ein Modell die gezielte Übertragbarkeit auf den Patienten verstärkt und gefördert.