P 24

Mechano-Biologie von bovinen Bandscheiben belastet unter Kompression und Torsion

S. Chan[1], J. Walser[2], M.J. Shamsollahi[1], S. Ferguson[2], P. Käppeli[2], *L. Benneker[3], B. Gantenbein-Ritter[1]
[1]Universität Bern, Institut für Chirurgische Technologien & Biomechanik, Bern, Schweiz
[2]Institut für Biomechanik/ETH, Zürich, Schweiz
[3]Inselspital Universität Bern, Orthopädie, Bern, Schweiz

Einleitung: Bandscheiben wirken als Schockabsorbierer in der Wirbelsäule und auf diese wirken meistens komplexe Kräfte, zusammengesetzt aus Kompression, Torsion und Flexion. Die biomechanishe Umgebung einer Bandscheibe ist denn auch geprägt von komplexen Belastungen. Die Forschung über die *in vitro* Bandscheibenbiologie hat sich bisher um die axiale Kompression konzentriert, wobei die Bedeutung von Torsion und insbesondere dem Zusammenspiel von Kompression und Torsion (= "Twisting") praktisch noch nie untersucht wurde an lebenden Organkultur-Explantaten. Wir präsentieren neue mechano-biologische Daten über die Überlebenswahrscheinlichkeit von Bandscheibenzellen kultiviert in einem neuartigen, kompakten Design eines bi-axialen Bioreaktors, um die Bedeutung von Kompression und Torsion zu verstehen.

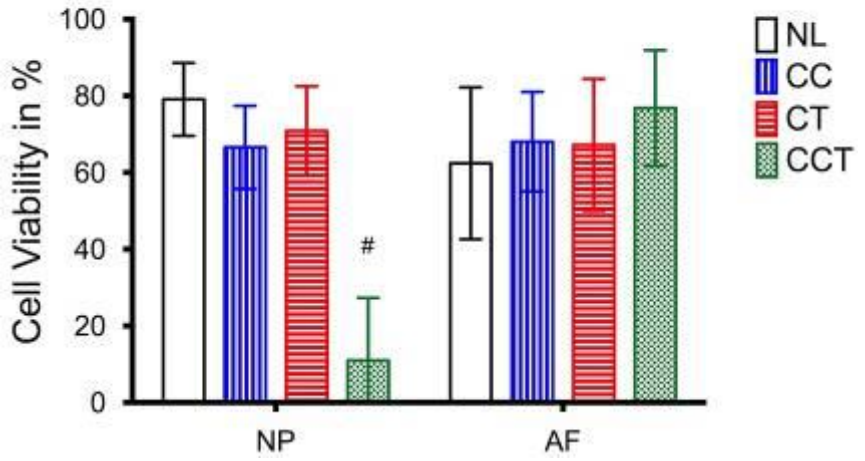
Material/Methode: Bovine Schwanzbandscheiben mit den Endplatten wurden isoliert wie bereits beschrieben [2] und mechanische Belastung wurde angewendet mit einem 2 DoF Bioreaktor für 14 Tage [3]. Die Bandscheiben wurden in verschiedene Belastungsgruppen eingeteilt: 1) Keine Belastung (NL), 2) zyklische Kompression (CC) [8h: axiale Kompression mit 0.6 ± 0.2 MPa, 0.2 Hz], 3) zyklische Torsion (CT) [8h: ± 2° torsion, 0.2 Hz, 0.2 MPa compression], 4) zyklische Kompression und Torsion (CCT) [8h: 0.6 ± 0.2 MPa, 0.2 Hz & ± 2° torsion, 0.2 Hz]. Das Bandscheibengewebe wurde mit LIVE/DEAD gefärbt und mit einem konfokalen Mikroskop visualisiert um die Überlebensrate zu bestimmen. Zell Apoptosis wurde quantifiziert mit einem Caspase 3/7 Kit normalisiert zum totalen Proteingehalt (Bradford). Relative Gen-Expression von wichtigen Genen für die Bandscheibe wurde bestimmt von anabolischen, katabolischen und inflammatorischen Genen mittels real-time RT-PCR. Die Morphologie der Bandscheibenzellen wurde mittels Histologie bestimmt.

Ergebnisse: Die Resultate zeigten einen starken Abfall der Zellüberlebenswahrscheinlichkeit im Zentrum der Bandscheiben, dem Nulceus Pulposus (NP), i.e. 10%, in der Gruppe mit CCT. Hingegen die Überlebenswahrscheinlichkeit im Annulus fibrosus (AF) war stabilisiert bei über 60% im NP und im AF in allen anderen Gruppen (Fig 1). Apoptotische Aktivität war statistisch signifikant erhöht in der CC-Gruppe, aber nicht in der CCT-Gruppe, was die Vermutung nahe legt, dass der erhöhte Zellverlust im NP nicht mit Apoptose sondern mit Nekrose erklärt werden kann. Die Gen Expression der anabolischen Gene COL1, COL2 und Biglycan war signifikant erhöht im AF in der CCT Gruppe, ebenfalls waren Remodeling-Gene angeschaltet wie ADAMTS4 und MMP-13 in der CCT Gruppe (Fig. 2). Der Glykosaminoglykan (GAG) Gehalt war generell im AF erhöht in den Gruppen unter mechanischer Belastung, jedoch nicht statistisch signifikant.

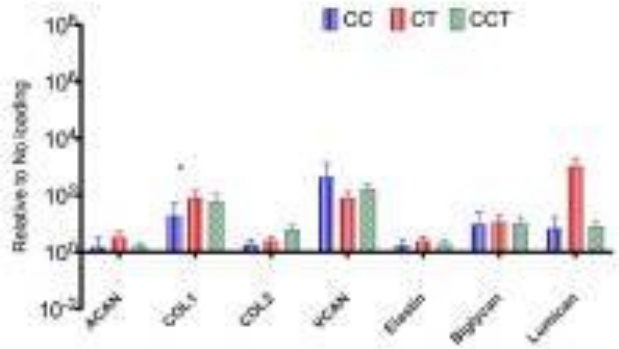
Schlussfolgerung: Zyklische Torsion kombiniert mit zyklischer Kompression waren in dieser Studie erfolgreich und nach unserem besten Wissen zum ersten Mal an Bandscheibenexplantaten in einer 14-tägigen Organkultur angewendet worden in einem dafür speziell konzipierten Bioreaktor. Die Resulte zeigten überraschend einen negativen Effekt bei physiologischen Parametern, was die Belastung (0.6MPa ± 0.2MPa) und die Torsion (± 2°) angeht. Dieser negative Effekt des "Twistings" auf die Überlebenswahrscheinlichkeit der Zellen war jedoch nur regional im NP von Bedeutung, wohingegen im AF keine Effekte zu detektieren waren.

source: https://doi.org/10.7892/boris.43386 | downloaded: 12.10.2024

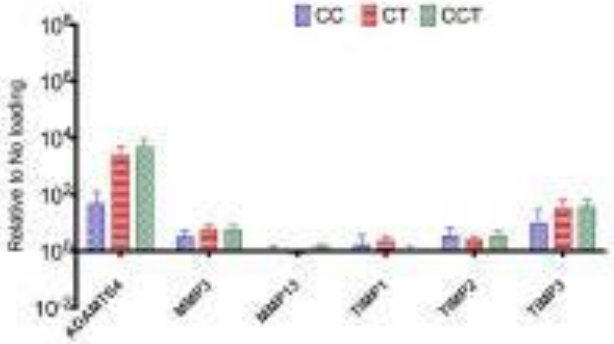
Cell Viability After 14 Days Loading



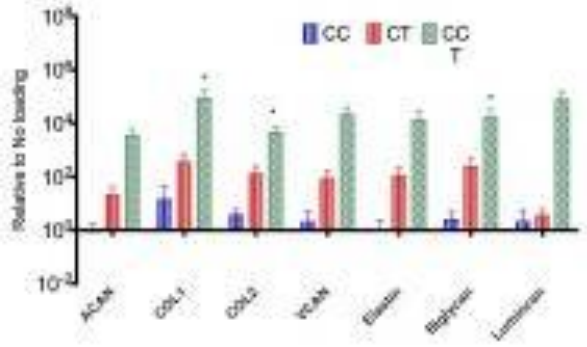
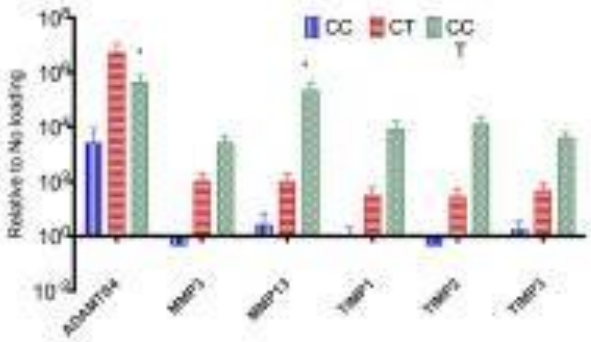
NP Anabolic Gene Expression



NP Remodelling Gene Expression



AF Anabolic Gene Expression



AF Remodelling Gene Expression