

Isolation und Kultivierung humaner mesenchymaler Stamm-/Stromazellen aus Frakturhämatomen und deren Wechselwirkung mit kaltem physikalischen Plasma

Saß N¹, Nitsch A¹, Schoon J¹, Ekkernkamp A^{1,2}, Wassilew G¹ und Haralambiev L^{1,2}

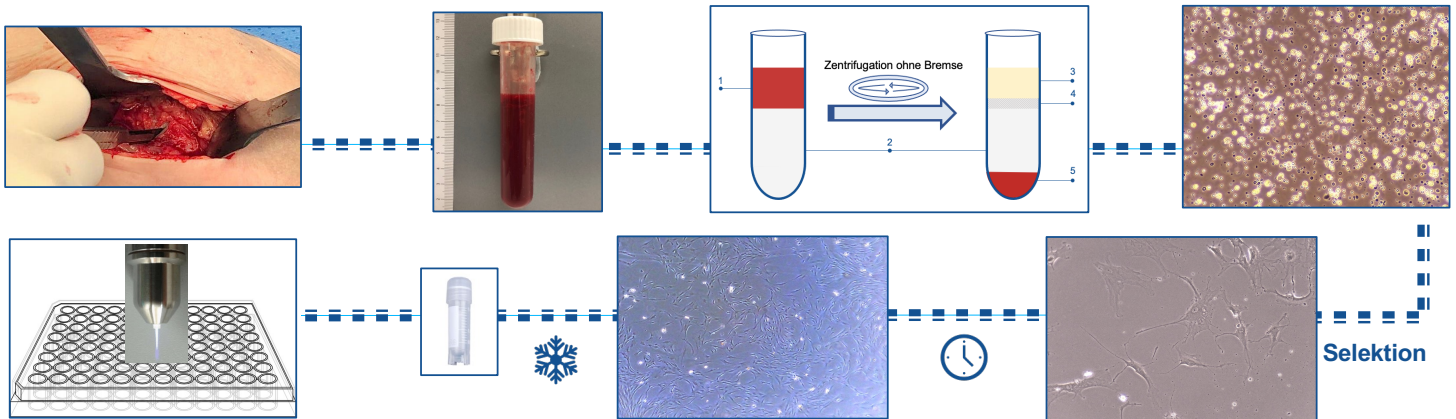
¹ Universitätsmedizin Greifswald, Zentrum für Orthopädie, Unfallchirurgie und Rehabilitative Medizin
² BG Klinikum Unfallkrankenhaus Berlin, Klinik für Unfallchirurgie und Orthopädie

Theoretischer Hintergrund

Jeder Fraktur folgt eine traumatische Ruptur versorgender Blutgefäße, was zur initialen Ausbildung eines Frakturhämatoms führt. Das dortige Zusammenspiel aus balancierter Immunantwort, Angiogenese und Stammzellendifferenzierung vermittelt die sekundäre Frakturheilung. Mesenchymale Stamm-/Stromazellen (MSCs) spielen dabei eine zentrale Rolle. Ihre pluripotente Differenzierungskapazität [1] sowie immunomodulatorischen und regenerativen Eigenschaften machen sie zu einem aussichtsreichen Kandidaten moderner zellbasierter Therapie. Viele Quellen humaner MSCs sind beschrieben [2], aus Frakturhämatomen sind diese jedoch unzureichend untersucht und charakterisiert.

Kaltes physikalisches Atmosphärendruck-Plasma (KPP) entspricht einem hoch energetisiertem Gas ($\leq 40^\circ \text{C}$) und setzt sich aus zahlreichen biologisch wirksamen Spezies zusammen (z.B. reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies). Wesentliche Grundlage der KPP-Wirkung ist die Beeinflussung zellbiologischer Prozesse. Infolgedessen werden durch KPP komplexe und meist lang anhaltende Zellantworten hinsichtlich Migration, Zytotoxikation und Proliferation erzielt. Solche Effekte konnten in vorangegangenen Studien an verschiedenen Zelltypen nachgewiesen werden [3,4]. Klinisch stellt KPP eine bisher unbedenkliche und moderne Behandlungsmethode dar, die Einzug in verschiedene Fachgebiete hält. [5-6]

Methodik



Ergebnisse

Im Rahmen dieses Projektes konnte eine Methodik zur Isolation und Kultivierung humaner mesenchymaler Stamm-/Stromazellen etabliert werden. Hierbei konnten 20 verschiedene Spenderquellen ausreichend gesichert werden (Abb. 1). Exemplarisch wurde die Identität der Zellen mittels Durchflusszytometrie an mehreren Spendern nachgewiesen (Abb. 2). Zudem wurde der KPP-Einfluss auf die Viabilität der MSCs untersucht. Hierbei scheinen MSCs träge auf KPP zu reagieren. Morphologisch und metabolisch konnten Unterschiede in der Viabilität erst bei hohen Behandlungszeiten detektiert werden (Abb. 3;4). Prinzipiell existiert also ein breiter therapeutischer Korridor zur KPP-Behandlung für folgende Untersuchungen der Zellen z.B. hinsichtlich der osteogenen oder chondrogenen Differenzierung.

Abb. 4: KPP behandelte Zellen in der Tod-Lebend-Färbung

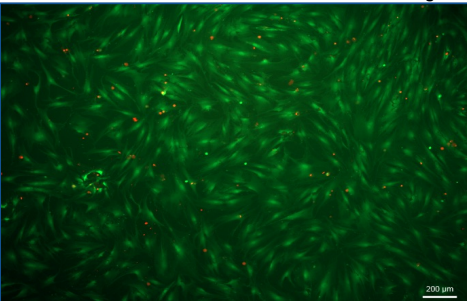


Abb. 1: Klinisches Prozessdiagramm

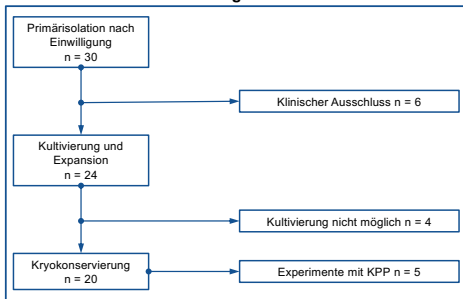


Abb. 2: Durchflusszytometrischer Nachweis der MSCs

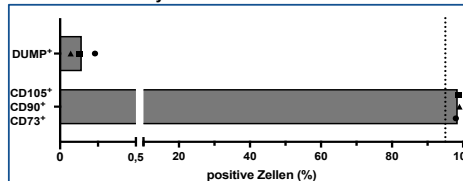
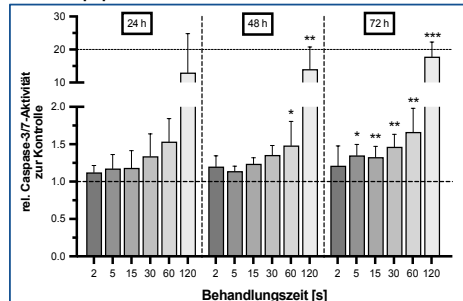


Abb. 3: Apoptose-Ausmaß bei verschiedenen KPP-Zeiten



Ausblick

KPP stellt eine moderne medizinische Behandlungsform dar, die bereits in diversen Bereichen erprobt und unterstützend verwendet wird. Zukünftig könnte die therapeutische Anwendung humaner mesenchymaler Stamm-/Stromazellen im Rahmen chronischer Immunfunktionsstörungen, sowie bei Wundheilungsstörungen des Bewegungsapparates eingesetzt werden, beispielsweise im Rahmen von Pseudarthrosen oder Knorpeldegenerationen. Zusätzlich könnten direkt vermittelte KPP-Effekte auf das Gewebe als möglicher Therapiebaustein eingesetzt werden zugunsten eines günstigeren klinischen Outcomes.

Literatur

- [1] Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, Jaiswal RK, Douglas R, Mosca JD, et al. Multilineage Potential of Adult Human Mesenchymal Stem Cells. *Science*. 2001;294(5411):1130-3.
- [2] Mushahary D, Spittler A, Kasper C, Weber V, Charwat V. Isolation, cultivation, and characterization of human mesenchymal stem cells. *Cytometry A*. 2018 Jan;93(1):19-3.
- [3] Tominami K, Kanetaka H, Sasaki S, Mokudai T, Kaneko T, Niwano Y (2017) Cold atmospheric plasma enhances osteoblast differentiation. *PLoS ONE* 12(7): e0180507.
- [4] Fischer M, Schoon J, Freund E, et al. Biocompatible Gas Plasma Treatment Affects Secretion Profiles but Not Osteogenic Differentiation in Patient-Derived Mesenchymal Stromal Cells. *Int J Mol Sci*. 2022;23(4): 2038.
- [5] Boehm D, Bourke P. Safety implications of plasma-induced effects in living cells - a review of in vitro and in vivo findings. *Biol Chem*. 2018 Dec 19;400(1):3-17.
- [6] Bernhardt T, Semmler ML, Schäfer M, Bekeschus S, Emmert S, Boeckmann L. Plasma Medicine: Applications of Cold Atmospheric Pressure Plasma in Dermatology. *Oxid Med Cell Longev*. 2019 Sep 3;2019: 3873928.

Kontakt
Nick Saß
Email: Nick.Sass@med.uni-greifswald.de

Dr. med. Andreas Nitsch
Email: an124100@uni-greifswald.de

PD Dr. med. habil. Lyubomir Haralambiev
Zentrum für Orthopädie, Unfallchirurgie und
Rehabilitative Medizin
Tel.: 03834 86-22541
Email: lyubomir.haralambiev@med.uni-greifswald.de