

Aus dem Institut für Klinische Pharmakologie und Toxikologie
Abteilung Toxikologie
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Wirkungen von Hyperbarer Sauerstofftherapie auf die Differenzierung
und Mineralisation von Knorpel- und Knochenzellen in vitro**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité –
Universitätsmedizin Berlin

von
Petra Bolkenius
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. B. Zimmermann
2. Prof. Dr. med. W. Noack
3. Priv.-Doz. Dr. med. F. Quondamatteo

Datum der Promotion: 02. März 2007

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	9
1.1	Physiologie des Knochens	9
1.1.1	Osteoblasten	9
1.1.2	Osteoklasten	9
1.1.3	Osteogenese und Mineralisation.....	10
1.2	Physiologie des Knorpels	11
1.3	Wirkungen von Sauerstoff und Druck auf Knochen- und Knorpelgewebe.....	11
1.3.1	Die Wirkung von Sauerstoff auf Knochen	11
1.3.2	Die Wirkung von Druck auf Knochen	12
1.3.3	Die Wirkung von Sauerstoff auf Knorpel	12
1.3.4	Die Wirkung von Druck auf Knorpel	13
1.4	Definition der Hyperbaren Sauerstofftherapie	13
1.5	Geschichte und Entwicklung der Hyperbaren Sauerstofftherapie	14
1.6	Physikalische Grundlagen der Hyperbaren Sauerstofftherapie.....	15
1.7	Physiologische Veränderungen unter Hyperbarer Sauerstofftherapie.....	18
1.7.1	Angioneogenese unter Hyperbarer Sauerstofftherapie	18
1.7.2	Einfluss von hyperbarem Sauerstoff auf das zelluläre Immunsystem	19
1.7.3	Ödemreduzierung durch Hyperbare Sauerstofftherapie.....	19
1.8	Effekte auf Zellebene durch den Einsatz von hyperbarem Sauerstoff.....	20
1.8.1	Stimulation der Glykosaminoglykansynthese durch hyperbaren Sauerstoff.	20
1.8.2	Einfluss von Hyperbarer Sauerstofftherapie auf mikrobielle Zellprozesse	20
1.8.3	Der Einfluss von hyperbarem Sauerstoff auf die Funktion von Lymphozyten	21
1.9	Indikationen für Hyperbare Sauerstofftherapie	21
1.9.1	Luft- oder Gasembolie.....	22
1.9.2	Kohlenmonoxidvergiftung.....	24
1.9.3	Clostridiale Myonekrose (Gasbrand)	24
1.9.4	Quetschverletzungen, Kompartmentsyndrom und weitere akute traumatische Ischämien.....	25
1.9.5	Dekompressionskrankheit.....	26

1.9.6	Verbesserung der Heilung ausgewählter „Problemwunden“	27
1.9.7	Außergewöhnlicher Blutverlust (Anämie)	28
1.9.8	Intrakranielle Abszesse	28
1.9.9	Nekrotisierende Weichteilinfektionen (subkutanes Gewebe, Muskeln, Faszien).....	28
1.9.10	Therapieresistente Osteomyelitis	29
1.9.11	Bestrahlungsbedingte Gewebeschäden (Osteoradionekrose)	30
1.9.12	Gefährdete Haut- und Weichteiltransplantate	31
1.9.13	Verbrennungen	31
1.10	Komplikationen und Kontraindikationen der Hyperbaren Sauerstofftherapie ..	32
1.10.1	Komplikationen der Hyperbaren Sauerstofftherapie.....	32
1.10.2	Kontraindikationen gegen die Hyperbare Sauerstofftherapie	34
2	Fragestellung und Ziel der Untersuchung.....	35
3	Material und Methoden.....	37
3.1	Gewinnung von Zellen.....	37
3.1.1	Gewinnung fetaler Mäusecalvarienzellen.....	37
3.1.2	Gewinnung fetaler Mäuseepiphysenzellen.....	38
3.2	Herstellung von Organoidkulturen	40
3.3	Versuchsdurchführung	41
3.3.1	Behandlung der Kulturen mit hyperbarem Sauerstoff	41
3.3.2	Behandlung der Kulturen mit Sauerstoff	42
3.3.3	Behandlung der Kulturen mit Druck	42
3.3.4	Zeitlicher Ablauf der Versuche	43
3.4	Bestimmung der Differenzierung und Mineralisation.....	45
3.4.1	Messung der Alkalischen Phosphatase Aktivität.....	45
3.4.2	Bestimmung des Calciumgehaltes	46
3.5	Statistische Auswertung und Darstellung der Ergebnisse	47
4	Ergebnisse	48
4.1	Einleitung	48
4.2	Behandlung von fetalen Mäusecalvarienzellen	49

4.2.1	Messung von Calcium nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 1.....	49
4.2.2	Messung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 1.....	51
4.2.3	Messung von Calcium nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 2.....	53
4.2.4	Messung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 2.....	57
4.3	Behandlung von fetalen Mäuseepiphysenzellen	61
4.3.1	Messung von Calcium nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 1.....	61
4.3.2	Messung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 1.....	63
4.3.3	Messung von Calcium nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 2.....	66
4.3.4	Messung der Aktivität von Alkalischer Phosphatase nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff und Druck in Versuchsserie 2.....	68
4.4	Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse	70
5	Diskussion.....	72
5.1	Diskussion der Methodik	72
5.1.1	Verwendung von fetalen Mäusezellen	72
5.1.2	Einsatz der Organoidkultur.....	73
5.1.3	Anwendung der Hyperbaren Sauerstofftherapie	74
5.1.4	Messung von Calcium und Aktivität der Alkalischen Phosphatase	75
5.2	Fetale Mäusecalvarienzellen.....	76
5.2.1	Wirkung von Sauerstoff auf fetale Mäusecalvarienzellen.....	76
5.2.2	Wirkung von Druck auf fetale Mäusecalvarienzellen.....	79
5.2.3	Wirkung von HBO auf fetale Mäusecalvarienzellen	81
5.3	Fetale Mäuseepiphysenzellen.....	83
5.3.1	Wirkung von Sauerstoff auf fetale Mäuseepiphysenzellen.....	83
5.3.2	Wirkung von Druck auf fetale Mäuseepiphysenzellen.....	86
5.3.3	Wirkung von HBO auf fetale Mäuseepiphysenzellen	87

6	Schlussfolgerungen	89
7	Zusammenfassung	91
8	Literaturverzeichnis	93
9	Danksagung	109
10	Lebenslauf	110
11	Erklärung an Eides Statt	111

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Sauerstoffbindungskurve	16
Abbildung 2: Gewinnung der Mäusecalvari- und Mäuseepiphysenzellen.....	39
Abbildung 3: Organoidkultur mit zwei Zellkulturen.....	41
Abbildung 4: Handelsüblicher Schnellkochtopf mit Manometer und Ventil	43
Abbildung 5: zeitlicher Ablauf für Versuchserie 1	44
Abbildung 6: zeitlicher Ablauf für Versuchserie 2	45
Abbildung 7: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvari- zellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck (Versuchsserie 1)	49
Abbildung 8: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvari- zellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck (Versuchsserie 1)	51
Abbildung 9: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvari- zellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck (Versuchsserie 2)	53
Abbildung 10: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvari- zellen nach Behandlung mit HBO oder Sauerstoff. Detailansicht aus Abbildung 9.....	54
Abbildung 11: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvari- zellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck (Versuchsserie 2)	57
Abbildung 12: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäusecalvari- zellen nach Behandlung mit HBO oder Druck. Detailansicht aus Abbildung 11	58
Abbildung 13: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck (Versuchsserie 1)	61
Abbildung 14: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck (Versuchsserie1)	63
Abbildung 15: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO oder Druck. Detailansicht aus Abbildung 14	64
Abbildung 16: Calciumgehalt in Organoidkulturen von fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck (Versuchsserie 2)	66

Abbildung 17: Aktivität von Alkalischer Phosphatase in Organoidkulturen aus fetalen Mäuseepiphysenzellen nach Behandlung mit HBO, Sauerstoff oder Druck (Versuchsserie 2)	68
---	----

9 Danksagung

Für die Überlassung des Dissertationsthemas danke ich Herrn Prof. Dr. Bernd Zimmermann, auch für seine fachliche, freundliche und sehr geduldige Unterstützung bei der Fertigstellung der Arbeit.

Frau Heidi Somogyi und Frau Dr. Petra Mertens möchte ich herzlich für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Vorbereitung und Durchführung der Versuche im Labor danken.

Ferner möchte ich auch Frau Dr. Nicole Pischon und Herrn Dr. Paco Pelt für ihre Hilfsbereitschaft im Labor danken.

Für nützliche Ratschläge bei der Ergebnisauswertung danke ich Herrn Dr. Hanns Ackermann vom Zentrum der Medizinischen Informatik, Abteilung für Biomathematik der Johann Wolfgang Goethe-Universität in Frankfurt am Main.

Meine Schwester Nicole Hamann hat mich in der Versuchs- und Auswertungsphase tatkräftig unterstützt. Ich danke ihr für ihre große Hilfsbereitschaft.

Mein Mann Dr. Dieter Bolkenius war in der Endphase der Dissertation ein gewissenhafter Lektor und hat durch wertvolle Ratschläge und moralische Unterstützung mit zur Vollendung dieser Arbeit beigetragen.

Ein besonderes Anliegen ist es, mich bei meinen Eltern Wolfgang und Maria Nitsche zu bedanken. Durch ihren unermüdlichen, liebevollen und geduldigen Beistand und auch durch ihre finanzielle Hilfe haben sie mir meine Ausbildung und auch diese Arbeit erst ermöglicht.

10 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

11 Erklärung an Eides Statt

Erklärung

„Ich, Petra Bolkenius, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema:

Wirkungen von Hyperbarer Sauerstofftherapie auf die Differenzierung und Mineralisation von Knorpel- und Knochenzellen in vitro

selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift