

BMV01

*C. Neuerburg, S. Recknagel, J. Groll, H. Reichel, M. Möller, A. Ignatius, R. Brenner

RGD-Peptid augmentierte Hydrogelbeschichtung von Knochenimplantaten zur Reduktion der unspezifischen Zelladhäsion und Verbesserung der Implantatintegration

Hintergrund

Die insuffiziente Osteointegration ist einer der Gründe für ein vorzeitiges Versagen orthopädischer Implantate. Ziel der Studie war die Untersuchung einer neuartigen Hydrogelbeschichtung basierend auf sternförmigen Polyethylenglykol (NCO-sP(EO-stat-PO)) Monomeren, welche mit Zelladhäsionsproteinen wie RGD-Peptiden augmentiert und zur Modifikation von Implantatoberflächen verwendet werden können.

Methoden

Neun männlichen Wistar-Ratten wurden native und funktionalisierte Polyethylen-Implantate subcutan, sowie transcortical in die proximale Tibia und das distale Femur implantiert. Während der 21-tägigen Versuchsdauer wurden eine Laser-Doppler-Blutflußmessung durchgeführt und abschließend biomechanische, immunhistochemische (CD68 Antigen), histomorphometrische und μ -CT Analysen.

Ergebnisse

Es zeigte sich eine signifikante Zunahme der trabekulären Dicke im Implantatlager der NCO-sP(EO-stat-PO)-RGD modifizierten Implantate, während die Ausstoßkraft größer und die Dicke der fibrösen Kapsel geringer war als bei den Nativproben. Ergänzend zeigte sich eine leichte Hyperperfusion aller Präparate und eine tendentielle Makrophagenreduktion bei den funktionalisierten Implantaten.

Schlussfolgerung

Zusammenfassend konnte eine gute Biokompatibilität der neuartigen Hydrogelbeschichtung nachgewiesen werden. Die optimierte Adhäsion mesenchymaler Zellen und Reduktion der Bakterienkolonisation könnte eine effektive Methode darstellen, um die Osteointegration von Implantaten nachhaltig zu verbessern.

Korrespondenzanschrift

Carl Neuerburg
Chirurgische Klinik Innenstadt
Ludwig-Maximilian-Universität München
Nußbaumstr. 20
80336 München
Deutschland

BMV02

*S. Grohmann, H. Rothe, K. Liefelth

Einfluss der Sekundärstruktur von Polypeptidbeschichtungen auf die Adhäsion und Proliferation von Osteoblasten

Hintergrund

Für die Herstellung von biomimetischen Beschichtungen auf (Bio)Materialien eignen sich vor allem natürliche Polymere (bspw. Polypeptide und Polysaccharide) die aufgrund ihres polyelektrolytartigen Charakters unkompliziert im „Layer by Layer“ Verfahren aufgetragen werden können^{1,2}. Im Fokus der Forschung auf dem Gebiet der Biointerfaces stehen vor allem die physikochemischen und topographischen Eigenschaften der Substratoberfläche. Der Einfluss der Sekundärstruktur von Polypeptidketten im Film auf die Zelladhäsion und -proliferation wurde bisher kaum untersucht.

Methoden

Die Bestimmung der Sekundärstruktur erfolgte mittels *in situ* FTIR Spektroskopie im „single beam sample reference“ Modus³. Zellbiologische Untersuchungen umfassen die Bestimmung der Zahl und Morphologie adhäsierter Osteoblasten.

Ergebnisse

Die Wahl der Polyelektrolyte im Multilayeraufbau beeinflusst die Konformation der Polypeptidketten im Film. Sekundärstrukturen von „random coils“ und intermolekulare Faltblätter konnten nachgewiesen und gezielt eingestellt werden. Zusätzlich ist es gelungen Muster der verschiedenen Sekundärstrukturen in einer Beschichtung zu erzeugen (Patterning). Während die Adhäsion der Osteoblasten keine signifikanten Unterschiede in Abhängigkeit zur Sekundärstruktur aufweisen, ist eine deutliche Reduktion der Zellspreitung auf Filmen mit überwiegender „random coiled“ Struktur zu verzeichnen (Osteoblasten auf dem Bereich außerhalb des kreisförmigen Musters in Abb. 1). Einhergehend mit der geringen Spreitung ist auch eine verminderte Proliferation der Osteoblasten auf diesen Filmen zu verzeichnen.

Abb. 1.: Osteoblasten auf strukturierten PEM Filmen mit unterschiedlicher Polypeptidkonformation.

Schlussfolgerung

Beschichtungen mit Polypeptiden in Faltblattstrukturen weisen eine gesteigerte Zellspreitung im Vergleich zu random coiled Strukturen auf. Die Unterdrückung der

Spreitung auf Filmen mit random coiled Konformation könnte durch die geringe Steifigkeit dieser Filme² begründet sein.

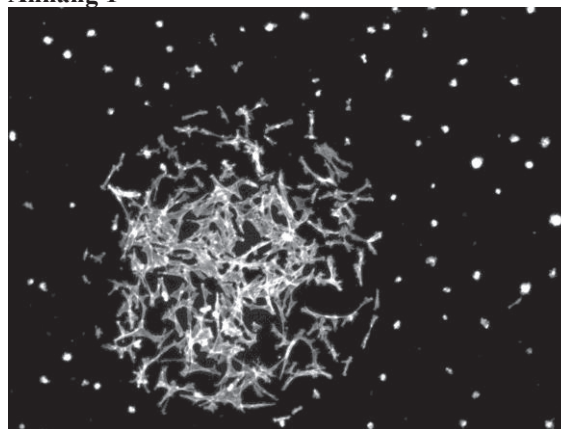
Referenzen:

¹ Decher, G., J. D. Hong, et al. (1992). *Thin solid films* **210**: 831-835.

² Grohmann, S., H. Rothe, et al. (2011). *Biomacromolecules* **12**(6): 1987-97.

³ Fringeli, U. P. (1992). *CHIMIA International Journal for Chemistry* **46**(5): 200-214.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift

Steffi Grohmann
Institut für Bioprocess- und Analysenmesstechnik e.V.
Rosenhof
37308 Heilbad Heiligenstadt
Deutschland

BMV03

U. Sommer, *S. Laurich, V. Alt, K. Hagemann, A. Bührig-Polaczek, T. Guillén, A. Ohrndorf, H.-J. Christ, U. Ploska, A. Becker, G. Berger, M. Altindis, U. Krupp, S. Wenisch, R. Schnettler

Experimentelle Untersuchungen einer gegossenen, offenporigen Titanstruktur mit biologischer Reaktionsschicht im Rattenmodell

Der Einsatz des 'Goldstandards' zur Auffüllung spongiöser Defekte einer kritischen Größe, die autologe Knochenplastik, birgt einige Probleme, sei es die begrenzt verfügbare Menge oder die Gefahren einer weiteren Operation. Daher geht das Bestreben nach der Entwicklung eines Ersatzmaterials, das sowohl eine entsprechende Primärstabilität und Verträglichkeit als auch eine passende Geometrie und Oberfläche aufweist, die den Defekt stabilisiert und dem sich bildenden Knochen Raum und Leitschiene zur Verfügung stellt.

Die Kooperation zwischen Werkstoffingenieuren und Medizinern führte nun zu einer Entwicklung eines gegossenen Titanimplantates mit einer Kalzium-Titanat-Reaktionsschicht als Oberflächenfunktionalisierung. Die Unbedenklichkeit des Materials wurde vor Einsatz im Tierversuch mit Hilfe zellkulturtechnischer Methoden getestet.

Gegossene, zylinderförmige, hohle Implantate von 3mm Durchmesser und Länge aus Ti-6Al-7Nb wurden mit einer Kalzium-Titanat-Reaktionsschicht funktionalisiert und 24 Ratten in den distalen Femur implantiert. Unbeschichtete Proben dienten in weiteren 24 Tieren als Kontrolle. Die Euthanasie der erfolgte nach 7, 14 und 30 Tagen.

Die histologischen Untersuchungen fanden an mit Toluidinblau oder Hämatoxylin-Eosin bzw. immunhistochemisch zum Nachweis von Makrophagen gefärbten Knochenschliffen nach Einbettung in Technovit® 9100 neu statt. Die Schliffe dienten außerdem der Histomorphometrie des Knochen-Implantat-Kontaktes bzw. der Knochenmenge im Implantatbereich sowie der Anzahl der Makrophagen in Implantatnähe.

Durch einen *Push-Out-Test* wurden die Kräfte gemessen, die zu einem Grenzflächenversagen zwischen Knochen und Implantat führten.

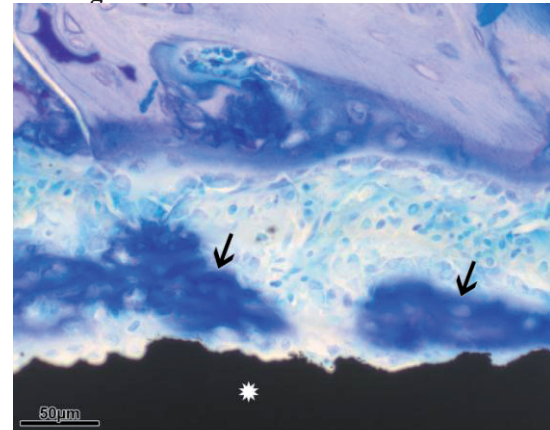
Die histologischen Untersuchungen zeigen allgemein ein gutes Einwachsverhalten der Implantate in den Femur. Im

Verlauf bis 30 Tage ist sowohl an der Außenoberfläche als auch im Inneren der Implantate neu gebildeter Knochen nachweisbar.

Histomorphometrisch ergeben sich nur geringe, statistisch nicht relevante Unterschiede zwischen den Implantattypen.

Die biomechanischen Versuche zeigen, dass zum Ausdrücken der beschichteten Implantate mehr Kraft als bei den unbeschichteten Implantaten benötigt wird ($160N \pm 26$ zu $140N \pm 14$). Diese Ergebnisse sind statistisch ebenfalls nicht signifikant.

Anhang 1



Beginnende Knochenbildung (Pfeil) am Titanimplantat (Stern) nach 7 Tagen Standzeit

Korrespondenzanschrift

Ursula Sommer
JLU Gießen
Kerkrader Str. 9
35394 Gießen
Deutschland

BMV04

C. Rech, M. Beer, C.E. Römer, R.R. Rosencrantz, M. Möller, J. Groll, *L. Elling

The Glyco-BioInterface - Sugar Structures and Galectins on Biomaterial Surfaces

Background

The extra-cellular matrix (ECM) represents the biophysical and biochemical microenvironment coordinating the cellular response like adhesion, differentiation, proliferation or apoptosis in nature. The glycan poly-*N*-acetylglucosamine ([Gal(β 1-4)GlcNAc]_n, poly-LacNAc) and galectins play an important role for the contact of cells to glycoproteins of the ECM. Galectins are sugar binding proteins (lectins) specified for the recognition of LacNAc containing glycoproteins [1]. Various functions of galectins are described; especially their role in cell adhesion. So, the binding of galectins to ECM-proteins could have an important impact on the development of novel bio-functionalized biomaterials.

Methods & Results

The chemo-enzymatic synthesis of poly-LacNAc glycan structures was accomplished by the combination of two recombinant glycosyltransferases [2,3]. The human galectins Gal-1, Gal-3, Gal-8 and the fungal galectin CGL-2 were produced as recombinant proteins in *E. coli*. and characterized for their binding to asialofetuin and immobilized poly-LacNAc structures in microtiter plate assays. An artificial ECM was set up in a microtiter plate by immobilizing poly-LacNAc and sequentially binding of galectins and ECM glycoproteins. Patterns of poly-LacNAc or galectins were formed on PEG-star hydrogels. Further binding of the ECM glycoproteins fibronectin, laminin or collagen IV by a „layer-by-layer” technology generated artificial ECM surfaces which show excellent cell adhesion of fibroblasts.

Conclusions

We here demonstrate that galectins can crosslink immobilized poly-LacNAc structures with the sugar chains of ECM glycoproteins like fibronectin, laminin, or collagen IV. Work is in progress to explore the potential of these bio-functionalized surfaces for adhesion, proliferation, and differentiation of different cell types.

References

- [1] Elola, M. T. et al. (2007). Cell. Mol. Life Sci. 64, 1679.
- [2] Sauerzapfe, B. et al. (2008). J Mol Catal B Enzym 50, 128.
- [3] Sauerzapfe, B. et al. (2009). Glycoconjugate J 26, 2.

Acknowledgements

Financial support by the DFG within the Research Training Group 1035 “BioInterface” and by the excellence initiative of the German federal and state governments through ERS@RWTH Aachen University is gratefully acknowledged.

Korrespondenzanschrift

Lothar Elling
RWTH Aachen University
Pauwelsstr. 20
52074 Aachen
Deutschland

BMV05

S. Boeuf, T. Throm, T. Strunk, M. Hoffmann, E. Seebach, J. Brocher, L. Mühlberg, T. Gotterbarm, W. Wenzel, R. Fischer,

*W. Richter

Oberflächenbeschichtung mit genetisch modifizierten Varianten des Hydrophobins DewA fördert die Adhäsion von menschlichen Zellen aber nicht von Bakterien

Hintergrund

Hydrophobine haben die Fähigkeit, stabile und immunologisch inerte Membranen zu bilden, und könnten sich deshalb für eine Beschichtung orthopädischer Implantate eignen. Um eine gute Integration im benachbarten Knochen zu fördern, wären Oberflächen von Vorteil, die die Adhäsion von Zellen mit osteogenem Potenzial wie Mesenchymale Stammzellen (MSC) fördern. Das Ziel dieses Projekts war die Entwicklung einer Oberflächenbeschichtung mit funktionalisiertem Hydrophobin DewA von *Aspergillus nidulans* zur Förderung von Zelladhäsion und Implantatintegration.

Methoden

Genetisch modifizierte DewA Varianten mit eingefügten Bindungsmotiven für Zellen aus Fibronektin (RGD) oder Laminin (LG3) wurden modelliert, synthetisiert und zur Beschichtung von Oberflächen genutzt. Die Adhäsion, Proliferation und Differenzierung von MSC sowie die Adhäsion von *S. aureus* auf den DewA Oberflächen wurde charakterisiert.

Ergebnisse

Die Modellierung der DewA Varianten zeigte, dass die RGD oder LG3 Sequenzen in den Molekülen zugänglich als Bindungspartner für Zellen zur Verfügung stehen. Oberflächen hergestellt mit entsprechenden DewA-RGD oder -LG3 Varianten erlaubten die Anheftung von MSC, Osteoblasten, Chondrozyten und Fibroblasten. Dabei verursachten die Beschichtungen keine Beeinträchtigung der Proliferation oder des Differenzierungspotenzials von MSC. Die erhöhte Adhäsion humaner Zellen ging nicht mit einer erhöhten Adhäsion für Bakterien einher.

Schlussfolgerung

Die neuen DewA Varianten repräsentieren ein attraktives, inertes und nicht immunogenes Biomaterial, das für Zellen adhäsive Oberflächen erzeugen kann. Diese Oberflächen sind zellkompatibel und stellen kein erhöhtes Risiko für Infektionen dar.

Korrespondenzanschrift

Stephane Boeuf
Orthopädische Universitätsklinik Heidelberg
Schlierbacher Landstr. 200A
69118 Heidelberg
Deutschland

BMV06

*C. Bergemann, P. Heinl, A. Sydow, A. Quade, B. Finke, U. Beck, C. Körner, E.-D. Klinkenberg, K. Schröder, J.B. Nebe

Osteoblast Cell Ingrowth into a Plasma Polymer Coated Titanium Scaffold

Introduction

Titanium (Ti) and its alloys are widely used in maxillofacial and orthopedic surgery due to excellent biocompatibility (1, 2) and good mechanical properties (3). Reduced stiffness of porous structures of these materials prevents stress shielding and achieves stable long-term fixation (4). Adhesion of osteoblasts on titanium surfaces can be optimized by coating with plasma polymerized allylamine (PPAAm) (5).

Materials

Porous titanium scaffolds (5 mm x Ø28 mm) were fabricated from Ti-6Al-4V (TiAlV) powder using Selective Electron Beam Melting (6). An *in vitro* three dimensional (3D) module (7) was used to determine the migration of human osteoblasts into the depth of the TiAlV and TiAlV/PPAAm scaffolds (Fig. 1). Human MG63 osteoblastic cells were seeded onto the 3D module positioned in the 3D perfusion reactor "Cellynzyzer" (8). After 14 days of perfusion culture cell ingrowth into the levels 2-4 was analyzed by scanning electron microscopy and Live/Dead staining.

Figure1

Image and Scheme of the *in vitro* 3D-model system with two TiAlV scaffolds.

Results and Conclusion

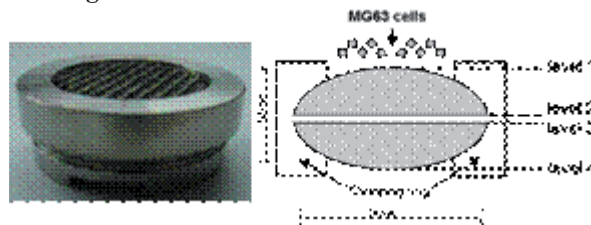
Adhesion and spreading of human MG63 osteoblasts on TiAlV surfaces was impressively improved due to the PPAAm nanolayer. The porous TiAlV scaffolds showed a high performance for 3D cell ingrowth which could be further improved by PPAAm coating. Our results indicate that bioequivalent functionalization of TiAlV with PPAAm is sufficient to improve initial steps of the osteoblast's contact to this surface. The examination of cells from the distinct levels in our 3D module gives rise for a better understanding of the occupation of porous bone implant structures by osteoblasts.

Acknowledgements

This work was generously supported by the financial funds of the EU (ESF and EFRE) and Mecklenburg-

Vorpommern, Germany (V220-630-08-TFMV-S-009 and V220-630-08-TFMV-F-009).

Anhang 1



Korrespondenzanschrift

Claudia Bergemann
University of Rostock, Medical Faculty
Schillingallee 69
18057 Rostock
Deutschland

BMV07

*P. Kluger, F. Schmid, S. Ghodbane, D. Steinmüller-Nethl

Optimierung von diamantbeschichteten Implantatmaterialien für Endo-Exo-Prothesen

Hintergrund

Die Herausforderung bei Endo-Exo-Prothesen ist die Verankerung des Werkstoffes im Knochen. Zudem entsteht beim Hautdurchtritt die Gefahr einer verzögerten Wundheilung und bakterieller Infektion. In der vorgestellten Studie liegt der Fokus auf der Optimierung von Implantatoberflächen mit nanokristallinen Diamantschichten (NCD) sowie weiteren Funktionalisierungen. Auf den modifizierten Materialien wurde die Adhäsion, Proliferation und Differenzierung von primären Zellen evaluiert und die Integration von Titanimplantaten in in vitro 3D-Hautmodelle analysiert.

Methoden

Titansubstrate wurden mit nanokristallinen Diamantschichten (NCD) funktionalisiert und mittels XPS, AFM und REM analysiert. Weitere Biomoleküle ließen sich nasschemisch auf die NCD Modifizierung aufbringen. Humane mesenchymale Stammzellen wurden aus Knochenmarkaspirat, humane adulte Fibroblasten sowie Keratinozyten aus Hautbiopsien gewonnen und auf diamantbeschichteten Materialien ausgesät. Die Zellviabilität ließ sich mittels Alamarblue-Assays bestimmen. Immunhistochemische Färbung ermöglichten den Nachweis zelltypspezifischer Proteine wie z.B. Keratin 14 in basalen Keratinozyten. Desweiteren wurden diamantbeschichtete Titanzylinder im Vergleich zu in vivo Versuche in 3D-Hautäquivalent eingebracht (Abb.1) und mittels H/E- sowie immunhistochemische Färbungen evaluiert.

Ergebnisse

Die Modifizierung der Materialien mit NCD oder DP sowie Biomolekülen konnte erfolgreich nachgewiesen werden. Alamarblue-Assays bestätigten die Biokompatibilität der diamantbeschichteten Materialien. Mit den immunhistochemischen Färbungen konnten die Expression zelltypspezifischer Proteine sowie die Ausbildung von Fokalkontakten auf den beschichteten Materialien gezeigt werden. Im 3D-Hautäquivalent war ein Anwachsen der Zellen an die beschichteten Zylinder nachzuweisen.

Schlussfolgerung

Die Diamantbeschichtung von Implantatmaterialien kann deren Biokompatibilität erhöhen kann. Durch die antimikrobiellen Eigenschaften sowie die Möglichkeit an endständige Gruppen der Diamantbeschichtung Biomoleküle zu binden ist eine vermehrte Adhäsion von primären Zellen möglich. Zudem sind 3D-Hautäquivalente zur in vitro Testung von Biomaterialien geeignet und mit in vivo Studien vergleichbar.

Abbildung 1: 3D-Hautmodell mit Titanstift

Anhang 1



Korrespondenzanschrift

Petra Kluger
Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik
Nobelstraße 12
70569 Stuttgart
Deutschland

BMV08

*M. Lehnert, M. Gorbahn, C. Rosin, M. Klein, I. Köper, B. Al-Nawas, W. Knoll, M. Veith

Streptavidin modified TiO_x surfaces for specific bioactivation

Introduction

The modification of TiO_x implant surfaces with biomolecules is an important part of bio-nanotechnology. However, after implantation most surfaces are covered by a non-specifically adsorbed protein layer from body fluids. Most proteins incorporated in this layer are denaturated or have no function in cell adhesion, which hinders cellular recognition. Therefore recently reported modifications (e.g. PEG or derived polymers) are protein repellent and therefore anti-adhesive. For bioactivation ligands can be coupled to these polymers by using the Biotin-Streptavidin system. As an alternative, we developed a multilayer system, where a streptavidin (Strp) monolayer is formed on TiO_x surfaces via silane-biotin coupling molecules. For specific bioactivation, biotinylated Fn (bFn) was used.

Figure 1

Schema of protein adsorption from body fluids and cellular recognition on differently modified TiO_x surfaces.

Methods

TiO_x surfaces were incubated for 60 Min with 0.5 mM N-(6-Aminoethyl)aminopropyl-trimethoxysilane and for 120 Min with 0.5 mM Sulfo-NHS-LC-Biotin. 500 nM Strp was adsorbed for 60 Min on biotin-modified TiO_x. 25nM Fn was incubated for 200 Min. After each step, the surface was rinsed.

Conclusion

Surfaces modified with a Strp monolayer are protein repellent and may hinder non-specific protein adsorption from body fluids. Also osteoblast adhesion was suppressed on these surfaces. After bFn adsorption an increase in osteoblast adhesion and activity was observed. This effect was even higher than on surfaces with randomly adsorbed Fn. To explain this, protein multilayer assembly was analyzed using SPR and AFM. As a result we found Fn adopts different conformations on both surfaces. On TiO_x Fn adopts its less active, globular conformation. In contrast, on Strp-modified surfaces, bFn adopts its extended conformation similar to the conformation of Fn inside the ECM. This explains the observed enhancement of cell adhesion.

Figure 2

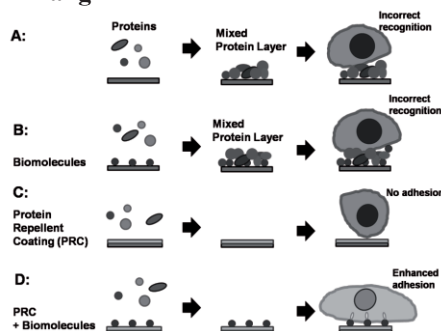
SPR kinetic (left) and schema (right) of Fn adsorption on differently modified TiO_x surfaces.

References

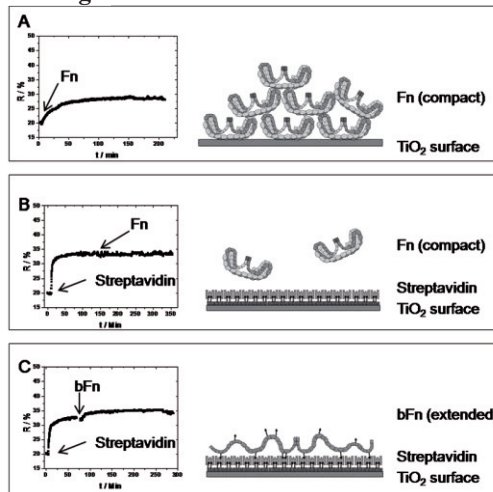
M. Lehnert, M. Gorbahn, C. Rosin, M. Klein, I. Köper, B. Al-Nawas, W. Knoll and M. Veith; *Langmuir* **2011**, 27, 7743 - 7751

M. Lehnert, M. Gorbahn, M. Klein, I. Köper, B. Al-Nawas, W. Knoll and M. Veith; *Journal of Biomedical Material Research* **2011**, accepted for publication

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift

Michael Lehnert
FH-Gelsenkirchen
August-Schmidt-Ring 10 • 45665 Recklinghausen
Deutschland

BMV09

*S. Ghanaati, M. Barbeck, R.E. Unger, C.J. Kirkpatrick

In vivo biomaterial testing - what is to consider?

Introduction: In vivo research has become an essential aspect of the systematic biomaterial research and for biomaterial-based tissue engineering. Before testing a biomaterial in an animal a series of fundamental considerations are necessary. At first the choice of the right species as well as the implantation site has to be addressed based on the the scientific question. Furthermore, the observation intervals of the tissue-material-interaction should cover the early as well as the late inflammatory response to the specific material. Processing techniques after explantation constitute the next deliberated and important step. The fixation time period as well as the processig techniques have to be performed by means of standardized procedures. By choosing special antibodies, the source of the antibody and accordingly the possibility of cross reactions between the antibody with other tissue elements but the target should be considered.

Material and Methods: A systematic overview about the research of in vivo tissue reactions to bone substitute materials after their subcutaneous implantation in Wistar rats will be given. The materials were either of the same chemical composition and differed in size, shape and porosity or they are of same size, shape and porosity with different chemical compositions, i.e. hydroxyapatite, beta-tricalciumphosphate or biphasic calciumphosphates. All materials were tested within the same time period while using the same observational intervals. The tissue reaction to these materials, especially the cellular degradation of the materials and the vascularization of their implantation bed was evaluated by applying a novel techniques for histomorphometrical analysis.

Results and Discussion: The results of these studies showed, that parameters such as size, shape, porosity and a materials chemical composition can be used to influence a bone substitutes cellular degradation, i.e. formation of multinucleated giant cells. These cells also produce vascular endothelial growth factor. According to the degradation pattern, the above mentioned parameters can be used to influence the vascularization of bone substitute materials implantation bed that is a crucial factor for successful bone tissue regeneration.

Korrespondenzanschrift

Shahram Ghanaati
Johannes Gutenberg Universität Mainz
Langenbeckstr. 1
55101 Mainz
Deutschland

BMV10

F. Feyerabend, L. Yang, N. Hort, K.U. Kainer, A. Schreyer, C. Vogt, H. Drücker, B. Mihailova, U. Bismayer, *R. Willumeit

Physiological corrosion of magnesium - mechanisms and influencing factors

Introduction

Biodegradable metals as magnesium or iron are currently the topic of intense research. However, applications in i.e. orthopaedics can not be expected soon. This is partially due to a lack of understanding of the degradation mechanisms *in vivo*. In this study we want to bridge the gap by a more appropriate choice of corrosion media and environment *in vitro*:

(I) Comparison of atmospheric conditions with cell culture conditions (CCC); (II) amount of oxygen in the gaseous phase under CCC (5 and 21 %); (II) the amount of added protein in the solution supplied by fetal bovine serum (FBS).

Methods

All experiments with pure casted magnesium were performed at 37° C or under cell culture conditions (37°C, 5 % CO₂, 95% relative humidity). The solutions used were comparable to human tissue fluids in terms of buffering capacity (DMEM Glutamax, SBF) and compared to a slightly buffered salt solution (HBSS). Experimental data were obtained for pH, oxygen content and osmolality; additionally the release of magnesium ions into the solutions was measured by ICP-OES. The corrosion layer composition was evaluated by high resolution electron-induced X-ray emission spectroscopy¹.

Results

Corrosion under atmospheric condition was hallmarked by high pH-values inducing a low corrosion rate. In contrast, CCC led to an increased initial corrosion rate with higher magnesium release. The amount of released magnesium was correlated to the buffering capacity of the medium, as well as pH changes. Less available oxygen slows down corrosion. Moreover, it is very intriguing that the corrosion of the magnesium samples is reducing the amount of available oxygen in solution nearly by half independently of the initial concentration. This could be a relevant influencing factor in tissues, as hypoxic conditions could be obtained. The addition of proteins on the one hand increased the amount of released magnesium in short term, but on the other hand reduced the overall corrosion rate in the long term experiments.

Conclusions

These results indicate that several highly complex and probably competing chemical reactions take place which can be altered by the presence of proteins.

References

[1] Willumeit et al. Acta Biomaterialia 7 (2011) 2704-2715

Korrespondenzanschrift

Regine Willumeit
Helmholtz-Zentrum Geesthacht
Max-Planck-Str. 1
21502 Geesthacht
Deutschland

BMV11

*H. Jennissen

Proteinadsorption auf Oberflächen als thermodynamisch irreversibler Prozeß. Protein Adsorption on Surfaces is a Thermodynamically Irreversible Process.

Introduction

The adsorption of proteins on surfaces generally occurs in the form of an adsorption-desorption hysteresis loop [1,2]. The desorption isotherm does not retrace the adsorption isotherm as a result of thermodynamic irreversibility. The hysteresis cycle is shown in a domain model in **Fig. 1**, where $K'_{a,0.5}$ and $K'_{d,0.5}$ denote the half-saturation constants (apparent dissociation constants) of the adsorption and desorption branch of a hysteresis loop.

Fig. 1 Hysteretic non-equilibrium two-state domain model of multivalent protein adsorption.

E^4 and E^n denote the protein E with 4 contacts (i.e. nucleation or encounter complex) and n contacts (final complex) to the surface respectively. The arrows indicate the possible trajectories with the metastable states 2, 3 and 4.

Materials and Methods

Although the proteins phosphorylase [1] and BMP-2 [3]. have been investigated, emphasis is on Fibrinogen which was purified to homogeneity as previously described with >95% clottability [4,5]. Measurements can either be made by evanescent wave technology [5] or radiotracer methods via covalent labelling with 3H or ^{125}I . Protein adsorption can be determined in batch procedures [1,6] or flow cells [5]. For curve fitting and statistical analysis the PC program Graphpad Prism Vers. 4. was employed.

Theoretical Considerations

True Langmuir-type isotherms do not exist in hysteretic systems even if the data can be fitted to a hyperbola. The evaluation of hysteretic data is based on the model that that the long-lived metastable states of the local energy minima can be treated thermodynamically as true equilibria (see [1,7]). Under these conditions it is possible to obtain values for the entropy and the molar Gibbs energy (D_1S , D_1G) of the irreversible process (area of the hysteresis loop) and apparent dissociation constants [1,2].

Results

In **Table 1** it is shown that the apparent dissociation constants ($K'_{0.5}$) of adsorbed fibrinogen lie in the magnitude of 10^{-7} - 10^{-12} M depending on the metastable states 1-3. If one compares the $K'_{0.5}$ of state 1 (encounter complex) and state 3 (apparent final complex) they differ by a factor of 3.1×10^4 , or if the apparent Gibbs free energies are calculated ($DG^0 = -RT \ln K$) a difference value of value of -25 kJ M^{-1} is obtained, which probably

corresponds to the Gibbs free energy of the irreversible process D_1G involving the conformational changes.

Table 1

Adsorption data of three fibrinogen metastable states on quartz glass as measured by evanescent wave technology [5].

Conclusions

It is concluded that on quartz glass fibrinogen adsorption occurs in at least three steps (see **Fig. 2**) with a dissipation of at least -25 kJ M^{-1} of energy.

Fig. 2 Multi-state model of protein adsorption & microreversibility

This model for fibrinogen applies to proteins in general.

[1] Jennissen, H. P. & Botzet, G. (1979) *Int J Biol Macromol*, **1**, 171-179. [2] Jennissen, H.P. (1985) Protein Adsorption Hysteresis. In *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers Vol.2, Protein Adsorption* (Andrade, J.D., ed), pp. 295-320. Plenum Press, New York. [3] Chatzinikolaïdou, M., Lichtinger, T. K., Müller, R. T., & Jennissen, H. P. (2010) *Acta Biomater.*, **6**, 4405-4421. [4] Jennissen, H. P. & Demiroglou, A. (2006) *J Chromatogr. A*, **1109**, 197-213. [5] Jennissen, H. P. & Zumbrink, T. (2004) *Biosens. Bioelectron.*, **19**, 987-997. [6] Dohle, D.-S., Pasa, S. D., & Jennissen, H. P. (2010) *Biomaterialien*, **11** (S1), 25. [7] Katchalsky, A. & Spangler, R. (1968) *Quarterly Reviews of Biophysics*, **1**, 127-175

Anhang 1

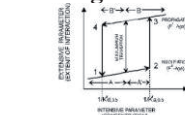


Fig. 1

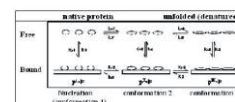


Fig. 2

Anhang 2

Binding States	K'_{11} $M^{-1} s^{-1}$	K'_{12} s^{-1}	$K'_{0.5}$ M	Apparent ΔG^0 $kJ Mol^{-1}$
State 1 (5-10 s)	$3.4 \pm 0.5 \times 10^5$	8.1×10^{-2} ($t_{1/2} = 2.6 \text{ s}$)	2.4×10^{-7}	-37.1
State 2 (1-5 h)	$3.4 \pm 0.5 \times 10^5$	1.5×10^{-4} ($t_{1/2} = 1.3 \text{ h}$)	4.5×10^{-10}	-52.43
State 3 (5-60 h)	$3.4 \pm 0.5 \times 10^5$	2.0×10^{-5} ($t_{1/2} = 7.4 \text{ h}$)	7.8×10^{-12}	-62.3

Korrespondenzanschrift

Herbert Jennissen
Universität Duisburg-Essen
Hufelandstr. 55 • 45122 Essen
Deutschland

BMV12

*S. Bauer, J. Park, A. Pittrof, K. von der Mark, P. Schmuki

Synergistische Kontrolle der Differenzierung von mesenchymalen Stammzellen durch Nanotopographie und Wachstumsfaktoren auf TiO₂ Nanoröhrenschichten

Hintergrund

Es wird der synergistische Einfluss von Nanostrukturen und angebundenen Wachstumsfaktoren auf Oberflächen auf das Differenzierungsverhalten von mesenchymalen Stammzellen (MSC) gezeigt.

Methoden

Für Informationen zu elektrochemisch erzeugten TiO₂ Nanoröhrenschichten [1], zur Anbindung von Wachstumsfaktoren auf Oberflächen [2,3] und Kulturbedingungen von MSC [3,4] wird auf die Literatur verwiesen.

Ergebnisse

Untersuchungen auf TiO₂ Nanoröhren verschiedener Durchmesser mit MSC zeigten, dass Strukturen unter 100 nm einen dominanten Einfluss auf Adhäsion, Proliferation und Migration aufweisen [4-6]. Auf 100 nm untergehen MSC den programmierten Zelltod (Apoptose), hingegen auf 15 nm übertrifft die Zellvitalität sogar die der Referenzen (Abb. 1) [4]. In Verbindung mit angebundenem BMP-2 kann die Differenzierung von MSC durch das synergistische Zusammenspiel der verschiedenen Signale kontrolliert werden. Nur auf 100 nm Nanoröhren mit angebundenem BMP-2 kann eine chondrogene Differenzierung aus der Synergie von reduzierter Zelladhäsion und BMP-2 Signal beobachtet werden. Hingegen ist auf 15 nm aus dem Zusammenspiel von erhöhter Zelladhäsion und BMP-2 die osteogene Differenzierung dominant (Abb. 2) [2,3].

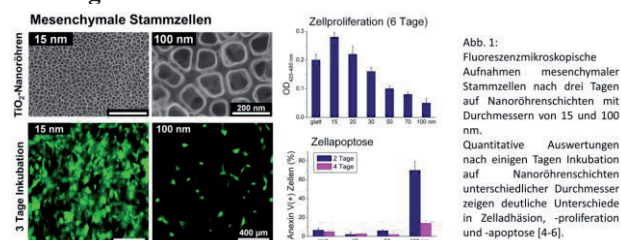
Schlussfolgerungen

Nanoskalige Strukturen im Bereich von 15 - 100 nm haben einen erheblichen Einfluss auf das Zellverhalten. In Verbindung mit angebundenem BMP-2 kann die Differenzierung von MSC zwischen osteogener und chondrogener synergetisch kontrolliert werden.

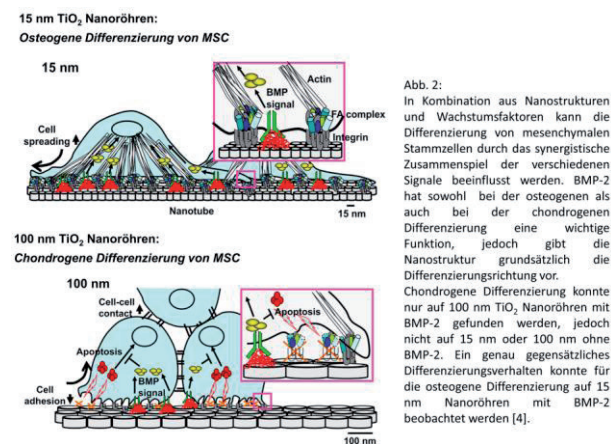
Literatur

- 1 Roy et al. Angew. Chem. 50, 2011, 2904
- 2 Bauer et al. Integr. Biol. 2011 subm.
- 3 Park et al. 2011 subm.
- 4 Park et al. Nano Letters 7 (6), 2007, 1686
- 5 Park et al. Nano Letters 9 (9), 2009, 3157
- 6 Bauer et al. Integr. Biol. 1, 2009, 525

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift

Sebastian Bauer
Universität Erlangen-Nürnberg
Martensstr. 7
91058 Erlangen
Deutschland

BMV13

*P. Simon, D. Knobloch, E. Rosseeva, K. Ostermann, G. Rödel

Nanomechanism of Calcite Mineralisation on Bacterial Surface-Layer Proteins

Biom mineralisation of S-layers is quite common and is described mostly for the case of calcite. It plays a role in the mineral formation in geology and is discussed therefore by geological groups and publications. The mineralisation of the bacterial skin is understood as defence reaction to oversaturation of the ions in the surrounding water. By precipitation of calcite the concentration of the Ca^{2+} and the $(\text{CO}_3)^{2-}$ ions is lowered and the bacterium survives by removing his mineralised skin. Other minerals which precipitate on bacterial skin are SrSO_4 and SrCO_3 . However, the mineralisation of S-layers by calcite gives the highest impact and interest because it occurs naturally in sea water but also in fresh water in a large quantity giving rise to geological formations. Therefore the mechanism of the nucleation and the process of calcite mineral formation on bacterial S-layer gained big interest.

In this work we investigated the mechanism of calcium carbonate deposition at the nanoscale on crystalline bacterial surface resulting in calcite decoration of the bacterial skin. For this purpose we selected the *Geobacillus stearothermophilus* DSM 13240, whose structure is still not described in literature and which shows strong similarities to *Geobacillus stearothermophilus* ATCC1298. Step by step we mineralised the surface of the isolated S-layer and also the complete bacterium. The mineralisation advanced by time first covering parts of single unit cells and proceeds to complete coverage of the sheets as visualised by TEM and high-resolution TEM and electron holography.

Korrespondenzanschrift

Paul Simon
Max-Planck-Institut für Chemische Physik fester Stoffe
Nöthnitzer Strasse 40
01187 Dresden
Deutschland

BMV14

*I. Schleicher, K. Lips, U. Sommer, I. Schappat, A. Martin, R. Schnettler

Allogener Knochen in Verbindung mit einer Kollagenoberfläche als biphasischer Träger für Chondrozyten zur Behandlung von großen osteochondralen Defekten im Gelenkbereich am Schafsmodell

Fragestellung

Die Behandlung von großen osteochondralen Defekten im Gelenkbereich ist problematisch. Die Implantation von autogenen osteochondralen Zylindern aus wenig belasteten Gelenkarealen hat vor Allem den Nachteil der Entnahmestell morbidity, außerdem geht der transplantierte Knorpel meist keine Verbindung mit dem nativen Knorpel an der Transplantatgrenze ein. Ein Lösungsweg wäre die Entwicklung von großen Implantaten, die als Träger für Knorpelzellen dienen. Hierzu wurde ein biphasiges Implantat aus allogenen hochgereinigtem Schafsknochen und einer Kollagen-Oberfläche entwickelt, die der Aufnahme von Knorpelzellen dient. In laborexperimentellen Vorversuchen wurde erfolgreich die Biokompatibilität und Zytotoxizität getestet. Jetzt sollte die Anwendung am Schafmodell getestet werden.

Methodik

Bei 12 Schafen wurden Knorpelbiopsien entnommen und im Labor kultiviert und vermehrt. Nach 4 Wochen wurde dann im belasteten Gelenkbereich des Kniegelenkes jeweils ein definierter Knorpel-/Knochendefekt geschaffen, in den das biphasige Trägermaterial press-fit eingebracht wurde. Die gelenkseitige Kollagenvlieschicht wurde dann mit Chondrospären aus den angezüchteten Knorpelzellen getränkt. Nach 6 Wochen, 3 und 6 Monaten wurden die Tiere getötet, die Knorpel-/Knochenimplantate entnommen und histologisch untersucht.

Ergebnisse

Nach 6 Wochen war bei allen Implantaten das Niveau der Gelenkfläche erhalten, nach 3 Monaten zeigte sich bei einem Teil der Implantate ein leichtes Einsintern, während sich nach 6 Monaten der Defekt in allen Fällen deutlich verkleinert hatte und nur zentral teilweise ein Einsintern zu verzeichnen war. Die knöcherne Integration war in allen Fällen schon nach 6 Wochen gut. An der Implantatoberfläche fand sich nach 6 Monaten eine geschlossene Knorpelphase.

Schlußfolgerung

Die Ergebnisse ermutigen, das Konzept der Implantation eines biphasigen Trägers aus allogenen Knochen und Kollagenphase zur Behandlung von großen osteochondralen Gelenkdefekten weiter zu verfolgen.

Korrespondenzanschrift

Iris Schleicher
Universitätsklinikum Giessen/Marburg
Rudolf-Buchheimstr. 7
35392 Giessen
Deutschland

BMV15

*R. Schade, S. Fiedler, H. Rothe, G. Hildebrand, K. Liefeth, A. Berg, R. Wyrwa, M. Schnabelrauch, J. Libera

Herstellung von 3D-Trägerstrukturen mittels 2-Photonen-Polymerisation für die Behandlung von Knorpeldefekten

dieser Scaffolds mit Chondrozyten resultierte in der Ausbildung einer extrazellulären Matrix, in der die Differenzierungsmarker Die Behandlung von großflächigen Knorpeldefekten ist trotz fortgeschrittener Operationstechniken (MACI^{®1}, ACT²) weiterhin Gegenstand der Biomaterial- und zellbiologischen Forschung. Ein wichtiger Aspekt bei der Knorpelregeneration ist die Aufrechterhaltung der Differenzierung der Chondrozyten, die durch geeignete 3D-Trägerstrukturen unterstützt werden kann³. Eine innovative Möglichkeit zur Herstellung von anwendungsspezifisch mikrostrukturierten 3D-Trägerstrukturen auf Polymerbasis bietet die 2-Photonen-Polymerisation(2PP)⁴. In einem Materialscreening von Monomeren bezüglich der Polymerisier- und Strukturierbarkeit mittels 2PP erwies sich ein Polyethylenglycol-di(urethan-methacrylat) für eine knorpelspezifische Stützstruktur als besonders geeignet. Die 2PP generierten Trägerstrukturen wurden mittels REM analysiert. Es wurden Trägerstrukturen mit variierender Porengröße hergestellt und in Zellkultur auf ihre Biokompatibilität hin getestet. Zur Verbesserung der Zelladhäsion wurden die Zellträger mit RGDs modifiziert. Die ermittelte bevorzugte Porengröße wurde auf das Design von 3D-Trägerstrukturen übertragen. Die Besiedlung (Kollagen I, Kollagen II, Proteoglykane) nachgewiesen werden konnten. Die verwendeten Strukturen scheinen damit ein geeignetes 3D-Trägersystem für die Unterstützung der Zelldifferenzierung zu sein.

Abb. 1.: Scaffold aus Polyethylenglycol-di(urethan-methacrylat), REM-Aufnahme

Literatur

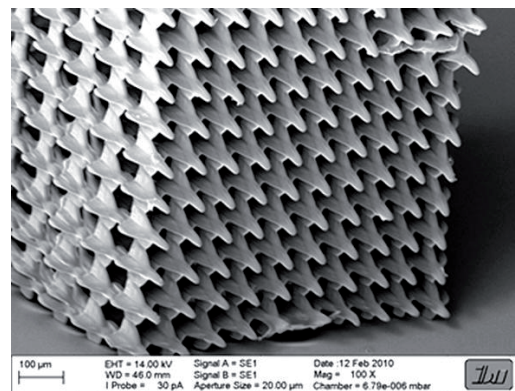
¹MACI[®], Matrix-induzierte autologe Chondrozyten Implantation, Genzyme Europe BV, NL

² Werner A, et. al., 2003, Operative gelenkerhaltene Verfahren bei Gelenkknorpelschäden, Deutsches Ärzteblatt, 100, Heft 9, A 546-554

³Moroni L et al., Regenerating articular tissue by converging technologies, 2007, PloS One, 3(8), e3032

⁴LaFratta, Multiphoton Fabrication, Angewandte Chemie International Edition, 2007, 46, 6238-58

Anhang 1



Korrespondenzanschrift

Silke Fiedler
iba Heiligenstadt
Rosenhof
37308 Heilbad Heiligenstadt
Deutschland

BMV16

E. Steck, M. Hoffmann, H. Ehrlich, M. Ilan, W. Richter, *A. Krase

Natural chitin matrices, isolated from marine sponges, are suitable 3D-scaffolds for cartilage tissue engineering.

Introduction

Tissue engineering (TE) of articular cartilage is based on a suitable 3D-scaffold. Promising results were reported for synthetic chitosan (chitin-derivative) based scaffolds. Marine sponges of the order Verongida possess a naturally developed 3D-chitin-skeleton that has been optimized by evolution to support fluid and nutrient supply. Aim of this study was to produce a TE compatible biomaterial from chitin-based sponges and characterise its biocompatibility and support of cartilage-like tissue formation by chondrocytes.

Methods

Chitin scaffolds were isolated from *Aplysina cauliformis* demosponge by repeated extraction of other constituents with acetic acid and NaOH. For *in vitro* analyses porcine articular chondrocytes were cultured in the scaffolds in chondrogenic medium. For *in vivo* analyses human chondrocytes were seeded into the scaffolds and implanted subcutaneously into SCID-mice.

Results

Stability and handling of the chitin scaffolds were excellent, no destruction was observed during cell seeding, cultivation, or transplantation. Primary cells were distributed throughout the scaffold accompanied by high cell vitality (> 80%). After 4-6 weeks *in vivo*, TE constructs contained a cartilage-like ECM as determined by alcian-blue and type-II-collagen staining. In situ hybridization demonstrated that exclusively implanted human chondrocytes deposited a cartilage-typical ECM and no cells dedifferentiated or evaded into the surrounding fibrous mouse tissue.

Conclusion

The natural chitin scaffolds represent a promising new 3D-matrix for cartilage TE. The structure would particularly be suitable for targeted chemical modifications allowing the specific upgrading with factors supporting cell migration, adhesion, proliferation, or chondrogenic differentiation.

Korrespondenzanschrift

Eric Steck
Schlierbacher Landstr. 200a
69118 Heidelberg
Deutschland

BMV17

*K. Gruchenberg, A. Ignatius, B. Friemert, S. Reitmaier, F. von Lübken, N. Skaer, O. Kessler, L. Dürselen

Drei-Monats-Ergebnisse nach Meniskusteilersatz mittels Seiden-Scaffold (FibroFix™) im Schafmodell

Hintergrund

Eine Meniskusteilresektion führt oft zu Degenerationen. Daher wäre ein Gewebeersatz durch ein geeignetes Scaffold sinnvoll. In der vorliegenden *in vivo* Studie wurde ein Scaffold aus Seidenfibroin auf seine Eignung getestet.

Methoden

Bei 9 Schafen wurde nach medialer Meniskusteilresektion ein poröses Seidenscaffold implantiert. Als Kontrolle diente das linke, unoperierte Kniegelenk. Nach 3 Monaten wurden die Gelenke auf Entzündungszeichen untersucht. Durch mechanische Tests konnten der E-Modul des tibialen Knorpels, der Menisken und der Scaffolds bestimmt werden. Im Anschluss erfolgte die histologische Auswertung dieser Gewebe. Statistische Unterschiede wurden durch Wilcoxon und Mann-Whitney-U Tests ermittelt.

Ergebnisse

Die Tiere waren rasch lahmheitsfrei. Die makroskopische Analyse des Kniegelenks und der Synovialmembran zeigte keine Entzündungszeichen. Dies bestätigte sich in histologischen Schnitten von Synovialmembran, Meniskus und Scaffold. Die Poren der Scaffolds waren teilweise mit amorphem Material, fibroblastozytären Zellen sowie Bindegewebe gefüllt (Abb. 1). Die E-Moduln des tibialen Knorpels der operierten und unoperierten Gelenke unterschieden sich nicht signifikant (Abb. 2). Wie erwartet war der E-Modul der Scaffolds signifikant niedriger als der Modul der Menisken, erhöhte sich aber signifikant durch die Implantation.

Schlussfolgerungen

Das Scaffold hielt den auftretenden Belastungen stand. Es zeigte gute Biokompatibilität und schien das Auftreten von Knorpeldegeneration verhindern zu können. Außerdem näherten sich die mechanischen Eigenschaften der Scaffolds denen der Menisken an.

Danksagung

Die Studie wurde durch den Wellcome Trust gefördert (08906/z/08/z).

Anhang 1

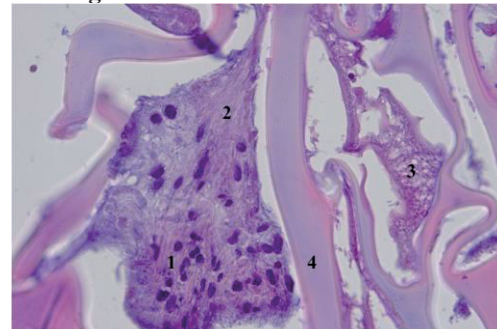


Abbildung 1: Fibroblastozytäre Zellen (1), Bindegewebe (2) und amorphes Material (3) eingelagert in die Poren des Scaffolds (4); Hämatoxylin/Eosin-Färbung; 40-fache Vergrößerung

Anhang 2

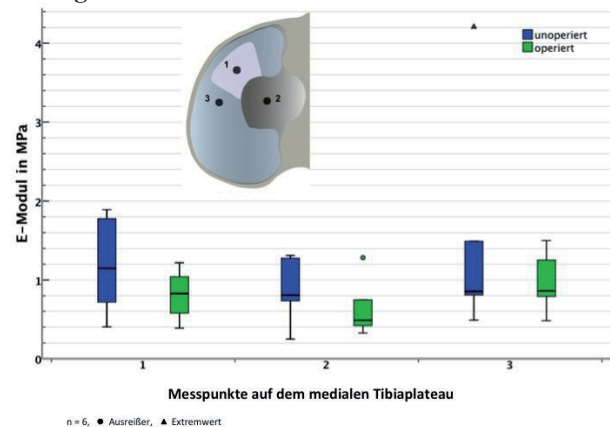


Abbildung 2: Elastizitätsmoduln der unoperierten verglichen mit der operierten Seite

Korrespondenzanschrift

Katharina Gruchenberg
Universität Ulm
Helmholtzstr. 14
89081 Ulm
Deutschland

BMV18

*C.K. Müller, M. Mtsariashvili, G. Hildebrand, K. Liefeth, S. Schultze-Mosgau

Tierexperimentelle Evaluation des Einflusses der Makro- und Mikrostruktur dentaler Zirkoniumdioxidimplantate auf die Osseointegration

Fragestellungen

Ziel vorliegender Studie war die Untersuchung der Osseointegration dentaler Zirkoniumdioxidimplantate mit verschiedenen Makro- und Mikrostrukturen.

Material und Methoden

Insgesamt 6 verschiedene Implantatdesigns wurden evaluiert: (1) Titan, zylindrisch + Standardgewinde, Ra = 1,7 µm; (2) Zirkon, zylindrisch + Standardgewinde, Ra = 1,7 µm; (3) Zirkon, zylindrisch + optimiertes Gewinde, Ra = 1,7 µm; (4) Zirkon, konisch + optimiertes Gewinde, Ra = 1,7 µm; (5) Zirkon, zylindrisch + Standardgewinde, Ra = 0,3 µm und (6) Zirkon, zylindrisch + Standardgewinde, Ra = 3,0 µm. 10 Minischweinen wurden jeweils 6 verschiedene Implantate in die Ossa frontalia inseriert. Nach einer Standzeit von 2 und 4 Monaten erfolgte die Probenentnahme und Aufarbeitung mittels Mikroradiographie.

Ergebnisse

Zirkoniumdioxid zeigte eine mit Titan vergleichbare Osseointegration. Zirkonimplantate mit mittlerem Ra (1,7 µm) zeigten sowohl nach 2 (p = 0,035) als auch nach 4 Monaten (p < 0,001) post op im Vergleich zu Implantaten mit niedrigem (0,3 µm) oder hohem (3 µm) Ra einen signifikant höheren Knochen-Implantat-Kontakt.

Schlussfolgerung

In Bezug auf die Osseointegration konnte eine Gleichwertigkeit zwischen Titan - und Zirkoniumdioxidimplantaten festgestellt werden. Ein mittlerer Ra Wert von 1,7 µm sollte bei der Herstellung von dentalen Zirkoniumdioxidimplantaten präferiert werden.

Danksagung

Die Autoren danken der Thüringer Aufbaubank (Freistaat Thüringen) für die finanzielle Unterstützung (Verbundprojekt: 2007 VF 0009). Weiterhin danken wir der Moje Keramikimplantate GmbH & Co.KG sowie der Impulse Biomedical Cooperation GbR für die Bereitstellung der Dentalimplantate.

Korrespondenzanschrift

Cornelia Katharina Müller
Klinikum der Friedrich Schiller Universität Jena
Erlanger Allee 101
07747 Jena
Deutschland

BMV19

*M. Warkentin, O. Specht, J. Schlichting, D. Behrend

Vergleichende mikroskopische Untersuchungen an Dentalstrukturen zur Entwicklung neuer Füllungsmaterialien

Einleitung

Aufgrund der demographischen Entwicklung steigt der Bedarf an geeigneten Werkstoffen und Biomaterialien für die Zahnerhaltung kontinuierlich. Dabei hilft die Kombination verschiedener mikroskopischer Untersuchungsverfahren, die Struktur-Eigenschaftskorrelation von natürlicher Zahnhartsubstanz detailliert zu charakterisieren, um so dentale Werkstoffe mit optimierten Werkstoffkennwerten zu entwickeln.

Material und Methode

Frisch extrahierte humane Weisheitszähne und ausgewählte Dentalkomposite wurden zu würfelförmigen Prüfkörpern oder gezielt in einer Schnitt- und Schliffpräparation bearbeitet. Nachfolgend wurden mikroskopische Untersuchungen der Ultrastruktur im Raster- und Transmissionselektronenmikroskop sowie im Rasterkraftmikroskop (AFM) durchgeführt. Mit einem Ultraschallmikroskop wurden Längsschnitte mit definierter Dicke untersucht. Zum Vergleich wurden alle Proben mit einem Auflichtmikroskop im Hell- und Dunkelfeld analysiert.

Ergebnisse

Die Auflichtmikroskopie lässt erste Aussagen zur Morphologie zu, wodurch geeignete Areale für die REM- und TEM-Präparation vorselektiert wurden. Das REM visualisiert den Verlauf von Schmelzbändern und Dentinkanälchen sehr gut. Dadurch war eine Begutachtung des Frakturverhaltens einschließlich der Rißverläufe nach mechanischer Beanspruchung möglich. Das AFM erfasst die Oberflächenstruktur mit einem Höhenprofil. Zusätzlich standen durch die Messung von Kraft-Abstandskurven mechanische Kennwerte zur Verfügung, die mit morphologischen Daten korreliert werden konnten.

Im TEM wird die Ultrastruktur aufgelöst, wodurch z.B. die Ausrichtung einzelner Hydroxylapatitkristalle nach mechanischer Belastung nachweisbar war sowie bei Dentalkompositen das Füllstoffkonzept untersucht werden konnte. Mit dem Ultraschallverfahren können neben Bilddaten zusätzlich Materialkennwerte gewonnen werden, die eine Beurteilung der Schmelz- und Dentinqualität bzw. der dentalen Versorgung zuließen.

Diskussion

Für die Entwicklung von Dentalwerkstoffen, welche eine möglichst große Ähnlichkeit mit dem zu restaurierenden Zielgewebe aufweisen sollten, empfiehlt sich der Einsatz und die Kombination aller mikroskopischen Untersuchungsmethoden zum Verständnis der Struktur-Eigenschaftskorrelationen der natürlichen Zahnhartsubstanz.

Korrespondenzanschrift

Mareike Warkentin
Universität Rostock
Friedrich-Barnewitz-Straße 4
18119 Rostock
Deutschland

BMV20

*D. Rothamel, F. Schwarz, T. Fienitz, A. Happe, R. Smeets, J. Zöller

Morphologische Struktur, Biokompatibilität und Biodegradation einer neuartigen porkinen Perikardmembran - in vitro und in-vivo Ergebnisse

The principle of guided tissue and bone regeneration has long been established for treating bone and periodontal defects. In addition to non-absorbable barriers, various collagens are well-accepted as a membrane material for separating the graft from soft tissue and epithelium. However, collagen membranes significantly differ with respect to their barrier function and biocompatibility. The objective of this pilot study was the *in vitro* and *in vivo* examination of a novel native collagen membrane extracted from porcine pericardium.

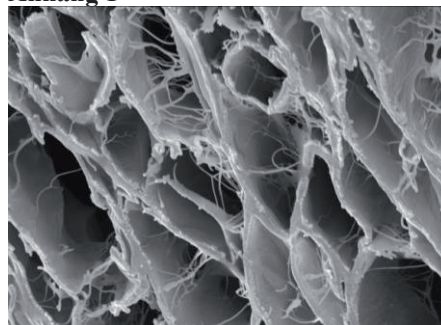
Morphological structure of two different native collagen membranes (Remotis[®] Pericardium Collagen Membrane [RPCM], porcine pericardium, Thommen Medical, Waldenburg, Switzerland and Bio Gide[®] [BG], porcine type I and III collagen, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) was conducted using a scanning electron microscope. For biocompatibility testing, membranes were incubated with $1 \cdot 10^4$ SaOs-2 osteoblast-like cells. After 2 hours, 3 and 7 days proliferation of the cells on the surface was determined. Evaluation of the biodegradation pattern was performed in a dog model with simultaneous bone augmentation with BO (Bio-Oss[®], Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) or CB (Cerabone[®], Botiss dental GmbH, Berlin, Germany) in the lateral anterior maxilla in 8 animals with histological examination after 4, 8, 12 and 24 weeks.

With respect to the morphological analysis, a multilayer structure with interconnective pore system was identifiable at 1000x magnification for RPCM (Fig.1), while BG displayed more of a fibrous bilayer structure (Fig. 2). In vitro, RPCM showed considerable cell proliferation which was significantly superior to that observed with BG ($p < 0.05$, ANOVA) especially after 7 days (2910 ± 1273 for RPCM and 707 ± 706 for BG). In vivo, both membranes integrated into the surrounding tissue without any inflammatory reaction. Both membranes revealed an early vascularisation of the membrane body. However, a considerable biodegradation was noted within four-to-eight weeks with BG, while the resorption of RPCM primarily occurred within the first eight-to-twelve weeks

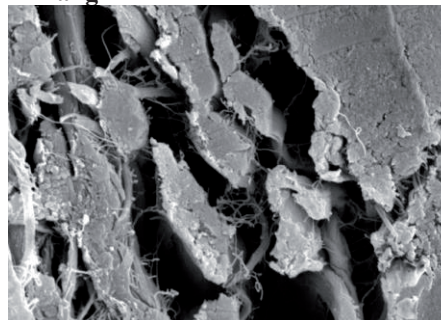
(Fig. 6-9). Both membranes supported the underlying bone formation.

It was concluded that both examined membranes indicate a high level of biocompatibility. RPCM and BG are resorbed without inflammation within 8 (BG) or 12 weeks (RPCM). The compact interconnective pericardium collagen of RPCM may have positively influenced the resorption stability.

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift

Daniel Rothamel
Uniklinik Köln
Kerpener Str. 62
50937 Köln
Deutschland

BMV21

*S. Knaack, A. Lode, K. Fritzsche, A. Rösen-Wolff, M. Gelinsky

Chemoattraktion durch funktionalisierte Biomaterialien: der Ansatz des „*in situ* Tissue Engineering“ für die Knochendefektheilung

Beim Tissue Engineering von großen Zell-Matrix-Konstrukten besteht bis heute das Problem der fehlenden Vaskularisierung. Dies führt zu einer schnellen Zellabnahme im besiedelten Material nach der Implantation, da das Einwachsen neuer Gefäße zu lange dauert. In vorliegendem Teilprojekt des SFB/TR 79 soll deshalb eine Methode entwickelt werden, bei der im Sinne des *in situ* Tissue Engineering auf eine Zellbesiedlung *ex vivo* verzichtet werden kann. Es soll ein poröses Biomaterial aus mineralisiertem Kollagen erzeugt werden, welches so funktionalisiert wird, dass es den vaskulären Endothelzellwachstumsfaktor (VEGF) kontrolliert freisetzt. Dadurch sollen Endothelzellen, aber auch mesenchymale Stammzellen (MSC) über chemotaktische Effekte in den zuvor zellfrei implantierten Scaffold migrieren, um so eine schnellere Defektheilung - speziell im systemisch kranken Knochen - zu erzielen.

In ersten Experimenten wurden die porösen mineralisierten Kollagenscaffolds mit Heparin funktionalisiert. Heparin, ein anionisches sulfatiertes Glucosaminoglycan, bindet reversibel zahlreiche Proteine, u. a. Wachstumsfaktoren wie VEGF, und reguliert ihre Aktivität. Durch eine homogene Funktionalisierung der Scaffolds mit unterschiedlichen Heparinkonzentrationen konnte die Freisetzungskinetik von VEGF gezielt eingestellt werden. Die biologische Aktivität des freigesetzten VEGF wurde in einem Proliferationsassay mit Endothelzellen nachgewiesen. Experimente mit humanen MSC auf Heparin-modifizierten Scaffolds zeigten, dass Heparin die Adhäsion und Proliferation der Osteoblasten-Vorläuferzellen unterstützt.

Korrespondenzanschrift

Sven Knaack

Zentrum für Translationale Knochen-, Gelenk- und Weichgewebeforschung, Medizinische Fakultät der Technischen Universität Dresden
Fetscherstr. 74
01307 Dresden
Deutschland

BMV22

*S. Lüers, L. Lehmann, M. Laub, M. Schwarz, U. Obertacke, H.P. Jennissen

The Inverse Lotus Effect as a Means of Increasing Osseointegration of Titanium Implants in a Gap Model

Introduction

The osseointegrative potential of ultra-hydrophilic, nano-structured titanium implant surfaces received by chromosulfuric acid (CSA) treatment was assessed in a pig gap-healing model. CSA treatment leads to a reduction of the contact angle to $<10^\circ$ with absent contact hysteresis on highly rough surfaces, thereby increasing wettability, precisely the opposite of the lotus effect [1]. Such surfaces displayed greater osseointegration than sand-blasted/ surface-etched controls [2]. In this study, new bone formation and bone attachment was determined at 3 postoperative points of time.

Methods

Female Göttinger mini pigs (n=9 per group) received implants (n=4) either with a titanium plasma spray surface (TPS) (DOT, Rostock) or an ultrahydrophilic surface formed by CSA treatment on the TPS layer [1, 3]. The dumbbell shape of these implants led to the creation of a gap measuring approx. 1 mm between the implant and bone. Bone and osteoid volume (osteoinduction) as well as bone and osteoid ongrowth (osteoconduction) were analyzed histomorphometrically at 4, 8 and 12 weeks.

Results

Though means being consistently ca. 10 fold higher bone ongrowth of CSA-treated implants required 12 weeks to attain significance ($7.5\% \pm 1.0$ vs. $0.4\% \pm 1.1$; $p=0.0004$) whereas osteoid ongrowth was already significantly higher at 8 weeks ($6.7\% \pm 1.5$ vs. $0.07\% \pm 1.4$; $p=0.0304$) compared to untreated implants. In the CSA-group implants revealed more bone volume compared to the control though no significant difference was reached at any point of time. Osteoid volume formation was significantly higher only at 4 weeks ($p=0.0217$).

Discussion & Conclusions

As reported here for ultrahydrophilic, TPS implant surfaces the inverse lotus effect resulting from CSA treatment appears to be a highly effective means of increasing osseointegration in terms of osteoinduction and osteoconduction. These findings emphasize that surface energy influences osseointegration [4] as has been suggested. Given these results ultrahydrophilic implants could display great potential in orthopedic and trauma surgery applications.

References

1. Jennissen, H.P., Macromol. Symp., 2005, 225, 43-69
2. Becker et al., Clin Oral Invest, 2006, 10: 217-224
3. Lüers, S. et al. Biomaterialien, 2010, 11 (S1), 60
4. Kieswetter K. et al. Crit Rev Oral Biol Med. 1996; 7: 329-345

Korrespondenzanschrift

Steffen Lüers
MorphoPlant GmbH
Universitätsstr. 136
44799 Bochum
Deutschland

BMV23

*E. Novosel, N. Klechowicz, W. Meyer, C. Schuh, M. Wegener, H. Krüger, K. Borchers, H. Walles, T. Hirth, G. Tovar, P. Kluger

Artificial small diameter blood vessels based on new biofunctionalized 3D-printable polymers

Introduction

Vascularization is the central demand in tissue engineering [1,2]. Therefore we developed artificial three-dimensional (3D) blood vessels, which could be dynamically cultivated to supply surrounding scaffolds *in vitro*. New printable polymers were synthesized, with biomimetic molecules functionalized, and seeded with primary human endothelial cells (EC). Small diameter vessels were dynamically cultivated in a new developed bioreactor system.

Materials and methods Different types of alpha, omega-hydroxyoligoethers adapted to the needs of rapid prototyping (RP) process have been synthesized and characterized. The surfaces were biofunctionalized with covalently immobilized thioheparin and the adhesion peptide RGDC. Amount and stability of the surface modification molecules were quantified by XPS and toluidine-blue assay. Adhesion, morphology, proliferation and functionality of ECs seeded on the functionalized substrates were characterized. Furthermore a bioreactor was developed.

Results

The synthesis of suitable polymers for RP processes with remaining functional groups was successful. Biofunctionalization of the polymer was shown by XPS and photometrical with toluidin-blue. Seeded endothelial cells on the functionalized surfaces showed a higher viability and confluence as the cells on control substrates. All cells could be characterized using specific EC markers. Furthermore we designed a bioreactor system and performed cell experiments under dynamic flow conditions.

Conclusion

In our interdisciplinary approach, we developed new 3D-printable polymers. The materials were successfully biofunctionalized. Cell experiments showed an increased adhesion of EC on the material surface.

References

- [1] Phelps E.A., Garcia A.J., Current opinion in biotechnology, 21: 704-709 (2010)
- [2] Novosel E.C., Adv Drug Deliv Rev. 2011 Mar 17. (Epub ahead of print)

Anhang 1

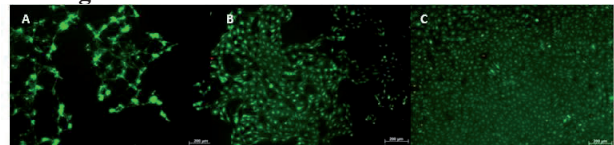


Figure 1: Live-dead Staining of HDMEC on A) unfunctionalized polymer B) TCPS positive control C) Thioheparin and RGDC- functionalized polymer. Cells on the functionalized material build a 100 % confluent cell layer and are vital (green stained). Bar is 200 µm.

Anhang 2

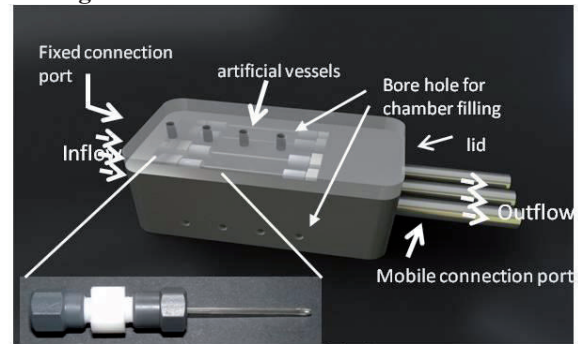


Figure 2: CAD based construction of the bioreactor system for dynamical culture of artificial blood vessels

Korrespondenzanschrift

Esther Novosel
Univeristät Stuttgart
Nobelstrasse 12
70569 Stuttgart
Deutschland

BMV24

*K. Borchers, C. Bierwisch, S. Engelhardt, C. Graf, T. Hirth, E. Hoch, R. Jaeger, P. Kluger, H. Krüger, W. Meyer, E. Novosel, O. Refle, C. Schuh, N. Seiler, G. Tovar, M. Wegener, T. Ziegler

Material- und Prozessentwicklung für die Herstellung kleinlumiger, verzweigter Gefäßsysteme mittels Inkjetdruck und Zweiphotonenpolymerisation

Hintergrund

Maximale Flexibilität und Kontrolle bei der Einstellung mikroskopischer und makroskopischer Eigenschaften erlangen bei der Entwicklung funktionaler Biomaterialien immer stärkere Signifikanz. Wir kombinieren 3D-Inkjet Technik mit hochauflösender Multiphotonenpolymerisation (MPP) um mittels digitaler Fertigungstechniken Strukturgrößen vom Mikrometer- bis in den Zentimeterbereich zugänglich zu machen. Mit dieser Technik zielen wir hier auf die Herstellung kleinlumiger, verzweigter Röhrensysteme mit gefäßähnlichen Eigenschaften als Versorgungssystem für dreidimensionale Gewebekultur und für den Aufbau von *in vitro* Testsystemen mit Gefäßsystemäquivalent.

Methoden

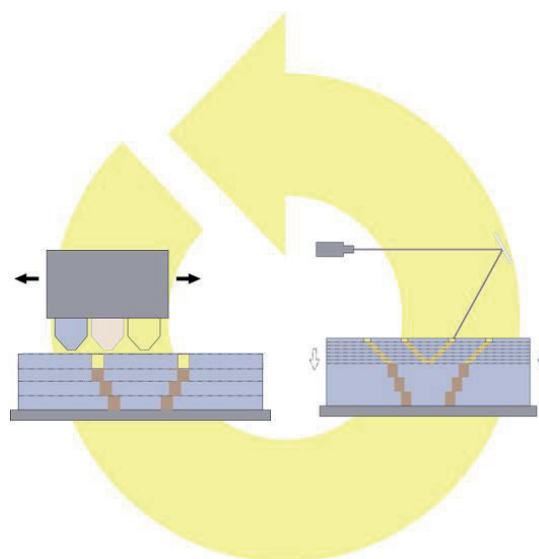
Modellierung biomimetischer Gefäßsystemäquivalente, SPH und CFD Simulation zur Optimierung der Flusseigenschaften, Synthese nicht-degradierender Polymere, Formulierung druckbarer, UV- und MPP-härtbarer Harze, Biofunktionalisierung der synthetischen Materialien und Besiedelung durch Endothelzellen (HUVEC), Anlagenbau und Verfahrensentwicklung zur Kombination von 3D Inkjet-Druck und MPP.

Ergebnisse

Dieser Beitrag gibt einen Überblick über das Gesamtprojekt. Wir haben auf Basis unterschiedlicher Polymere Inkjet-druckbare Harze entwickelt. Aushärtung resultiert in Elastomeren mit einstellbaren Eigenschaften. Mittels Modellierung und Simulation ermitteln wir die Geometrie von verzweigten Röhrensystemen mit physiologischen Eigenschaften. Die Vernetzung der Harze funktioniert mittels UV-Strahlung sowie innerhalb gedruckter Schichten mittels MPP. Durch Beschichtung des synthetischen Elastomers haben wir eine effektive Biofunktionalisierung und die konfluente Besiedelung mit Endothel erreicht.

Abb. Kombinierte generative Fertigung feiner bioinspirierter Strukturen

Anhang 1



Korrespondenzanschrift

Kirsten Borchers
Fraunhofer-Institut für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik
Nobelstr. 12
70569 Stuttgart
Deutschland

BMV26

*C. Brochhausen, *V.H. Schmitt, C.N.E. Planck, R. Zehbe, B. Krämer, D. Wallwiener, H. Hierlemann, H. Planck, C.J. Kirkpatrick

Eine histomorphologische Untersuchung zum Vergleich der Biokompatibilität verschiedener Barrieren zur Prävention peritonealer Adhäsionen A histomorphological analysis comparing the biocompatibility of different barrier materials in peritoneal adhesion prevention

Fragestellung

Postoperative Adhäsionen, ein relevantes klinisches Problem, entstehen durch den Kontakt geschädigter Serosa mit umliegendem Gewebe. Physikalische Barrieren sollen diesen Kontakt vermeiden und eine serosale Heilung ohne Adhäsionsbildung gewährleisten (Fig.1) [1]. Trotz zahlreicher Barrieren unterschiedlicher Materialien gibt es bislang keine vergleichenden histomorphologischen Untersuchungen zu deren Effektivität und Biokompatibilität.

Methoden

Im Tierversuch wurden standardisiert serosale Defekte gesetzt und mit flüssigen (Adept®), gelartigen (Intercoat®, Spraygel®) und festen (Seprafilm®, Suprathel®) Barrieren behandelt. Die Kontrollgruppe blieb ohne Barrierebehandlung [2,3]. Nach 14 Tagen wurden die behandelten Areale explantiert und standardisierte Verfahren zur histologischen Untersuchung durchgeführt. Mittels Färbungen mit HE, Chlorazetesterase und EvG wurden 14 Tiere aus jeder Gruppe (8 aus der Spraygel®-Gruppe) bezüglich dem Ausmaß an Entzündung, Fremdkörperreaktion sowie Fibrose von zwei unabhängigen Untersuchern evaluiert.

Ergebnisse

Die Gruppen von Adept®, Intercoat®, Seprafilm® und der Kontrolle wiesen eine minimale Entzündung auf. Die Seprafilm®-Gruppe war mit einer milden, die Suprathel®-Gruppe mit einer moderaten Entzündung behaftet. Zeichen einer Fremdkörperreaktion waren in der Adept®- und Suprathel®-Gruppe nachweisbar. Die Fibrose war minimal in der Adept®- sowie der Kontrollgruppe und moderat in der Seprafilm®-Gruppe. Die mit Intercoat®, Spraygel® und Suprathel® behandelten Tiere wiesen keine Fibrose auf.

Schlussfolgerungen

Dies ist die erste vergleichende histologische Untersuchung relevanter Barrierematerialien. Sämtliche Gruppen waren lediglich mit einer minimalen bis leichten Entzündung und geringer Fremdkörperreaktion behaftet. In der

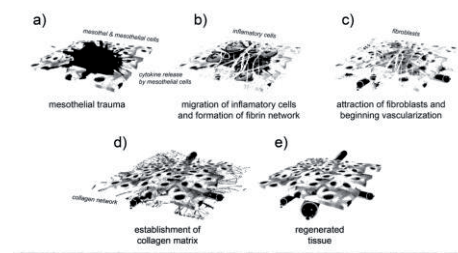
Intercoat®- und Suprathel®-Gruppe waren keine Zeichen von Fibrose erkennbar. Der Fibrosegrad ist entscheidend in der Validierung von Adhäsionsbarrieren, da fibröses Gewebe für klinische Symptome wie Darmverschlüsse verantwortlich ist [1].

Fig.1 Die serosale Heilung: Ohne Kontakt des geschädigten Areals mit der Umgebung entstehen keine Adhäsionen. Dies sollen physikalische Barrieren gewährleisten.

Literatur

1. Brochhausen C. *et al.*, J Biomed Mater Res A; 98(1): 143-56, 2011
2. Rajab T.K. *et al.*, Surgery; 145(2): 196-201, 2009
3. Rajab T.K. *et al.*, J Surg Res; 161(2): 246-9, 2010

Anhang 1



Korrespondenzanschrift

Christoph Brochhausen
Universitätsmedizin Mainz
Langenbeckstraße 1
55101 Mainz
Deutschland

BMV27

*T. Luxbacher

Das Zetapotenzial als Indikator von Wechselwirkungen zwischen Proteinen und Biomaterialien

Die Kenntnisse der Oberflächenladung und des isoelektrischen Punkts (IEP) von Materialien sind wichtig für deren biomedizinische Anwendung. Das Zetapotenzial ist eine Eigenschaft der Grenzfläche fest/flüssig und beschreibt den Ladungszustand eines Festkörpers in Kontakt mit einer wässrigen Lösung. An Festkörperoberflächen wird das Zetapotenzial durch Messen des Strömungspotenzials bestimmt.

Neben der Evaluierung des Ladungsverhaltens dient das Zetapotenzial als Indikator für die Stabilität von Oberflächenbeschichtungen in unterschiedlichen Flüssigkeiten sowie für die Adsorption von Proteinen und Peptiden an Biomaterialien.

Dieser Beitrag beschreibt Fallstudien für die Anwendung der Strömungspotenzial-Methode zur Charakterisierung von Biomaterialien.

Methoden

Strömungspotenzial-Messungen wurden mit dem Messgerät SurPASS in wässrigen Lösungen von KCl und PBS durchgeführt. Das Zetapotenzial wurde für Glas- und Titanscheiben (Durchmesser 14 mm), Polysulfon-Hohlfasermembrane und Siliziumwafer (20 mm x 10 mm) bestimmt.

Ergebnisse

Neben der Charakterisierung von Oberflächengruppen durch Bestimmung des Zetapotenzials bei unterschiedlichen pH-Werten in wässriger Lösung kann die Wechselwirkung gelöster Stoffe (z.B. Proteine) mit der Festkörperoberfläche gemessen werden. Durch Kombination von Adsorptionsmessung mit Oberflächentitration lässt sich die Anwesenheit von Proteinen an Oberflächen detektieren.

Das Beispiel in Bild 1 zeigt die pH-Abhängigkeit des Zetapotenzials für Glas und Titan. Glas zeigt eine sauer reagierende Oberfläche aufgrund der Silanol-Gruppen (Si-OH), die native Oxidschicht an Titan hingegen ein amphoterer Verhalten.

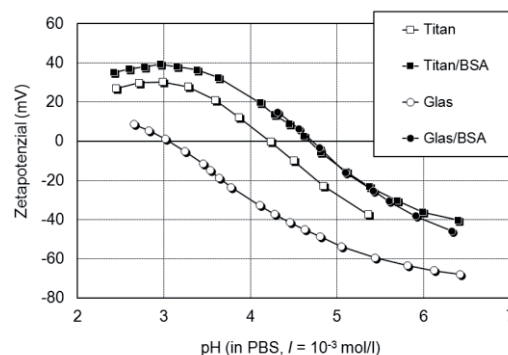
In Gegenwart von 50 µg/ml Albumin (BSA) werden sowohl Glas als auch Titan mit BSA beschichtet. Dieses Erkenntnis ergibt sich aus dem Vergleich des IEP für Glas bzw. Titan in Gegenwart von BSA mit dem IEP bei pH 4.7 für BSA in Lösung.

Bild 1. pH-Abhängigkeit des Zetapotenzials für Glas und Titan in Gegenwart von BSA.

Schlussfolgerung

Die Messung des Strömungspotenzials ist eine schlüssige Methode für die Charakterisierung der Oberflächenbehandlung von Biomaterialien, z.B. zur Verbesserung der Biokompatibilität. Das Zetapotenzial zeigt die Wechselwirkung zwischen biologischen Komponenten und Biomaterialien verschiedenster Art.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift

Thomas Luxbacher
Anton Paar GmbH
Anton-Paar-Strasse 20
8054 Graz
Oesterreich

BMV28

*A. Tautzenberger, G. Baier, L. Kreja, K. Landfester, A. Ignatius

Einfluss Pamidronat-beladener, resorbierbarer Nanokapseln auf Osteoklastenkulturen

Hintergrund

Bisphosphonate, die die Knochenresorption inhibieren und zur Osteoporosetherapie eingesetzt werden, könnten bei lokaler Applikation z. B. der aseptischen Implantatlockerung entgegenwirken. Ziel der Studie war es, den Einfluss Pamidronat-beladener, resorbierbarer Poly(n-butylcyanoacrylat)-Nanokapseln auf Osteoklasten zu untersuchen.

Material und Methoden

Die Kapseln (d=250 nm) wurden über anionische Polymerisation von n-Butylcyanoacrylat mittels inverser Miniemulsionstechnik hergestellt^[1]. Ein Teil der Kapseln wurde mit Pamidronat (6,56 mg/ml) beladen, der andere diente als Kontrolle.

1500 murine RAW 264.7-Zellen/cm² wurden 10 Tage auf Calciumphosphat-Oberflächen kultiviert (10% FCS, 40 ng/ml „receptor activator of NF- κ B ligand“). Von Tag 4-8 wurden $0,55 \times 10^{11}$ bzw. $1,10 \times 10^{11}$ unbeladene oder beladene Kapseln/ml zugesetzt (vollständige Pamidronat-Freisetzung würde zu 50 μ M bzw. 100 μ M im Medium führen). Die Resorptionsfläche wurde nach von Kossa-Färbung quantifiziert (n=4, nicht parametrischer Wilcoxon-Rangsummentest, $p < 0,05$).

Ergebnisse

Die beladenen Kapseln jeder Dosis senkten die osteoklastäre Resorption signifikant gegenüber den unbeladenen Kapseln. Die Effekte waren weniger stark ausgeprägt als bei Zugabe von 50 μ M bzw. 100 μ M reinem Pamidronat.

Schlussfolgerung

Die verwendeten Kapseln stellen ein funktionelles System dar, das die Osteoklastenresorption hemmt. Zusätzlich zur Verbesserung der Wirkstofffreisetzung wäre eine lokale Anwendung durch Kapselfunktionalisierung mit Phosphonatgruppen zur Anbindung an Titan^[2] möglich.

Literatur

- [1] Musyanovych A et al. Colloid Polym Sci 134: 120-127 (2008)
- [2] Zeller A et al. ACS Appl Mater Interfaces 2: 2421-2428 (2010)

Korrespondenzanschrift

Andrea Tautzenberger
Universität Ulm
Helmholtzstr. 14
89081 Ulm
Deutschland

BMV29

A. Müller, N. Heßler, D. Kralisch, *D. Fischer

Bacterial Nanocellulose Based Hydrogels as Delivery Systems for Proteins

Introduction

The natural biopolymer bacterial nanocellulose (BNC) offers remarkable material properties (e.g. high mechanical stability, purity and biocompatibility) which make this biomaterial well suited for diverse medical applications such as tissue engineering, cartilage and bone repair as well as wound care therapy. The development of drug loading methods for the controlled delivery of therapeutic proteins (e.g. antibodies, growth factors) is essential for the use of BNC as drug delivery system in the mentioned application fields.

Methods

In the present study, two different loading techniques for BNC were investigated with regard to drug distribution, loading efficiency, drug stability and in vitro release by the use of the model protein bovine serum albumin (BSA). The protein was loaded on planar BNC fleeces via a slow sorption process compared to a high-speed vortexing technique. Additionally, parameters such as drug concentration were detected to control protein loading and release. BSA quantification and protein distribution were characterized by BCA assay. Drug stability was investigated by polyacrylamide gel electrophoresis. Furthermore, sorption loading was repeated with the enzyme luciferase as a model protein with biological activity. Recombinant luciferase was quantified using a luciferase assay system.

Results

Under optimized conditions a homogenous protein distribution in BSA loaded samples could be visualized with both loading techniques. Loading and release could be controlled by incubation temperature and time as well as protein concentration and water content of the BNC gels. Comparable results for both methods were obtained regarding BSA loading efficiencies. Protein stability as well as biological activity (luciferase) could be retained. Protein release showed a burst within the first eight hours followed by a slow release characteristic up to 48-72 hours.

Conclusion

Loading and release investigations of the model proteins showed that BNC is well suited as drug delivery system

for various medical applications. Several parameters were identified to achieve a controlled protein loading to and release from the BNC material.

Acknowledgements

This work was financially supported by the Thuringian Ministry of Education, Science and Culture (B714-10032) as well as the European Fund for Regional Development.

Korrespondenzanschrift

Astrid Müller
Institut für Pharmazie
Otto-Schott-Str. 41
07745 Jena
Deutschland

BMV30

*S. Heinemann, D. Hose, S. Wenisch, H. Worch, T. Hanke

Interaction of biomaterial bioactivity and release of the proteasome inhibitor bortezomib from nanocomposite silica/collagen/calcium phosphate xerogels

Abstract

Recent studies revealed nanocomposite xerogels composed of silica and fibrillar collagen to be promising materials for bone substitution applications (Heinemann et al. 2011a). Furthermore, the introduction of calcium phosphate phases as a third phase led to modified bioactivity during immersion in physiological media (Heinemann et al. 2009). The xerogels exhibited bone-like mechanical properties and showed proper biocompatibility towards osteoblasts and osteoclasts, in mono-culture as well as in co-culture (Heinemann et al. 2011b).

In the present study, the proteasome inhibitor bortezomib was successfully embedded into the composite matrix during the gel formation process. By immersion in phosphate buffered saline or simulated body fluid at different regimes, release of the drug from the xerogels was characterized with reference to initial loading concentration, xerogel composition, and especially the formation of an apatite layer during the bioactive behavior of the substrate. The results provide indications for future applications of bortezomib-loaded silica/collagen-based biomaterials for the treatment of bone defects in malignant environments.

References

Heinemann S, Gelinsky M, Worch H, Hanke T: Resorbable bone substitution materials. An overview of commercially available materials and new approaches in the field of composites. *Der Orthopäde* (2011a).

Heinemann S, Heinemann C, Bernhardt R, Reinstorf A, Meyer M, Nies B, Worch H, Hanke T: Bioactive Silica-Collagen Composite Xerogels modified by Calcium Phosphate Phases with Adjustable Mechanical Properties for Bone Replacement. *Acta Biomaterialia* 5 (2009), 1979-90.

Heinemann C, Heinemann S, Worch H, Hanke T: Development of an Osteoblast/Osteoclast Co-Culture derived by Human Bone Marrow Stromal Cells and Human Monocytes for Biomaterials Testing. *European Cells and Materials* 21 (2011b), 80-93.

Korrespondenzanschrift

Sascha Heinemann
Technische Universität Dresden
Budapester Str. 27
01069 Dresden
Deutschland

BMV31

*H. Furedi-Milhofer, A. Elyada, M. Dutour Sikiric, R. Schade, K. Liefeth, N. Garti

Organic-inorganic nanocomposite coatings for the enhancement of bioactivity of metal implants

Introduction

Metal implants are used for the repair or replacement of teeth and bones with large defects caused by trauma or disease (cancer, osteoarthritis etc). Titanium and its alloys are valued for their excellent mechanical properties, but their bioactivity needs improvement [1]. Our approach is to coat implant surfaces with organic-inorganic nanocomposites. The design of the coatings is biomimetic, based on the observation that in biomineralization cells first deposit an organic matrix, then grow calcium phosphate (CaP) crystals upon/within this matrix [2].

Materials and Methods

The organic matrix was deposited on glass or titanium plates as polyelectrolyte multilayers, PMLs, by alternate adsorption of positively and negatively charged polyelectrolyte(s). CaP was nucleated either by co-adsorbed amorphous calcium phosphate (ACP) layers [3] or by functional groups from the organic matrix. Crystals were grown in situ by immersing the coated substrate into a metastable calcifying solution (MCS). Bioactivity was assessed by seeding osteoblast-like cells (MC3T3-E1 or SAOS-2) onto the coated surfaces, incubating and determining cell adhesion, proliferation, morphology and cell activity [4].

Fig.1. SEM micrographs of calcium phosphate crystals. A. ACP induced, B. PML induced crystallization

Results

The type and morphology of CaP deposits depended on the type of the crystallization initiator and/or on the composition of the MCS. Crystallization initiated by ACP resulted in spherulitic aggregates of micron-sized OCP crystals (Fig. 1A), whereas direct nucleation on the PML yielded well spread, nanometer sized crystals of calcium deficient apatite (Fig.1B). Cell proliferation on the coatings was improved by adding a final PML [3,4].

Conclusions

Organic-inorganic nanocomposite coatings, which can greatly improve the bioactivity of metal implant surfaces, have been described. The coatings are tightly anchored to the underlying substrate by in situ growing CaP crystals.

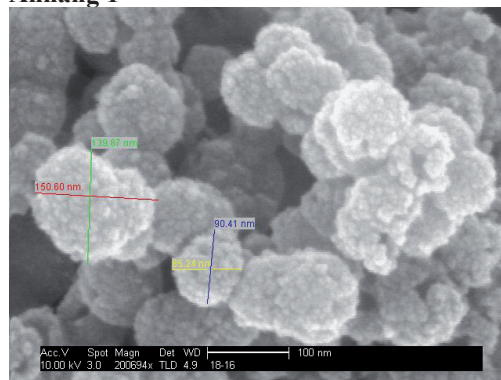
References

1. RZ Le Geros, RG Craig J Bone Min Res 1993;8:S583.
2. WJ Landis, J. Ultrastr. Mol. Struct. Res. 94 (1986) 217.
3. M Dutour Sikiric et al J. Biomed. Mat. Res. Part A, 89A 2009, 759.
4. R Schade et al. J. Biomed. Mat. Res. Part A, 95A(3) 2010, 691.

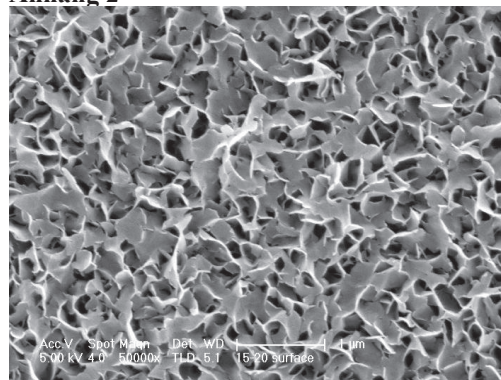
Acknowledgement

The financial support by the German Israeli Foundation (GIF) is gratefully acknowledged.

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift

Helga Furedi-Milhofer
The Hebrew University of Jerusalem
Givat Ram Campus
91904 Jerusalem
Israel

BMV32

*K.S. Lips, J. Klesing, S. Hartmann, K. Trinkaus, I. Schleicher, C. Weyers, M. Schmitte, L. Heimann, M. Epple, R. Schnettler

Biokompatibilität und Funktionalität von Dickkopf-1-siRNA-dotierten Calciumphosphat-Nanopartikeln in vitro

Hintergrund

Eine Möglichkeit, die bisher verfügbaren Knochenersatzmaterialien für den Einsatz im systemisch erkrankten Knochen zu verbessern ist, sie durch Funktionalisierung mit siRNA-dotierten Calciumphosphat (CaP)-Nanopartikeln zu kombinieren. CaP-Nanopartikel sind in der Lage, ohne Zusatz schädlicher Transfektionsreagenzien in Zellen aufgenommen zu werden und können dadurch gebundene siRNA in das Zytoplasma von Zielzellen transportieren. Zytoplasmatisch vorliegende siRNA hemmt die Translation und damit die Synthese eines spezifischen Proteins. Dickkopf-1 ist ein Protein, das die Differenzierung der multipotenten Stromazellen des Knochens in Adipozyten stimuliert. Ziel der vorliegenden Studie war es, die Funktionalität von Dickkopf-1-siRNA und die Biokompatibilität von siRNA-funktionalisierten CaP-Nanopartikeln in vitro zu untersuchen.

Methode

Es wurden multipotente Stromazellen und Osteoblasten aus Bohrmehl von Schaf und Mensch gewonnen und mit Dickkopf-1-siRNA-funktionalisierten CaP-Nanopartikeln behandelt. Die Transfektion, Biokompatibilität und Funktionalität wurde mittels Fluoreszenzmikroskopie, Transmissionselektronenmikroskopie, real-time RT-PCR, Proliferations- und Differenzierungsassays untersucht.

Ergebnisse

Nach Transfektion von Dickkopf-1-siRNA wurde eine signifikante Reduktion der Dickkopf-1-mRNA mittels real-time RT-PCR nachgewiesen. CaP-Nanopartikel konnten mit Dickkopf-1-siRNA von Schaf und Mensch funktionalisiert werden. Die Transfektion von siRNA-funktionalisierten CaP-Nanopartikeln wurde fluoreszenzmikroskopisch dargestellt, und in anschließenden real-time RT-PCR Analysen konnte gezeigt werden, dass die Dickkopf-1-mRNA reduziert war. Mittels Transmissionselektronenmikroskopie und funktionellen Assays wurde eine gute Biokompatibilität der funktionalisierten CaP-Nanopartikel beobachtet.

Schlussfolgerung

Unsere Ergebnisse liefern Hinweise darauf, dass der Einsatz von siRNA-funktionalisierten CaP-Nanopartikeln geeignet ist, um die zur Verfügung stehenden Knochenersatzmaterialien zu verbessern. Diese Hypothese soll in zukünftigen Arbeiten in vivo überprüft werden.

Korrespondenzanschrift

Katrin Susanne Lips
Justus-Liebig-Universität Giessen
Kerkraederstr. 9
35394 Giessen
Deutschland

BMV33

*K. Wallat, M. Neumeier, D. Dörr, R. Le Harzic, D. Sauer, F. Stracke, H. Zimmermann, M. Eppe

Elektrophoretische Abscheidung von Calciumphosphat-Nanopartikeln auf nanostrukturierten Oberflächen

Hintergrund

Das Verständnis der Reaktion von Zellen auf Nanostrukturen ist derzeit Gegenstand der Grundlagenforschung mit hohem Anwendungspotential. Vor diesem Hintergrund wurden nanostrukturierte Silicium (Si) Wafer^[1-2] zur kontrollierten Übertragung von Calciumphosphat-Nanopartikeln auf Alginat-Hydrogele genutzt. Diese funktionalen Oberflächen werden im Anschluss zur Untersuchung der zellulären Reaktion besiedelt. Um eine definierte Anzahl und Verteilung der abgeschiedenen Nanopartikel auf der Oberfläche zu erhalten, wurden Parameter untersucht, die die elektrophoretische Beschichtung auf den Si-Wafern beeinflussen.^[3] Als Modellsystem wurden mit Polyethylenimin (PEI) funktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel verwendet.

Methoden

Die Calciumphosphat-Nanopartikel wurden über eine Fällungsreaktion synthetisiert. Dazu wurden eine Calciumlactat-Lösung (18 mM, pH 9) und eine di-Ammoniumhydrogenphosphat-Lösung (10,8 mM, pH 9) zusammengegeben. Die Partikel wurden mit einer PEI-Lösung (2 g L⁻¹) stabilisiert und direkt nach der Fällung abfiltriert und gefriergetrocknet. Diese Partikel wurden in 2-Propanol redispergiert (1 mg mL⁻¹). Die Abscheidung erfolgte mit einer Mischspannung von 5 V Gleichspannung und 10 V Wechselspannung. Die so beschichteten Wafer wurden mit dem Rasterelektronenmikroskop (REM) untersucht.

Ergebnisse

Die Funktionalisierung mit PEI führte zu einem positiven Zetapotential, dadurch konnten die Calciumphosphat-Nanopartikel gut an der Kathode abgeschieden werden. Die Menge und Verteilung der Partikel war abhängig von der Abscheidetemperatur und der Art der angelegten Spannung. Die Abscheidung von Partikelmonolagen verlief optimal bei einer Temperatur von 50 °C.

Schlussfolgerung

Mittels elektrophoretischer Abscheidung ist es möglich, Monolagen von Nanopartikeln auf nanostrukturierte Oberflächen zum Zweck der definierten Übertragung auf biologische Substrate aufzubringen.

Literatur

- [1] R. Le Harzic, D. Dörr, D. Sauer, M. Neumeier, M. Eppe, H. Zimmermann, F. Stracke, *Optics Letters* **2011**, 36, 229.
- [2] R. Le Harzic, D. Dörr, D. Sauer, M. Neumeier, M. Eppe, H. Zimmermann, F. Stracke, *Physics Procedia* **2011**, 12, 29.
- [3] M. Eppe, M. Neumeier, D. Dörr, R. Le Harzic, D. Sauer, F. Stracke, H. Zimmermann, *Materialwissenschaft Und Werkstofftechnik* **2011**, 42, 50.

Korrespondenzanschrift

Katrin Wallat
Universität Duisburg-Essen
Universitätsstr. 5-7
45117 Essen
Deutschland

BMV34

*C. Greulich, J. Diendorf, T.A. Schildhauer, M. Epple, M. Köller

Influence of nano-silver on peripheral blood mononuclear cells: uptake and biological response

Nano-silver (Ag-NP) is used in biomedical applications because of their antimicrobial activity. Ag-NP are coated onto surgical instruments and bone substitute biomaterials. After the implantation of Ag-NP-containing biomaterials, blood cells will get into close contact with the surfaces of these materials. Despite the widespread use of Ag-NP there is a serious lack of information on the biological effects of Ag-NP on tissue cells such as leukocytes.

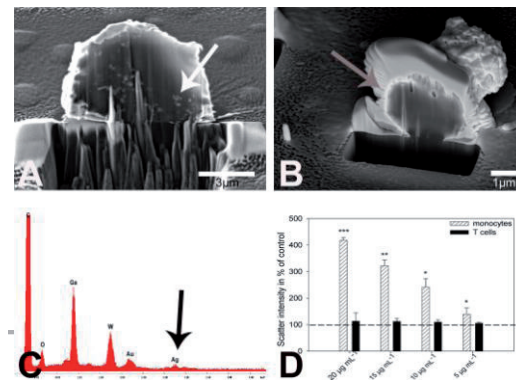
Peripheral blood mononuclear cells were incubated with Ag-NP for 24 h, subsequently the uptake by monocytes and T-cells was analyzed, and the influence of Ag-NP on cell-biological functions (expression of adhesion molecules, cytokine release, ROS generation) was studied. FIB/SEM, FACS, ELISA and light microscopy were used to visualize the uptake into cells and to analyze the biological influence on cells.

Cytotoxicity of monocytes was observed at Ag-NP levels of $25 \mu\text{g mL}^{-1}$. In contrast, no cytotoxicity was observed for T-cells after Ag-NP exposure. Ag-agglomerates were detected within the cytoplasm of the monocytes but not in T-cells. A concentration-dependent activation (increased expression of CD54 and IL-8) of monocytes at sub toxic concentrations of Ag-NP was observed.

The results provide a cell type-specific uptake of Ag-NP and the resultant cellular responses after exposure. The cellular activation was dependent on the uptake of Ag-NP. It cannot be excluded that T-cells do ingest Ag-NP as single nanoparticles. However, the possible uptake of small amounts of Ag-NP is obviously not sufficient to activate T-cells.

Anhang 1

Fig 1: Representative FIB of an individual Ag-NP treated monocyte (A, white arrow denotes intracellular silver) and lymphocyte (B), EDX spectra of the milled monocyte (C) and dose-dependent scatter intensities in % of control (D).



Korrespondenzanschrift

Christina Greulich
 Universitätsklinikum Bergmannsheil
 Bürkle-de-la-Camp Platz 1
 44789 Bochum
 Deutschland

BMV35

*J. Diendorf, D. Mahl, S. Ristig, C. Greulich, Z.-A. Li, M. Farle, M. Köller, M. Epple

Synthese von kleinen Silber-, Gold- und Silber-Gold(50:50)-Nanopartikeln in Wasser mittels Citrat-Reduktion in Anwesenheit von Gerbsäure: Charakterisierung und zellbiologische Aktivität

Hintergrund

Silber- und Gold-Nanopartikel finden unter anderem als antibakterieller Werkstoff^[1] als Wirkstoffträger, in der Tumor-Therapie und für Immuntests^[2, 3] Verwendung. Allerdings sind bei vielen literaturbekannten Synthesen die Ausbeuten gering, oder die Partikel sind nicht in biologischen Medien dispergierbar.

Methoden

Es wurde eine Synthese für relativ kleine Silber-, Gold- und legierte Silber-Gold-Nanopartikel in wässrigem Medium entwickelt. Sie ergibt in hoher Ausbeute Nanopartikel mit guter Dispergierbarkeit in biologischen Medien. Als Reduktionsmittel dienten Natriumcitrat und Gerbsäure, zur Stabilisierung diente Polyvinylpyrrolidon oder ein Triphenylphosphin. Die Partikel wurden mit verschiedenen kolloidchemischen Methoden charakterisiert, und ihre biologische Aktivität wurde an humanen mesenchymalen Stammzellen (hMSC) untersucht.

Ergebnisse

Die Silber-Nanopartikel besitzen einen metallischen Kern-Durchmesser von etwa 20-25 nm, die Gold-Nanopartikel von etwa 5-7 nm und die Gold-Silber-Nanopartikel von etwa 10-12 nm. Sie sind sphärisch und polykristallin. Die Partikel sind monodispers und für eine wässrige Synthese besonders klein. Sie sind gut in dem Zellkulturmedium RPMI mit FCS (fötalem Kälberserum) dispergierbar und bleiben dort über mindestens 24 Stunden stabil. Insbesondere die Silber-Nanopartikel zeigten wie erwartet einen Einfluss auf die Viabilität der hMSC. Die Nanopartikel beeinflussten merklich die Zytokinfreisetzung der Zellen nach Exposition für über 24 Stunden.

Schlussfolgerungen

Die entwickelte Synthese ist in der Lage, monodisperse und kleine Edelmetall-Nanopartikel für biologische Zellexperimente in guter Ausbeute und mit hoher Reproduzierbarkeit zu liefern.

Literatur

- [1] S. W. P. Wijnhoven, W. J. G. M. Peijnenburg, C. A. Herberts, W. I. Hagens, A. G. Oomen, E. H. W. Heugens, B. Roszek, J. Bisschops, I. Gosens, D. Van De Meent, S. Dekkers, W. H. De Jong, M. van Zijverden, A. J. A. M. Sips and R. E. Geertsma, *Nanotoxicology*, 2009, 3, 109-138.
- [2] X. Huang, S. Neretina and M. A. El-Sayed, *Adv. Mater.*, 2009, 21, 4880-4910.
- [3] D. Wu and X. Liu, *Appl Phys. Lett.*, 2010, 97, 061904.

Korrespondenzanschrift

Jörg Diendorf
Universität Duisburg-Essen
Universitätsstraße 5-7
45141 Essen
Deutschland

BMV36

*A. Helth, J. Köhler, M. Calin, A. Gebert, J. Eckert, U. Hempel

Neue massive β -Ti-Nb-Legierungen für Hartgewebeimplantatanwendungen

Der zunehmende Einsatz Ti-basierter Werkstoffe für nicht-degradable Hartgewebeimplantate erfordert eine ständige Weiterentwicklung der biofunktionellen Eigenschaften. Hierbei liegt der Fokus auf der Anpassung mechanischer Eigenschaften und einer optimierten Oberflächen-gestaltung, um Implantatverankerung und Knochenheilung effektiv zu unterstützen. Für die mechanische Stimulation der Knochenheilung wird ein möglichst geringer E-Modul in Verbindung mit hohen Festigkeiten angestrebt. Ausgangspunkt der Arbeiten ist die β -Ti-Legierung Ti40Nb. Sie weist Druckfestigkeiten von ~ 1200 MPa und einen bisher erreichten minimalen E-Modul von ~ 62 GPa aus. Ziel ist es, mittels herstellungs- und zusammensetzungsabhängiger Gefügeeinstellungen die mechanischen Eigenschaften zu optimieren.

Durch Zulegieren von In kann die β -Ti-Phase auch bei reduzierten Nb-Gehalten vollständig stabilisiert und so der E-Modul abgesenkt werden. Durch Anwendung thermomechanischer Verfahren wird ein superelastisches Verformungsverhalten eingestellt, wodurch die Steifigkeit weiter herabgesetzt wird. Legierungsproben werden hinsichtlich ihrer Korrosionseigenschaften charakterisiert und geeignete Maßnahmen zur Oberflächenmodifizierung evaluiert. In ersten Studien wurden Oberflächen von Gussproben mit variierenden mechanischen Polier- und chemischen Ätzgraden präpariert und ihr Einfluss auf Adhäsion, metabolische Aktivität und osteogene Differenzierung humaner mesenchymaler Stromazellen untersucht.

Korrespondenzanschrift

Arne Helth
IFW Dresden
Helmholtzstrasse 20
01069 Dresden
Deutschland

BMV37

*B. Stigler, K.S. Lips, I. Schleicher, A. Neuendorf, S. Schulz, B. Nies, S. Glorius, R. Schnettler

Resorption und Biokompatibilität von Verbundmaterialien aus Eisen-Metallschaum und Calciumphosphatzementen - eine experimentelle Studie am Schaf

Fragestellung

Im klinischen Alltag ist eine Zunahme von osteoporotisch bedingten Frakturen mit spongiösen Defekten zu verzeichnen, woraus ein steigender Bedarf an Ätiologie-adaptierten Knochenersatzmaterialien für den systemisch erkrankten Knochen resultiert. In dieser Studie wurde die knöcherne Integration und Biokompatibilität eines neuartigen Komposits aus interdigitierendem Eisenschaum mit Calciumphosphat-Zement (CPC) untersucht.

Methoden

Bei 20 weiblichen Merinoschafen wurde ein Defekt von 2 cm Tiefe und 1 cm Durchmesser im spongiösen Bereich des distalen Femurs und der proximalen Tibia der hinteren Extremitäten mit einer wassergekühlten Diamanthohlfräse erzeugt und press-fit mit CPC Eisenschaum armiertem CPC (**CPC-Fe**) gefüllt. Als Kontrollimplantate wurden a) mit Brushit beschichteter ungefüllter Eisenschaum (**Fe-B**) und b) der zur Füllung verwendete Calciumphosphatzement in Form einer in situ härtenden Paste (**P-CPC**) verwendet. Die Euthanasie erfolgte 1 bzw. 3 Monate nach Implantation. Die Explantate wurden laborchemisch, zell- und molekularbiologisch untersucht.

Ergebnisse

Bereits nach einer Standzeit von 4 Wochen wird eine Verdichtung des Lagerknochens um das **CPC-Fe** beobachtet. Am Interface befindet sich neugebildeter Knochen. Die Resorption des **CPC-Fe** erfolgt über mehrkernige Makrophagen. In den Kontrollen mit **P-CPC** findet eine verstärkte Resorption statt. Die interdigitierenden Poren des **Fe-B** werden zum größten Teil mit Granulationsgewebe, einsprossenden Blutgefäßen und Fragmenten aus neu gebildetem Knochen gefüllt. Am Eisen-Interface befinden sich ein- und mehrkernige Makrophagen, die das Implantat resorbieren. Es werden keine Entzündungs- bzw. Fremdkörperreaktionen an den Fe-Implantaten nachgewiesen. Klinische Zeichen von Unverträglichkeit wurden in keiner Gruppe beobachtet.

Schlußfolgerung

Sowohl das CPC-Eisenschaumkomposit als auch das Implantat aus Eisenschaum-Brushit zeigen 1 und 3 Monate nach Implantation eine gute Biokompatibilität und knöcherne Integration, die durch die interdigitierenden Poren im Eisen-Brushit-Implantat verstärkt ist. Unsere Ergebnisse liefern Hinweise darauf, dass Implantate aus Eisenschaum eine gute Alternative zu kommerziell erhältlichen Implantaten für den systemisch erkrankten Knochen sein könnten.

Korrespondenzanschrift

Brigitte Stigler
Universitätsklinik Giessen
Rudolf-Buchheim-Str. 7
35385 Giessen
Deutschland

BMV38

*A. Ohrndorf, T. Guillén, H.-J. Christ, Q.-H. Zhang, G. Tozzi, J. Tong

Metallschäume als Ersatzwerkstoffe in der biomechanischen Prüfung orthopädischer Implantate

Aus der biomechanischen Prüfung orthopädischer Implantate können wertvolle Informationen zur Optimierung der Implantatstruktur sowie der Anbindung an den Knochen abgeleitet werden. Üblicherweise werden die Untersuchungen an Knochen toter Tiere durchgeführt. Neben der eingeschränkten Verfügbarkeit frischer Tierknochen wird die Aussagekraft dieser Versuche durch die Variation der mechanischen Knochenkennwerte in Abhängigkeit vom Probenentnahmeort und der individuellen Streuung stark eingeschränkt. Im Sinne einer besseren Reproduzierbarkeit biomechanischer Versuche wäre daher die Verwendung eines homogenen Knochenersatzmaterials wünschenswert, welches sowohl von den mechanischen Kennwerten als auch von der Architektur des Porenaufbaus dem Knochen möglichst ähnlich ist. Hierfür bieten sich offenporige Metallschwämme an, deren mechanische Eigenschaften in dieser Arbeit mit denen von Rinderknochen verglichen wurden.

Zur Messung der Spannungs-Dehnungsverläufe wurden Druckversuche gemäß DIN 50134 an Rundproben dreier Metallschäume sowie Rinderknochenproben aus dem Beckenkamm mit einem Durchmesser von 8mm durchgeführt. Zusätzlich wurde das Schädigungsverhalten mittels in-situ-Verformung in einem hochauflösenden Computertomographen vergleichend untersucht. Auf der Basis der CT-Bilder erfolgte die dreidimensionale Rekonstruktion in Form eines Finite-Elemente-Netzes, welches zur numerischen Modellierung des mechanischen Werkstoffverhaltens genutzt wurde.

Die Spannungs-Dehnungskurven der untersuchten Metallschäume unterscheiden sich qualitativ nur wenig von den Rinderknochenproben, allerdings liegt die Streuung der Kennwerte aufgrund der besseren Homogenität erwartungsgemäß deutlich niedriger als bei Knochen. Während bei den Metallschäumen das Strukturversagen durch das Ausknicken von Zellstegen dominiert wird, konnten im Rinderknochen Bereiche mit eher plattenförmiger Zellstruktur und hohen Spröbruchanteilen beobachtet werden.

Die Ergebnisse der Experimente und der FE-Modellierung zeigen, dass keiner der untersuchten Metallschäume die Forderung nach gleichen mechanischen und strukturellen Kenngrößen im Vergleich zum Rinderknochen vollkommen erfüllen kann. Dennoch liegen die mechanischen Kennwerte sehr dicht an den Knochenkennwerten und zeigen insbesondere bei kleinen Verformungen ein vergleichbares Verformungsverhalten.

Korrespondenzanschrift

Arne Ohrndorf
Universität Siegen
Paul-Bonatz-Str. 9-11
57076 Siegen
Deutschland

BMV39

*H. Waizy, C. Modrejewski, A. Lucas, B. Denkena, A. Weizbauer, H. Windhagen, F. Thorey

Degradierbare Plattengeometrien aus Magnesiumlegierungen. Die Standardisierte Herstellung und biomechanische Charakterisierung nach ISO9585.

Einleitung

Der Anspruch an alternative resorbierbare Implantatmaterialien ist der vollständige Abbau im Verlauf und eine uneingeschränkte Biokompatibilität. Magnesium als essentieller Bestandteil des menschlichen Körpers erfüllt beide Voraussetzungen. In in-vitro Arbeiten wird zusätzlich ein Knochenwachstum stimulierenden Effekt für Magnesiumlegierungen berichtet.

Das Ziel der Studie war die Herstellung von standardisierten Osteosynthesplatten aus einer Magnesiumlegierung (ZEK100) und die biomechanische Charakterisierung unter Korrosionseinfluss nach ISO 9585.

Methoden

Mittels spanende Fertigungsverfahren konnten Magnesiumlegierungen zur Formgebung eingesetzt werden. Durch den Einsatz der Fräsverfahren wurde das Spektrum herstellbarer Probengeometrien erweitert und standardisierte Plattengeometrien hergestellt. Die Platten mit einer Länge von 50mm, Breite von 8mm und Dicke von 1mm beinhalteten 5 Bohrungen mit jeweils einem Durchmesser von 2mm. In einem Korrosionsstand, welcher eine laminäre Strömung von 2mm/min HANK's Lösung bei 37°C beinhaltete waren die Platten der Korrosion ausgesetzt. Zu festgelegten Korrosionszeitpunkten erfolgte dann die 4-Punkt Biegung der Platten entsprechend ISO 9585 an der MTS 858 MiniBionix (Fa. MTS, Berlin, Deutschland).

Ergebnisse

Die Analyse der mechanischen Bearbeitung resultierenden Oberflächen- und Randzoneneigenschaften zeigte eine verbesserte Oberflächengüte durch den Festwalzprozess. Diese zeigte im Vergleich zu anderen Legierungen (MgCa0,8; MgCa0,3) keinen Legierungsunterschied.

Im Verlauf zeigte sich eine Reduktion der Stabilität der Plattengeometrien unter Korrosionseinfluss. Ein deutlicher Abfall der Stabilität war nach einer Korrosionszeit von 144h im 4-Punkt Biegeversuch messbar.

Schlussfolgerung

In dieser Studie konnte zum ersten mal aufgezeigt werden, dass Plattengeometrien standardisiert aus einer Magnesiumlegierung hergestellt werden können und die Testung nach ISO9585 anwendbar ist. Der in-vitro Korrosionseinfluss konnte unter physiologischen Bedingungen im Modell erfasst werden.

Korrespondenzanschrift

Hazibullah Waizy
Medizinische Hochschule Hannover
Anna-von-Borries Str.
30625 Hannover
Deutschland

BMV40

*C. Hampp, J. Reifenrath, N. Angrisani, D. Bormann, J. Seitz, A. Meyer-Lindenberg

Untersuchung der Biokompatibilität von degradablen Magnesiumlegierungen im Vergleich zu Titan im Kaninchenmodell

Hintergrund

Magnesium (Mg) und seine Legierungen vereinen viele positive Eigenschaften, die als Voraussetzung für ein geeignetes Implantatmaterial gelten [1,2]. In dieser Studie wurde die Biokompatibilität der Mg-Legierungen LAE442 und LANd442 mit der von Titan (Ti) verglichen.

Methoden

Implantate aller Materialien (Ø 2,5 mm, Länge 25 mm) wurden bei je 5 (LAE442, LANd442), bzw. 2 (Ti) Kaninchen intramedullär in beide Tibiae eingebracht. Im postoperativen Verlauf (8 Wochen) wurden die Tiere klinisch, röntgenologisch, sowie in vivo μ -computertomographisch (μ CT) im Verlauf untersucht.

Die statistische Auswertung erfolgte mittels ANOVA ($p < 0,05$).

Ergebnisse

Klinisch zeigten alle Tiere derbe Zubildungen um das Bohrloch, sowie die Tiere der LANd442-Gruppe in Einzelfällen Lahmheit und Emphysembildung. Röntgenologisch wiesen Tiere mit Mg-Implantaten stärkere Veränderungen im Implantatbereich auf als Tiere mit Ti-Implantaten (Abb. 1). Im μ CT waren bei Ti zunehmende Werte für Knochendichte und -volumen, sowie eine Abnahme der Porosität zu beobachten (Abb. 2). LANd442 und LAE442 zeigten ebenfalls eine Volumenzunahme, wiesen aber eine Abnahme der Knochendichte und eine Zunahme der Porosität auf, die nach Woche 8 im Vergleich zu Ti signifikant war. Ti induzierte eine vermehrte Knochenbildung um das Implantat herum, die Mg-Implantate dagegen v.a. periostal. Für das Knochenvolumen waren keine signifikanten Unterschiede zwischen den Materialien festzustellen.

Schlussfolgerung

Ti und LAE442 zeigten klinisch eine ähnliche gute Verträglichkeit. Alle Materialien induzierten Knochenaufbauvorgänge. Die Unterschiede in der Knochenporosität könnten durch die Knochenringbildung um die Ti-Implantate bedingt sein.

Literatur

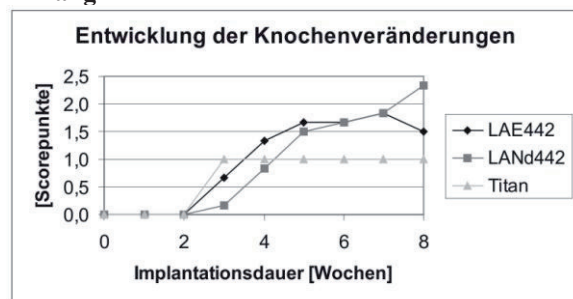
[1] Staiger, Biomaterials 2006 Mar;27(9): 1728-1734

[2] Feyerabend, Acta Biomater. 2010 May;6(5):1834-42

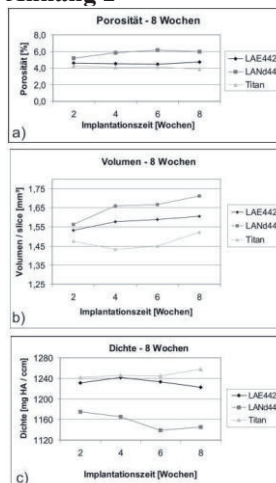
Abb. 1: Entwicklung der Knochenveränderungen (Zubildungen an Implantationsstelle und Diaphyse, Gas, Veränderungen von Markhöhle und Kortikalis) im Verlauf über 8 Wochen anhand wöchentlicher Röntgenbilder, beurteilt mittels semiquantitativem Score (keine Ausprägung: Wert 0; hochgradige Ausprägung: Wert 3).

Abb. 2: Entwicklung der Parameter a) Knochenporosität, b) Knochenvolumen, c) Knochendichte im Verlauf über 8 Wochen anhand 14-tägiger μ CT-Untersuchungen.

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift

Carolyn Hampp
 Stiftung Tierärztliche Hochschule Hannover
 Bünteweg 9
 30559 Hannover
 Deutschland