BMP01

*R. Böhm, S. Williams, M. Zaucha

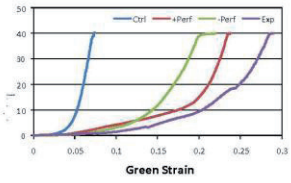
PLGA Dynamic Degradation and Mechanical Properties

The ElectroForce® BioDynamic® test instruments combine mechanical testing and specimen stimulation in one system. Single or multiple specimens can be mechanically loaded under tension/compression, torsion, cyclic hydrostatic pressure, and pulsatile or steady flow. Measurements include displacement, load, torque, rotation, pressure, strain, diameter, pH, dissolved oxygen, carbon dioxide, lactate/glucose, and temperature. Application specific validation studies were performed to determine the capabilities of the BioDynamic test instrument to measure dynamic degradation rates of PLGA scaffolds. Innopol, an open porous PLGA scaffold, produced by InnoTech Medical, Inc. was subjected to cyclic mechanical loading for 8 days while in a PBS bath at 37°C. Throughout the experiment, load and displacement were intermittently measured and recorded. Significant degradation can be observed after the experimental period in all groups compared to controls. In addition, modulus changes over the course of the experiment when the sample is subjected to mechanical loading.

End point testing was performed to compare the experimental sample to the three control samples. Due to geometrical differences at day 8, it would be of little value to compare the force-displacement curves of the four samples. Performing stress-stain analysis removes the bias from the geometrical differences and allows for comparison of the material response. The figure below (curves match captions from left to right) shows the material response of the 4 samples. Due to limitations imposed by the range of the load cell, all of the samples were still intact following the uniaxial test

Anhang 1

Anhang 2



Material response to a displacement ramp.

Korrespondenzanschrift
Rainer Böhm
Bose GmbH
Max-Planck-Str. 36
61381 Friedrichsdorf
Deutschland

BMP02

*M. Ferreira, N. Labude, G. Walenda, W. Wagner, W. Jahnen-Dechent, T. Hieronymus, M. Zenke, S. Neuss

Polymer-based strategy for cord blood-derived hematopoietic stem cell expansion

Over the last decade, cord blood (CB) has become a viable option for haematopoietic stem cell (HSC) transplantation. Wider use of CB is hampered by the insufficient number of stem cells (SC) per graft required for adult patients. Therefore, several strategies have been devised in order to *ex vivo* expand the number of HSC.

Here we use biomaterials for CB-HSC expansion. First, seventeen degradable biopolymers and synthetic polymers from a biomaterial bank (Neuss *et al*., Biomaterials 2008) were assessed for basic compatibility. Viability, cytotoxicity and apoptosis were analyzed using an automated method (Ferreira MV *et al*., Journal of Biomolecular Screening 2011). Six cytocompatible materials were selected - PVDF, Texin, Resomer LR704, Resomer RG503, PCL and Fibrin were used to culture HSC for 7 days. Long-term viability, cytotoxicity and apoptosis were measured. CFSE staining was used to evaluate cell proliferation on the material surfaces. Together with CFSE, the immunophenotype of the cultured cells was analyzed by using the progenitor markers CD133, CD38 and CD34. Colony-forming unit assays and morphology (SEM) were also evaluated. Hematopoietic reconstitution of NOD/SCID mice is currently under assessment.

To evaluate the influence on proliferation of each biomaterial, proliferation curves (CellTiter-Blue® Cell Viability Assay) were established for HSC cultured over a period of 17 days in each of the materials, either using a standard culture cocktail or an optimized cocktail.

HSC cultured in fibrin maintained a more primitive phenotype and showed higher proliferation in comparison to the controls (TCPS). In the future, 3D scaffolds will be tested for HSC expansion.

Korrespondenzanschrift
Mónica Ferreira
RWTH Aachen
Pauwelstrasse 30
52074 Aachen
Deutschland

BMP03

*A. Bertz, S. Wöhl-Bruhn, J.E. Ehlers, H. Menzel, H. Bunjes, K.-H. Gericke

Characterization of a Drug Delivery System Based on Modified Hydroxyethyl Starch Hydrogels

Introduction

Therapeutic proteins could lead to successful treatment of diseases like inflammatory disorders in the future.[1,2] Since some of these drugs show fast degradation in the human body, a protection system is necessary. Hydrogels have potential as such a carrier system.

Methods

Hydrogels were produced by photo-polymerization of modified hydroxyethyl starch 130/0.4 which is already in use as plasma expander. Polyethylene glycol methacrylate or simple methacrylate groups were chosen for modification of HES. Injectable hydrogel microparticles were formed by a water-in-water emulsion technique.[3]

Results

The hydrogels were characterized by rheology and swelling measurements to obtain information about the crosslinking density. The rotational and translational diffusion of enclosed green fluorescent protein were investigated with fluorescence anisotropy and fluorescence recovery after photobleaching (FRAP) measurements, respectively. The results show a free rotation of GFP, retarded only by increased viscosity, but a nearly complete translational immobilization within the polymer. Long term *in-vitro* release studies with FITC-dextran 70 kDa loaded microparticles have been carried out and a release over one year can be observed.

Conclusion

Hydrogels can be produced which immobilize proteins while maintaining free protein rotation. Gel microparticles show an *in-vitro* release of FITC dextran 70 kda in a therapeutically relevant time scale. In particular these microparticles are a very promising drug delivery system.

Literature

[1] B. E. Cabana, *Arzneimittelforschung* 1976, *26*, 151-158.

[2] P. Goddard, *Advanced Drug Delivery Reviews* 1991, *6*, 103-131.

[3] S. Harling, A. Schwoerer, K. Scheibe, R. Daniels, H. Menzel, *Journal of Microencapsulation* 2010, *27*, 400-408.

Korrespondenzanschrift
Andreas Bertz
TU Braunschweig
Hans Sommer Straße 10
38106 Braunschweig
Deutschland

BMP04

*H. Fullriede, N. Timpe, L. Borchers, M. Stiesch, H. Menzel, P. Behrens

Anisotropic silica nanoparticles as fillers for dental composite materials

Introduction

Restorative dental composite materials contain reinforcing inorganic fillers incorporated into organic polymerizable resins. By using anisotropic silica nanoparticles the mechanical properties, e.g. strength, hardness and wear resistance should be improved. However, naturally occurring crystalline silicate particles which have been used so far may not be biocompatible.[1]

Methods

Nanoscale amorphous silica particles with anisotropic shape can be synthesized via the sol-gel route by using surfactants as structure-directing agents and tetraethoxysilane and 3-mercaptopropylsilane as silicon sources.[2] These particles are incorporated into a polymer matrix based on classic methacrylate polymers (Figure 1). Functionalization of the silica fillers with methacrylate groups[3] is applied in order to improve their cohesion with the polymer matrix and the dispersion of filler particles in the organic resins. Samples were characterized by three-point-flexural tests, hardness and ACTA-abrasion[4] test.

Results

By variation of the synthesis parameters various anisotropic morphologies like fibers, spirals or platelets were obtained and functionalized. Anisotropic silica nanoparticles can improve the mechanical properties of the composites significantly in comparison to conventional spherical fillers.

Discussion

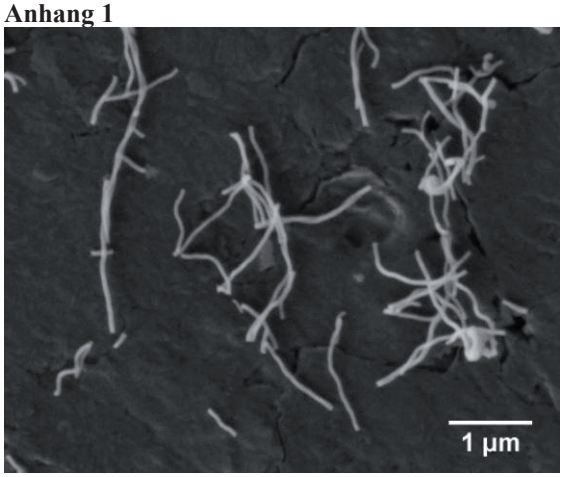
Mechanical properties for composites can be improved, when a good dispersion of anisotropic nanoparticles in the polymermatrix is achieved.

References

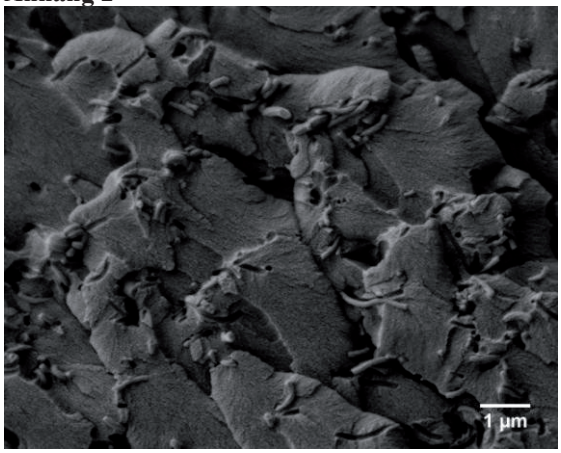
[1] Tian, M., Gao, Y., Liu, Y., Liao, Y., Hedin, N. E., Fong, H.; *Dent Mater*, **2008**, 24, 235-243.
[2] Rambaud, F.; Vallé, K.; Thibaud, S.; Julián-López, B.; Sanchez, C.; *Adv Funct Mater*, **2009**, 19, 2896-2905.
[3] Marschall, R.; Bannat, I.; Caro, J.; Wark, M.; *Microporous Mesoporous Mater*, **2007**, 99, 190-196.
[4] De Gee, A., Pallav, P.; Occlusal wear simulation with the ACTA wear machine, *J Dentistry*, **1994**, Supplement 1, 22, 21 -S.27.

Fig. 1. SEM images of anisotropic silica nanoparticles (left) and of a composite with 5 wt% of silica fillers (right).

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Hendrik Fullriede
Leibniz Universität Hannover
Callinstraße 9
30167 Hannover
Deutschland

BMP05

*C. Schille, L. Kontos, V. Scheer, E. Schweizer, J. Geis-Gerstorfer

Galvanic corrosion behavior of dental implant-abutment combinations

Objective

Goal of this study was to investigate the corrosion behavior of dental Titanium implants in combination with two abutment types. This includes the determination of the electrochemical corrosion behavior as well as the analysis of ion release.

Materials and Methods

The CAMLOG devices SCREW-LINE Implant Promote, Universal-Abutment and Gold-Plastic-Abutment were used.

For the static immersion test each sample was placed in a separate tube and 10 ml solution (0.1 m NaCl/lactic acid; 37 ± 1 C) was added. Analysis of the elements was performed using an ICP-OES Spectrometer Optima 4300 DV (Perkin-Elmer).

For the electrochemical tests isolated wires were attached to samples as electrical contacts using laser welding. The samples were placed into an electrochemical test cell and filled with 100 ml 0.9 % NaCl (37 °C). The corrosion potential E_{CORR} was registered over a time period of 2 hours. Subsequently anodic polarization measurements from -150 mV~E_{CORR} up to 2 V were recorded. From each device and combination >5 measurements were performed.

Results

Total ion release as a function of time represents data of Ti, the other elements were below the detection limit (<0.05 µg/cm²). The anodic polarization curves revealed very similar corrosion currents at potentials up to 900 mV.

Fig. 1+2: Mean ion release data (1) and mean anodic polarization curves (2) according to ISO 10271of CAMLOG SCREW-LINE Implant Promote (Ti grade 4, ASTM F 67, diamter 6.0 mm; length 13 mm; 333.6 mm²) in combination with CAMLOG Universal-Abutment (Ti-6Al-4V ELI, ASTM 136; 354.5 mm²) and CAMLOG Gold-Plastic-Abutment (60Au-20Pd-19Pt-1Ir; 85.5 mm²).

Summary

The electrochemical data as well as the immersion test results demonstrate an excellent corrosion resistance of the CAMLOG SCREW-LINE implants in combination with Universal-Abutments and Gold-Plastic-Abutments.

References

1.) R. L. W. Messer et al: Corrosion of machined titanium dental implants under inflammatory conditions. J Biomed Mater Res Part B: Appl Biomater 88B: 474, 2009.

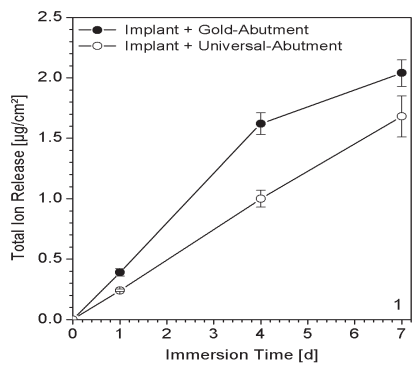
2.) R. Sartori et al: Influence of a fluoridated medium with different pHs on commercially pure titanium-based implants. J Prosth, 18: 130, 2009.

3.) M. Gente et al: In vitro measurements of corrosion currents between titanium implants and titanium, gold and cobalt chrome suprastructures. ZWR, 117, 10: 484, 2008.

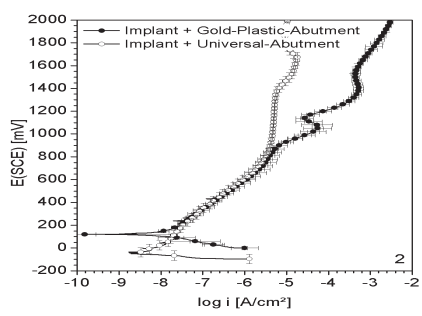
Acknowledgment

Support by CAMLOG Biotechnologies AG is gratefully acknowledged.

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift

Christine Schille
Universitätsklinikum Tübingen
Osianderstr. 2-8
72076 Tübingen
Deutschland

BMP06

*Y. Pan-Bartneck, A. Leifert, U. Simon, W. Jahnen-Dechent

1.4 nm Triphenylphosphine Monosulfonate Modified Gold Nanoparticles Trigger Oxidative Stress

Introduction

Triphenylphosphine monosulfonate (TPPMS) modified 1.4 nm gold nanoparticles (Au1.4MS) are toxic at micromolar concentration in cervical epithelial HeLa cells [1,2]. Here, we show that the cytotoxicity was caused by oxidative stress [3]. AuNPs of similar size but capped with glutathione (Au1.1GSH) or larger AuNPs with same TPPMS ligand but 15 nm diameter (Au15MS) did not induce oxidative stress and were nontoxic.

Results

The cell permeable live stain 5-(and-6)-chloromethyl-2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate, acetyl ester (CM-H_2DCFDA) becomes fluorescent upon oxidation by intracellular reactive oxygen species (ROS). CM-H_2DCFDA was applied to directly demonstrate intracellular ROS by flow cytometry (Figure 1A). Mitochondrial activity was monitored using MTT staining. Figure 1B shows that most of the cells had died and lost the mitochondrial function after treatment with 100 µM Au1.4MS (Figure 1Bi). In contrast cells treated with a mixture of Au1.4MS and glutathione mostly retained normal morphology and mitochondrial activity (Figure 1Bii).

Figure 1 Flow cytometry determination of oxidative stress and viability test for intact mitochondria and respiratory activity.
(A) CM-H_2DCFDA staining shows that Au1.4MS but not Au15MS and Au1.1GSH induce oxidative stress in HeLa cells. The progressively increasing accumulation of intracellular fluorescein and thus oxidative stress is seen in the presence of Au1.4MS from 12 to 48 hours after incubation. (B) MTT staining shows that mitochondrial integrity is restored by adding glutathione to toxic nanoparticles. (i) Cells were treated for 48 hours with Au1.4MS, (ii) a mixture of Au1.4MS and glutathione, (iii) Au1.1GSH and (iv) GSH alone.

Conclusion

The toxicity profile of small AuNP, specifically of Au1.4MS resembles their catalytic properties in gas phase reactions or in organic phase oxidation and halogen abstraction reactions [4]. We therefore propose that the toxicity of Au1.4MS is mediated by their ability to generate reactive oxygen species, ROS from dioxygen. The cytotoxicity of Au1.4MS is further exacerbated by a strong oxidative stress response that creates ROS mainly from mitochondria undergoing permeability transition.

References

[1] Y. Pan et al. *Small* **2007**,11, 1941-1949

[2] W. Jahnen-Dechent et al. *Nanomedicine* **2008**, 3(5), 601-603

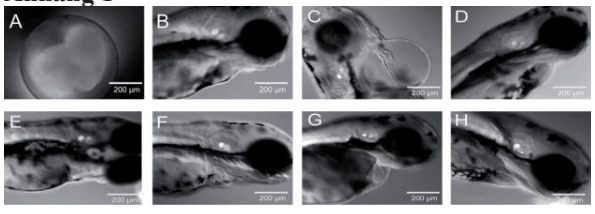
[3] Y. Pan et al. *Small* **2009**, 9(18), 2067-2076

[4] M. Turner et al. *Natur*e **454**, 981-983

Acknowledgements

Financial support by the German Science Foundation (DFG) investigator grants Si609/9, and Ja562/13 is gratefully acknowledged.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Yu Pan-Bartneck
RWTH
Pauwelsstr. 30
52074 Aachen
Deutschland

BMP07

*U. Böer, A. Lohrenz, M. Klingenberg, A. Pich, A. Haverich, M. Wilhelmi

Detergent-based decellularization procedure reduces but not eliminates cellular proteins in equine carotide arteries: implications for immunogenicity

Aim

Biological xenogeneic matrices are alternatives to alloplastic materials in vascular replacement therapy. The acellularity of the matrices which is crucial for its immunogenicity is achieved by various decellularization methods and standardly evaluated by DNA quantification. The aim of this study was to analyze decellularized equine arteriae carotidis (EAC) for residual cellular proteins and to assess its immunogenicity.

Methods

EAC were decellularized by a detergent-based protocol including treatment with endonuclease and DNA content was determined by Picogreen assay. For western blot analyses, matrices were homogenized, extracted by high detergent concentrations and submitted to SDS-PAGE. Western blots were probed with antibodies against various cellular proteins and isolectin B4 for alpha-gal epitope staining. Proteins from a preparative SDS-PAGE were digested by trypsin and submitted to nano-flow ultra high pressure liquid chromatography coupled to an LTQ Orbitrap Velos mass spectrometer. Immunogenicity was investigated by administration of aqueous matrix extracts in mice and the determination of antibody formation by ELISA.

Results

Decellularization of EAC resulted in matrices with 0.6 ng DNA/mg dry weight representing 0.33% of native tissue DNA content. In contrast to the almost complete DNA elimination westernblot analyses revealed cytosolic and cytosceleton proteins like GAPDH and smooth muscle actin which were depleted to 2.6% and 13.5% resp. Also putative immunogenic MHC I complexes and the alpha-Gal epitop were not eliminated but reduced to 12.5% and 15.8%. Mass spectrometry of matrix extracts identified 335 proteins belonging to cytosol, organells, nucleus and cell membrane. Moreover, administration of extracts in mice evoked a pronounced antibody formation and thus display high immunogenic potential.

Conclusion

Our data indicate for the first time that an established decellularization protocol which results in acellular matrices with a low DNA content reduces but not eliminates cellular components which may contribute to its immunogenic potential in vivo.

Korrespondenzanschrift
Ulrike Böer
Medizinische Hochschule Hannover
Feodor-Lynen-Str. 31
30625 Hannover
Deutschland

BMP08

*Y. Pan-Bartneck, M. Graf, D. Laaf, A. Leifert, U. Simon, W. Jahnen-Dechent

The Influence of Gold Nanoparticles on Zebrafish Embryonic Development

Introduction

The cytotoxicity of gold nanoparticles (AuNPs) was reported previously [1,2,3]. Here we studied the influence of 1.4nm gold nanoparticles with triphenylphosphine monosulfonat (TPPMS) ligand on vertebrate development in zebrafish embryos.

Results

The embryonic mortality in response to AuNPs in combination with or without glutathione (GSH) was measured. Figure 1A shows that 72 hours post fertilization (hpf) 100% embryos died in the presence of 400 µM AuNPs of 1.4 nm diameter capped by TPPMS ligand (Au1.4MS). At the same gold concentration, all the embryos survived when glutathione was added (Fig. 1B). Embryos cultured in Au1.4MS at sublethal dose (Fig. 1C) had reduced pigmentation, developmental retardation and string-like heart. Malformations were not observed when glutathione was added to the Au1.4MS (Fig. 1D). Lethality and teratogenesis were low in zebrafish cultured in up to 3.2 mM thiol-modified AuNPs (Fig. 1E). TPPMS (Fig. 1F) and glutathione (Fig. 1G) alone up to 500 µM did not affect zebrafish development compared to the embryos cultured in pure embryo medium (Fig. 1H). In addition to glutathione, N-acetyl-cysteine and sodium thiosulfate also inhibited the toxicity of Au1.4MS without causing any morphological malformation. In contrast, TPPMS, a reducing agent without thiol groups did not decrease embryo toxicity.

Figure 1 Micrographs of zebrafish embryos exposed to gold nanoparticles.

Discussion

The fact that glutathione, N-acetyl-L-cysteine and sodium thiosulfate, but not TPPMS reduce toxicity of Au1.4MS suggested that thiol-containing compounds interfere with the molecular toxicity mechanism. We hypothesize that thiol-containing reductants will greatly influence ligand stability and therefore the ability of AuNPs to interact with biological targets. The binding of TPPMS phosphorus to the gold core is much weaker than GSH sulfur binding and thus TPPMS should be competitively replaced from the gold core of Au1.4MS after contact with GSH. This replacement reaction is likely to avoid the interaction between Au1.4MS and biological targets.

References

[1] Y. Pan et al. *Small* **2007**,11, 1941-1949

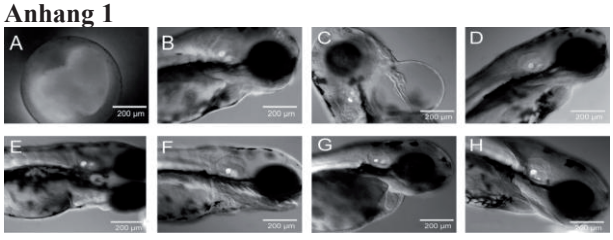
[2] W. Jahnen-Dechent et al. *Nanomedicine* **2008**, 3(5), 601-603

[3] Y. Pan et al. *Small* **2009**, 9(18), 2067-2076

Acknowledgements

Financial support by the German Science Foundation (DFG) investigator grants Si609/9, and Ja562/13 is gratefully acknowledged. We thank Henner Hollert from the Institute of Environmental Research, RWTH Aachen University for help with establishing a zebrafish colony.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Yu Pan-Bartneck
RWTH
Pauwelsstr. 30
52074 Aachen
Deutschland

BMP09

*M. Kieke, M. Badar, S. Behrens, F.-W. Bach, P.P. Müller, P. Behrens

Evaluating Layered Double Hydroxides as a Novel Biomaterial

Introduction

Magnesium and some of its alloys are gaining increasing interest in the field of degradable implant materials due to their osteoproliferative properties of magnesium. Osteoproliferative effects have also been observed for magnesium hydroxide. In contrast to simple $Mg(OH)_2$, the properties of Layered Double Hydroxides (LDHs) with the general formula $M^{II}_{1-x}M^{III}_x(OH)_2{}^{x+}][A_{n-}]_{x/n}\cdot yH_2O)$ can be tailored, for example to give different Mg^{2+} release rates. In this study, various LDHs were synthesized and investigated with regard to their stability in aqueous media and to their biocompatibility.

Methods

To investigate the stability of LDHs, suspensions of LDH nanoparticles were filled into dialysis tubes which were immersed in aqueous media. Samples were taken repeatedly and the magnesium concentrations were estimated by ICP-OES measurements. To evaluate the biocompatibility, NIH3T3-cells were seeded on samples containing LDHs with different anions (CO_3^{2-}, SO_4^{2-} and NO_3^-) and cultivated for 2 days under standard conditions.

Results

The results show that the rate of Mg^{2+} release during the degradation of the LDH materials depends on the cation ratio (M^{II}/M^{III}) and the choice of anion. Also it could be shown that all LDHs tested were biocompatible.

Conclusions

LDHs are a promising novel class of biomaterials. They are biocompatible in cell culture assays and can provide a controllable release of Mg^{2+} ions which could provide osteoproliferative activity.

Korrespondenzanschrift
Marc Kieke
Leibniz Universität Hannover
Callinstrasse 9
30167 Hannover
Deutschland

BMP10

*C. Fleckenstein, C. Mochales, A. Märten, T. Traykova, P. Zaslansky, C. Fleck, W.-D. Müller

Crack propagation in EPD yttria-stabilized zirconia ceramics

Zirconia-based ceramics have gained considerable interest for dental applications due to their high mechanical strength, improved fracture toughness and easy affordability. Generally, one of the main disadvantages of ceramic materials is their brittleness, i.e. low fracture toughness. However, tetragonal zirconia particles (TZP) ceramics show a relatively high toughness due to the impeding crack propagation that takes place in the phenomenon popularly known as Transformation Toughening. Although it is nowadays accepted that this toughening mechanism is due to the martensitic stress induced transformation of the tetragonal (t-ZrO_2) phase to the monoclinic (m-ZrO_2) phase, the crack propagation mechanisms and the mechanics of this transformation toughening are still not clear [1]. For instance, the transformation toughening mechanisms in TZP highly depend on the type and amount of doping agent used to stabilize the metastable t-ZrO_2 at low temperatures.

Thus, the amount of dopant has a great impact on the final toughness of the TZP ceramics. Nowadays, Yttria (Y_2O_3) is the most popular dopant in dental and orthopaedic industry. In this purpose, the influence of the amount of yttria on the crack propagation mechanisms has been studied in detail by micro-indentation and nano-indentation. Y-TZP ceramics with different amounts of yttria have been produced by Electrophoretic Deposition (EPD). In order to induce small and locally limited t-m transformation on Y-TZP, micro-indentation was performed similarly to the work by J. Alcala [2]. Nano-indentation, a powerful tool to measure near-surface mechanical properties of Y-TZP [3], was used to analyse the distribution of local mechanical properties by phase transformation around a small crack tip.

[1] J. Chevalier and L. Gremillard, J. Am. Ceram. Soc., 92 (2009) 901-1920

[2] J. Alcala, J. Am. Ceram. Soc., 83 (2000) 1977-84

[3] J. Gong *et al.*, Acta Materialia 52 (2004) 785-793

Korrespondenzanschrift
Christine Fleckenstein
Charité Universitätsmedizin Berlin
Aßmannshauser Str. 4-6
14197 Berlin
Deutschland

BMP11

*P. Aliuos, E. Fadeeva, M. Badar, P.P. Müller, U. Reich, B. Chichkov, T. Lenarz, G. Reuter

Untersuchung der Interaktionen zwischen Mikrostrukturen und Zellen

Fragestellung

Mikro- und Nanostrukturen beeinflussen die Zelladhäsion und das Zellwachstum [1-3] von medizinischen Implantaten. Dies wird des Weiteren durch die Veränderung der Kontaktfläche zwischen den Zellen und dem Material bedingt [4]. Durch Oberflächenmodifikation soll die Adhäsion und Proliferation der Zellen differentiell beeinflusst werden.Es soll auf Implantaten das Fibroblastenwachstum minimiert und die Besiedelung mit gewebespezifischen Zellen begünstigt werden.

Methoden

Mittels Femtosekundenlaser wurde auf Titan eine Struktur mit hydrophoben Eigenschaften hergestellt (Lotus-Effekt). Die Topographie der Struktur wurde mittels Rasterkraftmikroskop (AFM) abgebildet. Die Adhäsionskraft von Fibroblasten (NIH 3T3, GFP-markiert) wurde mit AFM gemessen und das Adhäsionsmuster und die Proliferation der Zellen mittels Floureszenzmikroskopie charakterisiert.

Ergebnisse

Die strukturierte Titanoberfläche weist Mikrostrukturen mit überlagerten Nanorauigkeiten auf (Abb. 1). Auf dieser Struktur zeigten die Fibroblasten eine nahezu doppelte Adhäsionskraft im Vergleich zu poliertem Titan. In Übereinstimmung mit diesem Resultat ergab sich auch bei der Proliferation nach 3 Tagen eine deutlich höhere Zelldichte auf der strukturierten Oberfläche.

Schlussfolgerung

Überraschenderweise zeigen die Lotus-like-Strukturen größere Zelladhäsion und besseres Zellwachstum. Ursache dafür kann an einer größeren Kontaktfläche der Zellen auf der Struktur im Vergleich zur planaren Kontrollfläche liegen. Weitere Experimente fokussieren sich auf die Bestimmung der tatsächlichen Kontaktfläche sowie auf die Anzahl der fokalen Adhäsionskomplexe.

Literatur

1. Reich U et al. Differential fine-tuning of cochlear implant material-cell interactions by femtosecond laser microstructuring. J Biomed Mater Res B Appl Biomater. (2008); 87B (1):146-153.

2. Dalby MJ et al. Fibroblast reaction to island topography: changes in cytoskeleton and morphology with time. Biomaterials (2003) Mar; 24(6):927-35.

3. Vogt JC et al. Free Bioverit(R) II Implants Coated with a Nanoporous Silica Layer in a Mouse Ear Model - A Histological Study. J Biomater Appl. (2009) 24(2):175-191.

4. Elter P et al. The influence of topographic microstructures on the initial adhesion of L929 fibroblasts studied by single-cell force Spectroscopy. Eur Biophys J (2011) 40:317-327.

Danksagung

Die Studie wurde von der deutschen Forschungsgemeinschaft (SFB 599) unterstützt.

Anhang 1

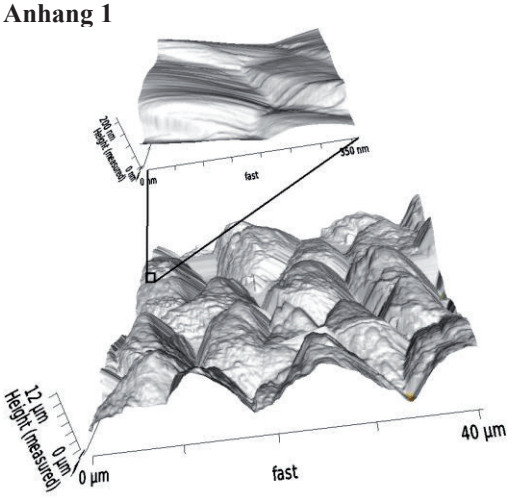


Abb. 1

Korrespondenzanschrift
Pooyan Aliuos
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg-Str. 1
30625 Hannover
Deutschland

BMP12

M. Micheel, *T. Habijan, F. Kahleyß, D. Biermann, T. Schildhauer, M. Köller

Surface modification of NiTi and Ti implant materials by micro drilling

Introduction

Several approaches for enhancing the anchorage of a long-term implant to bone, and thereby avoiding aseptic loosening of the implant, exist. Currently applied modifications of the surface of hip replacements are the use of porous coatings, plasma spraying and blasting the surface of the implant with alumina. Micro drilled holes are another possibility for surface modification of long-term implants. Those holes shall enhance the anchorage to the bone. Through the colonization with hMSCs, the characteristics of these cells in reference to their growth into the varying depths of the holes have been examined.

Experimental Methods

Holes with 4 varying depths (0.4 mm, 0.8 mm, 1.2 mm, 1,6 mm) were drilled in nickel-titanium (NiTi) and titanium specimens. The diameter of all holes was 500 µm. The drill holes were colonized by hMSCs for a period of 24 hours and 7 days, respectively. In addition nickel-titanium specimens were incubated dynamically for seven days on a laboratory shaker (Grant Instruments, Cambridge) and in a cell culture perfusion system (Minucell, Bad Abbach). By using calceinAM/propidium iodine staining the viability oft the cells inside the holes with the varying depths was examined.

Results ans Discussion

Viable cells were detected in all holes. The number of viable cells diminished by the increasing depth of the holes, as expected. The number of non-viable cells was increased by increasing depth of the hole, especially in the more deeper holes (1,2mm, 1,6mm). There was no significant difference between the nickel-titanium and the titanium specimens with regard to the viability of cultured cells. Therefore, the increased number of non-viable cells in the deep holes was not caused by accumulation of nickel-ions. The incubation under dynamic conditions (laboratory shaker and cell culture perfusion system) showed similar results. However, the number of viable cells was higher under dynamic conditions than under static conditions.

Conclusion

When microstructuring orthopedic implant surfaces at a diameter of 500 µm are used, the depth of the holes should be limited to 0.8mm.

Acknowledgements

The authors would like to thank the Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 459: Shape Memory Technique) for providing financial support.

Korrespondenzanschrift
Tim Habijan
Bergmannsheil Bochum
Bürkle de la champ platz 1
44789 Bochum
Deutschland

BMP13

*C. Adamzyk, M.V. Ferreira, M. Zenke, W. Jahnen-Dechent, S. Neuss

Proliferation and Differentiation of Human Hematopoietic Stem Cells on 3D-Scaffolds

Ex vivo expansion of hematopoietic stem cells (HSC) would extend current limitations of HSC transplantation. While traditional two-dimensional cultures have been used to expand immature HSC, three-dimensional (3D) cultures mimicking the *in vivo* hematopoietic microenvironment introduce a new approach.

Previous work from our group showed that two 2D biopolymers (Collagen and Fibrin gel) and two 2D synthetic degradable polymers (Poly(e-caprolactone) and L-lactide/glycolide copolymer) support expansion of HSC. Thus, our strategy includes the evaluation of proliferation and differentiation of cord blood-derived HSC after 7 days of culture using 3D scaffolds of these polymers. A standard cytokine combination of stem cell factor, interleukin-3, interleukin-6, and fetal liver tyrosine kinase-3 ligand was used for culture. Immunophenotypic markers, as well as proliferation after staining with carboxyfluorescein diacetate N-succinimidyl ester (CFSE), were analyzed by flow cytometry. Cell morphology and contact to scaffolds were investigated by light microscopy and scanning electron microscopy (SEM).

Preliminary results indicate better cell proliferation and maintenance of progenitor phenotype for biopolymers instead of synthetic polymers. Microscopy shows that HSC grew in varying density within the scaffolds depending on the specific biomaterial used.

This work will contribute to a better understanding of the biomaterial influence on HSC expansion.

Korrespondenzanschrift
Carina Adamzyk
University Hospital Aachen
Pauwelsstr. 30
52062 Aachen
Deutschland

BMP14

*Z. Ksenia, A. Teresiak, S. Scudino, M. Calin, A. Gebert, L. Schulz, J. Eckert

Powder metallurgical processing of beta-type Ti-Nb alloys

A low Young's modulus is favorable for homogeneous stress transfer between metallic implant and bone. The Young's modulus for bulk Ti-Nb alloys quenched from the ß-phase region exhibits two minima, i.e. at 15 and 40 wt.-% Nb[1]. At 40 wt.-% Nb the value is the lowest since it is possible to stabilize a pure ß-phase. So the composition of the alloy used in this study is Ti40Nb. Aim of this work is to obtain the lowest possible Young's modulus for those Ti-based alloys by inserting a significant fraction of porosity using a powder metallurgical approach. Preparation of alloy powders was made by ball milling of either elemental powders or of pre-alloyed (cast) Ti-Nb samples using a Retsch planetary mill. The received samples were analyzed with x-ray diffraction and electron microscopy. Best results were obtained after 40 hours milling of elemental powder yielding alloy powder which consisted of pure ß-phase with a small amount of a-phase and oxides. Milled ß-Ti40Nb powder was sintered to a bulk state using a hot press. Temperatures[2] for Ti alloy sintering are 1000-1500 ^{0}C without pressure and the process takes up to 2 hours. To avoid such high temperatures and, consequently a grain and particle growth and phase transformation reactions, pressure was and satisfactory results were obtained at 700 ^{0}C. The hot pressed samples had a hardness of ~372 HV and a density of 5,492 g/cm^{3}. Work is in progress to produce porous alloy samples by employing a fugitive phase during hot pressing.

[1] Hanada S. et al. *International Congress Series* **1284** (2005) 239-247[2] Venicius A.R. Henriques, Cesar E. Bellianati, Cosme R.M. da Silva *J. of Material Procedure Technology* **118** (2001) pp. 212-215

Korrespondenzanschrift
Zhuravleva Ksenia
IFW Dresden
Helmholzstraße
01171 Dresden
Deutschland

BMP15

*N. Hammer, F. Brandl, J. Teßmar, A. Göpferich

Hydrogels for drug delivery: Time controlled protein release by hydrolytically cleavable carbamates

Background

In the past decades, hydrogels have been extensively used in the field of controlled drug delivery. They are excellently biocompatible due to their physicochemical similarity to native extracellular matrix. One remaining problem is the rapid release of proteins due to the high water content of the hydrogel carrier. To regulate the protein release, proteins can be covalently attached to the hydrogel structure.

Experimental

We synthesized three different hydrolytically cleavable poly(ethylene glycol) carbamate linkers for the reversible attachment of proteins to PEG hydrogels (Figure 1). As a model protein, we used lysozyme which has seven amine groups that are theoretically available for PEG conjugation. The degree of modification was determined by SDS-page gel electrophoresis. For further characterization, the free amine groups will be determined. Circular dichroism spectroscopy was used to investigate changes in the secondary protein structure during PEGylation. To compare the elimination kinetics of the different linkers, we used SDS-page gel electrophoresis.

Results and Conclusion

With different molar ratios of carbamate linkers to amine groups, lysozyme can be PEGylated with one to three PEG chains. Protein modification occurs without changes in protein structure. Elimination kinetics can be controlled by the design of the PEG carbamate linker. Altogether, covalent attachment by degradable carbamate linkers seems to be a promising strategy for controlled protein release. Currently, we are working on a chromatographic method to follow the release of attached PEG chains.

Acknowledgment: This work was supported by DFG, grant GO 565/16-1.

Anhang 1

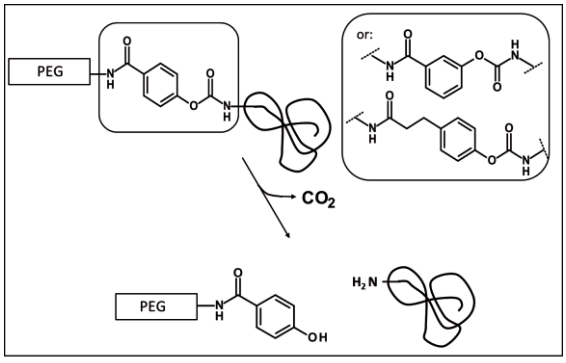


Figure 1: Linking the protein to PEG chains via carbamates

Korrespondenzanschrift
Nadine Hammer
Universität Regensburg
Universitätsstraße 31
93053 Regensburg
Deutschland

BMP16

*C. Kunert-Keil, T. Gredes, A. Meyer, M. Dominiak, T. Gedrange

Untersuchung der *in vitro* Biokompatibilität von PHB-produzierendem Flachs

Einleitung

Der Einsatz von natürlichen Fasern, wie z.B. Flachs, für die Herstellung von Wundabdeckungsmaterialien in Kombination mit biologisch abbaubaren Polymeren wie Polylaktid (PLA) oder Polycaprolacton (PCL) stellt eine exzellente Vorgehensweise für biomedizinische Applikationen dar. Kürzlich wurden Flachspflanzen so genetisch modifiziert, dass sie in der Lage sind, Polyhydroxybutyrat (PHB) zu produzieren.

Zielstellung und Material und Methoden

Ziel der Studie war die Beurteilung der *in vitro* Biokompatibilität von Membranen, die aus gentechnisch modifizierten Flachs in Kombination mit PLA oder PCL bestehen. Maus-Fibroblasten (L929) wurden entweder für 12 bis 48h oder für 1 bis 3 Wochen mit diesen Membranen inkubiert und die Proliferation und die Anzahl abgetöteten Zellen ermittelt.

Ergebnisse

Die kurzzeitige Inkubation der Zellen mit Membranen aus Flachs und PLA bzw. Flachs und PCL führte in allen Fällen zu einer signifikanten Reduktion der Proliferation der L929-Zellen und zum signifikanten Anstieg toter Zellen im Vergleich zu unbehandelten Zellen. Die Zellviabilität betrug dabei ungefähr 82.5% bis 93% im Vergleich zu den unbehandelten Zellen. Der Anstieg der Zytotoxizität bewegte sich zwischen dem 1.4 bis 2.9 fachen im Vergleich zu den Kontrollen. Ab einer Inkubation der Zellen mit den Membranen für mindestens 1 Woche führte die Kombination von Flachs mit PLA zu keinen signifikanten Veränderungen in der Zellproliferation und Zytotoxizität, wohingegen die Kombination aus Flachs mit PCL weiterhin die Proliferation der L929-Zellen signifikant verringerte.

Schlussfolgerung

Die getesteten neuen Wundabdeckungsmaterialien zeigen alle eine gute *in vitro* Biokompatibilität, wobei die Kombination aus Flachs mit PLA bei längerer Inkubationszeit eine bessere Verträglichkeit der Zellen aufweist als die Kombination mit PCL. Die Biokompatibilität der Verbundstoffe aus gentechnisch verändertem Flachs unterschied sich nicht zu der von Verbundstoffe bestehend aus unmodifiziertem Flachs.

Korrespondenzanschrift
Christiane Kunert-Keil
Universitätsmedizin Greifswald
Rotgerberstr. 8
17487 Greifswald
Deutschland

BMP17

*R. Böhm, M. Zauna, S. Williams

Characterization of Agarose Gels in an ElectroForce® Test Instrument

The objective of this work was to employ the Bose ElectroForce® testing platform with Dynamic Mechanical Analysis (DMA) software to apply mechanical stimuli and evaluate the mechanical properties of agarose gels. Dr. Murakami and Dr. Sawae from the Kyushu Institute of Technology provided the agarose samples to investigate the mechanical behavior of low concentration gels at high frequencies. 1% and 2% (wt.) agarose type VII gels were produced from type VII powder using a standard gelling protocol supplied by Dr. Murakami. Test specimens, cut from the bulk gels, were approximately 18mm in diameter and 2.5mm in height. 50mm diameter solid platens were used to secure the sample. Due to the low loads, a 10N load cell was used. DMA consisted of a frequency sweep from 0.1Hz to 100Hz at a range of mean displacements. These mean amplitudes, as measured by stretch ratio, ranged from 0.99 to 0.70, where the stretch ratio, , is defined as where is the loaded height and is the unloaded height. The displacement amplitude was ±0.5% of the unloaded height. The contribution to the complex modulus at lower frequencies is nearly equal, while the storage modulus dominates at higher frequencies, indicating that less energy is dissipated at higher frequencies. Responses at different mean stretch ratios were also evaluated. Tan δ was measured for the 1% gel. There was a much larger phase shift at lower frequencies. Complex modulus at different , provided insight into the material behavior. As the mean stretch ratio is decreased, the modulus of that material is significantly increased. It was also found that the material behaves differently depending upon pre-stretch. As the stretch ratio is decreased, the contribution by the loss modulus to the complex modulus is reduced. Similar results could be seen for the 2% gel with different magnitudes. Tan δ for the 2% gel is less than 1% gels at all most mean stretch ratios tested. The complex modulus of the 2% gel is greater than the modulus for the 1% gel. 3D-graphs can be developed displaying tan δ as a function of both mean stretch ratio and frequency. Incorporating tan δ into a mathematical model would further strengthen the predictive capabilities. With this knowledge, scaffold design parameters and clinical application of gels can be understood prior to development. These experiments demonstrate that the ElectroForce® 3200 test system operates at the desired high frequencies while measuring small loads with precision.

Korrespondenzanschrift
Rainer Böhm
Bose GmbH
Max-Planck-Str. 36
61381 Friedrichsdorf
Deutschland

BMP18

*A. Wrzeszcz, D. Haamann, B. Dittrich, I. Nolte, T. Lenarz, G. Reuter

Dexamethason-beladenes Polydimethylsiloxan kombiniert mit proteinabweisender Hydrogelbeschichtung: Wachstumshemmung bei Fibroblasten

Hintergrund

Die Insertion von Cochlea-Implantaten ins Innenohr bedingt häufig Fibrosierung an der Oberfläche. Dadurch kommt es zu Funktionsverlusten sowohl bei elektrischen als auch laserbasierten Implantaten.

Methoden

Der Lösungsansatz ist Wachstumsinhibition von Fibroblasten durch Freisetzung von Dexamethason (Dex)[1] aus dem Trägermaterial des Implantats (Polydimethylsiloxan, PDMS) und eine Zelladhärenz reduzierende NCO-sP(EO-*stat*-PO) Hydrogelbeschichtung[2]. Es wurden Silikonfäden mit/ohne Dex bzw. Hydrogel *in vitro* mit fluoreszierenden Fibroblasten kokultiviert und mittels Zellzählung ausgewertet.

Ergebnisse

In Wells mit Dex-beladenen Proben reduzierte sich die Zellzahl durch die Diffusion des Dex ins Medium um 70% im Vergleich zu den unbeladenen. Das Hydrogel zeigte keine Auswirkung auf die Gesamtzellzahl im Well, jedoch wuchsen 90% weniger Zellen direkt auf der Probe.

Schlussfolgerung

Die Kombination aus Dex-freisetzendem PDMS und protein-abweisendem Hydrogel eignet sich zur Reduzierung von Fibrosierung.

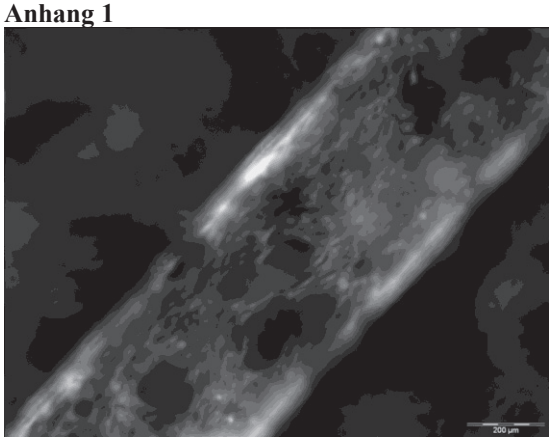
Abb. 1 Fluoreszenzmikroskopie, 100-fache Vergrößerung: Polydimethysiloxan ohne (oben) und mit Hydrogel und Dexamethason (unten); leuchtend: eGFP-Fibroblasten

Literatur

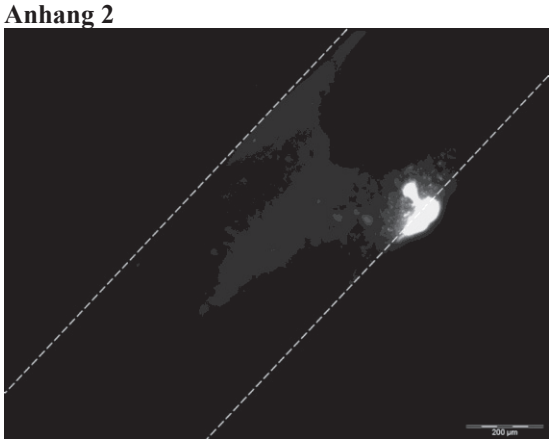
[1] Ramalingam A, Hirai A, Thompson EA. Glucocorticoid inhibition of fibroblast proliferation and regulation of the cyclin kinase inhibitor p21(Cip1). Molecular Endocrinology 1997;11(5):577-86

[2] Groll J, Ademovic Z, Ameringer T, Klee D, Moeller M. Comparison of coatings from reactive star shaped PEG-stat-PPG prepolymers and grafted linear PEG for biological and medical applications. Biomacromolecules 2005;6(2):956-62

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Antonina Wrzeszcz
Medizinische Hochschule Hannover
Carl-Neuberg Str. 1
30625 Hannover
Deutschland

BMP19

*S. Kirchhof, F. Brandl, J. Teßmar, A. Göpferich

Hydrogels for drug delivery: Investigation of the Diels-Alder click reaction as a new cross-linking mechanism

Background

Poly(ethylene glycol) (PEG)-based hydrogels are widely used for biomedical applications due to their excellent biocompatibility. They can be easily injected by minimally invasive techniques and hold great promise as drug delivery systems or tissue engineering scaffolds. Despite their wide application, most cross-linking mechanisms are associated with significant disadvantages, like the formation of radicals or the chemical reaction with incorporated protein drugs. Here, we introduce a new approach of cross-linking PEG-precursors by exploiting the Diels-Alder click reaction.

Methods

To study the Diels-Alder click reaction, two monofunctional model compounds (2 and 5 kDa) molecular weight were synthesized. 3-(2-Furyl)propionic acid and mPEG5k-amine were reacted using *N*-hydroxysuccinimide and *N,N´*-dicyclohexylcarbodiimide to yield the first reactant mPEG5k-furan. To obtain the counterpart mPEG2k-maleimide, a three-stage reaction was established. First, furan and maleimide were condensed to yield 3,6-epoxy-1,2,3,6-tetraphthalimide (ETPI). Then, mPEG2k-maleimide was synthesized by Mitsunobu-reaction and subsequent Retro-Diels-Alder-reaction to liberate the maleimide.

The two components were dissolved in 2 ml of Millipore water. After mixing the two polymer solutions, they were incubated at 37°C for 3h (Fig. 1), finally the water was removed by freeze-drying for further analysis.

Fig. 1: Diels-Alder-click reaction for creating in situ forming hydrogels

In order to proof the successful linkage of the components, the molecular weights of reactants and product were determined by gel permeation chromatography (GPC) using refractive index detection.

Results & Conclusion

mPEG5k-furan (component A) and mPEG2k-maleimide (component B) were obtained in high yields and purity, as determined by ^{1}H-NMR spectra (300 MHz, $CDCl_3$, data not shown).

GPC analysis revealed a significant increase in molecular weight after Diels-Alder reaction in comparison to the single components.

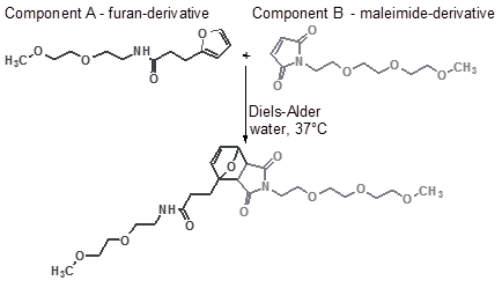
Fig. 2: GPC-data of Diels-Alder product and reactant

In consequence, we successfully cross-linked two monofunctional PEG-derivates via a Diels-Alder-click reaction in aqueous solutions at body temperature without further activation or catalysis. The newly established chemistry will now be transferred to branched PEG derivatives in order to prepare cross-linked PEG hydrogels.

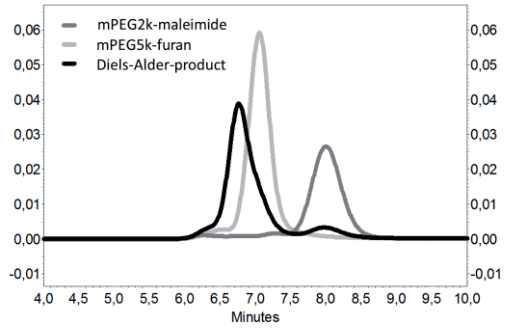
Acknowledgements

This work has been supported by Deutsche Forschungsgesellschaft (DFG), grant number GO 565/16-1.

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Susanne Kirchhof
Universität Regensburg
Universitätsstr. 31 • 93053 Regensburg
Deutschland

BMP20

*G. Lasko

FEM-Simulation der mechanischen Eigenschaften bionisch inspirierter TiO2/PE Nano-Verbundwerkstoffe

G. Lasko, Z. Burghard, S. Schmauder, U. Weber
1Institut für Materialprüfung, Werkstoffkunde und Festigkeitslehre (IMWF) , Universität Stuttgart, Pfaffenwaldring 32, D 70569, Stuttgart, Deutschland
2Institut für Festkörperforschung, Heisenbergstrasse 3, Stuttgart, Deutschland

Die außergewöhnliche Kombination von Festigkeit und Härte, die von hoch strukturoptimiertem natürlichem Perlmutt erreicht wird, hat (starkes) Interesse an der Herstellung neuartiger Schichtverbundwerkstoffe angeregt.

Während der vergangenen Jahre wurden zunehmend Anstrengungen unternommen, den strukturellen Aufbau zu erforschen und somit die Erzeugung neuartiger Nano-Kompositwerkstoffe zu ermöglichen. Diese Bemühungen erfordern quantitative Daten der inneren Feinstruktur und der Eigenschaften aller Bestandteile. Aufgrund technischer Unzulänglichkeiten bei derart kleinen Strukturen sind entsprechende Meßwerte häufig unzureichend. Die vollständige Nachbildung des Muschelschalenaufbaues wurde deshalb noch nicht erreicht.

Numerische Methoden und Modellbildungen ermöglichen jedoch vertiefte Einblicke und ein Verständnis des mechanischen Verhaltens bionisch-inspirierter Verbundwerkstoffe im mikroskopischen Maßstab. Hier werden schichtartige Architekturen vorgestellt, die aus (anorganischem) Titandioxid (TiO_2) und organischen Polyelektrolytschichten bestehen. Die Herstellung kann in einem chemischen Tauchbad-Verfahren (CBD) erfolgen.

Wir konzentrieren uns auf hochentwickelte Nanoverbund-Schichtensysteme aus TiO_2-Polyelektrolyt (PE). Im hier vorgestellten Beitrag werden FEM-Simulationen des mechanischen Verhaltens dieses Schichtenverbundmaterials (TiO_2-PE) präsentiert: Der Einfluß des Schichtdickenverhältnisses von anorganischer und organischer Phase D_{anorg}/d_{org} auf die Härte und den E-Modul wurde mit analytischen Modellen und numerisch mithilfe der FEM-Methode untersucht. Die bleibende plastische Verformung der beteiligten Phasen konnte durch die Verknüpfung der inversen FEM-Modellbildung mit Nano-Eindruckmessungen beschrieben werden.

Korrespondenzanschrift
Galina Lasko
IMWF
Pfaffenwaldring
70569 Stuttgart
Deutschland

BMP21

*F. Tabary, U. Reich, T. Haas, T. Doll

Routes Towards Optimized Conductive Nanotube Implants

Cochlear implants, which commonly contain 12 to 22 electrodes, show a stiffness which is correlated to the number of Pt wires. Any effort to increase the number of channels would result in stiffnesses that harm the scalae during insertion.

Multiwall- Carbon Nanotubes (MWCNT) immersed in Silicone can be used for more flexible conductive layers and surface electrodes [1]. Our measurements prove low Youngs Moduli - as low as 6 E+5 Pa - which is significantly lower than actual Pt-wire implants. However, the conductivity with 5% MWCNT is still quite low (figure 1) whilst increased MWCNT load beyond that level detriment elasticity drastically. Thus, new routes of optimization is desired. Additionally, ways for robust fabrication of multi electrodes with up to 100 channels biocompatibility must be addressed.

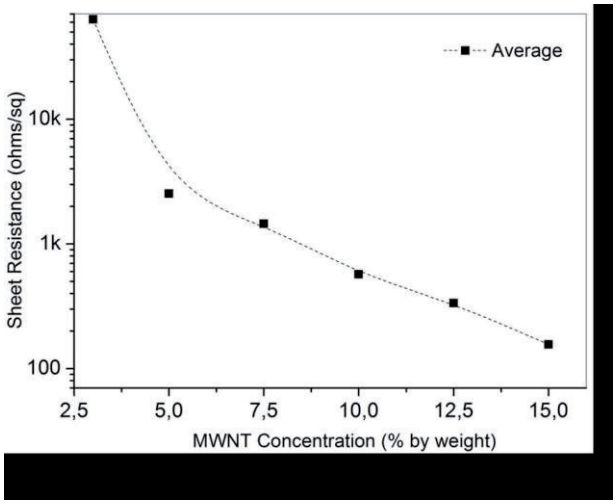
We report optimization of conductivity and elasticity of MWCNT-functionalized Silicone achieved by interconnecting Ag nanoparticles, alkyl- or polyactetylene chains. These act as flexible pivots which lower the percolation threshold and thereby ease the current conductivity-elasticity tradeoff. To ensure selective distributon of the Au-NPs on the CNT's hanks in PDMS matrix, MWCNTs were cut into smaller tubes using chemical and mechanical methods e.g.: etching or sonication. The composites were obtained by injection/extrusion of the CNTs dispersion mixed with curing agent to preliminary agent mixed with Ag Organic compound. By this fabrication process, the CNTs can be exposed to increase the total sensing area of an electrode with lower impedances.

Whilst the discussion on CNT biocompatibility is under way; we pursue chemically anchoring of MWCNT's to the polymer matrices. This can be done via COOH and double thiol-linkers or their sulphurless substitutes (figure 2).

The current layer-by-layer fabrication method of squegeeing partially polymerized layers has been altered towards a parallel technique: Brushing conductive pre polymer into a 3D molded Silicone tape which is rolled into a pancake arrangement going into a final encapsulation.The achieved results are compared with finite element simulations for the maximum implant elasticities. These meet lowest insertion forces but avoid possible buckling of such super-elastic structures inside the inner ear.

[1] S. Kurzweg et. al., Bio Materials 10, S1, 2009, 80

Anhang 1



Anhang 2

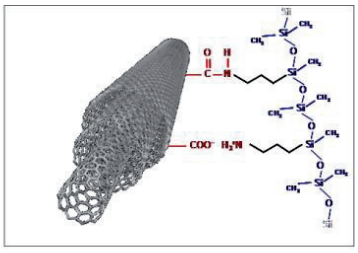


Fig. 2 Improved biocompatibility of MWCNT chemically anchored to the polymer chains.

Korrespondenzanschrift
Farzin Tabary
adlantis Dortmund GmbH
Konrad-Adenauer Allee 11
44263 Dortmund
Deutschland

BMP22

*J. Kaiser, E. Kroner, B. Schick, E. Arzt

Multifunktionelle mesostrukturierte Oberflächen für medizinische Anwendungen

In der operativen Behandlung perforierter Trommelfelle wird ein autologes Transplantat medial des Defekts eingelegt. Zur Unterstützung der Wundheilung und Stabilisierung des Transplantats werden Silikonfolien von außen dem Trommelfell aufgelegt. Für den Patienten entstehen dabei Belastungen, die sich aus der Operation und allen damit verbundenen notwendigen Maßnahmen ergeben. Bei einem Verrutschen des Transplantats kann der Erfolg der Operation ausbleiben. Die Entwicklung eines multifunktionellen Implantatmaterials, das sowohl die notwendige Adhäsion zu Gewebe als auch eine attraktive Matrix für zelluläre Wundheilung aufweist, bietet das Potential den Verschluss eines Trommelfelldefekts mit einer deutlich geringeren Belastung für den Patienten zu erreichen.

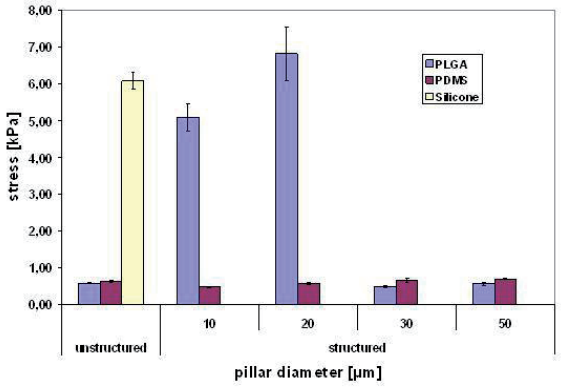
Ein viel versprechender Weg zur Herstellung verbesserter Transplantate ist das Nachahmen biologischer Haftsysteme. Es konnte gezeigt werden, dass mikrostrukturierte Oberflächen eine deutlich erhöhte Adhäsion gegenüber unstrukturierten Oberflächen aufweisen. Allerdings wurde die Adhäsion auf weichen und feuchten Oberflächen, wie sie für medizinische Anwendungen erforderlich ist, bisher nur ansatzweise untersucht.

Im Rahmen unserer Studien wurden mikrostrukturierte polymere Oberflächen durch Photolithographie in Kombination mit Abgießen hergestellt. Als Polymere wurden Polydimethylsiloxan (PDMS) und Poly(lactic-co-glycolid)acid (PLGA) verwendet.

Um stabile Messkonditionen zu garantieren, wurde gegen ein Modellsubstrat bestehend aus Gelatine und Glycerin getestet. Versuche mit flachem und strukturiertem PDMS ergaben, dass die Haftkraft auf dem Modelsubstrat aus Gelatine für beide Arten von Proben deutlich geringer ist, als gegen Glas. Erste Versuche mit PLGA zeigen dagegen einen deutlichen Anstieg der Haftkraft gegen das Modelsubstrat im Vergleich zu Glas. Auffällig ist hier, dass die Kraft für unterschiedliche Säulendurchmesser stark variiert. Weitere Experimente haben gezeigt, dass bestimmte Strukturgrößen eine ähnlich hohe Adhäsion wie der zurzeit verwendete Silikonstreifen erreichen (Abb.1).

Abb.1 Der Vergleich von PDMS und PLGA zu dem momentan verwendeten Silikonstreifen zeigt, dass strukturiertes PLGA die Adhäsion des Silikons übertreffen kann

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Jessica Kaiser
INM Leibniz Institut für Neue Materialien
Campus D2 2
66123 Saarbrücken
Deutschland

BMP23

*C. Matschegewski, H. Birkholz, S. Staehlke, R. Lange, U. Beck, K. Engel, B. Nebe

Determination of cellular phenotype and actin quantification of osteoblasts on geometrically defined microtextured titanium arrays

Introduction

Microtexturing of implant surfaces is used as a major task for improving biorelevant implant designs. However, knowledge about quantitative relationships between microarchitectural properties of a biomaterial and cell physiology is still insufficient [1]. This study is focused on the quantification of the cellular phenotype and the actin cytoskeleton of osteoblasts grown on geometrically microtextured titanium arrays to determine their influence on cell-morphometric parameters.

Materials and Methods

We used geometrically microtextured titanium arrays with (i) rectangular grooves (width and height: 2 µm), (ii) cubic pillar structures (pillar dimensions: 2x2x5 and 5x5x5 µm), and (iii) planar titanium samples as control (Ref). Human MG-63 osteoblasts were cultured on titanium arrays for 24 h. Cell morphology was examined by scanning electron microscopy. Actin was stained with phalloidin and visualized by confocal microscopy. Actin filaments were quantified by the novel software *FilaQuant* [2].

Results

On the microstructures, osteoblasts exhibit an elongated phenotype. On Ref and the grooved array, actin is organized in well-defined stress fibers. In contrast, on the pillared surfaces actin is accumulated on the pillars in short fibers. The quantification of actin filament formation revealed a significantly reduced average filament length on pillars (2.8 and 3.2 µm for 2x2x5 and 5x5x5, respectively) compared to Ref and the grooved array (10.0 and 13.2 µm, respectively) (Fig. 1).

Conclusion

In this study, we revealed alterations of the cellular phenotype in a surface topography-dependent manner. By means of our novel software *FilaQuant*, we were first able to quantify the actin filament formation due to the microtexture of the biomaterial. This approach opens new possibilities for data correlation cells vs. material.

Acknowledgments

CM, HB and SS appreciate the financial support of the DFG (NE 560/7-2 and GRK welisa 1505/1).

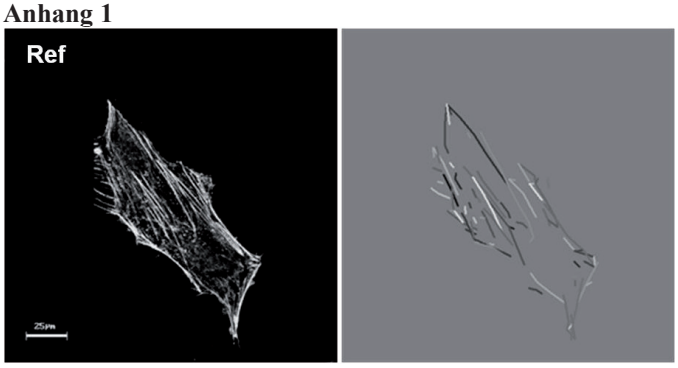
References

1. Matschegewski C et al. (2010), Biomaterials 31(22), 5729-5740

2. Birkholz H et al. (2010), IFMBE Proceedings 25/4, 1932-1935

Fig. 1: Basic image for the quantification of actin filament formation. *left:* confocal image (LSM 410, Carl Zeiss), *right:* automatically processed image from *FilaQuant* software. Actin filaments are shown as grey-white lines.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Claudia Matschegewski
Universität Rostock, Medizinsche Fakultät
Schillingallee 69
18057 Rostock
Deutschland

BMP24

*J. Piontek, H.P. Jennissen

Investigations on the Layer Structure of Surface-Bound rh-BMP-2

Introduction

A simple way of synthesizing hydrophobic surfaces is to modify it with aminopropyl triethoxy silane (APS). Previously we showed that the binding capacity of glass surfaces for BMP-2 strongly depends on the surface concentration of immobilized aminopropyl groups [1]. Here we study the dependence of the binding capacity on the BMP-2 concentration and the structure and area of the resulting protein layers in comparison to the actual surface area of the solid.

Methods

Cleaned Quartz mini plates (fused silica, Suprasil 1, Heraeus, Hanau, 5x10x1 mm) and titanium miniplates (anodically oxidized (ao), grade 2, Bensmann, Essen, 5x10x1 mm) were employed. From the microscopic surface roughness ($r_m = A'/A$) we calculated the actual surface area (A') as 1.3 cm^2 ($r_m = 1.0$) for quartz glass and 1.63 cm^2 ($r_m \sim 1.25$) for titanium miniplates. The surfaces were reacted with APS (5%) and for covalent coupling additionally with carbonyl diimidazole CDI [2]. For rhBMP-2 binding the mini plates were incubated over night in a rhBMP-2 solution (in borate/SDS buffer, pH 10.0) and washed with PBS buffer (pH 7.4) [1]. Bound rhBMP-2 was determined with ^{125}I-rhBMP-2 in a gamma counter [1]. All experiments were done in triplicate (n=3).

Results

Previous studies on the APS modification have shown that with 5% APS ~0.4 nmol/cm^2 are coupled to quartz glass and ~ 1.4 nmol/cm^2 to Ti-miniplates.

Based on a molecular size of 20 nm² [3] and a molar mass of 26,000 kDa [2], 0.22 µg of a monolayer of rhBMP-2 corresponds to 1 cm^2. The calculated occupied area and monolayers of rhBMP-2 is shown in **Fig. 1** with the adsorbed amount on quartz glass increasing linearly with the rhBMP-2 concentration up to 0.88 monolayers without reaching saturation. On Ti-miniplates (**Tab. 1**) saturation is reached at c_{BMP-2} = 0.35 mg/ml with 1.4 monolayers. From the APS surface concentrations above it can be calculated that on quartz glass ca 50-60 and on titamium 190-200 aminopropylresidues (APR) are covered by one BMP-2 molecule.

Conclusions

At pH 10.0 evidence in agreement with a single monolayer of rhBMP-2 on quartz glass to and titanium miniplates

for adsorbed (APS) and covalently linked (CDI) protein is presented. The molar ratio of APR/BMP-2 lies between 50 and 250 for glass and titanium respectively.

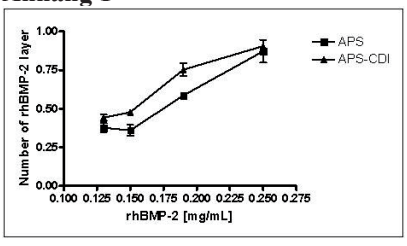
[1] Piontek, J., Zdrenka, R., Jennissen, H.P. *Biomaterials*, **11(S1)**, 71, 2010.

[2] Jennissen H.P., Zumbrink, T., Chatzinikolaidou M, Steppuhn, J. *Materialwiss. Werkstofftech*. **30**, 838-845, 1999.

Fig. 1. Number of rhBMP-2 layers of APS and APS/CDI-modified quartz glass plates as a function of incubation concentration (values ± SD).

Tab. 1 Number of rhBMP-2 layer of APS and APS/CDI-modified titanium plates.

Anhang 1



Anhang 2

c(BMP) [mg/mL]	Modification	bound BMP [µg/cm²]	Number of BMP layer
0.15	APS	0.093	0.429 ± 0.031
0.15	APS-CDI	0.124	0.575 ± 0.060
0.25	APS	0.122	0.576 ± 0.076
0.25	APS-CDI	0.110	0.521 ± 0.086
0.35	APS	0.287	1.330 ± 0.288
0.35	APS-CDI	0.318	1.474 ± 0.399
0.50	APS	0.228	1.057 ± 0.066
0.50	APS-CDI	0.178	0.823 ± 0.050

Korrespondenzanschrift
J. Piontek
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55
45147 Essen
Deutschland

BMP25

*S. Stählke, C. Matschegewski, R. Löffler, R. Lange, U. Beck, D. Kern, J.B. Nebe

Analyse der Interaktion von Osteoblasten auf mikrostrukturierten Oberflächen in Bezug auf die Organisation des Aktinzytoskeletts

Hintergrund

Die Interaktion von Osteoblasten mit der Titanoberfläche wird beeinflusst durch die Topographie und durch. physiko-chemische Eigenschaften [1]. Frühere Untersuchungen zeigten eine räumliche Organisation der Aktinfilamente (Mimikry) von humanen Osteoblasten auf mikrostrukturierten Titanoberflächen [2]. Es erhebt sich die Frage, ob die Proteinanlagerung an Kanten oder der Materialtyp oder sogar die auf Zellen wirkende Gravitationskraft die Ursache für die Umstrukturierung des Aktinzytoskeletts ist

Methode

Als Material dienten Siliziumwafer mit regelmäßigen kubischen Pfosten, 5x5x5µm im Abstand von 5 µm (SU-8 5x5), sowie als Referenz unstrukturierte Oberflächen, die Final mit 100 nm Titan besputtert wurden [2]. Für die Analysen wurden zum Einem die Oberflächen zusätzlich mit Kollagen-Typ-1 beschichtet und zum Anderem die mikrostrukturierten Wafer nach 30 min Inkubation mit Zellen umgedreht und so entgegen der Schwerkraft bis 24 h kultiviert. Humane Osteoblasten (MG-63, ATCC, CRL-1427) wurden nach 24 h Kultur mit Phalloidin-TRITC angefärbt und das Aktin mit Hilfe der konfokalen Mikroskopie ausgewertet (LSM 410, Carl Zeiss).

Ergebnisse

Die Osteoblasten auf der Referenz zeigten eine typische Aktinformation, organisiert in langen Stressfasern (Abb.1A), während auf den mikrostrukturierten Oberflächen das F-Aktin irregulär auf und um den Pfosten verteilt ist (Abb.1B). Die veränderte Aktinformation der Zellen auf den Mikrostrukturen zeigte sich auch bei der Analyse der entgegen der Schwerkraft kultivierten sowie den mit Kollagen beschichteten Proben (Abb.1C-D).

Schlussfolgerung

Der deutliche Einfluss der Mikrostruktur auf die Organisation des Aktinzytoskeletts von MG-63 ist nachweisbar. Als Ursache dafür konnten wir Proteinanlagerung auf den Pillarstrukturen, sowie den Druck bedingt durch Gravitationskraft ausschließen.

Danksagung

Wir danken für die finanzielle Unterstützung von der DFG (NE 560/7-1), sowie des DFG Graduiertenkollegs welisa 1505/1.

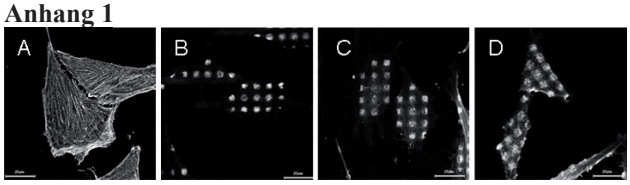
Literatur

[1] Nebe JB et al (2007) Biomol Eng 24: 447-454

[2] Matschegewski C et al (2010) Biomaterials 31: 5729-40

Abb. 1: Organisation des Aktinzytoskeletts von MG-63 auf Mikrostrukturen nach 24 h:
(A) Referenz, **(B)** SU-8 5x5, **(C)** Su-8 5x5 mit COL-Beschichtung, **(D)** SU-8 5x5 Zellkultur entgegen der Schwerkraft. Bar = 25 µm.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Susanne Stählke
Universität Rostock, Medizinische Fakultät, Biomedizinisches Forschungszentrum
Schillingallee 69
18057 Rostock
Deutschland

BMP26

*U. Sommer, 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 Titanstruktur mit biologischer Reaktionsschicht *in vitro*

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.

Vor Evaluation des Materials im Tierversuch sollte es *in vitro* auf seine Biokompatibilität getestet werden. Zu diesem Zweck wurden beschichtete und unbeschichtete Titangitter in 24-Well-Mikrotiter-Platten zusammen mit mesenchymalen Stammzellen ausgesät und bis 35 Tage osteogen differenziert. Als Kontrolle diente eine Zellkultur ohne Titan. Verwendet wurden mesenchymale Stammzellen aus 5 Zelllinien, die aus Bohrmehl, einem 'Abfallprodukt', das beim Anbohren langer Röhrenknochen anfällt, kultiviert und osteogen differenziert wurden.

Der Nachweis der Zellbesiedelung auf der Titanoberfläche konnte rasterelektronenmikroskopisch und durch den immunfluoreszenzmikroskopischen Nachweis zytoskelettalen Aktins realisiert werden.

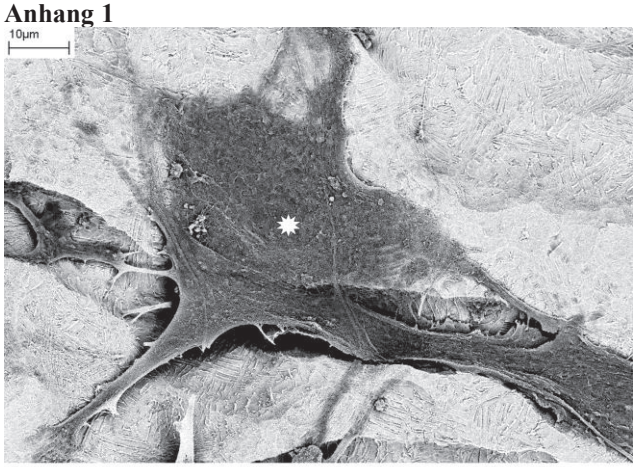
Der Nachweis der osteogenen Differenzierung der Zellen in Gegenwart der Titanstrukturen erfolgte durch den Nachweis der Alkalischen Phosphatase und der Mineralisierung.

Mit Hilfe von Propidiumjodid, einem Fluoreszenzfarbstoff, der lediglich tote oder beschädigte Zellen anfärben kann, wurde indirekt die Gesamtzahl lebender Zellen bestimmt und zwischen den verschiedenen Implantaten verglichen. Die Proliferationsfähigkeit der kultivierten Zellen konnte durch Verwendung des MTT-Tests evaluiert werden.

Mittels qualitativer und quantitativer PCR erfolgte die Bestimmung der Genexpression von Osteokalzin und Alkalischer Phosphatase.

Sämtliche getestete Titanproben zeigten eine gute Biokompatibilität mit nur geringen, statistisch nicht signifikanten Unterschieden zwischen den verschiedenen Typen.

Anhang 1



Rasterelektonenmikroskopische Abbildung von osteogen differenzierten Zellen (Stern) auf der Titanoberfläche

Korrespondenzanschrift
Ursula Sommer
JLU Gießen
Kerkrader Str. 9
35394 Gießen
Deutschland

BMP27

*M. Keßler, A. Göpferich, J. Teßmar

Tensile properties of polymer films for the prevention of postsurgical adhesions

Introduction

Peritoneal adhesions occur quite often between intra-abdominal tissues after surgical intervention. Possible consequences are not only strong pain, but also secondary infertility or lethal bowel obstructions. Amongst others, physical barrier devices consisting of polylactide [PLA] are in clinical use due to their excellent biocompatibility and biodegradability [1]. However, their tensile properties, essential for the surgical application and their *in-vivo* performance, still have to be optimized.

Methods

Differently composed PLA-PEG copolymers with varying PLA chain lengths and poly(ethylene glycol) [PEG] content were synthesized via standard ring-opening polymerization using stannous octoate as catalyst [2]. To further characterize the resulting polymers, molecular weights and composition (GPC and NMR) as well as the glass transition temperatures (DSC) were determined. Subsequently, polymer films were cast on sigmacote-coated glass plates, dried under a fume hood and cut into 1 cm wide strips before being torn by a single column test frame (Instron 5542).

Taking into account the different conditions inside the body or during surgery the experiments were conducted at room temperature as well as elevated temperature.

Results

With higher PEG content higher strains at break **(Fig. 1)** and lower maximum loads were observed. While a plastic deformation of films with higher PEG content was measured at both temperatures, films with lower PEG amount showed this behaviour only at increasing temperature or not at all (**Fig. 2**).

Fig. 1: *Strain at break of linear PLA-PEG-PLA copolymers*

Fig. 2: *Immediate breakdown of the PLA film and extended plastic deformation of a copolymer film (on a logarithmic strain axis!)*

Conclusions

The obtained stress/strain curves for the polymer films indicate that a chemical modification of the PLA barrier film with appropriate plasticizers like PEG could lead to a better handling as well as more comfort for the patient. Adjustment of the film's mechanical properties and its degradability are key elements for further improved physical barriers.

Acknowledgements

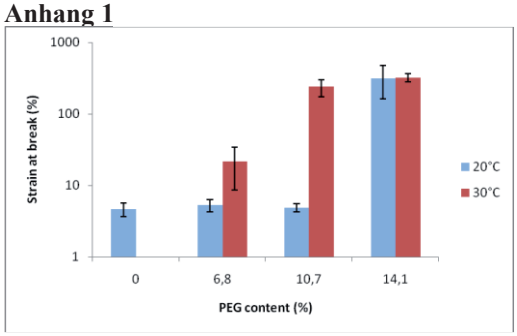
Thanks are due to Mast Biosurgery and the BMBF (FKZ: 03FPB00330).

References

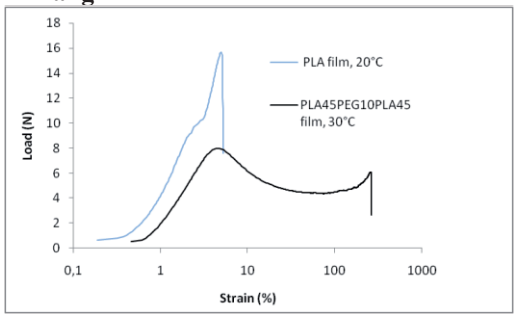
[1] Y. Yeo, D.S. Kohane, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,* (2008), **68**, 57-66

[2] S.S. Venkatraman, P. Jie, F. Min, B.Y.C. Freddy, G. Leong-Huat, *International Journal of Pharmaceutics*, (2005), **298**, 219-232

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Martina Keßler
Universität Regensburg
Universitätsstr. 31 • 93053 Regensburg
Deutschland

BMP28

*D. Linde, G. Schneider

Evaluierung von Implantatmaterialien mit dem Jenaer Schädelmodell: Mikro-CT und Hartgewebehistologie

Hintergrund

Das Jenaer Schädelmodell (1) ist ein aussagekräftiges *in-vivo* Modell für die Evaluierung von Knochenersatzmaterialien im Schädelbereich, das in unserer Arbeitsgruppe entwickelt wurde und seit mehreren Jahren erfolgreich eingesetzt wird (2). Es dient insbesondere zur Bewertung der Integration von Implantaten in das Knochengewebe, von Biodegradation, Fremdkörperreaktion und Wirkungen auf Nervengewebe (1, 2).

Methoden

In die Schädelkalotte von Kaninchen wurden Biomaterialien implantiert. Die explantierten Hart- und Weichgewebe wurden histologisch evaluiert (1, 2). Mikro-CT (µCT) Scans der Explantate wurden mit dem nanotom® (phoenix|x-ray) erstellt und mit Avizo® Fire (vsg) ausgewertet.

Ergebnisse

Bei röntgendichten Implantatmaterialien ermöglichen µCT-Scans umfassend und quantifizierbar die Beurteilung von Position bzw. Abstand relativ zum Knochen, des direkten Knochenkontaktes (BIC) sowie ihrer Biodegradation. Polymer-Materialien, deren Röntgendichte sich nicht signifikant von Wasser bzw. vom Einbettungsmedium unterscheidet, können nicht mit µCT visualisiert werden, Weichgewebe nur durch spezielle Präparationsmethoden. Im Gegensatz zur konventionellen Hartgewebehistologie ist die Aussagekraft von µCT-Scans hinsichtlich Fremdkörper- bzw. Entzündungsreaktionen gering.

Schlussfolgerung

Aus Tiermodellen müssen möglichst umfassende Informationen gewonnen werden, um bei minimaler Anzahl bzw. Belastung der Versuchstiere signifikante Ergebnisse zu erhalten. Die zur Darstellung explantierter Biomaterialien im knöchernen Implantatlager eingesetzte konventionelle Hartgewebe-Histologie ist dabei limitierend, da sie nur stichprobenartig zweidimensionale Bilder liefert. Bei *in-vivo* Versuchen zur Evaluation von Implantaten in knöchernen Implantatlagern sollte sie mit µCT Scans kombiniert werden. Limitationen bzw. Nachteile der einzelnen Methoden können dadurch kompensiert werden.

Literatur

(1) Voigt S, Schneider G (2009) Das Jenaer Schädelmodell. BIOmaterialien 10(3/4) 151

(2) Schneider G, Blechschmidt K, Linde D, Litschko P, Körbs T, Beleites E (2010) Bone regeneration with glass ceramic implants and calcium phosphate cements in a rabbit cranial defect model. J Mater Sci Mater Med 21(10) 2853

Korrespondenzanschrift
Dirk Linde
Klinik für Hals-Nasen-Ohren-Krankheiten, Universitätsklinikum Jena
Lessingstr. 2
07743 Jena
Deutschland

BMP29

*R. Geisler, D. Linde, J. Bliedtner, G. Schneider

Evaluierung verschiedener Methoden zur Bestimmung der mechanischen Eigenschaften frischer und konservierter Schädelknochen

Hintergrund

Ziel ist es eine Methodik zur Herstellung definierter Prüfkörpern aus Schädelknochen zu entwickeln und ein Verfahren zur Feststellung der entsprechenden mechanischen Eigenschaften zu evaluieren. Die ermittelten Kennwerte sollen als Richtlinie für die Herstellung eines Knochenersatzmaterials, insbesondere für den Einsatz im Schädelbereich dienen.

Methoden

Als Modellsystem wurden Knochen aus den Bereichen der Ossa nasali sowie der Maxilla und der Ossa zygomatica von Schweineschädeln verwendet. Methoden zur Herstellung und Vermessung definierter Prüfkörper wurden getestet und bewertet. Die Bestimmung mechanischer Kennwerte erfolgte anhand des 3-Punkt-Biegebruchtest. Frische Knochen sowie mit verschiedenen Methoden konservierte Knochen (mazeriert, gefroren, in Formalin fixiert) wurden vergleichend untersucht.

Ergebnisse

Für die Probekörpergewinnung ist das CNC Sägen gut geeignet, da dabei eine ausreichende Präzision erreicht wird und keine thermischen Schädigungen am Prüfkörper auftreten.

Es ist schwierig Prüfkörper mit definierten Geometrien zu gewinnen, da aufgrund anatomischer Besonderheiten eine gleichmäßige Höhe der Prüfkörper kaum zu realisieren ist. Eine Nachbearbeitung ist aufgrund inhomogener äußerer Form und innerer Struktur nur eingeschränkt möglich.

Schlussfolgerungen

Aufgrund der individuellen Variabilität der Geometrie der Prüfkörper ist ein direkter Vergleich der Messwerte nur bei bilateral symmetrisch, aus demselben Tier gewonnenen Prüfkörpern problemlos möglich. Bei materialspezifischen Fragestellungen müssen individuelle geometrische Abweichungen als potentielle Fehlerquellen beachtet werden.

Die verschiedenen Konservierungsmethoden führen jeweils zu signifikanten Veränderungen der mechanischen Eigenschaften des Knochenmaterials.

Korrespondenzanschrift
Rico Geisler
Klinik für HNO, Universitätsklinikum Jena
Lessingstr.2
07743 Jena
Deutschland

BMP30

*E. Esser, S. Kirchhof, F. Brandl, A. Göpferich, J. Teßmar

Biodegradable polymer films for adhesion prophylaxis: Influence of plasticizers and calcium concentrations on the stability and elasticity of alginate films

Background

There are different therapeutic options to prevent the formation of postsurgical adhesions. One of them is the application of biodegradable barrier films. Here, Alginates are very promising due to their well-known mucoadhesive properties.

Before clinical application of alginate, different cross-linking extents and resulting mechanical properties have to be investigated to elect best suited films. For this reason, different calcium concentrations in the film or the used buffer solutions were investigated for their impact on film erosion. Additionally, different plasticizers, like glycerol and poly(ethylene glycol) [PEG], were tested for their influence on mechanical and adhesive properties of the films.

Methods

For the film preparation sodium alginate and glycerol/PEG were dissolved in water. A hardly soluble calcium salt was added to the solution and cast to obtain thin films, which were then sprayed with lactic acid to dissolve the calcium and initiate cross-linking.

To test the impact of calcium ions on the erosion of the alginate films, different amounts of calcium were incorporated in the films as well as in the incubation buffers.

For mechanical testing the films were cut into uniform stripes, while the degradation was investigated using round disks.

The maximum load and the strain at break with different amounts of plasticizers were determined with a single column test frame.

Figure 1: Erosion of alginate discs containing 1,2 mg Ca^{2+}
Figure 2: Uniform load/strain curves for alginate films loaded with 10% glycerol

Results

The erosion showed that higher calcium contents in the films as well as in the buffers increase the stability of the alginate discs. Calcium could therefore be used to adjust the film degradation (Fig. 1).

Increasing amounts of plasticizers also positively affected the maximum load of the glycerol containing films. The strain at break was also changed by the used glycerol concentration (Fig. 2). However, these effects were less pronounced with PEG, which could eventually be covalently attached to the alginate.

Conclusion

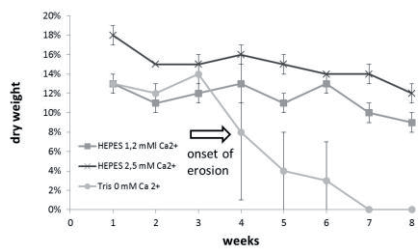
In summary, it could be demonstrated that a proper crosslinking is an important parameter to control the erosion stability of thin alginate films.

The addition of plasticizers also has a significant impact on the mechanical properties of the alginate based adhesion barriers.

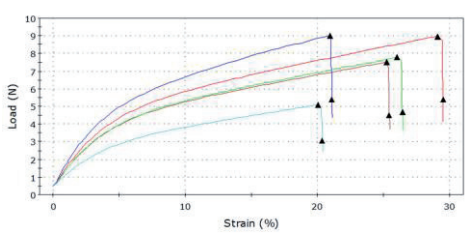
Acknowledgements

Thanks for the support by MAST Biosurgery AG and the BMBF (FKZ 03FPB00330).

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Eva Esser
Universität Regensburg
Universitätsstr. 31
93053 Regensburg
Deutschland

BMP31

R. Krüger, S. Zimmermann, J. Groll, U. Gbureck, *A. Ewald

Cytocompatibility of Macroporous Magnesium Phosphate Scaffolds

Introduction

Mg-phosphate ceramics have gained growing interest as bone replacement materials due to their ability to degrade under physiological conditions. To mimic cancelous bone and to promote tissue repair mechanisms a highly macroporous structure with open cells is desired. In this study the cytocompatibility of newly developed trimagnesium phosphate ($Mg_3(PO_4)_2$) and struvite ($(NH_4)Mg(PO_4)\cdot 6H_2O$) scaffolds was analysed.

Methods

The template used was polyurethane (PU) foam (60 ppi). The foam was dip coated with an aqueous slurry containing $Mg_3(PO_4)_2\cdot 8\ H_2O$ powder. Drying and sintering resulted in open porous farringtonite foams. Farringtonite scaffolds were modified by either polymer infiltration or transformation into struvite with an ammonium phosphate solution. Physical sample characterization was done. Cytocompatibility was tested using osteoblast like cell line MG63. Cell number and cell activity (WST) were tested after 3 to 10 days.

Results

60 ppi PU magnesium foams show a compressive strength of 58 kPa (90 % porosity). The pore macrostructure was retained for both manufacturing processes. The microstructure of struvite foams was significantly altered showing larger and more facetted crystals than farringtonite. Mechanical properties substantially improved by transformation to struvite to 730 kPa (68 % porosity).

Cells grow well on the magnesium phosphate samples as shown by SEM (Fig. 1). While cell number was tendentially higher on farringtonite than on struvite the WST activity normalized on cell number was similar. Cell number and cell activity (WST) were tested after 3 to 10 days (Fig. 2).

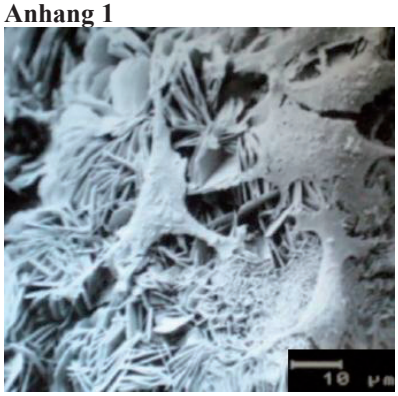
Conclusion

In conclusion macroporous Mg-phosphate foams have been produced successfully. Compressive strength of the foams was drastically improved by transformation into struvite. The samples showed good cytocompatibility when compared to conventionally used hydroxyapatite whereby there is no significant difference between farringtonite and struvite.

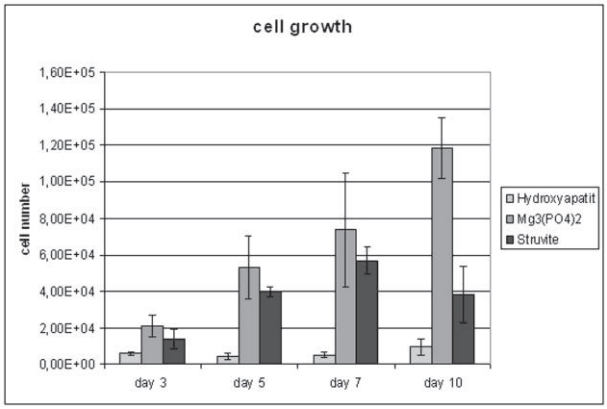
Figure 1: MG 63 cells grown on Struvite foams

Figure 2: Cell growth of osteoblasts on magnesium foams.

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Reinhard Krüger
Universitätsklinikum Würzburg
Pleicherwall 2
97070 Würzburg
Deutschland

BMP32

*M. Adam, T. Gerber

Bioaktive Beschichtung keramischer Implantatoberflächen

Hintergrund

Der klinische Kurz- und Langzeiterfolg von Implantaten wird durch die Geometrie und Oberflächentopografie beeinflusst. Die Osseointegration ist dabei entscheidend für eine frühzeitige Implantatbelastung, wobei keramische Oberflächen im Vergleich zu Titanimplantaten eine schlechtere Osseointegration aufweisen.

Das Ziel dieser Untersuchung ist, die Eigenschaftenen eines Knochenaufbaumaterials auf keramische Oberflächen zu übertragen. Dabei soll eine osteoinduktive Schicht auf Basis der NanoBone®-Technologie auf keramische Oberflächen aufgebracht werden.

Methoden

Das Beschichtungsverfahren besteht aus einem Sprühprozess unter Verwendung der Sol-Gel-Technik. Ein SiO_2-Sol wird zusammen mit synthetischem, nanokristallinem HA (hohe morphologische Ähnlichkeit zu biologischem HA, Abb. 1b) in Ethanol dispergiert und auf die Oberfläche aufgetragen. Durch einen geeigneten Trocknungsprozess geht das SiO_2-Sol in ein SiO_2-Gel über.

Yttrium stabilisiertes ZrO_2 wurde nach dem beschriebenen Verfahren beschichtet.

Ergebnisse

Anhand von REM-Aufnahmen ist eine homogene Bedeckung der ZrO_2-Oberfläche erkennbar. Die Schicht weist eine Porenstruktur im Mikro- und Nanometerbereich auf, wobei die mikroskopische Struktur durch das Verfahren erhalten bleibt. Das SiO_2-Gel bildet ein dreidimensionales, interkonnektierendes Netzwerk in dem die nanokristallinen Hydroxylapatit-Kristallite eingebettet sind (Abb. 1a).

Schlussfolgerungen

Durch das Beschichtungsverfahren bleibt die Makro- und Mikrostruktur der Keramikoberfläche erhalten (Abb. 2). Zugleich ist die NanoBone®-Schicht durch eine hohe Porosität im Nanometerbereich gekennzeichnet. Das hat eine autologe Selbstbeschichtung zur Folge, so dass das Material selbst am Knochenremodelling beteiligt ist, [1]. Diese Hypothese muss in weiterführenden Untersuchungen hinsichtlich Osseointegration und Remodelling geklärt werden.

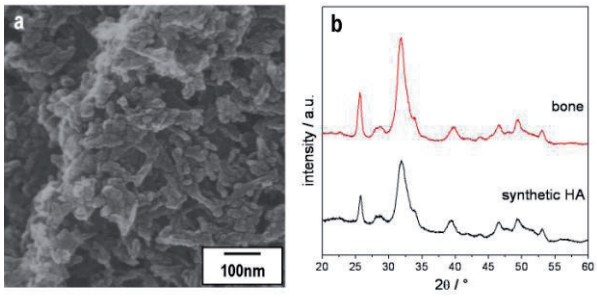
Literatur

[1] W. Xu, G. Holzhüter, H. Sorg, D. Wolter, S. Lenz, Th. Gerber, and B. Vollmar. Matrix change of a nanostructured bone grafting substitute in the rat. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials,* 91(2):692-699, 2009.

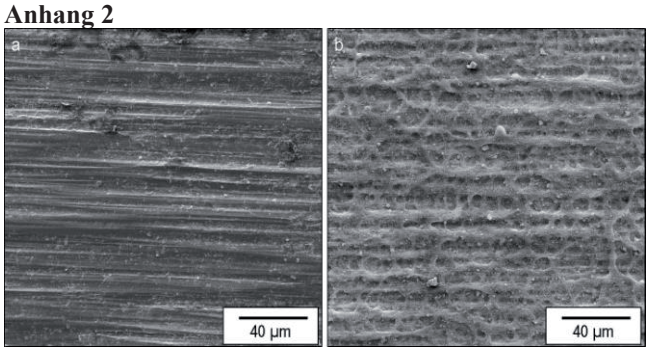
Abbildung 1: a) STEM-Bild der Schicht, gekennzeichnet durch eine hohe Porosität im Nanometerbereich. b) XRD (CuKα) von biologischem Apatit (bone) und synthetischem HA

Abbildung 2: a) Keramik-Oberfläche, b) beschichtete Keramik-Oberfläche

Anhang 11



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Martin Adam
Universität Rostock
Universitätsplatz 3
18055 Rostock
Deutschland

BMP33

*H. Keuer, C. Ganz, W. Xu, B. Frerich, T. Gerber

Osseoinduktive Beschichtung von PEEK Oberflächen mit Hilfe von nanoporösem Knochenersatzmaterial

Fragestellung

Das Polymer PEEK (Polyetheretherketon) hat heutzutage eine etablierte Stellung als Implantatsmaterial (z. B. als Cage bei Wirbelfusionierung [1]). Es zeichnet sich durch seine Inertheit, Biokompatibelität und mechanischen Eigenschaften aus, sowie durch seine NMR- und Röntgen-Transparenz [2]. Der Nachteil ist jedoch ein schlechter Verbund zwischen PEEK-Oberfläche und Knochen. Diese Studie beschreibt ein Beschichtungsverfahren dieser Polymeroberfläche zur Verbesserung der Osseointegration.

Methoden

Dazu wurde ein rotationssymmetrisches Implantatmodell entwickelt. Für die Beschichtung wurde NanoBone®-Granulat [3] verwendet, welches im Sol-Gel-Prozess aus Tetraethylortosilicat hergestellt wird. Das Sol wird dann mit synthetischem nanokristallinen Hydroxylapatit (HA) vermischt. Durch Kondensation entsteht daraus eine hochporöse SiO_2-Matrix mit eingebetteten HA.

Durch Aufschmelzen der Oberflächenschicht des Polymers dringt der Kunststoff in die Nanoporen des Granulats. Es entsteht ein Verbund mit einem Gradienten zwischen beiden Materialien (Abb.1). Mit den beschichteten PEEK-Modellen wurden tierexperimentelle Studien zur Osseointegration an der New Zealand Kaninchen Femora durchgeführt. Die PEEK-Implantate wurden als unbehandelte Kontrolle (n_K=6) und mit Beschichtung (n_{NB}=6) für je 3 Zeitpunkte (2, 4 und 6 Wochen) implantiert.

Ergebnisse

Die Auswertung erfolgt histomorphometrisch über eine Knochen-Implantat-Kontakt-Messung an Dünnschliffen. Dabei zeigt sich, dass der neu gebildete Knochen an den unbeschichteten Implantatoberflächen schlecht anwächst (Abb.2 links). Bei den beschichteten Oberflächen wächst der Knochen in die neu geschaffenen Strukturen hinein (Abb.2 rechts).

Schlussfolgerungen

Durch die Strukturänderung des Polymers mit dem Knochersatzmaterial entsteht eine neue Oberfläche, welche die Osseointegration fördert.

Abbildungen

Abb.1 Elektronenmikroskopische Aufnahme des Verbundes zw. PEEK und Knochenersatzmaterial

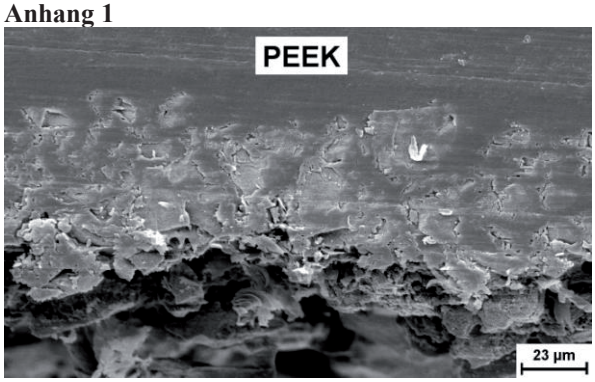
Abb.2 links Histomorphometrische Aufnahme von unbehandeltem PEEK

Abb.2 rechts Histomorphometrische Aufnahme von beschichtetem PEEK

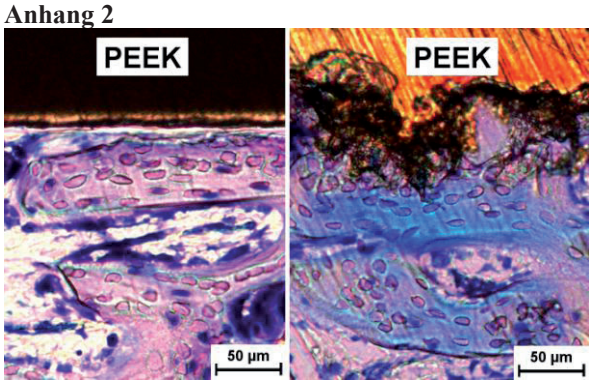
Literatur

[1] Mastronardi et al, Acta Neurochir, 2006, Vol.148
[2] Kurtz and Devine, Biomaterials, 2007, Vol.28
[3] Götz et al, Clinical Oral Implants Research, 2008, Vol.19

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Holger Keuer
Universität
August Bebel Str. 55 • 18055 Rostock
Deutschland

BMP34

*B. Krolitzki, M. Müller, B. Glasmacher

Auswirkungen von Materialchargen auf die gemessene *in vitro* Blutschädigung

Hintergrund

In vitro Blutschädigungsuntersuchungen ermöglichen eine für statistische Betrachtungen ausreichende Anzahl von Tests bei vergleichsweise geringem Aufwand. Jedoch erschweren stark streuende Messwerte den Vergleich von Ergebnissen. Unser Ziel ist die Entwicklung eines einfachen, robusten und volldefinierten dynamischen in vitro Tests für Stents und andere kardiovaskuläre Implantate.

Methoden

In einem modifizierten Chandler Loop System konnte bereits Plättchenaktivierung durch Stents nachgewiesen werden[1]. Für die Aktivierung spielen Werkstoff, Oberfläche und Struktur eine Rolle. Zur Bestimmung des Oberflächeneinflusses auf die Plättchenaktivierung wurde eine weitere Versuchsreihe mit Edelstahlstents mit drei unterschiedlich mikrostrukturierten Oberflächen durchgeführt. Die Stents werden in Polyurethan-Schläuche eingebracht und diese mit heparinisiertem Schweineblut (5IE/ml, A/V = 34 cm^{-1}) gefüllt. Durch Rotation der zu Ringen verschlossen Schläuche in einer temperierten Versuchskammer werden die Stents durchströmt. Zu Beginn und nach 1h werden Hämatokrit, Hämolyseindex und Plättchenzahl bestimmt.

Ergebnisse

Die in der 2. Testreihe durchschnittlich gemessene Blutschädigung der Leerprobe lag mit 44% Plättchenverlust bereits über den Messwerten mit Stents aus der 1. Testreihe (Abb.).

Während die 1. Testsreihe einen stentbedingten Plättchenabfall um 13% ergab, war der Unterschied zwischen Schlauchringen mit Stents und Leerprobe in der 2. Testreihe minimal. Ein Einfluss der unterschiedlichen Oberflächen konnte nicht festgestellt werden.

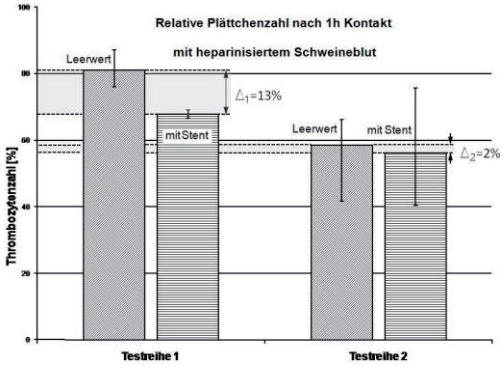
Abb.: Vergleich zweier Testreihen mit Edelstahlstents

Schlussfolgerung

Ein Qualitätsunterschied im Schlauchmaterial verschiedener Chargen wurde als wahrscheinlichste Ursache für die erhöhte systembedingte Blutschädigung identifiziert. Diese Überlagerung führte dazu, dass in der 2. Testreihe keine stentbedingte Blutschädigung gemessen werden konnte. Durch Vergleichsmessungen mit Schläuchen aus verschiedenen Chargen kann eine gleichbleibende systembedingte Blutschädigung und damit Vergleichbarkeit zwischen unterschiedlichen Testreihen sichergestellt werden.

[1] Krolitzki B., Müller M., Glasmacher B.: Validation of a test setup for haemocompatibility testing of small cardiovascular implants (Abstract submitted)

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Benjamin Krolitzki
Leibniz Universität Hannover
Callinstraße 36
30167 Hannover
Deutschland

BMP35

*L. Zhu, U. Schwaneberg

Functionalized Synthosome with triggered release system for drug delivery and release

The general aim of our work is to build a set of engineered protein channels to be used in Synthosome[1] with a special emphasis for drug delivery and release application. A Synthosome is a hollow sphere consisting of a mechanically stable vesicle with a block copolymer membrane and an engineered transmembrane protein acting as selective gate. Channel protein FhuA[1] and OmpF[2] were selected to be used in Synthosomes.

In order to control the flux in and out of Synthosome, riggered release systems including a pH dimmer[2], a reduction trigger[3] and a light trigger[4] have been developed. The light triggered release system is based on FhuA Δ1-160 with photo cleavable NVOC-labeled K556 in liposomes. Light triggered Synthosome release system might become an alternative to be applied for drug livery and release.

FhuA Δ1-160 has been reengineered to match application demands in Synthosome based drug release system. FhuA Δ1-160 variant with an extended hydrophobic transmembrane region of 1 nm (FhuA Δ1-160 Ext) was generated[5] in order to embed FhuA channel efficiently in cost effective Pluronic polymer vesicles.

A fusion protein (CecEGFP) based on the cecropin A and the hydrophilic protein eGFP was generated. Cecropin A has successfully "anchored" the EGFP to a polymersome membrane[6].

In summary, we could show that the functionalized Synthosome with triggered release systems allows controlling the release of encapsulated compounds. The light triggered release system in Synthosome is promising to be used for drug delivery and release.

References

[1] M. Nallani, S. Benito, O. Onaca, A. Graff, M. Lindemann, M. Winterhalter, W. Meier, U. Schwaneberg, *Journal of Biotechnology* **2006**, *123*(1), 50-59.

[2] S. Ihle, O. Onaca, P. Rigler, B. Hauer, F. Rodriguez-Ropero, M. Fioroni, U. Schwaneberg, *Soft Matter* **2011**, *7*(2), 532-539.

[3] O. Onaca, P. Sarkar, D. Roccatano, T. Friedrich, B. Hauer, M. Grzelakowski, A. Guven, M. Fioroni, U. Schwaneberg, *Angewandte Chemie International Edition* **2008**, *47*(37), 7029-7031.

[4] A. Guven, T. Dworeck, M. Fioroni, U. Schwaneberg, *Advanced Biomaterials* **2011**, *13: n/a. doi: 10.1002/adem.201080127*.

[5] N. Muhammad, T. Dworeck, M. Fioroni, U. Schwaneberg, *Journal of Nanobiotechnology* **2011**, *9*(1), 8.

[6] N. Muhammad, M. Fioroni, T. Dworeck, M. Linow, A. Schenk, U. Schwaneberg, **2011**, *submitted*.

Korrespondenzanschrift
Leilei Zhu
Lehrstuhl für Biotechnologie
Worringerweg 1
52074 Aachen
Deutschland

BMP36

*R. Detsch, A. Hoppe, A. Grigore, A.R. Boccaccini

Nanoskaliges bioaktives Glas: Bestimmung der *in vitro* Aktivitäten

Die bekannt guten biologischen Eigenschaften von bioaktiven Gläsern, insbesondere Bioglass® 45S5, sind ideale Voraussetzungen für den Einsatz von nanopartikulärem bioaktivem Glas (nBG) als Knochenersatzmaterial oder in Verbindung mit Biopolymeren als Composite-Material. Allerdings existieren nur wenige Untersuchungen in diesem Zusammenhang mit der *in vitro* Aktivität von nBG. Aus diesem Grund war Ziel dieser Arbeit die Bestimmung der Aktivität von nBG mittels Auslagerung in simulierter Körperflüssigkeit (Simulated Body Fluid, SBF) sowie durch die Untersuchung mit humanen Osteoblasten-ähnlichen Zellen.

Das nBG wurde durch Flammsynthese hergestellt [1]. Die resultierenden Partikel wurden hinsichtlich des Durchmessers, der spezifischen Oberfläche und der Morphologie charakterisiert. Als Referenzmaterial diente µ-partikuläres BG mit einem Durchmesser von 10 µm und einer spezifische Oberfläche von 1 - 2 m²/g. Die Geschwindigkeit der Aktivität dieser Partikel wurde durch Auslagerung in einer SBF-Lösung nach 4 - 168 h bestimmt. Die *in vitro* Untersuchungen von nBG in Konzentrationen von 0 - 200 µg/ml erfolgten mit MG-63 Zellen über einen Zeitraum von 48 h. Anschließend wurden Zellproliferation, Zellmorphologie sowie spezifische Alkalische Phosphatase (ALP-) Aktivität bestimmt.

Der Einzeldurchmesser der nBG-Partikel betrug 20 - 40 nm, wobei Agglomerate mit einer spezifischen Oberfläche von 70 m²/g in einem porösen Netzwerk vorlagen. Nach der Auslagerung der Partikel in SBF zeigte sich bereits nach 4 h anhand der Bildung einer amorphen Calciumphosphatschicht eine Veränderung der Oberfläche. Im Laufe der Inkubationszeit bildeten sich kristallines Hydroxylapatit und Calcit. Die zellbiologischen Untersuchungen ergaben sogar bei hohen Konzentrationen keinen signifikanten Unterschied der Zellproliferation sowie der Zellmorphologie. Die spezifische ALP-Aktivität war bei allen Konzentrationen vergleichbar, bei 200 µg/ml nBG hingegen signifikant höher.

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass nanoskalige bioaktive Gläser hohes Potenzial für die regenerative Medizin besitzen.

[1] Brunner TJ, Grass RN, Stark WJ. Glass and bioglass nanopowders by flame synthesis. Chem Commun 2006(13):1384-6.

Korrespondenzanschrift
Rainer Detsch
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
Holzschuherring 14
91052 Erlangen
Deutschland

BMP37

*B.J. Pedimonte, *R. Detsch, J. Hum, N. Travitzky, M. Korn, A.R. Boccaccini, P. Greil

In vitro Untersuchung oberflächenmodifizierter Aluminiumoxid basierter Biokeramik

Hintergrund

Al_2O_3/ZrO_2 Biokeramiken werden infolge ausgezeichneter mechanischer Eigenschaften und Biokompatibilität häufig in der Endoprothetik und im Dentalberich eingesetzt. Für eine Steigerung der Osseointegration wurde poröses anodisches Aluminiumoxid (PAA) mit variierender Porengröße (15-50 nm) auf ZrO_2 verstärktem Al_2O_3 (ZTA) hergestellt und der initiale Zellkontakt mittels serumfreier Zelladhäsion humaner Osteoblasten auf PAA analysiert.

Methoden

Die Herstellung der PAA Schichten erfolgte über anodische Oxidation einer Al-Sputter-Schicht in 0,22 M $H_2C_2O_4$ bei 20V bzw. 40 V. Nähere Informationen können [1] entnommen werden. Der Einfluss der Porenmorphologie auf die Zelladhäsion wurde serumfrei untersucht, indem humane osteoblasten-ähnliche Zellen (MG-63) nach Passagieren in DMEM überführt und in einer Konzentration von 100.000 Zellen pro ml für drei Stunden auf den jeweiligen Proben inkubiert wurden. Anschließend erfolgte die Bestimmung der Mitochondrienaktivität (WST-8) und der Zellmorphologie mittels Licht- sowie Rasterelektronenmikroskopie (REM).

Ergebnisse

Die PAA Morphologie, welche Auswirkung auf die Benetzbarkeit der Oberfläche zeigt, beeinflusst zugleich die initiale Zelladhäsion. Die mit sinkendem Nano-Porendurchmesser steigende Hydrophilie des PAA zeigt in Adhäsionsuntersuchungen einen Einfluss auf die Vitalität von MG-63 Zellen, die sich proportional zum steigenden hydrophilen Charakter verhält. Nach drei Stunden Inkubation war eine homogene Adhäsion nachweisbar, wobei die Zellmorphologie je nach Oberflächenmodifikation stark gespreitet und die Expression von Filopodien unterschiedlich stark ausgeprägt waren.

Schlussfolgerungen

Die Oberflächenmodifizierung oxidischer Biokeramik Oberflächen besitzt ein hohes Potential für die Weiterentwicklung funktioneller Implantatmaterialien. Die PAA Morphologie und einhergehende Interaktion an der Oberfläche ermöglicht ein Regulieren der Zellreaktion. Im Weiteren wird eine Steigerung der Osteokonduktivität angestrebt.

Literatur

[1] J. Pedimonte, N. Travitzky, M. Korn, S. Kriegelstein, P. Greil, *J. Adv. Biomat*, 2011.

Korrespondenzanschrift
Rainer Detsch
Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg
Holzschuherring 14
91052 Henkestr. 91
Deutschland

BMP38

S. Hossfeld, A. Nolte, H. Hartmann, B. Schroeppel, S. Margutti, J. Kjems, H. Oliveira, A.P. Pego, D. Stoll, B. Schlosshauer, H.-P. Wendel, *R. Krastev

Bioactive Stent Coating Based on Layer-by-Layer Technology for siRNA Release

Introduction

Coronary artery disease is still one of the main causes of death in industrial nations. A progressive atherosclerosis can lead to heart attacks. A possible treatment is the implantation of coronary stents. However, a number of patients have been reported to develop restenoses after implantation. The key proteins, which effect restenosis are well known. In this context small interference RNA (siRNA) offers a new promising therapy against restenosis, based on selective down-regulation of mRNA of the disease-causing proteins [1]. siRNA must be protected from degradation for therapeutic applications by virtue of complexation [2] to siRNA nanoplexes (NPs). To achieve sophisticated coatings for controlled release of siRNA NPs, polyelectrolyte multilayers (PEMs) provide a promising approach. These coatings are generated in a layer-by-layer (LbL) technique [3]. The technique offers a new platform for local siRNA release and development of novel bioactive implant coatings.

Methods

PEMs were prepared from natural polysaccharides with integrated Chi/siRNA NPs, using the LbL technique. The built-up of PEMs with Chi/siRNA NPs were analyzed by quartz crystal microbalance (QCM). The erosion of PEMs with embedded siRNA NPs in phosphate buffer saline were monitored for nearly two weeks, by measuring fluorescence intensity of labelled siRNA in the supernatant. The biocompatibility of the coatings was tested in cell viability assays and the hemocompatability in contact with human blood. The endocytosis of Chi/siRNA NPs from PEMs into the cell cytoplasm was analyzed by flow cytometry. RESULTS The QCM measurements show, that Chi/siRNA NPs are incorporated in PEMs. NPs were released from the films and taken up by cells. The coatings present high hemocompatibility, which is important for medical applications.

Conclusion

PEMs containing siRNA NPs are thus suitable for the refinement of implants. They allow the local delivery of siRNA NPs and ensure a controlled release for long term applications, especially in the case of coronary stents against restenosis.

References

1. Fire A., Mello C.C. et al., Nature 391:806, 1998 2. Mittnacht U., Hartmann H. et al., Nano Lett. 10:3933, 2010 3. Decher G., Science 277:1232, 1997

Acknowledgements

Financial support by the German Federal Ministry of Education and Research and EuroNanoMed.

Korrespondenzanschrift
Rumen Krastev
NMI Reutlingen
Markwiesenstraße 55
72770 Reutlingen
Deutschland

BMP39

*C. Striegler, *S. Tripp, D. Appelhans, N. Polikarpov, T. Erdmann, B. Voit

Evaluierung dendritischer Glycopolymere zur Komplexierung verschiedener Wirkstoffe für biomedizinische and analytische Fragestellungen

Dendritische Polymere (DP), Dendrimere und hochverzweigte Polymere, sind weitverbreitete Materialien für biologische, medizinische und pharmazeutische Anwendungen, z.B. als Drug-Delivery-Systeme (DDS). Sie gelten aber auch aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften bei der Separation von komplexen Mischungen bioaktiver Moleküle als vielversprechend.[1,2] Vor einer möglichen Anwendung als DDS bzw. in Chromatographietechniken ist zunächst eine umfangreiche Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen DP und Gastmolekül (GM) notwendig. Durch diese Vorgehensweise können Aussagen zur Komplexierungskapazität[3] und -stabilität der DP gegenüber kleinen und größeren bioaktiven Molekülen in Lösungen gewonnen werden.

Die dendritischen Strukturen bestehen aus hochverzweigtem Polyethylenimin als Kernmolekül. Durch Modifizierung mit biokompatiblen Oligosaccharideinheiten[4] entstehen sogenannte Kern-Schale-Architekturen mit steuerbaren Eigenschaften für die gezielte Aufnahme und Freisetzung von potentiellen Wirkstoffen.

Die Kern-Schale-Architekturen wurden u.a. mit verschiedenen Vitaminen, Farbstoffen und ATP beladen. Mittels Ultrafiltration und UV/Vis-Spektroskopie konnte die Anzahl der wechselwirkenden GM bestimmt werden.

Verschiedene Uptake-Messungen zeigten unterschiedlich hohe Aufnahmekapazitäten der dendritischen Strukturen in Abhängigkeit von der Größe des Polyethylenimin-Kerns und der Dichte der umgebenden Oligosaccharidschale. Dabei wurde für Strukturen mit einem größeren Polyethylenimin-Kern eine höhere Beladung mit GM gefunden als bei Strukturen mit einem kleineren Polyethylenimin-Kern.

Die hier vorgestellten biokompatiblen, wasserlöslichen Kern-Schale-Architekturen haben ein hohes Wirkstoffaufnahmepotential. Sie bilden die Grundlage für weitere maßgeschneiderte DDS in der biomedizinischen Anwendung bzw. für die Entwicklung neuer Typen von stationären, pseudostationären und mobilen Chromatographiephasen in den analytischen Methoden der Separation.

[1] M.D. Grynbaum, et al., *J. Chromatogr. A* **2007,** *1156*, 80.

[2] T. Zou, et al., *Anal. Chem.* **2010,** 82*,* 7362.

[3] S. Boye, et al., A., *J. Chromatogr. A* **2010**, *1217*, 4818.

[4] D. Appelhans, et al., *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 1114.

Korrespondenzanschrift
Christin Striegler
Leibniz-Institut für Polymerforschung Dresden e. V.
Hohe Straße 6
01069 Dresden
Deutschland

BMP40

*K. Duske, I. Koban, E. Kindel, K. Schröder, B. Nebe, B. Holtfreter, L. Jablonowski, K.-D. Weltmann, T. Kocher

Atmospheric plasma enhances wettability and cell spreading on dental implant metals

Objectives

Implants with peri-implantitis have to be treated to allow a predictable support of re-osseointegration. Wettability is an important surface property determining osseointegration. In this study, atmospheric gas-discharge plasma was turned to tissue tolerable gas temperature and was applied to reduce the contact angles on titanium.

Material and Methods

An argon plasma jet with different oxygen admixtures was used to treat titanium disks with different topologies, i.e. machined, SLA®, SLactive®, diamond-bur-treated or Airflow®-treated. Water contact angles and elemental composition were measured before and after plasma treatment. The spreading behaviour of human osteoblastic cells was investigated.

Results

Contact angle of titanium disks (baseline values: 68° to 117°) were significantly reduced close to 0° irrespective of surface topography after the application of argon plasma with 1.0% oxygen admixture for 60 or 120 s. The cell size of osteoblasts grown on argon-oxygen-plasma treated titanium disks was significantly larger compared to non-treated surfaces ($P < 0.001$) irrespective of surface topography.

Conclusions

Plasma treatment reduced the contact angle and supported spreading of osteoblasts. The application of cold physical plasma may be supportive in the treatment of peri-implant lesions and may improve the process of re-osseointegration.

Korrespondenzanschrift
Kathrin Duske
University Rostock
Schillingallee 69
18055 Rostock
Deutschland

BMP41

*H. Koch, H. Schneider, F. Emmrich, U. Sack, A. Boldt

Biologische Risikobewertung neuartiger Biomaterialien

Hintergrund

Die Entwicklung neuer Biomaterialien für den Einsatz als Medizinprodukt in der Implantationsmedizin stellt einen langwierigen und kostenintensiven Prozess dar. Wir haben am Beispiel dezellularisierter porciner Ösophagusscaffolds (ÖS) Verfahren entwickelt, welche eine biologische Risikobewertung neuartiger Biomaterialen bereits in frühen Entwicklungsstadien ermöglichen. Hierdurch können nicht nur die Entwicklungszeit und Anzahl der Tierversuche, sondern auch die damit verbundenen Kosten erheblich reduziert werden.

Methoden

Ösophagi adulter Schweine wurden isoliert, dezellularisiert, sterilisiert und in kleine Stücke geschnitten (0,25cm^2). Nach Inkubation der ÖS-Stücke mit humanen Thrombozyten für 0, 30, 120 und 240min, erfolgte die Analyse der thrombolytischen Aktivität mittels FACS-Analyse des P-Selektins (CD62P), welches auf der Membranoberfläche aktivierter Thrombozyten exprimiert wird [Negativkontrolle (NK)=kein Gewebe, Positivkontrolle (PK)=10µM ATP]. Um die hämolytische Aktivität zu messen, wurden ÖS-Stücke in PBS-verdünnten, humanen Vollblut inkubiert und nach 0, 2, 4 bzw. 24h das freie Hämoglobin im Überstand bestimmt (optische Dichte bei 405nm; NK=PBS/Vollblut, PK=VE-Wasser/Vollblut).

Ergebnisse

Die Analyse der CD62P-Expression zeigte über den Zeitraum von 240min eine signifikante Reduktion der thrombolytischen Aktivität innerhalb der ÖS-Gruppe ($p<0,01$). Diese Reduktion war ebenfalls in den NK zu beobachten. Die PK zeigten über den gesamten Zeitraum eine konstant hohe thrombolytische Aktivität. Über einen Zeitraum von 4h führte die Inkubation der ÖS-Stücke in humanem Vollblut zu einer konstanten und mit der NK vergleichbaren hämolytischen Aktivität. Eine 24-stündige Inkubation führte zu einem signifikanten Anstieg der hämolytischen Aktivität, welche ebenfalls bei der NK zu beobachten war (ÖS vs. NK: n.s.). Die PK hingegen zeigten über den gesamten Versuchszeitraum eine hohe, langsam abfallende hämolytische Aktivität.

Schlussfolgerung

Unser ÖS-Modell zeigte keine erhöhte hämolytische oder thrombolytische Aktivität. Mit Hilfe dieser etablierten Methoden ist es uns möglich, das biologische Risiko neuartiger Biomaterialien *in vitro* zu bewerten.

Korrespondenzanschrift
Holger Koch
Universität Leipzig
Philipp-Rosenthal-Straße 55
04103 Leipzig
Deutschland

BMP42

*C. Hübsch, T. Hassel, F.-W. Bach, L. Borchers, P. Kohorst, M. Stiesch

ZrO_2-Keramiken mit oberflächennahen Diffusionsschichten zur Anwendung in der dentalen Prothetik

Zirkoniumdioxid (ZrO_2) hat sich in der Vergangenheit in der dentalen Prothetik anstelle von Metallen als Gerüstmaterial für keramisch verblendete Restaurationen bewährt. Die hohe Festigkeit, Härte und gute Biokompatibilität sowie eine für dentale Anwendungen notwendige gute Ästhetik geben die Möglichkeit für vielerlei Anwendungen. ZrO_2 kristallisiert temperaturabhängig in drei Kristallstrukturen. Bei ca. 2750 °C kristallisiert es kubisch aus der Schmelze und wandelt sich bei ca. 2370 °C in die tetragonale Modifikation um. Bei Raumtemperatur liegt reines ZrO_2 monoklin vor. Um ZrO_2 bei Raumtemperatur tetragonal oder kubisch zu stabilisieren, müssen Oxide wie Y_2O_3, CeO_2 oder CaO beigefügt werden. Für den dentalen Einsatz hat sich tetragonales, mit 3 Mol% Y_2O_3 stabilisiertes ZrO_2 (3Y-TZP) etabliert, welches allerdings im oralen Milieu einer Degradation unterliegt, verursacht durch eine Umwandlung von tetragonaler zu monokliner Kristallstruktur [1-2].

In dieser Arbeit wurde das oberflächennahe Anreichern von Oxiden in 3Y-TZP zur Unterdrückung der Degradation der Keramiken überprüft. Dazu wurde gesintertes 3Y-TZP in CeO_2-Pulver für 10 Stunden bei 1500 °C im Ofen ausgelagert. An Querschliffen wurde mittels der Rasterelektronenmikroskopie die Diffusionstiefe des CeO_2 in das 3Y-TZP ermittelt. Es ist zu erkennen, dass eine CeO_2-Schicht von ca. 10-15 µm an der Oberfläche haftet und eine Diffusionsschicht von ca. 5 µm in 3Y-TZP vorliegt. Untersuchungen der Phasenzusammensetzung mittels Röntgendiffraktometrie zeigten ebenfalls die Anlagerung von CeO_2 auf 3Y-TZP. Auslagerungsversuche bei 134 °C im Wasserdampf, die bei reinem 3Y-TZP eine Umwandlung von tetragonal zu monoklin bewirken, zeigten, dass es bei 3Y-TZP mit CeO_2-Diffusionsschicht zu keiner Umwandlung kommt. Allerdings wiesen die degradationsstabilen Proben eine geringere Biegefestigkeit auf, so dass in weiteren Versuchen die Schichtdicke des CeO_2 noch optimiert werden muss.

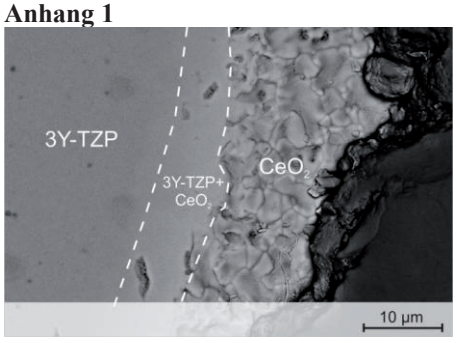
Literatur

[1] Yoshimura, M.: „Phase Stability of Zirconia“, Ceramic Bulletin 12 (1988), pp. 1950-55

[2] Chevalier, J. et al.: “Low Temperature Degradation of Zirconia and Implications for Biomedical Implants”, Annual Review of Materials Research 37 (2007), pp. 1-32.

Abbildung 1: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Querschliffes.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Christoph Hübsch
Institut für Werkstoffkunde
An der Universität 2
30823 Garbsen
Deutschland

BMP43

R. Medda, M.L. Dragovits, *E. Schwab, S. Wagenhäuser, E.A. Cavalcanti-Adam, J.P. Spatz

Regulation of cell adhesion and integrin expression by biomimetic surface coatings

Recent improvements in the design of biomimetic coatings have further promoted the use of artificial materials for bone tissue regeneration. However, little is still known about the local factors that affect interactions of cells with their environment at the nanoscale level. Integrins are the main mediators of *in vivo* cell-extracellular matrix (ECM) and *in vitro* cell-surface adhesion. The aims of this work are 1) to mimic the microenvironment of mesenchymal cells by using naturally occurring ECM components as surface coatings, and 2) to determine how the type of coating and its nanoscale organization on the surface regulate integrin-mediated adhesion

Bone marrow-derived mesenchymal stem cells (MSC) and stem cells isolated from the dental pulp (CPD) were incubated in standard and in osteogenic differentiation media and cultured on substrates coated with ECM molecules, which promote integrin a5b1 and avb3 adhesion. Immunocytochemical experiments revealed differences in the shape and quantity of the integrin adhesion clusters in dependence of the surface coatings. In comparison to standard culturing conditions, cells on biomimetic coatings and/or incubated in osteogenic medium possessed elongated adhesion sites.

An integrin recognition motif, namely the cRGDfK (arginine-glycine-aspartate) and fibronectin-derived fragments were then chemically coupled to gold nanoparticles arranged in well-defined nanoarrays. This method is based on block copolymer micellar lithography and allows an even distribution of the particles, while their size and spacing can be varied in the nanometer range. For the preparation of nanopatterns, we tested commercially available titanium alloys and Ti-40Nb disks. Surface topographies due to manufacturing and polishing seem to affect the stable deposition of the particles as well as their spatial arrangement. The binding of RGD and FN-fragments to gold nanoparticles promoted cell adhesion indicating that the linking strategies we tested here retained the bioactivity of these molecules.

Taken together, our results indicate that surfacecoatings which address integrin-mediated structures represent useful strategies for the control of adhesion and intracellular signalling.

Korrespondenzanschrift
Mercedes L. Dragovits
Physikalisch-Chemisches Institut
INF 253
69120 Heidelberg
Deutschland

BMP44

*G. Schulze-Tanzil, A. Lohan, C. Stoll, A. Denner, M. Albrecht, W. Ertel, T. John

Decellularized porcine Achilles tendons as a biomaterial for tendon reconstruction?

Healing of tendon defects remain a major orthopaedic challenge. It is a highly time consuming process which leads to scar formation as a functionally altered reparative tissue. Using a xenogenic tendon ECM as a natural scaffold, which can be reseeded with autologous tenocytes, might be a promising approach to reconstruct damaged tendons. Hence, the aim of this study was to decellularize a porcine Achilles tendon extracellular matrix (ECM) and reseed it with human hamstring-tendon derived tenocytes.

For this purpose porcine Achilles tendons were explanted and decellularized using adapted protocols. Then, the Achilles tendon ECM was reseeded with primary human hamstring tenocytes using different tissue engineering approaches. For comparison of ECM structure, human hamstring tendon was also decellularized. Vitality testing, histology and immunohistology were applied to document the success of tendon reseeding and to depicture cell immigration, alignment and distribution.

Decellularization could be successfully performed in porcine and human tendons using an optimized protocol. The procedure leads to some wash out of proteoglycans as well as loss of ECM structure. Porcine Achilles tendon could be recellularized with vital tenocytes. However, cell distribution remained rather inhomogeneously, with cell accumulations at the margin of the constructs. Most of the cells revealed no distinct alignment. Despite the vitality of immigrated tenocytes decreased slightly after one week in culture, vital cells could be detected after 2 and 3 weeks. Faint pericellular type I collagen neosynthesis as well as MMP1 expression could be observed in recellularized tendons using immunohistology which suggests the start of ECM remodelling.

The present study presents an approach of porcine tendon de- and recellularization using human adult tenocytes. Further studies should analyze the biomechanical properties of decellularized and recellularized porcine Achilles tendon ECM.

Korrespondenzanschrift
Gundula Schulze-Tanzil
Charité Universitätsmedizin
Garystrasse 5
14195 Berlin
Deutschland

BMP45

*M. Arab Motlagh, U. Sommer, J. Hammer

Histologische und biomechanische Untersuchung von PMMA-Nanokristallinem Hydroxylapatite Kompositmaterial in einem Schafsmodel

Fragestellung

Ziel der Studie war das mechanische Verhalten und den Knocheneinwuchs in ein Kompositmaterial bestehend aus Polymethylmetacrylat (PMMA) und nanokristalinem Hydroxylapatit (nHA) zu untersuchen. Dieses Komposit wurde zur Augmentation des Wirbelkörpers bei Vertebro- und Kyphoplastie entwickelt. Es hat eine höhere Elastizität und entspricht damit eher der Elastizität der Spongiosa im Wirbelkörper.

Methoden

Das Kompositmaterial bestehend aus PMMA und 30% volumenanteil nHA wurde in das mediale Femurkondylus von 18 Schafen implantiert. Zum Vergleich wurde reine PMMA in die Gegenseite implantiert. Nach 3 und 6 Monaten wurden die Femurkondylen histologisch und biomechanisch unter zyklischer Belastung untersucht.

Ergebnisse

Die histologischen Untersuchungen zeigten ein enges heranwachsen des Knochens an das Kompositmaterial wohingegen das reine PMMA Implantat eine Abschottung vom Lagerknochen in Form eines Bindegewebsbandes zeigte. Unter zyklischen Belastungen zeigte der Implantat-Knochen Verbund mit dem Kompositmaterial eine höhere Ermüdungsfestigkeit als mit reinem PMMA.

Schlussfolgerung

Der Zusatz von nanokristalinem Hydroxylapatit zum PMMA bewirkt eine bessere Osseointegration des Implantates im Knochen und eine höhere Ermüdungsfestigkeit des Implantat-Knochen Verbundes als nach Implantation von reinem PMMA. Diese Eigenschaften des Kompositmaterials könnten das Auftreten von weiteren Sinterungsfrakturen im augmentierten Wirbelkörper oder in den Anschlusssegmenten reduzieren.

Korrespondenzanschrift
Mohammad Arab Motlagh
Orthopädische Universitätsklinik Frankfurt
Marienburg Str. 2
60528 Frankfurt
Deutschland

BMP46

*C. Heiß, V. Alt, B. Robioneck, K.S. Lips, P. Augat, R. Schnettler

Resorptionsverhalten und Festigkeit von Polymerimplantaten im tierexperimentellen Osteotomiemodell - BoneWelding® eine neue Technologie zur Verankerung von Polymerpins im Knochen

Fragestellung

Die innovative BoneWelding® Technologie eröffnet völlig neue Möglichkeiten Implantate im Knochen zu verankern. Durch Ultraschallenergie dringt geschmolzener resorbierbarer Kunststoff (Poly-L-DL-Laktid) in die intertrabekulären Strukturen des Knochens und kann 2-3 mal höhere Haltekräfte übertragen als die herkömmlich bekannten Spongiosaschrauben. Ziel dieser tierexperimentellen Arbeit war durch licht-, transmissionselektronenmikroskopische sowie immunhistochemische Analysen Biokompatibilität/Resorptionsverhalten, alsauch die Festigkeit der Polylaktid-Pins in einem standardisierten Osteotomiemodell am Kaninchen zu bewerten.

Methodik

60 Kaninchen wurden unifemoral operiert. Bei jedem Tier wurde eine kondyläre Femurosteotomie gesetzt und die laterale Femurkondyle mit/ohne SonicPins mit der BoneWelding® Technologie refixiert. Durch die angewandte Ultraschallenergie auf die Polylaktid-Pins (ultrasonic Fusion) erfolgte die Schmelzung der Pins und die daraus resultierende Knochenverschweißung. Die Tiere wurden in 3 Gruppen unterteilt, wobei die Tiere (Gruppe 1: Kontrolle, Gruppe 2: SonicPin/Schraube und Gruppe 3: 2x SonicPin) über einen Beobachtungszeitraum von 7, 21, 42 und 84 Tagen nachbeobachtet wurden. Neben der Licht- und Transmissionselektronenmikroskopie erfolgte die Dokumentation der Biokompatibilität, des Resorptionsverhaltens, der mechanischen Eigenschaften der Pins durch immunhistochemische und biomechanische Analysen.

Ergebnisse und Schlussfolgerungen

Die Auswertungen zeigten nach 7 Tagen eine fortgeschrittenere Osteotomieheilung in Gruppe 2 im Vergleich zur Kontrolle. In der Umgebung der Pins wurde neu gebildeter Knochen angetroffen. Eine Phagozytose war über Riesenzellen zu beobachten. Nach 21 Tagen konnte ein positiver Einfluss der Pins auf die knöcherne Regeneration nachgewiesen werden. Fremdkörperriesenzellen ragten bis an die Pins heran. Auch nach 42 Tagen konnte die osteokonduktive Wirkung der SonicPins bestätigt werden. Nach 84 Tagen zeigte sich in der Pingruppe 2 und 3 eine vollständige Durchbauung im Gegensatz zur Kontrolle. In der Umgebung der Pins konnte ein Knochenremodelling mit Fremdkörperriesenzellen und Osteoblasten, der Abtransport der Partikel über Lymphgefäße beobachtet werden. Die höchste Festigkeit zeigte sich in der Kontrolle, dicht gefolgt von der Pin/Schrauben-Gruppe. Die beste F max konnte in der Pin/Pin-Gruppe gemessen werden. Die BoneWelding® Technologie ist ein zukunftsweisendes und innovatives Verfahren mit einem vielfältigen Einsatzspektrum in Orthopädie und Traumatologie, um Knochen einfach und schnell miteinander zu verbinden. Grosses Einsatzpotenzial hat diese Technologie in zukünftigen Hybridimplantaten (Kombination aus Metall und Polymere), insbesondere zur einfachen und sicheren Augmentierung von metallischen Implantaten bei gleichzeitiger Langzeitstabilität. Neben einer überzeugenden Biokompatibilität und einer Osteogenese ohne zelltoxische Hinweise muss der Einsatz des BoneWelding® für den Einsatz am Menschen kompatibel sein.

Korrespondenzanschrift
Christian Heiß
Universitätsklinikum Gießen
Rudolf-Buchheim-Straße 7
35385 Gießen
Deutschland

BMP47

*J. Meier, T. Vollkommer, M. Gosau

Facial Augmentation with Porous Polyethylene (Medpor®)—Histological Evidence of Intense Foreign Body Reaction - and presentation of the on-going animal study

Introduction

Unexpected intense foreign body reaction and focal disintegration of the Medpor® implants (MI) were examined recently. Now the histological findings in explanted MI are presented.

Methods

48 MI were used for facial augmentation in 27 patients (average 8.1 months in situ). Identifying macrophages and foreign body giant cells, Paraffin embedding and staining for CD68 were performed.

Results

Chronic inflammation and foreign body giant cell reaction were seen in all cases. Intracytoplasmatic phagocytosis of disinter-grated pieces of MI was seen as well as focal destruction of the material, independent of additional acute inflammation.

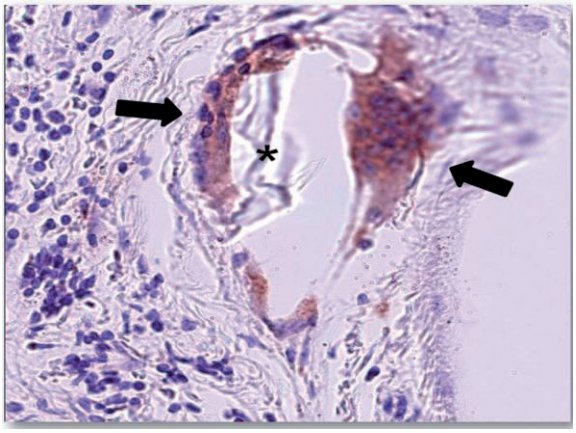
Figure1

CD68-staining: intracytoplasmatic phagocytosis of disintegrated Medpor particles (*) through a foreign body giant cell (large arrows).

Discussion & Conclusions

The observed phagocytic inflammation represents a generalized immune response to the MI. In contrast to the literature it seems no longer justified to regard MI as an inert material. To evaluate the local and systemic host response to UHMWPE-implants we conducted an animal study: In the back of 210 BALB/c mice implants (different types of UHMWPE implants [Medor®, Synpor®], positive and negative control) were inserted subcutaneously. Blood examination at different times will be performed. After killing at various times after implantation expression of cytokines, active T-cell subpopulations, B-cells and macrophages will be investigated. Surrounding tissue will be examinated histologically and immunohistologically also. On-going scientific work, based on the previous studies should be presented.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Johannes Meier
Uni Regensburg
Franz-Josef-Strauß-Allee 11
93051 Regensburg
Deutschland

BMP48

*X. Vinzenz, S. Busch, K. Schmitt, J. Wöllenstein, C. Hoffmann

Bioinspirierte 3D-Oberflächen Nanopartikelfilte

Aktuelle Studien belegen die Gesundheitsschädigung durch steigende Konzentrationen an natürlichen und anthropogenen luftgetragenen Nanopartikeln. Neuartige Filter für Partikel < 1 µm, die eine hohe Limitationsgrenze ohne Effizienzverlust bei hoher Gaspermeabilität haben, sind aus diesem Grund von Interesse.[1] Pollen als ein biologisches System tragen auf ihren Oberflächen Feinstaub-Agglomerationen, die für vermehrte und stärkere Allergiereaktionen verantwortlich sind.[2] Daher sollen sie als Inspiration für das Struktur- und Funktionalitätsdesign adhärenter Oberflächen dienen. Ihre Eignung, Oberflächenstruktur und biochemische Zusammensetzung wird mittels REM, AFM, FTIR und Raman analysiert und ihre Mikrostruktur mittels Nassätzen auf Si-Wafern nachgebildet (**Abb. 1**). Als erster Ansatz konnten Oberflächen mit Polyelektrolyten *via Dip-Coating* funktionalisiert sowie mikroskopisch, spektroskopisch und elektrochemisch charakterisiert werden (**Abb. 2**) und scheinen eine technische Anwendung zu ermöglichen.

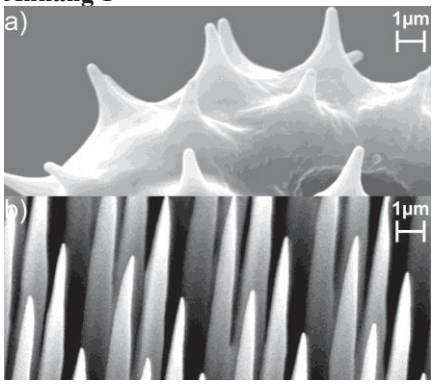
Abb. 1 REM-Aufnahmen eines *Bellis perennis* (Gänseblümchen) Pollen (**a**) und eines durch „Überätzen" hergestellten mikrostrukturierten Si-Wafers (**b**).

Abb. 2 AFM-Aufnahmen eines (Poly-L-Lysin / Poly-L-Glutaminsäure)$_8$ beschichteten glatten Si-Wafers (**a**), Höhenprofil entlang der weißen Linie in a (**b**).

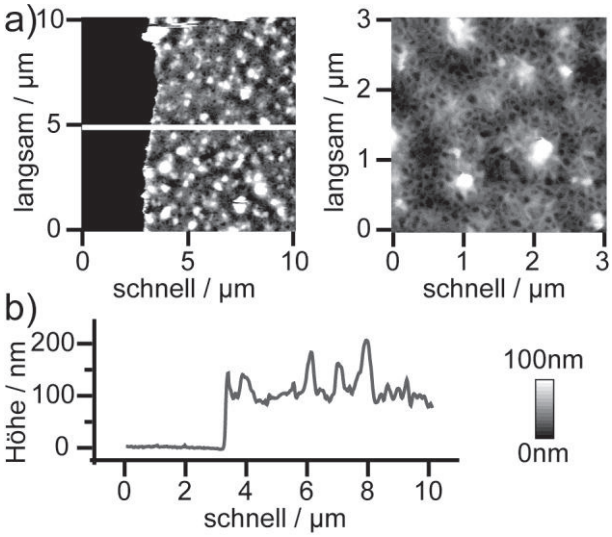
[1] Heeb *et al. SAE Technical Paper Series*: 2005-26-014.

[2] Gruijthuijsen *et al. Int Arch Allergy Immunol.* 2006; 141: 265.

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Xenia Vinzenz
Institut für Bioprozess- und Analysenmesstechnik e. V.
Rosenhof
37308 Heilbad Heiligenstadt
Deutschland

BMP49

*C. Pettersson

A force toolkit for cell and molecular research

Force measurement and force sensitivity are areas that have grown rapidly over recent years, as the understanding of mechanical effects on a nanoscopic scale has grown in cellular and bio-molecular research. We have developed a range of instruments based on the technology platforms of cantilever-based force sensing (AFM) and quantitative force-sensing optical tweezers. The AFM force sensitivity has been used primarily for high-resolution imaging, but in recent years there has been a growing appreciation of the value of direct, quantified force measurements. These sensitive force experiments can be used for binding quantification, kinetics and localization from single molecules to whole cells. The NanoWizard-AFM series from JPK is a multi-purpose platform for high-level imaging and force measurements combined with full optical microscope capabilities. In addition, specialized platforms have been developed - the ForceRobot dedicated for high-throughput single molecule force measurements, and the CellHesion for long-range cell-surface and cell-cell binding experiments within a 100 µm range. For the CellHesion experiments, the whole cell is used as a probe for modified surfaces, extracellular matrix molecules or of other cells.

A new range of experiments is opened up when light is used as a handle for the manipulation of cells or molecules rather than a cantilever. NanoTracker, the recently developed force-sensing optical tweezers system, allows a more flexible 3D experiment geometry, and a force sensitivity down to 0.1 pN. Therefore, particles can be tracked or loosely confined, so that for instance cell-particle binding can be observed in a virtually unconstrained environment. At the higher force ranges, single molecule manipulation, unfolding, or binding can be studied, similar to AFM force spectroscopy experiments.

Korrespondenzanschrift
Carmen Pettersson
JPK Instruments AG
Bouchéstrasse 12
12435 Berlin
Deutschland

BMP50

*B. Hoyer, A. Bernhardt, I. Stachel, M. Meyer, M. Gelinsky

New Source of marine collagen for bone tissue engineering

Objectives

A promising approach in mimicking extracellular bone matrix is imitating the process of producing mineralized collagen via a synchronous procedure of collagen fibril reassembly and mineralization. Up to now bovine collagen is the main source of collagen for medical applications [Gelinsky et al., Chem Eng J 2008;137:84-96]. However, as it is known for a risk of possible infections with pathogens, alternative sources are required. In this study, we present collagen type I isolated from fish skin as novel material (funded by German Federal Ministry for Education and Research, BMBF).

Methods

Lyophilized collagen type I from fish skin was used for simultaneous fibril reassembly and mineralization. Via freeze drying a porous 3D scaffold was obtained. After chemical cross linking with EDC scaffolds were characterized by FT-IR, SEM, mechanical tests and biocompatibility investigations.

Results

In comparison to bovine collagen the novel mineralized salmon collagen 3D scaffold showed similar properties concerning compressive strength and elasticity. FT-IR spectroscopy confirmed the formation of hydroxyapatite - which is the calcium phosphate phase of bone ECM. SEM revealed an interconnected porosity and biocompatibility was validated successfully by seeding and cultivation of osteogenically induced hMSC.

Conclusions

Our new scaffolds are promising candidates for the utilization as save bone replacement material without the risks of infections with mammalian pathogens.

Korrespondenzanschrift
Birgit Hoyer
TU Dresden
Fetscher Str. 74
01307 Dresden
Deutschland

BMP51

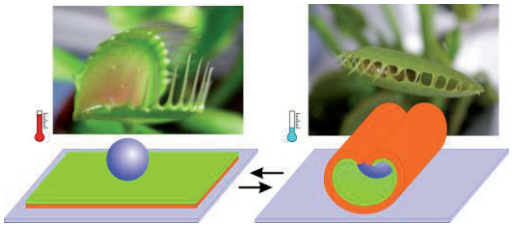
*L. Ionov, S. Zakharchenko, G. Stoychev, E. Sperling, N. Puretskiy

Soft microorigami: self-folding polymer films for cell encapsulation and release

Asymmetry is intrinsic to natural systems and is widely used by living organisms for efficient adaptation, mimicry and movement. Polymer bilayers are the example of synthetic asymmetric systems, which are able to generate macroscopic motion and fold by forming different 3D objects such as tubes and capsules. Similar to bimetal films, the polymer bilayer consist of two substances with different swelling properties. One polymer is non-swellable and hydrophobic. Another polymer is water-swellable hydrogel. The folding, which might occur in response to temperature or pH, is caused by swelling of the hydrogel layer. The formed tubes and capsules can be manipulated using magnetic field. Reversible folding and unfolding of the polymer films is applied for reversible capture and release of cells in response to change of temperature and other signals. This novel biomimetic approach can be used for controlled encapsulation and release of microparticles, cells and drugs as well as fabrication of 3D scaffolds for tissue engineering.

Zakharchenko, S.; Sperling, E.; Ionov, L. Fully biodegradable self-rolled polymer tubes: a candidate for tissue engineering scaffolds, ***Biomacromolecules*** 2011, DOI: 10.1021/bm2002945.
Stoychev, G.; Puretskiy, N.; Ionov, L. Self-folding all-polymer thermoresponsive microcapsules, ***Soft Matter*** 2011, *7*, 3277-3279.
Zakharchenko, S.; Puretskiy, S.; Stoychev, G.; Stamm, M.; Ionov, L. Temperature controlled encapsulation and release using partially biodegradable thermo-magneto-sensitive self-rolling tubes ***Soft Matter*** 2010*, 12,* 2633-2636.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Leonid Ionov
IPF
Hohe Str 6
01069 Dresden
Deutschland

BMP52

*D. Kozlova, S. Chernousova, M. Epple

Synthese von Antikörper-funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln

Hintergrund

Calciumphosphat-Nanopartikel stellen eine breit einsetzbare Klasse von nicht-viralen Vektoren aufgrund ihrer biologischen Abbaubarkeit, geringen Toxizität und Adsorptionskapazität für Biomoleküle dar [1]. Ein gezieltes *targeting* von Zellen und Geweben ist durch eine Biokonjugation mit Antikörpern möglich.

Die Synthese von Calciumphosphat-Nanopartikeln erlaubt keine kovalente Funktionalisierung. Die Umhüllung mit einer dünnen Schicht aus Siliciumdioxid (SiO_2) [2] und nachfolgende Verankerung von funktionalisierten Silanen erlauben eine kovalente Modifizierung der Calciumphosphat-Nanopartikel.

Synthese/Methoden

Die Polymer-modifizierten Calciumphosphat-Nanopartikel wurden nach dem Sol-Gel Verfahren erst mit SiO_2 beschichtet und dann mit Thiolpropylgruppen funktionalisiert. Im letzten Schritt wurden die Calciumphosphat-Nanopartikel mit den Antikörpern durch ein Kopplungsreagenz kovalent verbunden [3].

Ergebnisse

Antikörper-funktionalisierte Calciumphosphat-Nanopartikel sind in der rasterelektronmikroskopischen Aufnahme 100-200 nm groß (Abb. 1). Durch Biokonjugation mit den farbstoffmarkierten Antikörpern lassen sich die Calciumphosphat-Nanopartikel an den Zellen detektieren.

Abb. 1: **Links:** REM-Aufnahme der Antikörper-konjugierten Calciumphosphat-Nanopartikel.
Rechts: Mikroskopische Aufnahme der Hela-Zellen nach der Inkubation mit Calciumphosphat-Nanopartikeln, die mit farbstoffmarkierten Antikörpern konjugiert wurden.

Schlussfolgerung

Die Konjugation der Calciumphosphat-Nanopartikel mit den Antikörpern verbindet die Eigenschaften der Nanopartikel mit den spezifischen und selektiven Erkennungsfähigkeiten von Antigenen durch Antikörper. Dies führt zur Verbesserung der zellulären Aufnahme von Nanopartikeln.

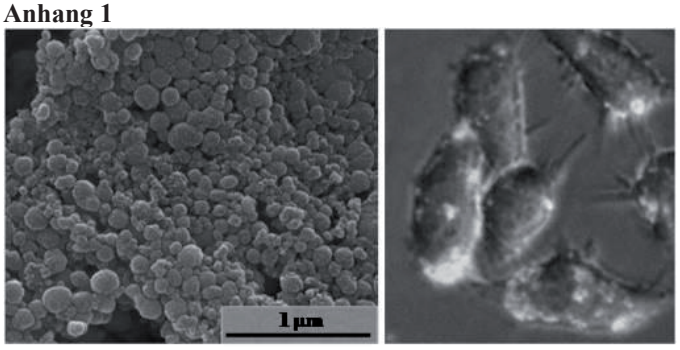
Literatur

[1] I. Roy, S. Mitra, A. Maitra, S. Mozumbar, *Int. J. Pharm.,* **2003**, *250*, 25-33.

[2] M. Neumeier, L. A. Hails, S. A. Davis, S. Mann, M. Epple, *J. Mater. Chem.,* **2011**, *21*, 1250-1254.

[3] P. Yang, A. Zhang, H. Sun, F. Liu, Q. Jiang, X. Cheng, *J. Colloid Interface Sci.,* **2010**, *345*, 222-227.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Diana Kozlova
Universität Duisburg-Essen
Universitätsstraße 5-7
45141 Essen
Deutschland

BMP53

*M.S. Niepel, H.S. Leipner, B. Fuhrmann, T. Groth

Multischichten aus synthetischen und Biopolymeren steuern die Zelladhäsion auf nanostrukturierten Oberflächen

Hintergrund

Biomaterialoberflächen können durch unterschiedlichste Methoden im Mikro- bzw. Nanometerbereich modifiziert werden, um die Interaktion mit Zellen zu verbessern. Wir haben die Layer-by-Layer (LbL) Technik und Nanosphärenlithographie (NSL) kombiniert, um die Zelladhäsion auf Biomaterialoberflächen zu steuern.

Methoden

Nanostrukturen aus Gold wurden mittels NSL auf Modelloberflächen aus Silizium hergestellt und mit Rasterkraft- (AFM) und Elektronenmikroskopie (SEM) untersucht. Mittels fluoreszenzmarkierter Proteine und konfokaler Laserscanningmikroskopie (CLSM) wurde die Aktivierung bzw. Passivierung der Substrate erforscht. Polyelektrolytmultischichten (PEM) bestehend aus Polyethylenimin (PEI) und Heparin (HEP) wurden auf die Nanostrukturen übertragen und die entstandenen Morphologien und ihr Einfluss auf die Adhäsion von Säugerzellen wurden mittels AFM und CLSM untersucht.

Ergebnisse

Die Nanostrukturgröße kann durch die Nanosphären direkt beeinflusst werden, wobei der Bedeckungsgrad der Biomaterialoberfläche konstant bleibt. Die Kombination von LbL und NSL zeigte deutliche morphologische Unterschiede zwischen HEP- und PEI-Schichten. Der pH-Wert der Polyelektrolyte hatte dabei keinen größeren Einfluss. Vielmehr war ein Effekt des pH-Wertes und der Nanostrukturen auf die Zelladhäsion zu sehen. HEP-Schichten bei pH 5.0 auf den kleinsten sowie PEI-Schichten bei pH 5.0 auf den größten verwendeten Strukturen förderten die Zelladhäsion.

Schlussfolgerung

Beide Techniken sind einfach in der Anwendung, leicht zu kombinieren und können zur Steuerung der Zelladhäsion verwendet werden. In Zukunft soll ihr Potential hinsichtlich der Stammzelldifferenzierung genauer untersucht werden.

Korrespondenzanschrift
Marcus S. Niepel
Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
Heinrich-Damerow-Str. 4
06120 Halle (Saale)
Deutschland

BMP54

*I. Schleicher, G. Szalay, K. Lips, U. Sommer, I. Schappat, R. Schnettler

Biphasiger Träger für Chondrozyten aus Hydroxylapatit und Kollagenoberfläche zur Behandlung von großen osteochondralen Gelenkdefekten - eine tierexperimentelle Studie am Schaf

Fragestellung

Zur Behandlung von großen osteochondralen Gelenkdefekten wurde ein biphasiges Implantat aus mineralisiertem Kollagen und einer Kollagenvlies-Oberfläche entwickelt, die der Aufnahme von Knorpelzellen dient. In laborexperimentellen Vorversuchen wurde erfolgreich die Biokompatibilität und Zytotoxizität getestet, auch wurde nach 6 Wochen schon eine Substitution des mineralisierten Kollagens durch neugebildetes Knochengewebe nachgewiesen. Jetzt sollte die Anwendung am Schafmodell getestet werden.

Methodik

Bei 6 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 Kollagenvliesschicht wurde dann an der medialen Femurkondyle mit Knorpelsuspension aus den angezüchteten Knorpelzellen getränkt, das Transplantat an der lateralen Femurkondyle diente als Kontrolle. Nach 6 Wochen wurden die Tiere getötet, die Knorpel-/Knochenimplantate entnommen und histologisch untersucht.

Ergebnisse

Nach 6 Wochen hatte der in den Defektbereich eingebrachte Zylinder in allen Fällen deutlich an Masse verloren, so dass das Ersatzgewebe nicht mehr die Gelenkoberfläche erreichte. Knochenneubildung unter Integration des Fremdmaterials fand sich nur in der Peripherie, während zentral sich meist nur Granulationsgewebe fand. Die knorpelige Phase wurde in keinem der Präparate mehr wiedergefunden, der Gelenkabschluß wurde vielmehr meist von einem gefäßreichen Binde- und Granulationsgewebe gebildet.

Schlußfolgerung

Zusammenfassend konnten die positiven Ergebnisse hinsichtlich knöcherner Integration und Chondrozytenvitalität bei dem biphasigen Träger aus laborexperimentellen Studien im Tierversuch nicht bestätigt werden.

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

BMP55

*S. Williams, A. Christel, A. Neumann, S. Böhm, C. Kasper, P. Behrens

Nanoporöse Silica-Nanopartikel: Funktionalisierungsstrategien und Zellkulturtests Nanoporous silica nanoparticles: Strategies for functionalization and cell culture tests

Introduction

Nanoporous silica nanoparticles (NPSNPs) have developed to an interesting novel class of biomaterials. They offer a large pore volume which can be used for local drug delivery and reactive surface functions which can be used for a variety of modifications aiming at applications in biomedical imaging, targeted delivery and gene therapy.[1] Recently, a first in human test of such particles was approved by the FDA.[2] The surface functions are silanol groups which can react with silanes carrying different functional groups which can in turn be used to attach other molecules, e.g. biomolecules. Here, we report on the immobilization of polysialic acid (polySia) on NPSNPs. Because of its biocompatibility it is very interesting as a component in biomaterials for tissue engineering. In this study variable functionalized MCM-41 particles were examined in cell culture experiments to show effects of different functionalities to the biocompatibility of the particles.

Methods

Nanoporous MCM-41 nanoparticles were synthesized by following the synthesis steps described in the literature.[3] The CTAB surfactant was removed either by calcination or by extraction in an ethanol/hydrochlorid acid mixture of the particles.

The particles were first functionalized with different silanes and in a second step with various functional groups; *via* these groups either polySia or fluorophores can be bound to the surface by using either a linker system or click chemistry.

The particles were applied on Hep G2 cells. Cell viability was investigated using MTT assay.

Results

The synthesis of nanoporous silica nanoparticles yielded spherical particles with a diameter of about 80 nm (Fig. 1). All functionalizations of the particles were successful as can be inferred by IR spectroscopy. Cell culture experiments reveal the influence of various functional groups on the biocompatibility of the particles. Whereas, immobilization of polySia *via* a linker system gives materials which show a good biocompatibility, the modification *via* click chemistry gives nanoparticles which show toxic effects when applied in high concentrations (Fig. 2).

Conclusions

PolySia can be successfully immobilized on the surface of MCM-41 nanoparticles by using different methods. Cell culture experiments show that the immobilization *via* a linker system gives materials exhibiting favourable biocompatibility.

Literature

[1] Liu, H.M. et al.; *small;* **2008**; 4; 619-626.
[2] FDA press release, 31.01.2011, http://www.mskcc.org/mskcc/html/102185.cfm
[3] Cai, Q. et al.; *Chem. Mater.*; **2001**; *13*; 258-263.

Anhang 1

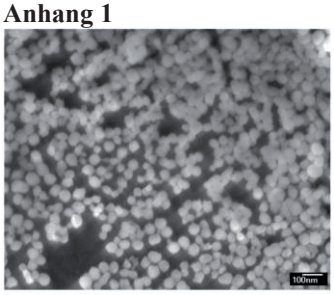


Fig. 1: SEMimage of calcined nanoporous silica nanoparticles.

Anhang 2

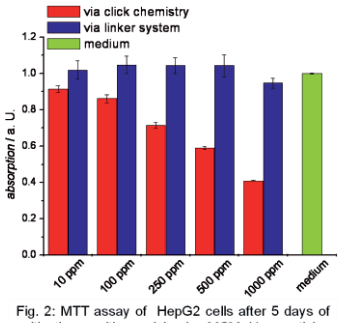


Fig. 2: MTT assay of HepG2 cells after 5 days of cultivation with calcined MCM-41 particles functionalized with polySia *via* a linker system or by click chemistry.

Korrespondenzanschrift
Sina Williams
Universität Hannover
Callinstraße 9
30167 Hannover
Deutschland

BMP56

*J. Rüsing, V. Sokolova, A.-K. Ludwig, S. Hornung, O. Rotan, P.A. Horn, B. Giebel, M. Epple

Charakterisierung von Exosomen mittels Rasterelektronenmikroskopie und *Nanoparticle Tracking Analysis*

Hintergrund

Exosomen sind Membranvesikel mit einem Durchmesser von etwa 100 nm, die von Zellen sekretiert werden. Sie bestehen aus einer Lipiddoppelschicht, in der sich Proteine befinden [1][2].

Methoden

Die Exosomen wurden aus Zellkulturüberständen von HEK 293T-Zellen gewonnen und durch Zentrifugation bzw. Chromatographie gereinigt. Die Proteinkonzentration wurde mittels BCA-Test ermittelt. Die Partikelgrößen wurden mit der Dynamischen Lichtstreuung (DLS), der *Nanoparticle-Tracking Analysis* (NTA) und der Rasterelektronenmikroskopie (REM) bestimmt. Die Partikelkonzentration wurde mit der NTA bestimmt. Zur Untersuchung der Stabilität wurden die Exosomen bei -20 °C, 4 °C und 37 °C gelagert, ultrabeschallt bzw. mehrfach zentrifugiert.

Ergebnisse

Die Exosomen wiesen eine kugelförmige Morphologie von etwa 50 nm im REM auf (Abb.1). Die mit NTA bestimmte Größe lag bei etwa 120 nm, die mit DLS bestimmte Größe bei etwa 200 nm. Das Zetapotential betrug etwa -50 mV.

Abb. 1: REM-Aufnahme von Exosomen

Mit der NTA konnte ein linearer Zusammenhang zwischen Protein- und Partikelkonzentration gezeigt werden. Nach Reinigung mittels Chromatographie war die Partikelkonzentration in Abhängigkeit von der Proteinkonzentration etwa zweimal höher als bei der durch Zentrifugation gereinigten Probe.

Die Exosomen waren bei -20 °C stabil, bei 4 °C und 37 °C verringerte sich die Größe. Die Ultrabeschallung sowie die Ultrazentrifugation hatten keinen Einfluss auf die Größe.

Schlussfolgerung

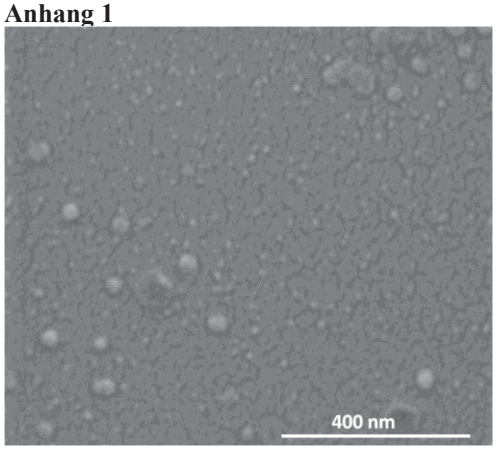
Exosomen weisen eine hohe Stabilität gegenüber Ultrazentrifugation und Ultrabeschallung auf. Mit der NTA und vorheriger Proteinkonzentrationsbestimmung kann nach geeigneter Reinigung der Probe die Proteinkonzentration pro Exosom abgeschätzt werden.

Literatur

1. Johnstone, R.M., *Exosomes biological significance: A concise review.* Blood Cells Molecules and Diseases, 2006. **36**: p. 315-321.

2. Sokolova, V., Ludwig, A., Hornung, S., Rotan, O., Horn, P., Epple, M., Giebel, B., *Characterisation of exsosomes derived from human cells by nanoparticle tracking analysis and scanning electron microscopy*, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2011. (in press)

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Johannes Rüsing
Universität Duisburg-Essen
Universitätsstraße 7
45141 Essen
Deutschland

BMP57

*J. Klesing, V. Sokolova, O. Rotan, A. Kovtun, P. Nalbant, J. Buer, T. Knuschke, A. Westendorf, M. Epple

Calciumphosphat-Nanopartikel als effiziente Träger für Biomoleküle durch die Zellmembran

Hintergrund

Das Einschleusen von Wirkstoffen in Zellen ist in der Biomedizin von zentraler Bedeutung [1]. Da Biomoleküle ohne Vektor nicht in der Lage sind die Membran zu passieren, werden Träger mit hohen Affinitäten zu diesen gesucht [2,3]. Wir stellen wirkstoffbeladene Calciumphosphat-Nanopartikel vor und zeigen die Transporteffizienz an HeLa-Zellen *in vitro*.

Methoden

Die Synthese der Nanopartikel erfolgte durch Mischen einer Calcium- mit einer Phosphatlösung, die Funktionalisierung erfolgte jeweils mit einem der nachstehenden fluoreszenzmarkierten (Bio-)moleküle: Bovines Serumalbumin (BSA), einem Antikörper, Polyethylenimin, *enhanced green fluorescent protein* (EGFP), Oligonukleotiden, einem Peptid und einem Porphyrin, so dass unterschiedlich beladene und markierte Nanopartikel entstanden. Die Beladung wurde UV/Vis-spektroskopisch quantifiziert. Die Charakterisierung der Nanopartikel erfolgte mit Dynamischer Lichtstreuung (DLS), Rasterelektronenmikroskopie (REM) und *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA). Die Zelltests wurden an HeLa-Zellen durchgeführt.

Ergebnisse

Die Partikel zeigten im Rasterelektronenmikroskop eine kugelförmige Morphologie mit Partikeldurchmessern zwischen 80-150 nm.

Abb.1 REM-Aufnahme der Calciumphosphat-Partikel.

Die Zellen wurden mit den Partikeln und gelösten Biomolekülen als Kontrolle bei gleicher Konzentration inkubiert und anschließend fluoreszenzmikroskopisch untersucht. Im Gegensatz zu den beladenen Trägern konnte bei den gelösten Wirkstoffen keine effiziente Aufnahme gezeigt werden.

Schlussfolgerung

Das Einschleusen unterschiedlicher Biomoleküle in Zellen kann mit funktionalisierten Calciumphosphat-Nanopartikeln als biokompatiblen Träger erreicht werden.

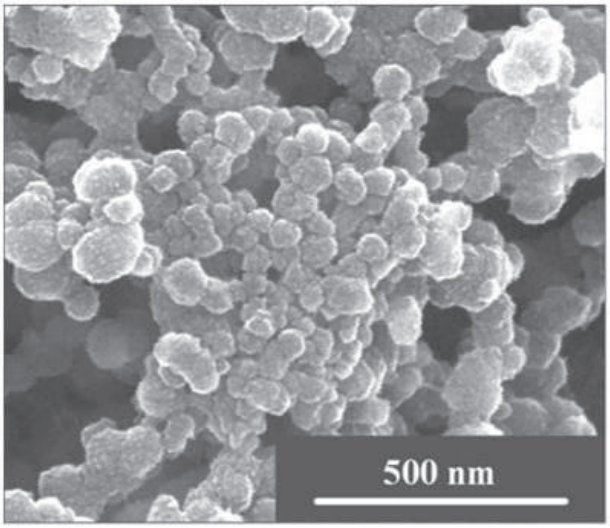
Literatur

[1] G. Sahay, D. Y. Alakhova, A. V. Kabanov, *J. Contr. Rel.,* 2010, 145, 182

[2] T. V. Chirila, P. E. Rakoczy, K. L. Garrett, X. Lou, I. J. Constable, *Biomaterials,* 2002, 23, 321

[3] J. H. Choy, S. Y. Kwak, Y. J. Jeong, J. S. Park, *Angew. Chem. Int. Ed.,* 2000, 39, 4042

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Jan Klesing
Universitaet Duisburg-Essen
Universitaetsstr. 7
45141 Essen
Deutschland

BMP58

*D. Duarte Campos, C. Panfil, K. Raupach, S. Neuss, M. Weber, C. Otten, U. Reisgen, H. Fischer

Adhesion and differentiation of human mesenchymal stem cells can be controlled by Ebeam generated microstructures on titanium alloy surfaces

Several studies focussing on bone tissue engineering have shown that individualized patterning of an implant's surface has a great effect concerning its interaction and adhesion of cells. The present study hypothesizes that a geometrically structured titanium surface is able to control cell growth at an early stage *in vitro*. Thus, TiAl4V6 surfaces were selectively targeted in the micrometer range using electron beam texturing technique (Ebeam). The effect of such textured titanium alloy surfaces on cell adhesion and differentiation was tested using human mesenchymal stem cells (hMSC). We found that hMSC allow the formation of adhesion proteins, such as actin and ß3-integrin, within the first week of culture with a particular focus on the generated microstructures (GMS) on the titanium alloy surface.

These results are of importance for developing tailored titanium alloy surfaces for individualized bone substitutes depending on the type of defect and the necessary loading capacity. A material surface can be partially patterned using the Ebeam process, having the possibility to predict and selectively control osseointegration after colonization with differentiated hMSC.

(This author is applying for an oral presentation in english. In case of denial this abstract is asked to be presented as a poster)

Korrespondenzanschrift
Daniela Duarte Campos
RWTH Aachen University Hospital
Pauwelsstraße 30
52074 Aachen
Deutschland

BMP59

*A. Weizbauer, H. Waizy, M. Matthias, F. Witte, A. Lucas, B. Denkena, F. Thorey

Der Einfluss der Korrosion auf die Schrauben-Knochen-Verankerung. Eine biomechanische Charakterisierung degradabler Magnesium-Calcium-Schrauben.

Hintergrund

Die gängigen Osteosynthesematerialien aus Stahl oder Titan zur Fixation von Frakturen sind nachteilig aufgrund der erforderlichen Zweitoperation zur Metallentfernung und eines höheren E-Moduls gegenüber dem Knochen. Letzteres führt zur Belastungsabschirmung, wodurch die Knochensubstanz in den weniger beanspruchten Knochenbereichen abnimmt. Implantate aus Magnesium-Legierungen bieten den Vorteil der Degradierbarkeit und eines E-Moduls, welches dem des Knochens näher ist.

Methoden

Schrauben aus MgCa0,8 wurden in standardisierten Kunstknochen aus Polyurethan mit Kortikalis und Spongiosa eingebracht. Mittels der Prüfapparatur MTS 858 MiniBionix erfolgten statische Auszugsversuche ohne Korrosionseinfluss und nach festgelegten Korrosionsintervallen: 24 h, 48 h, 72 h, 96 h. Die Korrosion wurde in einem Korrosionsstand mit HANK´s Lösung, laminarer Strömung und bei 37 °C durchgeführt.

Ergebnisse

Bei den statischen Auszugsversuchen in der Nicht-Korrosionsgruppe zeigte sich ein Versagen bei einer mittleren Auszugskraft von 202 N (191-216). In der Korrosionsgruppe erfolgte eine Reduktion der Schrauben-Knochen-Verankerung auf 141 N nach 96 Stunden.

Schlussfolgerung

In dieser Studie konnte in einem Prüfstand der Einfluss der Korrosion auf die biomechanischen Eigenschaften der MgCa0,8-Schrauben dargestellt werden. Die Korrosion führte zu einer Reduktion der Knochenverankerung.

Korrespondenzanschrift
Andreas Weizbauer
Orthopädische Klinik der Medizinischen Hochschule Hannover
Anna-von-Borries-Str. 1-7
30625 Hannover
Deutschland

BMP60

*O. Rotan, V. Sokolova, T. Knuschke, J. Buer, A.M. Westendorf, M. Epple

Calciumphosphat-Nanopartikel zur Stimulation des Immunsystems

Hintergrund

Calciumphosphat-Nanopartikel sind aufgrund ihrer guten Biokompatibilität und Biodegradierbarkeit als geeignete Träger von biologischen Molekülen durch die Zellmembran bekannt.[1] Im Zusammenhang mit diesen Eigenschaften wurden die Nanopartikel für die Stimulation von Dendritischen Zellen eingesetzt. Dendritische Zellen sind Antigen-präsentierende Zellen des Immunsystems. Sie induzieren eine spezifische Immunreaktion durch die Präsentation von Antigenen und der Stimulierung naiver T-Zellen[2]. Daher spielen sie eine wichtige Rolle in der adaptiven Immunität.

Methoden

Die Nanopartikel wurden mit einem immunoaktiven *TLR*-Liganden (CpG Oligonukleotiden) und viralen Antigenen des Influenza A Virus, Hemagglutinin (HA), funktionalisiert. Zur Charakterisierung wurden die *Nanoparticle Tracking Analysis*, die Dynamische Lichtstreuung und die Rasterelektronenmikroskopie verwendet. Zur Charakterisierung der Dendritischen Zellen wurden die Oberflächenexpression spezifischer Moleküle sowie die Zytokinsekretion untersucht.

Ergebnisse

Die Experimente zeigten, dass Dendritische Zellen funktionalisierte Nanopartikel *in vitro* erfolgreich aufnehmen. Daraus resultiert die Aktivierung der Dendritischen Zellen mit einer erhöhten Expression von MHC-II, CD40, CD80 und CD86, sowie der Sekretion von IL12, IL 2 und TNFα. Die *in vivo* Applikation der Nanopartikel in Mäuse führt ebenfalls zur Aktivierung der *DC*s. Die *in vivo* Aufnahme, Prozessierung und Präsentation des viralen Antigens wurde durch eine starke *in vivo* Proliferation der HA-spezifischen $CD4^+$ T-Zellen demonstriert.

Schlussfolgerung

Diese Ergebnisse zeigen ein hohes Potenzial von Nanopartikeln als neues Werkzeug in der Immunologie.

Literatur

[1] V. Sokolova, M. Epple, Inorganic nanoparticles as carriers of nucleic acids into cells, *Angew. Chem. Int. Ed. 2008, 47, 1382-1395.*

[2] V. Sokolova, T. Knuschke, A. Kovtun, J. Buer, M. Epple, A.M. Westendorf, The use of calcium phosphate nanoparticles encapsulating Toll-like receptor ligands and the antigen hemagglutinin to induce dendritic cell maturation and T cell activation, *Biomaterials, 2010, 31*, *5627-5633*

Korrespondenzanschrift
Olga Rotan
Universität Duisburg-Essen
Universitätsstr.7
45117 Essen
Deutschland

BMP61

*H. Hartmann, U. Mittnacht, S. Vollmer, N. Hoffmann, M. Doser, J. Kjems, B. Schlosshauer

Chitosan/siRNA nanoparticles for biological refinement of medical implants

Objectives

RNA interference can be employed as a new class of drugs that interfere with disease genes. To allow therapeutic application of siRNA, we utilize the biomaterial chitosan for stabilization, promotion of cellular uptake, and immobilization of siRNA on implant surfaces. The goal is (1) to foster regeneration of the nervous system and (2) to inhibit fibrotic implant encapsulation.

Methods

Chitosan/siRNA nanoparticles were prepared, particle size and zeta potential were analyzed by photon correlation spectroscopy. Potential inflammatory cell response was analyzed by PCR of the Oas-1 gene. Particle immobilization was tested on polydioxanon filaments. Cell uptake was visualized in different neuronal and fibroblast cells. Finally, knockdown efficiency was quantified by PCR, Western blotting and microscopy.

Results

Chitosan/siRNA particle size and zeta potential increase with higher chitosan content. In cell culture, these particles do not induce an inflammatory response. Chitosan/siRNA nanoparticles can be successfully immobilized on polymer-based nerve guides. Moreover, siRNA nanoparticle uptake is efficient and results in silencing of different target mRNAs and the corresponding proteins which play decisive roles in neuronal regeneration and fibrotic overgrowth.

Conclusion

Our data show that chitosan/siRNA nanoparticles are an innovative drug delivery tool which allow biological functionalization of medical implants. Our results especially highlight the potential application for enhancement of regeneration and inhibition of undesired body reactions in combination with medical implants. Our aim for the future is to use siRNA nanoparticles as a cross-sectional technology and to bind siRNA as a bioactive molecule to different medical implants.

Supported by BW-*Stiftung*, EuroNanoMed and BMBF.

[1] Nano Letters (2010), pp. 3933-3939.

[2] Biomaterialien (2010), pp. 15-23.

[3] Neuroscience Letters (2011), pp. 14-18.

Korrespondenzanschrift
Hanna Hartmann
NMI
Markwiesenstr. 55
72770 Reutlingen
Deutschland

BMP62

*X. Jiang, H. Zhuang

Surface functionalization of diamond and β-SiC for DNA biosensor applications

Diamond and β-SiC surfaces were functionalized by different methods for biosensor applications. As for diamond surface, allylamine, an unsaturated short carbon chain amine, which is photochemically linked to diamond surface, was used to mediate ss-DNA attachment to it. The surface structure of allyamine was characterized by ToF-SIMS measurement aided by principle component analysis (PCA). It was understood that allyamine cross polymerizes on the diamond surface before the whole surface is covered by it. The maximum coverage of allylamine is achieved after 24 hours UV illumination. Based on the overall SIMS analysis a modified chain reaction grafting model which illustrates a competition between TFAAA bonding and its cross-polymerization is discussed. For the β-SiC surface, it was firstly functionalized by amine using the same method described above. Furthermore, it is also successfully functionalized by diazonium salts through electrochemical method for the first time. The functionalization was confirmed by electrochemical techniques and X-ray photoelectron spectroscopy. For both diamond and β-SiC, the covalent bonding of DNA is confirmed by fluorescence measurement. These results show that diamond and β-SiC can be an interesting substrate material for biosensor applications

Korrespondenzanschrift
Xin Jiang
Institut für Werkstofftechnik
Paul-Bonatz-Straße 9-11
57076 Siegen
Deutschland

BMP63

*R.-D. Bader, W. Christina, M. Thorwarth, C. Dietze, S. Schultze-Mosgau

Rekonstruktion der Kopfhaut mittels vakuumassistierter Vitalisierung einer Kollagen-Elastin-Matrix und Spalthauttransplantation.

Einleitung/Frage

Die Bedeutung des Dermisersatzes bei Deckung mit Spalthaut ist seitens der Verbrennungschirurgie hinlänglich bekannt und etabliert. Die Verwendung von Kollagen-Elastin-Matrices setzt jedoch eine gut durchblutetes Wundbett voraus. Ein gängiges Verfahren zur Bildung von Granulationsgewebe sind Unterdruckverbände. Ziel unsere Untersuchung war die Analyse der Tauglichkeit einer vakuumassistierten Vitalisierung einer Kollagen-Elastin-Matrix mit folgender Spalthauttransplantation zur Deckung von Kopfhautdefekten.

Material/Methode

Zwischen 03/09 und 10/10 wurde bei 8 Patienten (m=6/w=2) eine Rekonstruktion der Kopfhaut mit vakuumassistierter Vitalisierung einer Kollagen-Elastin-Matrix und folgender Spalthauttransplantation durchgeführt. Der Altersdurchschnitt lag bei 68 Jahren (Median 74,0; 35 - 86). Untersucht wurden die Anzahl der Eingriffe, OP-Dauer, Gesamt-OP-Dauer, Grunderkrankung, ASA-Klassifikation, Erfolgsrate, Liegedauer und die Komplikationsrate.

Ergebnisse

Durchschnittlich wurde der Defekt im 5. Eingriff mit Spalthaut gedeckt. (4. - 11. Eingriff). Die durchschnittlich OP-Dauer lag bei 37 Minuten (Median 27 Min.; 5-117 Min.). Die Gesamt-OP-Dauer lag durchschnittlich bei 207 Minuten (Median 110 Min.; 96 - 470 Min.). In allen Fällen war ein Malignom ursächlich für den Defekt. Ein Patient war ASA I, zwei ASA II, vier ASA III und einer ASA IV. In 87,5% erfolgte eine komplikationslose Heilung, in 12,5% kam infektionsbedingt zum vollständigen Untergang der Kollagen-Elastin-Matrix. Die durchschnittliche Liegedauer lag bei 50 Tagen (Median 39 Tage, 26 - 89 Tage). Bis auf den Untergang einer Membran wurden keine Komplikationen beobachtet.

Fazit

Die Rekonstruktion der Kopfhaut mittels vakuumassistierter Vitalisierung einer Kollagen-Elastin-Matrix und Spalthauttransplantation scheint eine Alternative zur Rekonstruktion mit freien Lappen darzustellen. Die kurzen OP-Zeiten erlauben es, diese Technik auch bei multimorbiden Patienten anzuwenden.

Korrespondenzanschrift
Rolf-Dieter Bader
Uniklinikum Jena
Erlanger Allee 101
07743 Jena
Deutschland

BMP64

*K. Klix, R. Pfeifer, G. Olender, C. Krettek, T. Gösling, C.W. Müller

Application feasibility of contact- free electromagnetic plate osteosynthesis

Introduction

In this rabbit model we aimed to study the feasibility and usefulness of contact-free electromagnetic induction heating of nickel-titanium (NiTi) implants. By changing their stiffness, shape memory orthopedic implants might allow the modulation and improvement of fracture healing.

Methode

We used a six holes NiTi plate measuring 53 by 14 by 4 mm. The plate consisted of a stable middle layer and two outer layers. Via heat induction the shape memory effect is activated and the two outer layers are changing their profile leading to an increased stiffness of the plate.

In our study we used 14 New Zealand White rabbits. Under general anesthesia the right tibia was exposed and six holes for fixing the plate were drilled. In the middle of the inner holes an osteotomy was performed and the plate was fixed by using bicortical screws. Additionally, to allow in vivo measurement of stiffness, four Kirschner wires where drilled into the tibia. From the third week on the stiffness measurement was conducted once a week. After three weeks half of the animals were exposed to a contact-free electromagnetic heat induction using a water-cooled generator-oscillator combination. In a test sample we determined the induction characteristics by measuring the increase of temperature in correlation to generator power and time. After six weeks the animals were sacrificed, tibiae were exposed and morphologically by x-ray, µ-CT and histology analysed.

Results

Two rabbits suffered undesired fractures, which could be successfully fixed with additional screws. One animal died from anaesthesia and no infections occurred. In all remaining 13 cases primary healing of the osteotomy was clinically, radiographically and macroscopically achieved within six weeks. We have not had any dislocations of implants. The successful employment of the shape memory effect via electromagnetic induction was clearly visible proved by radiographically and macroscopically. Over time the in vivo measurements of tibia stiffness revealed an increasing stiffness.

Conclusion

The deployment of a stiffness changing shape memory effect of the plate has been successfully proven by in vivo electromagnetic heat induction. Demonstrating that stiffness or rigidity can be modified after implantation without additional invasive procedures, is an important step in the development of new orthopedic implants leading to a much more improved bone healing.

Korrespondenzanschrift
Karen Klix
Tierärztliche Hochschule Hannover
Stenhusenstrasse 14
30625 Hannover
Deutschland

BMP65

*N. Baum, M. Zieger, C. Wiegand, M. Gladitz, J. Bauer, S. Finger, S. Reinemann, U.-C. Hipler

Hemocompatibility of polyamide foil equipped with dendritic polymer and zinc additive

Introduction

Hemocompatibility is an important attribute for materials in contact with human blood. Materials with expanded hemocompatibility have great potential for intracorporeal and extracorporeal application. Various assays were performed to determine the blood responses to dendrimer-equipped foil with zinc additive (DF-Zn) by comparison with reference foil (RF). In this study effects on intrinsic and extrinsic activation pathways, together with responses to whole blood, were measured according to EN ISO 10933-4 (2002, 2006). Dendrimer-equipped polyamide foil with zinc additive was used as an example for a multifunctional material with high cellcompatibility together with antimicrobial potential.

Materials & methods

The examined material consisted of polyamide foil equipped with and without dendric polymer and zinc additive. Punches of foil were obtained by using a biopsy punch and measured in the *in vitro* hemocompatibility assays. The time-dependend thrombin generation in normal plasma was measured by the cleavage of a fluorogenic substrate by the serine protease thrombin with the Thrombin Generation Assay (Technothrombin TGA, Technoclone GmbH, Austria) in 96 well format. Fluorescence was determined with SPECTROstar Omega (BMG LABTECH GmbH, Germany). Prothrombin time and activated partial thromboplastin time in plasma were measured in the coagulation analyzer MC1 (Greiner Biochemica GmbH, Germany). Blood coagulation was analysed by incubation of foil samples with citrate blood. Erythocytes, not captured in a fibrin clot, were lysed with Aqua dest. Free haemoglobin in the supernatant was measured at 540nm with SPECTROstar Omega.

Results

Both foil samples accelerated thrombin generation in normal plasma in comparison with control without foil material. Lag time and time to peak were reduced in comparison to control. In whole blood foils also accelerated clot formation compared to control. No acceleration was found for prothrombin time and activated partial thromboplastin time. DF-Zn did not accelerate thrombin generation in comparison to RF.

Discussion

Polyamide foil, equipped with dendritic polymer and zinc additive, is not completely hemocompatible. Intracorporeal *in vivo* usage could be problematic, but acceleration of blood coagulation has advantages in wound management.

Korrespondenzanschrift
Norma Baum
Universitätsklinikum
Erfurter Str. 35
07743 Jena
Deutschland

BMP66

*A. Reindl, S. Hein, P. Imgrund

Untersuchung der mechanischen Belastbarkeit von Interferenzschrauben aus HA/PLA-Komposit mit knochenähnlichem Keramikanteil

In Deutschland werden pro Jahr ca. 80.000 Kreuzbandoperationen durchgeführt [1]. Dabei wird häufig ein Kreuzband-Transplantat mittels einer Interferenzschraube im Knochen fixiert. Zurzeit werden dazu meist Metallschrauben verwendet. Bioresorbierbare Kunststoffe, wie z.B. Milchsäure (Polylactid, PLA) kommen in den letzten Jahren immer öfter zur Anwendung, um auf eine Zweitoperation zur Implantatentfernung zu verzichten. Jedoch zeigte sich, dass bei reinen PLA-Implantaten in 10-17% der Fälle die Knochenneubildung aufgrund von sauren Abbauprodukten reduziert ist und somit das Implantat versagt [2]. Der hier gewählte Ansatz nutzt die Pufferwirkung von Hydroxylapatit (HA) aus, um einen, dem natürlichen Knochen entsprechenden Komposit-Werkstoff zu entwickeln [3]. Dabei soll das HA als synthetisches Gegenstück des Knochenminerals dienen und das PLA die Aufgabe des natürlichen Kollagens übernehmen und für Duktilität sorgen.

Mithilfe der von Nagayama [4] erstmals beschriebenen Flüssigphasenabscheidung ist es möglich eine dünne PLA-Schicht auf das HA-Pulver aufzubringen (s. Abb. 1). Ein Keramikanteil von mehr als 40 Gew.-% (analog dem kortikalen Knochen) kann hiermit erreicht und die mechanischen Eigenschaften verbessert werden.

Abb. 1: Flüssigphasenabscheidung

Das so entwickelte Komposit wird in unterschiedlichen Mischungsverhältnissen von 10 bis 50 Gew.-% HA durch Formgebungsverfahren wie dem Pulverspritzguss weiterverarbeitet.

Eine mechanische Charakterisierung soll die Eignung des Komposits für Interferenzschrauben zeigen. Biokompatibilitäts- und Degradations-Tests sind ebenso für die Entwicklung eines neuen Biomaterials grundlegend. Ein abschließender praktischer Eindrehversuch im künstlichen Knochen soll das Handling und den notwendigen Kraftaufwand beim Einbringen in den Knochen simulieren. Zudem sind weitere Komposite mit PMMA und Chitosan in der Entwicklung.

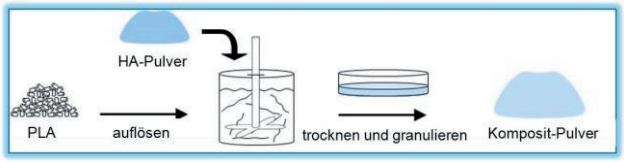
[1] F. H. Fu, C. H. Bennett, C. B. Ma, J. Menetrey, C. Lattermann, *American Journal of Sports Medicine* **2000**, *28*, 124.

[2] T. Juutilainen, E. Hirvensalo, E. Partio, H. Pätiälä, P. Törmälä, P. Rokkanen, *Int. Orthopaedics* **2002**, *26*, 122.

[3] K. Rezwan, Q. Z. Chen, J. J. Blaker, A. R. Boccaccini, *Biomaterials* **2006**, *27*, 3413.

[4] H. Nagayama, H. Honda, H. Kawahara, *Journal of The Electrochemical Society* **1988**, *135*, 2013.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Andreas Reindl
Fraunhofer IFAM
Wienerstraße 12
28359 Bremen
Deutschland

BMP67

*A. Bernstein, N. Südkamp, H.O. Mayr, R. Gadow, A. Killinger, N. Stiegler

In-vitro-Biokompatibilität von dünnen keramischen Beschichtungen hergestellt durch Hochgeschwindigkeits-Suspensions-Flammspritzverfahren

Ziel

Beschichtungen auf Implantaten müssen nur so lange vorhanden sein, bis das Implantat in den Knochen integriert ist. Für die Erfüllung dieser Anforderungen muss die Schichtdicke reduziert und die Homogenität der Schicht verbessert werden. Durch Verwendung nanoskaliger bzw. sub-mikrofeiner Spritzpulver lassen sich dünnere (< 30 µm) homogene Schichten abscheiden. Das neuartige Hochgeschwindigkeits-Suspensions-Flammspritzverfahren (HVSFS) ermöglicht die Verarbeitung eines breiten Spektrums an feinen Pulvern in Suspension, mit Partikelgrößen von mehreren Mikrometern bis unter 50 nm.

Material und Methode

Durch Modifizierung der HVSFS - Parameter konnten 5 verschiedene Beschichtungen mit unterschiedlicher Dicke und Porosität hergestellt werden. Für die Untersuchungen wurden die auf ebene Titansubstrate abgeschieden. Das In-vitro-Verhalten der Keramiken wird mittels der Zellkulturlinie MG63 (ATCC) getestet. Es werden Bewuchsversuche unternommen und mittels ESEM und Laserscanningmikroskopie untersucht. Die Proliferation der Zellen wurde mittels WST Test und die Viabilität mittels Live/Dead Assay nach 3, 7, 14 und 21 Tagen analysiert.

Ergebnisse

Das In-vitro-Verhalten der Beschichtungen wird durch eine Vielzahl von Faktoren bestimmt. Zu diesen zählen die Beschichtungsdicke, die chemische Zusammensetzung, die Kristallinität, die Phasenreinheit und das Degradationsverhalten. Alle Beschichtungen zeigten keinerlei zytotoxische Effekte. Das Adhäsions- und Proliferationsverhalten der Zellen unterscheidet sich in Abhängigkeit vom Material. Die Differenzierungsleistung der Zellen wurde durch die Implantate nur geringfügig beeinträchtigt.

Schlussfolgerungen

Alle untersuchten Materialien zeigen in gute In-vitro-Biokompatibilität. Weiterführende Experimente zur Beurteilung der Osteointegration und des Degradationsverhaltens sind geplant.

Korrespondenzanschrift
Anke Bernstein
Universitätsklinikum Freiburg, Department Orthopädie
und Unfallchirurgie
Hugstetter Straße 21
79199 Freiburg
Deutschland

BMP68

*S. Reichelt, C. Elsner, K. Umnus, J. Kuballa, M. Buchmeiser

Electron beam-initiated synthesis and functionalization of polymeric monoliths and their application in affinity chromatography

Introduction

In the past century porous monolithic structures became an important tool in separation science, particularly the separation of biomacromolecules.[1,2] Monoliths consist of one piece of a highly porous material, which allows for a fast mass transfer and high flow rates at low back pressures. In the field of heterogeneous catalysis and *tissue engineering* monolithic systems are used as carrier materials.

In terms of miniaturized applications the radiation induced polymerization of porous structures gains significant advantage over convenient thermal or light induced polymerizations. Here we report on the EB-triggered synthesis of poly(methacrylate)-based monoliths in poly(propylene) pipette tips (Spin-Tips) adapted to a 96 well format, their post curing modification with amine-containing polymers and their application in the affinity chromatography of glycoproteins.[3,4]

Methods

The experiments were carried out on a 10 MeV linear accelerator. Monoliths were prepared from acrylate based formulations. The obtained devices were characterized by XPS, TGA, FT-IR and porosimetry measurements (mercury intrusion).

Results

We present a versatile method for the preparation and tailor-made functionalization of hydrophilic polymeric monolithic spin-tips by electron beam-triggered free radical polymerization. A novel, water based, one-step approach for the electron-beam derived manufacturing of amine-functionalized monoliths was developed. The separation efficiency was verified flushing a bovine serum albumin/hen egg albumin through the column and the pure was separated with a yield of about 75 % of the applied quantity.

Conclusion

Lectin-based affinity polymers provide a system for the isolation of glycoconjugates. The polymers assure high-specific receptor-ligand interactions. In this context, the developed material offers a helpful tool for purification tasks from a broad range of natural sources. Small scale approaches were designed for feasibility studies. Additionally the material shows low backpressure, which furthermore offers the opportunity of an up-scale to preparative sizes.

1. Svec, F., J. Chromatogr. A, 1217, 2010, 902.

2. Buchmeiser, M. R., Polymer, 48, 2007, 2187.

3. Reichelt, S.; Naumov, S.; Elsner, C.; Prager, A.; Buchmeiser, M., In preparation, 2011,

4. Reichelt, S.; Elsner, C.; Pender, A.; Buchmeiser, M. R., J. Appl. Polym. Sci., 121, 2011, 3638.

Korrespondenzanschrift
Senta Reichelt
Leibniz-Institut für Oberflächenmodifizierung
Permoserstr. 15
04155 Leipzig
Deutschland

BMP69

*C. Symietz, E. Lehmann, R. Gildenhaar, G. Berger, J. Krüger

Fixierung von bioaktivem Calciumphosphat auf Ti6Al4V durch Femtosekunden-Laserimpulse

Knochenersatzmaterialien aus Metall sind zwar biokompatibel, eine zusätzliche bioaktive Beschichtung aus Calciumphosphat aber beschleunigt die Integration des Implantats durch anwachsendes Knochengewebe und sorgt für eine verbesserte Langzeitstabilität. Gegenwärtig genutzte Beschichtungsverfahren haben oft Nachteile, etwa Sprödigkeit, ungenügende Haftung der Schicht am Metall oder eine verminderte Belastbarkeit des Metallkerns.

Wir stellen eine Methode vor, bei der eine dünne Schicht von sehr fein gemahlenem Pulver aus resorbierbarer Knochenersatzkeramik (Code: GB 14 und Ca 10) mittels eines Femtosekunden-Lasers (Wellenlänge 800 nm) auf der Titanlegierung Ti6Al4V fixiert wird. Dabei wird das gemahlene Keramikpulver (Korndurchmesser D50 etwa 1 µm) in einem Schlicker angerührt und durch Dip-Coating auf das Metall übertragen. Diese mehrere zehn Mikrometer dicken Schichten werden mit Laserimpulsen von 30 fs Dauer (bei 1000 Hz Folgefrequenz) bestrahlt (Abbildung 1). Liegt die Laserenergiedichte unterhalb der Abtragsschwelle der Keramik, so bleibt die aufgebrachte Schicht erhalten. Ein ausreichend großer Teil der Strahlung durchquert die teiltransparente Keramikschicht und schmilzt die Oberfläche des Metalls an. Der nur minimale Wärmeeintrag schont das Metall. Es werden dabei nur Keramikkörnchen fixiert, die direkt an der Grenzfläche zum Metall liegen (Abbildung 2). Sie widerstehen nicht nur der Reinigung im Ultraschallbad, sondern lassen sich auch bei Kratztests schwer entfernen.

Abbildung 1: Schema der Bestrahlung durch die Keramikschicht hindurch, Fixierung des Pulvers direkt auf dem Metall.

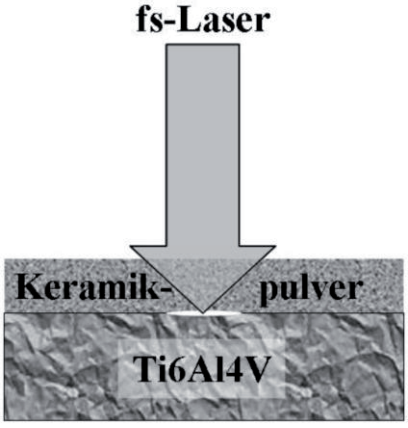
Abbildung 2: Rasterelektronenmikroskopie an einer Schicht, bestehend aus Calciumphosphat, fixiert auf Ti6Al4V. Die zuvor darüberliegende Restschicht wurde bereits mit einer Ultraschallbehandlung entfernt.

Literatur

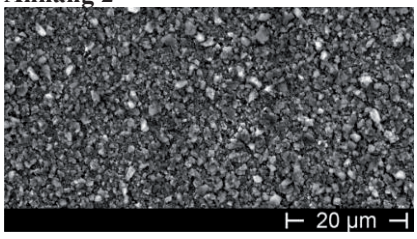
C. Symietz, E. Lehmann, R. Gildenhaar, J. Krüger, and G. Berger, Femtosecond laser induced fixation of calcium alkali phosphate ceramics on titanium alloy bone implant material, Acta Biomaterialia 6, 3318-3324 (2010).

C. Symietz, E. Lehmann, R. Gildenhaar, R. Koter, G. Berger, and J. Krüger, Fixation of bioactive calcium alkali phosphate on Ti6Al4V implant material with femtosecond laser pulses, Applied Surface Science 257, 5208-5212 (2011).

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Christian Symietz
Unter den Eichen 87
12205 Berlin
Deutschland

BMP70

M. Hütten, R. Hessler, M. Möller, T. Stöver, K.-H. Esser, T. Lenarz, *V. Scheper

Dexamethasonapplikation durch Hydrogel zur Innenohrtherapie

Hintergrund

Patienten mit hochgradiger sensorineuraler Schwerhörigkeit können mit einem Cochlea-Implantat (CI) versorgt werden. Postoperativ auftretendes Bindegewebswachstum kann das CI in seiner Funktion beinträchtigen sowie noch vorhandenes Restgehör reduzieren. Mit Glukokortikoiden wie Dexamethason funktionalisierte CIs könnten die Gewebebildung unterdrücken und so den Erfolg, der mit einem CI erreicht werden kann, verbessern helfen.

Methoden

Das aus Hyaluronsäure bestehende Hydrogel STAR-PEG-stat-PO, in welches Wirkstoffe aufgenommen werden können, wurde in ein Silikonreservoir eingefüllt (s. Abb. 1). Dieses Hydrogelreservoir wurde in unserer Studie mit einer Dexamethasonlösung (50 mg/ml) durchfeuchtet und in das Innenohr von Meerschweinchen implantiert. Zur Beurteilung der Effekte des freigesetzten Dexamethasons auf das Hörvermögen der Tiere wurde über einen Versuchszeitraum von 28 Tagen via acoustically evoked auditory brainstem response Messung die Hörschwelle der Tiere bestimmt. Nach Ablauf der 4 Wochen wurde das Innenohr explantiert und mittels Schleiftechnik eine histologische Auswertung des Gewebes vorgenommen.

Ergebnisse

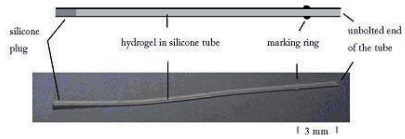
Die vorläufigen Ergebnisse weisen darauf hin, dass es keinen Unterschied zwischen dem Hydrogelreservoir und einer mittels einer konventionellen Pumpe durchgeführten Positivkontrolle bezüglich der Effekte auf Hörvermögen und Bindegewebsbildung gibt. Verglichen mit einer Negativkontrolle scheint die Bindegewebsbildung erniedrigt zu sein.

Schlussfolgerungen

Nach jetzigem Kenntnisstand stellt das flexibel einsetzbare Hydrogel ein vielversprechendes Applikationsmittel dar, um wasserlösliche Medikamente über einen längeren Zeitraum zuverlässig in therapeutischen Dosen im Innenohr freizusetzen.

Abb. 1: Schema des Reservoires

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Mareike Hütten
Medizinische Hochschule Hannover
Feodor-Lynen-Straße
30625 Hannover
Deutschland

BMP71

*R. Lutz, T. Schmidt, M. Dehling, C. Prechtl, A. Alexakis, K.A. Schlegel

Regeneration of bony defects after application of an aragonite-based bone graft substitute

Aim

The aim of this study was to evaluate the mineralization of bony defects after application of an aragonite-based bone substitute material (bsm) in two different modifications.

Materials and methods

Four experimental groups were formed: aragonite and aragonite with collagen coating and each in combination with 25% autogenous bone. Each eight bony defects (ø 1cm, depth 1cm) were created in the frontal bone of 21 adult domestic pigs. Mineralization of the defects was determined by microradiographic investigation.

Results

All bsm used in the different modifications showed a complete degradation after 8 weeks. Over time, an increasing degradation of the bone substitute material wasfound, wherein the collagen coated material showed a delayed degradation compared to the uncoated material. The degradation of the material allowed regeneration of the bony defects after 8 weeks. Bone formation was visible from day 14 and reached a maximum after 8 weeks, addition of autogenous bone showed accelerated bone formation. Microradiographic analysis showed mineralization rates of 10.5% after 14 days, 48.8% after 8 weeks, 46.0% after 12 weeks and 42.8% after 6 months using aragonite, using aragonite with autogenous bone rates were 10.9% after 14 days, 52.8% after 8 weeks, 40.2% after 12 weeks and 52,7% after 6 months.Bone formation rates for collagen coated Aragonite were 13.2% after 14 days, 48.1% after 8 weeks, 36.7% after 12 weeks and 45.4% after 6 months. Collagen coated aragonite in combination with autogenous bone showed 19.0% mineralization rate after 14 days, 53.6 % after 8 weeks, 43.6% after 12 weeks and 53.1% after 6 months.

Conclusion

In all modifications the aragonite-based bsm proved to be suitable to regenerate bony defects due to its osteoconductive properties and rapid material degradation.

Korrespondenzanschrift
Rainer Lutz
FAU Erlangen-Nürnberg
Glückstr. 11
91054 Erlangen
Deutschland

BMP72

*A. Deing, T. Ebel, R. Willumeit, B. Luthringer

Porous Ti6Al4V material for cell ingrowth produced by Metal Injection Moulding

Background

Ti6Al4V is commonly used as implant material. To increase cell ingrowth, *i.e.*, bone integration, a new titanium-based porous material was produced and characterized.

Methods

Via MIM (Metal Injection Moulding) four different sample porosities were produced using gas-atomised spherical alloy powder particle sizes ranging from < 45 µm to 180 µm (< 45µm, 45 - 63 µm, 125 - 180 µm, and MIX (90% 125 - 180 µm + 10% < 45 µm), respectively). Sintering of the samples was carried out at a temperature of 1300°C. The dimensions of the pores were explored with tomography and optical metallographic methods. MTT assays were employed to analyse the material cytotoxicity on bone cell models (*e.g.*, SaOs-2 cells) and HBDC (human bone derived cells). Additionally, cell colonisation into the porous material has been investigated via SEM (scanning electron microscopy) and will be explored *in vitro* three dimensional (3D) model system [1].

Results

The pore analysis of the 125 - 180 µm and MIX samples showed a pore volume of about one third of the materials with diameters in a range up to 200 µm. The mechanical properties of the different porous materials are currently under investigation. Already, a preference of SaOs-2 cells for the 125 - 180 µm samples has been observed. SEM allowed the visualisation of cells in the middle of the material after breaking the specimen in two halves.

Conclusion

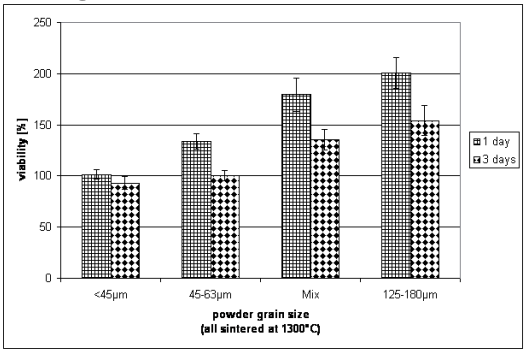
Taking all together, these results already show a positive effect of the material produced by the biggest grain size on cell growth. Furthermore, the pore analysis showed cavities suitable for cell ingrowth. Additional benefits of phospholipid coating on porous Ti6Al4V material will be considered in further studies according to previous results [2].

[1] Claudia Bergemann, Friederike Kunz, Ernst-Dieter Klinkenberg, Volker Weißmann, Stefan Ofe, Sebastian Spath, Hermann Seitz, Regina Lange, Patrick Elter, Ulrich Beck, Rainer Bader, Barbara J. Nebe, science24.com/conferences, 2009 (http://www.science24.com/paper/18463).

[2] R Willumeit, M Schossig, H Clemens, and F Feyerabend, European Cells and Materials Vol. 13. 2007 (pages 11 - 25).

Fig.1: The results of the MTT assay after 1 day and 3 days incubated with SaOs-2 cells. As control mirror polished Ti6Al4V was taken for standardization as 100%.

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Axel Deing
Helmholtz-Zentrum Geesthacht
Max-Planck-Straße 1
21502 Geesthacht
Deutschland

BMP73

*A. Kirsten, D. Duarte Campos, H. Fischer

Funktionalisierung von Titanimplantaten mittels elektrophoretisch abgeschiedener bioaktiver Gläser

Die Osseointegration von metallischen Dentalimplantaten könnte durch eine Beschichtung aus einem geeigneten bioaktiven Glas verbessert werden. Bioaktive Gläser stimulieren *in vivo* die Bildung einer calciumphosphatreichen Schicht, wodurch ein starker Verbund zwischen Glas und umgebenden Knochen entstehen kann. Zudem weisen viele bioaktive Gläser antibakterielle Eigenschaften auf, die eine initiale Bakterienbesiedlung bei der Insertion vermindern können. Mittels elektrophoretischer Abscheidung von Glaspulvern können die Dicke und die Zusammensetzung der Beschichtung reproduzierbar eingestellt werden. Ein anschließender thermischer Prozess begrenzt jedoch die Materialauswahl. Vor allem das weithin untersuchte Hench-Bioglas (45S5) ist thermisch nicht kompatibel zu gängigen Titanlegierungen, was eine direkte Beschichtung mit diesem Glas verhindert. Die Verwendung von Gläsern mit angepasstem thermischem Dehnungskoeffizienten geht jedoch oftmals mit einer Verringerung der bioaktiven Eigenschaften einher. In dieser Studie wurde ein bioaktives Glas, das einen thermischen Dehnungskoeffizienten nahe dem der Titanlegierung aufweist, mittels elektrophoretischer Abscheidung in unterschiedlichen Schichtdicken auf Ti6Al4V beschichtet und anschließend aufgeschmolzen. Zur Abschätzung des Verbundes wurden in Querschliffen Vickers-Eindrücke auf die Metall/Glas-Kontaktfläche gesetzt und die Rissausbreitung evaluiert. Untersuchungen in SBF-Lösungen wurden durchgeführt, um den bioaktiven Charakter des Glases zu bestätigen. Zudem wurden Mehrfachschichten aus verschiedenen bioaktiven Gläsern hergestellt, um maßgeschneiderte Eigenschaften der Beschichtungen zu erreichen. Durch die gradierte Herstellung der Beschichtung konnte sowohl eine thermische Anpassung der Glasschichten an das Substrat, als auch eine erhöhte Bioaktivität an der späteren Grenzfläche zum Knochen erhalten werden. Durch die antibakteriellen Eigenschaften bioaktiver Gläser könnte zudem einer Periimplantitis entgegengewirkt werden.

Korrespondenzanschrift
Armin Kirsten
Universitätsklinikum RWTH Aachen
Pauwelsstraße 30
52072 Aachen
Deutschland

BMP74

*U. Braun, A. Bertin, R. Bleul, M. Maskos

Durability of Biopolymers: Molecular Structure and Material Characteristics

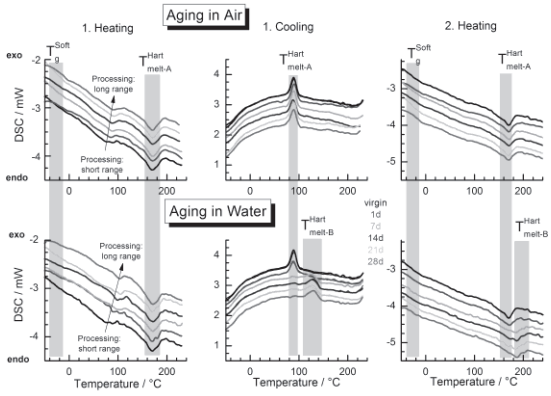
Polymers are one of the most common materials in medical applications for short- and long-term use. The investigation of polymeric materials used in medicine such as catheters or syringes, as well as nano-sized polymeric systems, is of great importance to get a better understanding of the complex interaction of polymers with various chemical and biological environments encountered in the field of medicine at different length scales. On the one hand such polymeric materials must withstand various mechanical, biological and chemical attacks during their life time, but on the other hand, they must be biocompatible and safe in use. Thus, we need a detailed understanding of the reliability of these materials under various conditions, including not only the chemical and biological environment in vivo, but also the history of materials, such as the processing and sterilization conditions for the products or the aging circumstances. In the first part of our work we investigate the aging of commercial polymeric medical products under medically relevant conditions (Figure 1) [1] and in the second part, we present a reliable method to produce well-defined polymeric nanoparticles (Figure 2) [1-4] as well as some studies on these model systems to get a better understanding of the molecular processes involved in biocompatibility (protein and cell interactions).

Figure 1 DSC curves of polyurethane, aged in air and water at 90 °C. The glass transition temperature of soft segment is not affected, but the shift in crystallization temperature of hart segment gives evidence that water incorporates in molecular structure (hydrogen bridges) and change the flexibility of polymer chains.

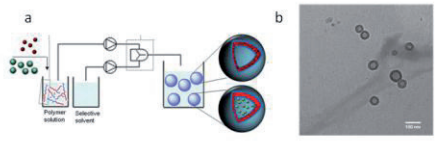
Figure 2 a) Schematic illustration of the continuous synthesis of loaded polymersomes. b) TEM image of crosslinked nanoparticles from PB130PEO66-(CO)-CH2-CH2-COOH polymer.

[1] “Investigation of the durability of poly(ether urethane) in water and air” U. Braun, E. Lorenz, M. Maskos. Int J Artif Organs 2011; 34(2): 129 – 133.
[2] “Polymersomes: A Synthetic biological approach to encapsulation and delivery” M. Massignani, H. Lomas, G. Battaglia. Adv. Polym. Sci. 2010, 229, 115-154.
[3] “pH-change protective PB-b-PEO polymersomes” W. Mueller, K. Koynov, S. Pierrat, R. Thiermann, K. Fischer, M. Maskos. Polymer 2011, 52, 1263-1267.
[4] “Synthesis of block copolymer vesicles in a micromixer” W. Müller, M. Maskos, D. Metzke, P. Löb. La Houille Blanche, 2009, 6, 125-128.

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Ulrike Braun
BAM
Unter den Eichen 87
12205 Berlin
Deutschland

BMP75

*R. Smeets, M. Heiland, M. Blessmann, A. Kolk

Eine Hydroxylapatit-funktionalisierte Seidenmembran für die GBR- und GTR-Technologie

Hintergrund

Das Ziel unserer Untersuchungen war die in vitro Prüfung einer neuartige Oberflächen-funktionalisierten Seiden-Matrix für den Einsatz in der GBR- und GTR-Technologie. Gegenüber herkömmlichen, aus tierischem Gewebe gewonnenen Kollagenmembranen wurde die Oberfläche der verwendeten Seiden-Membran während der Produktion funktionalisiert.

Methoden

ST Seiden-Matrices (Spintec Engineering GmbH) wurden hinsichtlich des Proliferationsverhaltens von L929 Fibroblasten und DOK-Zellen getestett. Zusätzlich wurde mittels LDH-Bestimmung ein möglicher cytotoxischer Einfluss der Membranen auf die Zellen überprüft sowie der Einfluss der Oberflächenbeschaffenheit auf die Adhäsion der Zellen untersucht. Für die in vitro Untersuchung im Kontext der GBR-und GTR-Technologie wurde die Oberfläche von ST-Membranen mit Hydroxylapatit funktionalisiert. Anschließend erfolgte die Besiedelung der Membranen mit mesenchymalen Stammzellen (MSC) der Ratte. Über einen Zeitraum von 7 Tagen wurden die Vitalität der Zellen und die Bildung der alkalischen Phosphatase als Marker der osteogenen Differenzierung bestimmt. Zusätzlich erfolgte eine rasterelektronenmikroskopische (REM) Untersuchung, eine µ-CT-Untersuchung und eine digitale-Mikroskopie mittels VHX-600 (Fa. Keyence) der Membranen.

Ergebnisse

L929 Zellen und DOK Zellen, die auf den ST-Matrices für 22 Tage kultiviert wurden, waren über den gesamten Zeitraum vital und proliferierten. Hinweise auf eine cytotoxische Wirkung des ST-Seidenmaterials ließen sich nicht beobachten. Beide Zelllinien adhärierten besser auf einer rauhen Oberfläche der Seidenmembran. Des Weiteren schienen mit Hydroxylapatit funktionalisierte ST-Membranen auf MSC osteoinduktiv zu wirken.

Schlussfolgerung

Die ST-Seiden-Matrices scheinen unter in-vitro-Bedingungen biokompatibel zu sein und das Wachstum unterschiedlicher Zelltypen zu unterstützen. Eine zusätzliche Behandlung der Membran durch Anrauhung der Oberfläche und Funktionalisierung mit Hydroxylapatit ließ in vitro einen messbaren biologischen Effekt erkennen. Darüber hinaus lässt die Funktionalisierung der ST-Matrices mit Hydroxylapatit einen osteoinduktiven Effekt auf MSCs vermuten.

Korrespondenzanschrift
Ralf Smeets
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Martinistr. 52
20246 Hamburg
Deutschland

BMP76

*B. Luthringer, A. Deing, T. Ebel, R. Willumeit

Synergetic effect of Ti6Al4V porosities and POPE-based biointerface on cell metabolism.

Introduction – Question

Titanium (Ti) is an appropriate material for long-term implants. However, improving the performances of such prosthetic devices is the key to improve patient wellness and durability of permanent implants. In this perspective a new stable porous Ti (Ti6Al4V) material has been produced by metal injection moulding (MIM). Moreover, contribution of a POPE-based biointerface (16:0-18:1 phosphoethanolamine), known to induce differentiation and matrix production of chondrocytes and stem cells on other Ti-based material[1], has been examined as to whether a synergistic effect can be achieved on surface biocompatibility.

Materials & methods

Ti powders of different grain sizes (<45, 45-63 and 125-180 µm) have been selected to produce samples with 4 different porosities (named <45, 45-63, MIX (90% 125-180 + 10% <45µm) and 125-180, respectively). Cell (Saos2) viability on coated and uncoated metal was first assessed measuring metabolically active cells after 1 and 3 days (MTT colorimetric assay). Additionally influence of the POPE coating and of the variable porosities on human bone derived cells (HBDC) differentiation was studied by measurement of osteocalcin (OC) release after 2 weeks cultivation with induction media.

Results

Significant (*t*-test, $p \leq 0.05$) decrease of cell viability from day 1 to day 3 was observed for all porosities without POPE coatings however this tendency reversed with POPE coating: significant increases were observed (except for 45-63) reaching a maximum increase of 31% viability (%control) for 125-180. Also an increase of OC expression was observed for the higher porosity samples with or without POPE-coatings. OC expression was also statistically higher for all POPE-coated samples than for their respective uncoated ones (Fig 1).

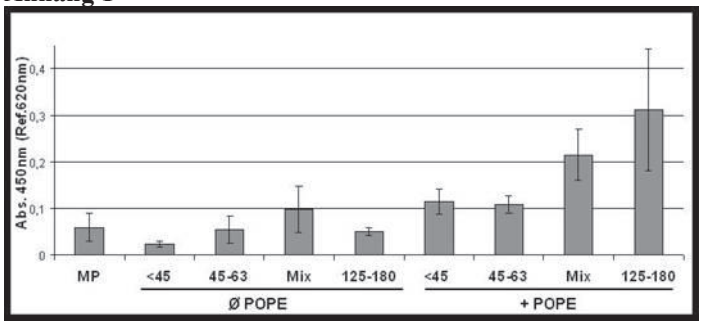
Conclusion

Higher amount of metabolically active Saos2 and more differentiated HBDC are obtained with MIX and 125-180 samples. Taking these results into account, further thorough tests (*e.g.*, qPCR) on coated 125-180 and MIX samples are currently under investigation.

Fig 1- HBDC differenciation assay after 2 weeks induction. OC a marker of mature osteoblasts was measured by Elisa assay. Absorbances are normalised with DNA content of samples. Statistical significances are indicated (*; *t*-test $p \leq 0.05$).

1 Willumeit *et al.* 2007 eCM 13: 11-25

Anhang 1



Korrespondenzanschrift
Bérengère Luthringer
Helmholtz-Zentrum Geesthacht
Max Planck Strasse 40
21502 Geesthacht
Deutschland

BMP77

*M. Zeppenfeld

Characterization of PU composite scaffolds for bone regeneration

Introduction

Traumatic injuries or diseases give high motivation in developing new materials to improve common clinical therapies. Different researchers are developing composite materials, by loading polymers with nanosized calcium phosphates (CaP) [1,2]. This work aims to develop and characterize polyurethane (PU)-based composites with different percentages of nanosized hydroxyapatite (HA) or apatite (A), as scaffolds for bone tissue regeneration.

Objectives

PU composite foams were produced by a gas foaming technique, using MDI prepolymer and a polyether-polyol mixture [3]. Water (2% w/w_{polyol}) was used as expanding agent, iron-acetylacetonate as catalyst. Nanosized A or HA particles were loaded during the synthesis. As reference, a PU foam (PU) was synthesized with no added fillers. PU foam and composites were characterized for density, water uptake, porosity (pycnometer) and average pore size (ASTM D3576-04 standard practice). Surface morphology was investigated by SEM. Mechanical properties of dry and wet samples were investigated by uniaxial compressive test. *In vitro* bioactivity of the samples was investigated by immersion in Simulated Body Fluid (SBF) for 7 and 14 days.

Results

All composites showed similar density and an adequate percentage of open pores (Table 1).

Table 1: Properties of PU foam and composites

Water uptake, steeply ascending during the first 10 days, showed maximum values at 360-370 %. First results of SBF treatment show a weight increase in the range of 12 % after 14 days due to CaP deposition. The mechanical characterization in dry condition (Fig.1) showed higher values of stiffness and maximum stress for the composites compared to the PU foam.

Fig. 1: stress-strain curves of composites and PU foam

Conclusion

Loading with CaP doesn't affect the foaming process. On the basis of the results so far obtained and proven in previous research works [3,4], the proposed PU composites seem to be adequate scaffolds for bone regeneration. The CaP-fillers promise osteoconductivity for bone cells and, due to an *in vivo* improved CaP deposition, will lead to an increase in mechanical properties.

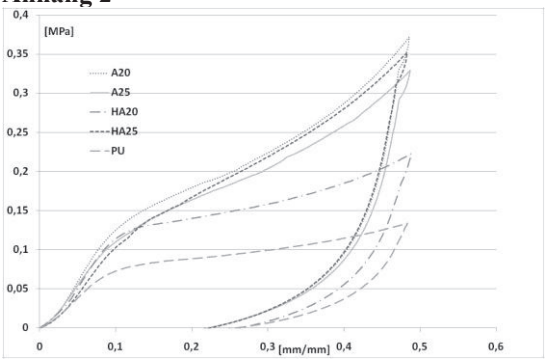
References

[1] Dong Z et al. *Appl Surf Sci* 2009; 255:6087
[2] Laschke MW et al. *Acta Biomater* 2010; 6:2020
[3] Bertoldi S et al. *J Mater Sci Mater Med* 2010; 21:1005
[4] Zanetta M et al. *Acta Biomater* 2009; 5:1126

Anhang 1

Material	Filler (% by weight)	Density [g/cm³]	Open cells [%]
PU	-	0.10 ± 0.00	43 ± 4.3
A20	A (20)	0.14 ± 0.01	78 ± 1.3
A25	A (25)	0.14 ± 0.01	78 ± 3.0
HA20	HA (20)	0.10 ± 0.00	68 ± 4.0
HA25	HA (25)	0.14 ± 0.01	76 ± 7.3

Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Matthias Zeppenfeld
Technische Universität München
Nelkenweg 10a • 82515 Wolfratshausen
Deutschland

BMP78

*M. Meißner, H.P. Jennissen

Analysis of Transient Affinity Changes in the Adsorption of Avidin-FITC on immobilized Biotin by Total Internal Reflection Fluorescence (TIRF)

Introduction

An air bubble in a rheometer in connection with evanescent wave technology (TIRF-Rheometer) allows the direct determination of adsorption kinetic constants [1]. Here we employ this technology to measure the binding of avidin to immobilized biotin with a theoretical binding constant of 1015 M-1 [2].

Materials and Methods

Cleaned [2] quartz glass plates were functionalized with 3-(aminopropyl)-triethoxysilane and then was biotinylated for 12 h at 4 °C with sulfo-NHS-biotin (6.6 mg in 100 ml 50 mM PBS, pH = 7.0). To block the non specific binding sites the quartz slides were preincubated in BSA (1 mg/ml in 50 mM PBS, pH = 7.0). Avidin-FITC adsorption was analyzed in 50 mM PBS (pH = 7.0). Desorption was performed in 50 M PBS (pH = 7.0). The kinetic measurements were made on a TIRF-Rheometer [1] with a Spex Fluorolog spectrometer Model F112 (Instruments SA, München) with xenon lamp excitation: λex = 495 nm, emission: lem = 519 nm for analysis of FITC fluorescence at avidin molecules.

Results

Fig. 1 Adsorption of avidin-FITC on immobilized biotin. Two phase exponential fit yields two k_{obs}-values and half-lives. Residuals of the runs test of the exponential fit is P = 0.0773.

Fig. 1 shows the adsorption kinetics of avidin-FITC on immobilized biotin for the encounter complex (conformation I) in the TIRF-rheometer. The adsorption kinetics can be fitted to two phase exponential functions with slopes corresponding to k_{obs}, for the two concurrent surface reactions A and B. From plots of k_{obs}-values versus the Avidin-FITC concentration (see [1]) the adsorption and desorption rate constants for two concurrent encounter complexes A and B can be derived. Binding contants of 0.9 and 2.5 x 107 M-1 are obtained.

Desorption kinetics of Avidin-FITC from immobilized biotin (not shown) monitored 5 min after equilibration can fitted to a two phase decay and reveal rate constants which are three orders of magnitude higher than desorption rate constants of the encounter complex (= complex II).

Tab. 1 Kinetics constants

The kinetics constants, which yield the binding constants, are shown in Tab. 1. For each reaction two binding constants result: A first binding constant for the encounter complex I and a second one for complex II.

Discussions and Conclusions

The simultaneous analysis of two concurrent binding reactions is shown for the first time with FITC-avidin on immobilized biotin. In a secondary conformational reaction the affinity increases by two orders of magnitude. The reduced affinity 107-109 M-1 can be explained by steric hindrance on the surface.

References

[1] Jennissen, H.P. & Zumbrink, T. (2004) Biosens. Bioelectron. 19, 987-997.

[2] Livnah, O., Bayer, E.A., Wilchek, M., & Sussman, J. L. (1993). Proc Natl. Acad. Sci U. S. A, 90, 5076-5080.

Korrespondenzanschrift
Michael Meißner
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstraße 55
45122 Essen
Deutschland

BMP79

*R. Kemkemer, B.R. Aragües, J.P. Spatz

Hydrogele mit präziser auf nanometer-skala variierbarer Biofunktionalisierung der Oberfläche

Hintergrund

Neuartige adhäsive Grenzflächen zu Zellen erlauben die präzise Untersuchung von zellulären Reaktionsmechanismen und sind von großem Interesse in der regenerativen Medizin und Implantatentwicklung. Grundlage ist, dass Zellen sehr spezifisch chemische und strukturelle Signale ihrer extrazellulären Umgebung oder von artifizieller Oberflächen wahrnehmen und darauf reagieren. Die kann zu Änderungen in Funktionen wie Proliferation, Migration oder auch Differenzierung führen. Dabei spielt auch die Anordnung von Adhäsionsliganden auf molekularer Ebene (Nanometer) ein wichtige Rolle. Deshalb bieten Oberflächen mit variabel einstellbaren Ligandenabständen möglicherweise neuartige Möglichkeiten, Zellen spezifisch zu manipulieren.

Methode

Elastsiche Hydrogele aus Poly(ethylenglicol)-Diacrylat (PEG-DA) dienen als Trägersubstrat. Die Oberfläche der Gele wird mittels einer einfachen nanolithographischen Methode mit 8 nm großen Gold-Nanopartikel (Au-NP) versehen. Die Au-NP sind dabei hexagonal in sehr genauen Abständen zwischen 40 und 120 nm angeordnet. Die Au-NP können dann spezifisch mit adhäsiven Peptiden (hier cyclisches RGD) funktionalisiert werden. Der Oberfläche zwischen den Partikeln ist durch das PEG-DA proteinabweisend. In dieser Weise erhält man in spezifischen Abständen angeordnete Adhäsionsliganden (RDG). Die Hydrogele werden so gestaltet, dass sie mittels eines experimentellen Aufbaus unter dem Lichtmikroskop mechanisch deformierbar sind. Somit lassen sich die Abstände der Liganden dynamisch in Zellexperimenten variieren.

Ergebnisse

Die Gele wurden mechanisch Charakterisiert und haben ein Elastischen Modul von etwa 80 kPa. Mechanische Tests zeigen, dass die Hydrogele in gewiesen Dehnungsbereichen (bis ca. 20%) weitgehend elastisch dehnbar sind. Zellen adhärieren spezifisch auf den funktionalisierten PEG-DA Gelen und nicht in Bereichen ohne Funktionalisierung. Eine mechanische uniaxiale Dehnung (bis 20%) wird auf adhärente Zellen übertragen. Die wird durch genaue Vermessung der Zellmorphologie vor und nach dem Zeihen gezeigt. Die Fokalen Adhäsion-Komplexe der Zellen, dargestellt durch GFP-Paxillin, verändern sich in ähnlicher Weise bei Änderung der Ligandenabstände.

Zusammenfassung

Die neuartigen nanometer-genauen Hydrogele sind mechanisch manipulierbar und eigenen sich für Zellexperimente bei lichtmikroskopischer Beobachtung. Dadurch ist es möglich, Zellreaktion bi dynamischen Änderungen der Abstände von Adhäsionsliganden zu untersuchen. Die Technik ist grundsätzlich übertragbar, um die Reaktion verschiedener Zelltypen zu untersuchen.

Korrespondenzanschrift
Ralf Kemkemer
Max-Planck-Institute für Intelligente Systeme
Stuttgart
Deutschland

BMP80

*G. Paczkowski

Oberflächenfunktionalisierung polymerer Werkstoffe durch Methoden des Thermischen Spritzens für den Einsatz im Menschlichen Körper

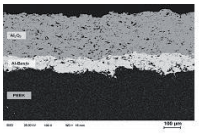
Der Ersatz metallischer Grundwerkstoffe durch Hochleistungspolymere und die Kombination dieser Werkstoffklassen miteinander in Form eines hybriden Materialverbundes stellt eine der wesentlichen und bedeutungsvollsten Herausforderungen der nächsten Jahre dar. Aktuelle Großprojekte aus Industrie und Forschung setzen sich aktiv mit dieser Thematik auseinander.

Oberflächenfunktionalisierte (beschichtete) Polymere eignen sich neben klassischen CFK- und GFK-Verbundwerkstoffen für innovative Materialverbunde mit hoher Dauerfestigkeit bei gleichzeitig geringem Gewicht. Die Möglichkeit diese Konstruktionswerkstoffe mittels endkonturnaher, formgebender Verfahren (Spritzgießen, Lasersintern) zu komplex geformten Bauteilen zu verarbeiteten, eröffnet ein breites Anwendungsspektrum dieser Materialien. Hochleistungspolymere, wie Polyetheretherketon (PEEK), besitzen trotz hervorragender mechanischer Eigenschaften die für die meisten Kunststoffe bekannten Nachteile hinsichtlich elektrischer Leitfähigkeit, UV- und Verschleißbeständigkeit der Oberflächen im Kontakt zu abrasiv wirkenden tribologischen Partnern. Das Thermische Spritzen nach DIN EN 657 mit seiner Vielzahl an Verfahrensvarianten stellt eine Möglichkeit dar, diese Eigenschaften zu verbessern.
Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Oberflächenfunktionalisierung von Hochleistungspolymeren auf der Basis von Polyaryletherketon mit dem Ziel, das tribologische Verhalten dieser Werkstoffe zu verbessern. Die so erzeugten hybriden Materialverbunde sollen im Bereich der Medizintechnik die Primärstabilität verschiedener Implantate erhöhen und ein Anwachsen der Knochenzellen an die Implantatoberfläche erleichtern. Die verwendeten Beschichtungswerkstoffe wurden unter den Gesichtspunkten der Körperverträglichkeit ausgewählt. Das Paper beschreibt die systematische Herangehensweise zur Herstellung fest haftender metallischer Grundschichten auf einer polymeren Matrix und analytische Methoden zur Charakterisierung des Werkstoffverbundes.

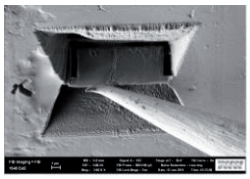
Abb. 1: Funktionsschicht aus Aluminiumoxid auf faserverstärktem PEEK

Abb. 2: Durch Ionensputtern frei gearbeitete PEEK-Lamelle zur TEM-Untersuchung

Anhang 1



Anhang 2



Korrespondenzanschrift
Gerd Paczkowski
TU Chemnitz
09107 Chemnitz
Deutschland