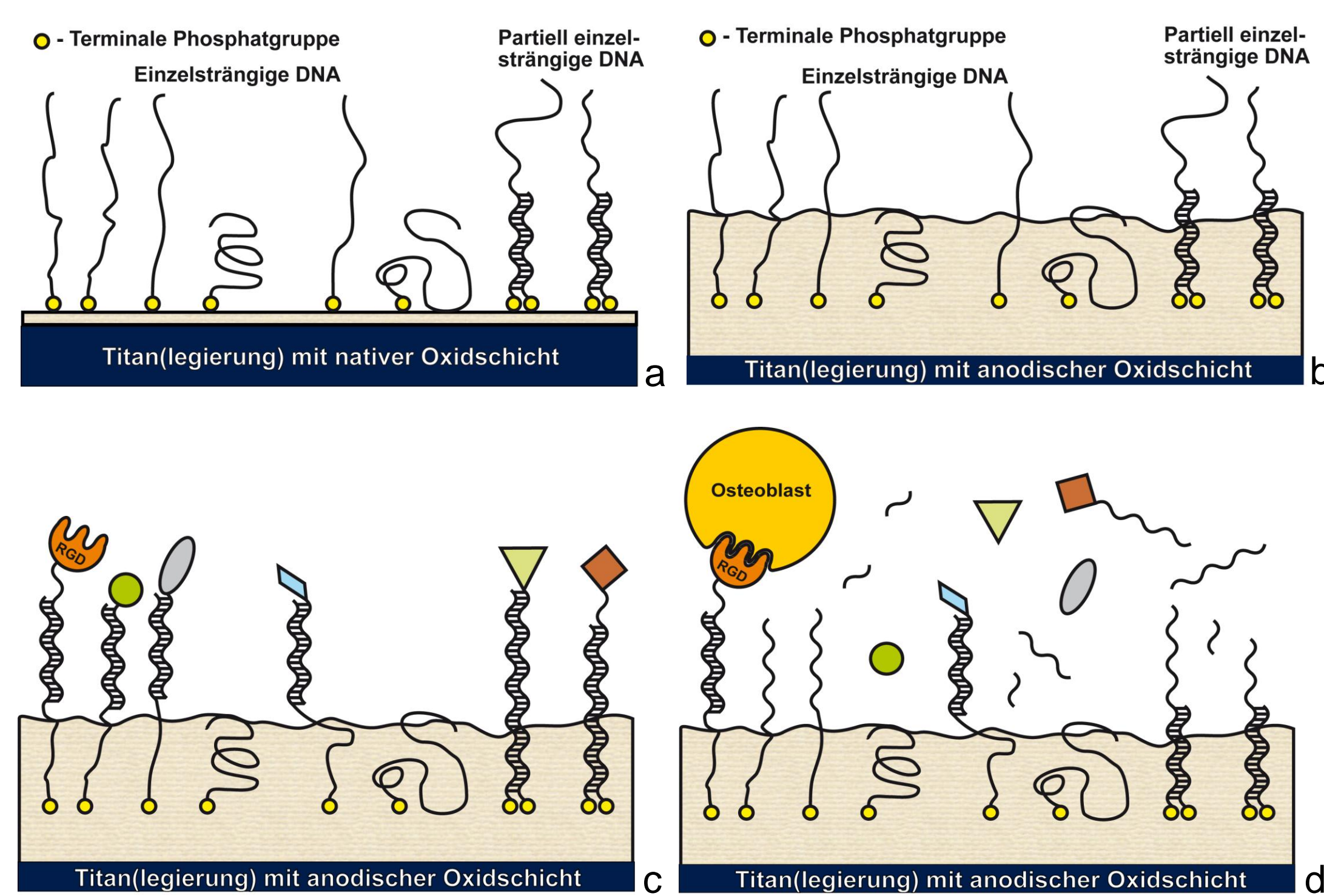


Modulares selbstorganisierendes Immobilisierungssystem zum Biosurface-Engineering enossaler Implantatmaterialien

¹Cornelia Wolf-Brandstetter, ¹Judith Reichert, ²Jan Michael, ²Bernd Schwenzer, ¹Dieter Scharnweber

Einleitung

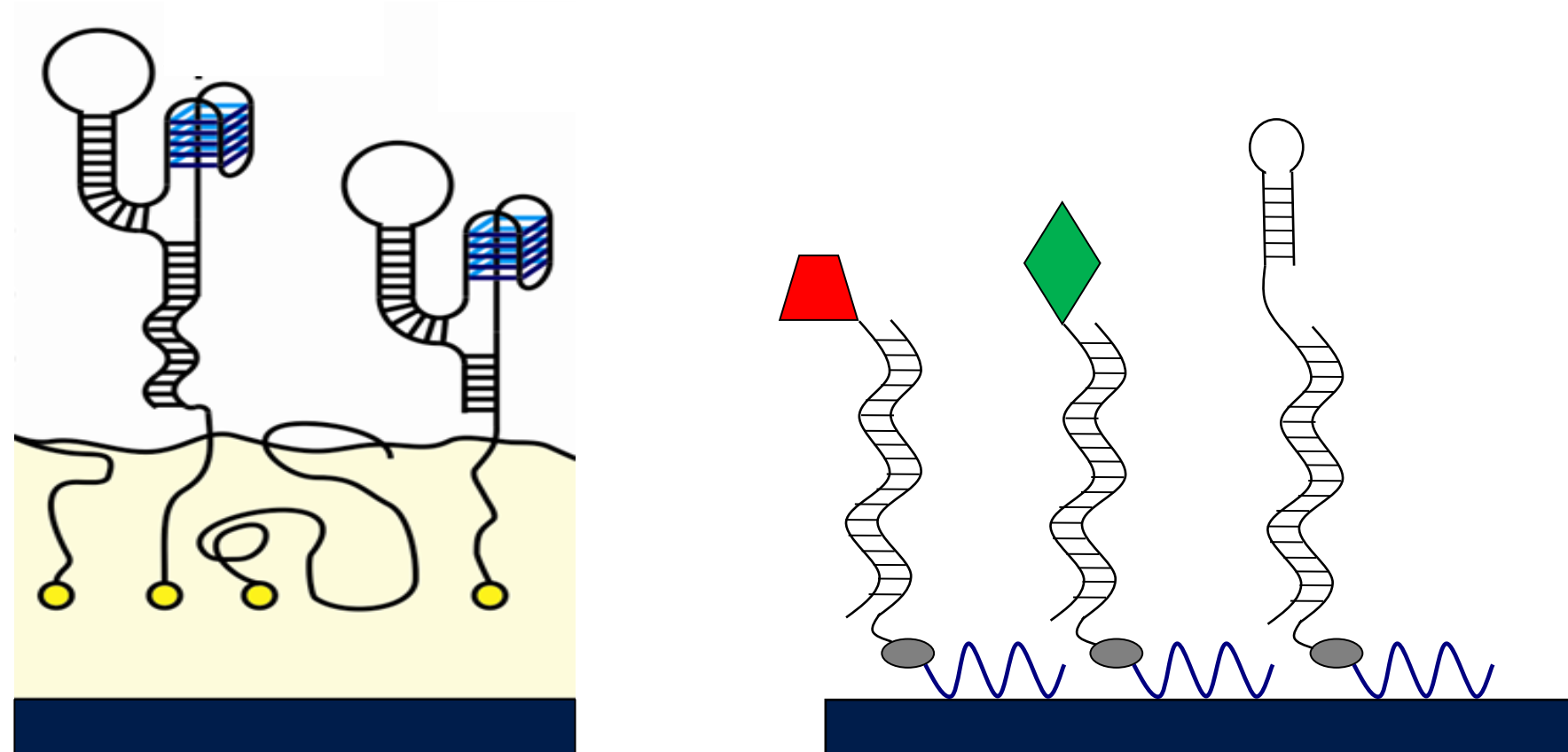
Titanlegierungen stellen für viele Implantatanwendungen das Material der Wahl dar. Diese weisen in der Regel sehr hohe Erfolgsraten auf. Für systemisch geschädigte Patienten (Osteoporose, Diabetes, etc.) besteht jedoch der Wunsch nach einer zusätzlichen patientenspezifischen Funktionalisierung der Implantatoberflächen zur Verbesserung des Einheilverhaltens. Dazu wurde ein Nukleinsäure-basiertes modulares Immobilisierungssystem entwickelt, das die Doppelstrangbildung von DNA als eine Art nano-Reißverschluss zur Oberflächenfunktionalisierung nutzt.



Prinzipdarstellung des modularen Immobilisierungssystems:

- Regioselektive Adsorption von (teilweise) einsträngiger DNA als Ankerstrang (AS);
- Partieller Einbau in anodisch verdickte Oxidschicht;
- Hybridisierung durch Doppelstrangbildung mit komplementären Strängen – konjugiert mit biologisch aktiven Molekülen,
- Biologische Wirkung der funktionalisierten Oberflächen.

Weiterentwicklungen erlauben die direkte Wechselwirkung der DNA-Strukturen mit zellulären Zielen durch Anwendung von Aptameren sowie die Immobilisierung der Ankerstränge an weitere Implantatmaterialien durch spezifische Wechselwirkungsbausteine.



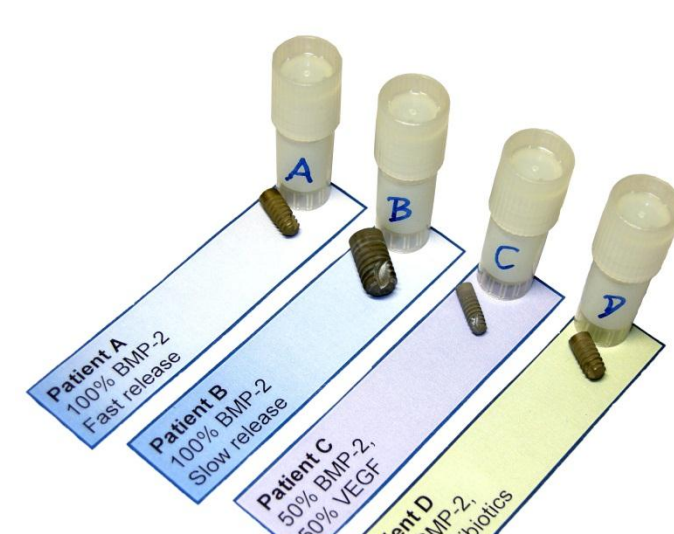
Weiterentwicklung des Systems

links: Proteinfreies Immobilisierungssystem durch Nutzung von Aptameren
rechts: Immobilisierung durch Nutzung substratspezifischer Peptidsequenzen

Vorteile

Die Implantatoberflächen können:

- mehrere biologische Funktionalitäten tragen
- mehrere Wirkstoffe mit jeweils spezifischer Kinetik freisetzen
- unmittelbar vor der Operation patientenspezifisch angepasst werden

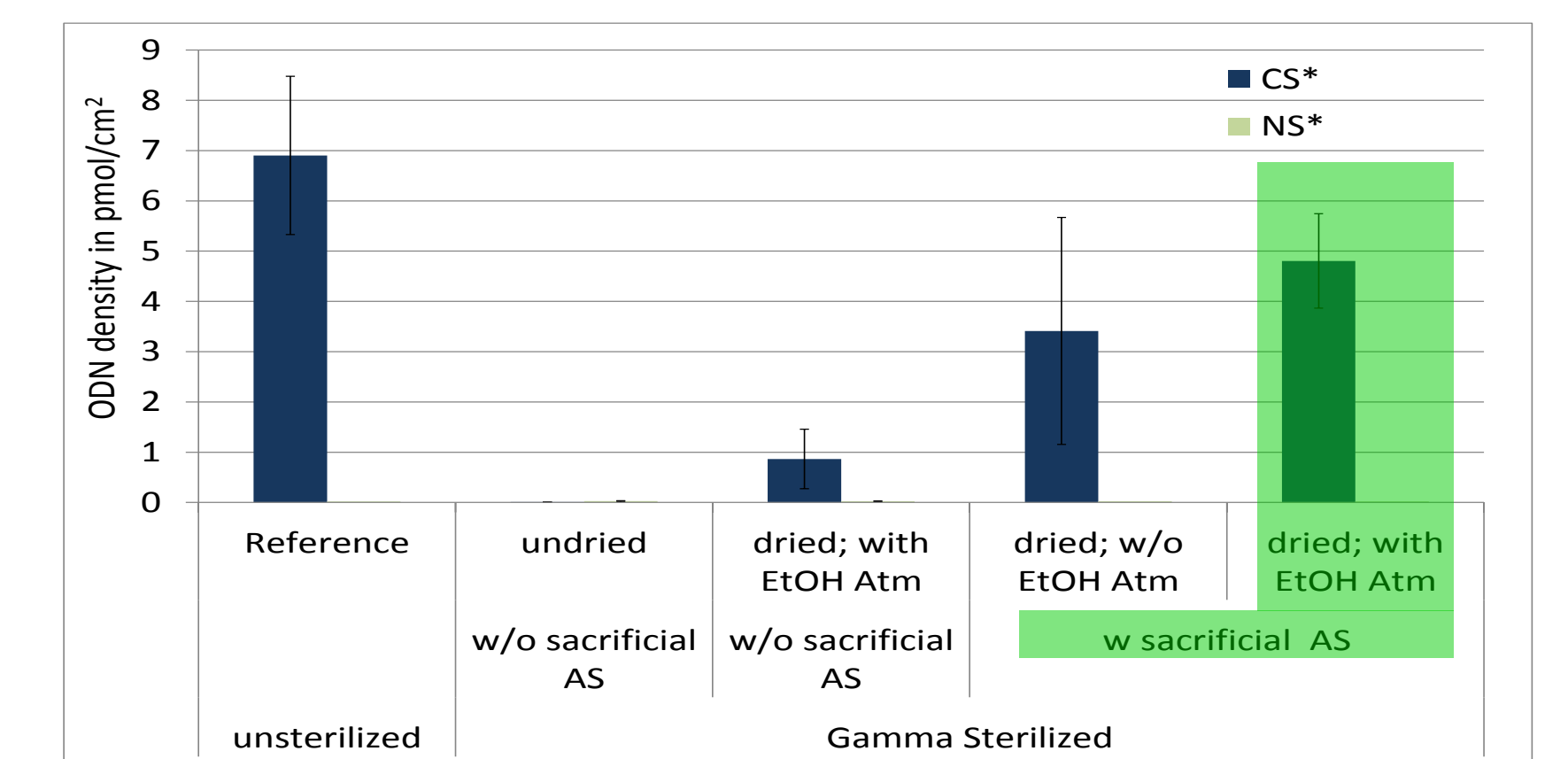


Stand der Arbeiten

Sterilisierbarkeit



Verpacken der beschichteten Implantate unter Schutzgas



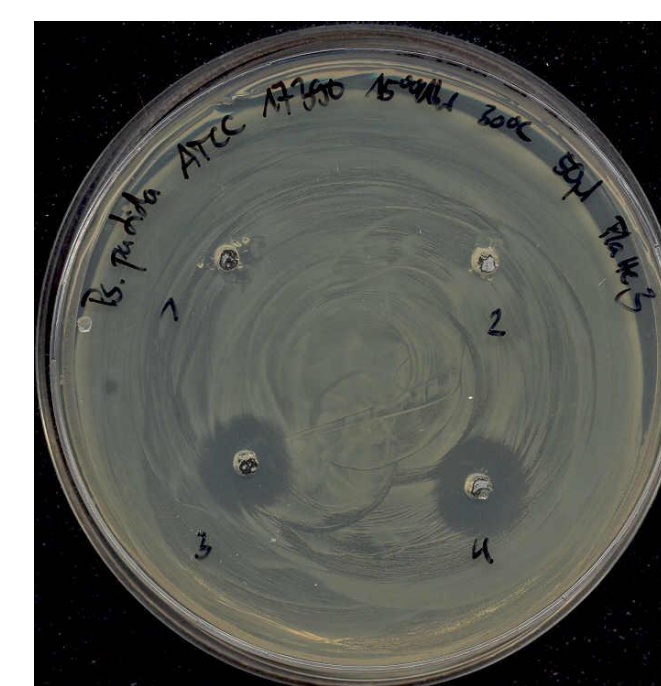
Hybridisierbarkeit der immobilisierten Ankerstränge nach γ -Sterilisation

Durch Gammastrahlung können am immobilisiertem Ankerstrang Strahlenschäden durch direkte (Wechselwirkung mit den γ -Quanten) bzw. indirekte Prozesse (Wechselwirkungen mit reaktiven Spezies verursacht durch γ -Quanten) ausgelöst werden. Eine Inhibierung der durch indirekte Wechselwirkung entstehenden Schäden kann erreicht werden durch:

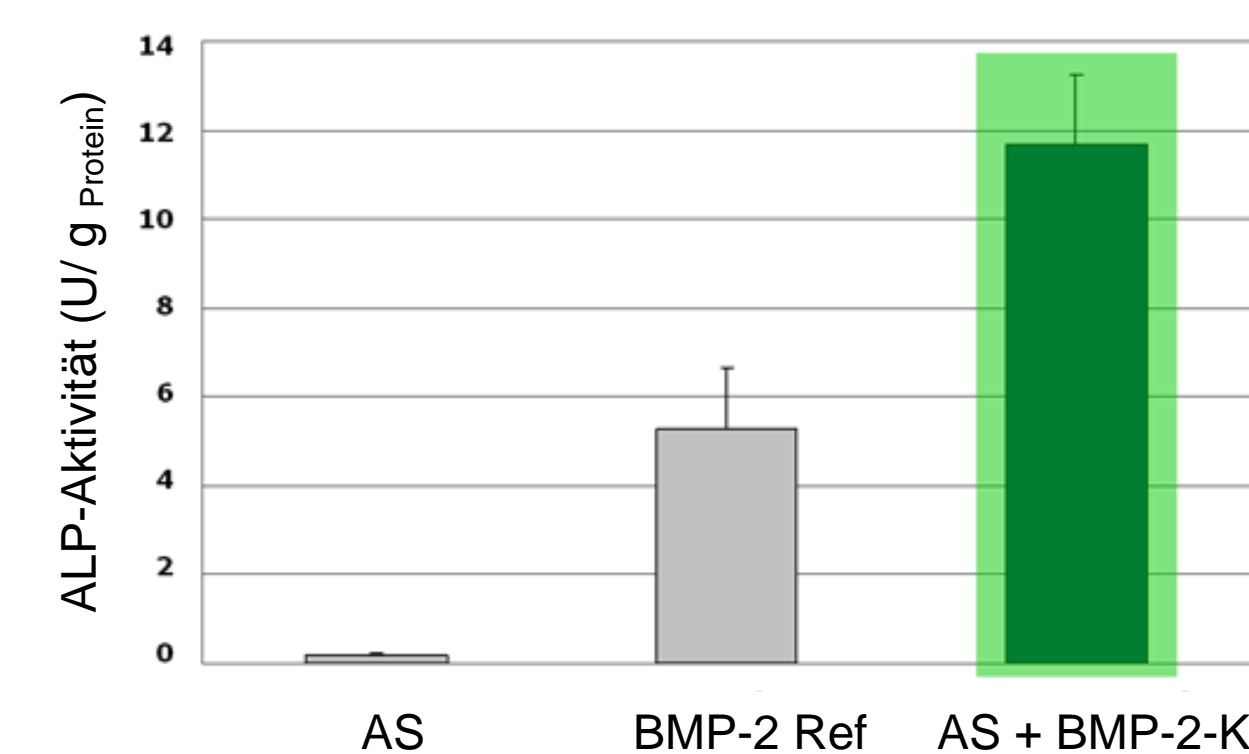
- (1) Zusammensetzung der Gasatmosphäre,
- (2) Ausschluss von Wasser,
- (3) Nutzung von "Opfermolekülen".

Die Kombination dieser Herangehensweisen führt zur Erhaltung von > 70% an Hybridisierungsfähigkeit.

Mikrobiologische und zellbiologische Effekte



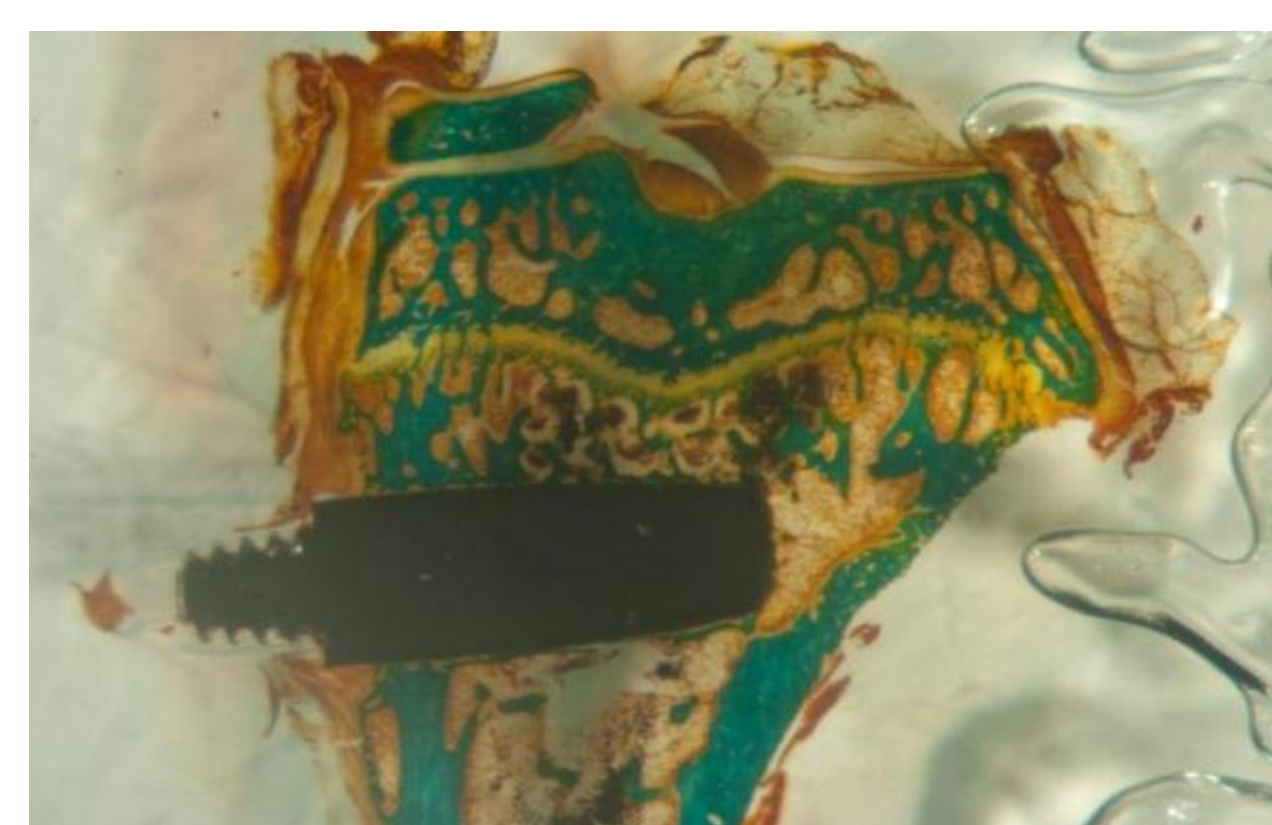
Nachweis der antibiotischen Aktivität eines Gentamicin-Nukleinsäure-Konjugates auf *Pseudomonas putida* im Agardiffusionstest:



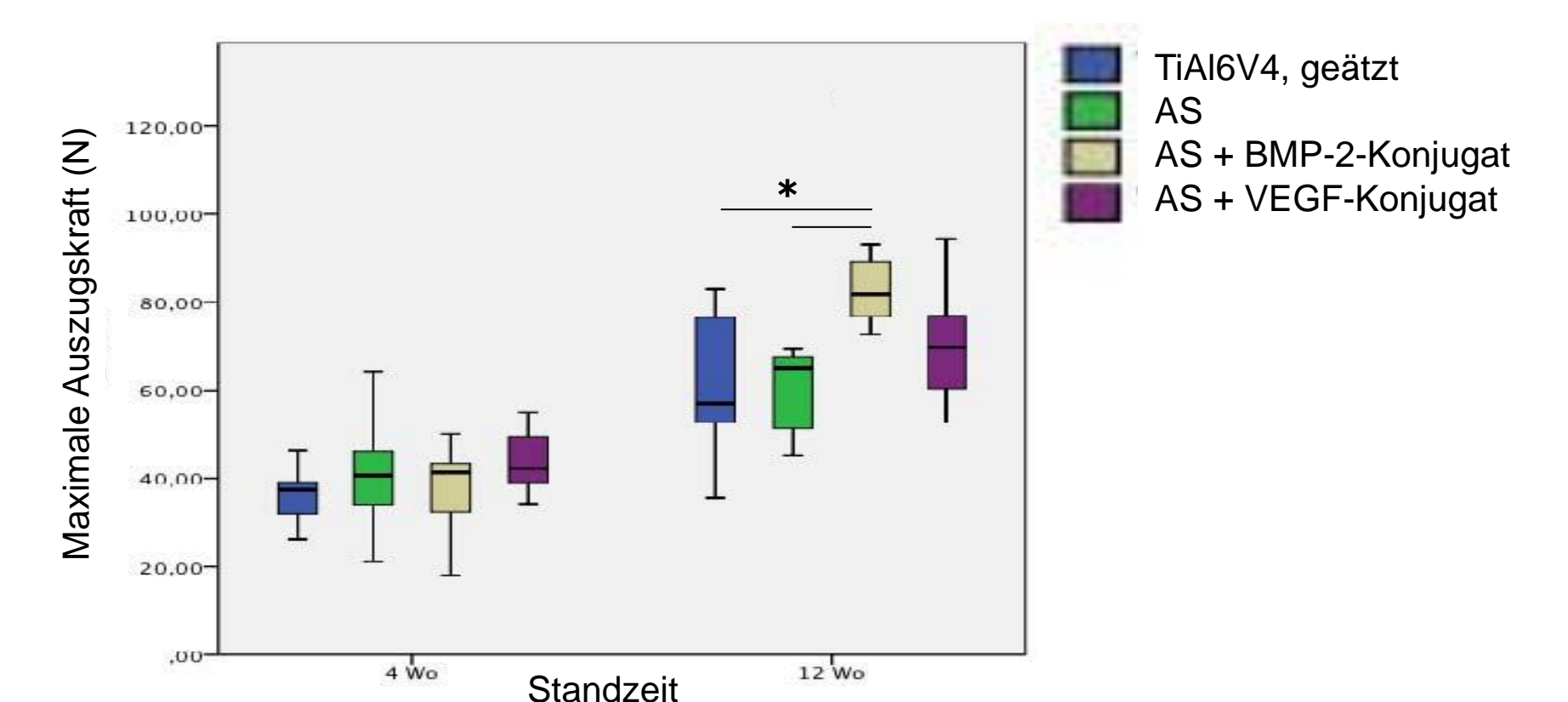
Vergleich der Aktivität von immobilisiertem BMP-2 mit BMP-2 in Lösung (Bioassay unter Verwendung von C2C12 Zellen)

Das Immobilisierungssystem erlaubt die Anbindung unterschiedlichster bioaktiver Substanzen: z.B. von Antibiotika (siehe linke Abb.) oder von Wachstumsfaktoren (u.a. BMP-2, siehe rechte Abb.). Im Bioassay wird eine ca. **2 mal so hohe Aktivität des immobilisierten BMP-2 im Vergleich zum Referenzzustand festgestellt.**

Ergebnisse im Tierexperiment (in Zusammenarbeit mit der Universität Ulm)



Masson-Goldner-Färbung: grün - Kollagen und Knochen; rotbraun - Zellen

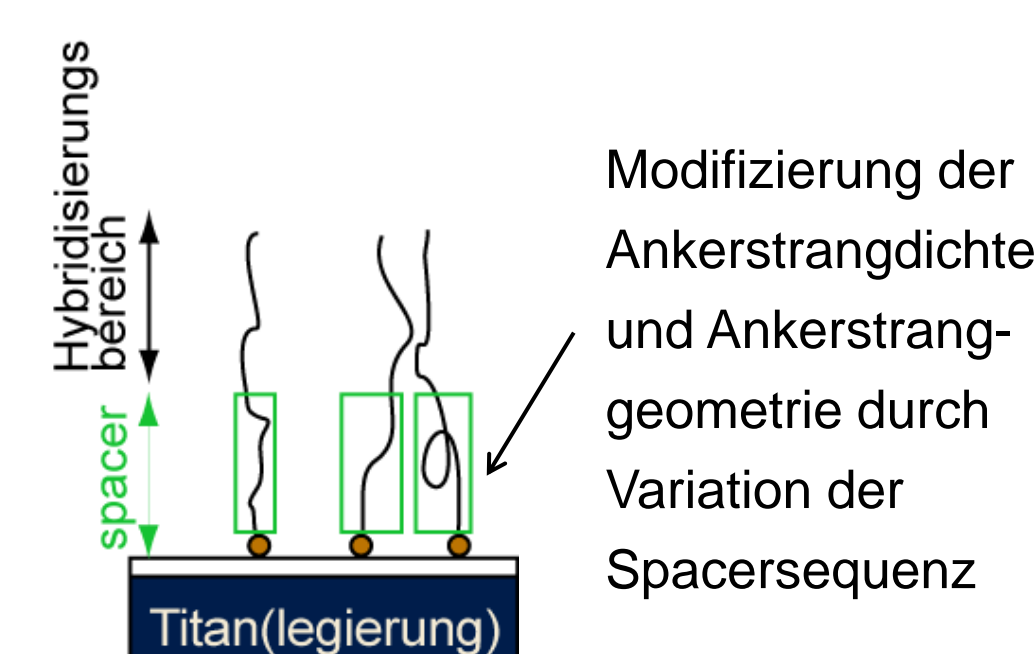


Auszugsversuch: Wirkstoffmengen ~ 100 ng VEGF bzw. BMP-2/cm²

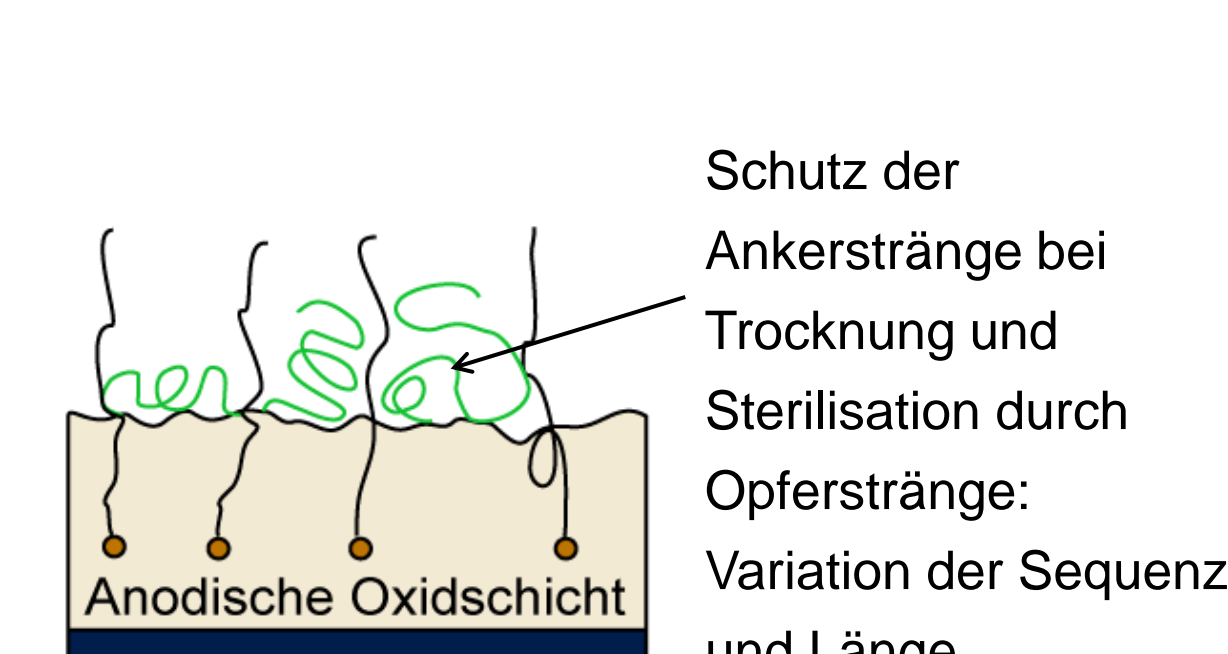
Im osteoporotischen Rattenmodell wird die Knochenregeneration durch immobilisiertes BMP-2 nach 12 Wochen Einheilzeit signifikant verbessert. Die applizierte **Wirkstoffmenge liegt um mehr als Faktor 1000 unter den Mengen, die in vergleichbaren Anwendungen in gelöster Form eingesetzt werden.**

Ausblick

Optimierung der Ankerstrangbelegung



Erhöhung der Hybridisierungseffizienz



Modulierung des Freisetzungsverhaltens

