

# **Nanobiotechnologie II**

## **Nanostrukturierte Oberflächen**

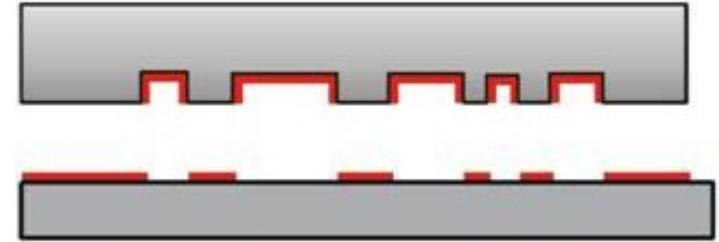
Sebastian Waßmuth  
Thomas Leichtweis

---

# Themenübersicht

- Mikrokontaktdruck mit Proteinen
- Mikromechanismen bei Brüchen in menschlichen Knochen
- Nanotechnologie in orthopädischen Anwendungen (Knochenimplantate)
- „Stents“ und „Seeds“ (dauerhafte Implantate)

# Mikrokontaktdruck mit Proteinen

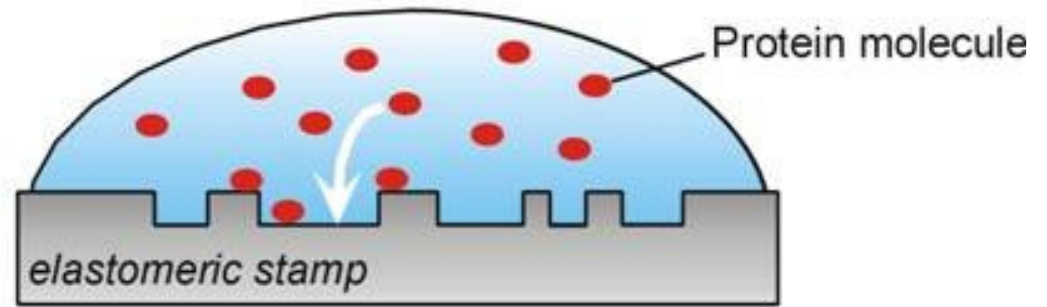


- Stempel ist strukturiert
- Proteine werden auf die komplette Stempeloberfläche aufgebracht
- nur an den Kontaktflächen werden die Proteine auf das Substrat übertragen

# Stempel aus PDMS

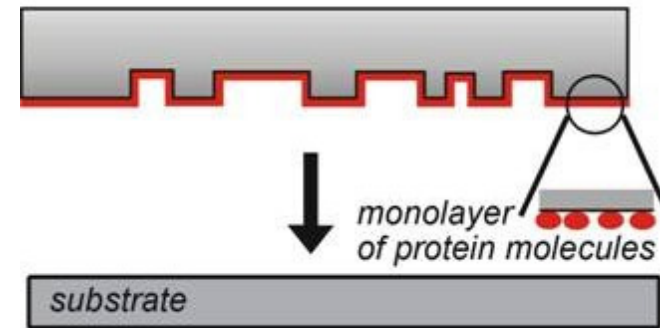
- Herstellung einer lithographisch strukturierten Stempelform (z.B. aus Silizium)
- PDMS: PolyDiMethyl Siloxan
  - elastischer Kunststoff
  - durchsichtig für optisches Licht
  - maßgeschneiderte mechanische Eigenschaften durch Verwendung verschiedener Ausgangsstoffe

# Benetzen des Stempels



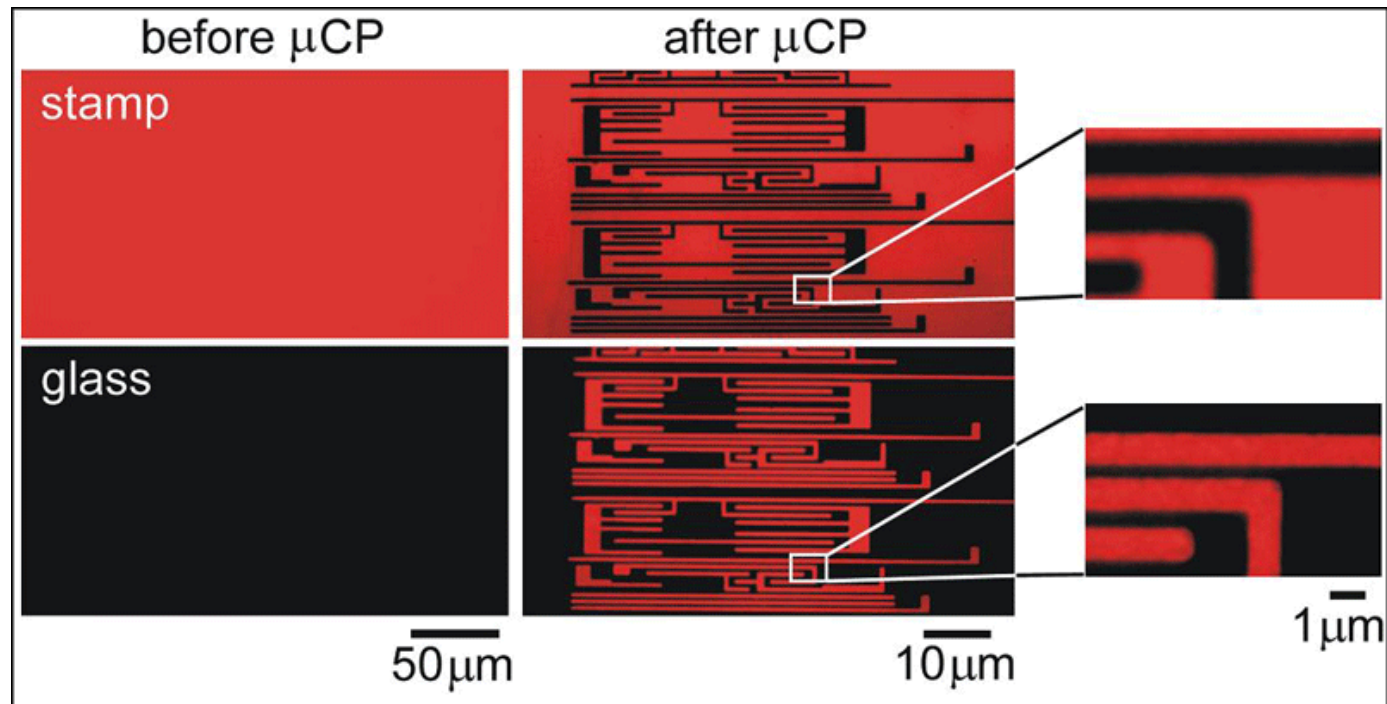
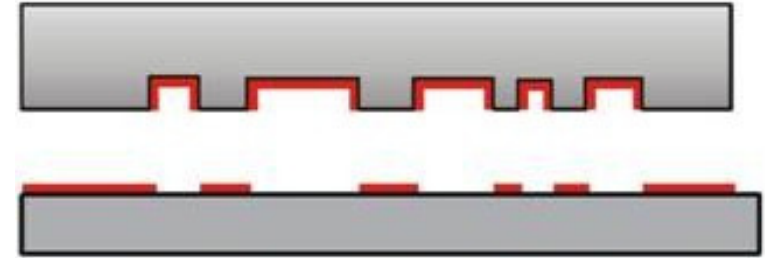
- gelöste Proteine werden mit dem Stempel in Kontakt gebracht
- Stempel ist hydrophob, begünstigt spontane Ablagerung von (bestimmten) Proteinen
- Ablagerungen sind auf eine Monolage begrenzt
- Waschen und Trocknen des Stempels

# Druckvorgang



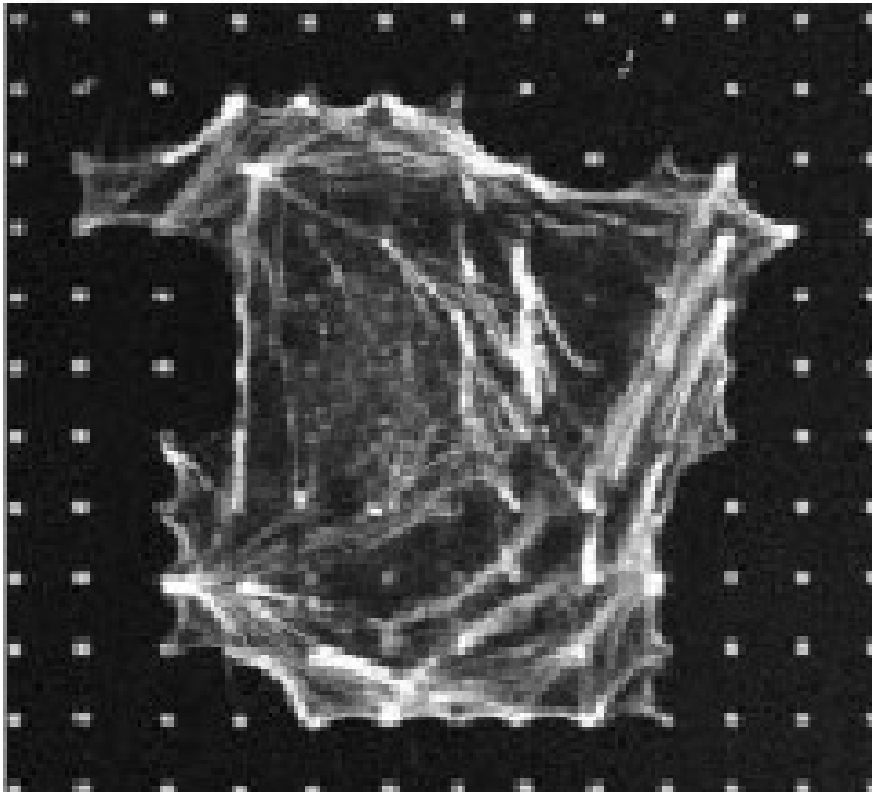
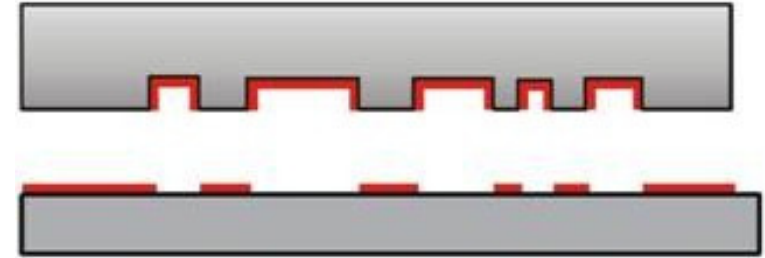
- Stempel ist flexibel und passt sich der Substratoberfläche an
- an den Kontaktflächen gleichmäßige Übertragung der Proteine auf das Substrat
- Stempel muss nach jedem Druckvorgang neu benetzt werden

# Mikrokontaktdruck mit Proteinen



einfaches Anlegen feiner Strukturen  
auf großen Substratoberflächen

# Mikrokontaktdruck mit Proteinen

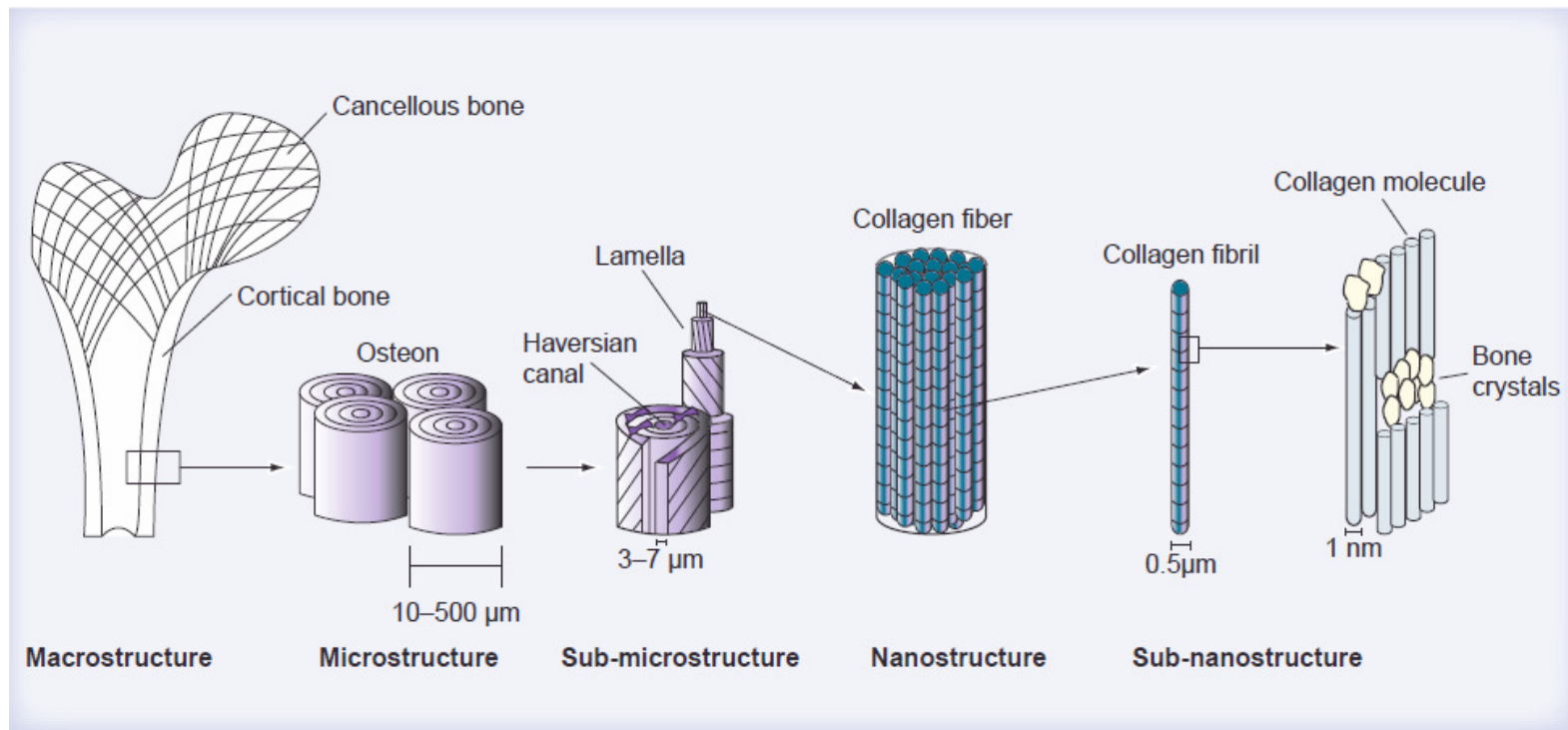


- Beobachtung von Zellwachstum
- Hautkrebszelle einer Maus
- Punktabstand  $10\mu\text{m}$

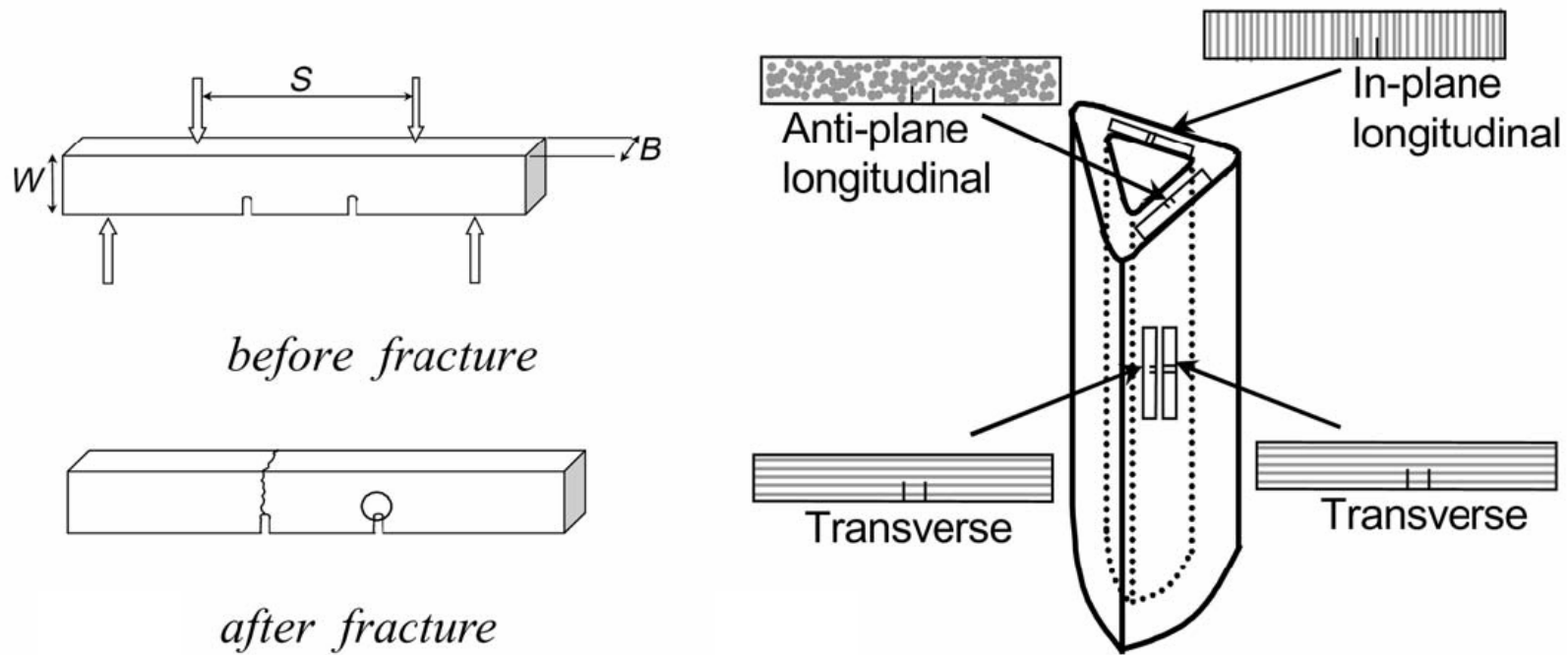
# Brüche in menschlichen Knochen



# Mikrostruktur menschlicher Knochen

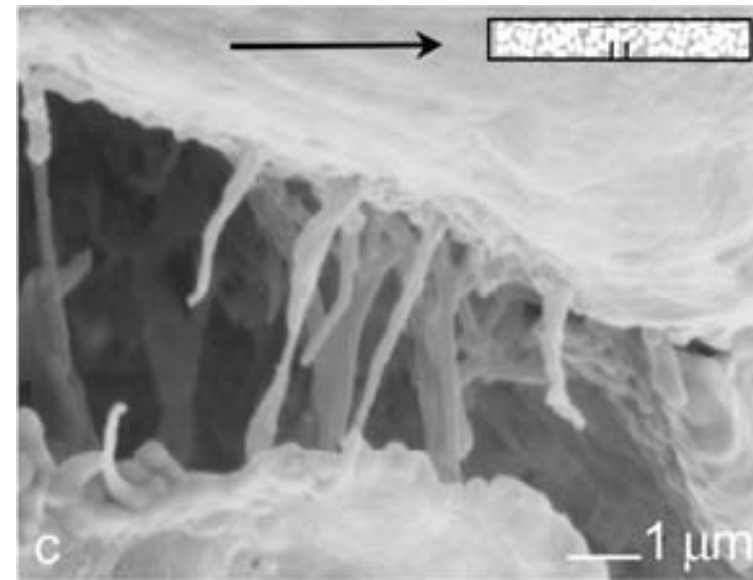
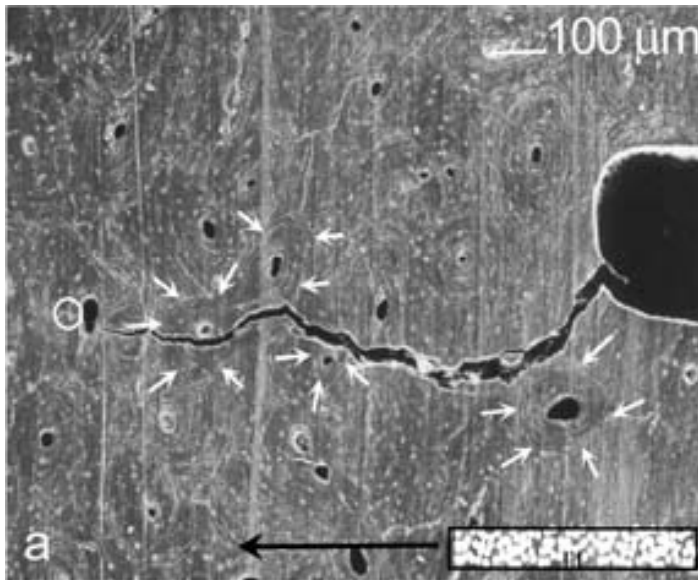


# Double-notch four-point bend testing



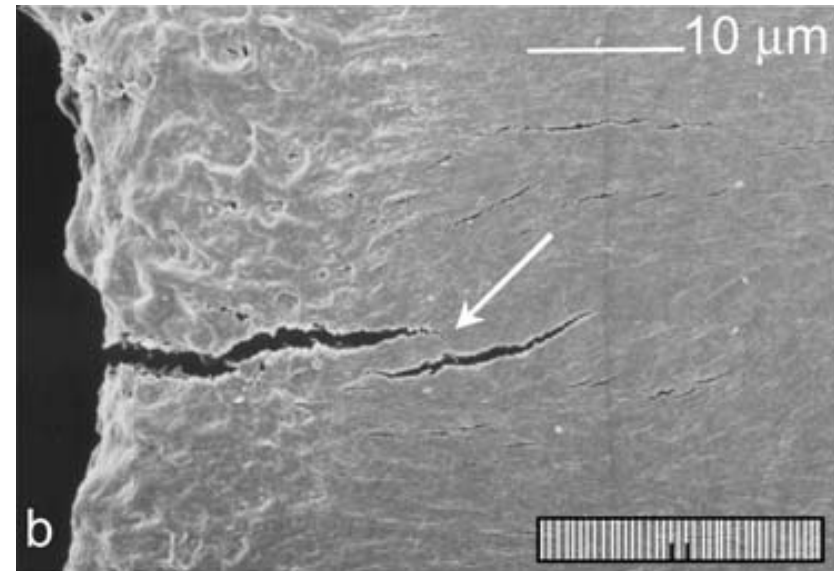
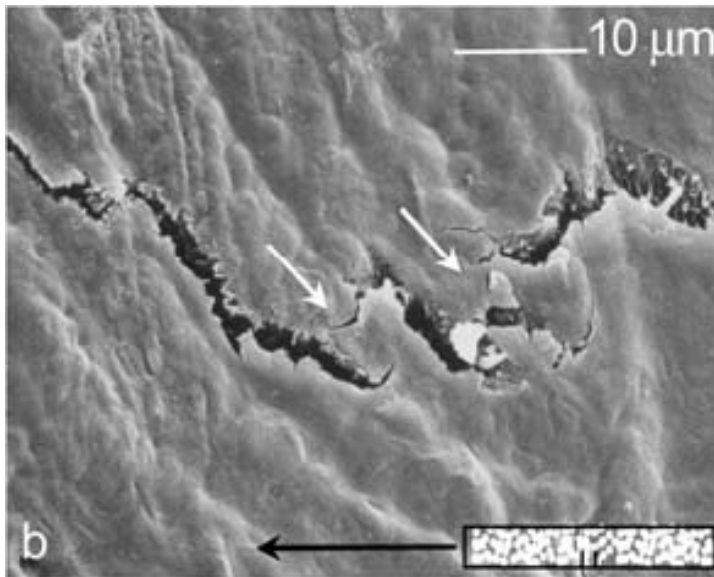
# anti-plane longitudinal

- geringer Einfluss der Havers Kanäle
- „fiber bridging“



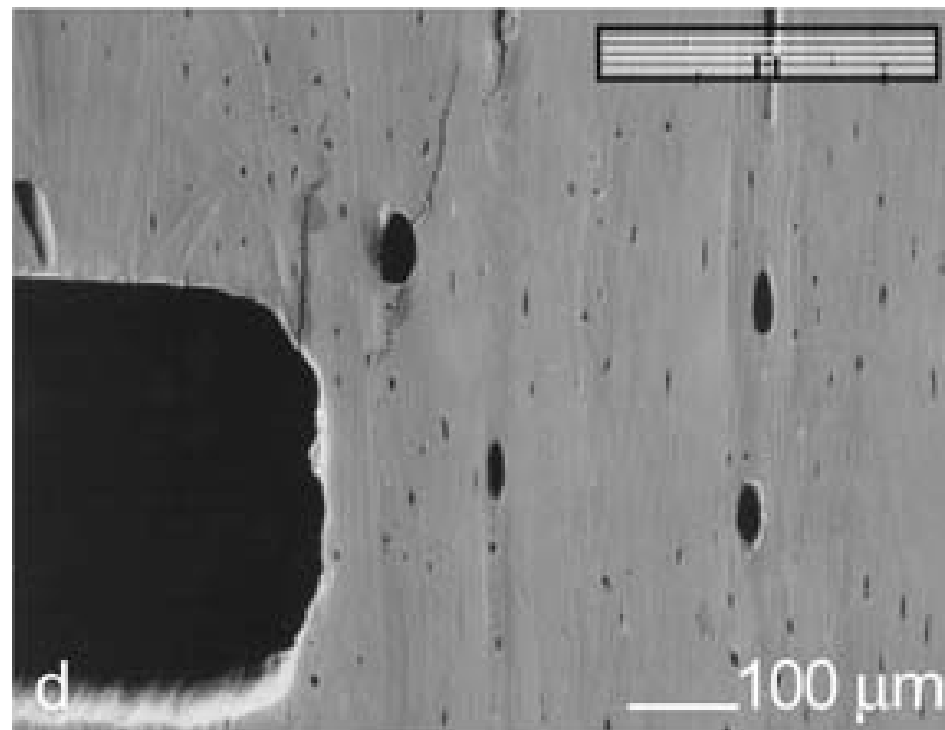
# in-plane longitudinal

- „uncracked-ligament bridging“



# transversal

- Kittlinien



# Bruchhärte

$$K_c = Y \cdot \frac{\sigma}{\sqrt{\pi a}}$$

Y Geometriefaktor ~1  
σ Zugspannung  
a Länge des Riss  
(bzw. halbe Risslänge bei Brüchen  
innerhalb eines Materials)

- 5,33(±0,41) MPa√m (transversal)
- 2,21(±0,18) MPa√m (anti-plane longitudinal)
- 3,53(±0,13) MPa√m (in-plane longitudinal)
  
- Stahl ~ 50 MPa√m
- Aluminiumkeramik ~ 3 - 5,3 MPa√m
- Beton ~ 0,2 - 1,4 MPa√m

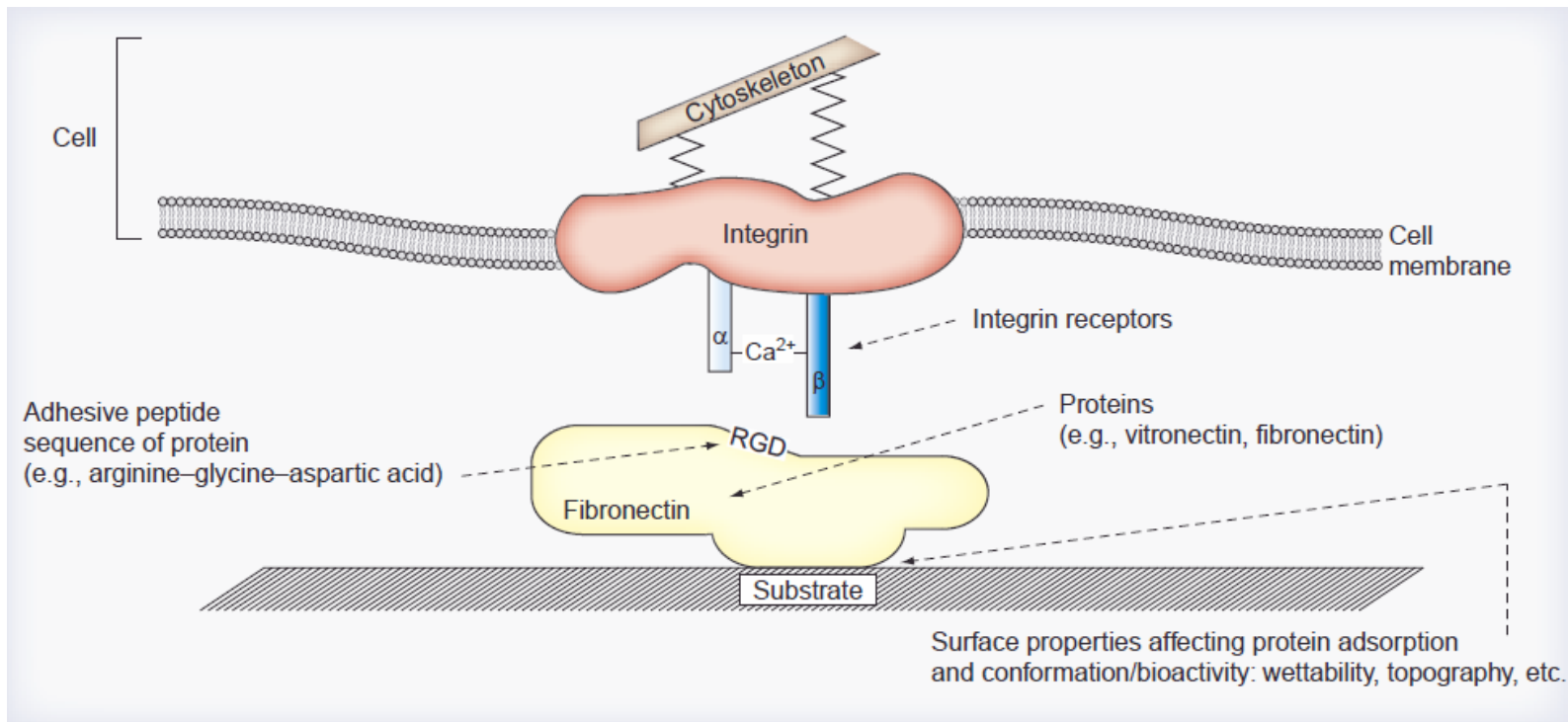
# Nanobiotechnologie bei Knochenimplantaten



# Probleme heutiger Implantate

- geringes Knochenwachstum an der Implantatoberfläche
- Bildung von (weichem) Fasergewebe
- Ablagerungen durch Verschleiß  
⇒ Knochenzelltod

# Zellanhaftung



# chemische Lösungsansätze

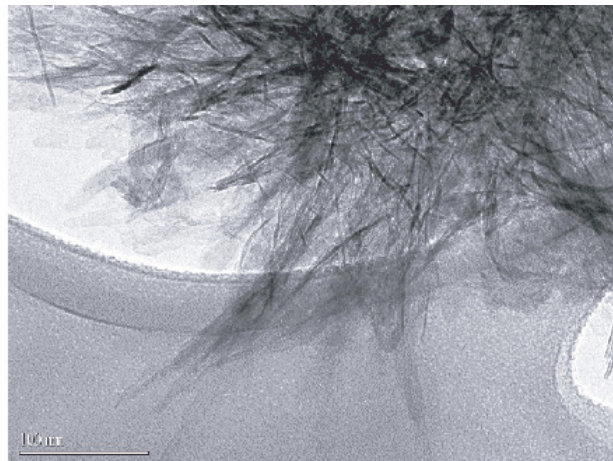
- Metalle (Ti, CoMoCr)
- Keramiken (Hydroxylapatit  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ )
- Polymere (PLGA - poly-lactic-co-glycolic acid)
- biologisch synthetisierte Substanzen
  
- keine universelle Verbesserung

# topografische Lösungsansätze

- mikro-raue Oberflächen ( $<10\mu\text{m}$ )
- Sandstrahlen, Ätzen, maschinelle Bearbeitung
- bessere Anhaftung, Auswucherung und Produktivität von Osteoblasten
- universelle Verbesserung des Knochenwachstums
- aber: nicht die gewohnten Größenabmessungen für Osteoblasten

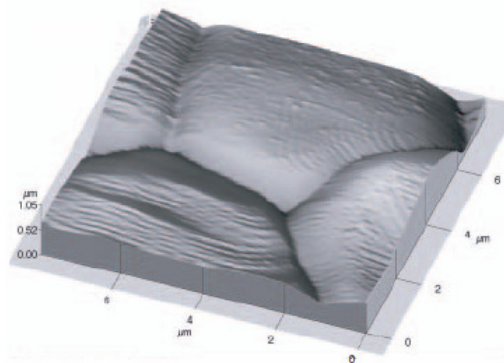
# Aluminium Nanofasern

2-4 nm  $\times$   $>50$  nm

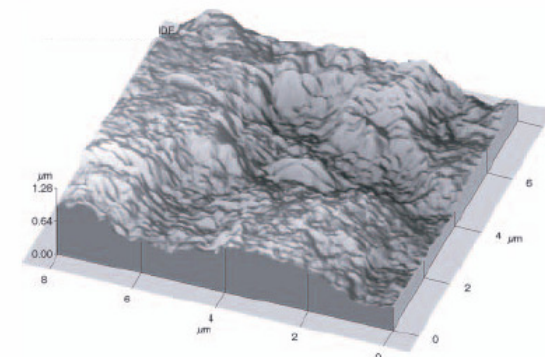


Alumina nanofibers

23 nm  $\varnothing$



Conventional spherical alumina



Nanospherical alumina

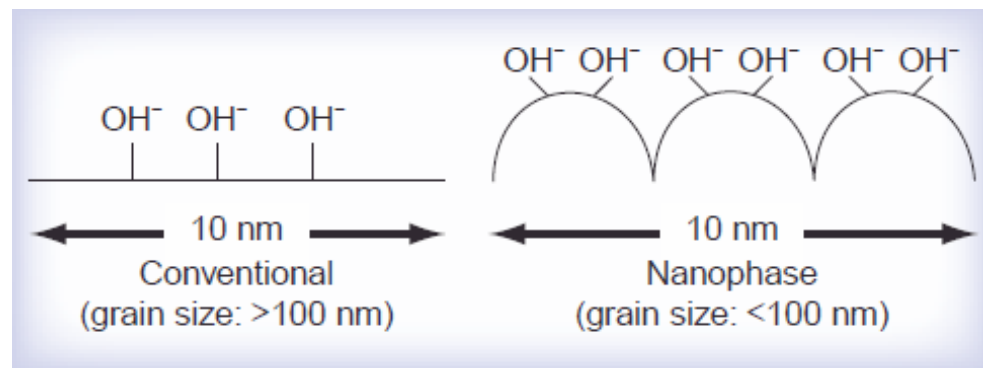
# Benetzbarkeit

- Kontaktwinkel kleiner (von 167 zu 24 nm: 1/3)

- mehr Korngrenzen

- größere Oberfläche

Materials	Conventional	Nanophase			
<i>Grain size (nm)</i>	2000	20	10	4	2
<i>Grain boundary thickness (nm)</i>	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
<i>Grain boundary volume %</i>	0.09	9.0	18.0	42.6	80.5



# Struktur

- Vitronektin entfaltet sich stärker und legt somit mehr Epitope frei, an denen sich Osteoblasten anlagern können
- Knochenzellen fühlen sich wohler auf Nano-Oberflächen

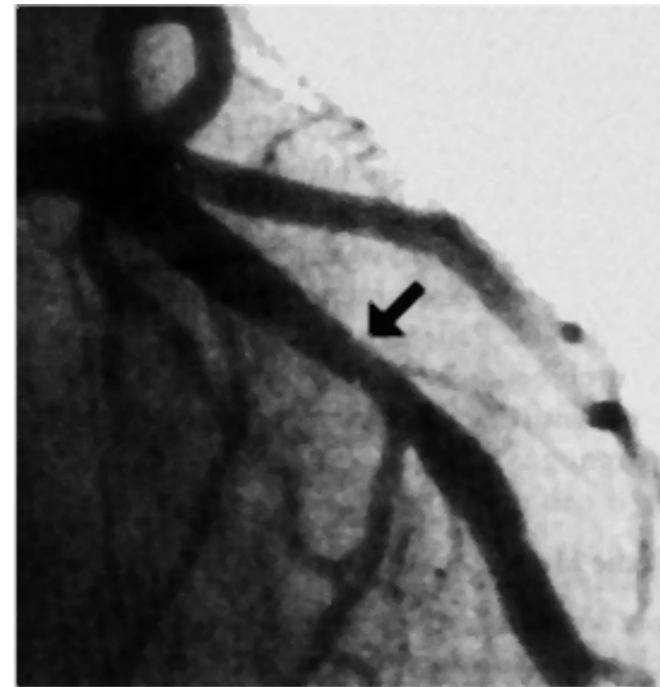
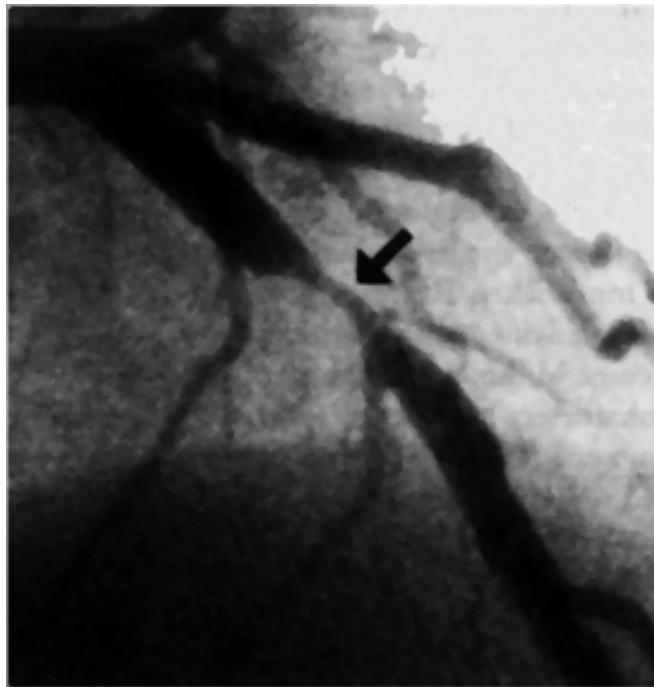
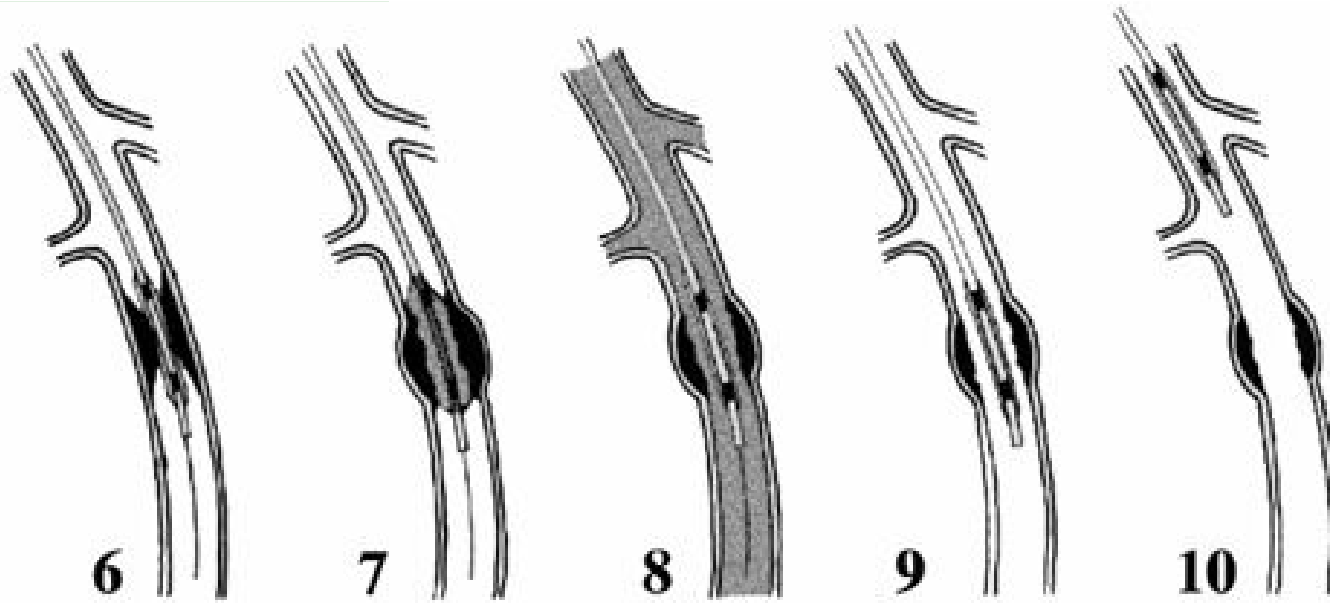
# Nachteile und Risiken

- Absonderung von Metallionen  
( $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{6+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ )
- Freisetzung von Nanopartikeln (beschleunigt durch Oxidation/Hydrolyse)
- Wirkung der Nanopartikel auf den menschlichen Körper noch kaum erforscht, bisher gemischte Ergebnisse

# Herzkranzgefäß Verengungen

## Ballon-Dilatation

- Kreislauferkrankungen Haupttodesursache in Deutschland (1998, 58% aller Todesfälle)
- Ablagerungen (Fett, Kalk) in den Blutgefäßen führen zu Verengung/Verstopfung
- 1977 erstmalige Behandlung durch Ballon-Dilatation (PTCA: Perkutane Transluminale Coronare Angioplastik)
- Restenose-Raten von 30-40%



# Stents

- zylindrische Gefäßprothesen aus Metall
- sollen Restenose verhindern
- 1987 erste Implantation
- 5-20mm lang, 3-6mm Durchmesser
- Restenose-Raten von 25%



## Gründe für Restenose (1)

- Störungen im Blutfluss (Blut fließt mit 40km/h)
- Verklebung von Blutplättchen an den Drahtmaschen
- Lösung: Verabreichung blutverdünnender Medikamente (ca. 3 Monate lang, bis der Stent in die Gefäßwand eingewachsen ist)

## Gründe für Restenose (2)

- Lösung von Metallionen aus dem Stent (Nickel, Chrom)
- Verletzung der Gefäßwände bei der Einbringung des Stents
- Wucherung von Narbengewebe
- Lösung: lokale Verabreichung wachstumshemmender Medikamente

# Stents als Medikamententräger (1)

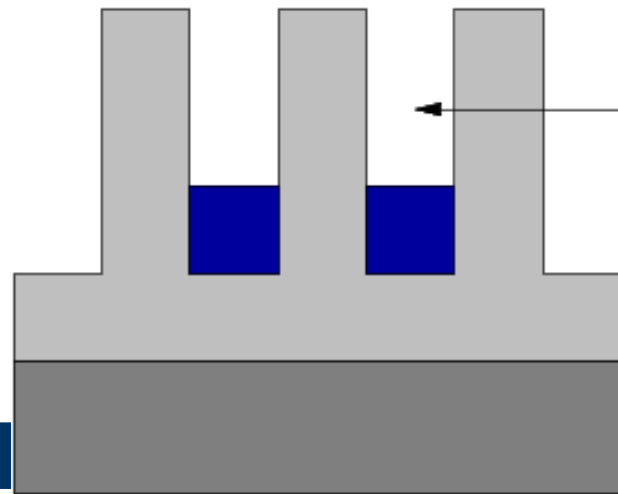
- Narbengewebe wird von "dendritischen" Zellen gebildet
  - stammen aus dem Knochenmark
  - gelangen über die Blutbahnen zur verletzten Stelle
  - Gefäßwand bildet Stoffe, damit die Reparaturzellen länger überleben und nicht vom Blut weggeschwemmt werden
- "beladen" von Stents mit Medikamenten (z.B. Pilzgift Rapamycin)
- Restenose-Raten von <5%

# Nanoporöses Aluminiumoxid

## Eloxieren

- Aufdampfen von Aluminium (Stents bestehen üblicherweise nicht aus Aluminium)
- anodisches Oxidieren erzeugt Nanoporen
  - 10-50 nm Durchmesser (ca. 1,5 nm / 10 Volt)
  - bis zu 30 µm lang
  - bis zu  $10^{11}$  Poren pro  $\text{cm}^2$
- Eloxal: elektrolytisch oxidiertes Aluminium

# Eloxieren

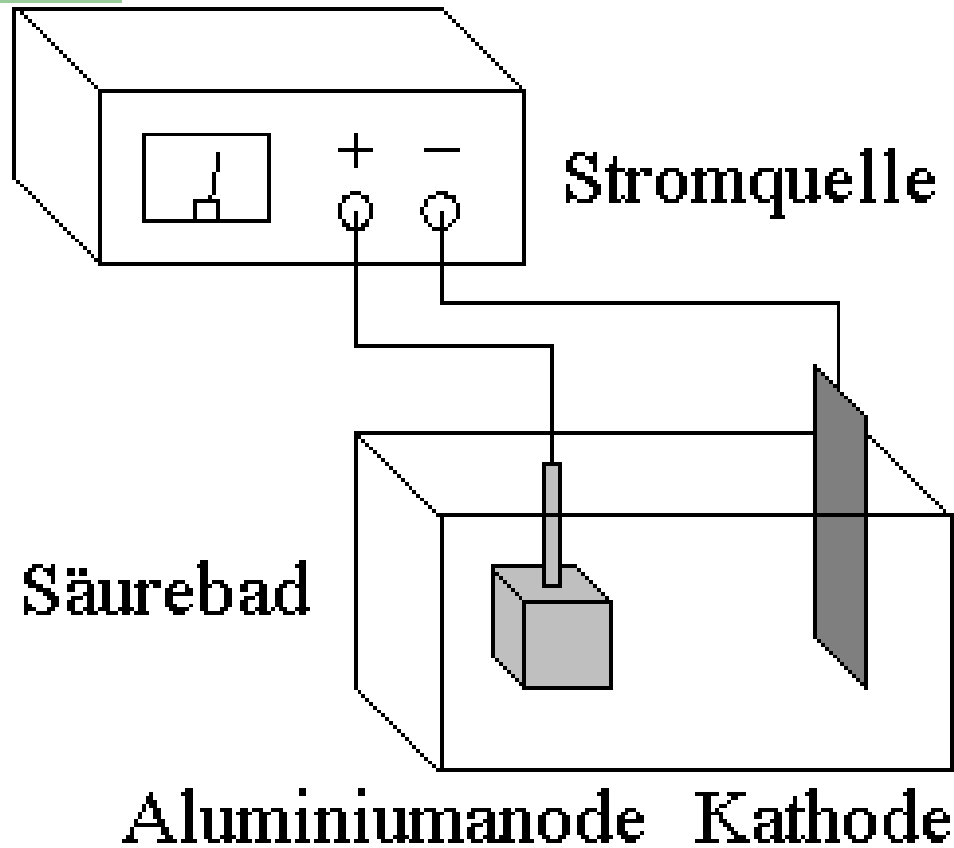


**Eloxal-  
poren**

**Füllung**

**Eloxal**

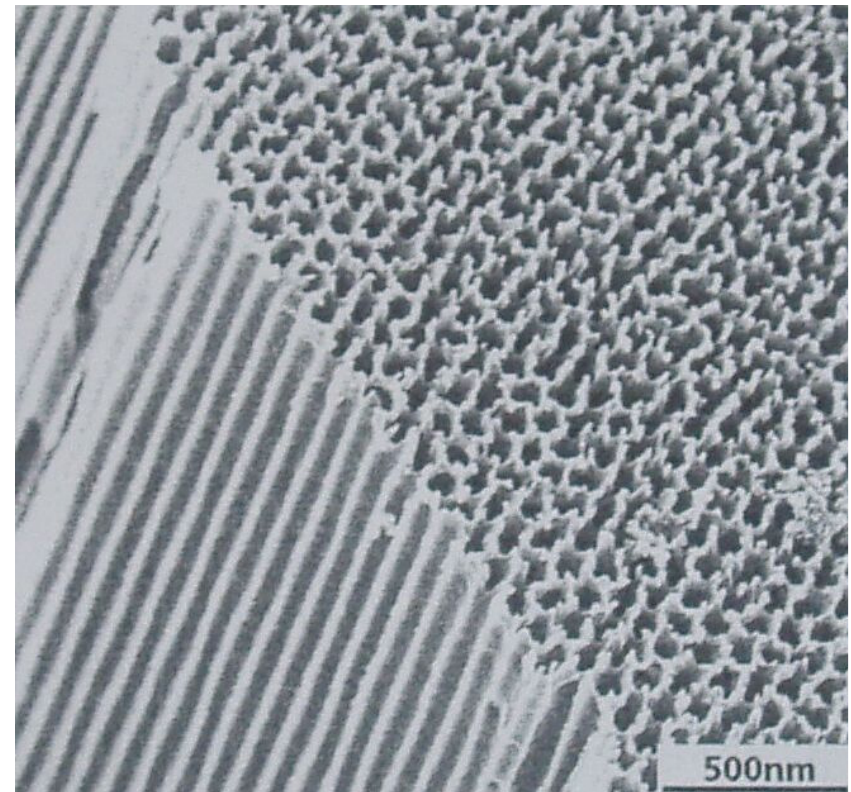
**Träger-  
material**



**Stromquelle**

**Säurebad**

**Aluminiumanode Kathode**



## Stents als Medikamententräger (2)

- Ummantelung mit 200-500nm dicken Aluminiumporen
- ca. 40µg Wirkstoffe passen auf 2cm<sup>2</sup>
- Abgabezeit: bis zu 2 Wochen

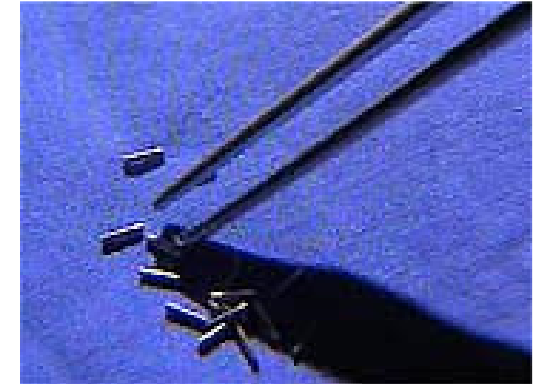
# Stents im Vergleich



Arterien von Hasen 4 Wochen nach einer Stentimplantation

- keine Ummantelung
- Aluminium Ummantelung ohne Medikamente
- Aluminium Ummantelung mit Medikamenten

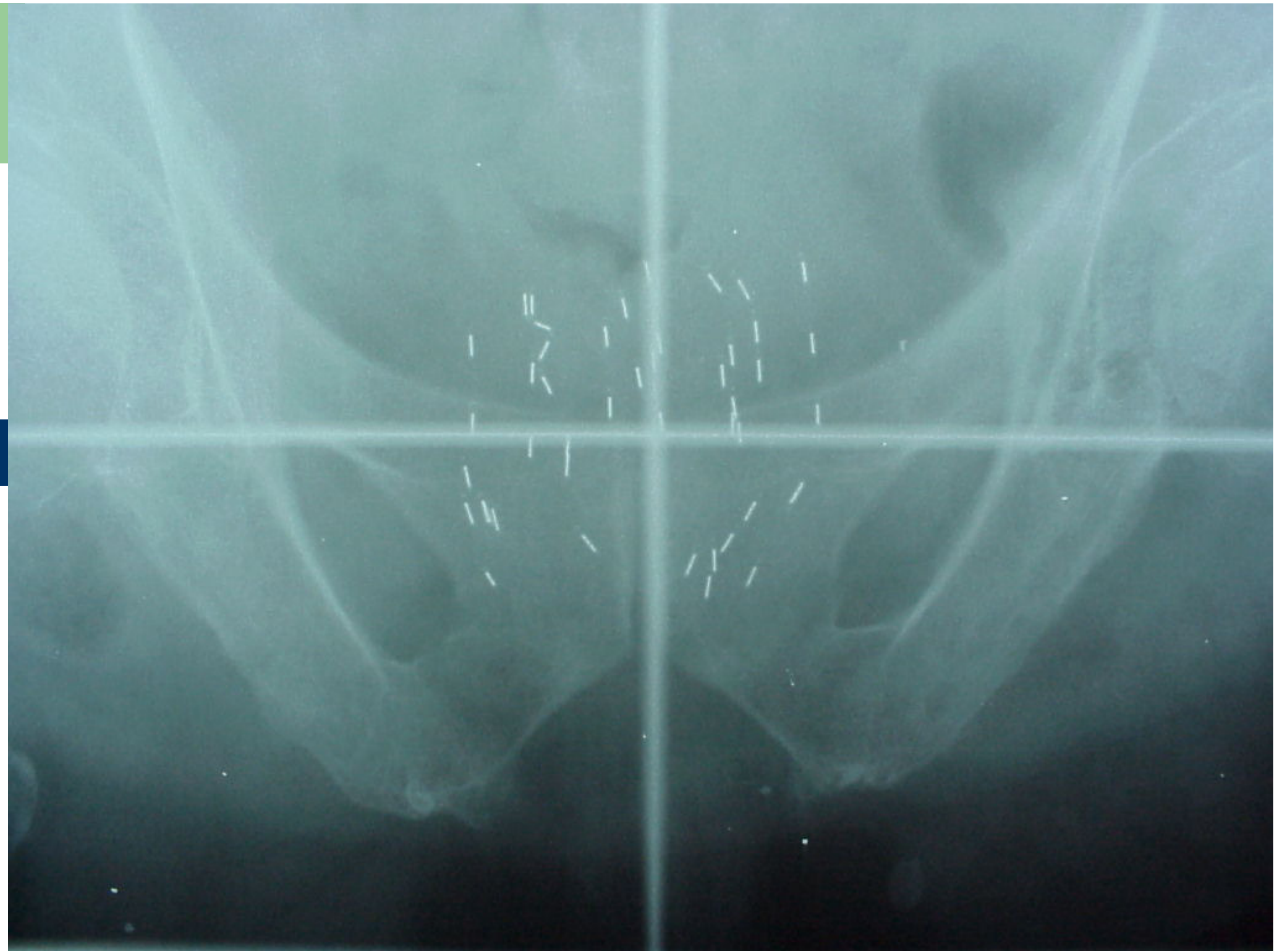
## Seeds



- lokale Bekämpfung von Krebstumoren
- Hohladeln mit radioaktivem Inhalt
- dauerhafte Implantation
- Verwendung von Isotopen mit geringer Halbwertszeit (z.B.  $I^{125}$ , 60 Tage)
- radioaktiver Inhalt darf nicht in den Kreislauf gelangen

# Seeds

Implantate in  
der Prostata



- Reichweite der Strahlung: wenige Millimeter
- Iod<sup>125</sup> pro Seed: nur 60ng

# Seeds: nanotechnologischer Ausblick

- Speicherung von  $I^{125}$  in Nanoporen
- Nanoporen einzeln versiegeln
- Wegfall der aufwändigen lasergeschweißten Titanhülle

# Literatur

- E. Delamarche, *Microcontact Printing of Proteins*, Nanobiotechnology, Wiley-VCH (2004)
- M. Sato, T.J. Webster, *Nanobiotechnology: implications for the future of nanotechnology in orthopedic applications*, Expert Rev. Medical Devices 1 (2004)
- R.O. Ritchie et al., *Characteristic dimensions and the micro-mechanisms of fracture and fatigue in „nano“ and „bio“ materials*, Int. J. Fract. 128 (2004)
- T. Sawitowski, *Biocompatible Inorganic Devices*, Nanobiotechnology, Wiley-VCH (2004)