

**Aus der Orthopädischen Universitätsklinik
der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg**

**Biokorrosion, Biokompatibilität und Zytotoxizität an der Grenzfläche:
Implantatmaterial – Gewebe**

Habilitationsschrift

zur Erlangung des akademischen Grades

**Dr. rer. nat. habil.
(doctor rerum naturalium habilitatus)**

**an der Medizinischen Fakultät
der Otto-von-Guericke-Universität Magdeburg**

**vorgelegt von:
aus:
Magdeburg**

**Andreas Drynda
Wanne-Eickel (Herne)
2020**

*Geheimnisvoll am lichten Tag
Läßt sich Natur des Schleiers nicht berauben,
Und was sie deinem Geist nicht offenbaren mag,
Das zwingst du ihr nicht ab mit Hebeln und mit Schrauben.*

Johann Wolfgang von Goethe

(Faust. Der Tragödie erster Teil - Nacht, Faust mit sich allein)

Inhalt

I.	Einleitung	1
I.1	Das ideale Implantat	3
I.2	Zielsetzung	4
I.3	Gliederung der Arbeit	4
II.	Biodegradierbare Materialien in der pädiatrischen Kardiologie	6
II.1	Eisen und Magnesium als Werkstoffe für kardiovaskuläre Implantate - Prüfung in experimentellen Modellen	7
II.2	Eisen als biodegradierbares Stentmaterial in der pädiatrischen Kardiologie – Einfluss in Tier- und Zellkulturmodellen (Arbeiten 1 - 2).....	10
II.2.1	Originalarbeit Nr. 1 – Co-Autor - “Histological and molecular evaluation of iron as degradable medical implant material in a murine animal model”	10
II.2.2	Originalarbeit Nr. 2 – Erst-Autor - “Influence of Fe(II) and Fe(III) on the expression of genes related to cholesterol- and fatty acid metabolism in human vascular smooth muscle cells”	11
II.3	Entwicklung neuer Eisen-Mangan-Legierungen und Magnesium-Calcium-Legierungen als Prototypen für biodegradierbare Materialien	13
II.3.1	Originalarbeit Nr. 3 – Erst-Autor - “In vitro and in vivo corrosion properties of new iron-manganese alloys designed for cardiovascular applications”	13
II.4	Bedeutung von Magnesium-Calcium-Legierungen in der pädiatrischen Kardiologie – zellbiologische und tierexperimentelle Untersuchungen (Arbeiten 4 - 6)	15
II.4.1	Originalarbeit Nr. 4 – Erst-Autor - “Development and biocompatibility of a novel corrodible fluoride-coated magnesium-calcium alloy with improved degradation kinetics and adequate mechanical properties for cardiovascular applications”	15
II.4.2	Originalarbeit Nr. 5 – Erst-Autor - “Biocompatibility of fluoride-coated magnesium-calcium alloys with optimized degradation kinetics in a subcutaneous mouse model” ...	18
II.5	Rolle von „Seltene Erden“-Metallen in Magnesium-Calcium-Legierungen für die Biodegradation	20
II.5.1	Originalarbeit Nr. 6 – Erst-Autor - “Rare earth metals used in biodegradable magnesium-based stents do not interfere with proliferation of smooth muscle cells but do induce the upregulation of inflammatory genes”	20
II.6	Zusammenfassung: Biodegradierbare Materialien in der pädiatrischen Kardiologie	23
III.	Implantatmaterialien in der orthopädischen Chirurgie	25
III.1	Materialabrieb und der Einfluss auf die Knochendynamik - CXCR4 als Schlüsselement.....	28
III.1.1	Originalarbeit Nr. 7 – Erst-Autor - “Metallic wear debris may regulate CXCR4 expression in vitro and in vivo”	28
III.2	Zellbiologische Abläufe und Signaltransduktion bei der Osteolyse	30

III.2.1 Originalarbeit Nr. 8 – Erst-Autor - „The induction of CXCR4 expression in human osteoblast-like cells (MG63) by CoCr particles is regulated by the PLC-DAG-PKC pathway”	30
III.3 Einfluss von Kobalt- und Chrom-Ionen auf Zytokine und zellspezifische Antworten ..	32
III.3.1 Originalarbeit Nr. 9 – Erst-Autor - „The effects of cobalt and chromium ions on TGF- β patterns and mineralization in human osteoblast-like MG63 and SaOs-2 cells”..	32
III.3.2 Originalarbeit Nr. 10 – Erst-Autor - “Differential Effect of Cobalt and Chromium Ions as Well as CoCr Particles on the Expression of Osteogenic Markers and Osteoblast Function”	34
III.4 Einfluss der Hypoxie auf die Prothesenlockerung – Rolle von HIF-1 α	36
III.4.1 Originalarbeit Nr. 11 – Co-Autor - “Periprosthetic hypoxia as consequence of TRPM7 mediated cobalt influx in osteoblasts”	36
III.5 Zusammenfassung: Betrachtungen zu Implantatmaterialien in der orthopädischen Chirurgie.....	38
IV. Zusammenfassung – Ausblick und kritische Betrachtungen.....	39
V. Literatur	41
VI. Abkürzungsverzeichnis	46

I. Einleitung

Biomaterialien sind zu einem integralen Bestandteil der modernen Medizin geworden. Durch den Einsatz von Implantatmaterialien kann die Funktion von erkrankten oder fehlenden Geweben oder Organen wiederhergestellt oder ersetzt werden. Mit steigender Lebenserwartung der Bevölkerung erhöht sich auch der Bedarf an artifiziellen Materialien, um physiologische Strukturen partiell oder komplett zu ersetzen. Bei den heute verwendeten Implantaten handelt es sich um einzelne oder zusammengesetzte Formstücke verschiedener Metalle oder Metalllegierungen, Keramiken und Kunststoffe, z. B. Stents oder Gelenkimplantate, oder aber auch um hochkomplexe Medizinprodukte wie Herzschrittmacher oder Kunstherzen, wobei hierfür nur die mit dem Gewebe in Verbindung stehenden Komponenten Biomaterialien sein müssen.

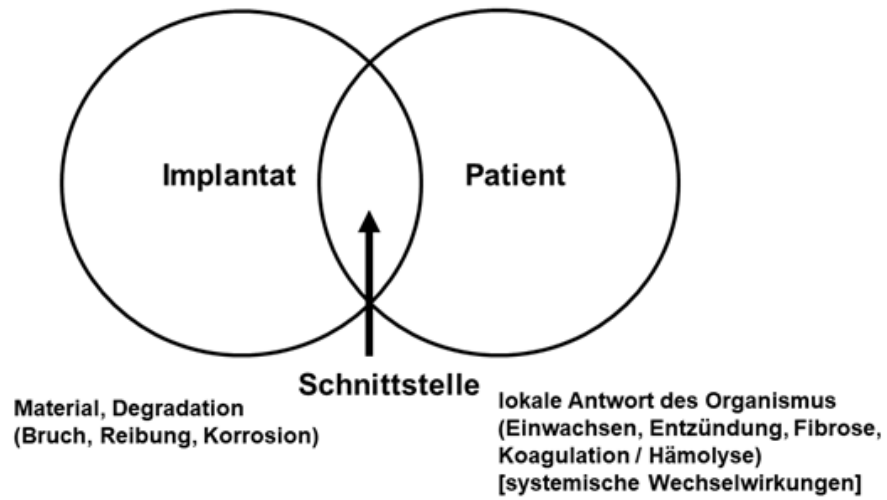
Die Forschung zu Biomaterialien als akademische Disziplin begann in den frühen 1970er Jahren. Gemäß dem damals geltenden Paradigma (*Abbildung 1a*) betrachtete man die Interaktion an der Kontaktstelle Implantat und Patient. Daraus resultieren Effekte des Patienten auf das Implantat, „Biodegradation“ als Materialantwort und als gegenteiliger Effekt, die Reaktion des Implantats auf den Patienten, „Biokompatibilität“ als (lokale) Antwort des Organismus. Der Hauptfokus in Bezug auf die Materialantwort bezog sich auf Frakturierung, Abrieb, Korrosion und Auflösung und weniger auf Transport, Speicherung und Exkretion von Degradationsprodukten. Als Antwort des Organismus wurde das Einwachsen, inflammatorische Reaktionen, Fibrosierung (Verkapselungen) oder bei Kontakt mit Blut Koagulation und Hämolyse [1] betrachtet.

Im Laufe der Zeit setzte ein Paradigmenwechsel ein. Der Fokus verschob sich von Patienten und Tiermodellen zu Molekülen – statt 2-dimensionaler Schnittstellen betrachtete man 3-dimensionale Strukturen. Die anfänglichen Bemühungen, fehlende, zerstörte oder erkrankte Teile des menschlichen Körpers zu ersetzen, erweiterten sich im Hinblick auf Diagnose und Regeneration. Damit änderte sich die Betrachtungsweise weg von einem pragmatisch ingenieurtechnischen Ansatz, hin zu einer wissenschaftlich fundierten Sicht unter Berücksichtigung klinischer Probleme und deren Lösungsmöglichkeiten im Kontext moderner Biowissenschaften [1].

Im neuen Paradigma (*Abbildung 1b*) werden Materialien durch Matrix und Patienten durch Zellen ersetzt und es kommt ein dritter Faktor, das Signal, hinzu. Jeder dieser Faktoren interagiert mit den beiden anderen. Zellen werden über Bindungen und Signale durch die Matrix beeinflusst, Signale werden durch Zellaktivität und Wechselwirkungen mit der Matrix moduliert, während die Matrix durch Zellen moduliert werden kann, in Abhängigkeit von ihrer Struktur und der Interaktion mit Signalmolekülen [1].

a

Biomaterialien: altes Paradigma



b

Biomaterialien: neues Paradigma

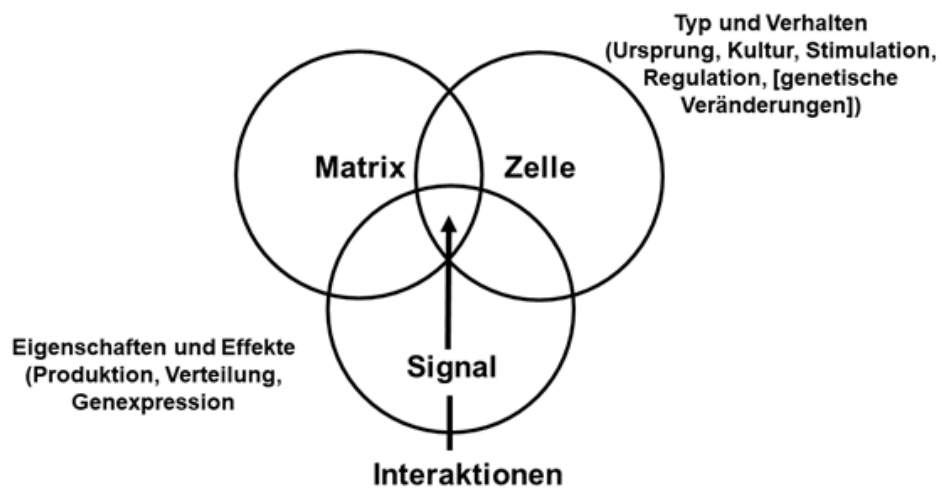


Abbildung 1: Paradigmenwechsel hinsichtlich des Verständnisses von Biomaterialien (modifiziert nach Black [1]).

Ein Biomaterial ist definiert als ein Material, welches geeignet ist, Körperfunktionen oder Körperteile in einer sicheren, ökonomischen und physiologisch vertretbaren Weise zu ersetzen [2]. Natürlich vorkommende Materialien wie Holz oder Knochenmaterial werden als biologische Materialien bezeichnet, nicht aber als Biomaterialien. In Tabelle 1 sind verschiedene Biomaterialien aufgelistet, die im medizinischen Alltag Verwendung finden.

Tabelle 1: Übersicht über aktuelle Implantatmaterialien (modifiziert nach Park [2]).

verschiedene Implantatmaterialien

Material	Vorteile	Nachteile	Beispiele
<u>Polymere:</u> PE (UHMWPE), Nylon, Silikon, Polytetrafluor-PE	elastisch, dehnfähig, leicht herzustellen	geringe Härte, Deformierung im Laufe der Zeit, Degradation	Nahtmaterial, Blutgefäße, andere Weichteilgewebe
<u>Metalle:</u> Ti und Legierungen, CoCr Legierungen, Au, Ag, rostfreie Stähle	hart, robust, formbar	Korrosion, undurchlässig, aufwändig in der Herstellung	Gelenkersatz, Zahnimplantate, Nahtdrähte, Knochen- platten und – schrauben
Mg und Legierungen	gewünschte Degradie- rung	Degradierung evt. zu schnell	degradierbare Stents in der Kinderkardiologie
<u>Keramiken:</u> Al ₂ O ₃ , ZrO ₂ , Ca Phosphate, Hydroxylapatit	hohe Biokompatibilität	brüchig, nicht elastisch, schwache Zugspannung	orthopädische Implantate, Zahnimplantate
<u>Verbundmaterialien:</u> Karbon-Karbon, draht- oder fiber-verstärkt Knochenzement	robust, maßgeschneidert		Knochenzement, dentale Gießharze

I.1 Das ideale Implantat

Das ideale Implantat, also ein Material, welches sich ohne Wechselwirkungen mit dem umgebenden Gewebe in dieses optimal integriert, gibt es nicht. Jedes Element, jede Legierung, jeder keramische Werkstoff und auch jedes Polymer interagieren mit den sie umgebenden lebenden Gewebestrukturen.

Man unterscheidet zwischen permanenten und transienten Implantaten. Permanente Implantate sollten gute mechanische Eigenschaften aufweisen, gleichzeitig möglichst chemisch inert sein und keine adversen Reaktionen im umliegenden Gewebe hervorrufen. Transiente Implantate sollten ebenfalls gute mechanische Eigenschaften aufweisen, sich aber idealerweise innerhalb bestimmter Zeiträume abbauen (Biodegradation), wobei durch die Degradationsprodukte weder lokal im umgebenden Gewebe noch systemisch adverse Effekte ausgelöst werden sollen.

I.2 Zielsetzung

Um die Vielschichtigkeit der Problematik zu bearbeiten, müssen die stofflichen Charakteristika der Materialien sowie die Organ-, Gewebe- und zellspezifischen Folgereaktionen für die klinische Verwendung bekannt sein. Die vorliegende Zusammenstellung widmet sich dem wichtigen Thema Biomaterialien im Bereich der pädiatrischen Kardiologie und der Orthopädie.

Eine „geordnete“ Entzündungsreaktion ist für die Akzeptanz des Biomaterials durch das Gewebe von entscheidender Bedeutung; eine strukturierte Entzündungsreaktion verhindert die frühzeitige Obliteration von Gefäßen bei Stentimplantation oder die Lockerung von Endoprothesen nach Eingriffen in der orthopädischen Chirurgie. Dazu kommt, dass die exakte Kenntnis zu den verwendeten Materialien die drohende Adhärenz von Bakterien bei einer zunächst aseptischen Entzündung unterbinden könnte. Eine personalisierte Medizin mit individuellen Biomaterialien ist eines der großen Zukunftsthemen.

I.3 Gliederung der Arbeit

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in zwei Teile – im ersten Teil werden Werkstoffe auf Eisen- und Magnesiumbasis für transiente Implantate im Bereich der pädiatrischen Kardiologie behandelt, der zweite Teil beschäftigt sich mit orthopädischen Gelenkimplantaten hauptsächlich auf der Basis von CoCr-Legierungen. In diesem Zusammenhang sollen 11 Originalarbeiten besprochen werden, 6 aus dem Bereich der pädiatrischen Kardiologie (1 - 6) und 5 aus dem Bereich der Orthopädie (7 - 10).

Die Arbeiten 1 - 6 sind nicht chronologisch nach dem Erscheinungsdatum angeordnet – es werden zunächst die Arbeiten besprochen, in denen es um Eisen als Haupt-Implantatmaterial geht (1 - 3) und dann die Arbeiten, die sich mit magnesiumbasierten Implantatmaterialien beschäftigen (4 - 6).

1. Mueller PP, Arnold S, Badar M, Bormann D, Bach FW, **Drynda A**, Meyer-Lindenberg A, Hauser H, Peuster M. Histological and molecular evaluation of iron as degradable medical implant material in a murine animal model. *J Biomed Mater Res A*. 2012;100:2881-9. doi: 10.1002/jbm.a.34223.
2. **Drynda A**, Hoehn R, Peuster M. Influence of Fe(II) and Fe(III) on the expression of genes related to cholesterol- and fatty acid metabolism in human vascular smooth muscle cells. *J Mater Sci Mater Med*. 2010;21:1655-63. doi: 10.1007/s10856-010-4014-8.
3. **Drynda A**, Hassel T, Bach FW, Peuster M. In vitro and in vivo corrosion properties of new iron-manganese alloys designed for cardiovascular applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015;103:649-660. doi: 10.1002/jbm.b.33234.

4. **Drynda A**, Hassel T, Hoehn R, Perz A, Bach FW, Peuster M. Development and biocompatibility of a novel corrodible fluoride-coated magnesium-calcium alloy with improved degradation kinetics and adequate mechanical properties for cardiovascular applications. *J Biomed Mater Res A*. 2010;93:763-65. doi: 10.1002/jbm.a.32582.
5. **Drynda A**, Seibt J, Hassel T, Bach FW, Peuster M. Biocompatibility of fluoride-coated magnesium-calcium alloys with optimized degradation kinetics in a subcutaneous mouse model. *J Biomed Mater Res A*. 2013;101:33-43. doi: 10.1002/jbm.a.34300.
6. **Drynda A**, Deinet N, Braun N, Peuster M. Rare earth metals used in biodegradable magnesium-based stents do not interfere with proliferation of smooth muscle cells but do induce the upregulation of inflammatory genes. *J Biomed Mater Res A*. 2009;91:360-369. doi: 10.1002/jbm.a.32235.
7. **Drynda A**, Singh G, Buchhorn GH, Awiszus F, Ruetschi M, Feuerstein B, Kliche S, Lohmann CH. Metallic wear debris may regulate CXCR4 expression in vitro and in vivo. *J Biomed Mater Res A*. 2015;103:1940-1948. doi: 10.1002/jbm.a.35330.
8. **Drynda A**, Ren Q, Buchhorn GH, Lohmann CH. The induction of CXCR4 expression in human osteoblast-like cells (MG63) by CoCr particles is regulated by the PLC-DAG-PKC pathway. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2017;105:2326-2332. doi: 10.1002/jbm.b.33770.
9. Drynda S, **Drynda A**, Feuerstein B, Kekow J, Lohmann CH, Bertrand J. The effects of cobalt and chromium ions on TGF- β patterns and mineralization in human osteoblast-like MG63 and SaOs-2 cells. *J Biomed Mater Res A*. 2018;106:2105-2115. doi: 10.1002/jbm.a.36409.
10. **Drynda A**, Drynda S, Kekow J, Lohmann CH, Bertrand J. Differential Effect of Cobalt and Chromium Ions as Well as CoCr Particles on the Expression of Osteogenic Markers and Osteoblast Function. *Int J Mol Sci*. 2018;19:3034. doi: 10.3390/ijms19103034.
11. Römmelt C, Munsch T, **Drynda A**, Lessmann V, Lohmann CH, Bertrand J. Periprosthetic hypoxia as consequence of TRPM7 mediated cobalt influx in osteoblasts. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2019;107:1806-1813. doi: 10.1002/jbm.b.34273. doi: 10.1002/jbm.b.34273.

II. Biodegradierbare Materialien in der pädiatrischen Kardiologie

Die Einführung intravaskulärer Metallstents hat die Therapie koronarer Herzerkrankungen, sowie angeborener Herzfehler („congenital heart diseases“, CHD) revolutioniert. Stents verhindern nach der Dilatation das elastische „Recoil“ behandelter Gefäße. Im Bereich der kongenitalen Herzfehler sind Stents aus permanenten Werkstoffen seit vielen Jahren ein wichtiger Bestandteil der Therapie von angeborenen oder postoperativ erworbenen Engstellen der Gefäße [3].

Nachteile und Komplikationen nach Stentimplantation sind die frühe oder späte „In-Stent“ Restenose, welche hauptsächlich durch übermäßige Proliferation (Hyperplasie) von Neointimagewebe hervorgerufen wird. Da ein permanenter metallischer Stent dem Wachstum des Kindes nicht folgen kann stellt dieser eine Limitation aufgrund der Notwendigkeit von Folgeeingriffen dar [3].

Die Forderung nach dem „idealen“ biodegradierbaren Stent (BDS) steht nach wie vor im Raum. In der Theorie besteht der größte Vorteil eines BDS darin, dass er sich vollständig biologisch verträglich abbaut, wenn er seine Funktion erfüllt hat. Während der funktionellen Phase soll er möglichst gute mechanische Eigenschaften, vergleichbar mit einem permanenten Metallstent aufweisen, jedoch ohne die im Laufe der Zeit auftretenden Nachteile eines permanenten Implantats. Theoretisch führen komplett degradierte BDS auch nicht zu späten Komplikationen, wie Thrombosen oder Blutungen, hervorgerufen durch Langzeit-Antikoagulationstherapie, Verminderung der Strömungseigenschaften im gestenteten Bereich sowie das Auftreten von Brüchen innerhalb des Stentgerüsts, was ein normales Gefäßwachstum und Vasomotorik erlaubt [4].

Ein weiterer Vorteil der Biodegradation ist die Aufrechterhaltung zukünftiger Therapieoptionen. Komplikationen wie bei eingewachsenen (permanenten) Metallstents treten nicht auf. Heranwachsende Kinder mit CHD wären die größten Nutznießer dieser Therapieform.

Bekannt Limitationen von BDS sind teilweise suboptimale mechanische Eigenschaften mit einhergehender hoher „recoil“ Rate. Dickere Stentstreben können dies zwar verhindern, doch entstehen hierdurch neue Probleme. Im gewünschten Gefäßbereich kommt es zu verstärkten lokalen Entzündungen, die wiederum Restenosen sowie eine insuffiziente Reendothelialisierung der betroffenen Gefäße verursachen können [5].

Im Rahmen kongenitaler Herzfehler haben Stenosen der Pulmonalarterie eine besondere Bedeutung, insbesondere bei der Fallotschen Tetralogie, einer komplexen 4-fach Fehlbildung des Herzens. Die Pulmonalstenose stellt hier nur ein Problem neben einem Ventrikulären Septumdefekt (VSD), einer „überreitenden“ Aorta und einer Rechtsherzhypertrophie dar [6].

Der Nutzen von BDSs wurde in den vergangenen Jahrzehnten im Zusammenhang mit koronaren Herzerkrankungen intensiv untersucht; im Hinblick auf kongenitale Herzerkrankungen liegen jedoch nur sehr wenige Studien vor. Kasuistiken von sehr jungen Kindern beschreiben den „off-label“ Einsatz bioresorbierbarer Stents in kleinen Gefäßen [7-10]. Mehrere BDS mit einem Durchmesser von kleiner 4 mm wurden in klinischen Studien untersucht [11-13]. Zartner et al. [7, 8] haben den Einsatz und die Eigenschaften eines biodegradierbaren Magnesiumstents in einer stenosierten linken Pulmonalarterie über mehrere Monate nach Implantation beschrieben.

II.1 Eisen und Magnesium als Werkstoffe für kardiovaskuläre Implantate - Prüfung in experimentellen Modellen

Eisen ist ein bedeutender Bestandteil verschiedener biomedizinischer Legierungen, die für kardiovaskuläre Anwendungen eingesetzt werden [14-16]. Für lange Zeit wurden biomedizinische Implantate aus verschiedenen Materialien hergestellt, u. a. AISI 316-L, Nitinol und Wolfram, die als korrosionsresistent angesehen werden. Es zeigte sich aber, dass die Korrosion von biomedizinischen Implantaten in physiologischer Umgebung sehr häufig vorkommt.

Bei ausgewachsenen Patienten soll ein Stent lange seine mechanische Integrität beibehalten. Nebenwirkungen im Luminalbereich wie eine erhöhte Neointimaprolieration und thrombogene Effekte, die zu Restenosen und im schlimmsten Fall zu Embolien führen können, sollen dabei verhindert werden und fernerhin möglichst zu keinen adversen Effekten im Luminalbereich führen.

Polymerstents für sich zeigten verstärkte inflammatorische und proliferatorische vaskuläre Reaktionen; deshalb sollen korrodierbare Stents auf Eisen- und Magnesiumbasis die bessere Lösung darstellen.

Obwohl medizinische, rostfreie Edelmehle (z. B. AISI 316-L) unter physiologischen Bedingungen korrodieren, sind die Degradationsraten sehr gering [17, 18]. Eine komplette Degradation ist innerhalb der Lebenszeit eines Patienten nicht zu erwarten, auch wenn die Implantation in sehr jungem Alter erfolgt [17]. Im Jahr 2001 wurde in einem neuen Ansatz für temporäres Stenting der erste korrodierbare Stent in einem Kaninchenmodell getestet [19] – anschließend im Schweineaortenmodell. Explantierte, gestentete Gefäße zeigten deutliche Spuren von Rost, obwohl die mechanische Integrität sich auch nach 12 Monaten nicht signifikant verschlechterte (*Abbildung 2*).

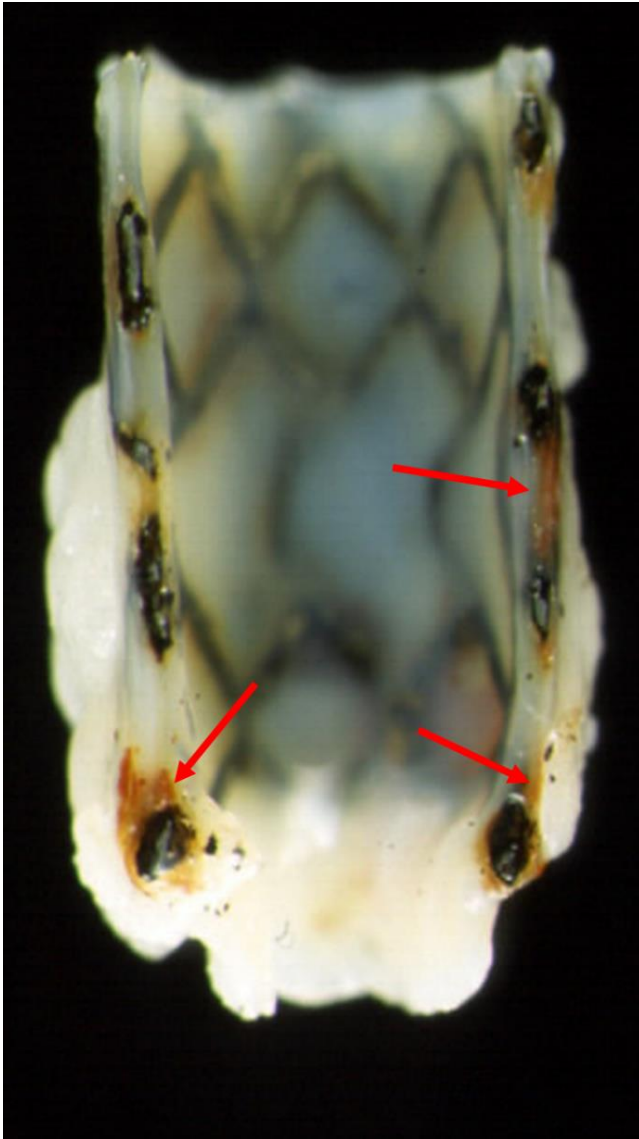


Abbildung 2: Explantierter Eisenstent aus einer Schweineaorta nach 12 Monaten – trotz Rostspuren (rote Pfeile) ist die mechanische Integrität nicht beeinträchtigt und die Neointimaproliferation ist sehr gering.

(Bild mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. med. M. Peuster)

Rostspuren wurden ebenfalls im umliegenden Gewebe nachgewiesen. Reines Eisen hat im Gegensatz zu vielen anderen Metallen und Legierungen eine Reihe von positiven Eigenschaften.

Eisen ist ein wichtiger Bestandteil verschiedener Enzym- und Transportsysteme. Dadurch ist eine entsprechende „clearance“ garantiert, so dass systemische Effekte nicht zu erwarten sind [20]. Im Vergleich zu Stents auf der Basis von Magnesiumlegierungen weisen Eisenstents hervorragende mechanische Eigenschaften, eine geringe Neointimaproliferation, sowie

ebenfalls geringe inflammatorische Eigenschaften auf [14, 19].

Durch die Einführung von Legierungen auf Magnesium-Basis konnten längerfristige Biokompatibilitäten erreicht werden. Nachteile dieser Materialien sind die geringe Röntgendichte, schlechtere mechanische Eigenschaften im Vergleich zu „konventionellen Stents“, sowie signifikante Kalzifizierungsprozesse, hervorgerufen durch die schnelle Biodegradation. Deshalb wurden neue Magnesium-basierte Legierungen sowie Oberflächenbehandlungen getestet.

Kardiovaskuläre Magnesiumstents sind bereits in neugeborenen Kindern mit arteriellen Obstruktionen und koronaren Erkrankungen verwendet worden. Publierte Daten weisen auf starke Einschränkungen hin. Stentimplantationen führten zu einer Verengung des luminalen Querschnitts in Gefäßen, die mit einem Magnesiumstent behandelt wurden. Diese Verengungen ähnelten den Ergebnissen, die nach Stenting mit „drug-eluting“ oder „bare-metal“ Stents erzielt wurden. Neben einer In-Stent Neointimaproliferation wurde auch eine bisher unbekannte Komplikation, die Ex-Stent Restenose beschrieben. Diese ist durch eine Verdickung der Media innerhalb des gestenteten Gefäßes charakterisiert; der dadurch bedingte verringerte luminaire

Querschnitt geht mit einer erhöhten "maze-rate" nach Implantation von Magnesiumstents, verglichen mit "drug-eluting" und "bare metal" Stents, einher [21]. Es wurden Kalzifizierungen der gestenteten Gefäße verbunden mit Zerstörungen in der Media beobachtet. Das unerwartete Anschwellen der Gefäßwände führte zu einem Nettoverlust an lumenalem Querschnitt [22].

Mögliche Faktoren für die beschriebenen Effekte sind:

- 1.) zu schnelle Degradation der Magnesiumlegierungen, Überschreitung der erreichbaren "clearance rate" der Legierungskomponenten durch
- 2.) schnelle Freisetzung und Akkumulation von Wasserstoff (H_2), durch die Korrosion von Magnesium → Gewebeschädigung durch die Bildung von Gaskavitäten,
- 3.) schnelle Akkumulation alkalischer Ionen durch die zu schnelle Korrosion von Magnesium → Gewebeschädigung durch Kalzifizierung.

Insuffiziente mechanische Eigenschaften oder insuffizientes Stent Design führen zu frühen Ermüdungsbrüchen, woraus eine ineffiziente mechanische Interaktion mit der Gefäßwand resultiert.

Die Degradation eines beschichteten Magnesiumstents kann in der Theorie in zwei Phasen unterteilt werden. In der ersten Phase, der Funktionsphase, ist der Stent stabil und unterstützt mechanisch die Gefäßwand innerhalb des gestenteten Bereichs. In der folgenden zweiten Phase, der Degradationsphase, die idealerweise erst beginnt, wenn die entscheidenden physiologischen Funktionen des Gefäßes wiederhergestellt sind, erfolgt die Remodellierung und Bildung der neointimalen und endothelialen Zellschicht.

Ziel der vorgestellten Originalarbeiten war es, verschiedene Stentmaterialien in experimentellen Modellen zu prüfen. Diese sollten Kriterien wie Kompatibilität, Biodegradation sowie Stabilisierung und Aufbau des gestenteten Gefäßes erfüllen. Selbstverständlich sollten auch neue Legierungen im Vergleich zu herkömmlich bekannten eingesetzt werden mit dem Ziel einer möglichst baldigen Verwendung in der pädiatrisch-kardiovaskulären Chirurgie.

II.2 Eisen als biodegradierbares Stentmaterial in der pädiatrischen Kardiologie – Einfluss in Tier- und Zellkulturmodellen (Arbeiten 1 - 2)

II.2.1 Originalarbeit Nr. 1 – Co-Autor - “Histological and molecular evaluation of iron as degradable medical implant material in a murine animal model”

Die Veröffentlichung beschreibt die Etablierung eines Mausmodells für die primäre Evaluation von Implantatmaterialien. In diesem Fall wurde Reineisen als biodegradierbares Material für kardiovaskuläre Implantate verwendet. Die größten Vorteile gegenüber Großtiermodellen [23] sind im Mausmodell die unkomplizierte Implantation, die geringe Belastung der Versuchstiere und statistisch hochsignifikante, reproduzierbare Ergebnisse. Nach Implantation einer Eisenfolie (Dicke: 500 nm) in Mäuseschwänze degradierte die Folie innerhalb eines klinisch relevanten Zeitraums (9 Monate) (Abbildung 3).

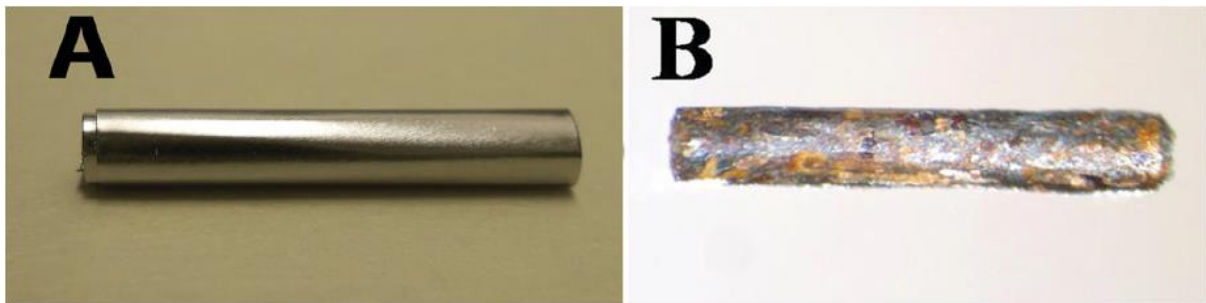


Abbildung 3: Oberflächenkorrosion von Eisen. A: aufgerollte Eisenfolie (Länge: 5 mm, Dicke: 500 nm) vor der Implantation. B: Explantierte, repräsentative Folie, 1 Monat nach der Implantation in die Schwanzvene der Maus.

Dieser Degradationsvorgang ließ sich für verschiedene Zeitpunkte im Micro-CT sowie durch histologische Untersuchungen darstellen. Hierbei wurden Eisenablagerungen in der Umgebung des Implantationsortes festgestellt, aber auch in einzelnen Zellen abseits des Implantationsortes. Mit Hilfe von Genexpressionsanalysen (Mikroarrays) wurden nur begrenzte inflammatorische Reaktionen festgestellt. Darüber hinaus ließen sich keine zellulären Antworten im Zusammenhang mit erhöhten Eisenkonzentrationen beobachten. Daraus wurde geschlossen, dass Eisen-Degradationsprodukte metabolisch inaktiv sind. Die Biodegradation einer Eisenfolie mit einer Dicke von 500 nm lässt allerdings keine Rückschlüsse auf das Degradationsverhalten von Eisenstents mit einem Strebendurchmesser von durchschnittlich 100 μm zu.

II.2.2 Originalarbeit Nr. 2 – Erst-Autor - “Influence of Fe(II) and Fe(III) on the expression of genes related to cholesterol- and fatty acid metabolism in human vascular smooth muscle cells”

Die Veröffentlichung beschreibt den Einfluss di- und trivalenter Eisenspezies (Fe^{2+} / Fe^{3+}) auf Gene des Cholesterin- und Fettsäurestoffwechsels in humanen glatten Muskelzellen. Systemische, zytotoxische Effekte hervorgerufen durch Eisen sind sehr unwahrscheinlich, da die Eisenmenge eines typischen Eisenstents (ca. 40 mg Gewicht) im Vergleich zur gesamten Eisenmenge im menschlichen Körper von 400 – 500 mg/l sehr klein ist. Ferritin ist ein wichtiger Eisenspeicher; ungefähr 20 % des Gesamteisens sind in der bivalenten Form gebunden [19]. Systemische Effekte durch Eisenkorrosionsprodukte können ausgeschlossen werden [13, 15], trotzdem können lokale Eisenkonzentrationen höher sein und mit den Gefäßwänden an der Implantationsstelle interagieren. In früheren Studien konnte mittels Affymetrix Chip Analyse („Human Genome U133 array“) gezeigt werden, dass Gene der Cholesterin- und Lipidstoffwechsel-Signalwege durch Fe^{2+} -Ionen in humanen glatten Muskelzellen aufreguliert waren [24]. Bei diesen Genen handelt es sich um:

- (a) LDL-R (“low density lipoprotein receptor”)
- (b) HMGCS1 (“3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A synthase 1”)
- (c) FADS1 (“fatty acid desaturase 1”)

In *in vitro* Experimenten wurde deshalb der Einfluss verschiedener Konzentrationen von Fe^{2+} in Form von Fe(II)-gluconat sowie trivalenten Eisenspezies in Form von Fe(III)chlorid und Ferrlecit™ auf humane glatte Muskelzellen untersucht. Beim Ferrlecit™ handelt es sich um Fe^{3+} in Form von Fe_2O_3 , welches als Gluconatkomplex in einer Sucrosematrix eingebettet ist [25]. Nur hohe, weit außerhalb des physiologischen Bereichs liegende Konzentrationen dieser Eisenspezies führten zu einer Verminderung der metabolischen Aktivität in humanen glatten Muskelzellen. Die Analyse der Genexpression erfolgte mittels quantitativer TaqMan™ Real-Time PCR. Nach 24 h führten sowohl bi- als auch trivalente Eisenspezies zu einer Aufregulation der o. g. Gene. Der höchste Anstieg wurde nach Stimulation mit Ferrlecit™ beobachtet, wahrscheinlich aufgrund der hohen Bioverfügbarkeit des Eisens im Gluconatkomplex. Auch die Inkubation von humanen glatten Muskelzellen mit reinem Eisen in Form von verdrehten Drähten („coils“) führte zur Aufregulation aller drei Gene, hervorgerufen durch bi- oder trivalente braune Korrosionsprodukte (Rostkomponenten: $\text{Fe}(\text{OH})_3$ / Fe_2O_3) (Abbildung 4).

(a)

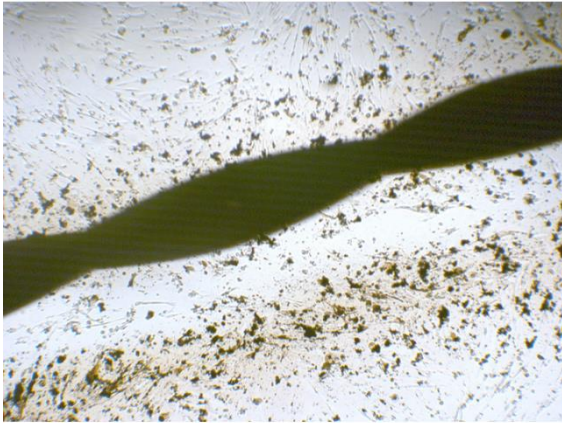
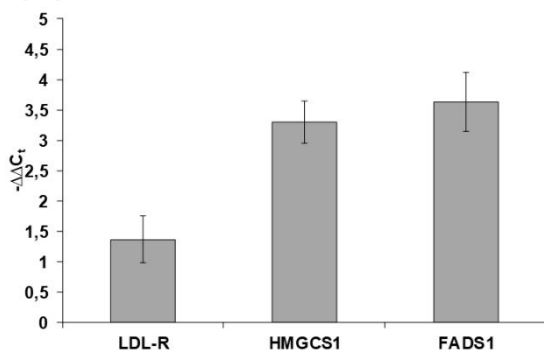


Abbildung 4: Humane glatte Muskelzellen wurden mit einem verdrehten Eisendraht (Länge: 6 cm) für 24 h inkubiert (a). Die Genexpression (mRNA) von LDL-R, HMGCS1 und FADS1 wurde mittels TaqMan™ Real-Time PCR bestimmt (b). Alle indizierten Datenpunkte sind signifikant ($p < 0,05$).

(b)



Grund für die Aufregulation ist wahrscheinlich die Generierung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) durch Eisen. Die Effekte von Fe^{2+} -Ionen können durch die Fähigkeit dieser Spezies zur "Ersetzung" anderer Metallionen oder durch das reduzierende Potential erklärt werden. Fe^{2+} wird durch zelluläre Prozesse zu Fe^{3+} oxidiert, wodurch hochreaktive Hydroxylradikale entstehen (Fenton Reaktion) [26, 27]. Diese Radikale sind in der Lage, mit einer großen Gruppe von Biomolekülen, z. B. Membranproteinen zu reagieren [28, 29].

Es gibt Hinweise in der Literatur, dass die Implantation von Eisenstents zur Bildung von atherosklerotischen Plaques und damit zur Obliteration innerhalb des gestenteten Bereichs führt. Cholesterin ist an der Entstehung von atherosklerotischen Plaques beteiligt [30]. Eine Kasuistik zeigte, dass derartige Plaques auch zwischen zwei "bare-metal" Stents nach 9 Jahren auftreten können [31]. Diese Plaques können eine natürliche Ursache, vergleichbar mit Plaques in ungestenteten Gefäßen, haben. Da Cholesterin in verschiedenen Formen im Körper vorhanden ist, gibt es aktuell keinen Hinweis, dass die beobachteten Plaques mit Eisenkorrosionsprodukten in Verbindung stehen.

II.3 Entwicklung neuer Eisen-Mangan-Legierungen und Magnesium-Calcium-Legierungen als Prototypen für biodegradierbare Materialien

Die bisherigen eisen- oder magnesiumbasierten Werkstoffe für biodegradierbare Stents in der pädiatrischen Kardiologie waren nur eingeschränkt geeignet. Eisenstents korrodieren zu langsam, Magnesiumstents zu schnell. Deshalb wurden andere Legierungen, sowohl im Tier- als auch im Zellkulturmodell überprüft.

II.3.1 Originalarbeit Nr. 3 – Erst-Autor - “In vitro and in vivo corrosion properties of new iron-manganese alloys designed for cardiovascular applications”

Ziel der Arbeit war die Entwicklung und Evaluierung neuer Eisen-Mangan-(FeMn)-Legierungen für den Einsatz als biodegradierbare Materialien bei kardiovaskulären Applikationen. In den letzten Jahren wurden FeMn-Legierungen mit der Annahme einer galvanischen Korrosion, welche aufgrund der Redoxpotentiale von Eisen und Mangan möglich ist, entwickelt. *In vitro* Experimente mit Mn-Anteilen von bis zu 30 % zeigten zufriedenstellende Ergebnisse hinsichtlich der Biokompatibilität. Geprüft wurden FeMn-Legierungen mit niedrigeren Mn-Konzentrationen unter 10 % (FeMn 0,5 wt %, FeMn 2,7 wt % und FeMn 6,9 wt %). Diese Konzentrationen wurden gewählt, um toxische Effekte auszuschließen. Die Ergebnisse zeigen, dass diese neuen Legierungen sowohl gute mechanische Eigenschaften (insbesondere die Legierung FeMn 2,7 wt %), als auch eine gute Biokompatibilität und gute, verbesserte Korrosionseigenschaften gegenüber Reineisen *in vitro* aufweisen. Die Einzelkomponenten Eisen und Mangan in Form entsprechender Salze (Fe(II)-gluconat, Mn(II)-chlorid) führten zu einer dosis-abhängigen Verminderung der metabolischen Aktivität. Es muss hervorgehoben werden, dass die Konzentrationen, welche adverse Effekte hervorrufen, nicht mit den Bedingungen von Fließgleichgewichten in *in vivo* Umgebungen zu vergleichen sind. Daher wurden Untersuchungen mit Legierungsplättchen durchgeführt. Die Aussagekraft dieser Daten ist höher zu bewerten als mit den entsprechenden Metallsalzen, da bei den Legierungsplättchen die direkte Interaktion von Degradationsprodukten mit kardiovaskulären Zellen untersucht werden kann. Zellkulturexperimente mit FeMn-Legierungsplättchen (Durchmesser: 15 mm, Höhe: 2,5 mm) zeigten, dass Korrosionsprodukte zytotoxische Effekte in der unmittelbaren Umgebung der Plättchen hervorrufen. Nach 144 h und 240 h waren adhärente humane glatte Muskelzellen und Endothelzellen in unmittelbarer Nähe der FeMn-Plättchen vorhanden – darüber hinaus waren nach denselben Zeitpunkten bestimmte Inhibitionszonen ohne Zellen vorhanden; größere Mengen an Korrosionsprodukten waren ebenfalls sichtbar. Bei einem Stent, mit einem Gewicht von ca. 40 mg sind adverse systemische Effekte hervorgerufen durch Mangan unwahrscheinlich.

Überraschenderweise führte die Evaluation dieser Legierungen in einem *in vivo* Mausmodell zu unerwarteten Ergebnissen.

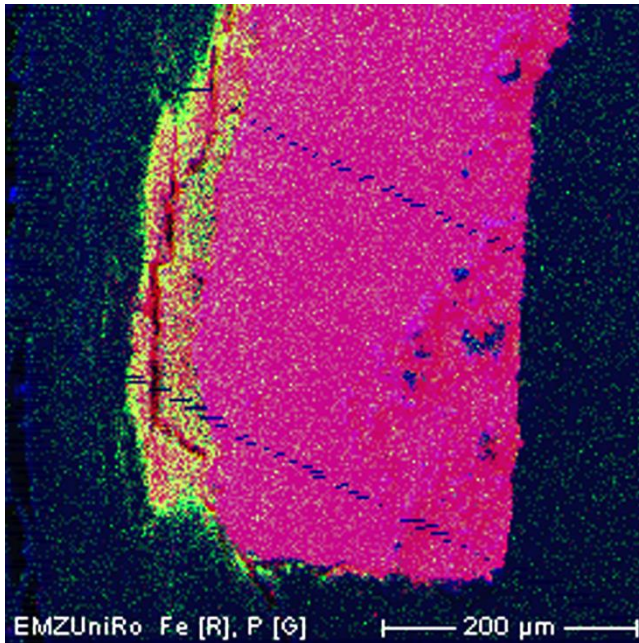


Abbildung 5: SEM-EDX Aufnahme einer FeMn-Stentstrebe. Eisen erscheint in lila, Phosphat-basierte Korrosionsprodukte sind in grün und gelb dargestellt.

Obwohl deutliche Spuren von braun gefärbten Eisen-Korrosionsprodukten, wahrscheinlich Hydroxide, Oxide und Phosphate, auf allen untersuchten Legierungsplättchen nach 3-, 6- und 9 Monaten sichtbar waren, ließ sich auch nach 9 Monaten Implantationsdauer keine substantielle Korrosion des Implantats feststellen. Eine starke

Degradation nach 3- oder 6 Monaten wurde auch nicht unbedingt erwartet. Frühere Studien mit Eisenstents zeigten, dass diese auch nach einem Jahr hinsichtlich mechanischer Integrität noch intakt waren. Die einzelnen Legierungen zeigten keine Unterschiede in der Korrosionskinetik. Hermawan et al. [32] beschrieben 2010, dass FeMn-Legierungen mit einem Mn Anteil zwischen 20 – 30 % *in vitro* Korrosionsprodukte in Form von Metallhydroxiden und Phosphaten bilden. Diese fungieren dann als Passivierungsschichten und verhindern eine weitere Korrosion. Diese Produkte zeigten keine signifikante Inhibition der metabolischen Aktivität. Daraus folgt, dass FeMn-Legierungen als biodegradierbare Materialien verwendet werden könnten. In „Scanning Electron Microscopy“ (SEM) Untersuchungen wurde gezeigt, dass auch bei niedrigeren Mangankonzentrationen Passivierungsschichten (Fe- / Mn-Phosphate) auftreten, was u. U. der Grund für die insuffiziente *in vivo* Korrosion ist (Abbildung 5). Auf Grundlage der vorliegenden Daten ist es nicht möglich, verbindliche Aussagen über die Eignung einer speziellen FeMn-Legierung für die Produktion kardiovaskulärer Implantate zu machen. Zukünftiges Ziel müsste es sein, in weiteren experimentellen Studien die Entstehung der Phosphatschichten aufzuklären. Dann könnte man Strategien entwickeln, diese zu verhindern. Zur Klärung dieser Problematik müssen ausgesuchte Tiermodelle eingesetzt werden.

II.4 Bedeutung von Magnesium-Calcium-Legierungen in der pädiatrischen Kardiologie – zellbiologische und tierexperimentelle Untersuchungen (Arbeiten 4 - 6)

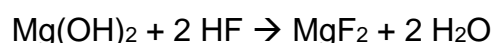
Magnesiumbasierte Legierungen werden in der klinischen Praxis für kardiovaskuläre und orthopädische Implantate verwendet. Sehr hohe Degradationsraten und suboptimale mechanische Eigenschaften limitierten bislang den Einsatz dieser Materialien. Magnesiumstents, die klinisch für kardiovaskuläre Anwendungen benutzt werden, zersetzen sich gewöhnlich innerhalb von 4 Monaten durch Biodegradation [21].

II.4.1 Originalarbeit Nr. 4 – Erst-Autor - “Development and biocompatibility of a novel corrodible fluoride-coated magnesium-calcium alloy with improved degradation kinetics and adequate mechanical properties for cardiovascular applications”

Um die Einschränkungen der o. g. Stents zu beseitigen, wurden in dieser Arbeit neue Fluorid-beschichtete Magnesium-Calcium-(MgCa)-Legierungen mit unterschiedlichen Calciumanteilen entwickelt und evaluiert. Mit dem binären MgCa System ist es möglich, sowohl die mechanischen Eigenschaften, als auch die Korrosionsraten durch die Veränderung der Calciumkonzentration zu optimieren. Verminderte Korrosionsraten führen zu einer Verbesserung der mechanischen Eigenschaften. Der Zusatz von Calcium führte zu einer Abnahme der Gasentwicklung (H₂) während der Korrosion, wodurch „Gas Kavitäten“ verhindert werden, die *in vivo* auch zu Embolien führen könnten. Folgende fünf Legierungen wurden als Plättchen (Durchmesser: 10 mm, Höhe: 4 mm) in unbeschichteter und Fluorid-beschichteter Form in einem *in vitro* Zellkulturmodell getestet:

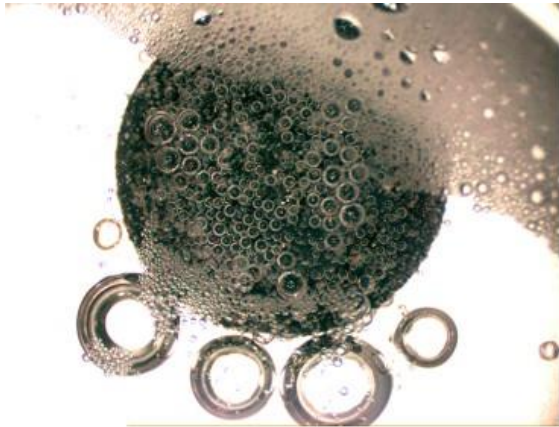
MgCa 0,4 wt %, MgCa 0,6 wt %, MgCa 0,8 wt %, MgCa 1,2 wt % und MgCa 2,0 wt %

Zur Verminderung der Korrosionskinetiken wurden die einzelnen MgCa Plättchen mit einer Fluoridschicht versehen. Voraussetzung hierfür ist die vorherige Bildung einer Magnesiumhydroxidschicht (Mg(OH)₂) durch Behandlung der Plättchen mit Natronlauge. Die Ausprägung der Mg(OH)₂ Schicht bedingt dann die Dicke der Fluoridschicht (0,5 – 20 µm), da das Hydroxid durch Immersion in Flusssäure (HF) in Fluorid konvertiert wird.



Überschreitet die Dicke 20 µm, entstehen vermehrt Kapillarrisse über die gesamte Oberfläche.

Aufgrund der geringen Löslichkeit von MgF₂ sind keine toxischen Effekte durch die Zersetzung dieser Schicht zu erwarten.



(a)

Abbildung 6: Humane glatte Muskelzellen wurden mit der Legierung MgCa 0,8 wt % inkubiert; das verwendete Zellkulturmedium repräsentiert normale physiologische Zustände.

(a): unbeschichtetes Legierungsplättchen, das Bild zeigt die Gasentwicklung nach 24 h als Indikator für die Korrosion.

(b): Fluorid-beschichtetes Legierungsplättchen ohne sichtbare Gasentwicklung.



(b)

Magnesium und Calcium sind essentielle, im menschlichen Organismus ubiquitär vorkommende Elemente. Beide Elemente wurden zunächst in Form entsprechender Salze hinsichtlich ihrer metabolischen Aktivität

getestet. Sowohl für humane glatte Muskelzellen als auch Endothelzellen ließ sich konzentrationsabhängig eine Suppression der metabolischen Aktivität beobachten. Zytotoxische Effekte traten erst bei unphysiologisch hohen Konzentrationen auf.

Bei unbeschichteten MgCa Legierungen setzten im Gegensatz zu Fluorid-beschichteten Legierungen Korrosionsprozesse, verbunden mit einer Gasentwicklung, schon innerhalb 24 h ein (Abbildung 6). Nach einem Zeitraum von 10 Tagen waren humane glatte Muskelzellen und Endothelzellen um die Legierungsplättchen herum vital, während eine Kolonisierung der Plättchenoberfläche nur für humane glatte Muskelzellen beobachtet wurde. Wahrscheinlich sterben humane Endothelzellen aufgrund ineffizienter Oberflächenstrukturen und damit unzulänglicher Adhäsion ab.

Setzt man bei einem Magnesiumstent eine lineare Degradationskinetik voraus, führt das bei Annahme eines Gewichts von 10 mg und einer Zusammensetzung (MgCa, 98:2 (w/w)) zu einer Freisetzung von ca. 82 µg Magnesium und ca. 2 µg Calcium pro Tag. Eine MgF₂ Beschichtung würde diese Degradationskinetik weiter verlangsamen. Aus den Daten geht hervor, dass die berechneten Mg- und Ca-Konzentrationen, aufgrund des Degradationsverhaltens der kardiovaskulären Stents, nicht zu einem Anstieg der Proliferation in humanen glatten Muskelzellen führen. Fernerhin wurden für diese Konzentrationen keine toxischen oder andere adverse Effekte beobachtet.

Somit gibt es Hinweise, dass Fluorid-beschichtete MgCa Legierungen für die Entwicklung biodegradierbarer Stentmaterialien im kardiovaskulären Bereich vorteilhaft sein können. Im Vergleich zu herkömmlichen magnesiumbasierten Legierungen bieten diese neuen Legierungen verbesserte mechanische Eigenschaften, verminderte Degradationskinetiken und eine gute Biokompatibilität gegenüber vaskulären Zellen. Die besten Resultate wurden für die Fluorid-beschichtete Legierung MgCa 0,8 wt % erzielt.

II.4.2 Originalarbeit Nr. 5 – Erst-Autor - “Biocompatibility of fluoride-coated magnesium-calcium alloys with optimized degradation kinetics in a subcutaneous mouse model”

Diese Veröffentlichung schließt sich den Ergebnissen der vorhergehenden Arbeit an. Fluorid-beschichtete MgCa Legierungen zeigten *in vitro* reduzierte Degradationskinetiken, eine gute Biokompatibilität und keine relevanten adversen Effekte gegenüber vaskulären Zellen. Um diese Ergebnisse zu bestätigen, wurden Fluorid-beschichtete MgCa Legierungen in dieser Arbeit in einem subkutanen Mausmodell verwendet. Hierzu wurden neben Reinmagnesium sowie den Legierungen MgCa 0,4 wt %, Mg Ca 0,6 wt %, MgCa 0,8 wt %, MgCa 1,0 wt % die kommerzielle Legierung WE43 [33] (alle Fluorid-beschichtet) verwendet. Diese wurden als zylindrische Plättchen (Durchmesser: 3 mm, Höhe: 1,4 mm) in das subkutane Gewebe von NMRI Mäusen implantiert. Nach 3 und 6 Monaten wurden die Plättchen entnommen und histomorphometrisch untersucht, um die Degradationsraten zu ermitteln (Abbildung 7). Obwohl die Degradation nach bis zu 6 Monaten nur partiell war, konnte durch Berechnung der Fläche anhand des Umfangs, der Flächenverlust bestimmt werden. Die histomorphometrische Auswertung zeigte eine zeitabhängige Reduktion der Implantatmasse, hervorgerufen durch eine progrediente Korrosion. Nach 3 Monaten wurde bei reinem Magnesium die größte Flächenreduktion beobachtet, jedoch nach 6 Monaten bei der Legierung MgCa 0,8 wt %. Am Ende der Studie, nach 6 Monaten, war keine der Legierungen komplett degradiert. Für beide Zeitpunkte zeigten die Fluorid-beschichteten binären MgCa Legierungen höhere Korrosionsraten als die WE43 Referenzlegierung. Somit führte eine Fluoridbeschichtung von Magnesiumlegierungen zu einer verminderten Degradation und zu guter Biokompatibilität. Für keine der Fluorid-beschichteten Legierungen wurden adversen Effekte wie inflammatorische Reaktionen oder übermäßige Zellproliferation beobachtet; die Fluorid-Beschichtung verhindert effizient eine zu schnelle Degradation von magnesiumbasierten Legierungen *in vivo*.

Erstaunlicherweise zeigte die Fluorid-beschichtete Referenzlegierung WE43 hier die besten Ergebnisse. Eine solche Legierung könnte potentiell für klinische Anwendungen von Bedeutung sein. Die Korrosion der MgCa Legierungen *in vivo* war mit der Bildung einer Kapsel aus Bindegewebe verbunden. Die Dicke dieser Kapsel vergrößerte sich mit steigender Implantationszeit. Es kann angenommen werden, dass ein persistierendes Implantat einen kontinuierlichen Proliferationsstimulus darstellt. Eine Akkumulation von Entzündungszellen in der fibrösen Kapsel wurde nicht festgestellt. Die Kapselbildung ist beschrieben als “frustrierende Phagozytose” [34]. Die Integrität der Kapselstruktur wurde weder durch Korrosionsprodukte noch die Infiltration von Entzündungszellen beeinflusst. Die entzündlichen Reaktionen waren zu allen Zeitpunkten marginal. Die Daten bestätigen somit die Ergebnisse anderer Autoren, die in einem Schweineaortenmodell ebenfalls keine Entzündungsreaktionen nach Implantation von Magnesiumstents feststellten [22, 35, 36].

alloy	A_0 (mm ²)	A_{korrr} (mm ²)	reduction of area(%)	Standard deviation (%)	$A_{korrr} - A_0$ significance,
Mg	4.83 – 6.70	4.12 – 5.52	17.89	3.97	0.001
MgCa 0.4 %	5.22 – 6.32	4.32 – 6.21	17.04	2.40	0.001
MgCa 0.6 %	4.82 – 7.12	3.20 – 6.16	20.70	7.03	0.001
MgCa 0.8 %	5.15 – 10.30	4.23 – 8.91	16.14	2.19	0.002
MgCa 1.0 %	4.82 – 6.52	3.97 – 5.61	17.21	3.08	0.001
WE43	4.97 – 7.75	4.33 – 7.04	11.31	1.17	0.001

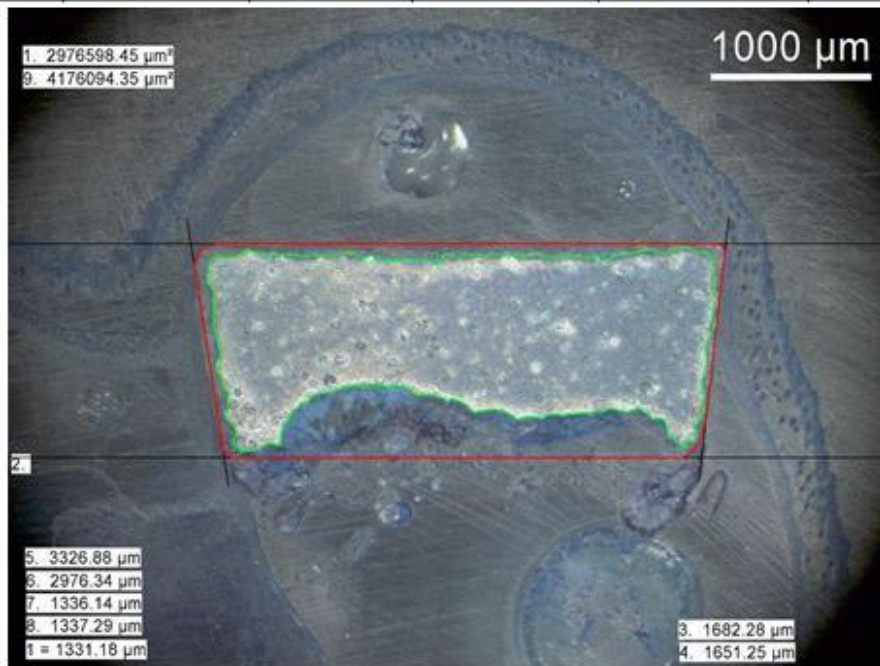


Abbildung 7: Histomorphometrische Auswertung – 6 Monate nach Implantation. Oberer Teil: Evaluierung des Flächenverlustes als Maß für die Korrosion, statistische Analyse (Leica Software Paket IM1000 (Leica Imaging Systems LTD, UK); unterer Teil: Darstellung eines Fluorid-beschichteten, partiell degradierten MgCa 0,6 wt % Legierungsplättchens (Lichtmikroskop, Durchlicht, 250-fache Vergrößerung). Die rote Linie stellt die approximierte Fläche des Plättchens unmittelbar nach der Implantation dar, die grüne Linie die des korrodierten Plättchens.

II.5 Rolle von „Seltene Erden“-Metallen in Magnesium-Calcium-Legierungen für die Biodegradation

Die bisherigen Ergebnisse zu neuen Legierungen für biodegradierbare kardiovaskuläre Stents zeigten neben positiven auch eine Reihe negativer Eigenschaften, wie z. B. eine zu schnelle Degradation verbunden mit starker Gasentwicklung sowie eingeschränkte mechanische Charakteristika, die eine breite klinische Anwendung einschränken. Zur Verbesserung der mechanischen Eigenschaften wurden MgCa-Legierungen „Seltene Erden“-Metalle zugesetzt. Über die Biokompatibilität dieser Metalle war vor Beginn der folgenden Arbeit wenig bekannt.

II.5.1 Originalarbeit Nr. 6 – Erst-Autor - “Rare earth metals used in biodegradable magnesium-based stents do not interfere with proliferation of smooth muscle cells but do induce the upregulation of inflammatory genes”

Diese Veröffentlichung beschäftigt sich daher mit „Seltene Erden“-Metallen als Legierungsbestandteil magnesiumbasierter Legierungen. Zu den Seltene Erden zählt man die Elemente der 3. Nebengruppe (Scandium (Sc) und Yttrium (Y)) und die Lanthanoide (Lanthan (La), Cer (Ce), Praseodym (Pr), Neodym (Nd), Promethium (Pm), Samarium (Sm), Europium (Eu), Gadolinium (Gd), Terbium (Tb), Dysprosium (Dy), Holmium (Ho), Erbium (Er), Thulium (Tm), Ytterbium (Yb), Lutetium (Lu)), also insgesamt 17 Elemente. Der Zusatz von „Seltene Erden“ erfolgt, um die mechanischen Eigenschaften entsprechender Magnesiumlegierungen zu verbessern, da die Duktilität von reinem Magnesium verhältnismäßig gering ist. So enthält z. B. die bekannte Magnesiumlegierung WE43 bis zu 10 % „Seltene Erden“-Metalle [33]. Eine Reihe von Studien hat sich mit toxikologischen und pharmakologischen Aspekten der „Seltene Erden“ beschäftigt [37, 38], da „Seltene Erden“-Metalle zu Ca^{2+} vergleichbare Ionenradien haben. Mit Ausnahme von Gadolinium, welches bereits in geringen Konzentrationen auf die RNA Polymerase II in Hepatozyten wirkt, wurden toxische Effekte der anderen „Seltene Erden“-Metalle nur bei sehr hohen Konzentrationen beobachtet [37]. Diese Konzentrationen sind weit entfernt von denen, die im Zusammenhang mit der Biodegradation von koronaren Stents auftreten können. Bei Konzentrationen über 100 $\mu\text{g/ml}$ präzipitieren die „Seltene Erden“ Metalle als unlösliche Phosphate. Daher wurden Konzentrationen $> 100 \mu\text{g/ml}$ in dieser Arbeit nicht berücksichtigt. Aufgrund ihrer chemischen und physikalischen Eigenschaften weisen „Seltene Erden“-Metalle eine geringere Degradationskinetik auf als der Hauptbestandteil Magnesium. Sie verbleiben am Implantationsort, auch nach kompletter Degradation des Stents. Aufgrund der lokalen Akkumulation können die verbleibenden „Seltene Erden“ Metalle adverse Reaktionen im umliegenden Gewebe hervorrufen. Bei einer Stentimplantation wird die Endothelzellschicht am Implantationsort verletzt und die interne elastische Membran eingerissen, wodurch es zum Kontakt zwischen dem Implantatmetall und den Zellen der Media kommt. Die Bildung von Neointimagewebe ist verbunden mit einer Hyperplasie der Media, hervorgerufen

durch die Proliferation von humanen glatten Muskelzellen und der Akkumulation von extrazellulärer Matrix. Die Studie wurde durchgeführt, um den Einfluss steigender Konzentrationen an „Seltene Erden“ auf humane glatte Muskelzellen zu beschreiben.

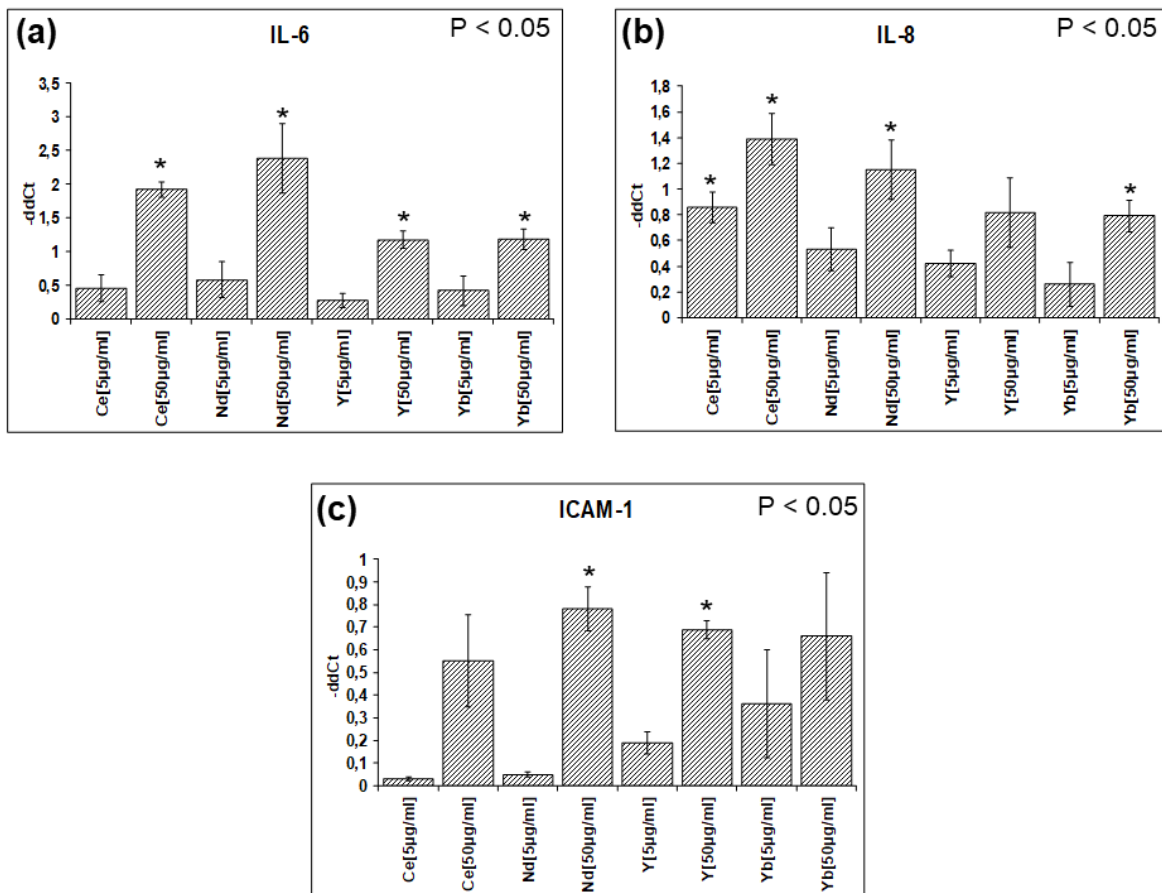


Abbildung 8: Einfluss der trivalenten Chloride von Ce, Nd, Y und Yb in zwei Konzentrationen (5 und 50 µg/ml) auf die Genexpression von IL-6 (a), IL-8 (b) und ICAM-1 (c) in humanen glatten Muskelzellen nach 24 h.

Zunächst wurde der Einfluss der „Seltene Erden“-Metalle auf die metabolische Aktivität von humanen glatten Muskelzellen in einem *in vitro* Zellkulturmodell untersucht. Außerdem wurde mittels quantitativer TaqMan™ Real-Time PCR die mRNA Expression von Faktoren (IL-6, IL-8 und ICAM-1) bestimmt, die bei entzündlichen Prozessen beteiligt sind. Hierzu wurden humane glatte Muskelzellen mit den trivalenten Chloriden aller „Seltene Erden“-Metalle mit Ausnahme des radioaktiven Promethiums in verschiedenen Konzentrationen für unterschiedliche Zeiträume inkubiert. Die hier untersuchten „Seltene Erden“-Metalle führten über einen breiten Konzentrationsbereich zu keinen signifikanten Änderungen der metabolischen Aktivität. Nur bei sehr hohen Konzentrationen, die weit über physiologisch erwartbaren Werten lagen, kam es zu einer deutlichen Verringerung der metabolischen Aktivität. Apoptotische oder nekrotische Effekte wurden nicht beobachtet. Eine signifikante Aufregulation von IL-6, IL-8 und ICAM-1 wurde *in vitro* auch nur für die hohen Konzentrationen beobachtet, die außerhalb des physiologischen Bereichs liegen (Abbildung 8). Ein koronarer Magnesiumstent hat ein Gewicht von ca. 10 mg. Wenn

die Konzentration von „Seltene Erden“-Metallen in den entsprechenden Legierungen mit 5 – 10 % angenommen wird und die Degradationsdauer des Stents in einem Rahmen von 3 Monaten liegt, so beträgt die tägliche Freisetzung der entsprechenden Metallionen bei einer linearen Degradationskinetik 6 – 12 µg pro Tag.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass „Seltene Erden“-Metalle in geringen Konzentrationen, die auch physiologisch bei der Biodegradation der Stents zu erwarten sind, keinen signifikanten Einfluss auf humane glatte Muskelzellen haben. Erst höhere Konzentrationen, jenseits des physiologisch Erwartbaren, führten zu einer Induktion von inflammatorischen Faktoren.

II.6 Zusammenfassung: Biodegradierbare Materialien in der pädiatrischen Kardiologie

Die Notwendigkeit eines idealen BDS, insbesondere im Zusammenhang mit der Behandlung von angeborenen Herzfehlern im pädiatrischen Bereich ist nach wie vor hochaktuell. BDS stellen eine vielversprechende Alternative zu herkömmlichen Metallstents dar, da die Notwendigkeit wiederholter chirurgischer Interventionen minimiert werden kann. Langzeitstudien im Großtiermodell sind notwendig, um entsprechende Prototypen hinsichtlich Wiederherstellung der vasomotorischen Eigenschaften des gestenteten Gefäßabschnittes nach kompletter Degradation des Stents zu evaluieren. Eine weitere Frage ist die Identifikation des optimalen Stentmaterials, d. h. Polymer vs. Metall, des optimalen Designs und optimaler mechanischer Eigenschaften, um vaskuläre elastische Kräfte aufrechtzuerhalten und Thrombosen zu vermeiden [4].

Die Korrosionseigenschaften von eisenbasierten Legierungen konnten im Rahmen der diskutierten Arbeiten nicht so weit optimiert werden, dass es zur Produktion entsprechender Stentprototypen und Evaluation im Großtiermodell kam.

Die neu entwickelten MgCa-Legierungen zeigten verbesserte mechanische Eigenschaften; die Fluorid-Beschichtung führte bei allen Legierungen zu einer Verminderung der Degradationskinetik, jedoch konnten insgesamt keine signifikante Verbesserung der neuen MgCa-Legierungen gegenüber der kommerziellen WE43 Referenzlegierung festgestellt werden. Der Einsatz von „Seltene Erden“-Metallen in magnesiumbasierten Legierungen wies in den verwendeten Konzentrationen keine adversen Effekte auf.

Tabelle 2 (modifiziert nach Welch et al. [4])

Mechanische Eigenschaften und Degradationsprofile verschiedener Stentmaterialien			
Material	Zugkraft (MPa)	Bruchdehnung (%)	Degradationszeit (Monate)
PGA	90 - 110	1 - 2	4 - 6
PLLA	55 - 354	3,3 - 49	24 - 36
PDLA	25 - 40	2 - 6	12 - 16
50:50 PLGA	40 - 55	1 - 4	1 - 2
65:35 PLGA	40 - 55	./.	3 - 4
75:25 PLGA	40 - 55	./.	4 - 5
85:15 PLGA	40 - 55	2 - 6	5 - 6
PLLA-P4HB	36	./.	< 12
Eisen	210	40	> 12
WE43 (Mg-Legierung)	20 - 230	2 - 20	~ 12
reines Zink (extrudiert)	120	60	./.

In Tabelle 2 sind aktuell verwendete bzw. in der Testung befindliche Stentmaterialien aufgelistet. Neben Polymerstents auf Basis von Polymilchsäure (PLLA) und Polyglykolsäure (PGA) sind auch metallische Materialien weiterhin im Einsatz.

Zurzeit werden in der pädiatrischen kardiovaskulären Chirurgie neben Eisenstents vornehmlich Magnesiumstents auf Basis der WE43 Legierung verwendet. Zu nennen ist hier das Magmaris® „Scaffold“ der Firma Biotronik (Biotronik AG, Bülach, Schweiz); die Magnesiumlegierung ist hier mit einer PLLA Beschichtung versehen, welche mit Sirolimus (Rapamycin) beladen ist [39, 40]. Dieses Produkt ist CE zertifiziert und wurde 2016 zugelassen.

Darüber hinaus befinden sich oberflächenbehandelte Modifikationen der Magnesiumlegierung AZ31 [41] in der Überprüfung.

III. Implantatmaterialien in der orthopädischen Chirurgie

In der orthopädischen Chirurgie ist eine der wesentlichen Anforderungen an Implantatmaterialien die langfristige Haltbarkeit, d. h. der Verschleiß dieser Materialien soll bei guter Biokompatibilität gleichzeitig möglichst gering sein. Die aseptische Prothesenlockerung ist der Hauptgrund für die begrenzte Lebensdauer artifiziereller Gelenkimplantate.

Das eingesetzte Spektrum an Biomaterialien in der Orthopädie ist recht breit. Es reicht von rostfreien Edelstählen (AISI 316-L) über CoCr-Legierungen (Co-28Cr-6Mo, Co-35Ni-20Cr-10Mo), Titan und Titanlegierungen (Ti-6Al-V), verschiedene Polyethylene bis hin zu Keramiken (Al_2O_3 (Korund) und Zirkoniumnitrid (ZrN)).

Die Thematik „Biokompatibilität des Implantatmaterials mit dem Gewebe“ stellt eine große methodische Herausforderung dar. Sie verlangt die Analyse der Interaktion des festen Materials und seiner Degradationsprodukte mit Zellen des umgebenden Gewebes und des Immunsystems. Das vielschichtige Wechselspiel dieser Komponenten in ihrer Gesamtheit, nämlich Akzeptanz oder Abwehr des Implantats, gilt es zu eruieren. Die Abfolge der einzelnen Schritte lässt sich dabei nur in Teilschritten auf der Gewebe- und Zellebene analysieren. Dafür bedient man sich unterschiedlicher Modelle und Biomaterialien sowie deren Abbauprodukte. Die hier gewählten gewebespezifischen sowie zellulären Reaktionen sollen einen Einblick geben, wie sich unterschiedliche Abrieb- und Abbauprodukte etablierter Biomaterialien im Gewebe verhalten. Unterschiedliche gewebe- und zellspezifische Folgereaktionen können ausgelöst werden, die für die Akzeptanz oder den Verlust des Biomaterials verantwortlich sein könnten. Das komplexe Feld zellbiologischer Folgereaktionen auf ein Biomaterial wird von uns an ausgewählten Themen bearbeitet. Sie betreffen Arbeiten:

1. zur Chemokinrezeptorexpression,
2. der Migration von Osteoblasten,
3. ihrer Signaltransduktion und Zytokinexpression,
4. der Kollagenbildung,
5. der Mineralisierung,
6. der Bedeutung der Gewebe Hypoxie für die periprothetische Lockerung.

Die in der Arbeit vorgestellten Parameter stellen nur einen kleinen Ausschnitt dar und können in Zukunft durch weitere Arbeiten vertieft werden. Die bisherigen Resultate unterstreichen schon jetzt die Diversität an Folgereaktionen durch Einsatz von Biomaterialien. Ziel ist es in der Zukunft, durch weitere Untersuchungen die individuelle Akzeptanz von verschiedenen Biomaterialien für unterschiedliche Patientengruppen zu erfassen. Die in dieser Arbeit präsentierten Resultate könnten einen Beitrag dazu liefern.

Die Implantation von artifiziellem Gelenkersatz stellt heute die Standardmethode für die Behandlung einer schweren Osteoarthritis dar. Metall-auf-Metall (M-a-M)-

Artikulationen waren von Ende der 1980 bis Mitte der 1990 Jahre sehr populär. Durch die Verwendung großer Gelenkköpfe erhoffte man sich eine Verringerung des Abriebs im Artikulationsbereich sowie der Dislokationsraten. Dadurch erreichte man längere Standzeiten und damit positive Effekte vor allem für jüngere Patienten.

Hüft- und Knieimplantate sind modular aufgebaut; in *Abbildung 9* ist der prinzipielle Aufbau einer Hüftendoprothese dargestellt. Der Schaft, welcher in den Femurknochen integriert werden soll, kann aus Titan, einer Titanlegierung oder aus einer CoCr-Legierung, in deren Oberfläche Titanfragmente eingearbeitet sind, bestehen Titanwerkstoffe sind zwar vergleichsweise weich, bieten aber eine hervorragende Biokompatibilität, was die Integration des Prothesenschafts in den Knochen fördert (Ossifikation).

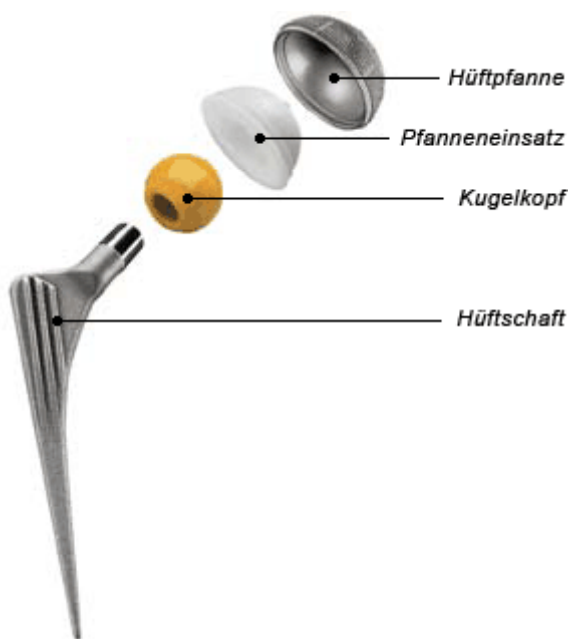


Abbildung 9: Prinzipieller Aufbau einer Hüftendoprothese: (Hüftschaff: CLS, Hüftpfanne: Allofit, Pfanneneinsatz: PE-Durasul (alles Fa. Sulzer, Schweiz); Kugelkopf: Fa. Ceramtech, Plochingen, Deutschland).

Der Kugelkopf wird über den Konnektor, welcher aus einer CoCr-Legierung besteht, mit dem Schaft verbunden. Aktuell verwendete Pfannen bestehen aus Polyethylen oder keramischen Werkstoffen. Diese Pfannen werden meist nicht direkt in die Hüfte eingebracht,

sondern als Pfanneneinsätze in einer Titanpfanne mit poröser Oberfläche appliziert – auch hier dient das Titan der besseren Ossifikation.

Im Laufe der Zeit traten erste Probleme mit M-a-M-Artikulationen auf. Neben erhöhten Metallionenkonzentrationen (Co^{2+} , Cr^{3+}) im Serum [42] wurden adverse Reaktionen beobachtet, die unter dem Begriff ARMD (Adverse Reactions to Metallic Debris) subsumiert werden. Hierzu gehören adverse lokale Gewebeaktionen („Acute Lymphocyte Vasculitis Associated Lesions“, (ALVAL)) und Nekrosen [43-45], Pseudotumore, eine erhöhte Karzinogenität und Teratogenität sowie Metall Hypersensitivitäten, welche zu einer frühen aseptischen Prothesenlockerung führen können [43, 46-58]. M-a-M-Artikulationen wurden seit 2003 in England und Wales bei mehr als 60000 Patienten implantiert. In den USA liegt diese Zahl bereits im Millionenbereich und steigt weiter an [59]. Osteolysen führen zu aseptischer Lockerung von Implantaten und stellen ein fundamentales Problem in der Gelenkersatzchirurgie dar – sie sind die Hauptursache für Revisionen. Ursprünglich wurden Osteolysen im Kontext von Makrophagenreaktionen („foreign body granuloma“) als Folge von Polyethylenabrieb aus Metall-auf-Polyethylen-

Artikulationen beschrieben [60, 61]. Ebenso wurde über frühe Osteolysen und aseptische Lockerungen von M-a-M-Artikulationen berichtet [43]. Osteolysen im Kontext von Metallabriebpartikeln schreiten progredient voran und beinhalten keine „foreign body granuloma“. Das Profil von Prothesenabrieb und der dadurch ausgelösten Gewebereaktionen ist abhängig von der Art der Artikulationspaarung. Bei M-a-M- Artikulationen entstehen neben metallischen Abriebpartikeln entsprechende Korrosionsprodukte, wie Metallionen, Oxide und Hydroxide, Partikel von modularen Interfaces innerhalb des Implantats, sowie organometallische Proteinkomplexe [61]. Die molekularen Mechanismen, die zu einer frühen aseptischen Prothesenlockerung führen, sind noch nicht vollständig aufgeklärt. Es gibt Hinweise, dass inflammatorische Mediatoren wie IL-6, TNF- α und PGE2 in monozytären Zellen des periprothetischen Gewebes im Bereich von gelockerten Implantaten, exprimiert werden [62, 63]. Reaktionen im periprothetischen Gewebe, in denen Osteolysen durch Polyethylenpartikel induziert werden, sowie andere pathologische Veränderungen, wie chronische Entzündungen oder maligne Erkrankungen, werden nicht durch einen spezifischen Stimulus ausgelöst [64]. Der Endpunkt dieser Veränderungen ist die Aktivierung von Osteoklasten und die damit verbundene Knochenresorption [65, 66].

Es wäre daher wünschenswert, spezifische Biomarker zu identifizieren, mit denen „ARMD“ spezifische Gewebereaktionen detektiert werden können, um schon vor der Primärimplantation oder Revisions OP die Verträglichkeit einzelner Biomaterialien zu evaluieren. Es wurden verschiedene molekulare Abläufe und inflammatorische Zytokine beschrieben, die mit Osteolyse und aseptischer Prothesenlockerung in Verbindung stehen. Caicedo et al. berichteten, dass Ionen stärker als partikuläre Abriebpartikel eine monozytär vermittelte Stimulation und Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen hervorrufen. Diese führen dann zu einer Metall-induzierten Lymphozytenreaktivität [67]. Viele pro-inflammatorische Zytokine fördern die Osteoklastogenese, jedoch häufig auch knochenbauende Prozesse [68]. Lin et al. untersuchten die Suppression einer chronischen Entzündung durch Inhibition der NF- κ B Aktivierung. Dieses wäre unter Umständen eine Strategie zur Bekämpfung einer partikelinduzierten Osteolyse [69].

Die CXCR4 / SDF-1 Chemokin Achse ist essentiell für die Aktivierung von Osteoklasten und deren Vorstufen in verschiedenen Krankheitsstufen [70, 71]. Die vorliegenden Arbeiten sind hauptsächlich auf die Wirkung von Metallabrieb (Partikel und Ionen) ausgerichtet – *in vivo* können natürlich in periprothetischen Geweben, je nach Artikulationspaarung, zusätzlich Polyethylen- und Keramikpartikel auftreten. Abrieb-partikel aus verschiedenen Materialien lösen unterschiedliche Gewebereaktionen aus. Metallische Abriebe induzieren Osteolysen durch die Aktivierung von Osteoklasten, wohingegen Polyethylen-induzierte Osteolysen mit dem Auftreten von „foreign body giant cells“ einhergehen. Der Fokus dieser Arbeiten lag auf der Reaktion von Osteoblasten-ähnlichen Zellen auf CoCr-Abrieb; Reaktionen anderer Abriebarten sind jedoch in der Literatur beschrieben [72].

III.1 Materialabrieb und der Einfluss auf die Knochendynamik - CXCR4 als Schlüsselement.

Immunologische Abläufe brauchen für die zelluläre Kommunikation und Effektorleistung unterschiedliche Zellen, eine Vielzahl von Mediatoren und Rezeptoren. Differenzierte Signaltransduktionskaskaden übertragen exogene Signale intrazellulär und führen darüber zu einem „Fine Tuning“ der Antwort im Sinne einer positiven, negativen oder neutralen nicht festgelegten Antwort. Unter den Mediatoren spielen Chemokine eine essentielle Rolle für die immunologisch aktivierte Abwehr sowie im Ablauf der Entzündung. Das Chemokin CXCR4 wurde in periprothetischen Modellen analysiert, um Aufschluss über den Mechanismus sowie Beteiligung des CXCR4 bei der Osteolyse zu erhalten.

III.1.1 Originalarbeit Nr. 7 – Erst-Autor - “Metallic wear debris may regulate CXCR4 expression in vitro and in vivo”

CXCR4 besteht aus 352 Aminosäuren und ist ein membranständiges Rezeptormolekül mit sieben Domänen, einem intrazellulären C-Terminus und einem extrazellulären N-Terminus. Der natürliche Ligand des CXCR4 ist das CXCL12/SDF-1. Die CXCR4/SDF-1 Achse spielt eine zentrale Rolle in osteolytischen Knochenmetastasen, sowie infektiösen und inflammatorischen Abläufen, welche mit Knochenabbau verbunden sind [73-75]. Alle diese Zustände haben einen gemeinsamen Endpunkt – die Aktivierung von Osteoklasten und den Verlust von Knochensubstanz. Die Rolle von CXCR4 im Zusammenhang mit periprothetischen Osteolysen ist bisher nicht hinreichend untersucht. In der vorliegenden Arbeit wurden Osteoblasten-ähnliche Zellen (MG63 und SaOs-2) mit steigenden Konzentrationen (10^4 , 10^5 , 10^6 , 10^7 Partikel/well) von Metallabriebpartikeln [(Co-35Ni-20Cr-10Mo) und (Co-28Cr-6Mo)] sowie Co^{2+} -Ionen in Form von Kobaltchlorid (CoCl_2) stimuliert, um damit Metallabrieb und entsprechende Korrosionsprodukte *in vitro* zu simulieren.

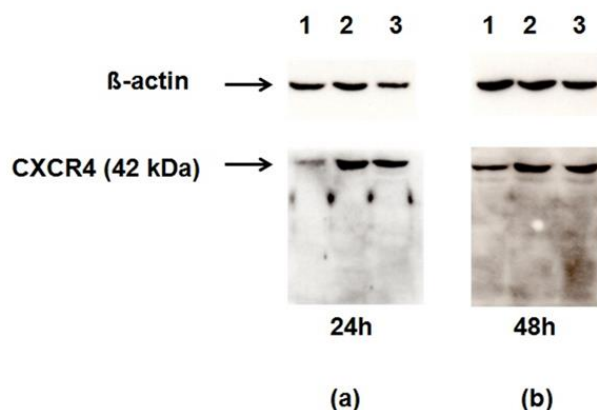


Abbildung 10: Western Blot Analyse; MG63 Zellen wurden mit CoCr-Abriebpartikeln ($10^7/\text{ml}$) für 24 h (a) und für 48 h (b) inkubiert.

Spur 1: unstimulierte Zellen, Spur 2: Zellen stimuliert mit Co-35Ni-20Cr-10Mo, Spur 3: Zellen stimuliert mit Co-28Cr-8Mo.

Die Bestimmung der CXCR4 Expression erfolgte auf mRNA Ebene mittels quantitativer TaqMan™ Real-Time PCR und auf Proteinebene mittels Western Blot (Abbildung 10).

Darüber hinaus wurde ebenfalls auf mRNA Ebene die Expression von TNF- α sowie die Effekte des CXCR4 Antagonisten AMD3100 [76] in beiden Zelllinien (MG63 und SaOs-2) nach Stimulation mit beiden Abriebpartikelproben untersucht. Die Proteinanalyse zeigte eine zeit- und dosisabhängige Zunahme der Expression. Die Blockade von CXCR4 durch den kompetitiven Antagonisten AMD3100 führte zu einer signifikanten Inhibierung der TNF- α Expression auf mRNA Ebene. Die Partikel-induzierte CXCR4 Expression zeigte einen dosis- und zeitabhängigen Zusammenhang im Unterschied zur Co²⁺-Ionen induzierte CXCR4 Expression. Mögliche Quellen für ionisches Kobalt sind die Artikulationsflächen (M-a-M) von Implantaten, Metall-auf-Metall Konnektorverbindungen oder die zelluläre Zersetzung von aufgenommenen Metallpartikeln (intrazelluläre Korrosion). Weitere Untersuchungen sind notwendig, um den initialen Stimulus der CXCR4 Expression – CoCr-Partikel oder entsprechende Ionen / Korrosionsprodukte zu identifizieren.

Die Aufregulation von CXCR4 wurde ebenfalls *in vivo*, d. h. in periprothetischen Gewebeproben durch immunhistochemische Analysen von revidierten Metall-auf-Metall Artikulationen bei radiologisch nachgewiesener Osteolyse von uns festgestellt, nicht jedoch bei Keramik-auf-Polyethylen Artikulationen.

Die Daten können wie folgt zusammengefasst werden:

- Die CXCR4 Genexpression wird durch Metallabriebpartikel und Co²⁺-Ionen dosis-abhängig in MG63 und SaOs-2 Zellen induziert.
- AMD3100 inhibiert partiell die durch Metallpartikel induzierte Expression von TNF- α .
- CXCR4 wird *in vivo* in periprothetischen Geweben von Metall-auf-Metall Artikulationen nicht aber in Geweben von Keramik-auf-Polyethylen Artikulationen exprimiert.

Da die CXCR4 / SDF-1 Achse in die periprothetische Lockerung, Osteolyse und den Knochensubstanzverlust involviert ist, haben diese Resultate eine potentielle translationale Bedeutung für die klinisch-orthopädische Praxis; CXCR4 könnte ein potentieller Biomarker für die frühe periprothetische Antwort auf Metallabrieb sein; hierdurch ließe sich „ARMD“ von „low grade“ Infektionen unterscheiden. CXCR4 kann als mögliches therapeutisches Target verwendet werden, um frühe Osteolyseprozesse zu verhindern. In künftigen Arbeiten wird man eruieren, wie ein Wirkstoff beschaffen sein muss, um Osteolysen zu verhindern.

III.2 Zellbiologische Abläufe und Signaltransduktion bei der Osteolyse

Im Rahmen von Osteolyse und aseptischer Prothesenlockerung wurden bislang verschiedene molekulare Signaltransduktionsschritte und inflammatorische Zytokine beschrieben [63-66]. Bekannterweise sind Ionen, mehr als partikulärer Metall-Abrieb, für die Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und damit für die Metall-induzierte Lymphozyten-Reaktivität verantwortlich [67].

III.2.1 Originalarbeit Nr. 8 – Erst-Autor - „The induction of CXCR4 expression in human osteoblast-like cells (MG63) by CoCr particles is regulated by the PLC-DAG-PKC pathway”

In der vorhergehenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass der Chemokinrezeptor CXCR4 eine wichtige Rolle bei der periprothetischen Osteolyse spielt. Ziel dieser Arbeit war einen Einblick in mögliche Signaltransduktionswege zu erhalten. Die Expression von CXCR4 kann durch verschiedene Signalwege aktiviert werden (Abbildung 11); dazu gehören der PLC-DAG-PKC und der MAPK / ERK Signalweg. Der PKC Signalweg ist ein wichtiger intrazellulärer Signalweg, welcher eine Vielzahl biologischer Prozesse auslöst. Die Proteinkinase C (PKC) reguliert Zellmetabolismus, Zellwachstum / Proliferation, Differenzierung, Apoptose und Zellmigration durch katalytische Phosphorylierung von Proteinen, welche Serin oder Threonin enthalten [77]. Die PKC gehört zu einer Gruppe von Serin / Threonin Protein Kinasen, die aus drei Unterfamilien bestehen. Die Exposition von Osteoblasten mit Metallpartikeln führt zu einem Anstieg der PKC Expression [78].

Der MAPK Signalweg spielt eine Schlüsselrolle in frühen Stadien der Osteoblastendifferenzierung. MAPK's bilden eine Klasse von Serin / Threonin Protein Kinasen. Der ERK Signalweg gehört zu den MAPK Signalwegen; ERK1 und ERK2 sind Coenzyme; ERK1/2 wirken auf die Genexpression und regulieren die Zellproliferation und Differenzierung. PD98059 ist ein potenter und selektiver Inhibitor von MAPK (MAPK / ERK Kinase oder MEK Kinase).

In dieser Arbeit wurde der Frage nachgegangen, über welchen Signaltransduktionsweg (PLC-DAG-PKC oder MAPK / ERK) die Expression von CXCR4 in Osteoblasten-ähnlichen Zellen (MG63) durch CoCr-Partikel induziert wird.

MG63 Zellen wurden daher mit verschiedenen Dosen (10^5 , 10^6 , 10^7 Partikel/well) CoCr-Abriebpartikeln (Co-28Cr-6Mo) über unterschiedliche Zeiten (30 min – 24 h) in An- und Abwesenheit spezifischer Inhibitoren inkubiert. Für den PLC-DAG-PKC Signalweg wurde das Benzophenanthridin Alkaloid Chelerythrine verwendet [78] und für den MAP / ERK Signalweg die Substanz PD98059. Die Expression von CXCR4 spezifischer mRNA wurde mittels quantitativer Real-Time PCR detektiert. Darüber wurde die Aktivität von PKC im Western Blot mit einem spezifischen Antikörper für die PKC „vermittelte“ Phosphorylierung nachgewiesen.

Die Daten belegen folgendes: die durch CoCr-Abriebpartikel induzierte CXCR4 Expression wurde durch den PKC-spezifischen Inhibitor Chelerythrine signifikant vermindert. Dieser Effekt wurde mit dem MAPK / ERK Inhibitor PD98059 nicht beobachtet. Die Rolle der PKC für die CXCR4 Expression konnte ebenfalls durch ein Phosphorylierungsmuster nach Stimulation mit CoCr-Partikeln festgestellt werden.

Diese Arbeit ergab einen Einblick in eine Signaltransduktionskaskade, über die CXCR4 aktiviert werden kann. Weitere Forschung ist notwendig, um zu klären, ob andere Biomaterialien CXCR4 über denselben oder andere Signaltransduktionswege induzieren.

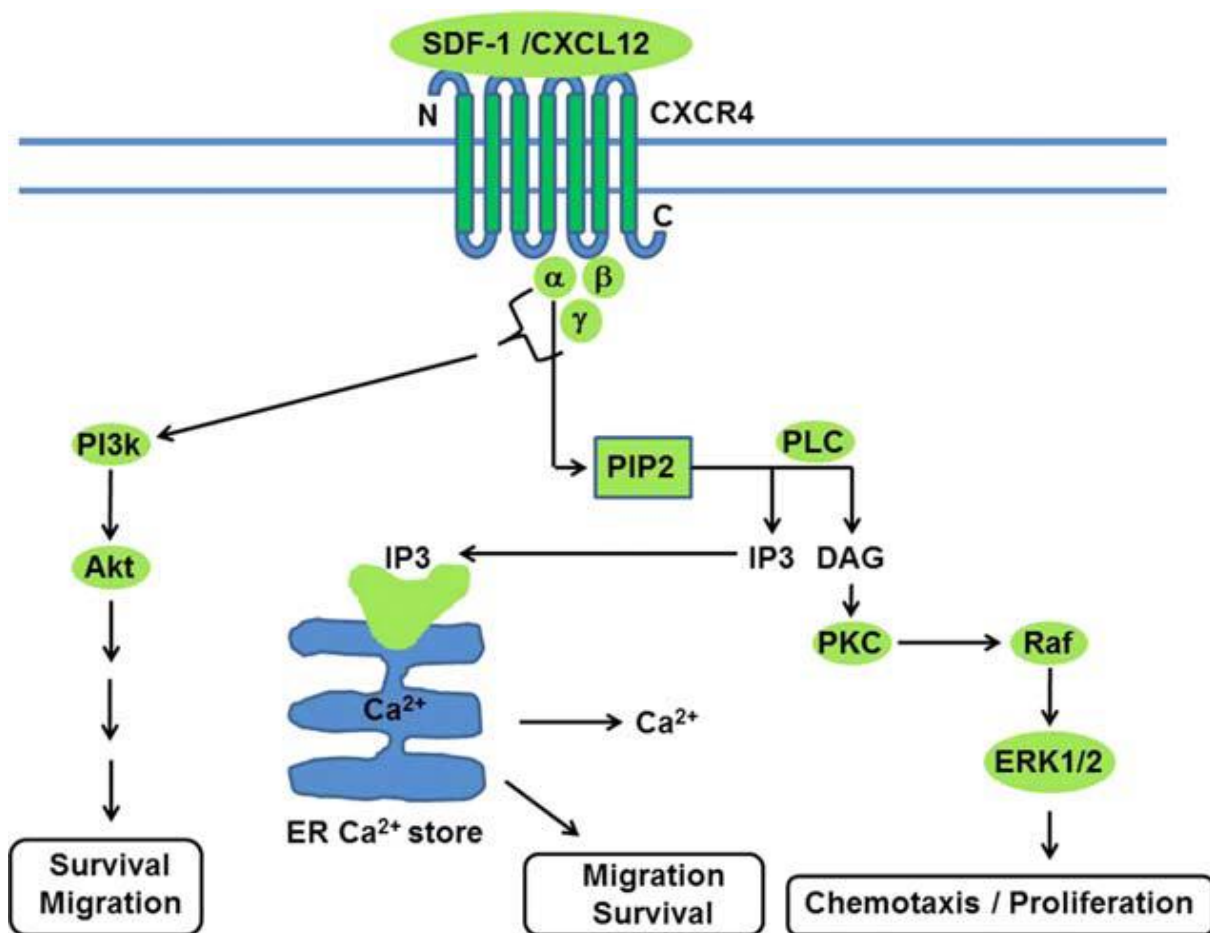


Abbildung 11: Mögliche Signaltransduktionswege, induziert durch die CXCR4 / SDF-1 Achse.

III.3 Einfluss von Kobalt- und Chrom-Ionen auf Zytokine und zellspezifische Antworten

Die Knochenhomöostase, d. h. die Balance zwischen Knochenneubildung und Knochenresorption wird durch verschiedene Einflüsse wie Hormone, Entzündung, mechanischen Stress sowie externe Stimuli beeinflusst. Der Transforming Growth Factor–beta (TGF- β), der beim Menschen in drei Isoformen vorkommt, ist wesentlich an der Aufrechterhaltung und Kontrolle dieses Gleichgewichtes beteiligt. So reguliert er die Osteoblasten- und Osteoklastenreifung, ihre Entwicklung und Funktion.

III.3.1 Originalarbeit Nr. 9 – Erst-Autor - „The effects of cobalt and chromium ions on TGF- β patterns and mineralization in human osteoblast-like MG63 and SaOs-2 cells”

Bei künstlichem Gelenkersatz kann die Freisetzung von Abriebpartikeln, bzw. entsprechender Korrosionsprodukte lokale Effekte im periprothetischen Gewebe hervorrufen und somit die Ausprägung von knochenspezifischen Genen und Funktionen modulieren. Aus diesem Grund wurde der Einfluss von Co^{2+} - und Cr^{3+} -Ionen (abgeleitet von CoCr-Partikeln) auf die Expression aller drei TGF- β Isoformen in humanen Osteoblasten-ähnlichen Zellen (MG63 und SaOs-2) untersucht, sowie deren Einfluss auf die Mineralisierung der Zelllinien bestimmt. Die Osteosarkom Zelllinien MG63 und SaOs-2 exprimierten alle drei TGF- β Isoformen, wobei sich TGF- β 1 als die am stärksten vorkommende Isoform herausstellte. Die Expression von TGF- β ging nicht mit einer Beeinträchtigung der Zellviabilität auch nicht bei hohen Konzentrationen einher. Weiterhin wurde eine dosisabhängige Reduktion aller drei Isoformen durch Co^{2+} -Ionen festgestellt; hier trat der stärkste Effekt beim TGF- β 2 auf; dieser Effekt war in SaOs-2 Zellen schwächer ausgeprägt. Cr^{3+} -Ionen hatten keine signifikanten Auswirkungen auf die Expression aller drei TGF- β Isoformen. Der Mechanismus durch den Cr^{3+} -Ionen in die Zelle gelangen, ist noch nicht geklärt. Aktive Transportmoleküle sind bisher nicht beschrieben. Es wurde gezeigt, dass Cr^{3+} -Ionen an Serumproteine wie Albumin und Transferrin binden und dass die Aufnahme in die Zellen einer langen Exposition bedarf. In den Analysen zur Genexpression wurden spätere Zeitpunkte über 24 h hinaus nicht berücksichtigt. Die Ergebnisse für TGF- β 1 konnten auch auf der Proteinebene bestätigt werden.

MG63 und SaOs-2 Zellen sind Osteoblasten-ähnliche Zellen in verschiedenen Stadien der Differenzierung; MG63 Zellen sind in einem frühen Stadium, wohingegen SaOs-2 Zellen sich in einem späteren Stadium, mit beginnender Matrix-Mineralisierung befinden. Hinsichtlich der Mineralisierung konnte für Co^{2+} -Ionen in einem Konzentrationsbereich von 50 – 250 μM kein Einfluss auf die Osteosarkomzellen beobachtet werden. Im Gegensatz dazu inhibierten Cr^{3+} -Ionen, die Mineralisierung dosis-abhängig mit starken Effekten schon bei 50 μM (*Abbildung 12*). In Zellkulturexperimenten mit Cr^{3+} -Ionen unter Mineralisierungsbedingungen (in Gegenwart einer Phosphatquelle) wurden starke Präzipitationseffekte beobachtet.

Die Chemie von Cr^{3+} ist komplex, da Cr^{3+} -Ionen Hydratationskomplexe bilden. Präzipitate in zellfreiem Medium hervorgerufen durch gelöstes Cr^{3+} (CrCl_3) und Phosphat (PBS) zeigen, dass es sich bei den beobachteten Präzipitaten in den Zellkulturexperimenten um unlösliches Cr(III)Phosphat (CrPO_4) handeln könnte, allerdings zeigten ICP-OES Messungen eine Reduktion von Cr^{3+} -Ionen um nur ca. 20 %. Ob die inhibitorischen Effekte von Cr^{3+} -Ionen auf die Mineralisierung durch Cr^{3+} -Ionen oder durch CrPO_4 Präzipitate hervorgerufen werden, muss in weiteren Untersuchungen geklärt werden. Das Wegfangen von Phosphat durch Cr^{3+} -Ionen, das bei der Knochenbildung essentiell ist, kann die inhibitorischen Effekte erklären; obwohl durch das große Überangebot von Phosphat die Stärke des Effekts nicht erklärt werden kann. Messungen der Cr^{3+} -Ionenkonzentration in Zellkulturüberständen nach drei Tagen Inkubationszeit ließen keine Abnahme der ursprünglich zugesetzten Mengen erkennen.

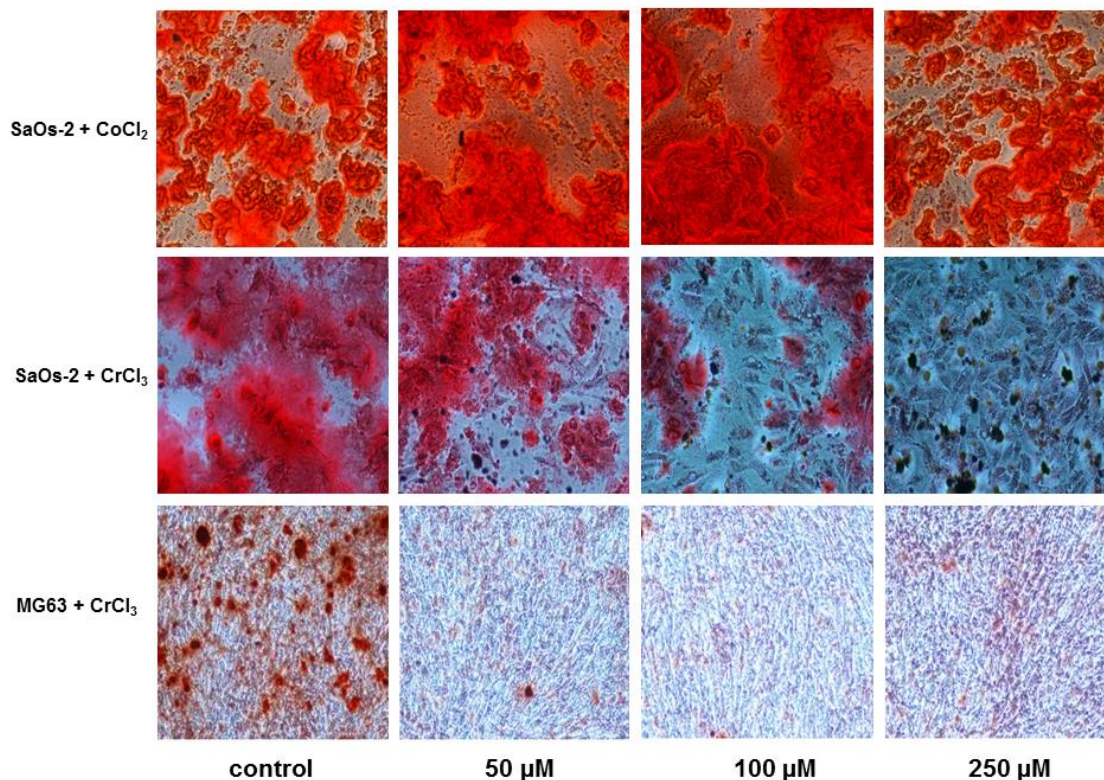


Abbildung 12: Effekte von CoCl_2 und CrCl_3 auf die Mineralisierung von Osteoblasten-ähnlichen Zellen (Alizarin Rot Färbung). Obere Reihe: SaOs-2 Zellen nach 14 Tagen Stimulation mit CoCl_2 , mittlere Reihe: SaOs-2 Zellen nach 14 Tagen Stimulation mit CrCl_3 , untere Reihe: MG63 Zellen nach 5 Wochen Stimulation mit CrCl_3

Die Resultate belegen, dass bivalente Co^{2+} - und trivalente Cr^{3+} -Ionen unterschiedliche Effekte auf Osteoblasten-ähnliche Zellen haben. Der Einfluss von Co^{2+} -Ionen auf die Knochenhomöostase ist partiell auf die inhibitorischen Effekte hinsichtlich der Transkription der Knochenstoffwechsel regulierenden Zytokine TGF- β 1-3 zurückzuführen. Im Unterschied dazu beeinflussen Cr^{3+} -Ionen den Mineralisierungsprozess.

III.3.2 Originalarbeit Nr. 10 – Erst-Autor - “Differential Effect of Cobalt and Chromium Ions as Well as CoCr Particles on the Expression of Osteogenic Markers and Osteoblast Function”

Die Behandlung von Knochenzellen mit Abriebpartikeln oder Metallionen aus Implantatmaterial führt zu einer Inhibierung der Osteoblastenreifung und gleichzeitig zu einer Aktivierung von Osteoklasten, die im Ergebnis zu Osteolysen führen kann [79]. Wie die Resultate in der vorhergehenden Arbeit zeigen, beeinträchtigen Co^{2+} -Ionen die Funktion von Osteoblasten bezüglich der Mineralisierung und die Expression für die Knochenhomöostase wichtiger Zytokine (hier TGF- β).

Partikeln auf die Genexpression, die Migration und die Proliferation Osteoblasten-ähnlicher Zellen untersucht. Die Untersuchung des Expressionsprofils erfolgte mit dem „low density“ PCR Arrays (RT² Human osteogenic PCR Profiler Array), mit dem die simultane Untersuchung von 84 Genen der Osteogenese möglich ist. Die Resultate zeigten, dass die Expression der drei TGF- β Isoformen, verschiedener Faktoren der TGF- β Signalkaskade, weiterer Faktoren aus der TGF- β Superfamilie („Bone Morphogenic“ Proteine BMP4 und BMP5) sowie verschiedener, durch TGF- β regulierter Kollagene, durch Co^{2+} -Ionen herunterreguliert wird und bestätigen damit frühere Ergebnisse zur Regulation von TGF- β durch CoCl_2 .

Eine wichtige Funktion für die Knochenhomöostase spielt die zelluläre Migration. Während der Morphogenese und Wundheilung migrieren Zellen im Verband, welcher durch leichte Zell-Zell-Wechselwirkungen zusammengehalten wird, ein Prozess, den man als kollektive Migration bezeichnet. Die Zellen bewegen sich mehrheitlich nicht individuell, sondern in zusammenhängenden Gruppen, blätter- und fadenförmigen Strukturen. Eine multizelluläre Struktur befähigt die Zellen, besser auf chemische und physikalische Stimuli zu reagieren [80]. Diese Fähigkeit wurde in Osteoblasten-ähnlichen Zellen in einem Migrationsassay geprüft. Hierbei wird ein „Silikon-Insert“ mit zwei Kavitäten in eine Zellkulturplatte gesetzt. Nach Zugabe entsprechender Zellsuspensionen und Adhärenz entstehen zwei konfluente Zellrasen, die durch einen Spalt („gap“) definierter Größe (Abstand der Kavitäten im Insert) voneinander getrennt sind.

Die Migrationsexperimente zeigten, dass CoCl_2 (250 μM) die Migration der Osteosarkomzellen vermindert, während Cr^{3+} -Ionen bei derselben Konzentration zu einer signifikanten Beschleunigung führt (*Abbildung 13*). Dies könnte durch Veränderungen in der Proliferation oder der metabolischen Aktivität durch die Metallionen begründet sein, allerdings konnte schon früher gezeigt werden, dass die metabolische Aktivität nur geringfügig durch Co^{2+} -Ionen erhöht, bzw. durch Cr^{3+} -Ionen nicht beeinflusst wird. Metabolische Aktivität kann nicht mit Proliferation gleichgesetzt werden. Die Proliferationsaktivität von MG63 und SaOs-2 Zellen wurde nach 48 h durch die Bestimmung der DNA Replikation (BrdU Assays) bestimmt und es konnte kein Einfluss von Co^{2+} - und Cr^{3+} -Ionen beobachtet werden. Die verminderte Expression verschiedener extrazellulärer Matrixmoleküle, z. B. Kollagene und

Biglycan durch die Behandlung der Zellen mit CoCl_2 könnte die reduzierte Migrationsaktivität erklären. Die beobachtete Herunterregulation der Genexpression für verschiedene Kollagene (Kollagen 1, 3, 14 und 15) steht im Einklang mit der Beobachtung, dass die Produktion von Gesamtkollagen (Sirius Red Färbung in der Zellkultur) durch CoCl_2 signifikant reduziert war.

Die vorliegende Arbeit erlaubt einen tieferen Einblick in die Mechanismen, durch die Co^{2+} - / Cr^{3+} -Ionen die Funktion der knochenbauenden Zellen modulieren und damit die Knochenhomöostase beeinflussen.

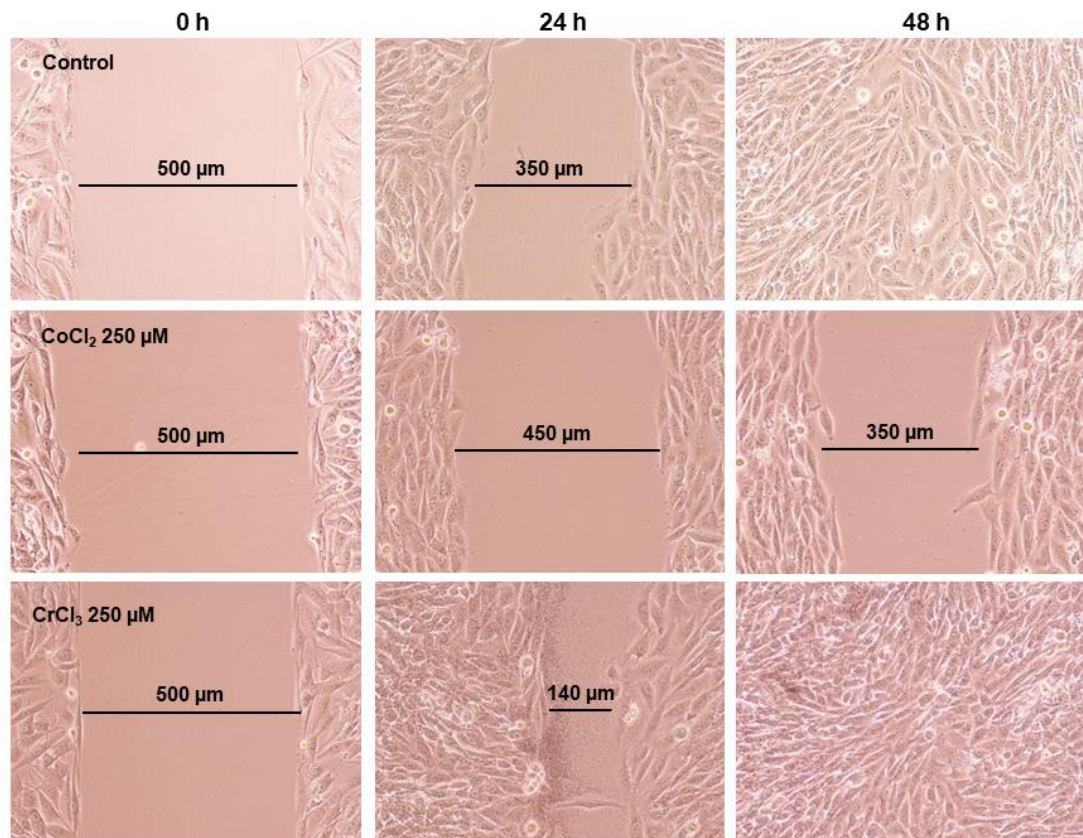


Abbildung 13: Effekte von CoCl_2 und CrCl_3 (jeweils $250 \mu\text{M}$) auf die Migration von MG63 Zellen (Migrationsassay, ibidi®) Die Messung erfolgte zu Beginn (0 h) und dann nach 24- und 48 h. Die Abbildung ist repräsentativ für MG63 Zellen.

III.4 Einfluss der Hypoxie auf die Prothesenlockerung – Rolle von HIF-1 α

Der Transkriptionsfaktor HIF-1 ("Hypoxia Inducible Factor-1") gehört zur Familie der durch Hypoxie induzierbaren Faktoren, welche die Adaptation des Gewebes an hypoxische Bedingungen regulieren. HIF-1 besteht aus einer stark regulierten α -Untereinheit und einer konstitutiv exprimierten β -Untereinheit. Unter normoxischen Bedingungen wird durch Hydroxylierung der α -Untereinheit die Aktivität dieses Transkriptionsfaktors inhibiert. Unter hypoxischen Bedingungen transloziert das Dimer in den Nukleus [81]. HIF-1 aktiviert die Expression einer Reihe von Genen, welche u. a. den Glukosestoffwechsel, die Zellproliferation, die Migration und besonders die Angiogenese durch VEGF und EPO regulieren [82].

III.4.1 Originalarbeit Nr. 11 – Co-Autor - "Periprosthetic hypoxia as consequence of TRPM7 mediated cobalt influx in osteoblasts"

Da bekannt war, dass CoCl_2 das HIF-1 α Signaling *in vitro* induziert [83] lag es nahe, den Einfluss von HIF-1 α im Kontext der aseptischen Prothesenlockerung zu untersuchen.

Die Gründe für die hohe Zahl an aseptischen Prothesenlockerungen mit Metall-auf-Metall-Artikulationen sind nicht vollständig aufgeklärt. HIF-1 beeinflusste Signalwege, welche normalerweise den Gewebestoffwechsel unter Hypoxiebedingungen modulieren, können durch Metallabrieb bzw. entsprechende Korrosionsprodukte aktiviert werden. Diese beeinflussen dann den Knochenmetabolismus hin zur Osteolyse, was zu einer frühen aseptischen Prothesenlockerung führen kann.

Immunhistochemische Untersuchungen an periprothetischen Geweben von revisionspflichtigen Hüftimplantaten zeigten, dass die Konzentration von HIF-1 α in den Geweben von Metall-auf-Metall Artikulationen im Vergleich zu Metall-auf-Polyethylen-Artikulationen oder osteoarthritischen Geweben höher waren (*Abbildung 14*).

Deshalb wurden die Mechanismen zur Aufnahme von Co^{2+} und der Einfluss der Co^{2+} Aufnahme auf die HIF-1 α Stabilisierung untersucht. Calcium Imaging Experimente zeigten einen konzentrationsabhängigen Einstrom von Co^{2+} -Ionen in osteoblasten-ähnliche MG63 Zellen; dieser Einstrom konnte durch den unspezifischen TRPM7 Inhibitor 2-APB sowie durch TRPM7 spezifische siRNA inhibiert werden. Beim TRPM7 („transient receptor potential cation channel subfamily M, member 7“) handelt es sich um einen Ionenkanal, der den kapazitiven Calcium Einstrom in die Zelle reguliert [84]. Western Blot Experimente zeigten eine dosis-abhängige Aufregulation von HIF-1 α nach Stimulation mit Co^{2+} -Ionen. Somit belegt die Arbeit, dass chemisch induzierte Hypoxie, gemessen an der Aufregulation von HIF-1 α innerhalb von periprothetischem Gewebe mit kobalthaltigem Metallabrieb zusammenhängt. TRPM7 spielt in diesem Zusammenhang eine wichtige regulatorische Rolle. Diese Resultate unterstreichen die Bedeutung der gewebespezifischen Hypoxie für den Ablauf der Osteolyse.

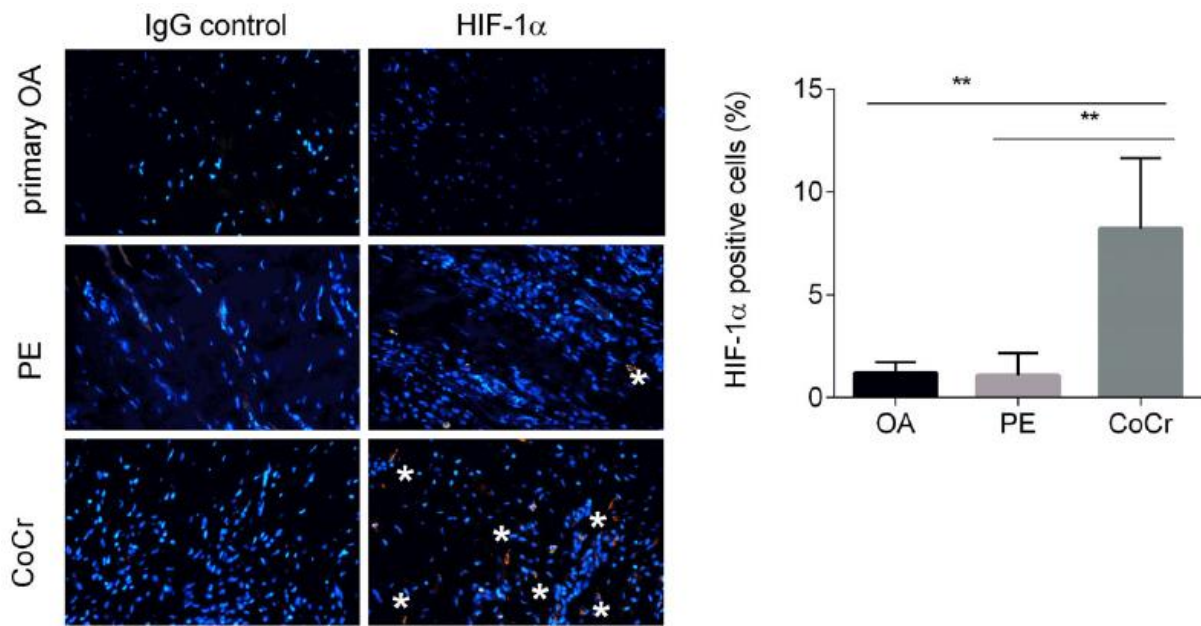


Abbildung 14: links: Immunhistochemische Färbung (Alexa 555) von HIF-1 α in periprothetischen Geweben von revisionspflichtigen Metall-auf-Metall Artikulationen mit sichtbarem CoCr-Abrieb, revisionspflichtigen Metall-auf-Polyethylen Artikulationen im Vergleich zu osteoarthritischem Gewebe (OA). HIF-1 α Spots sind mit * markiert – rechts: entsprechende statistische Auswertung mittels ImageJ.

III.5 Zusammenfassung: Betrachtungen zu Implantatmaterialien in der orthopädischen Chirurgie

CoCr-Abriebpartikel bzw. entsprechende ionische Korrosionsprodukte stellen ein großes Problem in der orthopädischen Chirurgie dar. Revisionspflichtige M-a-M-Artikulationen werden nicht mehr durch identische Artikulationen ersetzt, sondern durch Metall-auf-Polyethylen, Keramik-auf-Polyethylen oder Keramik-auf-Keramik Artikulationen. Dennoch sind CoCr-Komponenten in Implantationsdesigns nach wie vor präsent, vor allem bei Konnektorverbindungen (Prothesenschaft mit Kugelkopf). In diesem Bereich kommt es auf die Härte und die Passgenauigkeit der verwendeten Materialien an, da Mikrobewegungen im Bereich von Konnektor und Kugel zwangsläufig zu Abrieb führen. Dieser kann dann in den Artikulationsbereich gelangen, wodurch weiterer Abrieb erzeugt wird. Darüber wird im Augenblick intensiv geforscht und Projekte zu Oberflächenbeschichtungen von Artikulationskomponenten stehen im Vordergrund [85].

Neben CoCr-Abriebpartikeln spielt der Abrieb von Polyethylen- und mittlerweile auch keramischen Materialien eine wichtige Rolle. Keramische Abriebpartikel führen im Gegensatz zu CoCr-Abrieb nicht zu relativ schnellen Veränderungen im periprotetischen Gewebe, die mit dem Begriff „ARMD“ beschrieben werden; stattdessen kommt es zu chronischen fibrotischen Umbauprozessen in den entsprechenden Geweben [86, 87].

Ein weiteres Problem orthopädischer Implantate sind „low grade“ Infektionen, die Besiedlung von Implantatoberflächen mit Bakterien (*S. aureus*, *S. epidermidis*) und die damit verbundene Entstehung von Biofilmen. Auch hier wird im Hinblick auf eventuelle Biomarker intensiv gearbeitet. Der Komplementfaktor C9 könnte hier von Bedeutung sein [88].

Erstrebenswert wäre also, anhand von Biomarkern die Kompatibilität einzusetzender Materialien im Voraus zu bestimmen, d. h. eine personalisierte Behandlungsstrategie vorzunehmen. Dies klingt zurzeit futuristisch. Sie könnte aber in absehbarer Zeit möglich werden. Intensive Forschungsarbeiten widmen sich diesen Problemen.

IV. Zusammenfassung – Ausblick und kritische Betrachtungen

Sowohl transiente als auch permanente Biomaterialien werden für eine Vielzahl von Anwendungen in der modernen Medizin eingesetzt. Bei transienten Implantaten ist Biodegradation wünschenswert, insbesondere für den Einsatz von Stents in der pädiatrischen Kardiologie. In der Orthopädie hingegen sind Implantatmaterialien mit geringer Korrosionsneigung und hoher Abriebfestigkeit für Gelenkersatz erforderlich.

Aufgrund des geringen Gewichts / geringer Masse von Eisen- und Magnesiumstents und der Tatsache, dass beide Elemente essentiell / ubiquitär im Organismus vorkommen sind systemische Effekte durch den korrosiven Abbau unwahrscheinlich. Bei orthopädischen Implantaten ist die Masse um mehrere Zehnerpotenzen höher als bei kardiovaskulären Implantaten, wodurch es zu systemischen Effekten kommen kann. Das manifestiert sich vor allem durch erhöhte Serumspiegel von Co- und Cr-Ionen bei entsprechenden revisionspflichtigen Patienten.

Limitationen von *in vitro* Experimenten

Die *in vitro* Experimente stellen abgeschlossene Systeme dar, in denen einzelne Zelltypen in einem kleinen Volumen Zellkulturmedium untersucht werden. Diese artifiziellen Bedingungen können nicht 1:1 mit der komplexen Situation eines multizellulären und multiphasischen *in vivo* Systems verglichen werden.

Die Verwendung der Osteoblasten-ähnlichen Zelllinien MG63 und SaOs-2 stellen einen limitierenden Faktor der *in vitro* Zellkulturexperimente dar. Beide Zelllinien beinhalten einen Tumoranteil und exprimieren nicht alle phänotypischen Marker wie primäre Osteoblasten. Gleichwohl ähneln MG63 und SaOs-2 Zellen in einer Vielzahl von Eigenschaften primären Osteoblasten und sind daher ein gut charakterisiertes und etabliertes *in vitro* Zellkulturmodell [89]. Ein großer Vorteil von Osteoblasten-ähnlichen Zellen ist, dass sie leicht kultivierbar sind und über viele Passagen ihre Eigenschaften nicht verändern, im Gegensatz zu primären Osteoblasten mit großen intraindividuellen Unterschieden.

Der Fokus in der Implantatentwicklung, z. B. im pädiatrisch kardiologischen Bereich, wird sich in Zukunft auf die individuellen Bedürfnisse des jeweiligen Patienten ausrichten, d. h. unterschiedliche Implantatdesigns und unterschiedliche Implantatmaterialien für verschiedene Patienten. Hier ist vor allem die Materialverträglichkeit im Zusammenhang mit einer individuellen genetisch determinierten Prädisposition gegenüber bestimmten Materialien von Bedeutung. Da es das ideale Implantat nicht gibt, werden immer auch Strategien notwendig sein, um adverse Effekte zu erkennen und nach Möglichkeit zu minimieren. Hierzu gehören im pädiatrisch kardiologischen Bereich neue Beschichtungsarten, um die Korrosionskinetik eines biodegradierbaren Stents möglichst an die individuellen Notwendigkeiten anzupassen, und / oder die Implementierung von Wirkstoffdepots („drug-eluting“ stents), um Restenosen durch eine übermäßige Neointimaproliferation zu unterbinden.

Im orthopädischen Bereich geht die Entwicklung in Richtung „smarter“ Oberflächen und der Biosensorik. Implantatoberflächen der Zukunft können Sensoren enthalten, um metallische Abriebpartikel schon im Anfangsstadium zu detektieren. Weiterhin können auch bakterielle Kolonisierungen durch entsprechende Sensoren detektiert werden und durch Antibiotika, freigesetzt aus Depots („drug-eluting surfaces“), eliminiert werden. Weiterhin können Osteolysen durch die Detektion entsprechender Zytokine im periprothetischen Gewebe durch ein sensoriertes Implantat schneller erkannt werden;

Die aufgeführten Arbeiten zeigen eindeutig: die Forschung zu den o. g. Themen ist im Fluss und hochaktuell. Sie bedarf zur Weiterentwicklung und Verfügbarkeit für den Patienten interdisziplinärer Anstrengungen in verschiedenen Projektbereichen, dazu gehören Materialkunde, Biomechanik und detaillierte Kenntnisse zu zellbiologischen Abläufen von Gewebereaktionen auf Biomaterialien. Weitere innovative Ansätze sind daher in Zukunft erforderlich.

Mit Blick auf die Einleitung dieser Arbeit stellt sich die Frage, ob wir nicht vor einem erneuten Paradigmenwechsel stehen? Hin zu einer personalisierten Medizin, die genetische Prädispositionen erkennt und damit verbundenen Material-Verträglichkeiten / Unverträglichkeiten berücksichtigt wodurch dem Patienten individuelle Therapieoptionen angeboten werden können. Dies gilt sowohl für degradierbare als auch für permanente Implantate. Sensorierte Implantate könnten eine Vielzahl von Umgebungsparametern erfassen und somit die Möglichkeit eröffnen adverse Effekte an der Grenzfläche Implantat / Gewebe frühzeitig zu erkennen und somit effektive Interventionsstrategien zu ermöglichen.

V. Literatur

- [1] J. Black, Biological performance of materials: Fundamentals of Biocompatibility. , 4th ed. ed., CRC Press, Boca Raton, 2006.
- [2] J. Park, R. Lakes, Biomaterials, An Introduction, 3rd ed., Springer Science+Business Media, LLC, New York, 2007.
- [3] S.A. Qureshi, S. Sivasankaran, Role of stents in congenital heart disease, *Expert Rev Cardiovasc Ther* 3(2) (2005) 261-9.
- [4] T.R. Welch, A.W. Nugent, S.R. Veeram Reddy, Biodegradable Stents for Congenital Heart Disease, *Interv Cardiol Clin* 8(1) (2019) 81-94.
- [5] C. Simon, J.C. Palmaz, E.A. Sprague, Influence of topography on endothelialization of stents: clues for new designs, *J Long Term Eff Med Implants* 10(1-2) (2000) 143-51.
- [6] R.U. Garcia, S.B. Peddy, Heart Disease in Children, *Prim Care* 45(1) (2018) 143-154.
- [7] P. Zartner, R. Cesnjevar, H. Singer, M. Weyand, First successful implantation of a biodegradable metal stent into the left pulmonary artery of a preterm baby, *Catheter Cardiovasc Interv* 66(4) (2005) 590-4.
- [8] P. Zartner, M. Buettner, H. Singer, M. Sigler, First biodegradable metal stent in a child with congenital heart disease: evaluation of macro and histopathology, *Catheter Cardiovasc Interv* 69(3) (2007) 443-6.
- [9] D. Schranz, P. Zartner, I. Michel-Behnke, H. Akinturk, Bioabsorbable metal stents for percutaneous treatment of critical recoarctation of the aorta in a newborn, *Catheter Cardiovasc Interv* 67(5) (2006) 671-3.
- [10] C.J. McMahon, P. Oslizlok, K.P. Walsh, Early restenosis following biodegradable stent implantation in an aortopulmonary collateral of a patient with pulmonary atresia and hypoplastic pulmonary arteries, *Catheter Cardiovasc Interv* 69(5) (2007) 735-8.
- [11] Y. Onuma, P.W. Serruys, Bioresorbable scaffold: the advent of a new era in percutaneous coronary and peripheral revascularization?, *Circulation* 123(7) (2011) 779-97.
- [12] P.W. Serruys, Y. Onuma, D. Dudek, P.C. Smits, J. Koolen, B. Chevalier, B. de Bruyne, L. Thuesen, D. McClean, R.J. van Geuns, S. Windecker, R. Whitbourn, I. Meredith, C. Dorange, S. Veldhof, K.M. Hebert, K. Sudhir, H.M. Garcia-Garcia, J.A. Ormiston, Evaluation of the second generation of a bioresorbable everolimus-eluting vascular scaffold for the treatment of de novo coronary artery stenosis: 12-month clinical and imaging outcomes, *J Am Coll Cardiol* 58(15) (2011) 1578-88.
- [13] M. Haude, R. Erbel, P. Erne, S. Verheye, H. Degen, D. Bose, P. Vermeersch, I. Wijnbergen, N. Weissman, F. Prati, R. Waksman, J. Koolen, Safety and performance of the drug-eluting absorbable metal scaffold (DREAMS) in patients with de-novo coronary lesions: 12 month results of the prospective, multicentre, first-in-man BIOSOLVE-I trial, *Lancet* 381(9869) (2013) 836-44.
- [14] M. Peuster, C. Hesse, T. Schloo, C. Fink, P. Beerbaum, C. von Schnakenburg, Long-term biocompatibility of a corrodible peripheral iron stent in the porcine descending aorta, *Biomaterials* 27(28) (2006) 4955-62.
- [15] R. Waksman, R. Pakala, R. Baffour, R. Seabron, D. Hellinga, F.O. Tio, Short-term effects of biocorrodible iron stents in porcine coronary arteries, *J Interv Cardiol* 21(1) (2008) 15-20.
- [16] S. Ramcharitar, P.W. Serruys, Fully biodegradable coronary stents : progress to date, *Am J Cardiovasc Drugs* 8(5) (2008) 305-14.
- [17] M.P. Ryan, D.E. Williams, R.J. Chater, B.M. Hutton, D.S. McPhail, Why stainless steel corrodes, *Nature* 415(6873) (2002) 770-4.
- [18] C.N. Kraft, O. Diedrich, B. Burian, O. Schmitt, M.A. Wimmer, Microvascular response of striated muscle to metal debris. A comparative in vivo study with titanium and stainless steel, *J Bone Joint Surg Br* 85(1) (2003) 133-41.
- [19] M. Peuster, P. Wohlsein, M. Brugmann, M. Ehlerding, K. Seidler, C. Fink, H. Brauer, A. Fischer, G. Hausdorf, A novel approach to temporary stenting: degradable cardiovascular stents produced from corrodible metal-results 6-18 months after implantation into New Zealand white rabbits, *Heart* 86(5) (2001) 563-9.

- [20] N.C. Andrews, Disorders of iron metabolism, *N Engl J Med* 341(26) (1999) 1986-95.
- [21] R. Erbel, C. Di Mario, J. Bartunek, J. Bonnier, B. de Bruyne, F.R. Eberli, P. Erne, M. Haude, B. Heublein, M. Horrigan, C. Ilsley, D. Bose, J. Koolen, T.F. Luscher, N. Weissman, R. Waksman, P.-A. Investigators, Temporary scaffolding of coronary arteries with bioabsorbable magnesium stents: a prospective, non-randomised multicentre trial, *Lancet* 369(9576) (2007) 1869-1875.
- [22] R. Waksman, R. Pakala, P.K. Kuchulakanti, R. Baffour, D. Hellinga, R. Seabron, F.O. Tio, E. Wittchow, S. Hartwig, C. Harder, R. Rohde, B. Heublein, A. Andreae, K.H. Waldmann, A. Haverich, Safety and efficacy of bioabsorbable magnesium alloy stents in porcine coronary arteries, *Catheter Cardiovasc Interv* 68(4) (2006) 607-17; discussion 618-9.
- [23] P. Erne, M. Schier, T.J. Resink, The road to bioabsorbable stents: reaching clinical reality?, *Cardiovasc Intervent Radiol* 29(1) (2006) 11-6.
- [24] P.P. Mueller, T. May, A. Perz, H. Hauser, M. Peuster, Control of smooth muscle cell proliferation by ferrous iron, *Biomaterials* 27(10) (2006) 2193-200.
- [25] Ferrlecit, (12.10.2020). <http://products.sanofi.ca/en/ferrlecit.pdf>.
- [26] J.L. Farber, Mechanisms of cell injury by activated oxygen species, *Environ Health Perspect* 102 Suppl 10 (1994) 17-24.
- [27] L.J. Marnett, Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage, *Toxicology* 181-182 (2002) 219-22.
- [28] D.S. Abdalla, A. Campa, H.P. Monteiro, Low density lipoprotein oxidation by stimulated neutrophils and ferritin, *Atherosclerosis* 97(2-3) (1992) 149-59.
- [29] H.U. Enright, W.J. Miller, R.P. Hebbel, Nucleosomal histone protein protects DNA from iron-mediated damage, *Nucleic Acids Res* 20(13) (1992) 3341-6.
- [30] F.D. Kolodgie, A.P. Burke, G. Nakazawa, Q. Cheng, X. Xu, R. Virmani, Free cholesterol in atherosclerotic plaques: where does it come from?, *Curr Opin Lipidol* 18(5) (2007) 500-7.
- [31] P. Agostoni, P. Vermeersch, M. Knaapen, S. Verheye, Stent thrombosis is not always stent thrombosis: de novo atherosclerosis in a stented coronary segment, *Int J Cardiol* 144(1) (2010) e19-21.
- [32] H. Hermawan, D. Dube, D. Mantovani, Degradable metallic biomaterials: design and development of Fe-Mn alloys for stents, *J Biomed Mater Res A* 93(1) (2010) 1-11.
- [33] WE43, (12.10.2020). <https://www.smithshp.com/de/elektron-43.htm>.
- [34] K.M. Nuss, B. von Rechenberg, Biocompatibility issues with modern implants in bone - a review for clinical orthopedics, *Open Orthop J* 2 (2008) 66-78.
- [35] B. Heublein, R. Rohde, V. Kaese, M. Niemeyer, W. Hartung, A. Haverich, Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology?, *Heart* 89(6) (2003) 651-6.
- [36] M. Maeng, L.O. Jensen, E. Falk, H.R. Andersen, L. Thuesen, Negative vascular remodelling after implantation of bioabsorbable magnesium alloy stents in porcine coronary arteries: a randomised comparison with bare-metal and sirolimus-eluting stents, *Heart* 95(3) (2009) 241-6.
- [37] S. Hirano, K.T. Suzuki, Exposure, metabolism, and toxicity of rare earths and related compounds, *Environ Health Perspect* 104 Suppl 1 (1996) 85-95.
- [38] B. Nemery, Metal toxicity and the respiratory tract, *Eur Respir J* 3(2) (1990) 202-19.
- [39] J. Zhang, H. Li, W. Wang, H. Huang, J. Pei, H. Qu, G. Yuan, Y. Li, The degradation and transport mechanism of a Mg-Nd-Zn-Zr stent in rabbit common carotid artery: A 20-month study, *Acta Biomater* 69 (2018) 372-384.
- [40] E. Cerrato, U. Barbero, J.A. Gil Romero, G. Quadri, H. Mejia-Renteria, F. Tomassini, F. Ferrari, F. Varbella, N. Gonzalo, J. Escaned, Magmaris resorbable magnesium scaffold: state-of-art review, *Future Cardiol* 15(4) (2019) 267-279.
- [41] K. Yang, C. Zhou, H. Fan, Y. Fan, Q. Jiang, P. Song, H. Fan, Y. Chen, X. Zhang, Bio-Functional Design, Application and Trends in Metallic Biomaterials, *Int J Mol Sci* 19(1) (2017).
- [42] R.E. Andrews, K.M. Shah, J.M. Wilkinson, A. Gartland, Effects of cobalt and chromium ions at clinically equivalent concentrations after metal-on-metal hip replacement on human osteoblasts and osteoclasts: implications for skeletal health, *Bone* 49(4) (2011) 717-23.
- [43] H.G. Willert, G.H. Buchhorn, A. Fayyazi, R. Flury, M. Windler, G. Koster, C.H. Lohmann, Metal-on-metal bearings and hypersensitivity in patients with artificial hip joints. A clinical and histomorphological study, *J Bone Joint Surg Am* 87(1) (2005) 28-36.

- [44] D.J. Langton, S.S. Jameson, T.J. Joyce, N.J. Hallab, S. Natu, A.V. Nargol, Early failure of metal-on-metal bearings in hip resurfacing and large-diameter total hip replacement: A consequence of excess wear, *J Bone Joint Surg Br* 92(1) (2010) 38-46.
- [45] H. Pandit, S. Glyn-Jones, P. McLardy-Smith, R. Gundle, D. Whitwell, C.L. Gibbons, S. Ostlere, N. Athanasou, H.S. Gill, D.W. Murray, Pseudotumours associated with metal-on-metal hip resurfacings, *J Bone Joint Surg Br* 90(7) (2008) 847-51.
- [46] K.J. Bozic, J. Browne, C.J. Dangles, P.A. Manner, A.J. Yates, Jr., K.L. Weber, K.M. Boyer, P. Zemaitis, A. Woznica, C.M. Turkelson, J.L. Wies, Modern metal-on-metal hip implants, *J Am Acad Orthop Surg* 20(6) (2012) 402-6.
- [47] B.D.J. Morrey B.F., *Joint Replacement Arthroplasty Fourth Centennial Edition ed.*, Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins 2011.
- [48] C. Delaunay, I. Petit, I.D. Learmonth, P. Oger, P.A. Vendittoli, Metal-on-metal bearings total hip arthroplasty: the cobalt and chromium ions release concern, *Orthop Traumatol Surg Res* 96(8) (2010) 894-904.
- [49] J.A. Browne, C.D. Bechtold, D.J. Berry, A.D. Hanssen, D.G. Lewallen, Failed metal-on-metal hip arthroplasties: a spectrum of clinical presentations and operative findings, *Clin Orthop Relat Res* 468(9) (2010) 2313-20.
- [50] B.S. Mann, P.M. Whittingham-Jones, D.A. Shaerf, Z.S. Nawaz, P. Harvie, A.J. Hart, J.A. Skinner, Metal-on-metal bearings, inflammatory pseudotumours and their neurological manifestations, *Hip Int* 22(2) (2012) 129-36.
- [51] F.S. Haddad, R.R. Thakrar, A.J. Hart, J.A. Skinner, A.V. Nargol, J.F. Nolan, H.S. Gill, D.W. Murray, A.W. Blom, C.P. Case, Metal-on-metal bearings: the evidence so far, *J Bone Joint Surg Br* 93(5) (2011) 572-9.
- [52] V.D. Shetty, R.N. Villar, Development and problems of metal-on-metal hip arthroplasty, *Proc Inst Mech Eng H* 220(2) (2006) 371-7.
- [53] S.J. MacDonald, Metal-on-metal total hip arthroplasty: the concerns, *Clin Orthop Relat Res* (429) (2004) 86-93.
- [54] H.C. Amstutz, P. Grigoris, Metal on metal bearings in hip arthroplasty, *Clin Orthop Relat Res* (329 Suppl) (1996) S11-34.
- [55] D. Fabi, B. Levine, W. Paprosky, C. Della Valle, S. Sporer, G. Klein, H. Levine, M. Hartzband, Metal-on-metal total hip arthroplasty: causes and high incidence of early failure, *Orthopedics* 35(7) (2012) e1009-16.
- [56] M.H. Gonzalez, R. Carr, S. Walton, W.M. Mihalko, The evolution and modern use of metal-on-metal bearings in total hip arthroplasty, *Instr Course Lect* 60 (2011) 247-55.
- [57] I. Catelas, M.A. Wimmer, New insights into wear and biological effects of metal-on-metal bearings, *J Bone Joint Surg Am* 93 Suppl 2 (2011) 76-83.
- [58] S. Natu, R.P. Sidaginamale, J. Gandhi, D.J. Langton, A.V. Nargol, Adverse reactions to metal debris: histopathological features of periprosthetic soft tissue reactions seen in association with failed metal on metal hip arthroplasties, *J Clin Pathol* 65(5) (2012) 409-18.
- [59] D. Cohen, How safe are metal-on-metal hip implants?, *BMJ* 344 (2012) e1410.
- [60] H.G. Willert, M. Semlitsch, Reactions of the articular capsule to wear products of artificial joint prostheses, *J Biomed Mater Res* 11(2) (1977) 157-64.
- [61] C.H. Lohmann, H. Meyer, J.V. Nuechtern, G. Singh, S. Junk-Jantsch, H. Schmotzer, M.M. Morlock, G. Pfluger, Periprosthetic tissue metal content but not serum metal content predicts the type of tissue response in failed small-diameter metal-on-metal total hip arthroplasties, *J Bone Joint Surg Am* 95(17) (2013) 1561-8.
- [62] L. Burton, D. Paget, N.B. Binder, K. Bohnert, B.J. Nestor, T.P. Sculco, L. Santambrogio, F.P. Ross, S.R. Goldring, P.E. Purdue, Orthopedic wear debris mediated inflammatory osteolysis is mediated in part by NALP3 inflammasome activation, *J Orthop Res* 31(1) (2013) 73-80.
- [63] C.T. Wang, Y.T. Lin, B.L. Chiang, S.S. Lee, S.M. Hou, Over-expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand (RANKL), inflammatory cytokines, and chemokines in periprosthetic osteolysis of loosened total hip arthroplasty, *Biomaterials* 31(1) (2010) 77-82.

- [64] E. Romas, M.T. Gillespie, T.J. Martin, Involvement of receptor activator of NFkappaB ligand and tumor necrosis factor-alpha in bone destruction in rheumatoid arthritis, *Bone* 30(2) (2002) 340-6.
- [65] Y.S. Lau, L. Danks, S.G. Sun, S. Fox, A. Sabokbar, A. Harris, N.A. Athanasou, RANKL-dependent and RANKL-independent mechanisms of macrophage-osteoclast differentiation in breast cancer, *Breast Cancer Res Treat* 105(1) (2007) 7-16.
- [66] Z. Shen, T.N. Crotti, K.P. McHugh, K. Matsuzaki, E.M. Gravallese, B.E. Bierbaum, S.R. Goldring, The role played by cell-substrate interactions in the pathogenesis of osteoclast-mediated peri-implant osteolysis, *Arthritis Res Ther* 8(3) (2006) R70.
- [67] M.S. Caicedo, P.H. Pennekamp, K. McAllister, J.J. Jacobs, N.J. Hallab, Soluble ions more than particulate cobalt-alloy implant debris induce monocyte costimulatory molecule expression and release of proinflammatory cytokines critical to metal-induced lymphocyte reactivity, *J Biomed Mater Res A* 93(4) (2010) 1312-21.
- [68] R.S. Tuan, F.Y. Lee, T.K. Y, J.M. Wilkinson, R.L. Smith, G. Implant Wear Symposium Biologic Work, What are the local and systemic biologic reactions and mediators to wear debris, and what host factors determine or modulate the biologic response to wear particles?, *J Am Acad Orthop Surg* 16 Suppl 1 (2008) S42-8.
- [69] T.H. Lin, Y. Tamaki, J. Pajarinen, H.A. Waters, D.K. Woo, Z. Yao, S.B. Goodman, Chronic inflammation in biomaterial-induced periprosthetic osteolysis: NF-kappaB as a therapeutic target, *Acta Biomater* 10(1) (2014) 1-10.
- [70] C.H. Tang, J.Y. Chuang, Y.C. Fong, M.C. Maa, T.D. Way, C.H. Hung, Bone-derived SDF-1 stimulates IL-6 release via CXCR4, ERK and NF-kappaB pathways and promotes osteoclastogenesis in human oral cancer cells, *Carcinogenesis* 29(8) (2008) 1483-92.
- [71] J. Wang, R. Loberg, R.S. Taichman, The pivotal role of CXCL12 (SDF-1)/CXCR4 axis in bone metastasis, *Cancer Metastasis Rev* 25(4) (2006) 573-87.
- [72] C.H. Lohmann, Z. Schwartz, G. Koster, U. Jahn, G.H. Buchhorn, M.J. MacDougall, D. Casasola, Y. Liu, V.L. Sylvia, D.D. Dean, B.D. Boyan, Phagocytosis of wear debris by osteoblasts affects differentiation and local factor production in a manner dependent on particle composition, *Biomaterials* 21(6) (2000) 551-61.
- [73] A.C. Zannettino, A.N. Farrugia, A. Kortessidis, J. Manavis, L.B. To, S.K. Martin, P. Diamond, H. Tamamura, T. Lapidot, N. Fujii, S. Gronthos, Elevated serum levels of stromal-derived factor-1alpha are associated with increased osteoclast activity and osteolytic bone disease in multiple myeloma patients, *Cancer Res* 65(5) (2005) 1700-9.
- [74] T.S. Liao, M.B. Yurgelun, S.S. Chang, H.Z. Zhang, K. Murakami, T.A. Blaine, M.V. Parisien, W. Kim, R.J. Winchester, F.Y. Lee, Recruitment of osteoclast precursors by stromal cell derived factor-1 (SDF-1) in giant cell tumor of bone, *J Orthop Res* 23(1) (2005) 203-9.
- [75] A.C. Hirbe, J. Rubin, O. Uluckan, E.A. Morgan, M.C. Egleton, J.L. Prior, D. Piwnica-Worms, K.N. Weilbaecher, Disruption of CXCR4 enhances osteoclastogenesis and tumor growth in bone, *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(35) (2007) 14062-7.
- [76] E. De Clercq, Recent advances on the use of the CXCR4 antagonist plerixafor (AMD3100, Mozobil) and potential of other CXCR4 antagonists as stem cell mobilizers, *Pharmacol Ther* 128(3) (2010) 509-18.
- [77] L.G. Menon, S. Picinich, R. Koneru, H. Gao, S.Y. Lin, M. Koneru, P. Mayer-Kuckuk, J. Glod, D. Banerjee, Differential gene expression associated with migration of mesenchymal stem cells to conditioned medium from tumor cells or bone marrow cells, *Stem Cells* 25(2) (2007) 520-8.
- [78] Z. Schwartz, C.H. Lohmann, M. Sisk, D.L. Cochran, V.L. Sylvia, J. Simpson, D.D. Dean, B.D. Boyan, Local factor production by MG63 osteoblast-like cells in response to surface roughness and 1,25-(OH)₂D₃ is mediated via protein kinase C- and protein kinase A-dependent pathways, *Biomaterials* 22(7) (2001) 731-41.
- [79] L.K. Longhofer, A. Chong, N.M. Strong, P.H. Wooley, S.Y. Yang, Specific material effects of wear-particle-induced inflammation and osteolysis at the bone-implant interface: A rat model, *J Orthop Translat* 8 (2017) 5-11.

- [80] L. Li, Y. He, M. Zhao, J. Jiang, Collective cell migration: Implications for wound healing and cancer invasion, *Burns Trauma* 1(1) (2013) 21-6.
- [81] B.H. Jiang, E. Rue, G.L. Wang, R. Roe, G.L. Semenza, Dimerization, DNA binding, and transactivation properties of hypoxia-inducible factor 1, *J Biol Chem* 271(30) (1996) 17771-8.
- [82] P. Maxwell, K. Salnikow, HIF-1: an oxygen and metal responsive transcription factor, *Cancer Biol Ther* 3(1) (2004) 29-35.
- [83] G.L. Wang, G.L. Semenza, Desferrioxamine induces erythropoietin gene expression and hypoxia-inducible factor 1 DNA-binding activity: implications for models of hypoxia signal transduction, *Blood* 82(12) (1993) 3610-5.
- [84] E. Baldoli, J.A. Maier, Silencing TRPM7 mimics the effects of magnesium deficiency in human microvascular endothelial cells, *Angiogenesis* 15(1) (2012) 47-57.
- [85] J. Doring, M. Crackau, C. Nestler, F. Welzel, J. Bertrand, C.H. Lohmann, Characteristics of different cathodic arc deposition coatings on CoCrMo for biomedical applications, *J Mech Behav Biomed Mater* 97 (2019) 212-221.
- [86] D. Hannouche, M. Hamadouche, R. Nizard, P. Bizot, A. Meunier, L. Sedel, Ceramics in total hip replacement, *Clin Orthop Relat Res* (430) (2005) 62-71.
- [87] J. Bertrand, D. Delfosse, V. Mai, F. Awiszus, K. Harnisch, C.H. Lohmann, Ceramic prosthesis surfaces induce an inflammatory cell response and fibrotic tissue changes, *Bone Joint J* 100-B(7) (2018) 882-890.
- [88] A.K. Meinshausen, N. Martens, A. Berth, J. Farber, F. Awiszus, P. Macor, C.H. Lohmann, J. Bertrand, The terminal complement pathway is activated in septic but not in aseptic shoulder revision arthroplasties, *J Shoulder Elbow Surg* 27(10) (2018) 1837-1844.
- [89] Z. Schwartz, D.L. Carnes, Jr., R. Pulliam, C.H. Lohmann, V.L. Sylvia, Y. Liu, D.D. Dean, D.L. Cochran, B.D. Boyan, Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre-osteoblastic 2T9 cells, inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast-like MG63 cells, and increases proliferation and differentiation of normal human osteoblast NHOst cells, *J Periodontol* 71(8) (2000) 1287-96.

VI. Abkürzungsverzeichnis

2-APB	2-Aminoethoxydiphenylborat
AISI	“American Iron and Steel Institute”
ALVAL	„acute lymphocyte vasculitis associated lesions“
AMD3100	Eigenname eines CXCR4 Antagonisten
ARMD	„adverse reactions to metallic debris“
BDS	“biodegradable stent”
BMP	„bone marrow protein“
BrdU	Bromdesoxyuridin
CHD	“congenital heart disease”
CT	Computertomographie
CXCL12	CXC-Motiv Chemokin 12
CXCR4	CXC-Motiv-Chemokinrezeptor 4
DAG	„diacylglycerol“
DNA	„deoxyribonucleic acid“
EPO	Erythropoetin
ERK	“extracellular-signal regulated kinases”
FADS1	“fatty acid desaturase 1”
HIF-1	“hyoxy inducible factor-1”
HMGCS1	“3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzym A synthase 1”
ICAM-1	“intracellular adhesion molecule-1”
ICP-OES	„inductively coupled plasma“ – “optical emission spectroscopy“
IL-	Interleukin-
LDL-R	“low density lipoprotein-receptor”
MAPK	“mitogen-activated protein kinase”
MG63	Eigenname einer Zelllinie
mRNA	“messenger RNA”

NF- κ B	„nuclear factor 'kappa-light-chain-enhancer' of activated B-cells“
NMRI	„Naval Medical Research Institute“
PBS	“phosphate-buffered saline”
PCR	“polymerase chain reaction”
PD98059	MAPK Kinase Inhibitor
PGE2	Prostaglandin E2
PKC	Proteinkinase C
PLC	Phospholipase C
RNA	“ribonucleic acid”
SaOs-2	„sarcoma osteogenic-2“ (Eigenname einer Zelllinie)
SDF-1	„stromal cell derived factor-1“
SEM-EDX	“scanning electron microscope“- „energy dispersive X-ray spectroscopy“
siRNA	„small interfering RNA“
TGF- β	„transforming growth factor“- β
TNF- α	Tumornekrosefaktor- α
TRPM7	“transient receptor potential cation channel subfamily M, member 7“
VEGF	„vascular endothelial growth factor“
VSD	Ventrikelseptumdefekt
wt	weight

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Christoph H. Lohmann für die Möglichkeit und Unterstützung, die experimentellen Arbeiten dieser kumulativen Habilitation im Labor der Experimentellen Orthopädie anzufertigen, seine ständige Diskussionsbereitschaft und die Befürwortung dieser Arbeit. Frau Professor Dr. rer. nat. Jessica Bertrand danke ich für das offene Diskussionsklima und viele wertvolle Hinweise. Die exzellente technische Unterstützung im Labor durch Mandy Könnecke, Carolin Schneider und Anja Schröder hat einen wesentlichen Beitrag zum Gelingen der Arbeiten beigetragen. Herrn Dr. Bernd Feuerstein (Fachhochschule Magdeburg Stendal) danke ich für die Unterstützung bei den materialwissenschaftlichen Analysen.

Weiterhin danke ich Herrn Prof. Dr. med. Matthias Peuster für die Möglichkeit der wissenschaftlichen Arbeit im damaligen Labor für pädiatrische Kardiologie der Universitätskinderklinik in Rostock, den regelmäßigen Austausch, sowie die Bereitschaft, begonnene Projekte auch nach dem Weggang aus Rostock noch abzuschließen. Frau Nicole Braun danke ich für die technische Unterstützung bei den Experimenten in Rostock. Ohne Zusammenarbeit mit dem Institut für Werkstofftechnik der Universität Hannover, insbesondere Herr Dr.-Ing. Thomas Hassel, wären die Arbeiten nicht entstanden; dafür möchte ich mich bedanken.

Meinem ehemaligen Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang König danke ich für die gemeinsame Zeit in der AG für Infektabwehr am Lehrstuhl für Medizinische Mikrobiologie und Immunologie der Ruhr-Universität Bochum und danach am Institut für Medizinische Mikrobiologie in Magdeburg sowie für die Unterstützung im weiteren Verlauf meiner wissenschaftlichen Entwicklung und für die vielen wertvollen Hinweise.

Danken möchte ich auch allen hier namentlich nicht genannten, die mich auf meinem wissenschaftlichen Weg begleitet und unterstützt haben.

Ein besonderer Dank gilt meiner Frau Susanne für ihre ständige Diskussionsbereitschaft und das Ertragen meiner Launen.

Meinen Eltern Maria und Heinrich Drynda danke ich für die Unterstützung, ohne die das alles nicht möglich gewesen wäre.