
Vorwort des Tagungspräsidenten

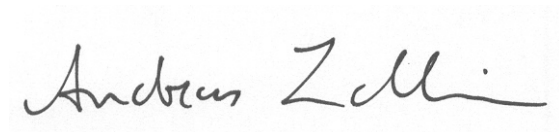
Liebe Kollegen,

als Tagungspräsident wie auch in meiner Funktion als Sprecher des Programms Regenerative Medizin der Helmholtz Gemeinschaft habe ich mich sehr gefreut nach Teltow zur 25. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Klinische Mikrozirkulation und Hämorheologie einladen zu können.

Zentrales Thema der Tagung war die Interaktion von Blutzellen mit körperfremden Oberflächen dabei insbesondere mit Biomaterialien sowie klinische Fragestellungen im Zusammenhang mit hämorheologischen und mikrozirkulatorischen Problemen. Dem interdisziplinären Charakter der Gesellschaft entsprechend war darüber hinaus ausreichend Gelegenheit gegeben, auf spezifische methodische Probleme sowie das gesamte klinische Spektrum hämorheologischer, hämostaseologischer und mikrozirkulatorischer Erkrankungen einzugehen.

Der vorliegende Tagungsband fasst die Beiträge der Tagung zusammen und konnte mithilfe einer großzügigen finanziellen Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung des GKSS-Forschungszentrums e.V. in Druck gehen.

Ihr



Prof. Dr. A. Lendlein
Tagungspräsident

Maßschneidern von Eigenschaften und Funktionen von Polymeren für Anwendungen in der Medizin

K. Bellin, M. Behl, A. Lendlein

1. Einleitung

Die Vielseitigkeit von Polymeren für die Anwendung in der Medizin ergibt sich einerseits aus der chemischen Struktur der Makromoleküle, andererseits aber an Möglichkeiten von Verarbeitung und physikalischer Funktionalisierung. So kann beispielsweise die molekulare Struktur über verschiedene Parameter variiert werden. Diese umfassen insbesondere die Polymerarchitektur (z.B. linear oder verzweigt), die Sequenzstruktur und das Molekulargewicht der Makromoleküle. Die Einführung zusätzlicher (Co)Monomere und die Kontrolle der Sequenzstrukturkette ermöglichen die Variation sowohl mechanischer Eigenschaften als auch der Hydrophilie. Die Sequenzstruktur kann dabei einer blockigen, alternierenden oder einer zufälligen Verteilung der verschiedenen Wiederholungseinheiten entsprechen. Durch geeignete Einstellung der Strukturparameter können die Polymereigenschaften maßgeschneidert werden. Eine Funktionalisierung von Polymeren lässt sich durch die Kombination von molekularer Struktur und einer physikalischen Konditionierung erreichen. Beispiele für Funktionalisierungen sind hydrolytische Abbaubarkeit und der Formgedächtniseffekt.

Im Folgenden wird der Einfluss der chemischen Struktur, welche durch Art und relativem Anteil von Comonomeren am Beispiel von Acrylnitril basierten linearen Copolymeren variiert wurden, auf die Quellung, die Hydrophilie und die Zellverträglichkeit beschreiben. Des Weiteren wird der Formgedächtniseffekt von Polymeren erklärt, sowie deren molekulare Architektur und Programmierung veranschaulicht. Neben dem thermisch-induzierten Formgedächtniseffekt wird sowohl der magnetisch-induzierte als auch der Licht-induzierte Formgedächtniseffekt vorgestellt. Am Beispiel von abbaubaren Formgedächtnispolymeren wird der Begriff der Multifunktionalität erläutert. Abschließend werden

mögliche medizinische Anwendungen der im weiteren Verlauf vorgestellten Materialsysteme diskutiert.

2. Material und Methoden

Acrylnitril (AN) basierte Copolymere sind für die Herstellung von Membranen geeignet und wurden im Hinblick auf Blut- und Zellverträglichkeit untersucht. Solche Membranen könnten in künstlichen Nieren Verwendung finden, die im Gegensatz zur herkömmlichen Blutdialyse¹ neben der Filtrierfunktion²⁻⁶ sowohl den aktiven Transport als auch die metabolen und endokrinen Aktivitäten der Nieren ersetzen können. Ein Konzept für eine solche künstliche Niere, welches auch als biohybride Organunterstützung bezeichnet wird, besteht aus der Kombination von künstlicher Organtherapie mit funktionaler Aktivität von immobilisierten Zellen [7]. Diese spezielle Anwendung hat eine hohe Anforderung an die Biofunktionalität der Materialien, welche durch eine gezielte Auswahl von (Co)Monomeren erzielt werden kann. Diese unterschiedlichen Material-Zell-Wechselwirkungen sind in Zellkulturtests mit verschiedenen Zell-Linien auf unter Variation von Comonomertyp und Comonomergehalt der Membranen, untersucht worden [8, 9, 10].

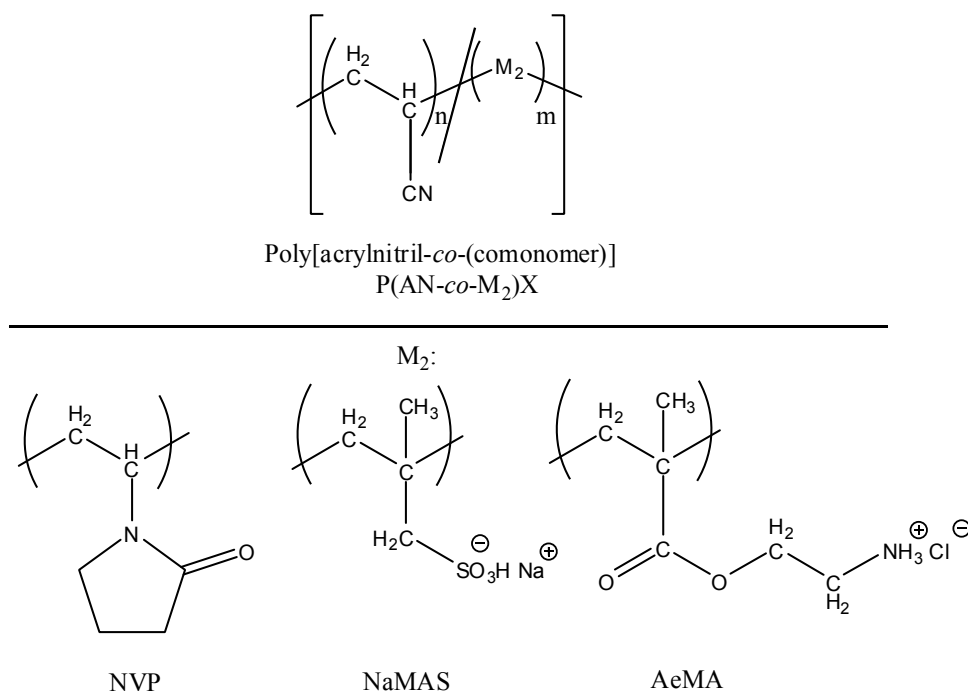


Abb. 1: Chemische Strukturformeln von Polyacrylnitril (PAN) und Acrylnitril basierten Comonomeren (M₂: Comonomer; NVP: N-Vinylpyrrolidon; AeMA: 2-Aminoethyl-methacrylathydrochlorid; NaMAS: Methallyl-natriumsulfonat; X: Anteil des Comonomeren im Copolymer in mol-%)

Polyacrylnitril (PAN) ist ein überwiegend semikristallines Polymer welches in Kettenlängen von 20.000 g.mol⁻¹ bis 100.000 g.mol⁻¹ kommerziell verfügbar ist. PAN kann auch als amorphes Polymer vorliegen, wenn eine isotaktische Konfiguration der Kettenatome vorliegt [11]. In der Praxis erkennt man diesen Fall z.B. bei der Taktizitäts-Analyse durch NMR-Spektroskopie daran, dass die Ketten ausschließlich aus isotaktischen Triaden bestehen. Der Glasübergang (T_g) von PAN ist abhängig von der Kettenlänge des Polymers und befindet sich zwischen 85 °C - 110 °C [12-14], während der Schmelzpunkt bei 314 °C [14] liegt. Die Bruchdehnung des Polymers bei 20 °C beträgt 12% [15]. PAN und dessen Copolymere können mittels freier radikalischer Polymerisation von AN und den (Co)Monomeren in Dimethylformamid (DMF) synthetisiert werden. Typische Comonomere, um AN basierte Polymere im Hinblick auf medizinische Anwendungen zu biofunktionalisieren, sind z.B. N-Vinylpyrrolidon (NVP), 2-Aminoethylmethacrylathydrochlorid (AEMA), oder Methallylnatriumsulfonat (NaMAS). Die chemischen Strukturen der synthetisierten Copolymere sind in Abbildung 1 dargestellt. NVP ist polar und ungeladen, wohingegen die Comonomere NaMAS und AeMA relativ hochpolar sind und Ladungen aufweisen: NaMAS mittels einer negativ geladenen Sulfonatgruppe und AeMA mittels einer positiv geladenen Aminogruppe. Durch die Art und den Anteil dieser Comonomeren in den Copolymeren können deren Hydrophilie und Ladungen gezielt gesteuert werden. Sind die Wiederholungseinheiten innerhalb der Copolymere zufällig verteilt, was durch eine geeignete Reaktionsführung erzielt werden kann, ergibt sich die Glas temperatur aus der Art des Comonomeren und den Comonomer-Anteil (W_x = Gewichtsanteil der Komponente X) gemäß der Formel (1). Eine Änderung der Glas temperatur wirkt sich dabei direkt auf die thermomechanischen Eigenschaften aus.

$$\frac{1}{T_g} = \frac{W_1}{T_{g1}} + \frac{W_2}{T_{g2}} \quad (1)$$

Die hier betrachteten AN basierten Copolymere wurden mittels freier radikalischer Polymerisation in Lösung durch Copolymerisation hergestellt, indem AN mit NVP (5, 20, 30 mol-%) oder AeMA (5 mol-%) oder NaMAS (2 mol-%) vorgelegt wird.

Für die spätere Anwendung der Materialien in der Medizin ist die Kenntnis der Hydrophilie von essentieller Bedeutung. Diese wurde über den Kontaktwinkel (ansteigende Methode in Wasser [9]) und die Wasseraufnahme [10] (Gewichtszunahme durch Quellung in Wasser) (Tabelle 1) bestimmt.

Tab. 1: Polymerfilmbenetzung und Quellung in Wasser von AN basierten Copolymerfilmen mit unterschiedlichen Comonomer-Gehalten.

Polymer a)	Kontaktwinkel [°]b)	Wasseraufnahme [Gew-%] c)
PAN	60,0	15
P(AN-co-NVP)5	58,5	17
P(AN-co-NVP)20	58,9	38
P(AN-co-NVP)30	64,2	54
P(AN-co-NaMAS)2	18,0	36
P(AN-co-AeMA)5	67,9	20

a) P(AN-co-M2)X = AN basiertes Copolymer mit M2 = NVP, NaMAS und AeMA als Comonomer und X = 2, 5, 20, 30 als Anteil des Comonomeren im Copolymer in mol-%.

b) Kontaktwinkel wurde mit der Methode „hängende Blase“ (Captive Bubble) gemessen.

c) Nach 24 h Inkubation in destilliertem Wasser bei Raumtemperatur.

Bei der Kontaktwinkelbestimmung in Wasser mittels der Methode der hängenden Blase (Captive Bubble) weisen Polymere Membranen aus PAN einen Kontaktwinkel von 60° auf und sind somit nur mäßig benetzbar. Die Copolymerisation von AN mit NVP bis zu einem Comonomergehalt von 30 mol-% resultiert in Copolymeren, die gegenüber dem Homopolymer eine nur geringe Änderung der Benetzbarkeit zeigen. Der größte Unterschied in der Benetzbarkeit im Vergleich zu PAN, mit einem Winkel von 18°, konnte für P(AN-co-NaMAS)2 beobachtet werden und zeigt eine sehr hydrophile Oberfläche an. Membranen aus P(AN-co-AeMA)5-Copolymeren haben einen höheren Kontaktwinkel im Vergleich zu reinen PAN-Membranen und sind somit deutlich weniger hydrophil. Die höhere Hydrophilie von P(AN-co-NaMAS)2 ist durch die chemische Struktur des Comonomeren bedingt. Der im Vergleich niedrige Kontaktwinkel von P(AN-co-AeMA)5 könnte auf einen zusätzlichen Einfluss der Oberflächenstruktur zurückzuführen sein.

Zur Charakterisierung des Quellverhaltens der Copolymere wurde die Wasseraufnahme an nicht-porösen Filmen gemessen. Die Ergebnisse dieser Untersuchung sind in Tabelle 1 aufgeführt. Die Messung der Wasseraufnahme erlaubt einen Rückschluss auf die Wechselwirkungen der unterschiedlichen Copolymere mit einer wässrigen Umgebung. Aus Tabelle 1 ist ersichtlich, dass die Wasseraufnahme der Copolymerfilme mit steigendem NVP-Gehalt zunimmt. Gewichtszunahmen von bis zu 54% wurden beobachtet, und sind auf ein starkes Quellen zurückzuführen. P(AN-co-NaMAS)2 zeigt eine ähnlich hohe Wasseraufnahme wie P(AN-co-NVP)20. PAN, P(AN-co-NVP)5 und P(AN-co-AeMA)5 weisen mit 20% die geringste Wasseraufnahme auf.

Da bei diesen Materialien eine Kombination von relativ hoher Hydrophilie der Membranoberfläche gepaart mit einer sehr geringen Wasseraufnahme vorliegt, kommen daher PAN, P(AN-co-NVP)5 und P(AN-co-AeMA)5 als mögliche Materialien für die Anwendung als künstlicher Hautersatz in Betracht.

In einem Membranherstellungsprozess können die genannten Copolymere aus DMF-Lösungen zu Membranen verarbeitet werden. Mittels Raster-Elektronen-Mikroskopie wurde die Struktur der daraus resultierenden Membranen untersucht. In Abbildung 2 ist der Einfluss der Copolymer-Konzentration der für die Membranherstellung verwendeten Copolymerlösung auf die Morphologie der P(AN-co-NVP)20 Membranen ersichtlich. Die Zahl der interkonnektierenden Poren nimmt mit steigender Konzentration des Polymers in der für den Membrangewinnungsprozess verwendeten DMF-Lösung zu. Für die Transporteigenschaften der Membran sind diese interkonnektierenden Poren von großer Bedeutung, im Falle biomedizinischer Anwendungen z.B. für den Transport von Nährstoffen.

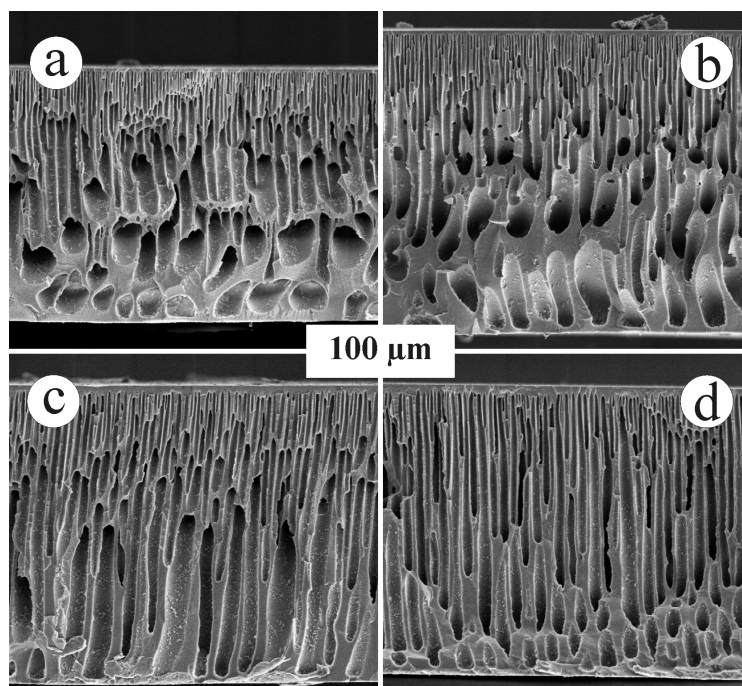


Abb. 2: REM-Aufnahmen von Flachmembranen aus P(AN-co-NVP)20. Die Copolymer-Konzentration der DMF-Lösung im Membranformierungsprozess wurde variiert.

a: 12 Gew.-%, b: 13 Gew.-%, c: 15 Gew.-%, d: 17 Gew.-% P(AN-co-NVP)20 in DMF.

Im Hinblick auf mögliche biomedizinische Anwendungen wurden die Toxizität sowie die Spezifität gegenüber verschiedenen Zelltypen untersucht. Zur Bestimmung der Toxizität wurden Extrakte der synthetisierten Membranen mit XTT-Zellverträglichkeitstests untersucht. Die Extrakte der Membranen wurde gewonnen, indem diese bei 37 °C für 7 Tage mit DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium) behandelt wurden. In diesen XTT-Tests konnte keine Toxizität der Extrakte festgestellt werden. Die spezifische Toxizität wurde durch die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen den Membranen mit humanen Fibroblasten (HFIB-D Zelllinie) der Haut bestimmt. Dazu wurden die Membranen mit den Fibroblasten besiedelt. Die Zellmorphologie, die Anordnung von fokalen Adhäsionskontakten und die Zellproliferation wurden analysiert. Eine Erhöhung des NVP-Gehaltes in den Membranen über einen Gewichtsanteil von 5% führte zu einer Reduzierung der Zellanzahl und zu einer Veränderung der Gestalt der Zellen [10], wohingegen bei PAN, P(AN-co-NVP)5 und P(AN-co-AeMA)5 die höchste Zellproliferation beobachtet werden konnte [10].

Neben der Interaktion der Membranen mit den Fibroblasten wurde die Zellverträglichkeit auch mit distalen Nierenepithelzellen (MDCK-Zelllinie), mit Hepatoblastoma-Zellen sowie deren Hämokompatibilität untersucht. Art und Gehalt des Comonomeren beeinflussten die Hämokompatibilität der Materialien genauso wie die Interaktion mit den untersuchten Zelllinien [9, 10]. Im Vergleich zu dem Homopolymer PAN erhöht die Einführung von Säuregruppen die Hämokompatibilität der Polymere, während basische Gruppen die Hämokompatibilität reduzieren. Basische Gruppen, wie bei P(AN-co-AeMA)1 begünstigen das Anwachsen der Nierenepithelzellen und der Fibroblasten [16], dagegen scheinen humane Hepatoblastoma-Zellen (C3A-Zelllinie) [17, 18] amphotere Polymere, wie z. B. P(AN-co-NaMAS)1, zu bevorzugen [19].

Diese Ergebnisse hinsichtlich der Zell- und Hämokompatibilität sowie der Spezifität der Interaktion der Membranen aus verschiedenen Copolymeren zeigen ein hohes Anwendungspotential der Copolymere im Bereich der Zell- und Gewebekulturtechnik sowie der Zelltherapie und des Tissue Engineering.

Ein Beispiel für eine Einsatzmöglichkeit von AN basierten Copolymermembranen ist die Entwicklung einer künstlichen Haut für die Behandlung von Patienten mit tiefen Verbrennungen oder mit schlecht heilenden Hautwunden. Ein möglicher Therapieansatz ist ein lebendes Zellstroma als Wundverschluss, das durch Aufwachsen von Hautzellen auf Membranen gebildet wird [9].

Tab. 2: Wechselwirkung von PAN und AN basierten Copolymeren mit distalen Nierenepithelzellen, humanen Fibroblasten, Hepatoblastoma-Zellen und Blut. (++) sehr günstig, (+) günstig, (o) nicht schädlich, (-) ungünstig.

Polymer a)	distale Nieren-epithelzellen	humane Fibroblasten	Hepatoblastoma-Zellen	Hämokompatibilität
PAN	(++)	(++)	(++)	(o)
P(AN-co-NVP)5-30	(-) – (+)b)	(o) – (+)b)	(o) – (++)	(++)
P(AN-co-NaMAS)1	(++)	(+)	(+)	(-)
P(AN-co-AeMA)1	n. u.c)	(o)	(+)	(+)

a) P(AN-co-M2)X = Acrylnitril basiertes Copolymer mit Comonomer M2 = NVP, NaMAS oder AeMA und X = 1, 5, 20, 30 als Anteil des Comonomeren im Copolymer in mol-%.

b) abhängig vom NVP-Gehalt.

c) n. u.: nicht untersucht.

Neben der Biofunktionalität ist der Formgedächtniseffekt eine Funktionalisierung, die für biomedizinische Anwendungen, insbesondere im Bereich der minimalinvasiven Chirurgie, von großem Interesse ist. Der Formgedächtniseffekt basiert auf einer Kombination von der Polymerarchitektur und einem geeigneten physikalischen Konditionierungsprozess - dem Programmierungsprozess. Formgedächtnispolymere gehen nach diesem Programmierungsprozess beim Einwirken eines externen Stimulus, wie z.B. Wärme, von einer temporären Form A zu ihrer permanenten Form B zurück. Dieser Temperatur-induzierte Effekt, der beim Überschreiten einer Schalttemperatur T_{switch} , ausgelöst wird, ist in Abbildung 3 veranschaulicht [20, 21]. Materialien, die wie abgebildet von einer Form A zu einer Form B übergehen können, werden als Zwei-Formen-Materialien bezeichnet.

Der Zwei-Formen-Effekt wurde sowohl für Polymere als auch für metallische Legierungen realisiert. Im Gegensatz zu Formgedächtnispolymeren können die Formänderungen zwischen der Form A und B bei metallischen Legierungen nur in einem eingeschränkten Bereich variiert werden. Während bei Formgedächtnispolymeren Deformationen zwischen temporärer und permanenter Form von 1.000% und mehr realisiert werden können, ist die Deformation bei den metallischen Formgedächtnislegierungen auf maximal 8% begrenzt. Ferner ist die Programmierung von metallischen Legierungen zeitaufwändiger als bei

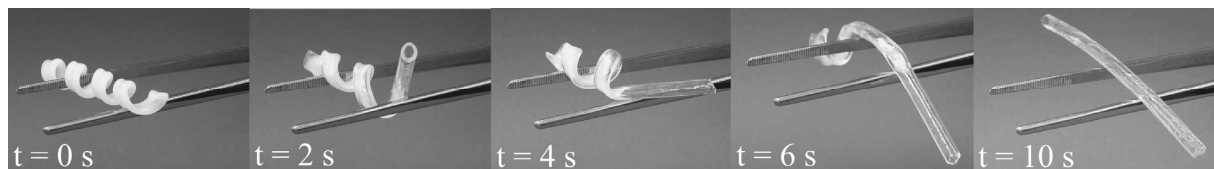


Abb. 3: Thermisch-induzierter Formgedächtniseffekt eines kovalenten Polymernetzwerks mit einem Schaltsegment aus Poly(ϵ -caprolacton). Die Schalttemperatur des Materials liegt bei 50 °C. Der Übergang von der temporären Form (Spirale) zur permanenten Form (Röhre) dauert 10 s bei einer Temperatur von 70 °C. Aufgrund der Bewegung des Materials bei der Rückstellung kommt es zur Verlagerung der Position der Spirale auf der Pinzette.

Formgedächtnispolymeren und erfordert Verarbeitungstemperaturen von mehreren hundert Grad Celsius. Daher sind Formgedächtnispolymere in vielen Bereichen eine kostengünstigere und leistungsfähigere Alternative zu den bereits etablierten metallischen Legierungen mit Formgedächtniseffekt.

Polymere, die einen thermisch-induzierten Formgedächtniseffekt aufweisen, bestehen aus Netzpunkten, durch die die permanente Form festgelegt wird, und aus Schaltsegmenten, die die temporäre Form bei Temperaturen unterhalb der Schalttemperatur T_{switch} fixieren. Diese Schaltsegmente bilden Domänen, denen ein thermischer Übergang T_{trans} zugeordnet ist, der als molekularer Schalter genutzt wird. Dieser thermische Übergang kann ein Glasübergang (T_g) oder ein Schmelzpunkt (T_m) sein. Die Vernetzung kann sowohl kovalent über chemische Bindungen (z. B. Thermosets oder Photosets) als auch über physikalische Wechselwirkungen (z. B. thermoplastische Elastomere) erfolgen. Bei kovalent vernetzten Formgedächtnispolymernetzwerken ist der Einbau eines maximal möglichen Gewichtsanteils an Schaltsegmentketten erreichbar. Bei den thermoplastischen Materialien muss der Gewichtsanteil der Blöcke, die das Hartsegment bestimmen, genügend hoch sein, um eine ausreichende Anzahl von physikalischen Netzpunkten oberhalb von T_{switch} sicherzustellen [21]. Die Temperaturerhöhung zum Auslösen des Formgedächtniseffektes kann entweder direkt durch Erhöhen der Umgebungstemperatur oder indirekt durch Bestrahlen mit Infrarot-Licht erfolgen. In Kompositen kann die Temperaturerhöhung auch durch das Anlegen einer Spannung oder durch das Einbringen in ein alternierendes Magnetfeld erfolgen [22-25].

In Abbildung 4 sind die molekularen Prozesse des thermisch-induzierten Formgedächtniseffektes anhand eines vollständig amorphen Copolyesterurethannetzwerkes schematisch dargestellt [25]. Hierbei wird das Material in der permanenten Form auf eine Temperatur T_{high} oberhalb der Schalttemperatur T_{switch} erwärmt und unter Belastung zu einer temporären Form deformiert. Nachdem auf eine Temperatur T_{low} unterhalb T_{switch} abgekühlt wurde, wird

das Material entlastet. Die temporäre Form bleibt solange bestehen, bis das Material erneut auf eine Temperatur oberhalb T_{switch} erwärmt wird und seine permanente Form wiedererlangt.

Das in Abbildung 4 gezeigte vollständig amorphe Copolyesterurethannetzwerk wurde mittels Vernetzung von definierten, sternförmigen telecheligen Oligomeren mit einem niedermolekularen aliphatischen Diisocyanat synthetisiert.

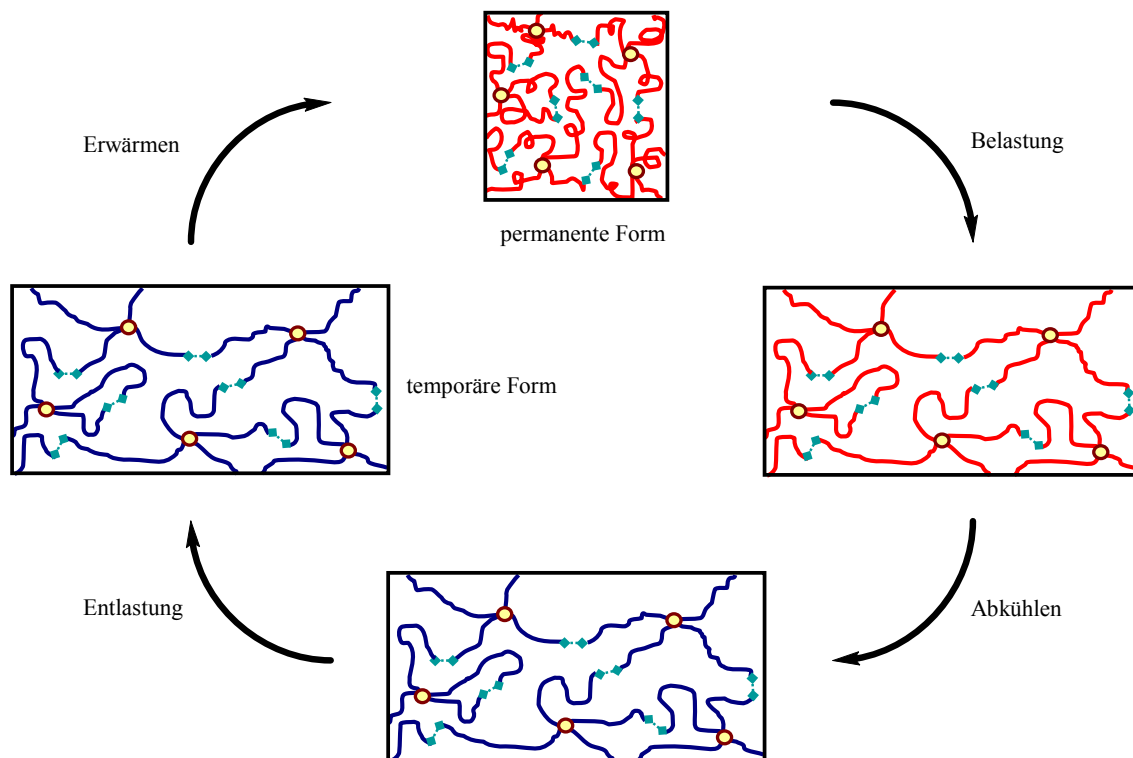


Abb. 4: Bilderserie Darstellung des molekularen Mechanismus des Formgedächtniseffektes von amorphen, bioabbaubaren Copolyesterurethannetzwerken, synthetisiert aus Oligo[(rac-lactid)-co-glycolid]tetrolen und einem niedermolekularen Diisocyanat.

- : Oligo[(rac-lactid)-co-glycolid]-Segment,
- ◆◆ : Diurethanverknüpfung
- : Netzpunkt.

Die Polymernetzwerkarchitektur wird dabei wesentlich durch die Funktionalität der Vernetzungsstellen des telecheligen Oligomeren, das heißt der Anzahl der Arme des sternförmigen Moleküls, und durch das Molekulargewicht der Oligomeren bestimmt. Die Bildung der Schaltsegmentketten erfolgt durch die Vernetzung der Endgruppen zweier Arme verschiedener Oligomere. Die makroskopischen Eigenschaften der Polymernetzwerke können durch die Variation dieser

Strukturparameter an die speziellen Anforderungen der jeweiligen medizinischen Anwendung [26-29] angepasst werden.

Das kontaktlose, ferngesteuerte Auslösen des thermisch-induzierten Formgedächtniseffektes wurde durch das Einbringen von magnetischen Nanopartikeln, wie zum Beispiel Eisen(III)oxid, das mit Siliziumdioxid ummantelt ist, in thermoplastische Formgedächtnispolymere realisiert. Diese Nanokomposite werden induktiv erhitzt, indem sie alternierenden Magnetfeldern geeigneter Stärke und Frequenz ausgesetzt werden [23]. Als Matrixkomponente für den magnetisch-induzierten Formgedächtniseffekt wurden ein thermo-plastisches Polyetherurethan und ein bioabbaubares Multiblock-Copolymer verwendet. In einem Extrusionsverfahren werden die magnetischen Nanopartikel eingearbeitet. Die so gebildeten Nanokomposite besitzen geeignete elastische und thermische Eigenschaften für die Formgedächtnis-funktionalisierung. Durch induktives Erwärmen dieser Komposite in einem alternierenden Magnetfeld kann dann der Formgedächtniseffekt induziert werden, wie die Bilderserie in Abb. 5 zeigt.

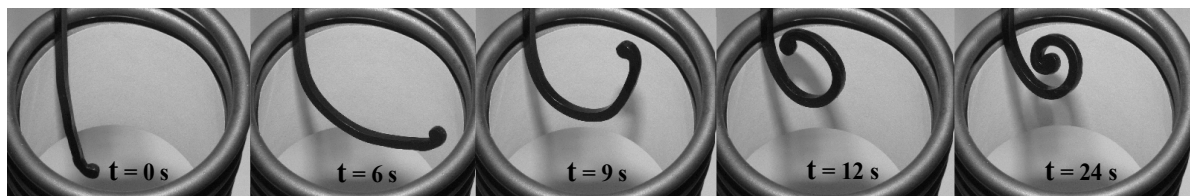


Abb. 5: Bilderserie des magnetisch-induzierten Formgedächtniseffektes eines thermoplastischen Formgedächtniskomposites, bestehend aus magnetischen Nanopartikeln (Eisen(III)-oxid in einer Siliziumdioxid-Matrix) und eines Polyetherurethans. Innerhalb von 24 s geht die temporär fixierte Form (Stäbchen) in die permanente Form (Spirale) im Magnetfeld eines Ringinduktors, mit einem alternierenden magnetischen Feld ($f = 258 \text{ kHz}$ und $H = 30 \text{ kA.m}^{-1}$) über.

Die thermische Leitfähigkeit und die Wärmekapazität limitieren die Geschwindigkeit des thermisch-induzierten Formgedächtniseffektes. Photo-sensitive Formgedächtnispolymere hingegen sind in der Lage, nach einer Bestrahlung mit UV-Licht eine Formänderung zu realisieren, die unabhängig von einer Erwärmung ist [24]. Bei der Anwendung von Licht als Stimulus kann die Funktion von intelligenten Materialien durch die Auswahl von entsprechenden Wellenlängen und Intensitäten kontaktlos kontrolliert werden. Photochemisch reaktive chemische Gruppen, die auf Zimtsäure basieren, sind in der Lage photoreversible kovalente Quervernetzungen in Polymeren zu bilden [22]. Diese chemischen Gruppen haben das Potential thermoreversible physikalische Netzpunkte, die als Schaltsegment in temperaturgesteuerten Formgedächtnispolymeren genutzt werden, zu ersetzen. Abbildung 6 zeigt die photoreversible Dimerisation von Zimtsäureestern. Bei der Bestrahlung mit UV-Licht (Wellenlängen $\lambda > 260 \text{ nm}$)

dimerisieren die Doppelbindungen benachbarter Zimtsäureestergruppen unter Bildung eines Zyklobutanrings [22]. Durch Bestrahlung mit UV-Licht mit Wellenlängen $\lambda < 260$ nm können diese Zyklobutanringe wieder gespalten werden.

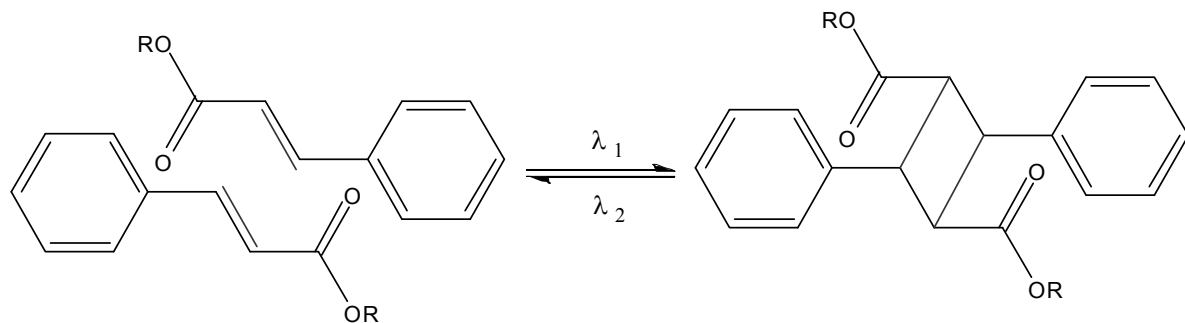


Abb. 6: Schematische Darstellung von Licht-induzierter Photodimerisation von Zimtsäuregruppen und Zyklobutanringspaltung bei Bestrahlung mit UV-Licht ($\lambda_1 > 260$ nm bzw. $\lambda_2 < 260$ nm).

Sowohl die Geschwindigkeit der Formänderung als auch das Maß der Rückstellung werden durch äußere Faktoren, wie die gewählte Wellenlänge, die Intensität des Lichtes und die Bestrahlungsdauer, beeinflusst. Durch Inkorporierung von sternförmigen Polymeren mit entsprechenden Cinnamyliden-Endgruppen in ein permanentes elastisches Netzwerk mittels Quellung, wird ein semi-interpenetrierendes Netzwerk (semi-IPN) erhalten. Durch Bestrahlung mit UV-Licht ($\lambda > 260$ nm) werden die sternförmigen Moleküle vernetzt und die temporäre Form in dem so gebildeten interpenetrierenden Netzwerk (IPN) [24] wird stabilisiert.

Da die Bestrahlung mit Licht temperaturunabhängig ist und präzise auf die gewünschten Flächen begrenzt werden kann, wird ein durch eine Temperaturerhöhung unerwünschter Effekt auf die angrenzende Umgebung und auf das Gewebe vermieden. Licht-induzierte Formgedächtnispolymere sind daher eine alternative Materialklasse von Formgedächtnispolymeren für Anwendungen in der Medizin [24].

Ein weiterer aktueller Trend in der Biomaterialwissenschaft ist die Entwicklung von Materialien, die eine Multifunktionalität [30] aufweisen. Unter Multifunktionalität wird die unerwartete Kombination von unterschiedlichen Materialfunktionalitäten verstanden, wie z. B. die Kombination von hydrolytischer Abbaubarkeit mit der Formgedächtnis-Funktionalität. Diese Kombination unterschiedlicher Funktionalitäten kann für spätere Anwendungen in der Medizin genutzt werden, um die Einsatzmöglichkeiten der verwendeten Materialien zu erweitern. Zu diesem Zweck wurden Polymersysteme entwickelt, bei denen die

notwendigen Funktionalitäten, wie zum Beispiel die Biofunktionalität, die hydrolytische Abbaubarkeit oder die Formgedächtnisfunktionalität, maßgeschneidert werden können. Dieses wird durch Variation von molekularen Parametern und physikalischen Konditionierungen erreicht.

Abbaubare Polymere mit thermisch-induziertem Formgedächtniseffekt haben ein hohes Anwendungspotential im Bereich der minimalinvasiven Chirurgie [31]. Ein Beispiel ist das Einbringen eines sperrigen Implantates in einer komprimierten, temporären Form durch eine kleine Öffnung in den Körper. Durch Erwärmen des Implantates über die Schalttemperatur T_{switch} nimmt es die für die Anwendung relevante Form ein. Eine zweite Operation zur Entfernung des Implantates entfällt, da es nach einer festgelegten Zeit im Körper abgebaut wird [29, 32]. Ein Magenwandersatz oder ein intelligentes Nahtmaterial für den Wundverschluss [26-29] sind Beispiele für Produktinnovationen basierend auf solchen multifunktionalen Materialien mit Formgedächtniseffekt und Bioabbaubarkeit.

AN basierte Copolymere wurden als Polymersystem für die Herstellung von Membranen für biomedizinische Anwendungen vorgestellt. In dem Copolymersystem können verschiedene Eigenschaften gezielt über die chemische Struktur und den relativen Anteil der (Co)Monomeren eingestellt werden. Durch Variation dieser Parameter konnte die Biofunktionalität beeinflusst werden. Die Spezifität von PAN und AN basierten Copolymeren in der Wechselwirkung mit verschiedenen Zelltypen eröffnet Anwendungsmöglichkeiten in Zell-Gewebe-Kultur Systemen sowie biohybriden Organen oder im Bereich des Tissue Engineerings.

Als Beispiel für multifunktionale Materialien wurden Polymere vorgestellt, die hydrolytisch abbaubar sind und einen Formgedächtniseffekt aufweisen. Andere Stimuli wie Magnetfelder oder Licht wurden durch das Einbringen von magnetischen Nanopartikeln in thermisch-induzierte Formgedächtnispolymere bzw. durch Einführen von lichtsensitiven Gruppen in Polymernetzwerke realisiert. Abbaubare Formgedächtnispolymere bieten gegenüber metallischen Implantaten den wesentlichen Vorteil, dass die erforderliche Folgeoperation zur Entfernung des Implantates entfällt. Darüber hinaus sind sie in ihrer Handhabung sowohl bei der Verarbeitung als auch Programmierung weniger aufwendig als die metallischen Formgedächtnislegierungen. Es ist daher zu erwarten, dass basierend auf multifunktionalisierten Polymeren im biomedizinischen Bereich zukünftig eine Reihe von Produktinnovationen realisiert werden.

Literatur

1. Kolff, W. J., et al., J. Am. Soc. Nephrol. 1997, 8, 1959-1965.
2. Descamps-Slatkova, B., et al., Kidney Int. 1993, 43, S135-S142.
3. Gejyo, F., et al., Kidney Int. 1993, 43, S78-S82.
4. Khan, I. H., et al., Kidney Int. 1993, 43, S143-S148.
5. Mege, J. L., et al., Am. J. Kidney Dis. 1996, 28, 395-399.
6. Teraoka, S., et al., Artif. Organs 1988, 12, 462-462.
7. Fukuda, J., et al., Biomat. 2006, 27, 1479-1486.
8. Grant, M. H., et al., J. Biomed. Mater. Res., Part A 2005, 73A, 367-375.
9. Groth, T., et al., Clin. Hemorheol. Microcirc. 2005, 32, 129-143.
10. Groth, T., et al., J. Biomed. Mater. Res. 2002, 61, 290-300.
11. Bamford, C., et al., in Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Vol. 1, Second ed. (Ed.: B. Mark, Overberger, Menges), New York, 1985, pp. 426-464.
12. Raja, R. A., et al., J. Appl. Polym. Sci. 1994, 54, 827-830.
13. Padhye, M. R., et al., J. Appl. Polym. Sci. 1987, 33, 1675-1682.
14. Odriscoll, K., et al., Macromolecules 1991, 24, 4479-4480.
15. Chae, D. W., et al., J. Appl. Polym. Sci. 2006, 99, 1854-1858.
16. Mestries, P., et al., J. Biomed. Mater. Res. 1998, 42, 286-294.
17. Krasteva, N., et al., Biomat. 2004, 25, 2467-2476.
18. Krasteva, N., et al., Journal of Biomaterials Science-Polymer Edition 2005, 16, 1-22.
19. Webb, K., et al., J. Biomed. Mater. Res. 2000, 49, 362-368.
20. Behl, M., et al., Soft Matter 2007, 3, 58-67.
21. Lendlein, A., et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2002, 41, 2034-2057.
22. Jiang, H. Y., et al., Adv. Mater. 2006, 18, 1471-1475.
23. Mohr, R., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2006, 103, 3540-3545.
24. Lendlein, A., et al., Nature 2005, 434, 879-882.
25. Alteheld, A., et al., Angew. Chem. Int. Ed. 2005, 44, 1188-1192.
26. Rickert, D., et al., Biomed. Tech. 2006, 51, 116-124.
27. Rickert, D., et al., Eur. Arch. Otorhinolaryngol. 2006, 263, 215-222.
28. Trimpert, C., et al., Macromol. Biosci. 2006, 6, 274-284.
29. Lendlein, A., et al., Science 2002, 296, 1673-1676.
30. Lendlein, A., et al., Functionally Graded Materials Viii 2005, 492-493, 219-223.
31. El Feninat, F., et al., Adv. Eng. Mater. 2002, 4, 91-104.
32. Lendlein, A., et al., Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2001, 98, 842-847.

Einfluss von Röntgenkontrastmitteln auf die Morphologie humaner venöser Endothelzellen

R.P. Franke, R. Fuhrmann, C. Mrowietz, F. Jung

1. Hintergrund

Die Beeinflussung der Mikrozirkulation nach Röntgenkontrastmittelgabe konnte sowohl bezüglich der Kapillardurchblutung (bei Patienten mit Koronarer Herzerkrankung) als auch des Gewebesauerstoffpartialdruckes (im Myokard des Schweineherzens) in mehreren Studien nachgewiesen werden [3, 4, 5, 15, 16, 18, 22]. Dabei zeigten sich erhebliche Unterschiede für die einzelnen Röntgenkontrastmittel (RKM). Einflussfaktoren waren die Viskosität des RKM [2], sowie Veränderungen der Morphologie von Erythrozyten [2, 14, 21] und von Thrombozyten [17].

Es kann aber mit Sicherheit angenommen werden, dass auch die Endothelzellen durch das RKM sowohl in ihrer Morphologie als auch in ihrer Funktion beeinflusst werden [1, 6]. Dies sollte im Rahmen einer Studie für zwei RKM in-vitro untersucht werden.

2. Material und Methoden

2.1 Röntgenkontrastmittel

Es wurden zwei handelsübliche RKM in ihrer Kurzzeitwirkung auf ein ebenes Modell venöser Gefäße [9] in vitro getestet: Visipaque (Iodixanol 320, Ge Healthcare, München, Germany) und Imeron (Iomeprol 350, Byk Gulden, Konstanz, Germany).

2.2 Endothelzellen

Humane umbilicale venöse Endothelzellen (HUVEC) wurden auf einer gefäßtypischen extrazellulären Matrix (ECM) ausgesiedelt und bis zur funktionellen Konfluenz (Streßfaserrückbildung und Ausbildung eines marginalen Filamentnetzes) unter statischen Standardkulturbedingungen (5% CO₂, 95% Luftfeuchte, 37°C) herangezüchtet [24, 25]. Die Untersuchungen wurden nach 11 Tagen durchgeführt.

2.3 Versuchsaufbau

Bei Versuchsbeginn wurden die ebenen Gefäßmodelle mit dem jeweiligen RKM beaufschlagt. Die RKM wurden dem Standardkulturmedium (Medium 199+20% Humanserum) beigegeben, die Endkonzentration an RKM im Standardkulturmedium betrug 30% (V/V). Die Gefäßmodelle wurden über definierte Zeiträume mit dem kontrastmittelhaltigen Medium inkubiert (1,5 min, 5 min, 12 h).

Danach erfolgte die Entnahme des Zellkulturüberstandes und nach Zentrifugation die Lagerung bei -80°C, bis zur Analyse der vorgesehenen Parameter.

Die Endothelzellen wurden fixiert und anschließend auf folgende Fragestellung hin untersucht.

- Zeigen die Endothelzellen im Vergleich zu Kontrollen morphologische Abweichungen, wie Zunahmen der Endothelzellumrandung, Anzahl gelöster Zellkontakte, Lochbildungen im Monolayer.
- Zeigen die Endothelzellen in der zytochemischen Darstellung des zytoskeletalen mikrofilamentären Aktins typische Änderungen an den Mikrofilamenten?

Als Zellumrandung wird der durch Versilberung markierte Umfang der Zellgrenzen bezeichnet, als gelöste Zellkontakte knopfartige, kurz- oder langstreckige Öffnungen in den durch Versilberung markierten Zell-Zell-Grenzen. Die Lochbildung im Zellrasen stellt sich durch große Öffnungen im Zelllayer dar, die durch Lösung und Zurückweichen von Zellrändern oder durch Zellablösungen hervorgerufen werden

Die beschriebenen Parameter wurden nach Versilberung mit Hilfe eines Olymposmikroskopes (IMT-2) mit UV-Einrichtung und angeschlossener Videokette (Sony XC 50ST/monochrom und OPTIMAS-Bildanalyse-System) interaktiv analysiert [10, 11].

Veränderungen am Zytoskelett wurden durch zytochemische Darstellung des filamentären Aktins (F-Aktin) erfaßt [9]. Der F-Aktinanteil der Mikrofilamente wurde mit Phalloidin - Rhodamin markiert und fluoreszenzmikroskopisch dargestellt.

2.4 Statistik

Alle Stichproben wurden mittels Mittelwert und Standardabweichung beschrieben. Die Prüfstatistik wurde mittels Varianzanalyse durchgeführt. Die Nullhypothese (die RKM unterscheiden sich in ihrer Wirkung auf die Endothelzellen nicht) wurde bei Irrtumswahrscheinlichkeiten α kleiner als 0,05 abgelehnt.

3. Ergebnisse

3.1 Struktur des mikrofilamentären Aktins

In den Kontrollkulturen ohne Medienwechsel zeigte sich bis zu 12 Stunden ein deutlich erkennbares marginales Filamentnetz, wobei zentrale Filamentbündel (Stressfasern) nur sehr spärlich ausgebildet waren.

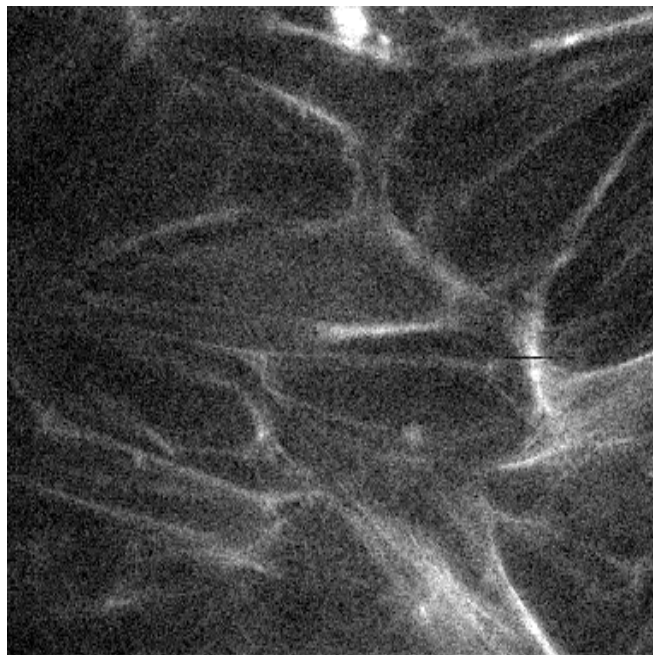


Abb. 1: Kontrollendothelkultur ohne Medienwechsel 12 Stunden nach Versuchsbeginn (Zytochemische Darstellung des F-Aktins)

In den Kontrollkulturen, in denen Medienwechsel durchgeführt wurden, zeigte sich eine mäßige Tendenz zur Verbreiterung des marginalen Filamentbandes. Nach 1,5 Minuten waren jedoch noch keine Öffnungen von Zell-Zell-Bindungen, Zelldehiszenzen bzw. interzelluläre Fenster erkennbar.

Abbildung 1 zeigt kultivierte Endothelzellen ohne Mediumwechsel 12 Stunden nach Versuchsbeginn nach zytochemischer Darstellung des F-Aktins.

Abbildung 2 zeigt die Endothelkulturen nach zweimaligem Medienwechsel ohne den Zusatz von RKM.

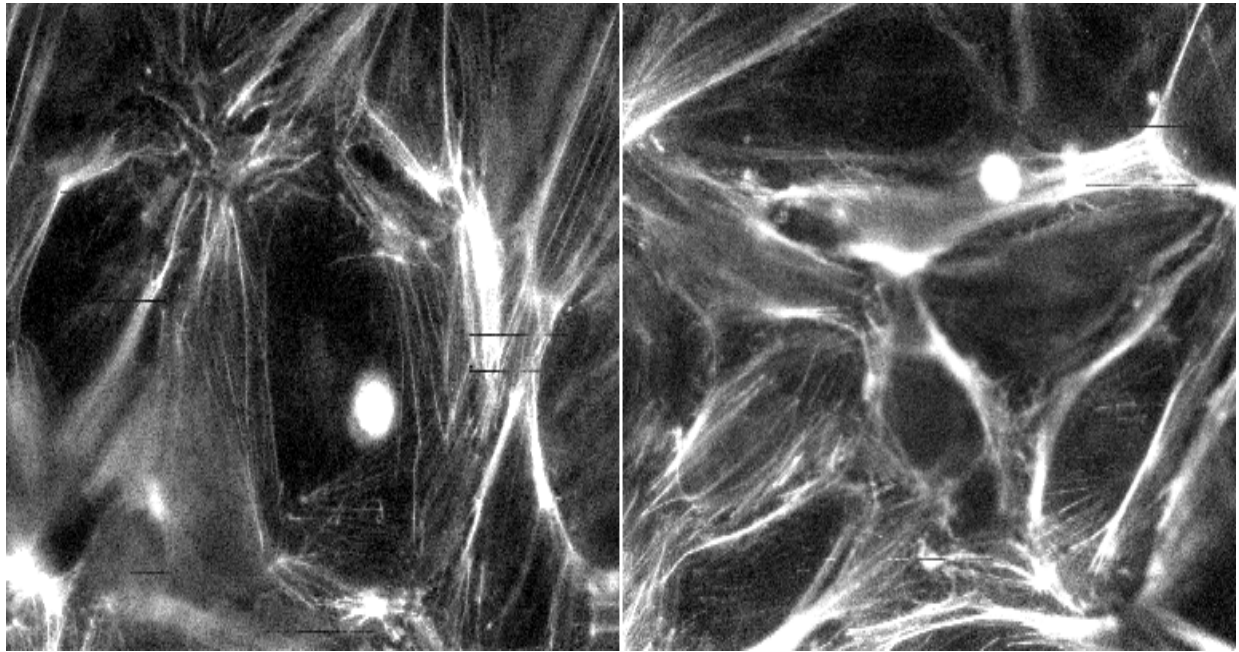


Abb. 2: Endothelkulturen nach zweimaligem Medienwechsel (nach 1,5 Minuten (links) bzw. 5 Minuten (rechts)) ohne den Zusatz von RKM (Zytochemische Darstellung des F-Aktins)

Die Endothelzellen nach der Exposition mit Iodixanol sind in Abbildung 3 dargestellt.