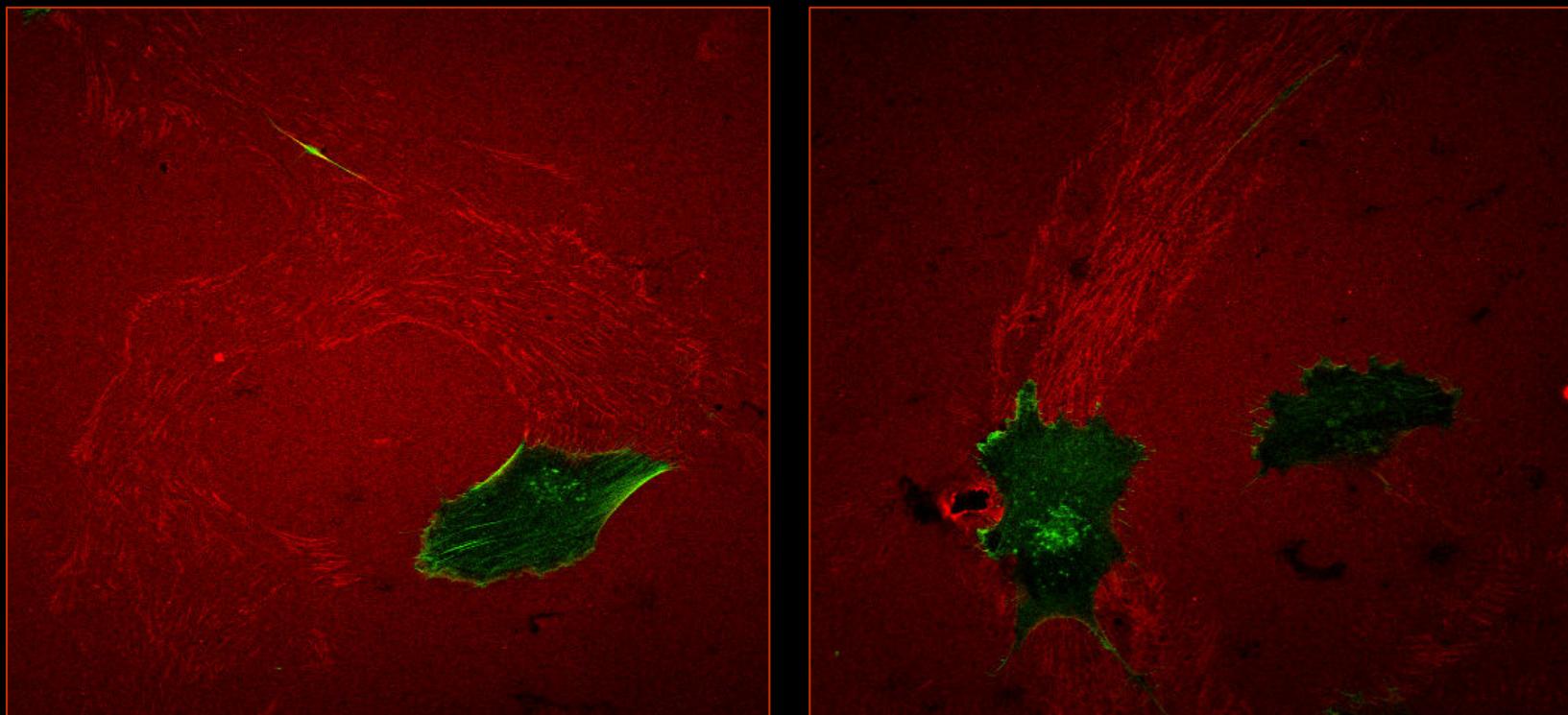


SPP Biosystem 322 1100 NE 560/3-3:
„Titantopographie - Einfluss auf Adhäsionskomponenten von
Osteoblasten und deren Funktion“

Barbara Nebe, Ulrich Beck, Joachim Rychly, Frank Lüthen, Regina Lange
Universität Rostock



Osteoblast (Aktin, grün) mit Fibronektin-„footprints“ (rot)

Kooperationen innerhalb des Schwerpunktprogramms SPP 1100

Projekt: ZI 215/25-3

Ansprechpartner:
Dr. Bettina Hoffmann, Dr. Rainer Detsch
Friedrich-Baur-Forschungsinstitut für Biomaterialien
und Lehrstuhl für Biochemie
Universität Bayreuth
95440 Bayreuth

Material-Bereitstellung:
Funktionalisierung von
Titanoberflächen
durch Peptid-Immobilisierung

Projekt: TH 438/16-5

Ansprechpartner:
Dr. Andrea Ewald
Lehrstuhl für Funktionswerkstoffe der
Medizin und Zahnheilkunde,
ZMK Klinik
Universität Würzburg
97070 Würzburg

Analysen:
Western Blot für Matrixproteine
Elektrochemische Vergleichsmessungen

Projekt: MU 1803/1-1

Ansprechpartner:
Dr. Frank Müller
Institut für Werkstoffwissenschaften,
Lehrstuhl für Glas und Keramik
der **Universität Erlangen-Nürnberg**
91058 Erlangen

Material-Bereitstellung:
Biomimetische Apatitschicht auf
chemisch vorbehandeltem Titan

Projekt: EI 467/1-3

Ansprechpartner:
Dr. Eva Eisenbarth
Universität des Saarlandes
Lehrstuhl für metallische Werkstoffe
66041 Saarbrücken

Material-Bereitstellung:
Nanostrukturierung von Titanoberflächen
thermische Oxidation, R_a 10-100 nm

Projekt: NE 560/3-3

Dr. Barbara Nebe / Prof. Dr. Joachim Rychly
Universität Rostock
Klinik für Innere Medizin
Klinische Forschung
Ernst-Heydemann-Str. 6
18057 Rostock

zellbiologische Untersuchungen:
Osteoblast-Zellkultur auf modifiziertem Titan
Adhäsions-spezifische Parameter

PD Dr. Ulrich Beck
Universität Rostock
Fakultät für Informatik und Elektrotechnik
Institut für Gerätesysteme und Schaltungstechnik
Richard-Wagner-Str. 31
18119 Rostock

physikalisch-chemische Untersuchungen:
Physikalisch-chemische Charakterisierung von Titan-
Oberflächen; Strukturierung von Ti-Oberflächen

Projekt: WO 495/11-3

Ansprechpartner:
Dr. Scharnweber
Inst. für Werkstoffwissenschaften
TU-Dresden

Analysen:
elektrochemische Messung
an Titan, Ti-Legierungen



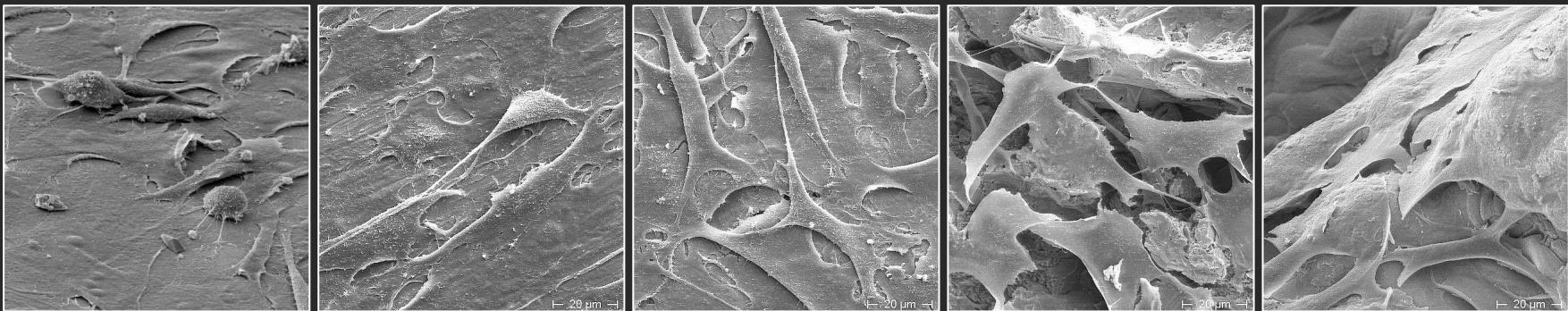
Publikationen ab Mai 2003

Publikationen

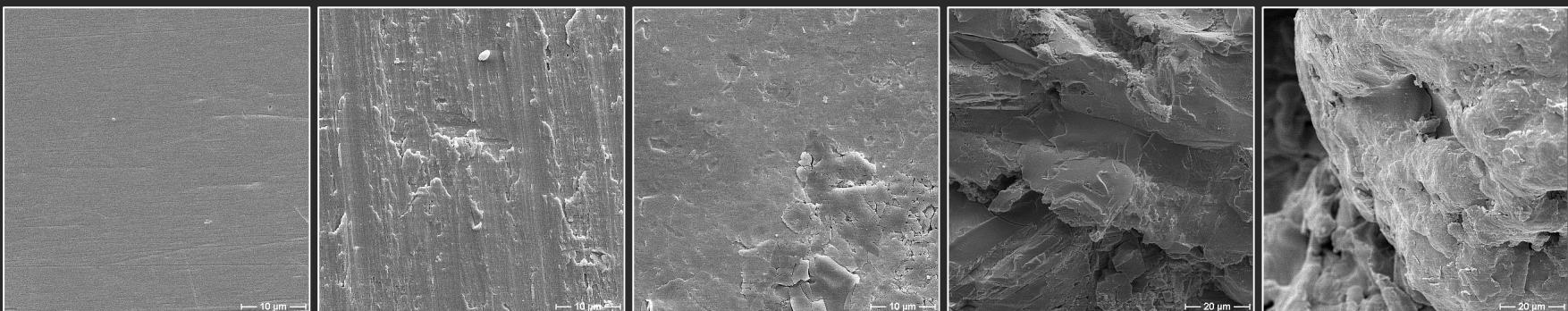
Datum	Anlass	Autoren	Thema
2003	<i>Mater Sci Engin: C</i> 23 (2003) 413-418	Kirbs, Lange, Nebe, Rychly, Müller, Beck	On the description of the fractal nature of microstructured surfaces of titanium- implants.
2003	<i>Mater Sci Engin: C</i> 23 (2003) 425-429	Kirbs, Lange, Nebe Rychly, Baumann, Neumann, Beck	Methods for the physical and chemical characterisation of surfaces of titanium implants.
2003	<i>Mater Sci Forum</i> Vols. 426-432 (2003) 3023-3030	Nebe, Lüthen, Baumann, Beck, Diener, Neumann, Rychly	Effects of titanium surface topography on the cell-extracellular matrix interaction in osteoblasts.
2004	<i>J Mater Sci: Mater Med</i> 1 5 (2004) 437-440	Becker, Nebe, Lüthen, Rychly, Neumann	Cellular investigations on electrochemically deposited calcium phosphate composites
2004	<i>BIOmaterialien</i> 5 (2004) 74-75	Lange, Lüthen, Kirbs, Baumann, Müller, Rychly, Nebe, Beck	Correlation between physico-chemical properties of micro-structured implants and cell biological parameters
2004	<i>BIOmaterialien</i> 5 (2004) 32-33	Nebe, Lüthen, Diener, Becker, Lange, Beck, Neumann, Rychly	Mechanisms of cell adhesion on surfaces of pure titanium
2004	<i>Mater Sci Engin: C</i> 24 (2004) 619-624	Nebe, Lüthen, Lange, Becker, Beck, Rychly	Topography-induced alterations in adhesion structures affect mineralization in human osteoblasts on titanium
2005	<i>Biomaterials</i> 26 (2005) 383-392	Diener, Nebe, Lüthen, Becker, Beck, Neumann, Rychly	Control of focal adhesion dynamics by material surface characteristics.
2005	<i>Biomaterials</i> 26;15 (2005) 2423- 2440	Lüthen, Rychly, Becker, Lange, Beck, Neumann, Nebe	The influence of surface roughness of titanium on β 1- and β 3-integrin adhesion and the organization of fibronectin in human osteoblastic cells.



Zellmorphologie: Osteoblasten MG-63



Titantopographie



P
 R_a 0.19 μm

NT
 R_a 0.54 μm

GB
 R_a 1.22 μm

CB
 R_a 6.07 μm

VPS
 R_a 48.59 μm

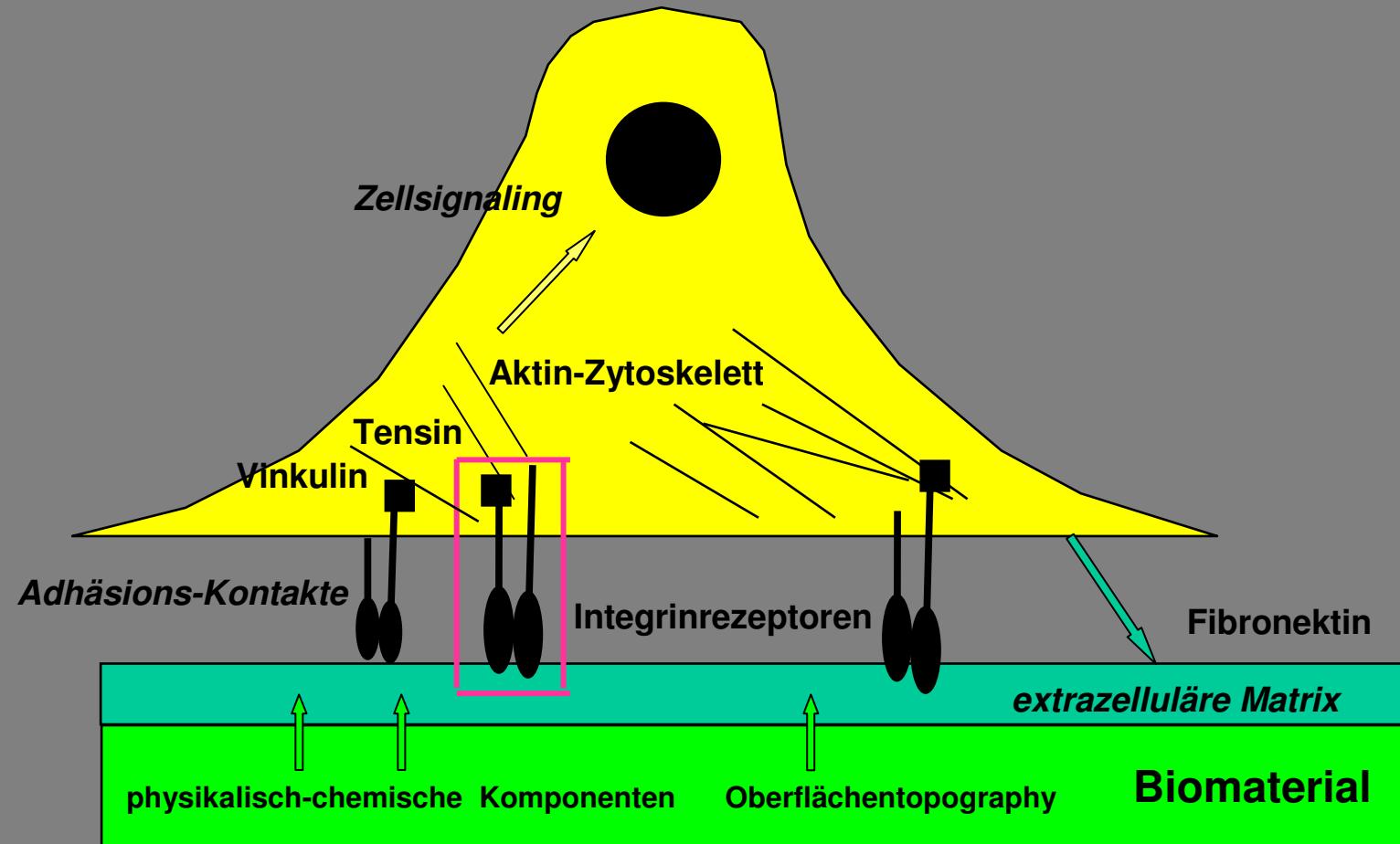
Titan pur (Grad 2) DOT GmbH

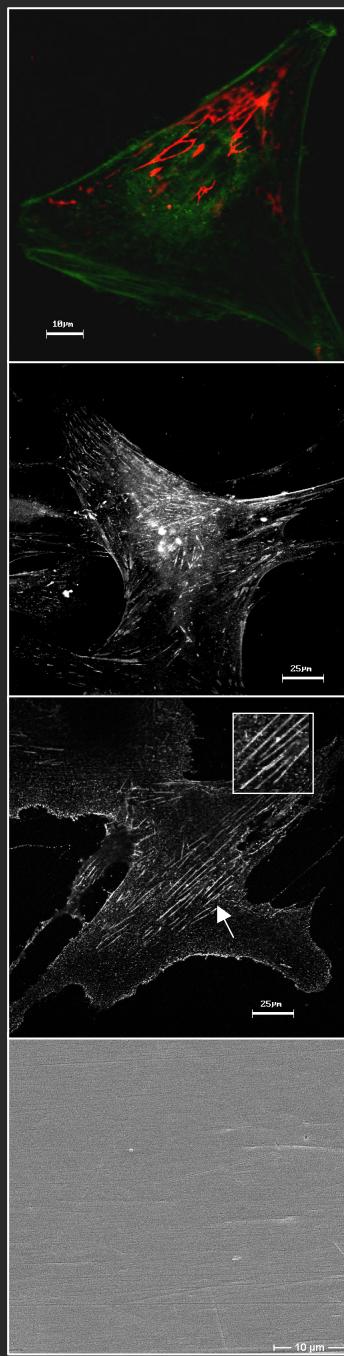
P poliert 4000er Feinschliffpapier
NT abgedreht

GB Glas gestrahlt
CB Korund gestrahlt
VPS Vakuum Plasma gespritzt

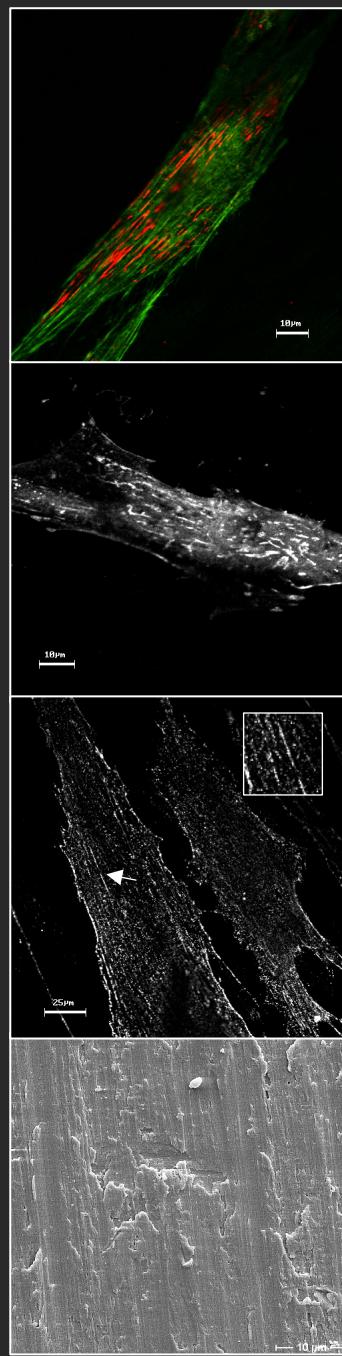
Glaspartikel, 180-300 μm, 3.5 bar
Aluminiumoxid-Partikel, 500-600 μm, 6.0 bar
Schichtdicke 250 μm + Aluminiumoxid-Partikel, 500-600 μm, 3.5 bar

Grenzflächeninteraktion Zelle - Implantatoberfläche

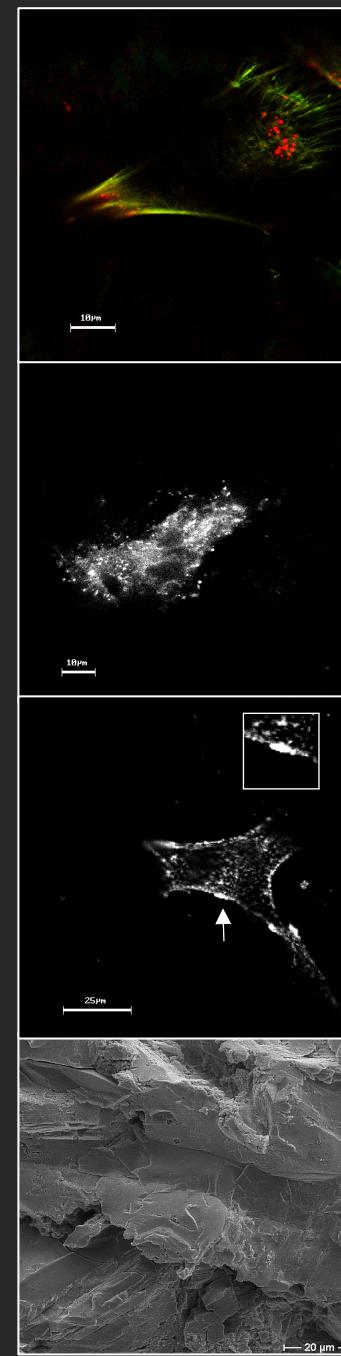




poliert



maschiniert



Korund gestrahlrt

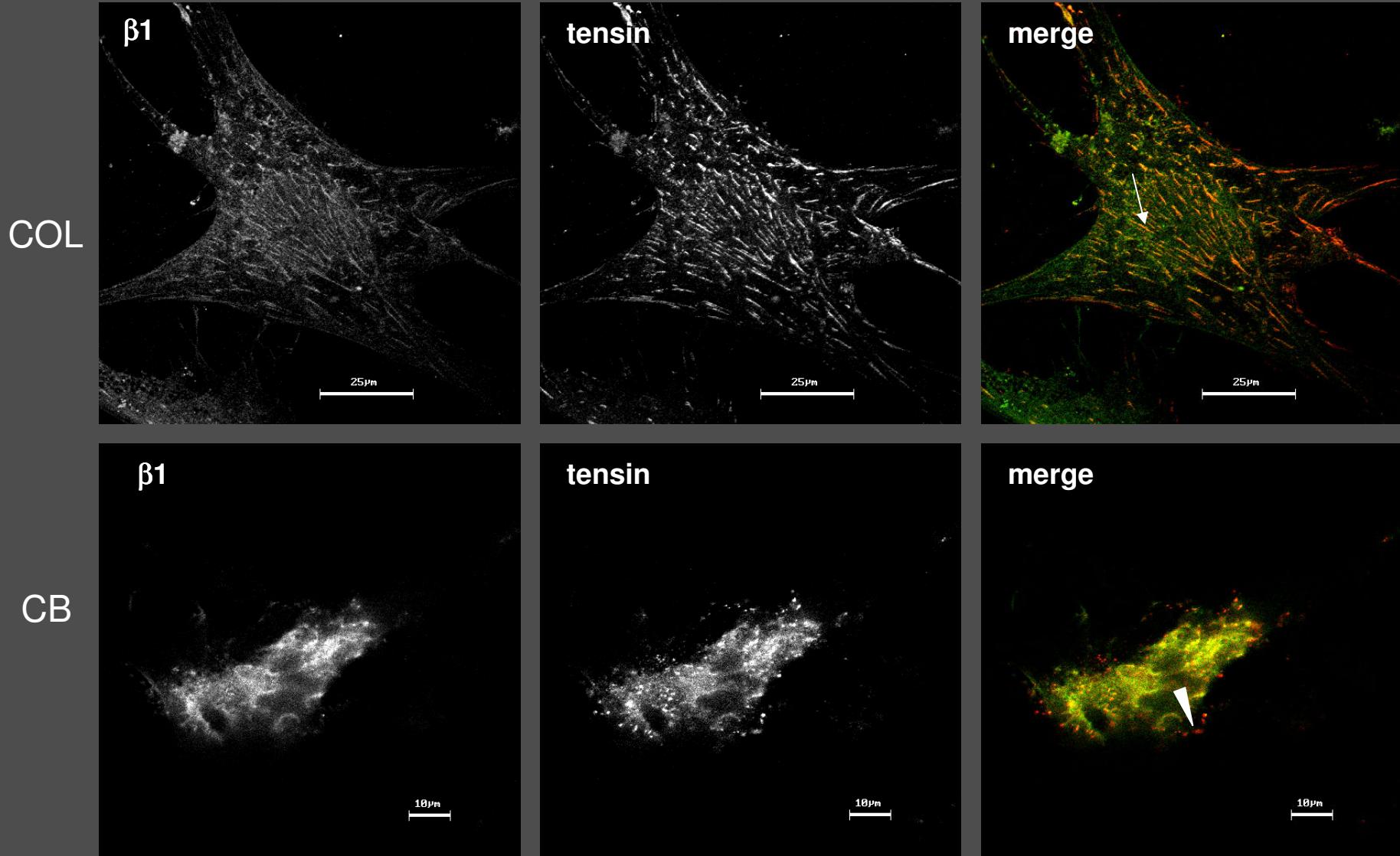
Aktin / FN

Tensin

β 1-Integrine

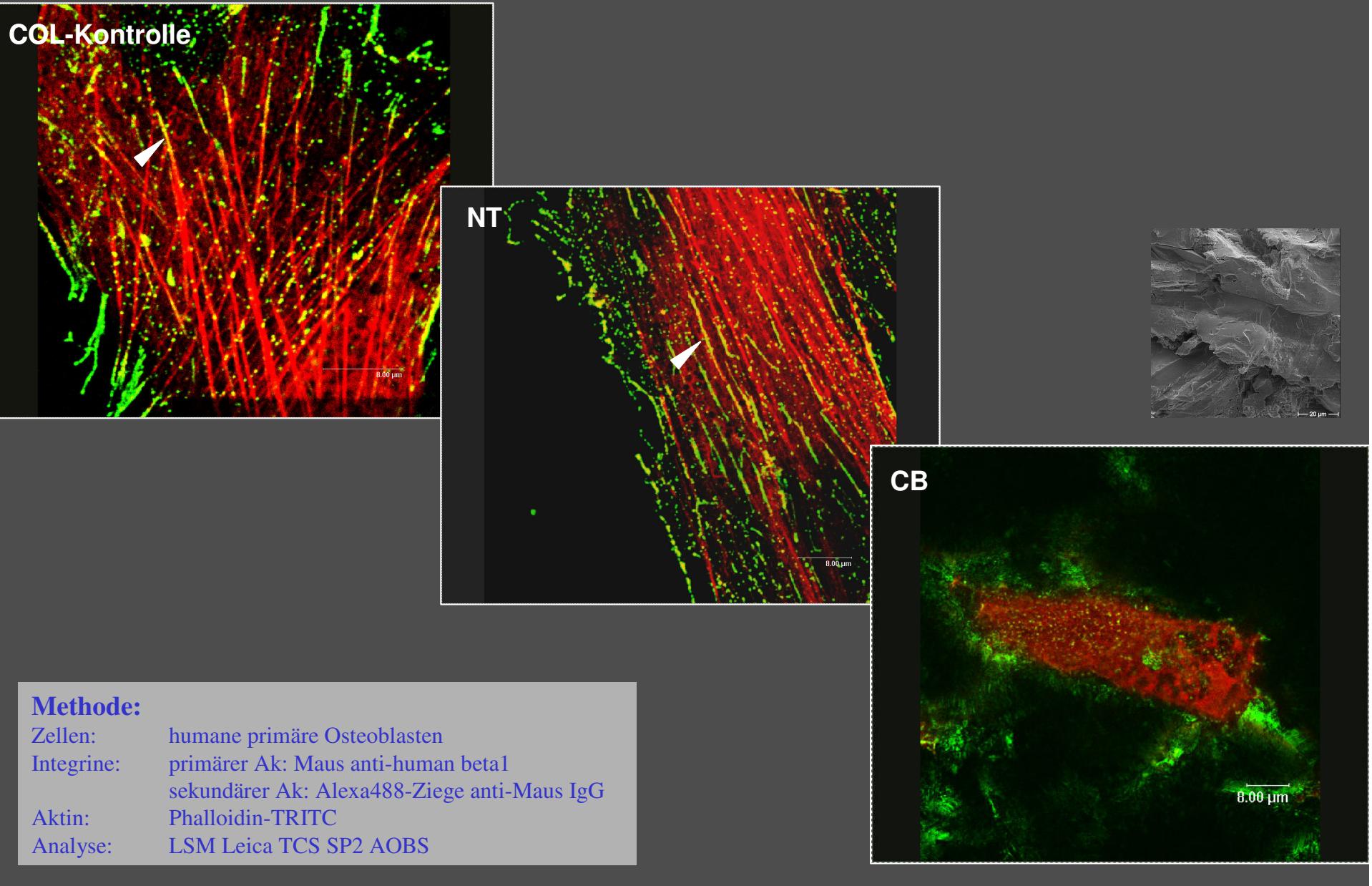
Titan
Topographie

Localization of β 1 integrins and tensin in primary osteoblasts

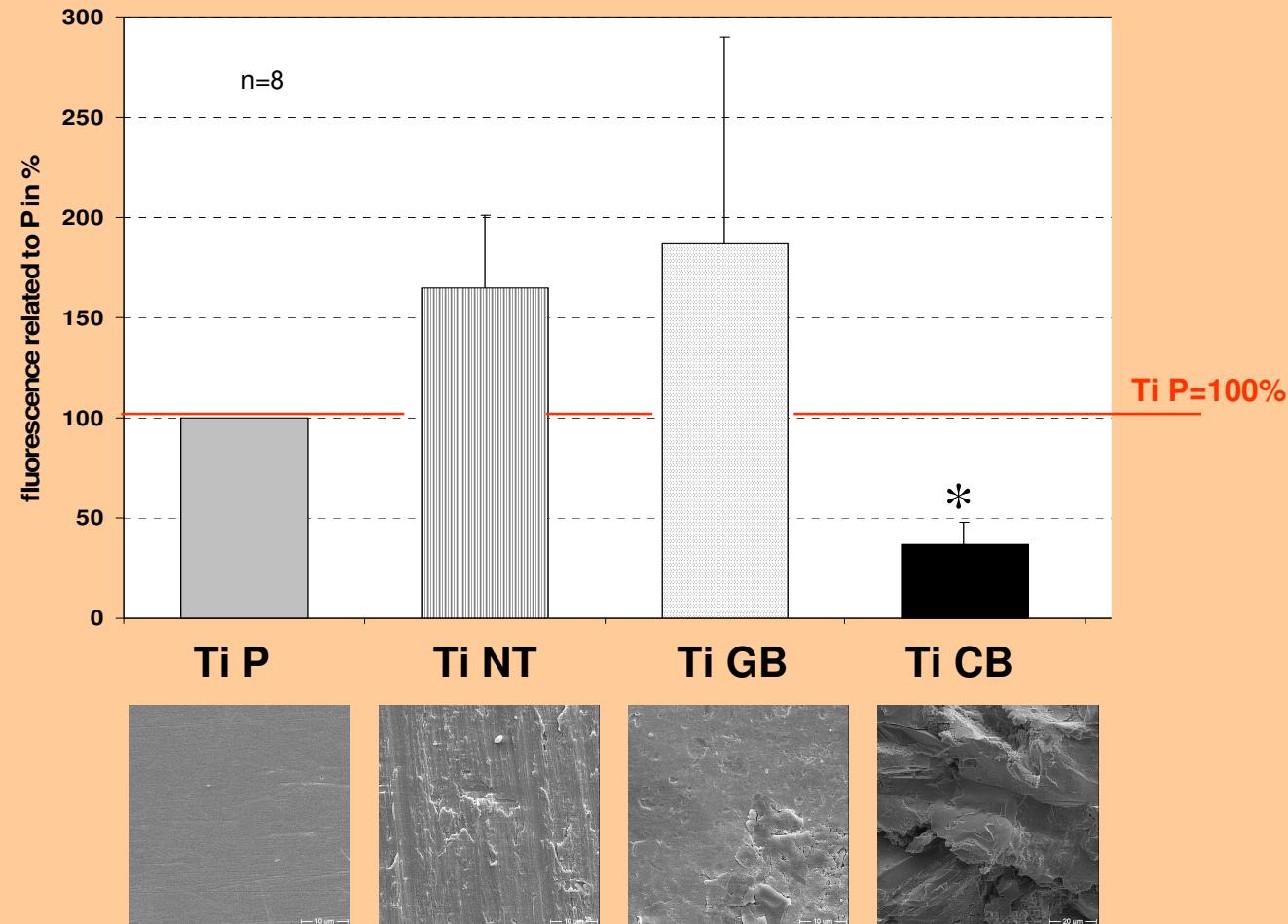


Method: 24 h culture, DMEM +10% FCS, anti- β 1 mAb + goat anti-mouse secondary Ab 488Alexa, anti-tensin mAb +secondary Ab Cy3, confocal LSM 410

Kolokalisation von $\beta 1$ -Integrinen (grün) mit dem Aktin-Zytoskelett (rot) - beeinflusst durch die Struktur des Titans

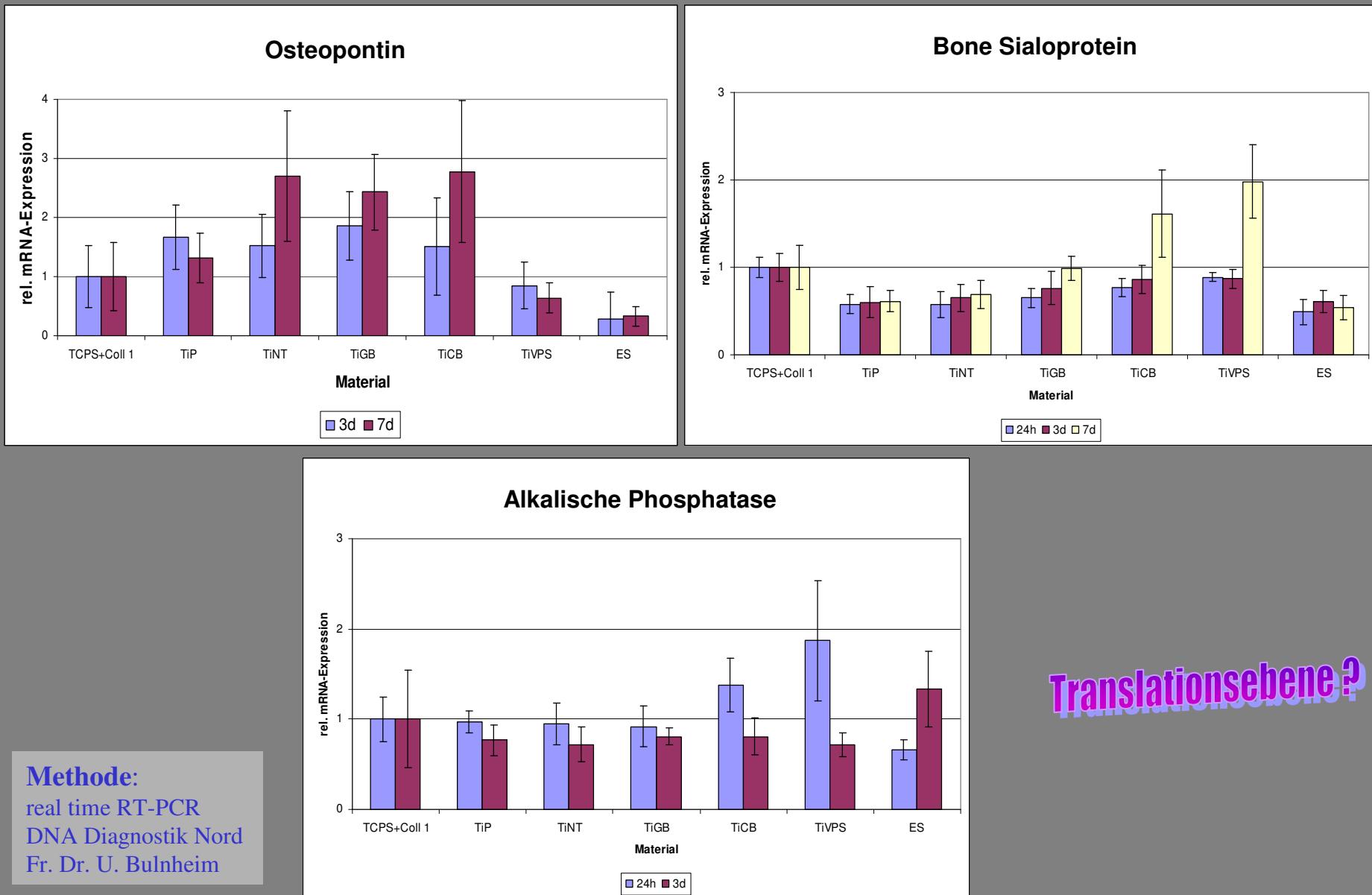


Mineralisierung humaner Osteoblasten auf strukturiertem Titan



T-Test, gepaart, * $p<0.005$ CB+NT

mRNA Expression von Differenzierungsmarkern von MG-63 Osteoblasten



Physikalisch-chemische Materialeigenschaften

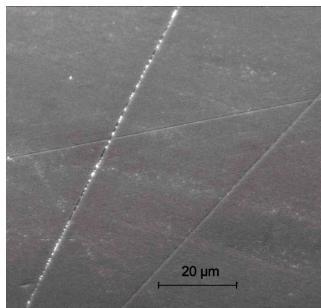
- Mittenrauhwert r_a (Tastschnittmessungen)
- Korrosionspotential E_{corr} (LSV)
- Korrosionswiderstand R_{corr} (LSV)
- Korrosionsstrom I_{corr} (LSV)
- Oberflächenladung Q (CA)
- Elektrochemische Doppelschichtkapazität C (EIS)
- Fraktale Dimension D_F (LSV, EIS, DIP)

Methodik:

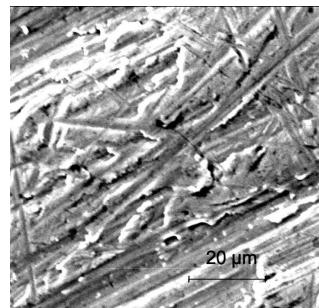
- LSV → Linear Sweep Voltammetry
- CA → Chronoamperometrie
- EIS → Elektrochemische Impedanzspektroskopie
- DIP → Digitale Bildverarbeitung

Oberflächenmodifikationen von Titan

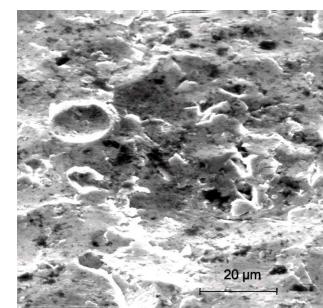
Poliert
(P)



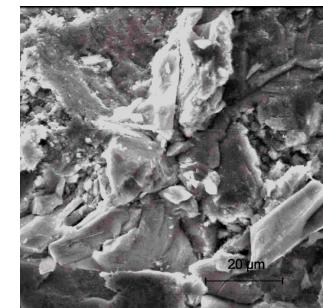
Maschiniert
(M)



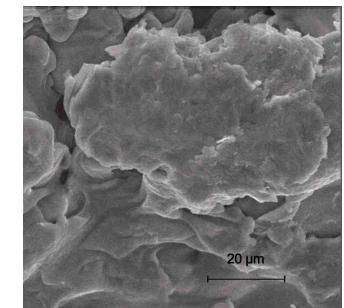
Glasgestrahlt
(G)



Korundgestrahlt
6 bar (C6)



Vakuumplasma
gespritzt
rauh (VR)



$r_a =$
 $0.07 \mu\text{m}$

$r_a =$
 $0.53 \mu\text{m}$

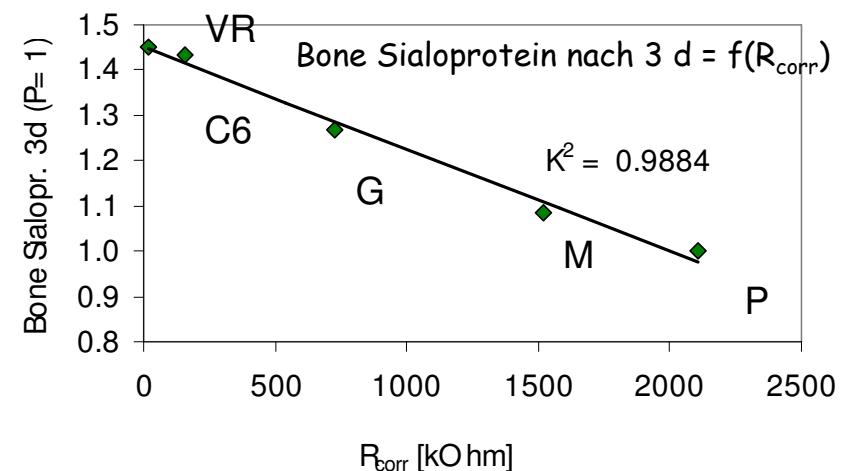
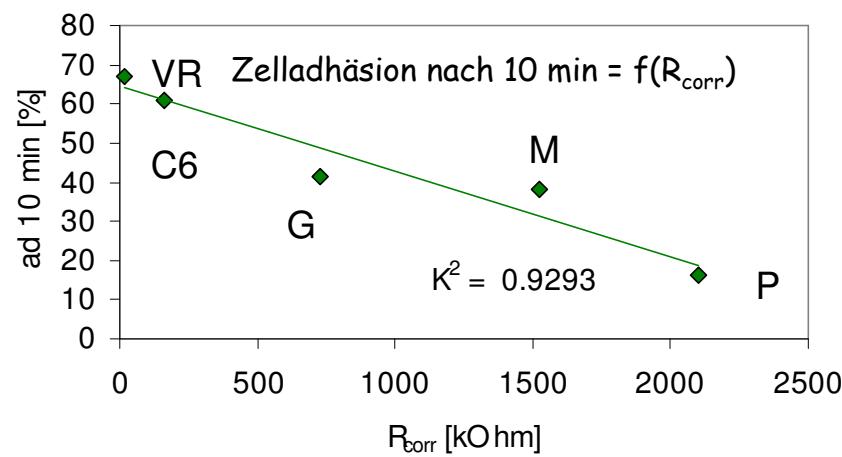
$r_a =$
 $1.22 \mu\text{m}$

$r_a =$
 $6.07 \mu\text{m}$

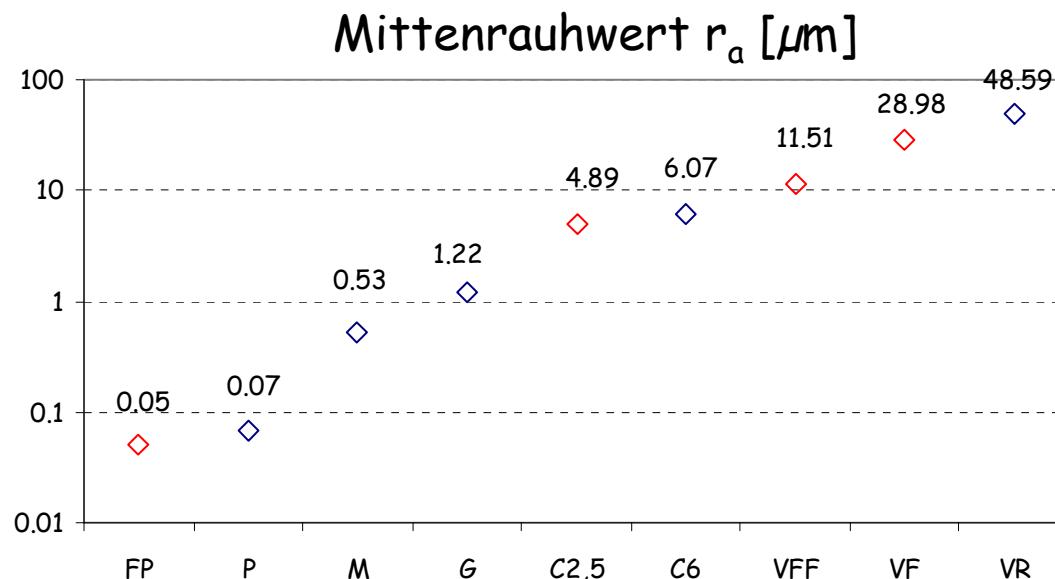
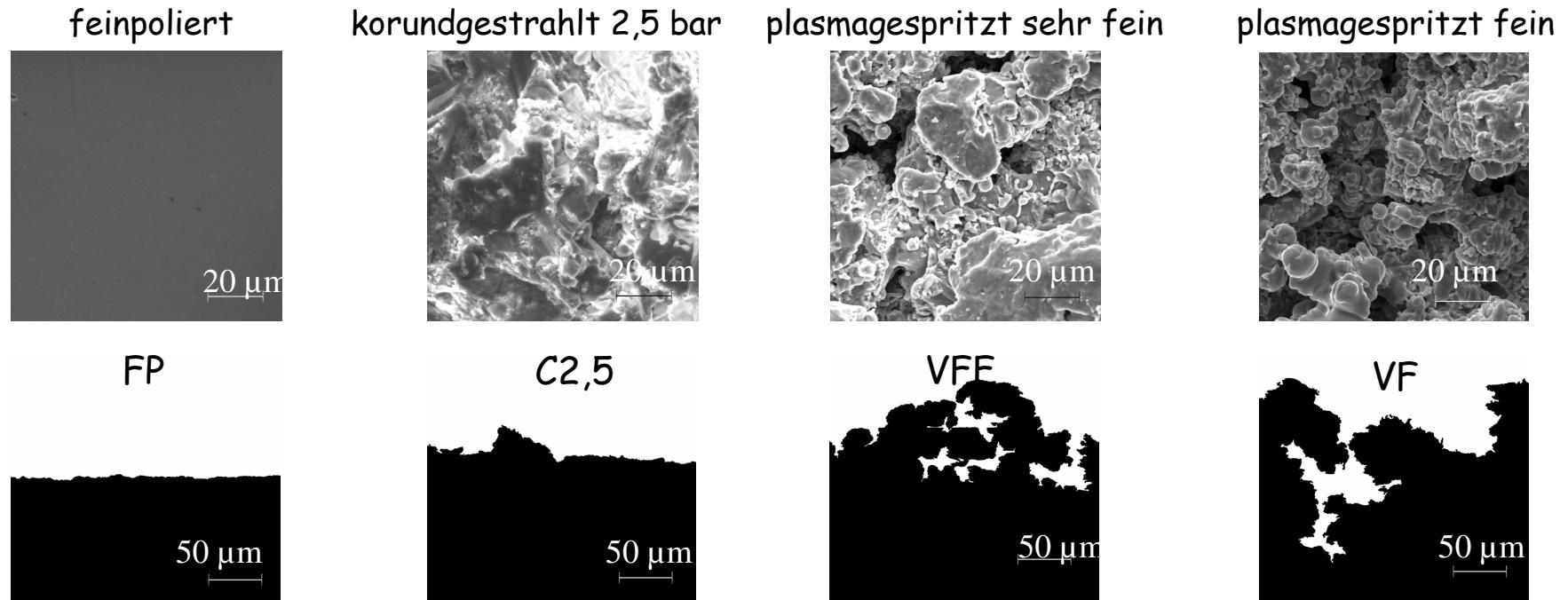
$r_a =$
 $48.59 \mu\text{m}$

Korrelationskoeffizient nach Pearson

	Integrin-expression			Zell-adhäsion			β_1 - Integrin-Länge	Zellausbreitung						Proliferation 24h	Vinculin			Genexpression						
								Fläche		Form														
	$\alpha 3$	$\alpha 2$	$\alpha 5$	5 min	10 min	15 min		MG63	POB	3h	16h	40h	3h	16h	24h	40h	Länge	Dynamik	Anzahl	Alkal. Phosphatase 24h	Osteopontin 3d	24h	3d	7d
r_a [μm]																								
E_{corr} [mV]																								
R_{corr} [kOhm]					X																			
I_{corr} [nA]						X																		
Q [μC]																								
C [μF] (1 kHz)																								
D_F (LSV)																								
D_F (ES)																								
D_F (DIP)																								
Struktur-modifikationen	5	5	5	5	5	5	3	3	4	4	4	4	4	4	4	5	4	4	4	5	5	5	5	5



Zusätzliche Oberflächenmodifikationen



Korrelationskoeffizient nach Pearson

0.7 <= |K| < 0.8

0.8 <= |K| < 0.9

0.9 <= |K| < 1.0

r_a [μm]

R_{corr} [$\text{kO}\ \text{hm}$]

I_{corr} [nA]

Q [μC]

C [μF] (1 kHz)

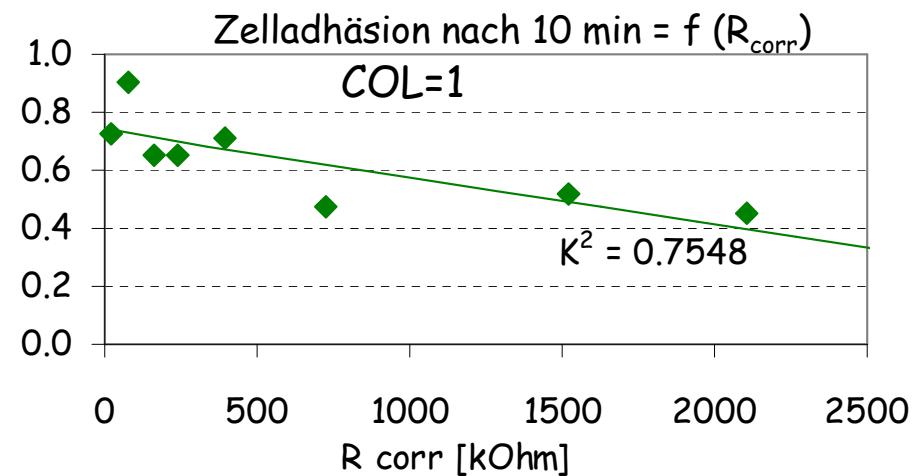
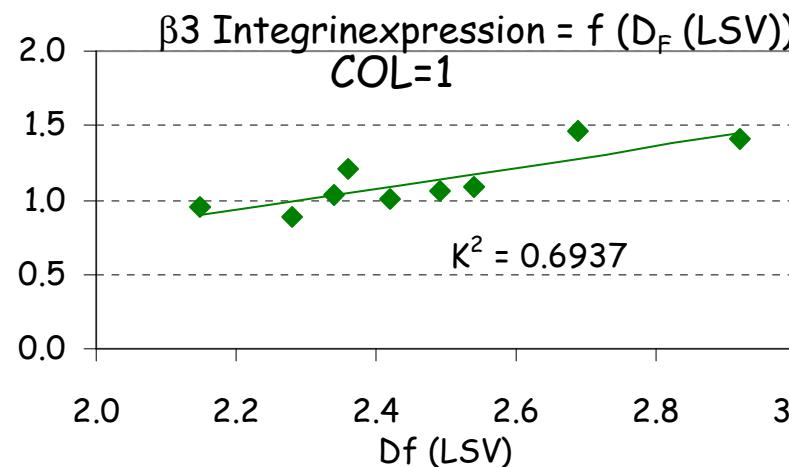
D_F (BS)

D_F (LSV)

D_F (DIP)

Struktur-
modifikationen

	Integrinexpression					Zelladhäsion		$\beta 1$ Integrin- länge	Proliferation
	$\beta 1$	$\alpha 3$	$\alpha 2$	$\alpha 5$	$\beta 3$	10 min	15 min	MG63	24h
r_a [μm]									
R_{corr} [$\text{kO}\ \text{hm}$]						X			
I_{corr} [nA]									
Q [μC]									
C [μF] (1 kHz)									
D_F (BS)									
D_F (LSV)		X							
D_F (DIP)									
Struktur- modifikationen	9	9	9	9	9	9	9	6	9



Ausblick

- Zusätzliche biologische und physikalisch-chemische Parameter
- Erweiterung der Strukturpalette mit definierten geometrischen Strukturen
- Funktionale Abhängigkeiten des Zellverhaltens von der OF-Struktur

Geplante Poster ab Mai 2003

Poster

Datum	Anlass	Autoren	Thema
2003	BIOmaterialien 2 (2003) 128	Lüthen, Becker, Lange, Rychly, Beck, Nebe	Effects of titanium topography on the formation of integrin adhesions in human osteoblasts.
2003	BIOmaterialien 2 (2003) 98	Diener, Nebe, Lüthen, Becker, Neumann, Rychly	Formation of focal adhesions are controlled by surface characteristics of a biomaterial.
2003	BIOmaterialien 2 (2003) 122	Lange, Lüthen, Kirbs, Becker, Müller, Rychly, Beck, Nebe	Correlation between morphological characteristics of microstructured surfaces of titanium implants and cell biological parameters.
10/2003	ESB Stuttgart	Lüthen, Diener, Bulnheim, Teller, Nebe, Beck, Krause, Neumann, Rychly	Adhesion and gene expression in osteoblasts on sol-gel-derived calcium phosphate coatings.
10/2003	ESB Stuttgart	Lange, Lüthen, Kirbs, Becker, Müller, Rychly, Nebe, Beck	Correlation between biological parameters of cells on micro structured titanium surfaces and its topographical characteristics.
2004	DGZ, Berlin Eur J Cell Biol 83 (2004) S 2/37	Diener, Nebe, Lüthen, Becker, Neumann, Rychly	Dynamics of focal adhesions in osteoblastic cells are controlled by characteristics of biomaterial surfaces.
06/2004	ECM Davos, Schweiz	Lange, Lüthen, Kirbs, Müller, Rychly, Nebe, Beck	An attempt to correlate the characteristics of micro structured surfaces of titanium implants and biological parameters of adhesive cells
09/2004	Symposium Biomaterialien in der Zahnmedizin, Rostock- Warnemünde	Lange, Lüthen, Kirbs, Baumann, Müller, Rychly, Nebe, Beck	A contribution to the correlation between physico-chemical properties of micro structured implants and cell biological parameters