

## PROJEKTBEISPIEL: BIOKOMPATIBLE HYBRIDKERAMIKEN ALS KNOCHENERSATZ

### Situation

Das menschliche Skelett besteht aus über 200 Knochen, die unseren Körper von innen stützen. Bei einfachen Frakturen ist der Körper, nach Fixierung der Fraktur, in der Lage, mittels regenerativer Prozesse, an denen unter anderen mesenchymale Stammzellen (MSC) beteiligt sind, die beiden Bruchenden miteinander zu verbinden und damit die ursprüngliche Stabilität des Knochens wiederherzustellen. Bei komplexeren Knochenverletzungen reicht diese Selbstheilung des Körpers nicht aus, um eine vollständige Wiederherstellung zu gewährleisten. In solchen Fällen muss der Knochen mittels operativen Eingriffs mit z. B. Metallimplantaten gestützt werden (Osteosynthese). In besonders schweren Fällen muss der verletzte Bereich sogar komplett ersetzt werden. Hierfür stehen zwar Knochenersatzimplantate zur Verfügung, diese sind jedoch als Dauerimplantate mechanisch nicht ausreichend stabil oder werden vom menschlichen Körper nicht schnell genug abgebaut und durch körpereigene Materialien ersetzt. Ziel ist daher die Entwicklung biokompatibler Materialien auf Basis von Hybrid- oder Mischkeramiken mit knochenähnlicher Porenstruktur, die beide erforderlichen Eigenschaften, hohe Stabilität und vollständige Biodegradierung, vereinen.

### Ergebnisse

Die entwickelten Knochenersatzmaterialien (Abbildung 1) wurden *in vitro* auf ihre zelluläre Verträglichkeit (Biokompatibilität) geprüft. In quantitativen Extrakttests und qualitativen Kontakttests wurde der Einfluss der neuen Materialkombinationen auf die Stoffwechselaktivität und das Proliferationsverhalten von Zellen untersucht. Dabei konnte eine unbedenkliche Wirkung der Knochenersatzmaterialien auf die Zellen nachgewiesen werden. Bei der Knochenregeneration sind vor allem Thrombozyten, Periostzellen, mesenchymale Vorläuferzellen und mesenchymale Stammzellen (MSC) beteiligt. Aufgrund dessen erfolgten auf den biokompatiblen Hybridmaterialien Besiedlungstests mit MSC, bei denen die Anhaftung, Proliferation sowie das Einwachsen in die porösen Strukturen untersucht wurden. Humane mesenchymale Stammzellen sind multipotente adulte Stammzellen aus dem Knochenmark. Sie sind in der Lage, sich *in vitro* über mehrere Monate zu vermehren und in spezifische Zelltypen wie z. B. Osteoblasten zu differenzieren. Als Osteoblasten werden die Knochen bildenden Zellen bezeichnet. Osteoblasten scheiden Proteine wie z. B. Kollagen Typ I in den extrazellulären Raum aus. In dieses Proteingeflecht werden Kalziumphosphate und Kalziumkarbonate eingelagert, wodurch der Extrazellulärraum kalzifiziert wird und seine für den Knochen typische Stabilität erhält.

Zusätzlich zu den Besiedlungstests erfolgte die Untersuchung der osteogenen Differenzierbarkeit der MSC auf den neuen Hybridmaterialien. Die Differenzierbarkeit stellt neben der Biokompatibilität ein entscheidendes Merkmal für die Auswahl der neuen Knochenersatzmaterialien dar. Nach dreiwöchiger Differenzierungszeit konnten mittels immunzytochemischer Färbung die extrazellulären Kollagen-Typ-I-Fibrillen und damit die erfolgreiche osteogene Differenzierung nachgewiesen werden (Abbildung 2). Damit erfüllen die Hybridmaterialien *in vitro* die erforderlichen Eigenschaften für Knochenersatzimplantate wie die zelluläre Verträglichkeit, die Unterstützung des Einwachsens der Zellen in die Probe sowie die osteogene Differenzierung.

<sup>1</sup> Poröse Hybridkeramik als Knochenersatzmaterial.



## PROJECT EXAMPLE: BIOCOMPATIBLE HYBRID CERAMICS AS BONE SUBSTITUTE

### Situation

The human skeleton is made up of more than 200 bones that stabilize the body from the inside. In the case of simple fractures, the body, after fixation of the fracture, has the regenerative ability to join the two bone ends together and thus restore the original stability of the bone. In this regeneration process mesenchymal stem cells (MSC) are involved among others. In the case of more complex bone injuries, this self-healing process is not sufficient to ensure a complete restoration. In such cases the bone has to be supported by operative interventions, e. g. metal implants (osteosynthesis). In particularly difficult cases, the injured area has to be completely replaced.

Although there are bone substitute implants available for this purpose, these do not have the required mechanical stability for permanent implants, or they are not degraded quickly enough and replaced by endogenous materials by the human body. The aim is, therefore, the development of biocompatible materials on the basis of hybrid or mixed ceramics with a bonelike pore structure that combine the two required properties of high stability and complete biodegradation.

### Results

The bone substitute materials developed (Fig. 1) were tested in vitro for their cellular compatibility (biocompatibility). Quantitative extract tests and qualitative contact tests were used to examine the influence of the new material combinations on the metabolic activity and the proliferation of cells. Thereby, a harmless effect of the bone substitute material on the cells was verified. The bone regeneration process involves mainly

thrombocytes, periosteal cells, mesenchymal precursor cells and mesenchymal stem cells (MSC). On this basis, colonization tests were carried out with MSC on the biocompatible materials in which the adhesion, proliferation and the ability to grow into the porous structures were examined. Human mesenchymal stem cells are multipotent, adult stem cells from the bone marrow. They are able to reproduce themselves in vitro over several months and to differentiate into specific cell types such as osteoblasts, i.e. bone-forming cells. Osteoblasts secrete proteins such as collagen type I into the extracellular space. Calcium phosphates and calcium carbonates are deposited in this mesh of protein, which calcifies the extracellular matrix and results in the typical stability of bone.

In addition to the colonization tests, the potential of the MSC on the new hybrid material to differentiate into osteogenic lineage was investigated. Beside the biocompatibility, the potential to induce differentiation is a decisive factor for the selection of new bone substitute materials. After three weeks of differentiation, successful osteogenic differentiation was shown by immunocytochemical staining of the extracellular collagen type I fibrils (Fig. 2). This means that the hybrid materials fulfil the necessary requirements in vitro for bone substitute implants such as cellular compatibility, support of growth of the cells into the sample as well as the osteogenic differentiation.

1 Porous hybrid ceramic as bone substitute material.

### **Ausblick**

Durch die In-vitro-Tests konnten die Biokompatibilität der Knochenersatzmaterialien sowie die Unterstützung der osteogenen Differenzierung nachgewiesen werden. Dadurch sind die Grundlagen geschaffen, um die Eignung der neuen Ersatzmaterialien in weiterführenden Studien z. B. in vivo zu untersuchen.

### **Hintergrund**

Die hier dargestellten Arbeiten erfolgten in Zusammenarbeit mit der Arbeitsgruppe Fertigungstechnologie des Fraunhofer-Instituts für Keramische Technologien und Systeme (IKTS) in Dresden und wurden von der Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e. V. im Rahmen einer »Mittelstandsorientierten Eigenforschung« (MEF) gefördert.

### **Ansprechpartner**

Dr. Erwin Gorjup

Telefon: +49 (0)6894/980-274

erwin.gorjup@ibmt.fraunhofer.de

*2 Osteogen differenzierte mesenchymale Stammzellen (MSC) auf neuartigen Knochenersatzstrukturen bilden das fibrilläre Kollagen Typ I (grün). Die Zellkerne sind blau gefärbt.*

## Outlook

With the in vitro tests it was possible to verify the biocompatibility of the bone substitute materials as well as the support of the osteogenic differentiation. This means that the ground has been laid to examine the suitability of the new substitute materials in further-going studies, e. g. in vivo.

## Background

The works represented here were carried out in collaboration with the production technology working group of the Fraunhofer Institute for Ceramic Technologies and Systems (IKTS) in Dresden and were funded by the Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e. V. within the framework of an "SME-oriented self research" project.

## Contact

Dr. Erwin Gorjup  
Telephone: +49 (0)6894/980-274  
erwin.gorjup@ibmt.fraunhofer.de

*2 Osteogenic differentiated mesenchymal stem cells (MSC) on innovative bone substitute structures form the fibril collagen type I (green). The cell nuclei are stained blue.*