

WISSENSCHAFTS JOURNAL

der
Martin-Luther-Universität
Halle–Wittenberg



1502

500

2002

scientia halensis

- »Biomaterialien« - aus verschiedenen Blickwinkeln
- Wechselwirkung zwischen Lebewesen und Materialien
- Aktuelle Aspekte bei der Entwicklung von Pharmaka
- »Coole Techniken« für die Mikroskopie

2/01



Editorial

Hans-Reiner Höche 2

Schwerpunktthema »Biomaterialien«**Polymerwerkstoffe in der Medizin**

»Maßgeschneiderte« Eigenschaften von Materialien

Sven Henning und Goerg H. Michler 3

Knochen als Kompositwerkstoff

Nachahmung von Materialien aus der Natur

Sven Henning und Goerg H. Michler 5

Environmental Scanning Electron Microscopy (ESEM)**an wasserhaltigen Objekten und Biomaterialien**

Hans-Reiner Höche, Andreas Röder und Frank Heyroth 7

Attraktiver Studiengang mit guten Berufschancen

Zusammenspiel zwischen Ingenieurwissenschaften und Medizin

Jörg Kreßler 9

Wechselwirkung zwischen Lebewesen und Material

Im Trend von Forschung und Lehre: Biomedizinische Materialien

Jürgen Vogel und Jörg Kreßler 10

Materialien für Zahnersatz

Spezifische Anforderungen an Werkstoffe im Mund

Jürgen Setz 12

Biokompatible Kunststoffe in der Augenheilkunde

Vielfältige Hilfsmittel zur Erhaltung der Sehkraft

Thomas Hammer und Gernot I. W. Duncker 14

Personalia 16

Nur ein Tropfen Blut ...

Alkoholsündern schneller auf der Spur

René Csuk 17

Wirkung von »Molekulpumpen«

Hochaktuelle Zielstrukturen der Arzneimittelforschung

Peter Nuhn, Hildegard Spahn-Langguth und Andreas Langner 19

Signalwege in pH-Landschaften:

Die Induktion des Sekundärstoffwechsels in Pflanzenzellen

Werner Roos, Katrin Viehweger, Astrid Nitzsche und Wieland Schwartze 22

Projekte aus dem Biozentrum der Universität**Pflanzliche Zell- und Gewebekulturen**

Nutzung in Forschung und Praxis

Margret Köck 25

Wirkstoffe aus Pflanzen

Naturstoffe bei der Entwicklung neuer Pharmaka

Reinhard Paschke und Jutta Kalbitz 28

»Coole Techniken« für die Mikroskopie biologischer Materialien

Kryopräparationsverfahren in zentraler Verfügbarkeit am Biozentrum

Gerd Hause 30

Tierische Zellkulturen in der Arzneimittelforschung:

In vitro-Modelle für epitheliale Schranken

Matthias Brandsch, Kathrin Möbus und Reinhard Neubert 32

Gebäude der Bio-Zentrum Halle GmbH

Forschungs-Schwerpunkt Biowissenschaften am Weinberg 34

Pharmazie-Kongress im Oktober 35

Autorenadressen und Rätselfoto 36

Titelbild: Siehe Seite 11 (Ingenieurwissenschaften) und Biozentrum (Fotos: Dietrich)
 Abbildung Innenumschlag: Im Gewächshaus des Forschungsverfügungsbauwerkes der Bio-Zentrum Halle GmbH. Hier werden unter anderem die Auswirkungen von Umwelteinflüssen auf Sonnenblumen untersucht (Foto: Olbertz).

IMPRESSUM

scientia halensis – Das Wissenschaftsjournal
 der Martin-Luther-Universität Halle-
 Wittenberg

Ausgabe 2/2001, 9. Jahrgang
 erscheint viermal im Jahr

HERAUSGEBER

Der Rektor der Martin-Luther-Universität
 Halle-Wittenberg

REDAKTION

Dr. Monika Lindner, Ute Olbertz (verant-
 wortlich für diese Ausgabe), Dr. Margarete
 Wein

REDAKTIONSBEIRAT (für *scientia halensis* –
 Universitätszeitung und Wissenschafts-
 journal):

Prof. Dr. Wilfried Grecksch (Rektor),
 Prof. Dr. Dr. Gunnar Berg, Prof. Dr. René
 Csuk, Prof. Dr. Gernot I. W. Duncker,
 Dr. Frank Eigenfeld, Dr. Renate Federle,
 Dr. Roswitha Geiling, Prof. Dr. Siegfried
 Hoffmann, Prof. Dr. Manfred Lemmer,
 Dr. Monika Lindner, Ute Olbertz, Katrin
 Rehschuh, Prof. Dr. Hans-Joachim Solms,
 Dr. Ralf-Torsten Speler, Dr. Margarete Wein,
 Prof. Dr. Alois Wenig

GRAFIK-DESIGN

Barbara und Joachim Dimanski
 Dipl.-Grafik-Designer AGD/BBK

ANSCHRIFT DER REDAKTION

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Rektorat, 06099 Halle (Saale)

Besucheranschrift: Universitätsring 14

Telefon: (0345) 552 14 20/22/24,

Fax: (0345) 552 70 82, 552 72 54

E-Mail:

m.lindner@verwaltung.uni-halle.de

m.olbertz@verwaltung.uni-halle.de

m.wein@verwaltung.uni-halle.de

Internet: <http://www.uni-halle.de>

LAYOUT

Ute Olbertz

Jens Gerth (Umschlagseiten)

DRUCKVORBEREITUNG & DRUCK

Satz & Grafik Halle

Union Druck Halle

ANZEIGENPREISLISTE

Nr. 1/2001

Namentlich gekennzeichnete Beiträge geben
 nicht unbedingt die Meinung der Redaktion
 oder des Herausgebers wieder.

Für unaufgefordert eingesandte Manuskripte
 oder Bilder keine Haftung.

ISSN 0945-9529

Die *scientia halensis* erscheint mit freundlicher
 Unterstützung der *Vereinigung der
 Freunde und Förderer der Martin-Luther-
 Universität Halle-Wittenberg e. V.*

EDITORIAL

Hans-Reiner Höche

2

Mit diesem Heft der scientia halensis wird der Versuch unternommen, die auf dem Gebiet der Biomaterialien an der Martin-Luther-Universität durchgeführten Forschungen anschaulich darzustellen. Die Arbeiten sind vom Ansatz her stark interdisziplinär, da es ja um die Verknüpfung der Materialwissenschaften mit den jeweiligen biologischen oder medizinischen Fragestellungen geht.

Für die Bearbeitung solcher Themen bietet die Universität mit den in den verschiedenen Bereichen kultivierten experimentellen und theoretischen Methoden eine tragfähige Basis. In Zeiten begrenzter Ressourcen müssen die Universitäten wissenschaftliche Schwerpunkte definieren. An der Martin-Luther-Universität gehören dazu die Biowissenschaften und die Materialwissenschaften. Mit den Arbeiten zum Problembereich der Biomaterialien kann ein Brückenschlag zwischen diesen beiden naturwissenschaftlichen Schwerpunkten der Universität vollzogen werden.

Unter dem Begriff Biomaterialien werden ganz verschiedene Inhalte verstanden, z. B. nachwachsende Rohstoffe, biologisch abbaubare Materialien, Substitut- und Implantatmaterialien der Medizin mit besonderer Gewichtung der Biokompatibilität und Langzeitstabilität, aber auch Materialien, die eine bestimmte Reaktion der Organismen auslösen und der ganze Bereich der Zellkulturen und Wirkstoffe. Gerade die Wechselwirkung der biologischen Systeme, der einzelnen Organismen bis hinab auf die Ebene der Zellen und Biomoleküle mit angrenzenden anderen anorganischen, organischen oder biologischen Materialien stellt eine große Herausforderung für die Naturwissenschaften und die Medizin dar.

Die Bedeutung dieser Themen kommt auch darin zum Ausdruck, dass das Jahr 2001 vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) zum Jahr der Lebenswissenschaften erklärt wurde, das zwar weit über die Biomaterialien hinausgeht,

aber die aufgeworfenen Problemstellungen umfasst.

Die Martin-Luther-Universität hat mit der Einrichtung des Studiengangs Biomedizinische Materialien am Fachbereich Ingenieurwissenschaften der Gewichtung der Biomaterialien im Rahmen der Materialwissenschaften entsprochen. Das wissenschaftliche und wirtschaftliche Potenzial der biomedizinischen Materialien ist in der Wechselwirkung mit der Medizintechnik sehr hoch einzuschätzen. ■

POLYMERWERKSTOFFE IN DER MEDIZIN

»MAß GESCHNEIDERTE« EIGENSCHAFTEN VON MATERIALIEN

Sven Henning und Goerg H. Michler

Kunststoffe haben in den vergangenen einhundert Jahren ein weites Feld von Anwendungen in der Technik erobert und dort nicht nur herkömmliche Werkstoffe verdrängt, sondern aufgrund ihrer vielfältig einstellbaren Eigenschaften völlig neue Produkte hervorgebracht. Seit nunmehr 50 Jahren werden Polymerwerkstoffe mehr und mehr auch für biomedizinische Zwecke unverzichtbar. Polymere Verpackungen und sterilisierbare Einwegzeugnisse, essentielle Bauteile und Baugruppen medizintechnischer Geräte, hochspezialisierte Implantate zur dauerhaften Unterstützung von Organfunktionen und Materialien mit einstellbaren Resorptionszeiträumen und zur zeitlich gesteuerten Medikamentenfreisetzung gehören heute wie selbstverständlich in die Rüstkammer des Bioingenieurs (Abb. 1). Die nächsten Jahrzehnte werden geprägt sein von einer immer besseren strukturellen Anpassung der Werkstoffe an die zu übernehmenden funktionellen Aufgaben im menschlichen Körper. Materialwissenschaftliche Konzepte zu Struktur-Eigenschafts-Beziehungen in Polymerwerkstoffen und Kompositen sind der Schlüssel zur Optimierung bewährter Produkte und wichtiges Werkzeug bei der Entwicklung neuer biomedizinischer Materialien.

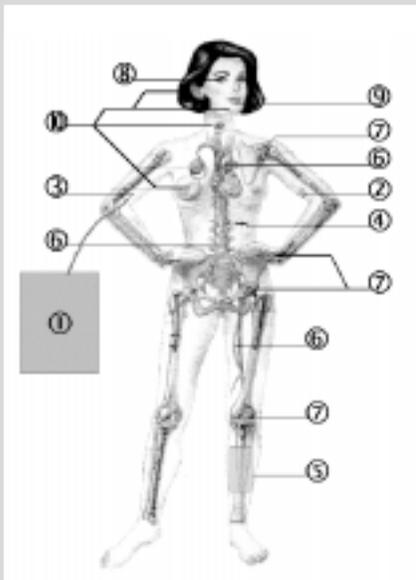


Abb. 1: Einige wichtige Einsatzgebiete von Polymerwerkstoffen in der Medizin

- 1: Membranen außerhalb des Körpers (Dialyse, Medikamentenabgabe)
- 2: Membranen innerhalb des Körpers und andere Systeme zur gezielten Medikamentenfreisetzung (*drug release*)
- 3: Einwegartikel (Blutbeutel, Spritzen)
- 4: Chirurgisches Nahtmaterial, inert oder resorbierbar
- 5: Materialien zum Hautersatz, transparente und resorbierbare Wundabdeckungen
- 6: Herzklappen, Gefäßersatz, Stents
- 7: Implantate für die Orthopädie, inert oder resorbierbar (Nägel, Platten, Knochenzement, Hüftgelenkspfannen)
- 8: Kontaktlinsen, Intraokularlinsen
- 9: Dentalmaterialien (Füllmaterialien), Gebisse
- 10: Silikonimplantate für wiederherstellende Chirurgie, Stimmprothesen u. a.

PMMA: Vom Plexiglas zu langlebigen Knochenzementen

Die klinische Geschichte des Polymethylmethacrylates (PMMA) begann nach dem 2. Weltkrieg mit der eher zufälligen Entdeckung, dass Plexiglassplitter geborstener Flugzeugkabinen im Gewebe verwundeter Piloten keinerlei chronische Fremdkörperreaktionen hervorgerufen haben. Dieses hochtransparente Material kennen Millionen Menschen auch im wahrsten Sinne des Wortes aus eigener Anschauung: Künstliche Linsen ermöglichen ihnen als Kontaktlinsen oder als fest implantierte Intraokularlinsen scharfes Sehen. Die Tatsache, dass das Material sich im menschlichen Körper neutral verhält, geht einher mit sehr günstigen Verarbeitungseigenschaften: Aus der Mischung eines feinerligen Pulvers des polymerisierten Materials und einer re-

aktionsfähigen Flüssigkomponente (dem monomeren Methylmethacrylat) wird ein Teig angerührt, der sich fast beliebig in Kavitäten des Knochens ausformen lässt und dort formschlüssig aushärtet. Hauptanwendungsgebiet derartiger Knochenzemente ist die Verankerung von Hüft- und Kniegelenksendoprothesen im Knochen nach Methoden, die direkt auf die bahnbrechenden Arbeiten von CHARNLEY in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts zurück zu führen sind. Revolutionär war die Idee, so den Kraftschluss zwischen nicht exakt ausarbeitbaren Materialpartnern herzustellen und damit die biomechanischen Verhältnisse im künstlichen Gelenk entscheidend zu verbessern. Der ausgehärtete Zement, der über Jahre starker mechanischer Wechsellast ausgesetzt ist, zeigt jedoch eine Vielzahl struktureller Defekte: Durch den Mischvorgang werden Luftblasen eingetragene, die zu gefährlichen Poren im Material führen (Abb. 2). Das in Partikelform eingearbeitete Röntgenkontrastmittel (Bariumsulfat, Zirkondioxid) bildet mitunter größere Agglomerate und das häufig beigegebene Antibiotikum wirkt als zusätzliche Störstelle. Resultat derartiger Fehlstellen sind feine Risse, deren Wachstum und Ausbreitung zu einer regelrechten Zerrüttung des Zementköchers und im Extremfall zur Implantatlockerung und damit zum Versagen des Implantats führen können. Die Entwicklung gegen Materialermüdung resistenter Knochenzemente basiert auf der konsequenten Anwendung von Konzep-

3

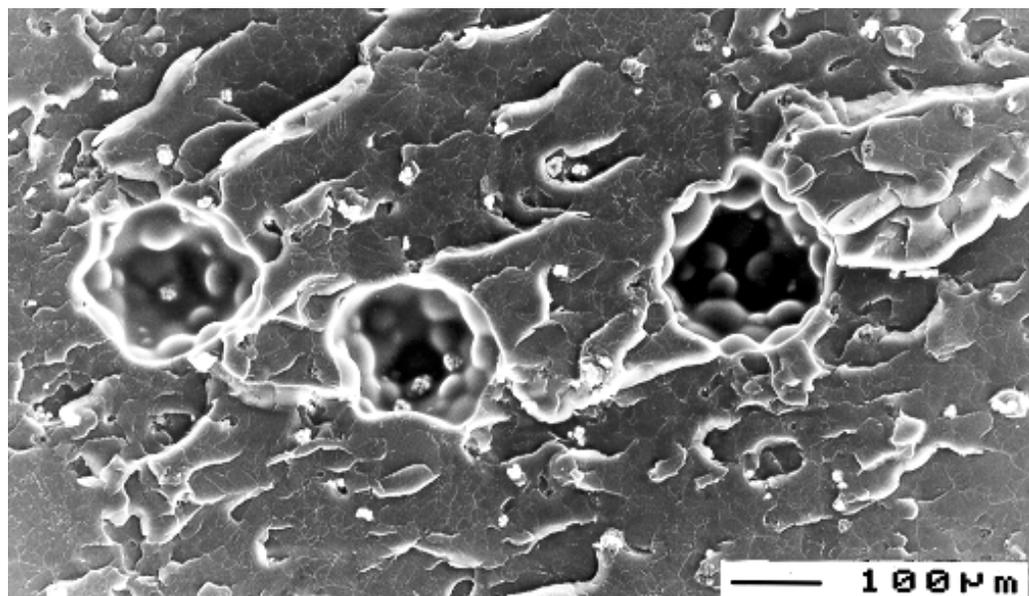


Abb. 2: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Bruchfläche eines Knochenzementes. Die erkennbaren Poren sind während der Verarbeitung einer Pulver- und einer Flüssigkeitskomponente zu einem selbst aushärtenden Teig erzeugt worden.

4

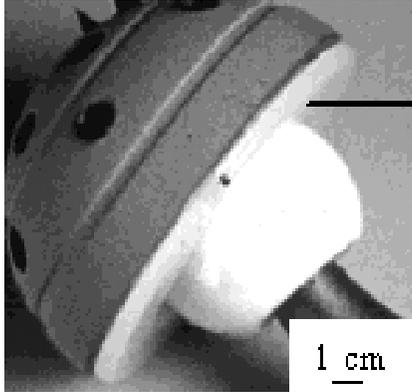


Abb. 3: Die transmissionselektronenmikroskopische Aufnahme eines UHMW-PE enthüllt die spezielle teilkristalline Struktur dieses Werkstoffes (Foto oben: Naumann), der z. B. in verschleißfesten Hüftgelenksprothesen (Abb. links) eingesetzt wird.

ten, die in den letzten Jahrzehnten für Polymere und Kompositwerkstoffe entwickelt wurden. Über die gezielte Einstellung der mikroskopischen Strukturen im Werkstoff, der Morphologie, können solch ungünstige Strukturen vermieden werden. Aus der Erfahrung mit vielen verschiedenen technisch eingesetzten Polymerwerkstoffen ist bekannt, dass Defekte unterhalb einer kritischen Größe nicht mehr katastrophal wirken müssen, sondern sogar gezielt zur Eigenschaftsverbesserung eingesetzt werden können. Solche aus der Kenntnis mikromechanischer Prinzipien abgeleiteten Entwicklungen sind z. B.:

- Einsatz von Copolymeren und Polymermischungen ergeben Knochenzemente mit hoher Schlagzähigkeit.
- Moderne Rezepturen und Verarbeitungsprozeduren erlauben bei einfacher und sicherer Handhabung vor Ort (im OP) die Herstellung eines weitgehend porenfreien Teiges.
- Die Entwicklung von Röntgenkontrastmitteln und anderen Zuschlagstoffen mit unterkritischen Teilchengrößen entschärft die negativen Einflüsse dieser Partikel.
- Neuere Ansätze versuchen die Substitution herkömmlicher Röntgenkontrastmittel durch äußerst kleine Partikel (Nanopartikel) aus bioaktiver, d. h. die Knochenneubildung anregender Keramik.

Während die chemische Zusammensetzung des »klassischen« Knochenzementes über Dekaden im Prinzip unverändert blieb, konnten so durch Produktpflege und -weiterentwicklung, Verbesserungen der Verarbeitungsprozeduren in situ und insbesondere durch stetige Verfeinerung der Operationstechniken entscheidende Fortschritte, gemessen beispielsweise an der Häufigkeit von Komplikationen oder der Standzeit der Implantate, erzielt werden.

Ein Klassiker im hightech-Format

Auch Polyethylen (PE) gehört als wahrer Massenkunststoff zu den Materialien, die uns im täglichen Leben auf Schritt und Tritt begegnen. Das Eigenschaftsbild kann durch Wahl der Synthesebedingungen ein breites Spektrum überstreichen: Verschiedenste Produkte wie transparente Verpackungsfolien, flexible Kabelisolationen und steife und stabile Rohre unterscheiden sich bei Verwendung identischer Grundbausteine durch die Länge der aus ihnen aufgebauten Makromoleküle und den Grad ihrer Verzweigung. Als Gleitpartner metallischer Köpfe beim künstlichen Hüftgelenk wird Polyethylen seit etwa 40 Jahren mit großem Erfolg eingesetzt. Interessant ist, dass sich das als besonders glatt geltende, aus Antihafbeschichtungen bekannte Teflon zuvor wegen des extrem starken Abriebs als völlig ungeeignet erwiesen hat. Aber auch bei Hüftgelenkspfannen aus PE traten Probleme auf: So wurde immer wieder beobachtet, dass winzige Partikel aus Polyethylen abgerieben und in das angrenzende Gewebe eingelagert werden. Obwohl PE als chemisch völlig verträglich gilt, führen die Form und die spezielle Größe der Partikel (einige tausendstel Millimeter) zu unerwünschten Fremdkörperreaktionen. Der Verschleiß solcher stark belasteten Kunststoffbauteile ist darüber hinaus ein Faktor, der die erreichbare Lebensdauer des gesamten Implantates begrenzt. Bedeutende Fortschritte werden erreicht, wenn besonders langkettiges Polyethylen, das so genannte ultrahochmolekulare PE (UHMW-PE), verwendet wird. Das Material erweist sich als äußerst formstabil, chemisch stabil gegen den Angriff von Feuchtigkeit und im Körper vorliegender Enzyme und ist extrem verschleiß- und abriebfest. Neue Syntheseverfahren ermöglichen heute die Herstellung maßgeschneiderter Polymerketten und damit von Materialien mit definierter Struktur und überragenden Eigenschaften. Die für UHMW-PE typische teilkristalline Morphologie ist in Abb. 3 wiedergegeben. Dauerkatheter aus Polyurethan, Polyethylen oder Silikon, wie sie beispielsweise zur

Harnableitung bei Harnwegsverschlüssen eingesetzt werden, neigen häufig schon nach dramatisch kurzen Liegezeiten zur Verkrustung. Die Ablagerung mineralischer Bestandteile des Urins kann im ungünstigen Falle zum vollständigen Verschluss des Implantats führen. Entzündungsreaktionen können als Antwort des Organismus auf den eingebrachten Fremdkörper auftreten, und bakterielle Infektionen müssen ebenfalls als ein Versagen des eingesetzten Implantats gewertet werden. Es ist anzunehmen, dass in einigen Fällen zunächst auftretende mineralische Ablagerungen eine Oberfläche schaffen, welche die Ansiedlung von Bakterien erleichtert.

Optimale Oberflächen definieren

Die Schaffung definierter Oberflächen ist eine geläufige Methode für die Verbesserung der Eigenschaften von Kathetern im Blutkontakt oder zur Verbesserung des Sekrettransports bei Stimmprothesen. Für Harnwegskatheter sind unter Berücksichtigung der spezifischen chemischen Zusammensetzung des Harns optimale Oberflächeneigenschaften zu definieren. So ist zu klären, welche (oft technologisch bedingten) Oberflächenrauigkeit toleriert werden kann, wie hydrophil oder hydrophob das Material sein sollte, und ob eine antibiotische Ausrüstung des Polymers sinnvoll sein kann. Eine Strategie zur Kompatibilisierung von Oberflächen besteht darin, die hervorragenden mechanischen Eigenschaften neuartiger Blockcopolymerer zu nutzen und deren Fähigkeit zur Selbstorganisation zur Nanostrukturierung ihrer Oberflächen einzusetzen. Kann so der aus der Natur bekannte Lotos-Effekt nachgeahmt werden? Eine äußerst feine Strukturierung der Oberfläche, die erst bei hohen Vergrößerungen im Mikroskop zutage tritt, lässt Wasser und Schmutzpartikel an den Blättern der Lotospflanze einfach abperlen. Mit modernen Blockcopolymeren könnten neuartige, gegen unerwünschte Anhaftungen beständige Implantatoberflächen erzeugt werden.

KNOCHEN ALS KOMPOSITWERKSTOFF

NACHAHMUNG VON MATERIALIEN AUS DER NATUR

Sven Henning und Goerg H. Michler

Um das Sicherheitsbedürfnis ihrer Passagiere zu befriedigen, werben Fluggesellschaften unter anderem mit dem geringen Durchschnittsalter ihrer Flotten. Bei Verkehrsflugzeugen sind strenge Wartungsintervalle vorgeschrieben, bei denen strukturelle Bauteile auf Ermüdungserscheinungen untersucht werden und nach definierten Lebenszeiten zwingend ausgetauscht werden müssen. Nach 20 bis 30 Jahren im täglichen Einsatz gilt eine Flugzeugzelle dennoch als verschlissen. Luftfahrzeuge der nächsten Generation werden über Systeme zur Anpassung von Tragflächenprofilen an eine bestimmte Lastsituation verfügen, und ein Netzwerk von Sensoren wird die Belastungssituation wichtiger Strukturelemente großer Luftschiffe – wie den im Bau befindlichen Cargolifter – überwachen. Umso faszinierender ist es, dass unsere Knochen »von Natur aus« all diese Funktionen ein Menschenalter lang gewährleisten. In diesem Artikel soll umrissen werden, wie Werkstoffwissenschaftler im Rahmen interdisziplinärer Forschung an der Universität zum Verständnis der Struktur-Eigenschaftsbeziehungen im Knochen beitragen und welche Erkenntnisse für die Entwicklung neuer Werkstoffe gewonnen werden können.

Biomechanik – Schnittstelle von Orthopädie und Materialwissenschaften

In den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts vollzog sich ein Wandel von einem stoffwechselbiologischen hin zu einem biomechanischen Verständnis des Knochens. Alle im Knochen ablaufenden biologischen Prozesse und die dadurch geschaffenen Mikro- und Nanostrukturen dienen danach zuerst der Aufrechterhaltung der mechanischen Integrität des Skelettes. Die Frage, wie diese Aufgabe durch Verbände kommunizierender Zellen bei gleichzeitiger Erfüllung von Stoffwechsellastungen gelöst wird, ist ein Schwerpunkt moderner orthopädischer Forschung (R. B. Martin, 1998). Dabei

verschwimmen die Grenzen zwischen biologischen und ingenieurwissenschaftlichen Domänen immer stärker. Die Verteilung mechanischer Spannungen im Knochen wird mit der Methode der finiten Elemente mathematisch simuliert, moderne bildgebende Verfahren wie die Rasterkraftmikroskopie und atmosphärische Rasterelektronenmikroskopie und andere erlauben den Vorstoß in die feinsten strukturellen Details des Knochens im Bereich weniger Nanometer. Wie verändert sich die Morphologie des Knochens bei Osteoporose? Welchen Einfluss haben Implantate auf die Struktur des angrenzenden Knochens? Wann ist im Prozess der Knochenheilung, z. B. nach einem Bruch, der optimale Zeit-

punkt zum Entfernen von stützenden Platten und Nägeln gegeben? Der komplexe Zusammenhang zwischen biologischen Faktoren, den sich einstellenden Mikro- und Nanostrukturen und den daraus resultierenden mechanischen Eigenschaften des Knochens als Biomaterial muss noch besser verstanden werden. Man kann sagen: Die Dekade 2001–2010: Das Jahrzehnt des Knochens und der Gelenke (T. C. Lee, Dublin 2000).

5

Knochen als Nanokomposit

Knochen ist ein biologisch synthetisierter Nanokomposit mit einer über viele Größenordnungen ausgeprägten, hierarchischen Architektur und der Fähigkeit, sich durch Umbauprozesse aktiv an die während der Lebenszeit eines Individuums auftretenden Variationen seiner mechanischen Belastungen anzupassen und strukturelle Defekte zu reparieren. Diese Definition mag verwirrend erscheinen; als Materialwissenschaftler kann man aber tatsächlich sagen, dass wie bei modernen Kompositwerkstoffen die Eigenschaften des Materials sich aus der Kombination der Eigenschaften der einzelnen Komponenten ergeben. Knochen ist im Wesentlichen eine geschickt organisierte Mischung aus weicher, organischer und harter, anorganischer Substanz. Kollagen (von *kolla*: Leim) ist ein Strukturprotein, das in mehr als einem Dutzend verschiedener Variationen im menschlichen Körper vorkommt. Dieses Protein organisiert sich über mehrere Strukturebenen zu starken Fasern, welche für die Flexibilität und die hohe Zugfestigkeit des Knochens verantwortlich sind. Die mineralische Komponente des Knochens, welche die Steifigkeit und Druckfestigkeit des Materials »Knochen« gewährleistet, besteht fast ausschließlich aus Hydroxylapatit. Ausschlaggebend sind dabei unter anderem die Verteilung der Apatitkristallite in der organischen Matrix, die Größe der Partikel, Orientierungen der Kollagenfibrillen und Mengenanteil der Komponenten. Zur quantitativen Erfassung dieser morphologischen Parameter, die auch als Rohdaten für mathematische Modelle dringend erforderlich sind, bedarf es moderner Messverfahren aus dem Arsenal der Ingenieure (Abb. 1).

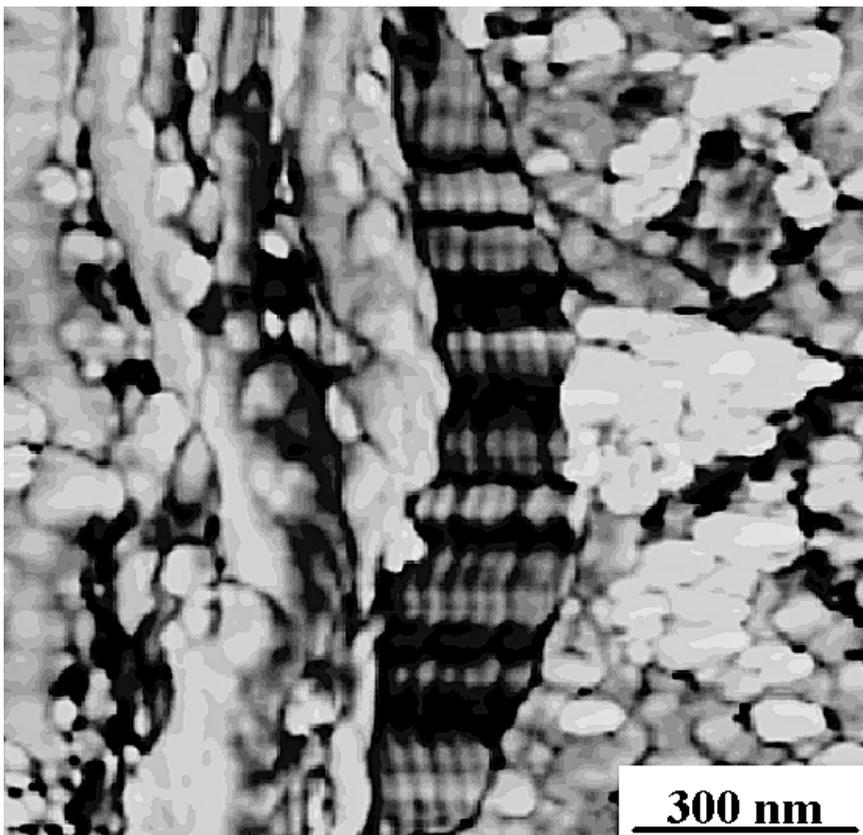


Abb. 1: Kompositmorphologie des Knochens: Anordnung der Hydroxylapatit-Kristallite im Rasterkraftmikroskop
Aufnahme: Henning/Hein

6 Struktur und Mikromechanik

Ingenieurwissenschaftliche Konzepte zu den bei Deformation und Bruch ablaufenden Mechanismen können generell auch zur Beschreibung mikromechanischer Prozesse im Knochen angewendet werden. In Abhängigkeit von Belastungsart, Belastungsrichtung und dem anatomischen Ort findet man im Knochen ähnliche Deformationsmechanismen wie in Polymeren oder Kompositwerkstoffen. Der in Abbildung 2 dargestellte Mikroriss wird durch Fibrillen überbrückt; Eine solche Struktur entspricht den für Polymere bekannten *Crazes*. Bereits im Lichtmikroskop erkennt man an einer deformierten Knochenprobe typische, aus der Materialwissenschaft bekannte Scherbänder. In welchem Zusammenhang stehen diese Prozesse und die mikroskopischen Strukturen? Wie verändern sich Strukturen und mechanische Eigenschaften in Abhängigkeit von Alter oder im Zuge von Erkrankungen? Wie werden solche Mikrorisse von den Knochenzellen erkannt, und wann wird ein Umbau des Knochens und damit die Reparatur dieser Defektstellen eingeleitet? Durch den Einsatz miniaturisierter Dehn- und Biegeeinrichtungen in Elektronen- und Rasterkraftmikroskopen können Antworten auf diese Fragen gefunden werden.

Komposite als Knochenzement

Darüber hinaus bietet sich für den Ingenieur die Chance, von der Natur zu lernen. Kann man die Perfektion des Knochens bei der Entwicklung von Biomaterialien oder technischen Werkstoffen nachahmen? Bei den im vorangehenden Artikel zum Einsatz von Polymeren in der Medizin gezeigten Beispielen wurde ein möglichst neutrales Verhalten des Werkstoffes in seiner biologischen Umgebung angestrebt. Das eingebrachte Material sollte keine unerwünschten Reize auf das umgebende Gewebe ausüben und selbst bei der Doppelbelastung aus starker mechanischer Beanspruchung und aggressiven Medien unverwundlich bleiben. Derzeit werden aber auch Polymere entwickelt und eingesetzt, bei denen gerade eine zielgerichtete Wechselwirkung mit dem Organismus erreicht werden soll. Man kann beispielsweise eine Polymeroberfläche so gestalten, dass ausgewählte Zellen bevorzugt angesiedelt und bestimmte Gewebe gebildet werden. Synthetischer

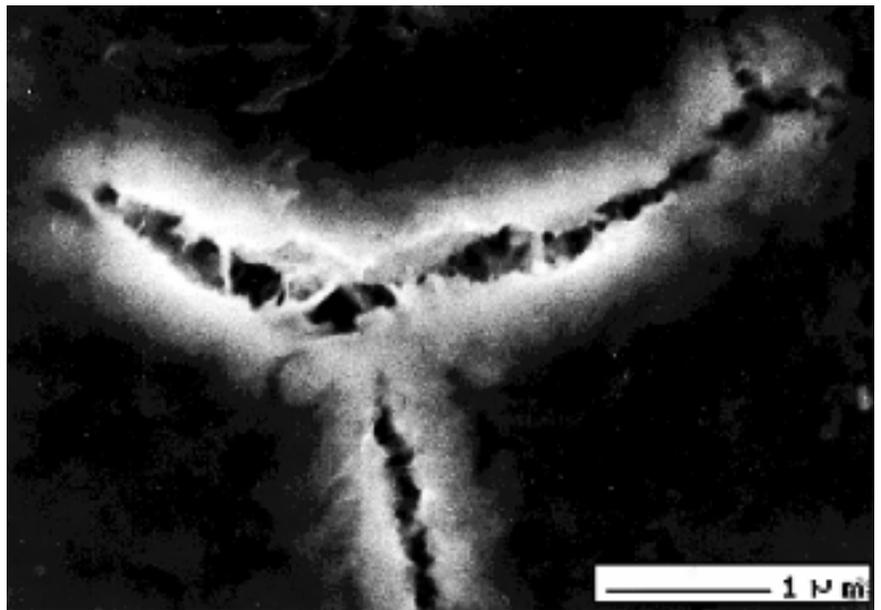


Abb. 2: Fibrillierter Mikroriss im Knochen. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme. Aufnahmen (2): Henning

Hydroxylapatit, dem mineralischen Baustein des Knochens ähnlich, stimuliert die gerichtete Neubildung vom Knochen. Ein in einem resorbierbaren Kunststoff fein verteiltes Apatitpulver wird nach schrittweisem Abbau der Polymermatrix zugänglich und neu gewachsener Knochen sorgt für eine innige Verzahnung von Knochen und Implantat. Im Artikel von Prof. Dr. Hans-Reiner Höche in dieser Ausgabe der *scientia halensis* (Abb. 1, Seite 7) kann man sich überzeugen, dass dieser Trick funktioniert. Um aber gleichzeitig eine hohe Festigkeit des Materials zu erreichen, muss der bioaktive Füllstoff in Form winziger Partikel möglichst fein verteilt werden. Eine rasterelektronenmikroskopische Aufnahme einer solchen Nachahmung des Knochens ist in Abbildung 3 gegeben. Gerade das letzte Beispiel zeigt, dass sich aus der interdisziplinären Verknüpfung der Forschung verschiedene Fachbereiche der Universität hervorragende Möglichkeiten bieten. Das zuletzt beschriebene System ist im Rahmen des von der DFG an der MLU eingerichteten Innovationskollegs »Neue Polymermaterialien durch gezielte Beeinflussung der Grenzschichtstrukturen/Grenzschichteigenschaften in heterogenen Systemen« im Zeitraum 1995–2000 in einem Teilprojekt unter Leitung von Prof. Dr. Barbara Sandner (Institut für Technische und Makromolekulare Chemie) und in Kooperation mit der Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Physikalische Medizin sowie dem Fachbereich Ingenieurwissenschaften entwickelt worden. ■

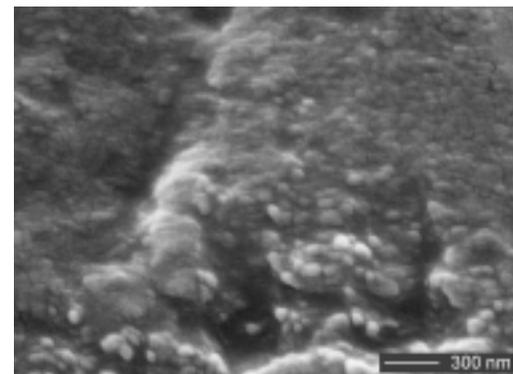
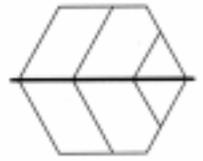


Abb. 3: Synthetisches Kompositmaterial aus einer partiell resorbierbaren Polymermatrix und biologisch aktiven Nanopartikeln

Sven Henning studierte 1988 bis 1994 Physik an der Martin-Luther Universität Halle-Wittenberg. Er war 1995 bis 1999 wissenschaftlicher Mitarbeiter im Innovationskolleg »Neue Polymermaterialien durch gezielte Beeinflussung der Grenzschichtstrukturen/Grenzschichteigenschaften in heterogenen Systemen« und ist derzeit wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Polymerwerkstoffe.

Prof. Dr. rer. nat. Goerg H. Michler studierte von 1963 bis 1968 Physik in Halle; 1978 Promotion, 1987 Habilitation. 1990 wurde er zum Professor für Experimentalphysik an der Technischen Hochschule Merseburg und 1992 zum Professor für Allgemeine Werkstoffwissenschaften an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg berufen. Seit 1992 ist er Vorstandsvorsitzender des Instituts für Polymerwerkstoffe und seit 1999 Leiter des BMBF-Demonstrationszentrum »Kreislauffähigkeit von Werkstoffen«.

ENVIRONMENTAL SCANNING ELECTRON MICROSCOPY (ESEM) AN WASSERHALTIGEN OBJEKTEN UND BIOMATERIALIEN



Hans-Reiner Höche, Andreas Röder und Frank Heyroth

Der ewige Wunsch des Menschen, die ihn umgebende Natur zu verstehen, die wirkenden Gesetzmäßigkeiten der Natur zu erkennen und die Bausteine der ihn umgebenden Materie zu beschreiben, sie auch möglichst mit den eigenen Augen zu sehen, hat die Lichtmikroskopie ebenso beflügelt und entwickelt wie die moderne Elektronenmikroskopie. Die Elektronenmikroskopie, im letzten Jahrhundert erst möglich geworden durch den experimentellen Umgang mit freien Elektronen in einem gebündelten und fokussierbaren Strahl, ähnlich dem des Lichtes, jedoch mit wesentlich geringerer Wellenlänge, ermöglicht dem Beobachter Einblicke in die belebte und unbelebte Natur bis auf atomare Skala. Sie kann Strukturen atomarer Anordnungen aufklären, deren Defekte abbilden und chemische Analysen von Einzelatomen liefern. Das makroskopische Verhalten von Festkörpern der belebten und unbelebten Materie, wie z. B. deren mechanische Festigkeit und Farbe, die elektrische Leitfähigkeit oder chemische Bindung, hängt wesentlich ab von der mikroskopischen, atomaren Anordnung der beteiligten Bausteine. Dies gilt für Bauelemente der Mikroelektronik ebenso wie für Biomaterialien.

Rasterelektronenmikroskopie

Als spezielle Technik der Elektronenmikroskopie ist die konventionelle Rasterelektronenmikroskopie (REM) ein etabliertes Verfahren der hochauflösenden Elektronenmikroskopie zur Abbildung von Oberflächendetails fester Objekte. Durch zeilenweise Abtastung des Untersuchungsgegenstandes mit einem Strahl schneller Elektronen mit einer Primärelektronenenergie von einigen keV im Hochvakuum, ähnlich dem bildgebenden Strahl in einer Fernsehöhre, wird ein vergrößertes Bild mittels angeregter Sekundär- oder Rückstreuelektronen über bildgebende Verfahren aufgebaut. Die Vergrößerung kann dabei je nach Objektdetail bis zu einigen hunderttausendfach

betragen. Zum Vergleich: Mit den allgemein bekannten Lichtmikroskopen sind dagegen nur etwa tausendfache Vergrößerungen möglich.

Wesentliche Einschränkungen bei Untersuchungen von Biomaterialien und wasserhaltigen Objekten, wie biologischem und medizinischem Gewebe, ergeben sich durch die Mikroskopie im Hochvakuum. Aus dem Gewebe verdampft z. B. das Wasser, es ändert sich damit dessen Morphologie. Zusätzliche präparative Maßnahmen zur Objektentwässerung müssen deshalb für die konventionelle Rasterelektronenmikroskopie vorgenommen werden, ohne dabei die Objektstruktur zu verändern, ein aufwendiges, nicht immer erfolgreiches Unterfangen.

7

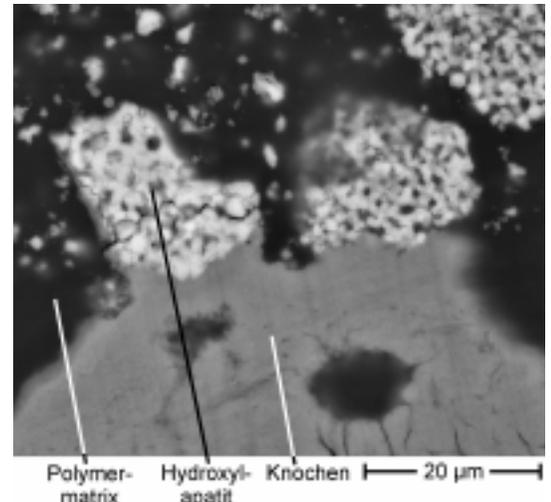


Abb. 1: Neuartiger, partiell resorbierbarer Knochenzement (oberer Bildbereich) im innigen Verbund mit neugebildeten Knochen (unterer Bildbereich).

ESEM-Rückstreuelektronenbild bei 3 mbar, Primärelektronenenergie 20 keV.

Unbeschichtetes Präparat aus einer Kooperation mit dem Fachbereich Ingenieurwissenschaften und der Universitätsklinik und Poliklinik für Orthopädie und Physikalische Medizin, Universität Halle.

Wasserhaltige Objekte und Isolatoren im ESEM

Ein epochaler Fortschritt auf dem Weg zur Rasterelektronenmikroskopie wasserhaltiger Proben und Biomaterialien ist die gerätetechnische Entwicklung von modernen Niedrigvakuum-Raster-Elektronen-Mikroskopen, die eine hochauflösende Abbildung unter fast Umweltbedingungen mittels der sog. »Environmental-Scanning-Electron-Microscopy (ESEM)« ermöglichen. Der Probenkammerdruck beträgt im Objektbereich bis zu 10 mbar, dies entspricht dem Dampfdruck des Wassers bei 4–6°C, d. h. Wasser verdampft nicht bei dieser experimentell einstellbaren Objekttemperatur. Feuchte Objekte können somit ohne weitere aufwendige Präparation direkt mikroskopiert werden. Die Mikroskopie erfolgt unter Wasserdampf-, bzw. Stickstoffatmosphäre. Infolge von Ionisationen der Gasatmosphäre durch den Elektronenstrahl, wird darüber hinaus die sonst bekannte elektrische Aufladung der Objekt-oberfläche von Isolatoren verhindert. Dies ist ein weiterer wesentlicher Vorteil der Environmental-Scanning-Electron-Microscopy gegenüber der konventionellen Raster-

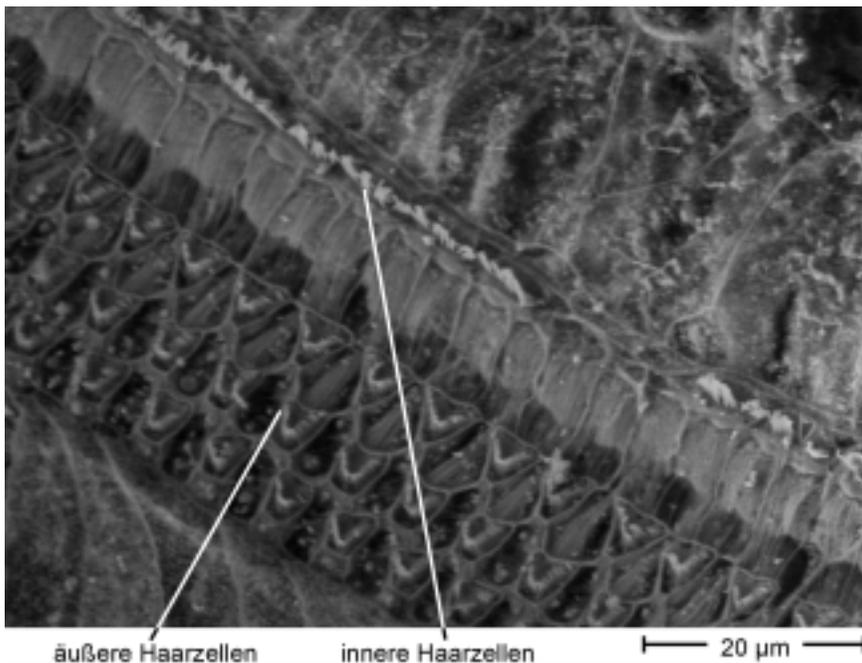
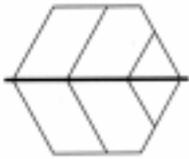


Abb. 2: Sinneszellen (Haarzellen) des Innenohres von Mäusen.

ESEM-Sekundärelektronenbild bei 2 mbar, Primärelektronenenergie 5 keV.

Entwässertes, unbeschichtetes Präparat aus der Universitätsklinik für Hals-Nasen-Ohrenkrankheiten, Kopf- und Halschirurgie, Universität Halle.

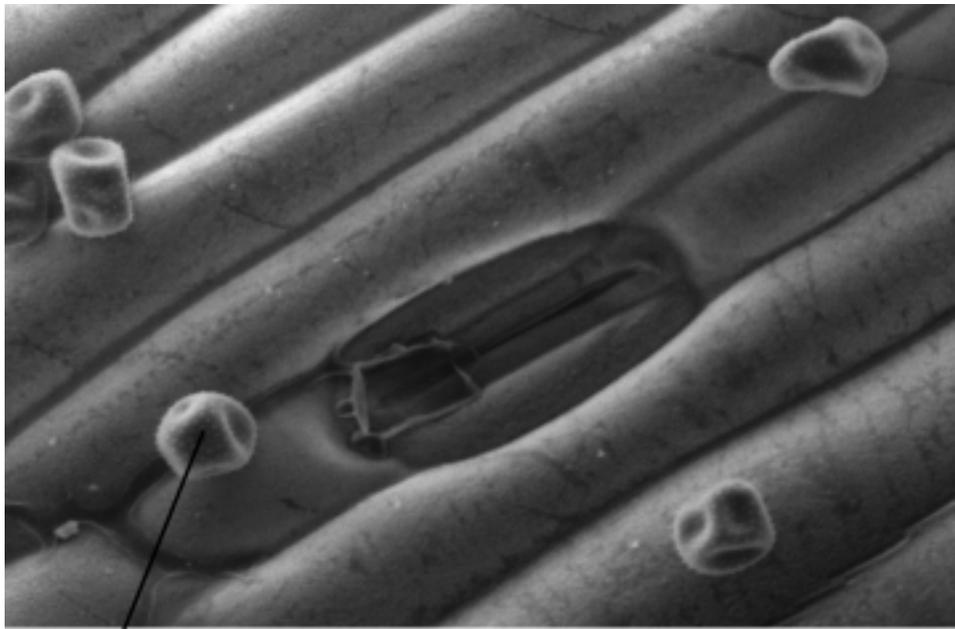


8

elektronenmikroskopie, die zusätzlich eine leitfähige Beschichtung der Objektoberfläche erfordert.

Weitgefächerte Anwendungen

Mit der Environmental-Scanning-Electron-Microscopy eröffnen sich für die hochauflösende Rasterelektronenmikroskopie völlig neue Anwendungsbereiche. Einige Beispiele werden in den Abbildungen gezeigt. Biomaterialien, Knochenhart- und Zahn- gewebe (Abb. 1 und 4) sowie deren Substitutionsmaterialien, einschließlich Mineralien, Keramiken, Gläser und Polymere, können ebenso wie wasserhaltige biologische und medizinische Objekte (Abb. 2 und 3) ohne weitere Vorpräparation untersucht werden. Ein besonderer Vorteil liegt darüber hinaus in der problemlosen Durchführung von in situ-Experimenten, wie Temperatur-, Druck-, und Zugversuchen ohne notwendige Zwischenpräparation. Bei einem üblichen Durchmesser des rasternen Elektronenstrahles von etwa 2nm (Atomabstände in Festkörpern betragen 0,1–0,5 nm), werden Oberflächendetails mit nm- und nm-Auflösung abgebildet. Über die direkte Darstellung von Oberflächenstrukturen hinausgehend, sind weitere Informationen über die Anwesenheit und mögliche Verteilung chemischer Elemente im beobachteten Objektbereich



Braunerostspore

100 µm

Abb. 3: Blattoberfläche mit Spaltöffnung von Kulturweizen, infiziert mit Braunerostsporen. ESEM-Sekundärelektronenbild bei 7 mbar, Primärelektronenenergie 10 keV. Unbeschichtetes Präparat aus dem Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Universität Halle.

durch die gleichfalls beim Elektronenbeschuss emittierte charakteristische Röntgenstrahlung mittels energiedispersiver Röntgenmikroanalyse (EDX) möglich (Abbildung 4).

Im Verbund mit weiteren Geräten für die Mikroskopie und Analytik wird seit etwa einem Jahr das Environmental-Scanning-Electron-Microscop ESEM XL 30 FEG (Philips) in die Arbeiten des IWZ für Materialwissenschaften integriert. Es ergänzt damit in hervorragender Weise die Analytische Mikroskopie mittels Scanning-Transmissions-Elektronenmikroskopie, Elektronenstrahlmikroanalyse, Ramanmikroskopie und Röntgendiffraktometrie.

Hans-Reiner Höche studierte von 1960 bis 1965 Physik an der halleschen Universität (Promotion 1971, Habilitation 1980), seit 1992 ist er Professor für das Arbeitsgebiet Kristallphysik und seit 1995 Geschäftsführender Direktor des IWZ für Materialwissenschaften an der Universität.

Andreas Röder studierte von 1956–1962 Physik an der Universität Halle (Promotion 1972, Habilitation 1987, Privatdozent für Experimentelle Physik seit 1996), ist als wissenschaftlicher Mitarbeiter im IWZ für Materialwissenschaften tätig.

Frank Heyroth studierte von 1989 bis 1995 Physik an der Martin-Luther-Universität (Promotion 2000) und arbeitet jetzt als wissenschaftlicher Mitarbeiter im IWZ für Materialwissenschaften.

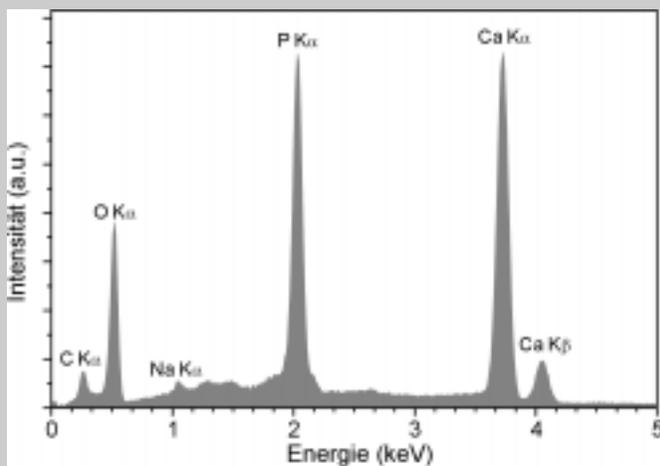
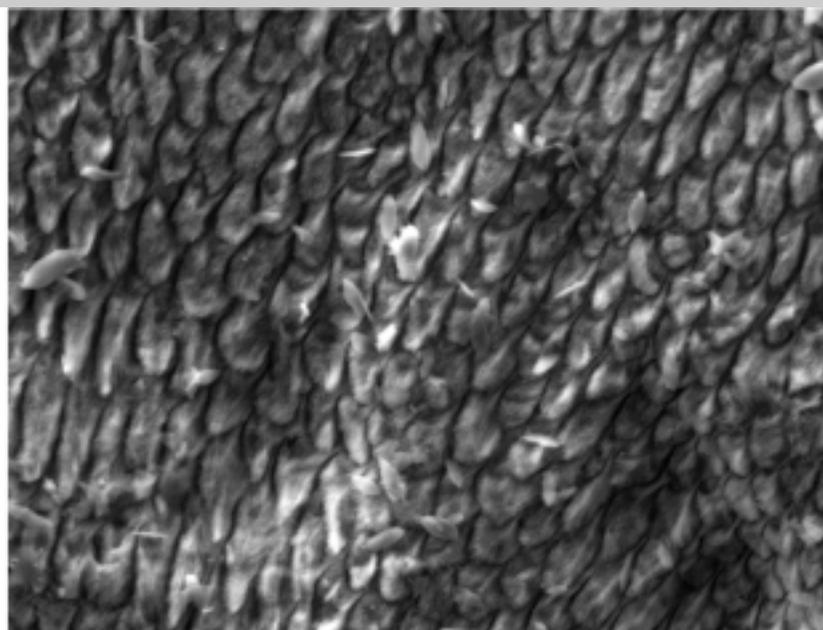


Abb. 4: Schmelzprismenstruktur eines Zahnschliffes (Apatit). ESEM-Sekundärelektronenbild bei 3 mbar, Primärelektronenenergie 15 keV (rechts) sowie Elementanalyse mittels energiedispersiver Röntgenspektroskopie (EDX) (links). Unbeschichtetes Präparat aus der Universitätsklinik für Zahnerhaltungskunde und Paradontologie, Halle.



25 µm

ATTRAKTIVER STUDIENGANG MIT GUTEN BERUFSCHANCEN

ZUSAMMENSPIEL ZWISCHEN INGENIEURWISSENSCHAFTEN UND MEDIZIN

Jörg Kreßler

Seit dem Wintersemester 1999 gibt es an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg den ingenieurwissenschaftlichen Studiengang Biomedizinische Materialien. Neben den bis zum Vordiplom gelehrten ingenieur- und naturwissenschaftlichen Grundlagen, werden besonders im Fachstudium biologisch und medizinisch orientierte Lehrveranstaltungen angeboten. Damit bildet die halle'sche Universität erstmalig in Deutschland Ingenieure aus, die mit einem fundierten Spezialwissen vor allem medizinische Fragestellungen zum Materialeinsatz bearbeiten können. Dieses Anliegen wird auch durch obligatorische Praktika in der Industrie und in den Kliniken unterstützt.

Es ergibt sich die Frage, warum sich gerade Werkstoffingenieure mit medizinischen Fragestellungen auseinandersetzen. Dazu seien einige konkrete Beispiele genannt: So ist die wissenschaftliche Fragestellung nach dem Verhindern des Anhaftens von Fett an der Bratpfanne oder von Blut an künstlichen Blutgefäßen identisch und die Lösung ist in beiden Fällen oftmals der Einsatz von Teflon, ein synthetischer Polymerwerkstoff. Auch die Berechnung der Lastenverteilung für ein Maschinenbauteil oder für ein Hüftgelenk wird mit identischen ingenieurwissenschaftlichen Rechenmethoden vorgenommen. Ähnliches gilt für die Untersuchung des Fließverhaltens von Blut, das mit Modellen der Strömungsmechanik und Rheologie analysiert werden kann. Schon wird das Zusammenspiel von Ingenieurwissenschaften und Medizin deutlich.

Kompatibel mit biologischen Systemen

Eine andere wesentliche Komponente des Studiengangs stellen die Biomaterialien dar. Dabei handelt es sich um vielfältige Materialien, die biologisch oder synthetisch erzeugt werden und mit biologischen Systemen kompatibel sind. Als Beispiele seien hier Implantate oder chirurgische Nahtmaterialien (wie Polymilchsäure) genannt, die sich im Körper auflösen und wieder für natürliches Gewebe Platz machen. Andere Materialien wie Hydrogele (am ehesten zu vergleichen mit der Gelatine auf der Obsttorte) dienen als Gerüstmaterial für die Züchtung neuer Gewebe oder auch Organe. Das sogenannte Tissue Engineering steckt noch in den Kinderschuhen, wird aber sicherlich bald einen Teil des wachsenden Bedarfs für »Ersatzteile« der immer älter werdenden Bevölkerung abdecken. Ein weiteres Beispiel ist die Biomimetik; das Abschauen und Übertragen von biologischen Mustern auf technische Anwendungen. Dies ist der Fall beim sogenannten Lotuseffekt, bei dem die Lotusblume mit speziellen Strukturierungen eine selbstreinigende Oberfläche erhält. Dadurch per-

len Schmutzpartikel und Wasser von der Blattoberfläche ab.

Gute Resonanz bei den Studierenden

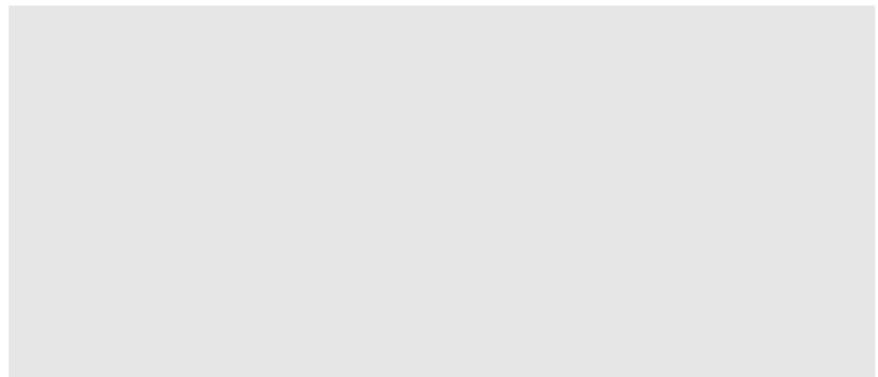
In den beiden ersten Studienjahren haben sich jeweils zwischen und 20 und 30 StudentInnen aus ganz Deutschland eingeschrieben. Das ist auch die vom Fachbereich Ingenieurwissenschaften angestrebte Größe. Diese Anzahl von Studenten sollte nach erfolgreichem Abschluss des Studiums hervorragende Chancen für den Einstieg ins Berufsleben haben. Gegenwärtig werden am Fachbereich Ingenieurwissenschaften auch erste extern geförderte Forschungsvorhaben gemeinsam mit der Medizinischen Fakultät und dem ZAMED bearbeitet. Dabei sind bereits die besten StudentInnen in die Forschungstätigkeit eingebunden. Für zwei StudentInnen wird in den Sommerferien ein Forschungsaufenthalt an der University of Massachusetts aus Drittmitteln des Fachbereichs Ingenieurwissenschaften finanziert. Andere StudentInnen werden schon erste Industrieerfahrung sammeln. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass der Universitätsstandort Halle ideale Voraussetzungen für diesen Studiengang bietet, die es zu bewahren und auszubauen gilt.

(Autoreninformation Seite 11)



Studierende des Studienganges Biomedizinische Materialien bei den ersten Praktika.

Foto: Jenzsch



WECHSELWIRKUNG ZWISCHEN LEBEWESEN UND MATERIAL

IM TREND VON FORSCHUNG UND LEHRE: BIOMEDIZINISCHE MATERIALIEN

Jürgen Vogel und Jörg Kreßler

10

An der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg hat sich die wissenschaftliche Zusammenarbeit zwischen dem Fachbereich Ingenieurwissenschaften und der Medizinischen Fakultät sehr rasch und dynamisch entwickelt. Etwa 1995 kam es zu den ersten tragfähigen wissenschaftlichen Kooperationen zwischen einzelnen Arbeitsgruppen. Das Potenzial der engen Zusammenarbeit bei der Entwicklung von Biomedizinischen Materialien und der Verbesserung ihrer Eigenschaften sowohl unter Materialaspekten als auch hinsichtlich ihrer Eignung für Anwendungen in der Medizin wurde recht bald erkannt. Folgerichtig etablierte sich die Forschungsrichtung Biomedizinische Materialien zu einem der Schwerpunkte am Fachbereich Ingenieurwissenschaften. Auch die Ausbildung der Studenten und Studentinnen zu diesem attraktiven und gefragten Forschungsgebiet wurde in diese Richtung profiliert (siehe Seite 9).

Was sind Biomedizinische Materialien?

Dieser Begriff hat sich international durchgesetzt, sein Ursprung liegt im angelsächsischen Sprachraum. Er steht für Materialien bzw. Werkstoffe, die nach entsprechender Anpassung der Eigenschaften an die Besonderheiten in biologischem Milieu, speziell im menschlichen Körper, Anwendung finden. Die daraus resultierende Spezifik hinsichtlich der Anforderungen an diese Materialien ergibt sich aus den Wechselwirkungen zwischen Lebewesen und Material. Dabei spielt es zunächst keine Rolle, ob das Material intrakorporal (beispielsweise als Implantat) oder extrakorporal (beispielsweise für Geräte der Medizintechnik) mit humanbiologischen Medien, wie Gewebe, Blut oder Urin, in Kon-

takt kommt. Neben den mechanischen und konstruktiven Erfordernissen, die biomedizinische Materialien erfüllen müssen, sind also die über die Oberfläche bzw. Grenzfläche vermittelten Wechselwirkungen von besonderer Bedeutung. Gleichrangig zu behandeln sind Werkstoffkennwerte der Korrosion bzw. des Abbauverhaltens und Kenntnisse zu Versagensmechanismen in biologischer Umgebung bzw. unter medizinischen Bedingungen.

Forschungsmöglichkeiten

Aus der Vielzahl der Ansatzpunkte für gemeinsame Forschungsarbeiten seien an dieser Stelle einige genannt:

- Tissue engineering zur Verbesserung der

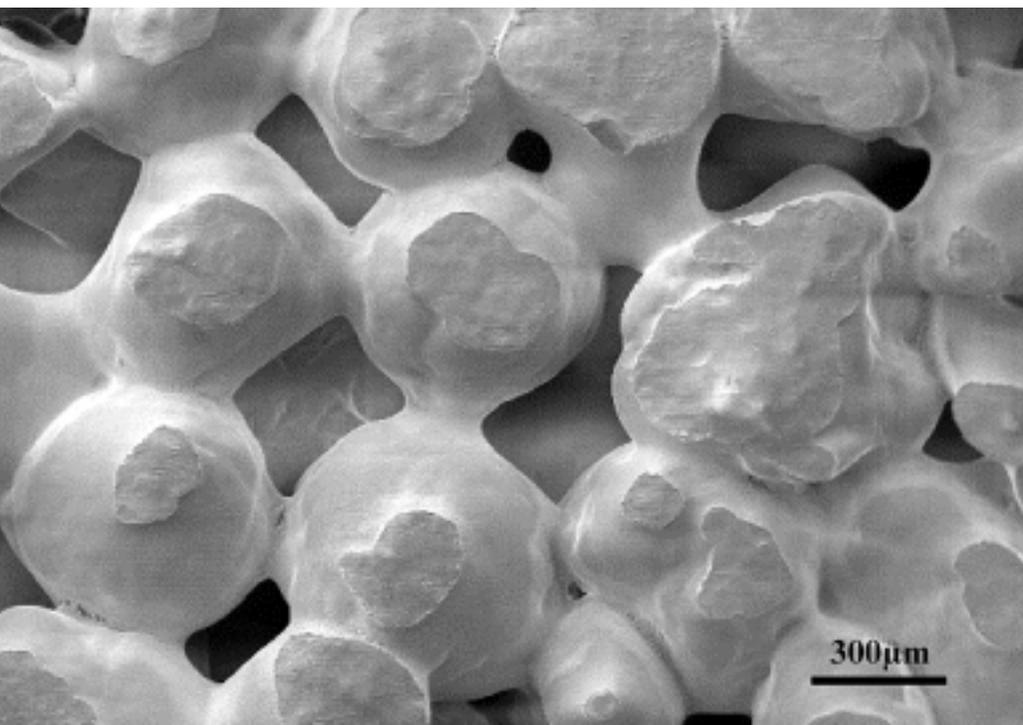
Wechselwirkung zwischen lebendem Gewebe und Implantaten

- Entwicklung von Hydrogelen
- Entwicklung von Mikrokapseln für die immunoprotektive Einschleusung von lebenden Zellen für die Gentherapie und auch als Depot für Pharmaka
- Charakterisieren der mechanischen Eigenschaften von Weich- und Hartgewebe wie Knorpel und Knochen
- Optimierung der Oberflächeneigenschaften von Gefäßen zur Verbesserung des Flüssigkeitstransportes innerhalb dieser Gefäße
- Verbesserung der Haltbarkeit des Verbundes synthetischer polymerer Zahnersatzmaterialien auf natürlichen Zähnen
- Besiedelung chirurgischer Nahtmaterialien mit Bakterien in Abhängigkeit von ihrer chemischen Natur und in Abhängigkeit von der physikalischen Struktur des Nahtmaterials
- Biologische Abbaubarkeit von synthetischen Nahtmaterialien, insbesondere in der Mundhöhle

Die globale Zielstellung für das Forschen und Lehren auf diesem Gebiet ist letztlich die Verbesserung der medizinischen Versorgung, die aufgrund der demographischen Entwicklungen und der steigenden Kosten im Gesundheitswesen immer bedeutender wird. Die Arbeiten zu der Problematik erfordern solide ingenieurwissenschaftliche Kenntnisse unter strenger Beachtung der biologischen bzw. medizinischen Besonderheiten.

Interdisziplinarität

Das Arbeitsfeld zur Entwicklung neuer und die Verbesserung bereits in Anwendung befindlicher biomedizinischer Materialien erfordert eine sehr enge Zusammenarbeit zwischen verschiedenen Wissenschaftsdisziplinen. An der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg sind beste Bedingungen gegeben, diese Disziplinen zusammenzuführen. Dazu gehören Ingenieurwissenschaftler, Chemiker, Physiker, Toxikologen, Immunologen und Mediziner. Auch die Kooperationsmöglichkeiten mit den fachdisziplinübergreifenden Organisationsstrukturen der Universität, wie das Interdisziplinäre Wissenschaftliche Zentrum für Materialwissenschaften (IWZ) und das Zentrum für Angewandte Medizinische und Humanbiologische Forschung (ZAMED), bieten gute Bedingungen für



In Abbildung 1 ist das Ausgangsmaterial mit dem Handelsnamen Porex® dargestellt. Es ist ein Polyethylen niedriger Dichte. Die Porenstruktur liegt in der das Einwachsen von Bindegewebe begünstigenden Größenordnung.

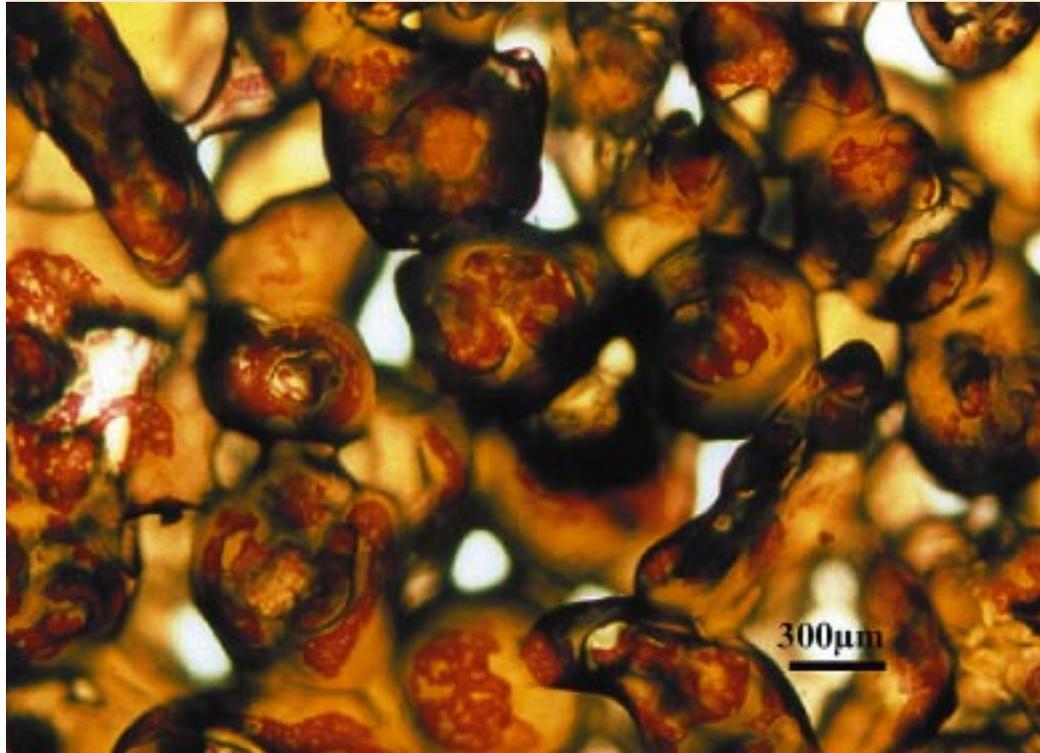
die Bearbeitung von Themenstellungen auf dem Gebiet Biomedizinische Materialien in Lehre und Forschung.

Als Beispiel sei die Bearbeitung des Schwerpunktes tissue engineering herausgegriffen. In diesem Rahmen werden Arbeiten zur Verbesserung der Bioaktivität von Implantatmaterialien durchgeführt, die durch plasmachemische Oberflächenmodifizierung synthetischer Implantatmaterialien mit nachfolgender Immobilisierung von Kollagen auf diesen oberflächenmodifizierten Materialien erreicht werden soll. Das Bildmaterial illustriert die ersten Schritte dieser Entwicklungsrichtung. ■

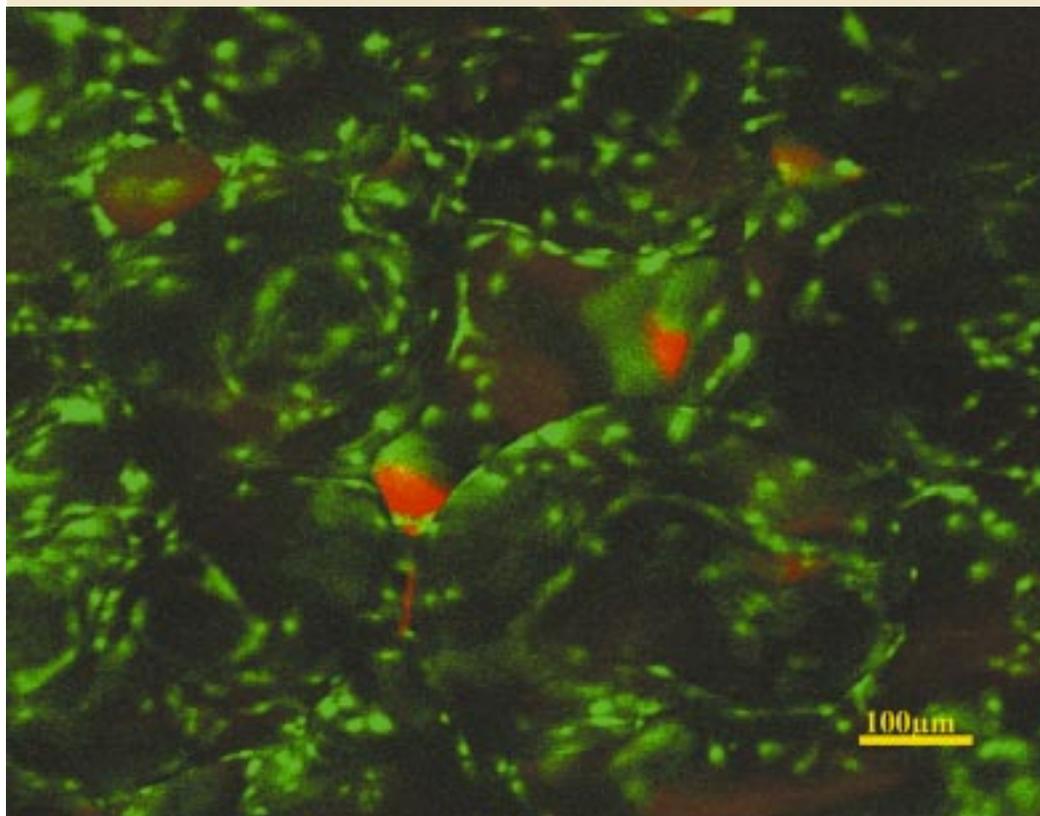
Jörg Kreßler studierte von 1978 bis 1982 Chemie an der TU Dresden und promovierte dort 1986. Nach mehrjährigen Forschungsaufenthalten in Massachusetts und Tokyo war er für fünf Jahre am Materialforschungszentrum in Freiburg tätig und habilitierte sich 1998. Seit 1998 besetzt er die Stiftungsprofessur der DFG »Heterogene Polymermaterialien«. Er hat zahlreiche Publikationen auf dem Polymergebiet.

Dr. rer. nat. Jürgen Vogel, geb. 1949, studierte Hochpolymerenchemie an der TH Merseburg und ist seit 1980 als wissenschaftlicher Mitarbeiter an der Technischen Hochschule bzw. später dem Fachbereich Ingenieurwissenschaften der Martin-Luther-Universität tätig. Arbeitsgebiete: Charakterisierung, Modifizierung und Verarbeitung von Kunststoffen; Thermische Analyse, Infrarotspektroskopie; Anwendung von Kunststoffen in der Medizin; Biomedizinische Materialien.

Mit Abbildung 3 (rechts) kann mittels konfokaler Laserscanning-Mikroskopie das Aufwachsen von Chondrozyten auf der kollagenmodifizierten Oberfläche gezeigt werden. Die leuchtendgrünen Bereiche indizieren vitale Zellkerne.



Mit Abbildung 2 gelang nach immunhistochemischer Probenpräparation der lichtmikroskopische Nachweis des immobilisierten Kollagens (rot) auf der Oberfläche.



MATERIALIEN FÜR ZAHNERSATZ

SPEZIFISCHE ANFORDERUNGEN AN WERKSTOFFE IM MUND

Jürgen Setz

12

Zahnersatz wird in das Biotop »Mundhöhle« eingefügt und muss daher den spezifischen Bedingungen der Mundhöhle genügen. Diese sind durch physikalische, chemische und biologische Parameter zu beschreiben.

Zu den physikalischen Anforderungen gehört die mechanische Belastung. Beim eigentlichen, unbewusst verlaufenden Kauen werden nur wenige hundertstel Sekunden dauernde Kräfte von der Kaumuskulatur entwickelt. Die zum Kauen benötigte Kraft ist mit maximal 50 N außerdem auch relativ klein. Wesentlich größer ist die Beanspruchung jedoch beim willkürlichen Zusammenbeißen oder beim nächtlichen Knirschen und Pressen mit den Zähnen. Hier können Kräfte auftreten, die bis zu 20 mal größer sind und – im Gegensatz zum Kauen – über mehrere Minuten anhalten. Auch diesen Belastungen muss Zahnersatz über viele Jahre standhalten.

Neben den mechanischen Beanspruchungen sind thermische Belastungen vorhanden. So ist heißer Kaffee bis zu 70 Grad C warm, Speiseeis hingegen um 0 Grad C kalt.

Auch die Farbe muss stimmen

Eine weitere physikalische Anforderung an Zahnersatz ist seine Farbgebung: Das beste Material für Zahnersatz wäre zumindest im Bereich der Frontzähne gänzlich untauglich, wenn es nicht farblich den natürlichen Zähnen entsprechen würde oder wenigstens mit zahnfarbenen Materialien so verkleidet werden könnte, dass der Eindruck entsteht, es handele sich um natürliche Zähne.

Zu den chemischen Anforderungen gehört die Mundbeständigkeit. Das ideale Material sollte unter den spezifischen Bedingungen der Mundhöhle »inert« sein, sich also chemisch nicht lösen. Grundsätzlich sind die Lösungsbedingungen in der Mundhöhle nicht besonders aggressiv, da der pH-Wert im Mund vom Mundspeichel um den Neutralwert von 7 herum stabilisiert wird. Saure Bedingungen entstehen jedoch zumindest kurzfristig beim Genuss von Fruchtsäften, Wein und säurehaltigen Getränken wie z. B. Coca Cola. Besonders aggressive Bedingungen können sich darüber hinaus lokal in der Mundhöhle an Stellen entwickeln, die vom Mundspeichel nicht ständig gespült und gepuffert werden. Dies ist z. B. in Spalten der Fall.

Grundsätzlich muss daher davon ausgegangen werden, dass es keine Materialien gibt, die im Munde gänzlich inert sind. Für die Praxis gilt deswegen der Grundsatz, dass die Löslichkeit so gering sein muss, dass von den gelösten Substanzen keine biologisch relevanten Auswirkungen ausgehen dürfen. Das Spektrum biologischer Auswirkungen ist dabei sehr vielgestaltig. Es

Eine Patientin mit fehlenden Zähnen im Oberkieferfrontzahnbereich. Es wurden vier Dentalimplantate eingesetzt.

reicht von der örtlich begrenzten Entzündungsreaktion der Mundschleimhaut bis zur allergischen Reaktion des gesamten Organismus. Ein unter biologischen Gesichtspunkten bedeutendes Auswahlkriterium ist die Frage, ob bei einem Menschen Allergien vorliegen. So sind z. B. Nickelallergien bei Frauen vergleichsweise häufig anzutreffen.

Umfang und Kosten

Weitere, außerordentlich wichtige Aspekte eines brauchbaren Zahnersatzmaterials sind sein Preis und seine kostengünstige Verarbeitung. Zahnersatz wird millionenfach benötigt, so dass sein Preis sowohl für einen einzelnen Patienten wie auch für die Volkswirtschaft als Ganzes bedeutsam ist. Die Auswahl eines geeigneten Materials richtet sich ferner nach Art und Umfang eines Zahnersatzes. Bei einem Material, das im Mund des Patienten fest eingeklebt oder einzementiert ist, stehen andere Kriterien im Vordergrund als bei Materialien für herausnehmbare Teilprothesen. Großer, viele Zähne umfassender Zahnersatz muss anderen mechanischen Beanspruchungen standhalten als z. B. eine Krone, die nur

die Funktion und das Aussehen eines einzelnen Zahns wieder herstellt. Wieder andere Anforderungen liegen vor, wenn Zahnersatz nicht nur Kontakt zu Zähnen und Mundschleimhaut hat, sondern in Form einer künstlichen Zahnwurzel im Kieferknochen verankert wird.

»Zahngold«

Seit vier Jahrtausenden wird zur Befestigung von Zahnersatz an noch vorhandenen Zähnen Gold benutzt. Als Edelmetall ist Gold allen chemischen Angriffen in der Mundhöhle gewachsen. Allerdings hat es vergleichsweise schlechte mechanische Eigenschaften, so dass es als Reinmetall, also 24-karätig, gänzlich ungeeignet ist. Gold wird daher mit anderen Metallen (z. B. Silber, Platin, Palladium, Kupfer) legiert, wodurch die mechanischen Eigenschaften erheblich verbessert werden, die Mundbeständigkeit jedoch leicht verschlechtert wird.

Seit ca. 50 Jahren werden auch edelmetallfreie Legierungen verwendet (z. B. Nickelchrom- und Kobaltchromlegierungen). Diese haben exzellente mechanische Eigenschaften, nicht alle Legierungen erfüllen jedoch die hohen Anforderungen, die hinsichtlich der Mundbeständigkeit zu stellen sind.

Einige Goldlegierungen sowie die Chromlegierungen haben den Vorteil, dass sie mit keramischen Massen verkleidet werden können. Keramiken werden in einem Emaillierverfahren fest auf die Metalle aufgebracht. Es entsteht ein Verbundwerkstück, bei dem das nicht mehr sichtbare Metallgerüst für die Festigkeit und die oberflächliche Keramikschicht für das





Die Patientin aus Abbildung Seite 12 mit keramisch verblendeten Kronen im Oberkiefer

zahnfarbene Aussehen verantwortlich ist. Derartige Verbundkonstruktionen haben sich seit etwa 40 Jahren in breitem klinischen Einsatz hervorragend bewährt.

Titan

Seit etwa zehn Jahren wird intensiv daran gearbeitet, Titan zur Herstellung von Kronen und Brücken zu nutzen. Titan ist zwar ein sehr unedles Metall, es bildet jedoch bei Kontakt mit Sauerstoff innerhalb weniger Millisekunden eine stabile, oberflächige Oxidschicht. Diese Oxidschicht sorgt für hohe Mundbeständigkeit. Titan ist zudem außerordentlich preiswert. Weltweit sind bisher noch keine Allergien auf Titan bekannt geworden. Leider gehen mit der Anwendung von Titan bei Kronen und Brücken auch eine Reihe von Problemen einher. Seine Verarbeitung ist sehr aufwendig und damit teuer. Außerdem ist es schwierig, Titan mit keramischen Massen so zu verkleiden, dass auch im sichtbaren Bereich der Mundhöhle ästhetisch zufriedenstellende Kronen und Brücken angefertigt werden können.

Vollkeramik

Erheblicher Forschungsaufwand wird gegenwärtig auch in die Anwendung metallfreier, nur aus Keramik bestehender Kronen und Brücken gesteckt. Zwar gibt es in der industriellen Anwendung Keramiken, die den oben beschriebenen mechanischen Anforderungen der Mundhöhle völlig problemlos standhalten, diese Werkstoffe sind jedoch mit einfachen und preisgünstigen Verfahren gegenwärtig nicht bearbeitbar und haben daher – von Kronen für einzelne Zähne abgesehen – noch experimentellen Charakter.

Abnehmbare Teil- und Vollprothesen

Mit geringer werdender Zahnzahl eines Patienten müssen vermehrt auch zahnlose

Kieferabschnitte dazu benutzt werden, Kaukräfte zu tragen. Die hat zur Folge, dass Zahnersatz auch die Mundschleimhaut großflächig abdecken muss. Eine gründliche Reinigung eines derartig vergrößerten Zahnersatzes ist jedoch nur außerhalb des Mundes möglich, der Zahnersatz muss also für den Patienten herausnehmbar gestaltet werden.

Im Bereich des abnehmbaren Zahnersatzes dominieren seit Jahrzehnten Kobaltchromlegierungen und Polymethylmethacrylat (PMMA, »Plexiglas«). Auf den aus diesen Materialien bestehenden Prothesenkörpern werden industriell gefertigte, künstliche Zähne befestigt, die ihrerseits entweder aus anorganisch gefüllten Polyurethanen oder aus Feldspatkeramik bestehen.

Kobaltchromlegierungen werden vor allem wegen ihrer exzellenten mechanischen Eigenschaften verwandt, sie gestatten eine grazile Dimensionierung des Gerüsts von Teilprothesen. Kunststoff in Form des zahnfleischfarbenen eingefärbten Plexiglasses ermöglicht eine einfache Formgebung bei gleichzeitiger Erweiterungs- und Umbaufähigkeit des Zahnersatzes. Vor allem das PMMA hat jedoch eine Reihe von Werkstoffnachteilen: Bruchanfälligkeit, Verfärbungsneigung, Anlagerung von Mundhöhlenbakterien. Trotzdem sind verschiedene Versuche der großen Dentalhersteller in den letzten Jahren gescheitert, neue vermeintlich verbesserte Materialien für Voll- und Teilprothesen einzuführen. Die Verbesserungen waren entweder unbedeutend oder wurden vom Markt nicht angenommen. Es ist daher davon auszugehen, dass im Bereich der abnehmbaren Prothesen ein Endpunkt der Entwicklung erreicht ist, der zwar noch Verbesserungen im Detail offen lässt, im wesentlichen jedoch keine großen Veränderungen in den kommenden Jahren erwarten lässt.

Implantatmaterialien

Werden künstliche Zahnwurzeln in den Kieferknochen eingebracht, sollen diese mechanisch stabil und belastbar mit dem

Knochen verwachsen. Voraussetzung hierzu ist, dass der Knochen sich ohne eine trennende, bindegewebige Zwischenschicht direkt an die Oberfläche der künstlichen Zahnwurzel anlegt (sogenannte Osseointegration). Auf der Basis vielfältiger Versuche der sechziger und siebziger Jahre des vergangenen Jahrhunderts sind hierzu Titan, Tantal und einige Keramiken besonders geeignet. Wegen mechanischer Nachteile im Vergleich zu Metallen sind die Keramiken jedoch verlassen worden, Titan hat sich aus Kostengründen gegenüber anderen Metallen durchgesetzt. Gegenwärtig bestehen alle kommerziell verfügbaren Implantatsysteme aus Titan. Wesentliche Eigenschaft des Titans ist seine »Passivierung« durch die bereits oben erwähnte Oxidschicht. Wird Titan mit seiner oberflächlichen Oxidschicht in Kontakt mit lebendem Körpergewebe gebracht, erkennt der Organismus die Titanoxidschicht nicht als Fremdkörper. Es findet daher auch keine Abwehrreaktion statt, die daraufhin ausgerichtet ist, den »Fremdkörper« aus der Sicht des Organismus zu isolieren und abzustößeln. Auch wenn gegenwärtig ca. 95 Prozent aller eingebrachten Zahnwurzeln fest mit dem Kieferknochen verwachsen und einheilen, steht die Analyse der verbliebenen 5 Prozent Misserfolg im Mittelpunkt des Interesses. So wird versucht durch unterschiedliche Morphologie der Titanoberflächen noch bessere Ergebnisse zu erzielen. Eine Schwachstelle der künstlichen Zahnwurzeln ist ihre Durchtrittsstelle durch die Mundschleimhaut. Genau wie beim natürlichen Zahn können sich hier Bakterien der Mundhöhle ansammeln und vermehren und zu einer Entzündung des Zahnfleisches um das Implantat herum führen. Diese Entzündung ist ihrerseits häufig ein Grund dafür, warum sich Implantate auch nach vielen Jahren noch lockern. Zur Verbesserung werden gegenwärtig klinische und experimentelle Untersuchungen zur Beschichtung von Implantatoberflächen mit Keramiken durchgeführt. Hierdurch erhofft man sich geringere Anlagerung von Mundhöhlenbakterien. ■

Der Autor wurde in Duisburg geboren, nach dem Studium der Zahnmedizin in Düsseldorf folgten Assistenzzeit und Habilitation in Tübingen sowie Tätigkeit als Lecturer in London. Seit August 1998 ist Prof. Dr. Jürgen Setz Direktor der Poliklinik für Zahnärztliche Prothetik in Halle.

BIOKOMPATIBLE KUNSTSTOFFE IN DER AUGENHEILKUNDE

VIelfÄLTIGE HILFSMITTEL ZUR ERHALTUNG DER SEHKRAFT

Thomas Hammer und Gernot I. W. Duncker

14

Der Einsatz von Kunststoffen am und im menschlichen Auge ist seit Jahrzehnten in der Ophthalmologie etabliert. Vor drei Jahren wurde der 50. Jahrestag der ersten künstlichen Intraokularlinse gefeiert. Am 29. November 1949 implantierte Harold Ridley in London erstmals eine Kunstlinse in ein menschliches Auge. Derzeit werden zahlreiche Kunststoffe an verschiedenen Lokalisationen am und im Auge eingesetzt.

Linse

Aufgrund angeborener oder erworbener Trübungen entfernte menschliche Linsen (Katarakt) werden durch Implantation von Kunstlinsen ersetzt. Dabei haben sich Hinterkammerlinsen (kapselsackfixiert oder sulkusgestützt) durchgesetzt. Die meisten Erfahrungen besitzt man im Umgang mit den harten Polymethyl-Methacrylat (PMMA)-Linsen (Abb.1).



Abb. 1: Rigide 3-teilige PMMA Linse kurz vor der Implantation in das Auge. Die in den optischen Teil eingesetzten Haptiken spannen sich dann nach der Implantation im Kapselsack aus.

Durch die Suche nach immer kleineren operativen Zugangswegen wurden faltbare Linsen entwickelt. Die erste faltbare Intraokularlinse wurde 1984 von Thomas Mazzocco implantiert. Sie bestand aus einem Silikon-Elastomer (Abb. 2).

Derzeit ist eine verwirrende Vielzahl von Materialien und Designvarianten von Intraokularlinsen erhältlich. Den heute an eine faltbare Intraokularlinse gestellten Anforderungen werden häufig nur Linsen aus mehreren Polymeren gerecht. Dabei kommen Kombinationen verschiedener Acrylate und Methacrylate sowie unterschiedliche Silikon-Elastomere zum Einsatz (Abb. 3) Durch diese faltbaren Linsen verkleinerten sich die Schnittbreiten der operativen Zugangswege bis auf ca. 2 mm. Für spezielle Einsatzindikationen werden auch heute noch PMMA-Linsen in die Vorderkammer implantiert.

Die Implantation einer zusätzlichen Kunstlinse vor die natürliche Linse stellt seit einigen Jahren eine neue Option zur Korrektur



Abb. 2: Flexible einteilige Silikon-Linse im ungefalteten (links) und gefalteten Zustand. Für die Faltung wird eine spezielle Pinzette verwendet, welche den optischen Teil der Linse vor Beschädigungen schützt.

hoher Refraktionsfehler (sphärische und astigmatische Korrekturen) dar. Dabei können diese Linsen sowohl auf der Irisvorderfläche befestigt (Artisan-Linsen®; PMMA) oder zwischen Irisrückfläche und Linsenvorderfläche (hochflexible Materialien) implantiert werden. Die derzeit verfügbaren fixen und flexiblen

Linsenmaterialien werden intraokular sehr gut vertragen. Die Biokompatibilität von Kunststoffen im Auge kann aber durch verschiedene Faktoren beeinträchtigt sein. So kann es im Rahmen eines Diabetes mellitus oder bei intraokularen Entzündungszuständen, welche mit Störungen im Bereich der Blut-Kammerwasser-Schranke einhergehen, zu Ablagerungen von Entzündungszellen auf den Kunststoffoberflächen kommen. Deshalb wurden die Oberflächen einiger Kunstlinsen biokompatibler gestaltet. Eine Möglichkeit dafür stellen die heparinmodifizierten Intraokularlinsen dar.

Hornhaut

Die Kornea als vordere Barriere des menschlichen Auges ist mechanischen und chemischen Fremdeinwirkungen in besonderer Weise ausgesetzt. Wenn sich durch Dystrophien oder Traumata die Kornea eingetrübt hat, dann ist heutzutage die Transplantation das Mittel der Wahl. Bei dieser weltweit jährlich etwa 100 000 mal und in Deutschland um die 4 000 mal durchgeführten Operation kommt als organischer Gewebersersatz Spender-Kornea zur Anwendung. Transplantierte Hornhäute haben nur dann eine gute langfristige Prognose, wenn das immunologische Privileg der Hornhaut nicht beeinträchtigt ist. Insbesondere nach schweren Verätzungen kommt es häufig zu einer Hornhautvaskularisation. Auch bei Krankheitsbildern wie Stammzellinsuffizienzen, Steven-Johnson-Syndrom oder dem fortgeschrittenen vererbenden Pemphigoid kommt es häufig zu

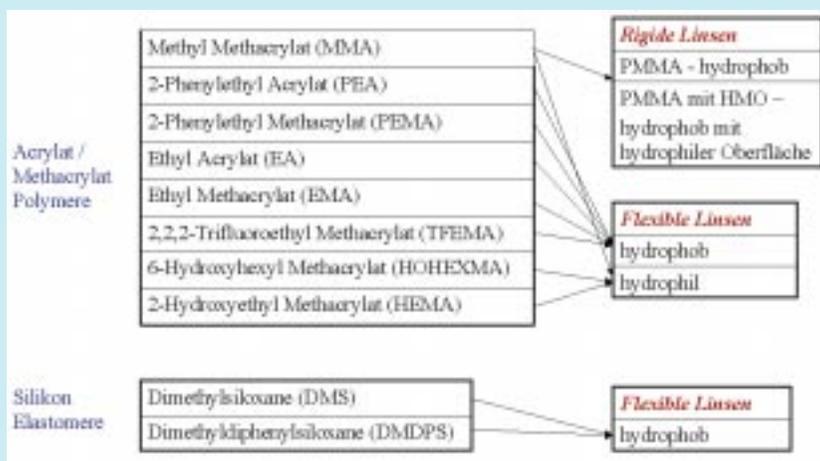


Abb. 3: Schematische Darstellung einer Vielzahl der derzeit zum Einsatz kommenden Kunststoffe und deren Kombinationen für die Fertigung von Intraokularlinsen. PMMA: Polymethyl Methacrylat; HMO: heparinmodifizierte Oberfläche, nach Kohnen T. The variety of foldable intraocular lens materials. J Cataract Refract Surg 22 (Supp 2) 1996

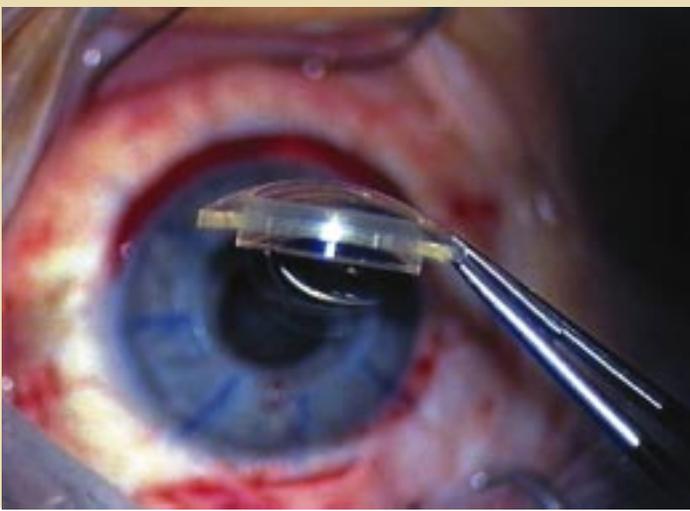


Abb. 5: Temporäre Keratoprothese aus Silikon kurz vor der Aufnähung auf die Hornhaut.

einer Transplantateinrührung. Wenn es in solchen Fällen nach mehrmaliger Hornhauttransplantation Abstoßungsreaktionen gibt, dann wird eine permanente Keratoprothese benötigt. Diese PMMA-Keratoprothesen werden entweder intrakorneal oder epikorneal verankert und durch eine Skleramanschette sowie Mund-Schleimhaut-Plastik fixiert (Abb. 4). Temporäre Keratoprothesen aus Silikon können intraoperativ nach Entfernen der z. B. stark verletzten oder getrübten Hornhaut eingenäht werden, um mikrochirurgische Manipulationen gerade auch im hinteren Augenabschnitt besser durchführen zu können (Abb. 5). Zum Abschluss einer solchen Operation wird dann eine Spenderhornhaut eingenäht.

Da mit permanenten Keratoprothesen versorgte Augen häufig durch ein nicht beherrschbares Sekundärglaukom verloren ge-

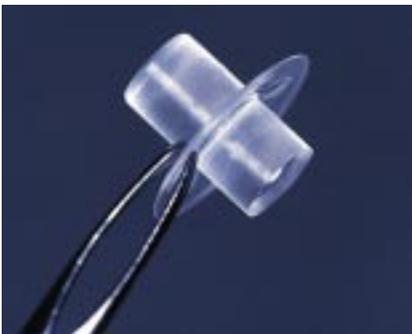


Abb. 4: Permanente PMMA-Keratoprothese mit einer zylinderförmigen Optik und dem zur Befestigung mittels Skleramanschette dienendem Ring. Fotos (6): Haugk

hen, wurde nach alternativen Materialien gesucht. Derzeitig wird die Möglichkeit des Einsatzes heterologer und autologer Knorpelscheibchen als Hornhautersatz in solchen Problemsituationen untersucht. Für den Bereich der refraktiven Chirurgie kommen seit einigen Jahren sogenannte Hornhautringsegmente zur Korrektur leichter Myopien zum Einsatz. Diese aus PMMA bestehenden halbkreisförmigen Segmente werden nach Präparation eines speziellen Tunnels direkt in die Peripherie des kornealen Stromas implantiert. Durch die Abflachung zwischen den Implantaten

kommt es zur Verringerung der Hornhautbrechkraft und somit zur Korrektur von leichten Myopien.

Kontaktlinsen

Eine der häufigsten Anwendungen von Kunststoffen am Auge stellt der Einsatz von Kontaktlinsen dar. Dafür werden heute unterschiedliche fixe und auch flexible Materialien, in der Regel PMMA und Acrylate, benutzt. Insbesondere bei flexiblen Materialien muss dabei besonderes Augenmerk auf eine möglichst hohe Sauerstoffdurchlässigkeit gelegt werden. Diese speziellen Eigenschaften werden oft erst durch die Kombination verschiedener Kunststoffe als Copolymere erzielt.

Tränen-Nasenwege. Die ableitenden Tränen-Nasenwege können sowohl kongenital, als auch traumatisch oder postentzündlich Abflusshindernisse aufweisen. Nach chirurgischen Eingriffen ist es teilweise nötig, die Tränenwege mittels eines Stents, Schlauches oder implantierten Kragenknopfröhrchens offen zu halten. Dabei kommen sowohl Silikon-, Polyurethan- und PMMA- als auch Polyethylen-Materialien zum Einsatz. Bei Patienten mit verringerter Tränenproduktion und Ausbildung eines Sicca-Syndromes kann es sinnvoll sein, die ableitenden Tränenwege temporär zu verschließen. Dazu werden kleine formstabile oder flexible Kunststoffimplantate (so genannte punctum plugs) in die Tränenpünktchen eingesetzt. Durch spezielle Beschichtungen wird auch bei diesen Materialien versucht, die ursprünglich hydrophobe Oberfläche hydrophil und somit bioverträglicher zu gestalten und mit Heparin zu beschichten. Darüber hinaus wurde auch eine hydrophile innere Oberfläche entwickelt, um einen besseren Tränentransport zu gewährleisten.

Weitere Einsatzmöglichkeiten

Iris. Angeborenes Fehlen der Regenbogenhaut oder verletzungsbedingte Iriśausrisse können durch den Einsatz von Irissurrogaten, welche aus eingefärbtem PMMA be-



Abb. 6: Kapselspannung mit Iristeilblende zur Rekonstruktion eines Iris-Diaphragmas.

stehen, behandelt werden. Diese im Kapselsack verankerten PMMA-Plättchen simulieren eine Pupillaröffnung und können dauerhaft im Auge verbleiben (Abb. 6).

Orbita. Sollte z. B. aufgrund eines Tumoreidens, einer schweren Verletzung oder eines dolorösen Sekundärglaukoms ein Auge enukleiert werden müssen, so sollte als Grundlage für eine spätere prothetische Versorgung ein Platzhalter in die Orbita eingebracht werden. Dazu wurden verschiedene Kunststoffe wie z. B. Nylon oder Hydroxylapatit eingesetzt. Diese sogenannten Orbitaplomben können zur besseren Biokompatibilität mit einer speziell vorbehandelten Spendersklera umhüllt werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass neben dem seit Jahren etablierten Einsatz von Kunststoffen in und am Auge weitere Entwicklungsschritte zur Erforschung von noch biokompatibleren Materialien nötig sind, um Fremdkörperreaktionen an den Implantaten weiter zu minimieren. So etabliert der Einsatz von künstlichen Intraokularlinsen ist, so unbefriedigend sind bis heute die Ergebnisse beim Einsatz von Biomaterialien als Hornhautersatz, wenn die Transplantation von Spendergewebe misslingt. Auf diesem Gebiet sind in den nächsten Jahren weitere Fortschritte in der Entwicklung von gut verträglichen Biomaterialien zu erhoffen. ■

Prof. Dr. Gernot Duncker studierte Medizin in Kiel (1981 Promotion, 1989 Habilitation), seit 1997 ist er Direktor der Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde an der halle'schen Universität.

Dr. Thomas Hammer ist seit 1. März 2000 an der Universitäts-Augenklinik in Halle als Assistenzarzt tätig.



FACHBEREICH
ERZIEHUNGS-
WISSENSCHAFTEN

Prof. Dr. Ute Geiling

Universitätsprofessorin für Lernbehinder-
tenpädagogik am FB Erziehungswissen-
schaften seit 1. April 2001. – Geb. am 24.
Nov. 1952 in Hildburghausen/Thüringen

Wissenschaftlicher/beruflicher Werdegang:
1971–1975 Lehramtsstudium Biologie/Chemie (PH Potsdam u. Köthen)
1975–1978 Wiss. Stipendiatin im WB Psychologie d. PH Köthen; Lehrerin
1978–1988 Wiss. Ass. an der PH Köthen
1980 Promotion an der PH Köthen (Dr. paed. für Päd. Psychologie)
1988–1993 Wiss. Mitarb., PH Halle-Köthen
1988–1994 Mitarb. in d. Erziehungsbera-
tungsstelle der o. g. PH
1994 Habilitation (Univ. Hamburg)
1994–1998 Wiss. Oberass. im Inst. f.
Grundschulpädagogik des FB
Erz.wiss. d. MLU;
1994–1999 Privatdozentin u. Lehrbeauftr.,
FB Erz.wiss. d. Univ. Hamburg
1999–2000 Vertretungsprof. f. Lernhilfe-
päd. im Inst. f. Sonderpäd. d.
Univ. Frankfurt (Main)
2000–2001 Vertretungsprof. im Inst. f.
Rehabilitationspäd. d. MLU
2001 Universitätsprofessorin in Halle

Arbeits- und Forschungsschwerpunkte:
Lernbehinderung (Pädagogik u. Didaktik) in
unterschiedl. schulischen Kontexten; Dia-
gnostik u. Förderung v. Kindern mit Lern-
schwierigkeiten im mathematischen Bereich;
Lebensperspektivvorstellungen v. Kindern

Publikationen (Auswahl):
• Geiling, Ute (Hg.) (2000): Pädagogik, die
Kinder stark macht. Ansätze zur Arbeit mit
Kindern in Not. Opladen
• Geiling, Ute; Heinzl, Friederike (Hg.)
(2000): Erinnerungsreise – Kindheit in der
DDR. Studierende erforschen ihre DDR-
Kindheiten. Hohengehren
• Prengel, Annedore; Geiling, Ute; Carle,
Ursula (2001): Schulen für Kinder. Flexible
Eingangsphase und feste Öffnungszeiten in
der Grundschule. Bad Heilbrunn



FACHBEREICH
BIOLOGIE

Prof. Dr. Martin Röser

Universitätsprofessor für Spezielle Botanik
und Biodiversität am FB Biologie seit
1. April 2001. – Geboren am 3. November
1960 in Witzenhausen/Hessen.

Wissenschaftlicher/beruflicher Werdegang:
1978–1984 Studium der Biologie, Kathol.
Theologie u. ab 1980 Geologie
an der Universität Tübingen
1984 Staatsexamen für das Lehramt
an Gymnasien
1984–1989 Untersuchungen zur Biosyste-
matik, Verbreitung u. Ökologie
mediterraner Pflanzen
1989 Promotion zum Dr. rer. nat.
1990–1992 Postdoktorand am Institut für
Botanik der Universität Wien
1993–1995 Hochschulass. am o.g. Institut
1995–2000 Wiss. Ass. am Inst. f. Botanik
der Universität Leipzig
seit 1990 Feldforschungen in den alt- u.
neuweltl. Tropen/Subtropen;
Forschungsaufenthalte in GB,
den USA und D; Förderungen
durch DFG, Fonds zur Förde-
rung wiss. Forschung in Öster-
reich (FWF) u. Österreichische
Forschungsgemeinschaft (ÖFG)
1999 Habilitation
2001 Universitätsprofessor in Halle

Arbeits- und Forschungsschwerpunkte:
Evolution und Phylogenie der Samenpflan-
zen; klassische und molekulare Cytogenetik

Publikationen (Auswahl):
• Röser, M. (2000): DNA amounts and qua-
litative properties of nuclear genomes in
palms (Arecaceae), in: Wilson, K. L., Mor-
rison, D. A., Hg.: Monocots: Systematics
and evolution, 538–544. Melbourne,
CSIRO Publishing.
• Röser, M., Winterfeld, G., Grebenstein,
B., Hemleben, V. (2001): Molecular diver-
sity and physical mapping of 5S rDNA in
wild and cultivated oat grasses (Poaceae:
Aveneae), in: Molec. Phylogenet. Evol.
(im Druck).



JURISTISCHE
FAKULTÄT

Prof. Dr. Reimund Schmidt-De Caluwe

Universitätsprofessor für Öffentliches
Recht an der Juristischen Fakultät seit
1. April 2001.
Geboren am 9. Mai 1956 in Gießen.

Wissenschaftlicher/beruflicher Werdegang:
1977–1983 Studium der Rechtswissen-
schaften an den Universitäten
Marburg und Gießen
1983 1. Juristische Staatsprüfung
1983–1987 Tätigkeit als wiss. Hilfskraft
1987 2. Juristische Staatsprüfung
1987–1992 Wiss. Mitarbeiter an der Uni-
versität Gießen
1991 Promotion zum Dr. jur.
1992–1998 Wiss. Ass. an o. g. Universität
1998 Habilitation und Ernennung
zum Privatdozenten
1998–2001 Vertretungsprofessur in Frank-
furt (Main) und an der Univer-
sität Düsseldorf; Lehrtätigkeit
an der Universität Gießen
2001 Universitätsprofessor in Halle

Wissenschaftspreise:
1992 Diss.-Preis der Univ. Gießen
1999 Habil.Preis der Univ. Gießen

Arbeits- und Forschungsschwerpunkte:
Allgemeines Verwaltungsrecht, neuere
Verfassungs-/Verwaltungsrechtsgeschichte,
Kommunalrecht; Sozialrecht;

Publikationen (Auswahl):
• Der sozialrechtliche Herstellungsan-
spruch, Berlin 1992
• Die kommunale Grundrechtsklage in Hes-
sen, Baden-Baden 1996
• Der Verwaltungsakt in der Lehre Otto
Mayers – Staatstheoretische Grundlagen,
dogmatische Ausgestaltung und deren
verfassungsbedingte Vergänglichkeit,
Tübingen 1999
• §§ 260 f. SGB III – Förderung von
Arbeitsbeschaffungsmaßnahmen, in:
Wissing/Eicher/Schmidt-De Caluwe/Bartz
(Hg.), Kommentar zum Sozialgesetzbuch
III, Baden-Baden 1998

NUR EIN TROPFEN BLUT ...

ALKOHOLSÜNDERN SCHNELLER AUF DER SPUR

René Csuk

Haarproben von Christoph Daum oder Dieter Baumann sind hinlänglich bekannte Objekte labordiagnostischer Untersuchungen; Untersuchungen an der Haarlocke von Heinrich Heine oder den knöchernen Überresten der Zarenfamilie (und die damit erfolgte Zerstörung der Legende vom Überleben der Zarentochter Anastasia) machten Schlagzeilen. Doch gehören heute labordiagnostische chemische Untersuchungen (»Laboruntersuchungen«) zu den wichtigsten und am häufigsten veranlassten Maßnahmen sowohl während eines Arztbesuches oder einer forensischen Spurenanalytik als auch im Rahmen einer rechtsmedizinischen Untersuchung bei Kriminalfällen. Dabei kann die Analyse von nur einem Tropfen Blut oder Urin oder auch nur eines Haares wertvolle Hinweise auf die Ursache einer Krankheit liefern; diese Probe kann Auskunft über den Verlauf einer Therapie geben, die Wirksamkeit einer Behandlung – aber auch einen allfälligen Medikamenten- oder Drogenmissbrauch in der Vergangenheit nachweisen. Als Ergebnis solcher Untersuchungen resultieren im täglichen Sprachgebrauch »Laborwerte« genannte Analysendaten, aus deren Fülle mögliche Interpretationen resultieren können, deren Bandbreite von einfach bis unüberschaubar schwierig reicht.

Die Analyse »bringt es an den Tag«

Im medizinisch-chemischen Bereich dienen in mehr als 90 Prozent aller Fälle Blut und Urin als Untersuchungsmaterial, daneben finden aber auch – nicht zuletzt in der forensischen Spurenanalytik verwendete – »exotische« Untersuchungsmaterialien wie Stuhlproben, Magensaft, Speichel, Zwölffingerdarmsaft, Gehirn-Rückenmarksflüssigkeit, Gelenkflüssigkeit, Gallenflüssigkeit, Haare, Fruchtwasser oder Sperma hin und wieder Verwendung. Schlagzeilen machen allerdings meist nur spektakuläre Ergebnisse, unabhängig davon, ob dies ein Fußballtrainer (C. Daum; vgl. Abb. 1), ein Profisportler (O. J. Simpson) oder ein ägyptischer Pharao [Blutgruppenbestimmung an Tut-ench-amun († 1338 v. Chr.) ist.

Die so erhaltenen Analysenwerte sind einerseits als Momentaufnahmen der Körperfunktionen zum Zeitpunkt der Probenahme (z. B. Blutglucose, Cholesterin, Blutalkohol, aber auch Vorliegen/Ausschluss einer durch Viren verursachten Erkrankung wie Hepatitis oder AIDS) oder dienen andererseits zum Nachweis vorangegangener Einflüsse (Drogen- oder Alkoholmissbrauch, Vergiftungen etc.).

Nachweis vielfältiger Komponenten

Aus chemisch-analytischer Sicht reduzieren sich die dabei anfallenden analytischen Probleme auf drei Hauptaufgaben: Probengewinnung, Laboruntersuchung und Interpretation der Untersuchungsergebnisse. Während gerade im rechtsmedizinischen Bereich der Probengewinnung eine besondere wichtige Bedeutung zukommt, gestaltet sich der Nachweis einzelner Komponenten dank modernster Analysetechnik

oft relativ einfach. Die Aufgabenstellungen reichen vom Nachweis (aber nur teilweise der quantitativen Bestimmung) großer Biomoleküle bis zur quantitativen Bestimmung kleinerer Moleküle (z. B. Blutglucose, freies Cholesterin, Metalle, Harnsäure). Eine allgemein gültige Verallgemeinerung ersterer Analysenprobleme ist relativ schwierig, da hier ein Bogen gespannt ist von in einfachen ja/hein-Entscheidungen resultierenden Aussagen (Zuordnung eines aus Haarwurzeln, Blut, Speichel, Sperma aber auch aus Knochen und Zähnen erhaltenen »genetischen Fingerabdrucks« zu einzelnen Individuen aber auch der bis zur Teststreifenanalytik vereinfachte Schwangerschaftsnachweis aus einer Urinprobe), über Aktivitätsbestimmungen (als Substitut für nicht einfach durchzuführende Mengenbestimmungen an

Enzymen üblich in weiten Bereichen der Bestimmung der sog. »Leberwerte«) bis hin zur quantitativen Mengenbestimmung an großen Biomolekülen (z. B. funktionale Proteine, Tumormarker).

Bedeutung im Straßenverkehr

Alkoholismus (Abb. 2 und 3) zählt zu den schwerwiegendsten Suchtkrankheiten unserer Gesellschaft. Dies gilt hinsichtlich seiner sozialen, ökonomischen und medizinischen Konsequenzen (Abb.4). Gemäß Angaben der Deutschen Hauptstelle gegen die Suchtkrankheiten gibt es derzeit ca. 2,5 Millionen Alkoholranke, entsprechend einem Anteil von 4 bis 7 Prozent der Erwachsenenbevölkerung. Abhängigkeit ist anhand psychiatrischer Kriterien in Kombination mit labormedizinischen Markern diagnostizierbar. Von besonderem Interesse ist dabei ein steigender Anteil alkoholisierter Personen im Straßenverkehr.

Von labormedizinischem Interesse sind, nicht zuletzt wegen der leichteren Bestimmbarkeit, zustands- und zeitabhängige State-Marker wie: Blutalkohol-Konzentration, Methanol-Konzentration, Ethylglucuronid-Konzentration, HDL-Cholesterin-Konzentration, GGT-Aktivität (= Gamma-Glutamyl-Transferase), CDT-Konzentration (= Kohlenhydrat-defizientes Transferin), MCV (= mittleres korpuskuläres Erythrozytenvolumen).

17

Cocain in Haarsegmenten

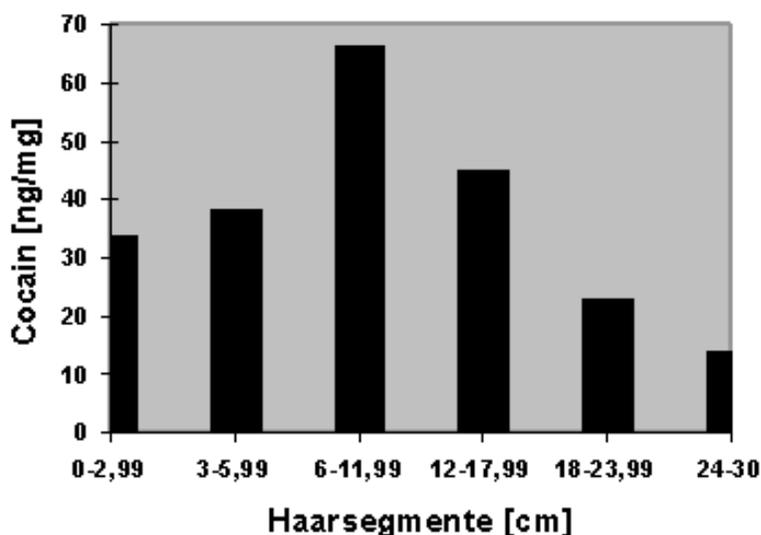


Abb. 1: Nachweis von Cocain in Haaren (Quelle: BKA)

18 Neues Verfahren entwickelt

In unserem eigenen Arbeitskreis haben wir uns seit geraumer Zeit mit der Entwicklung eines einfachen Hochdurchsatz-Analysenverfahrens zur Bestimmung kleiner Moleküle wie z. B. Ethanol beschäftigt. Ziel war es dabei, ein kostengünstiges Verfahren zu entwickeln, das es einerseits in einem parallelisierten, miniaturisierten Betrieb ge-

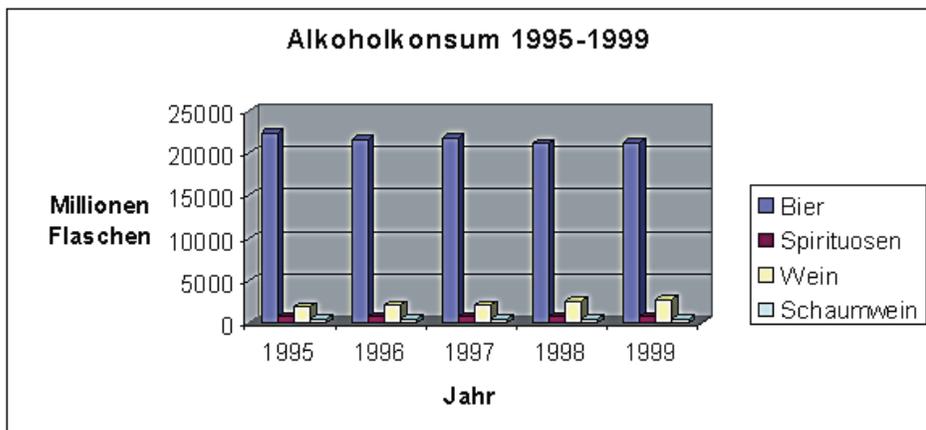


Abb. 2: Alkoholkonsum Deutschland 1995–1999: Bier (Flaschen zu 0,5 l), Spirituosen (Flaschen zu 0,7 l), Wein (Flaschen zu 0,75 l) und Schaumwein (Flaschen zu 0,75 l); Quelle: Bundesverband Deutscher Spirituosenhändler und -importeure.

Alkoholika: Pro-Kopf-Konsumtion 1999

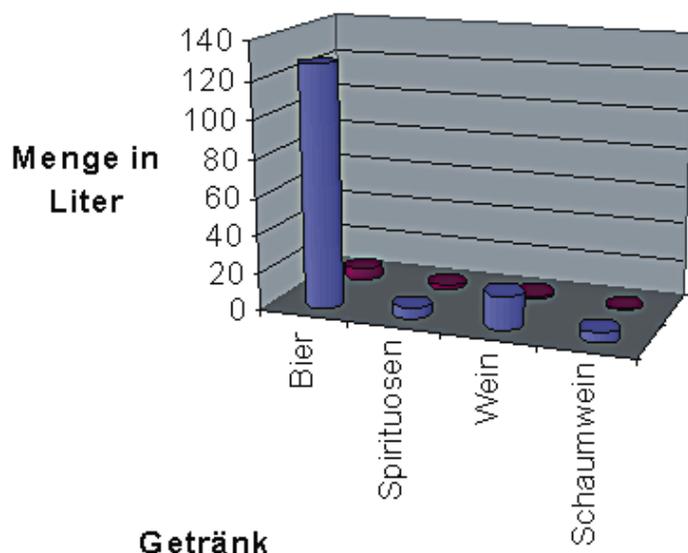


Abb. 3: Alkoholkonsumtion Deutschland 1999: Obige Daten entsprechen der Konsumtion von 10,5 Liter reinem Alkohol/Kopf der Bevölkerung (Quelle: Bundesverband Deutscher Spirituosenhändler und -importeure).

gischen Proben (Blut, Serum, Urin) sowie in Lebensmitteln (Fruchtsäfte, Wein, Spirituosen, Sekt). Auf das etablierte Verfahren einer gekoppelten enzymatischen Reaktion aufbauend, konnte so ein System entwickelt werden, das mit hoher Genauigkeit Alkoholbestimmungen ermöglicht. Da damit bislang bis zu 380 Proben gleichzeitig vermessen werden können, sind Breitenanalysen (vor allem aus dem lebensmittelchemischen Bereich) leicht und vor allem kostengünstig durchführbar. Eine erfolgreiche externe Zertifizierung für den lebensmittelchemischen, klinischen und rechtsmedizinischen Bereich belegt die Güte der Bestimmungen. Dass im Weine die Wahrheit liegt, wussten wohl schon die alten Römer; wieviel Alkohol aber enthalten ist: dazu braucht man moderne Analysetechnik.

René Csuk studierte von 1976–1981 an der Technischen Universität Graz/Österreich Technische Biochemie (Promotion 1984, Habilitation 1992 an der Universität Heidelberg für das Fach Pharmazeutische Chemie) und wurde 1995 auf eine C4-Professur für Organische Chemie an die Martin-Luther-Universität berufen. Er ist seit 1996 Dekan des Fachbereichs Chemie.

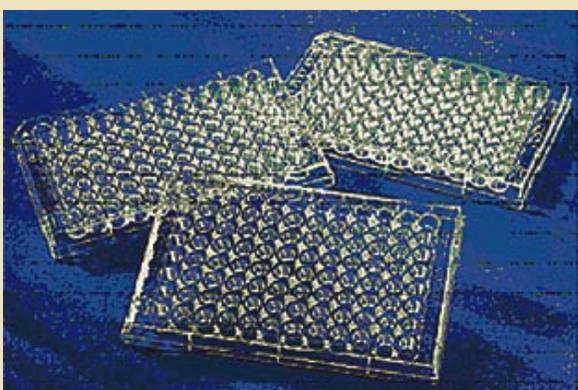


Abb. 5: Mikrotiterplatten (96 Kavitäten) zur Durchführung kleinerer HTS-Assays

stattet, viele Proben möglichst gleichzeitig und schnell, aber mit hoher Genauigkeit, reproduzierbar bei gleichzeitig kleinem Probevolumen zu vermessen (Abb. 5). Die

Auswahl fiel deshalb auf die Verwendung und Entwicklung einer auf enzymatischen Grundlagen beruhenden Analyse, da damit neben einer hohen Spezifität eine relativ einfache Probenvorbereitung sowie bei hoher Präzision und Empfindlichkeit auch eine einfache Durchführung im Routinebetrieb gewährleistet ist. Praktisch treten dabei kaum Störungen auf und darüber hinaus kann schnell, preiswert, automatisierbar unter Verwendung ungefährlicher Reagenzien relativ universell analysiert werden.

Alkoholgehalt genau bestimmen

Eines der ersten Verfahren, das auf dieser Basis als HTS (High-Throughput-Screening)-Assay entwickelt wurde, war die Bestimmung von Alkohol (Ethanol) in biolo-



Abb. 4: Anteil von Straftaten unter Alkoholeinfluss (Quelle: Stat. Bundesamt)

WIRKUNG VON »MOLEKÜLPUMPEN«

HOCHAKTUELLE ZIELSTRUKTUREN DER ARZNEIMITTELFORSCHUNG

Peter Nuhn, Hildegard Spahn-Langguth und Andreas Langner

Biologische Membranen trennen als Plasmamembran das Zellinnere von der Umwelt und sichern damit die Integrität der Zelle, erlauben aber auch innerhalb der Zelle eine Kompartimentierung (z. B. als endoplasmatisches Retikulum oder Kernmembran) und damit die Bildung eigenständiger »Reaktionsräume«. Biologische Membranen erfüllen damit eine Barrierefunktion. Bei einer Zelle handelt es sich aber um ein System, das weit entfernt vom thermodynamischen Gleichgewicht ist. Die Zelle ist nicht unabhängig von ihrer Umgebung, von ihren Nachbarzellen. Sie muss mit Nährstoffen versorgt werden und mit den Zellen des übrigen Organismus kommunizieren können. Die Barrierefunktion der biologischen Membran muss deshalb auch selektive Transportprozesse und einen Informationsaustausch mit anderen Zellen ermöglichen.

Der Transport durch die im wesentlichen lipophile biologische Membran erfolgt entweder durch einfache Diffusion – allerdings beschränkt auf lipophile Substanzen – oder über membrandurchdringende Transportproteine (Kanäle). Soweit dieser Transport entgegen einem Konzentrationsgefälle erfolgen muss, ist Energie nötig, die durch Hydrolyse von Adenosintriphosphat (ATP) geliefert wird. Man bezeichnet solche Transportproteine, die an eine Hydrolyse von ATP gekoppelt sind, also ATPase-Aktivität aufweisen, auch als Pumpen. Im Verlaufe der Evolution hat es sich nun als notwendig erwiesen, die Zelle auch vor dem unerwünschten Eindringen von Fremdstoffen (Xenobiotika) zu schützen. Dazu wurden »Molekülpumpen« entwickelt, die unter ATP-Verbrauch eingedrungene und eventuell schädigende Substanzen wieder aus der Zelle transpor-

tieren. Die Molekülpumpen gehören zu den so genannten ABC-Proteinen (ATP-bindende Kassetten-Proteine, ATP-binding cassette proteins). Bei diesen ABC-Proteinen sind jeweils sechs membrandurchdringende Proteinsegmente zu Bündeln (Kassetten) zusammengefasst, die über Polypeptidschleifen miteinander verbunden sind. Die ATP-Bindungsstellen befinden sich an der endoplasmatischen Seite (Abb. 1).

Multidrug-Resistenz

Gefunden wurden diese Molekülpumpen in Zusammenhang der Multidrug-Resistenz von Krebszellen. Durch Überexpression von Molekülpumpen können Krebszellen gegen strukturell und funktionell sehr unterschiedliche Zytostatika re-

sistent werden, d. h. die zur Krebschemotherapie eingesetzten Arzneistoffe werden schnell wieder aus der Krebszelle transportiert, bevor sie wirken, also die Krebszelle abtöten können. Durch die Multidrug-Resistenz wird also verhindert, dass wirksame Konzentrationen von Zytostatika in der Krebszelle entstehen. Das Auftreten der Multidrug-Resistenz korreliert mit der Anwesenheit von Molekülpumpen, die im Menschen durch zwei Gene (MDR1 und MDR2) kodiert werden, die beide auf dem Chromosom 7 lokalisiert sind. Das MDR1-Gen kodiert die Biosynthese des P-Glykoproteins (Pgp). Pgp ist ein 170kDa-Membranprotein aus 1280 Aminosäuren, das 12 Transmembransegmente und zwei ATP-Bindungsstellen besitzt (Abb. 1). Neben dem P-Glykoprotein gibt es noch eine Reihe weiterer Molekülpumpen. Molekülpumpen wurden inzwischen auch in Epithelzellen verschiedener Organe gefunden, so in Leber, Niere, Pankreas, Testes, in der Blut/Liquor-Schranke und im Intestinaltrakt.

Rolle des P-Glykoproteins

Die Bedeutung von auswärts gerichteten Transportern für die Aufnahme und die Gewebeverteilung von Substanzen wurde

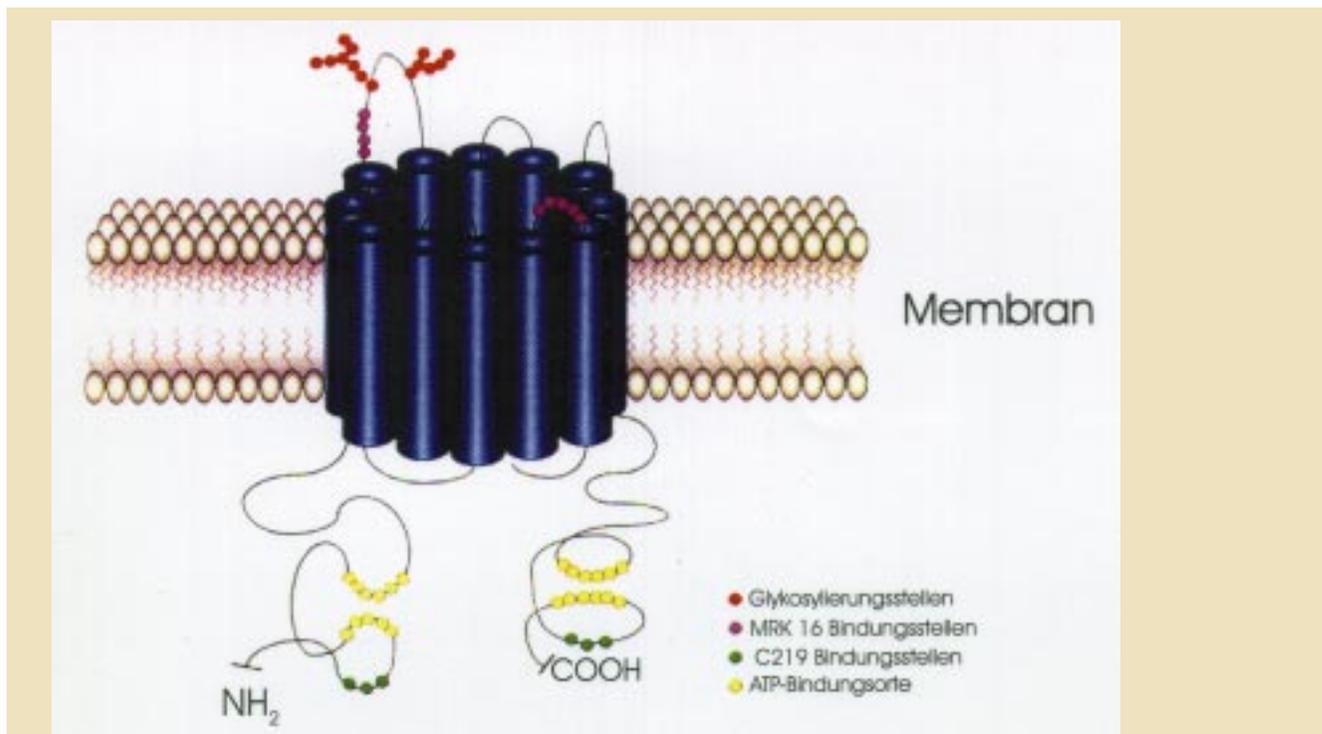


Abb.1: Schematische Darstellung des P-Glykoproteins mit zwölf membrandurchdringenden helikalen Segmenten und der ATP-Bindungsstelle auf der zytoplasmatischen Seite.

erst in den letzten Jahren erkannt. Insbesondere das Pgp wurde in bezug auf seine Relevanz für die Aufnahme bzw. mangelnde Aufnahme von Arzneistoffen identifiziert. Man geht davon aus, dass der Grund für das Auftreten von Pgp im Darm die Abwehr von Umweltgiften und in Nahrungsmitteln potentiell vorkommenden toxischen Verbindungen ist. Den zum Darmlumen hin gerichteten Transport über P-Glykoprotein und verwandte Transporter bezeichnet man als intestinale Sekretion oder Exsorption. Das besondere Charakteristikum derartiger gerichteter, aktiver und energieverbrauchender Prozesse ist dabei generell deren Sättigbarkeit und Hemmbarkeit. Das bedeutet, dass in Abhängigkeit von der Konzentration der zu transportierenden Substanz der wieder nach außen transportierte Anteil unterschiedlich sein kann. Über einen bestimmten Konzentrationsbereich korreliert die transportierte Menge gut mit der Konzentration und steigt mit ihr an. Ist die zu transportierende Menge sehr hoch, dann kann die maximale Transportkapazität ausgeschöpft sein. Eine Konzentrationserhöhung führt dann nicht mehr zu einer erhöhten Transportrate in Bezug auf den aktiven Transportprozess, denn der Transporter arbeitet ohnedies mit maximaler Geschwindigkeit.

Neben diesem aktiven Auswärtstransport, der die über die Darmschleimhaut aufgenommene Arzneistoffmenge deutlich reduzieren kann, findet man im Rahmen der Arzneistoffaufnahme in der Regel aber auch noch eine passive Diffusion von Substanzen von der Lumen- zur Blutseite. Ob der Auswärtstransport für die Aufnahme eines Arzneistoffmoleküls in den Organismus von Bedeutung ist, lässt sich am Verhältnis der Aufnahme in das Blut über passive Diffusion und des Auswärtstransports ableiten (Abb. 2). Ausgedehnte Transportstudien an Zellschichten haben gezeigt, dass es sich bei vielen bekannten Arzneistoffen um Substrate des Pgp handelt. Da verschiedene Substrate aber um einen Transporter konkurrieren können, bergen Pgp-Substrate generell ein Potential für Arzneistoff-Wechselwirkungen in sich, dessen Relevanz u. a. durch die Affinität zu den Bindungsstellen am Transporter, aber auch durch zusätzlich – oder hauptsächlich – auftretende passive Diffusionsprozesse bestimmt wird. Aber auch Nahrungsbestandteile können Affinität zu Pgp aufweisen (z. B. Flavonoide im Grapefruitsaft) und die in den Organismus aufgenommene Wirkstoffmenge erhöhen bzw. erniedrigen oder aber die Barrierefunktion von Pgp in bestimmten Organen reduzieren

und so die Verteilung der Substanzen im Organismus beeinflussen.

Weitere Transporter

Zentrum der Biotransformation von Arzneistoffen ist bekanntermaßen die Leber, in der neben Pgp weitere Transporter gefunden wurden (Abb. 3). Die Geschwindigkeit der einzelnen Biotransformationsreaktionen in den entsprechenden subzellulären Kompartimenten der Hepatozyten (glattes endoplasmatisches Retikulum, Mitochondrien, Lysosomen und Peroxisomen) ist sowohl von der Substratzufuhr (Wirkstoff bzw. Konjugationspartner) als auch vom Produktabtransport (Metabolite) abhängig. Neben Diffusion und Filtration kommen für den Transport durch die basolaterale Membran einige wichtige Carrier-Proteine in Betracht (Abb. 3) Weiterhin sind für den Fremdstoffwechsel Transporter für die Aufnahme von Molekülen aus dem Cytosol in das glatte endoplasmatische Retikulum, in die Mitochondrien, in die Lysosomen sowie in die Peroxisomen von Bedeutung.

Da das Auftreten einer Multidrug-Resistenz (MDR) ein großes Problem für die Krebschemotherapie darstellt, ist dieses

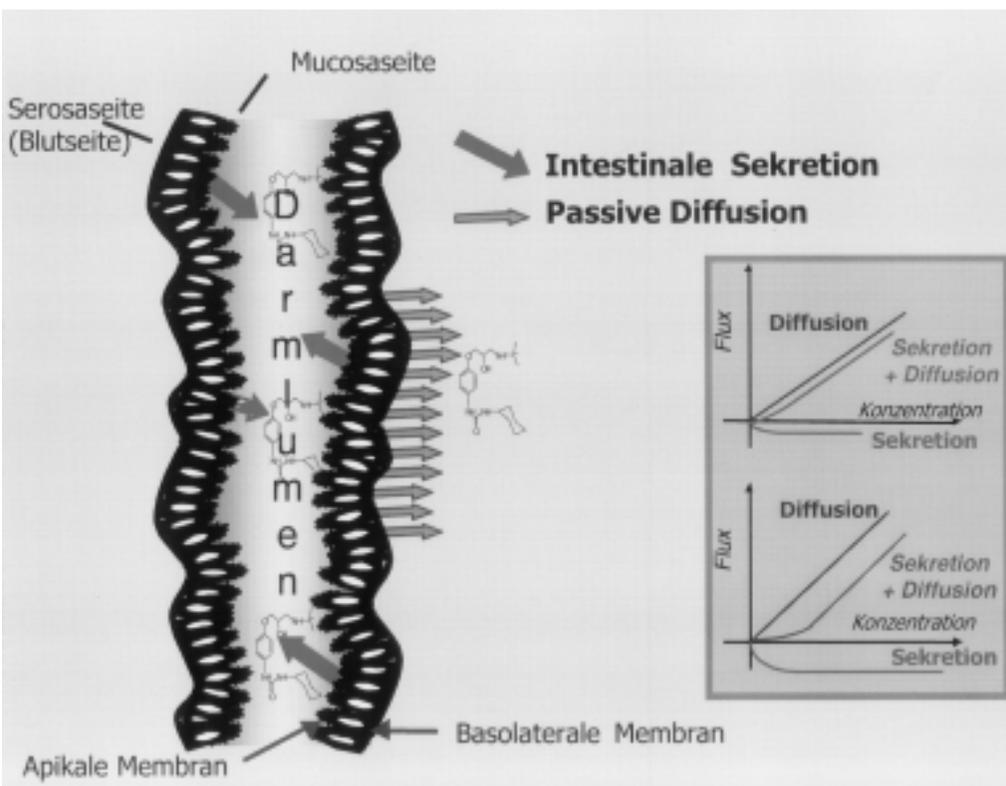


Abb. 2: Intestinale Sekretion (Exsorption) als konkurrierender Prozess bei der Absorption von Arzneistoffen aus dem Darmlumen (stark schematisierte Darstellung): Der Darm (Falten, Zotten etc. nicht dargestellt) ist ausgekleidet mit einer Schicht von Enterozyten, in deren apikaler (Lumen-seitiger) – und in geringerem Ausmaß auch in deren basolateraler (Blut-seitiger) – Membran nach innen und nach außen gerichtete Transporter lokalisiert sind. Der Arzneistoff (hier der Beta-blocker Talinolol, der ein P-Glykoprotein-Substrat mit hoher Affinität ist) wird durch passive Diffusion ins Blut aufgenommen, aber auch wieder aktiv zurück ins Lumen sezerniert. Sind die Konzentrationen im Lumen gering, so spielt die intestinale Sekretion eine größere Rolle als bei hohen Konzentrationen, d. h. im Bereich der Sättigung des Transporters.

Ob für ein P-Glykoprotein-Substrat die intestinale Sekretion quantitativ von Bedeutung ist, hängt von dem Verhältnis zwischen Absorption über passive Diffusion und dem aktiven Prozess der Exsorption ab (siehe Darstellung der einzelnen und gesamten konzentrationsabhängigen Fluxes im Insert). Der aktive Prozess ist also im Gegensatz zur passiven Diffusion sättigbar, zudem ist eine Hemmung der Exsorption durch andere Substanzen möglich (Interaktionspotential).

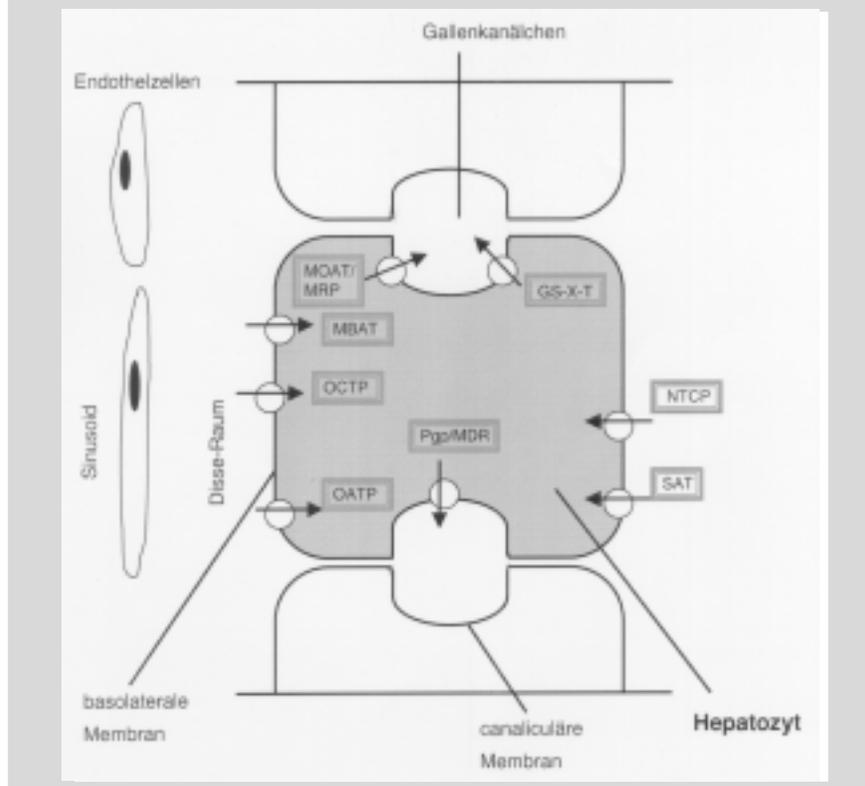


Abb. 3: Schematische Darstellung einer Leberzelle.

In der basolateralen Membran befinden sich Transporter, die den Einstrom von Wirkstoffen in die Zelle katalysieren. Hierzu gehören die ABC-Proteine OATP (organic anion transporting polypeptide), OCTP (organic cation transporting polypeptide), MBAT (multispecific bile acid/drug transporter), NTCP (sodium taurocholate cotransporting polypeptide) sowie SAT (sulfate transporter). Der Ausstrom von Wirkstoffen und Metaboliten wird u. a. durch die ATP-Transporter in der canalikulären Membran zwischen Hepatozyt und Gallenkanälchen MOAT/MRP (multispecific organic anion transporter/multidrug resistance-associated protein), Pgp/MDR (P-glykoprotein/multidrug resistance transporter) und GS-X-T (glutathion transporter) vermittelt.

Phänomen und seine medikamentöse Beeinflussung seit einiger Zeit besonders interessant. Zu den MDR-erzeugenden Substanzen gehören so wichtige Krebschemotherapeutika wie die Anthracyclin-Antibiotika (Daunorubicin, Doxorubicin, Idarubicin, Epirubicin, Aclarubicin), Actinomycin, Vinca-Alkaloide (Vinblastin, Vincristin, Vindesin, Vinorelbin), Podophyllo-toxin-Derivate (Etoposid, Teniposid) und die Derivate des Taxols (Paclitaxel, Docetaxel). Im allgemeinen handelt es bei diesen MDR-Substraten um schwache Basen. MDR-erzeugend sind aber auch Colchicin sowie Peptide wie Gramiscidin oder Valinomycin. Unklar ist noch, wie das Pgp in der Lage ist, eine Vielzahl strukturell sehr unterschiedlicher Verbindungen mit ähnlich hoher Affinität zu binden und zu transportieren.

MDR-Modulatoren

Auf der anderen Seite wurden aber auch Substanzen entdeckt, die die MDR wieder aufheben können und als MDR-reversal

agents (MDR-agents, Pump poisons) oder MDR-Modulatoren bezeichnet werden. Zu den MDR-Modulatoren gehören Verbindungen sehr unterschiedlicher Struktur und Hauptwirkung wie Verapamil und weitere Calciumkanal-Antagonisten, Propafenon, Amiodaron, Cyclosporin sowie verschiedene Steroide, Phenothiazine oder Thioxanthene. Die MDR-Modulatoren sind lipophil, enthalten meist zwei planare aromatische Ringe und bei physiologischem pH-Wert eine positive Ladung. Effektive und nichttoxische MDR-Modulatoren hätten in Kombination mit Krebschemotherapeutika große Bedeutung in der Krebsbehandlung. Die bisherigen klinischen Ergebnisse, z. B. mit Verapamil, sind allerdings wenig erfolgreich gewesen, was daran liegen kann, dass die erforderliche relativ hohe Modulatorkonzentration am Pgp nicht erreicht wurde. Ferner sind beim Einsatz derartiger MDR-Modulatoren Interaktionen mit anderen Arzneistoffen möglich, da zusätzlich physiologische Entgiftungsreaktionen (Eliminierung) gehemmt werden können.

Forschungsschwerpunkte

Im Mittelpunkt der Arbeiten am Institut für Pharmazeutische Chemie der Martin-Luther-Universität stehen folgende Schwerpunktthemen:

- die Computer-unterstützte Untersuchung der quantitativen Beziehungen zwischen physikochemischen Eigenschaften und resistenzauhebender Wirkung unterschiedlicher Strukturklassen von MDR-Modulatoren, die zu neuen Syntheseansätzen führen sollen;
- die Durchführung von Affinitätsstudien an verschiedenen Modellsubstanzen und ausgewählten Molekültransportern;
- die Entwicklung von Modulatoren des P-Glykoproteins, die keine anderen unerwünschten pharmakologischen Wirkungen besitzen und zur Überwindung der Multi-drug-Resistenz von Tumorzellen eingesetzt werden können, aber auch zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit schlecht resorbierbarer Wirkstoffe, wie die der zur AIDS-Behandlung eingesetzten Protease-Inhibitoren Indinavir oder Saquinavir;
- die Untersuchungen zur Induktion der Expression der Molekülpumpen, um Hinweise auf Arzneistoff/Arzneistoff-Interaktionen oder die Beeinflussung der Expression durch Umwelteinflüsse oder Nahrungskomponenten zu erhalten;
- die Untersuchung des Einflusses der Aktivität der Molekülpumpen auf die Geschwindigkeit der Biotransformation von Arzneistoffen, was Möglichkeiten eröffnet, die Pharmakokinetik von Wirkstoffen zu regulieren und damit die Arzneitherapie rationaler und effektiver zu gestalten. ■

Peter Nuhn studierte von 1955 bis 1960 in Leipzig Pharmazie (Promotion 1964 und Habilitation 1970 in Leipzig). Seit 1980 ist er Professor für Pharmazeutische Chemie an der Martin-Luther-Universität in Halle und Direktor des Instituts für Pharmazeutische Chemie.

Hildegard Spahn-Langguth studierte von 1973 bis 1977 in Frankfurt/M. Pharmazie (Promotion 1981 und Habilitation 1990 im Fach Pharmakologie) und ist seit April 1995 Professorin für Pharmazeutische Analytik an der halleischen Universität. Andreas Langner ist seit Dezember 1998 Universitätsprofessor für Biochemische Pharmazie in Halle (Studium der Pharmazie an der Martin-Luther-Universität, 1985 Promotion und 1993 Habilitation).

SIGNALWEGE IN pH-LANDSCHAFTEN: DIE INDUKTION DES SEKUNDÄRSTOFFWECHSELS IN PFLANZENZELLEN

Werner Roos, Katrin Viehweger, Astrid Nitzsche und Wieland Schwartz

22

Das Potenzial der Pflanzen zur Bildung von Sekundärstoffen (Alkaloide, Terpene, Phenolische Verbindungen, Polyketide, Flavonoide etc.) ist eine nahezu unerschöpfliche Quelle verschiedenster, oft bizarrer Molekülstrukturen. Diese Vielfalt widerspiegelt die elementare biochemische Variabilität der Zelle, welche – jenseits von den essentiellen Lebensprozessen, die unter hohem Selektionsdruck vereinheitlicht wurden – spezifische Ausprägungen von Individuen und taxonomischen Gruppen hervorbringt. Die Evolution der heutigen sekundären Pflanzenstoffe dürfte wesentlich auf Selektionsvorteilen beruhen, die sie als Waffe im »Kampf ums Dasein« bieten, vor allem gegen tierische und mikrobielle Fraßfeinde. Pflanzen können die Anwesenheit pathogener Viren, Pilze und Bakterien an chemischen Signalen (Elicitoren) erkennen und mit der Bildung antimikrobieller Sekundärstoffe

(Phytoalexine) beantworten. Die Expression der Phytoalexin-Biosynthese ist mit einer Vielzahl anderer Abwehrreaktionen koordiniert, u. a. Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, Vernetzung von Zellwandproteinen, Bildung antimikrobieller Enzyme, Lignifizierung und hypersensitive Reaktion (programmierter Zelltod in infizierten Zellgruppen) (Abb. 1a–c).

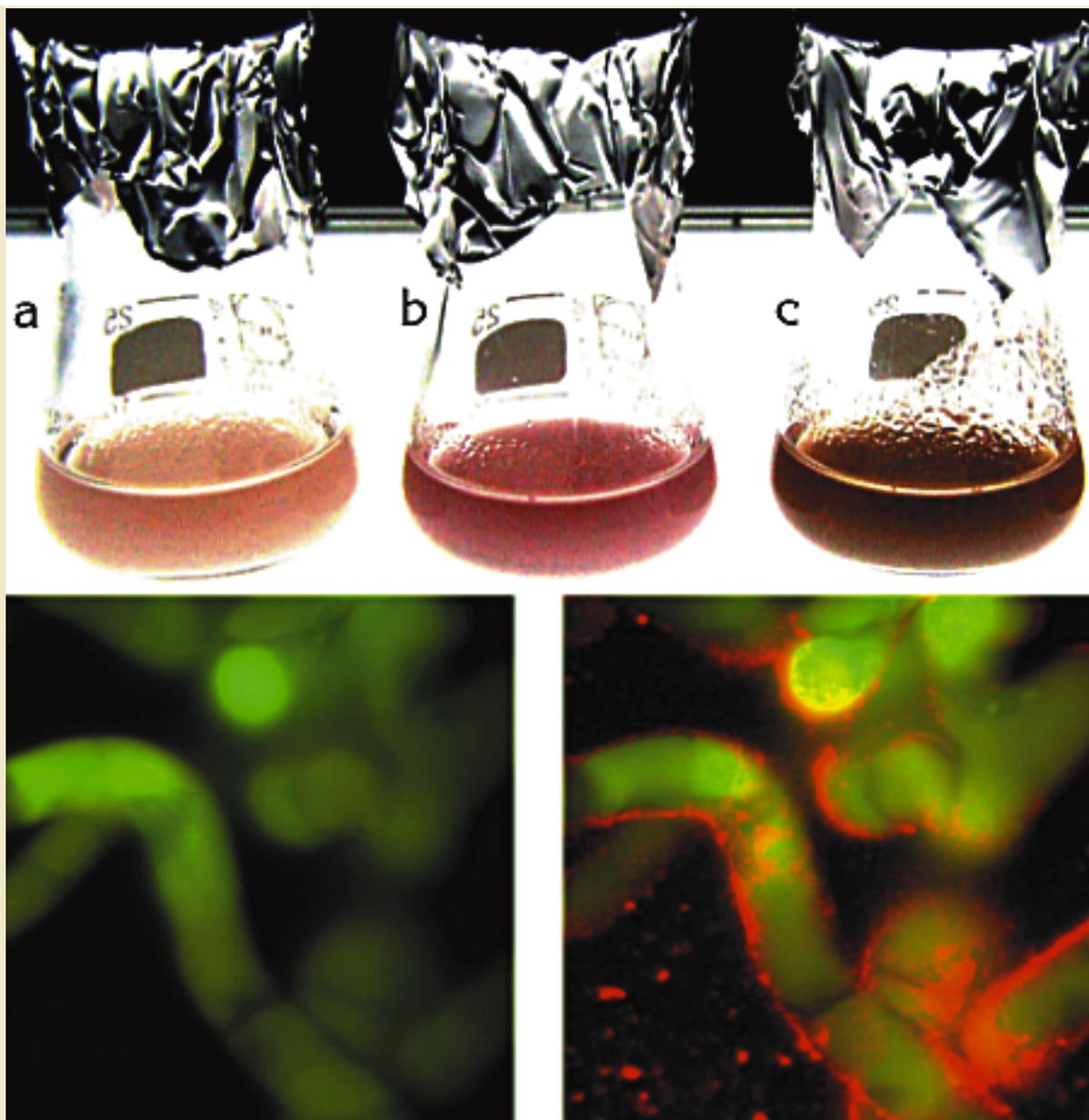


Abb. 1: Wirkstoffproduktion durch Pflanzenzellen unter dem Einfluss externer Signale, obere Reihe: Zellsuspensionen von *Eschscholzia californica* (Kalifornischer Mohn) reagieren auf ein Elicitorpräparat aus Hefe mit der Bildung von Benzophenanthridin-Alkaloiden und einer »hypersensitiven Reaktion«. a) Kontrollkultur; c) 24 h nach Elicitor; b) 24 h nach Elicitor, in Gegenwart von Katalase. Die Alkaloide sind durch ihre rote Farbe erkennbar, Braunfärbung weist auf die hypersensitive Reaktion hin. untere Reihe: Ein künstlicher pH-shift löst die Alkaloidbildung aus. Zu Versuchsbeginn wurde ein kurzer Abfall des cytoplasmatischen pH (von 7,4 auf 6,8) mittels permeabler Säuren ausgelöst. 8 h später ist der Export der rot fluoreszierenden Alkaloide aus denselben Zellen mikroskopisch erkennbar (rechts). Die grüne Fluoreszenz zeigt die Anreicherung eines Vitalfarbstoffs und belegt die Intaktheit von Plasmamembran und Vakuole (links: Zellen zu Versuchsbeginn).

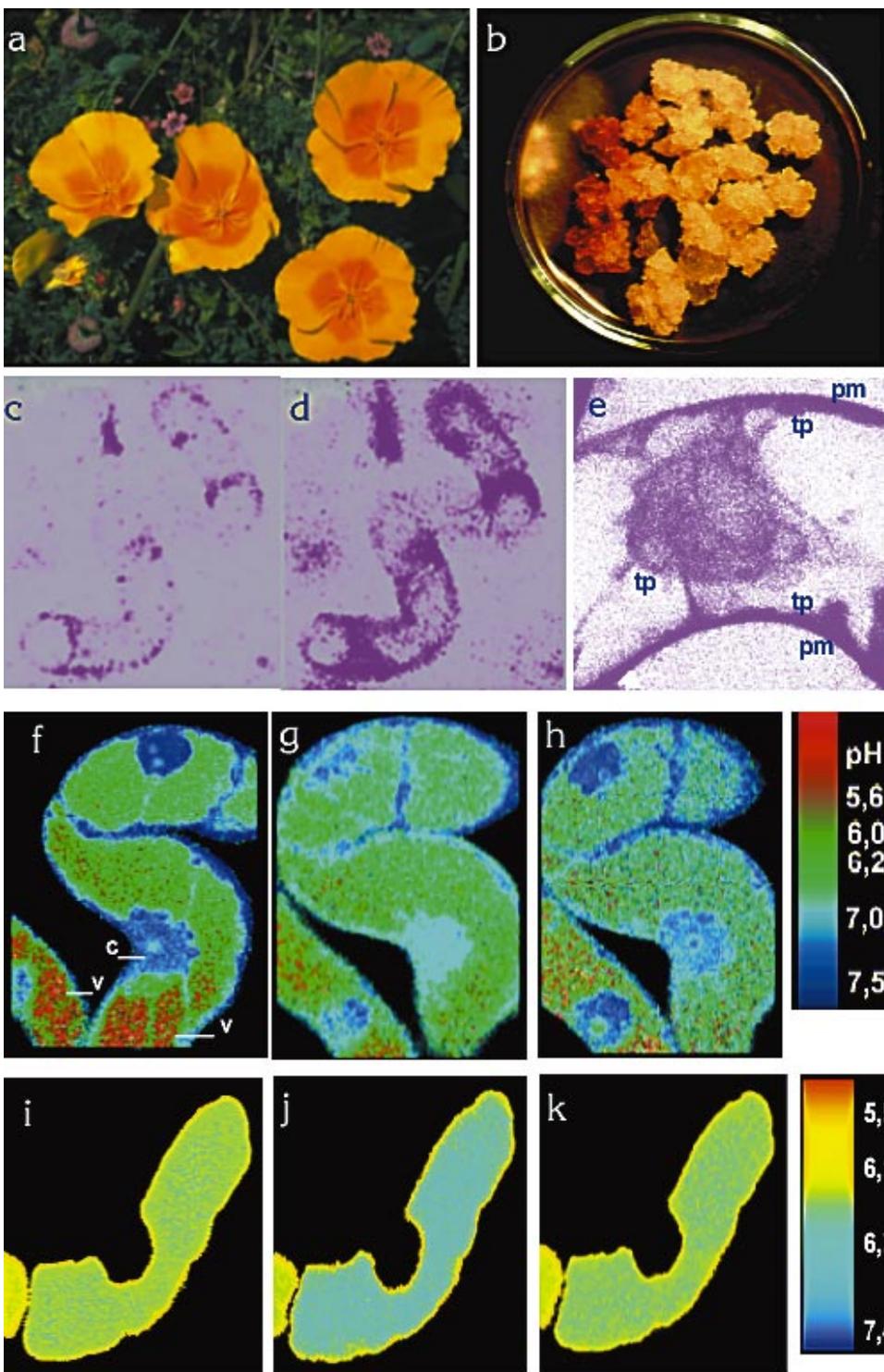


Abb. 2a: *Eschscholzia californica* (Kalifornischer Mohn), die Wappenpflanze Kaliforniens.
 b: Eine Kalluskultur produziert rotgefärbte Benzophenanthridine an der Kontaktzone mit einem potentiellen Pathogen (Pilz: *Penicillium cyclospium*).
 c–e: Aktivität von Phospholipase A_2 in Ganzzellen.
 Der Anstieg der Fluoreszenz (zur besseren Erkennbarkeit in magenta dargestellt) widerspiegelt die Bildung der Reaktionsprodukte Lysophospholipid und Fettsäure.
 c) Grundaktivität, vor Elicitorkontakt d) Aktivierung nach Elicitorkontakt (3 min)
 e) Verteilung der fluoreszierenden Produkte im Cytoplasma. Konfokale Aufnahme.
 tp = Tonoplast (Vakuolenmembran), pm = Plasmamembran.
 f–h: Intrazelluläre Protonenfluxe nach Elicitorkontakt
 pH-Karten intakter Zellen, erstellt durch konfokale Fluoreszenzmikroskopie, Farbkodierung nach Skala rechts außen.
 Die Aufnahmen erfolgten an einer mit Nährlösung perfundierten Zellgruppe nach Zusatz eines Hefe-Elicitors: f) 0 min, g) nach 15 min, h) nach 35 min. Der pH in cytoplasmatischen Bereichen (c) fällt z. B. von 7,4 auf 6,9; in einigen Vakuolen (v) steigt der pH z. B. von 5,6 auf 5,9.
 i–k: Transiente Alkalisierung der Vakuole durch ein genuines Signalmolekül
 pH-Karte einer Vakuole in situ, erstellt durch konfokale Fluoreszenzmikroskopie, Farbkodierung nach Skala rechts außen.
 Die Aufnahmen erfolgten an selektiv permeablen Zellen mit intakter Vakuole während der Perfusion mit »künstlichem Cytosol«. Zusatz des PLA-Produkts Lysophosphatidylcholin verursacht einen reversiblen Anstieg des vakuolären pH. i) 0 min; j) 2,5 min; k) 12 min.
 Abbildungen (3): Werner Roos, Katrin Viehweger, Astrid Nitzsche, Wieland Schwartze

Die Kenntnis der Signalmechanismen, welche vom Elicitorkontakt an der Zelloberfläche zur selektiven Expression von Genen der Phytoalexin-Biosynthese führen, ist nicht nur ein attraktives Ziel der zellbiologischen Grundlagenforschung. Sie eröffnet zugleich Möglichkeiten zu einer umfassenderen, gezielten Nutzung des Synthesepotentials der Pflanzenzelle für die Produktion von Therapeutika, weiteren Wirkstoffen und für den biologischen Pflanzenschutz. In biotechnologischen Prozessen werden bereits Elicitor-ähnliche Signalwirkungen zur Ausbeutesteigerung oder zur Veränderung des Spektrums pflanzlicher Sekundärstoffe eingesetzt.

In den letzten Jahren wurden in der Abteilung Zellphysiologie am Institut für Pharmazeutische Biologie (FB Pharmazie) Teilschritte eines Signalwegs identifiziert, der in Zellen des Kalifornischen Mohns (*Eschscholzia californica*, Abb. 2a) eine Biosynthesekette des Sekundärstoffwechsels einschaltet.

Zellkulturen dieser Pflanze reagieren auf potentielle Pathogene mit der Überproduktion von Alkaloiden der Benzophenanthridin-Gruppe (Abb. 2b, 3). Die starke antimikrobielle Wirkung dieser Phytoalexine beruht auf ihrer Fähigkeit zum Eindringen (Interkalation) in DNA und zur Interaktion mit dem Cytoskelett. Nach Zusatz eines Elicitorpräparats (Glykoprotein-Komplex aus Hefe) kann die Bildung der Alkaloide unabhängig von der hypersensitiven Reaktion ausgelöst werden, wenn störende Signale entfernt oder reaktive Sauerstoffspezies durch Katalase abgefangen werden (Abb. 1a–c).

Welche Signalereignisse gehen der Expression der Alkaloidbiosynthese voraus?

Mehrere der im folgenden skizzierten Teilschritte können auf der Ebene der Einzelzelle durch Fluoreszenzmikroskopie sichtbar gemacht werden.

1. Unmittelbar nach dem Kontakt mit dem Elicitor erfolgt in vielen Zellen ein Anstieg der Aktivität von Phospholipase A_2 (Abb. 2c, d). Dieses Enzym ist auch in der isolierten Plasmamembran immunologisch und auf Aktivitätsebene nachweisbar – ebenso wie ein G-Protein, welches sehr wahrscheinlich seine durch den Elicitor ausgelöste Akti-

PFLANZLICHE ZELL- UND GEWEBEKULTUREN

NUTZUNG IN FORSCHUNG UND PRAXIS

Margret Köck

Pflanzliche Zell- und Gewebekulturen sind wichtige Hilfsmittel der Grundlagenforschung und der praktischen Pflanzenzüchtung. Einzelzellen, Gewebe oder Organe können aus den ursprünglichen Zellverbänden herausgelöst bzw. von der intakten Pflanze abgetrennt werden und danach unter aseptischen Bedingungen in *in vitro*-Kultur genommen werden. Dafür verantwortlich ist eine Eigenschaft pflanzlicher Zellen, die sie wesentlich von tierischen Zellen unterscheidet: die Totipotenz. Diese markante physiologische Fähigkeit von Pflanzenzellen führt dazu, dass sich aus solchen *in vitro*-Kulturen wieder Pflanzen mit allen Geweben regenerieren. Für andere Anwendungen kann aber auch die langfristige Kultivierung von Pflanzenzellen als Zell- oder Suspensionskultur im Mittelpunkt stehen. Das homogene Zellmaterial eignet sich ausgezeichnet für zellbiologische Untersuchungen.

Zusammensetzung von Nährmedien

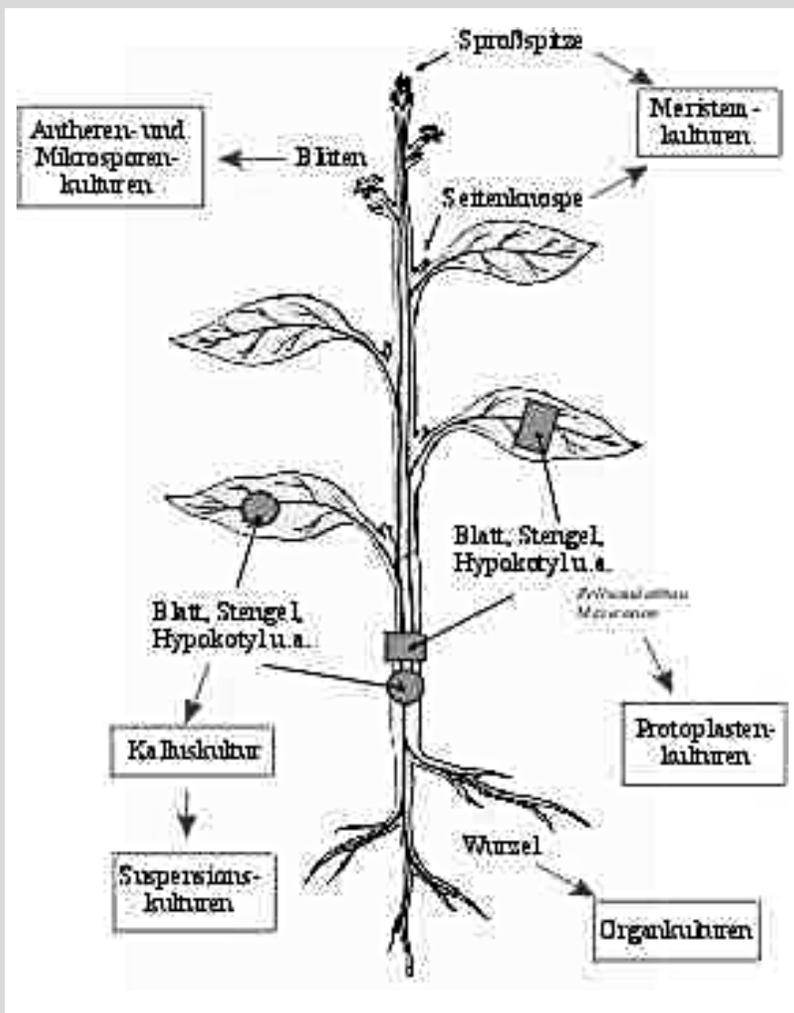
Die Art der Primärexplantate und deren Gewinnung bietet eine Möglichkeit, die Vielzahl von pflanzlichen Zell- und Gewebekulturen einzuteilen (siehe Schema). Voraussetzung zur Etablierung leistungsfähiger Versuchssysteme ist die Zusammensetzung des verwendeten Nährmediums.

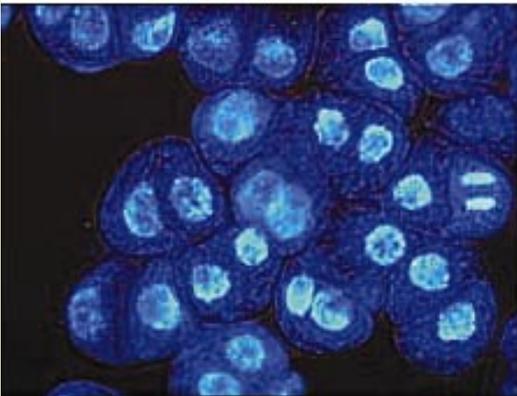
Obwohl intakte höhere Pflanzen grundsätzlich autotroph im Licht und in der Normalatmosphäre bei ausreichender Wasser- und Mineralstoffversorgung wachsen können, gilt dies nicht für alle Organe und Gewebe. Nichtgrüne Organe sind auch in der Pflanze auf die Zufuhr von Assimilaten (reduzierter Kohlenstoff in Form von Zucker) angewiesen. Zur Spross- und Wur-

zelentwicklung sowie für weitere Differenzierungsprozesse sind Phytohormone notwendig. Oft müssen sie in unterschiedlichen Konzentrationen und Kombinationen angeboten werden. Die aktuelle Zusammensetzung des Nährmediums ist zudem wesentlich von der bearbeiteten Pflanzart abhängig. Systematischen Untersuchungen zur *in vitro*-Vermehrung und -Regeneration ist es zu verdanken, dass in den heute verwendeten Kulturmedien z. B. auf den Zusatz von komplexen Zusätzen wie Kokosnussmilch verzichtet werden kann. Grundsätzlich bilden eine Kohlenstoffquelle (z. B. Saccharose), ein Mineralstoffgemisch aus Makro- (N, P, S) und Mikronährstoffen, ein einfaches Vitamingemisch sowie Phytohormone (Auxine und Cytokinine) die Hauptbestandteile der vollsynthetischen Nährmedien. Die geringe Komplexität der Medien und ihre Kostengünstigkeit sind im Vergleich mit tierischen Zellkulturen hervorzuheben.

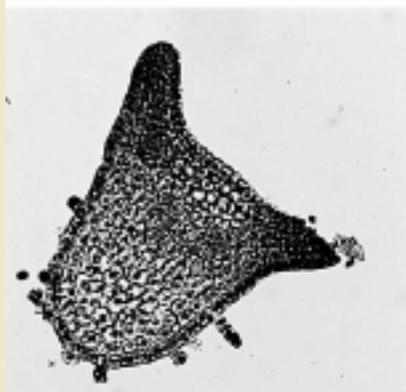
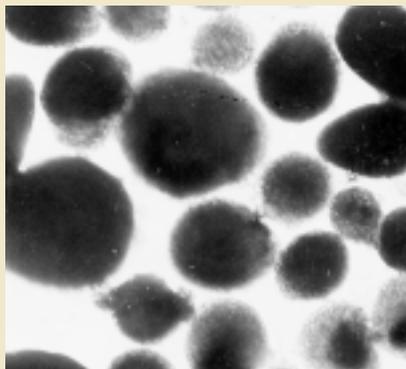
Suspensionskulturen

Werden einer Pflanze Einzelzellen entnommen (explantiert) und auf einem festen Medium mit Agar unter Phytohormonzusatz kultiviert, beginnen diese sich zu teilen und bilden einen genetisch identischen, ungeordneten Zellhaufen, den Kallus. Auf einem geeigneten Medium kann aus einem Kallus heraus eine voll differenzierte Pflanze entstehen. Kalluskulturen macht man sich heute vielfach bei der Herstellung transgener Pflanzen zu nutze. Das Bodenbakterium *Agrobacterium*, das mit der zu übertragenden DNA beladen wurde, ist in der Lage, Explantate dikotyler Pflanzen zu infizieren und die DNA in das Genom der Pflanzenzellen zu übertragen. Unter Selektionsdruck, den nur die transformierten Pflanzenzellen überleben, werden Kalli herangezogen und mit hoher Frequenz transgene Pflanzen regeneriert. Wenn man Kalli in flüssiges Medium überführt und beständig schüttelt, erhält man eine Suspensionskultur. Solche Suspensions- oder Zellkulturen bestehen aus einzelnen undifferenzierten Zellen ohne Gewebeverband. Oft beobachtet man auch lockere Aggregate von 10–20 Zellen. Kultiviert werden sie in vollsynthetischen Medien in Schüttelinkubatoren unter konstanten Umweltbedingungen. Solche Suspensionskulturen werden in regelmäßigen Abständen in neues Medium überführt und dabei stark verdünnt. Unter optimalen Be-





Zellen einer Suspensionskultur der Tomate (oben) und mit Zellkernfärbung (unten)
Foto: Hause



Entwicklung somatischer Embryonen bei *Digitalis lanata*: globuläres Stadium (oben), Torpedo-Stadium (unten), Foto: Luckner



Kultivierung von Tabakzellen (links), aus einem Kallus regenerierte transgene Tabakpflanze (rechts)
Foto: Köck

dingungen können Suspensionskulturen zeitlich unbegrenzt weitergeführt werden. Pflanzliche Zellkulturen sind wichtige Hilfsmittel der Grundlagen- und angewandten Forschung. Die Organisation der genetischen Information und die Zellorganisation stimmen grundsätzlich mit denen der höheren Pflanzen überein.

Tomatenzellkulturen untersucht

Für Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe wurde ein Zellkultursystem für Tomatenzellen etabliert, welches sich ausgezeichnet für zellbiologische Untersuchungen eignet. Es ist durch das Vorhandensein metabolisch aktiver, dedifferenzierter und zellteilungsaktiver Zellen gekennzeichnet. Die Zellkulturen werden verwendet, um Untersuchungen zur Auslösung und Steuerung der differentiellen Genexpression unter Nährstoffmangel durchzuführen. Die Analyse von Protoplasten und isolierten Vakuolen sowie Zellfraktionierungen und immunocytochemischer Nachweis wurden genutzt, um die Expressionsorte sekretorischer Ribonukleasen des T2-Typs zu bestimmen. Mit diesem System gelang der erfolgreiche Nachweis der Anreicherung einer Ribonuklease im Endoplasmatischen Retikulum (ER) der Tomatenzellen. Das Peptidsignal der RNase, das für die Akkumulation im ER verantwortlich ist, wurde unabhängig durch die Bestimmung der zellulären Lokalisation von Reporterprotein-Konstrukten in transgenen Tabakpflanzen ermittelt, die aus Kalluskulturen regeneriert wurden. Die Ergebnisse der zellbiologischen Analysen komplettieren die Untersuchungen zur physiologischen Funktion der RNasen in den Ganzpflanzen, deren Expressionsort im Leitgewebe zellbiochemischen Analysen nicht zugänglich ist.

Produzenten wichtiger Naturstoffe

Pflanzenzellkulturen sind als Produzenten interessanter Naturstoffe und hier besonders von Alkaloiden, Glykosiden, Steroiden, Pigmenten und Enzymen von Bedeutung und dadurch für eine industrielle Nutzung von Interesse. Die Optimierung der Naturstoffproduktion, die prinzipiell durch Deregelation der Stoffwechselwege in Zellkulturen erreicht werden kann, benötigt oft einen umfangreichen Forschungsaufwand. Erfolgreich in die Produktion überführt wurde die Synthese des Tumorförderstoffes Taxol, der mit Zellkulturen in 75 000 Liter-Fermentoren produziert wird. Viele Kulturen können ökonomisch aber noch nicht mit herkömmlichen Verfahren des Feldanbaus von Arzneipflanzen konkurrieren. Andererseits kann das spezifische Vorkommen von Enzymen des Sekundärstoffwechsels in Zellkulturen genutzt werden, um chemische Modifikationen an wichtigen Naturstoffen durchzuführen. Hier sei als Beispiel die Biotransformation von Digoxin in Digitoxin durch *Digitalis*-Zellkulturen genannt, wobei hochspezifisch eine Hydroxylgruppe eingeführt wird.

Zellkultivierung in der Praxis

Verschiedene andere Verfahren der pflanzlichen Zellkultivierung haben erhebliche Praxisrelevanz erlangt. Eingang in die gärtnerische Praxis der Pflanzenvermehrung hat die Meristemkulturtechnik gefunden. Bei diesem Verfahren werden primäre oder sekundäre Sprossmeristeme unter aseptischen Bedingungen isoliert und auf Festmedien zur Sprossentwicklung induziert. Nach Bewurzelung können die so gewonnenen Pflanzen in Bodensubstrat überführt werden. Das Verfahren dient neben der vegetativen Vermehrung wertvoller Einzel-

pflanzen auch der Erhaltung von Hybriden. Es wird zur klonalen Massenvermehrung, d. h. zur Herstellung genetisch identischer Pflanzen, und zur Gewinnung pathogenfreier, z. B. virusfreier Pflanzen eingesetzt. Nutzung in der Pflanzenzüchtung finden die Verfahren der Antheren- und Mikrosporenkulturen. Werden Antheren oder isolierte Mikrosporen, die männliche Samenzellen enthalten, unter geeigneten Bedingungen kultiviert, kann es über die Entwicklung somatischer Embryonen zur Entstehung haploider Pflanzen kommen, die in ihren Zellen nur einen Chromosomensatz (haploid) besitzen. Durch spontane oder chemische Diploidisierung entstehen homozygote diploide Pflanzen, die befruchtungsfähig sind. Die sich für die Hybridzüchtung ergebenden Vorteile bestehen in einer starken Verkürzung der für die Gewinnung von Inzuchtlinien benötigten Zeit.

Mit Protoplastenkulturen werden echte Einzelzell-Kulturen durch Zellwandabbau in hypertonischen Lösungen angelegt. Neben Untersuchungen zu Zellwandaufbau

und -regeneration besteht das Ziel der meisten Untersuchungen mit diesen Kulturen jedoch darin, Interspecies-Hybride, die auf sexuellem Wege nicht möglich sind, zu erzielen. Oder es wird Fremd-DNA in gentechnologischen Versuchen übertragen. Aus solchen Protoplasten können über eine somatische Embryogenese intakte Pflanzen herangezogen werden. Im Gegensatz zum Embryo der sexuellen Vermehrung, der sich aus der befruchteten Eizelle (Zygote) entwickelt, entstehen die makroskopisch ähnlichen, somatischen Embryonen aus normalen Pflanzenzellen. Es hat sich gezeigt, dass unreife Embryonen wichtiger Getreidearten eine hohe Kompetenz zur somatischen Embryogenese besitzen, aus denen mit Gewebekulturtechniken Pflanzen regeneriert werden können. Dies eröffnet die attraktive Möglichkeit, nach DNA-Übertragung mit biologischer Partikelkanone monokotyle, transgene Pflanzen zu erzeugen.

Diese Übersicht soll in Grundzügen deutlich machen, welche enorme Bedeutung die in vitro-Kultivierung von Pflanzenzellen

für die Grundlagen- und die angewandte Forschung inzwischen erreicht hat: Sie hat zugleich Basismethoden als auch anspruchsvolle Spezialanwendungen hervorgebracht. ■

Margret Köck studierte Biochemie an der Universität Halle (Diplom 1979, Promotion 1983, Pflanzenbiochemie). Bis 1994 war sie als wissenschaftliche Mitarbeiterin an der Sektion Biowissenschaften und später am Fachbereich Biochemie / Biotechnologie der Universität tätig. 1994 wechselte sie in das Biozentrum der Universität und war an Planung und Aufbau der Einrichtung beteiligt. Heute leitet sie die Abteilung Radionuklidlabor / Angewandte biowissenschaftliche Forschung am Biozentrum. Forschungsschwerpunkte innerhalb einer eigenen Forschungsgruppe: Rolle von T2-Typ Ribonukleasen in der Pflanzenentwicklung, Analyse differentieller Genexpression in Abhängigkeit von der pflanzlichen Phosphatversorgung.



Anzucht von Suspensionskulturen unter standardisierten Bedingungen

Foto: Köck

WIRKSTOFFE AUS PFLANZEN

NATURSTOFFE BEI DER ENTWICKLUNG NEUER PHARMAKA

Reinhard Paschke und Jutta Kalbitz

28

Naturstoffe repräsentieren eine überaus reiche Quelle an biologisch aktiven Verbindungen. Ihr Anteil an der Erforschung und Entwicklung neuer Pharmaka und Pflanzenschutzmittel ist immens. Umfang und Aufwand der Substanzgewinnung übersteigen jedoch oftmals die materiellen als auch die technologischen Kapazitäten der meist nicht synthetisch arbeitenden Institute. Die Palette verschiedener Feinchemikalienanbieter kann die Nachfrage nach derart speziellen Naturstoffen nicht vollständig decken, in den meisten Fällen sind die benötigten Substanzen neuartig und in das Angebotsprofil der kommerziellen Hersteller noch nicht aufgenommen bzw. ihre Preise sind extrem hoch.

Die Abteilung »Naturstoffe« des An-Instituts BioService Halle GmbH des Universitäts-biozentrums hat sich zum Ziel gesetzt, die Zeitspanne zwischen »erster Idee« und Produktion zu verkürzen und den Schwerpunkt bei der Isolierung der Naturstoffe auf einheimische Rohstoffe und umweltfreundliche Verfahren zu legen.

Gewonnen aus Baumrinde

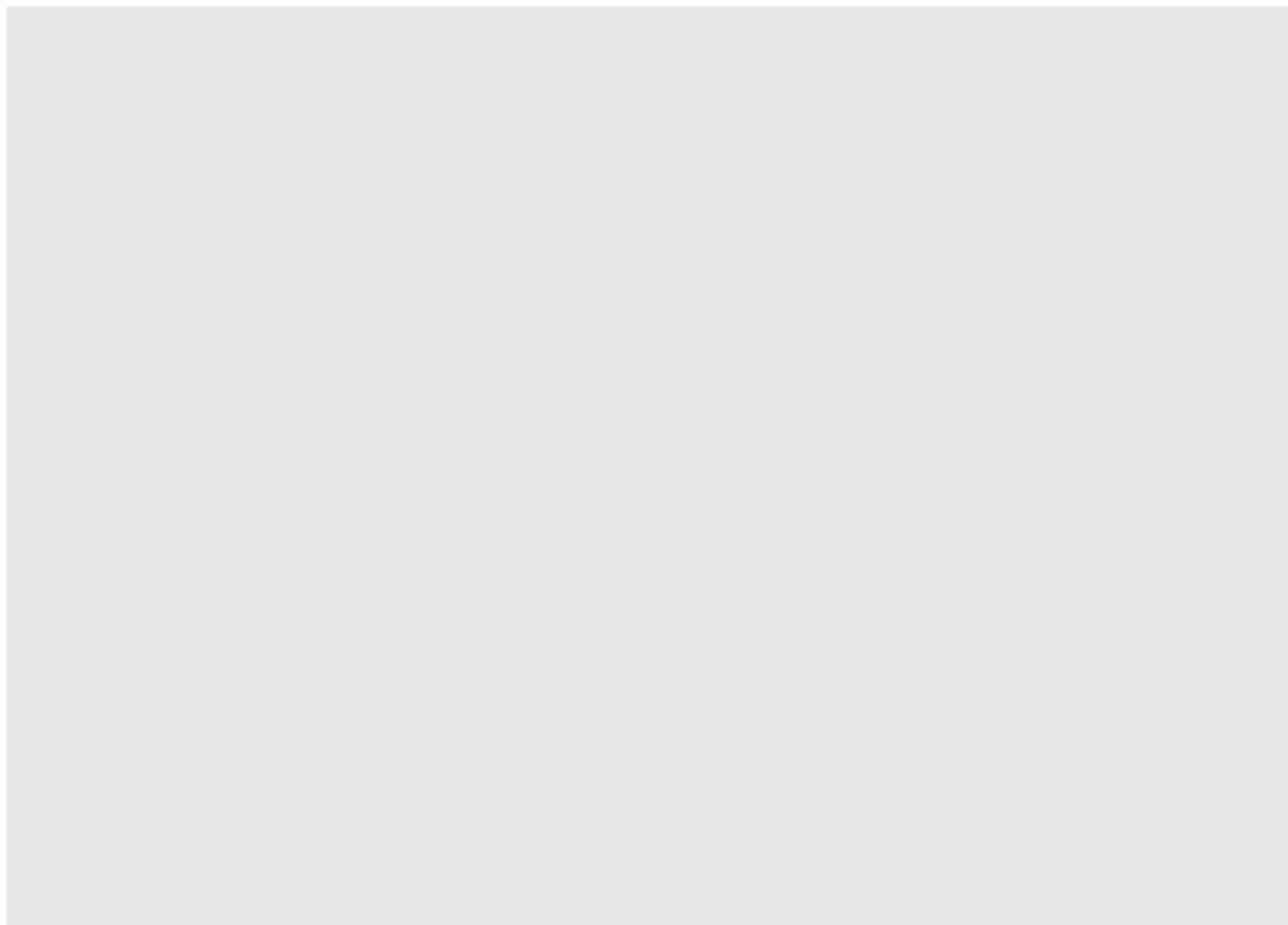
Ein Beispiel ist die Isolierung der Betulinsäure. Aus Ergebnissen von Screening-Programmen der letzten fünf Jahre ergeben sich für diese Substanz einige vielversprechende physiologische Wirkungen, wie z. B. eine spezifische, durch Apoptose vermittelte Wirkung gegen Melanomzellen, eine Hemmung der HIV-Ausbreitung, Antimalaria-Aktivität sowie eine entzündungshemmende Wirkung. Derzeit wird die

Säure in einem aufwendigen Verfahren durch mehrstufige Oxidation aus Betulin gewonnen. Betulin selbst muss zuvor aus Birkenrinde isoliert werden, zu diesem Zweck ist eine Fällung und Entrindung der Bäume erforderlich.

Die Preise für ein Gramm Betulinsäure, erhältlich im Spezialchemikalienhandel, sind dementsprechend hoch und reichen je nach Reinheitsgrad von 1 000 bis 10 000 DM. Größere Mengen Betulinsäure, die für klinische Testungen, aber auch für Deriva-



Platanenborke weist einen hohen Gehalt an Betulinsäure auf.



tisierungen ausreichen, waren bislang nur mit aufwendigen, äußerst kostenintensiven und umweltbelastenden Verfahren zu gewinnen.

Im Fachbereich Pharmazie wurde unter Leitung von Prof. Dr. Birgit Dräger ein neues Verfahren zur Gewinnung von Betulinsäure entwickelt und patentiert, das vom An-Institut übernommen und als Laborverfahren weiterentwickelt wurde. Als Pflanzenmaterial dient Platanenborke, die mit 2,4 Prozent einen hohen Gehalt an Betulinsäure aufweist. Die Borke ist ein alljährlich anfallendes Abfallprodukt der Platanen und in großen Mengen zugänglich. Die Isoliermethode ist einfach, umweltschonend und preisgünstig. Aus einem Rohextrakt der Borke ist die Substanz derzeit in mehr als 99prozentiger Reinheit erhältlich und kann somit preisgünstig angeboten werden.

Vielversprechender therapeutischer Nutzen

Ein ähnlich effizientes Isolierungsverfahren zeichnet sich am Beispiel der Calystegine ab. Calystegine sind eine erst kürzlich entdeckte Gruppe hydroxylierter Nortropanalkaloide. In höheren Konzentrationen sind sie z. B. in Kartoffeln, insbesondere in deren Schale und austreibenden Sprossspitzen enthalten.

Calystegine zeigen eine ausgeprägte biologische Aktivität als Hemmstoffe von Glycosidasen. Ähnliche Alkaloid-Glycosidasehemmer befinden sich im klinischen Test, da sie durch eine Störung der Oberflächen-glycosylierung einer Ausbreitung von AIDS-Viren und Tumormetastasen entgegenwirken. Nach Verabreichung von Glycosidasehemmern wurden gleichfalls spontane Thrombenauflösungen und verminderte Sekretion beobachtet. Die sich daraus ergebenden neuen Therapiemöglichkeiten für Gerinnungsstörungen sind vielversprechend. Abgesehen vom therapeutischen Nutzen, eröffnen sich Anwendungsmöglichkeiten der Polyhydroxyalkaloide als Pflanzenschutz- und Stärkungsmittel. Calystegine wurden bisher nur von wenigen Arbeitsgruppen zu eigenen Forschungszwecken über aufwendige, mehrstufige Ionenaustauschverfahren im mg-Maßstab isoliert. Sie sind käuflich bislang nicht verfügbar.

Analytik von Pflanzeninhaltsstoffen

Ein weiterer Schwerpunkt neben der Isolierung seltener Naturstoffe ist die Entwicklung und Vervollkommnung analytischer Routineverfahren für Pflanzeninhaltsstoffe, wie z. B. den Lignanen Arctiin und Arctigenin aus Klettenfrüchten, für die physiologische Wirkungen als PAF- und Ca-Antagonisten, HIV-Typ1-Hemmer beschrieben sind sowie für Herzglycoside aus *Digitalis lanata*.

Diese Cardenolide haben einen festen Platz in der Behandlung der chronischen Herzinsuffizienz. Obwohl alle Herzglycoside die gleiche pharmakologische Wirkung besitzen, werden nur wenige der bekannten Cardenolide in der Therapie verwendet. Neben günstigen pharmakokinetischen Eigenschaften entscheiden Zugänglichkeit, Stabilität und Preis die Auswahl. Jährlich werden viele Millionen Menschen mit insgesamt mehreren Tonnen dieser Substanzen behandelt. Die Ansprüche der pharmazeutischen Industrie an die Qualität der Blattdrogen sind sehr hoch. Die ständige Kontrolle des Cardenolidgehaltes ist für die Auswahl optimaler Anbaubedingungen unerlässlich. Als Analysenmethode für die Gehaltsbestimmung in Blattdrogen hat sich die HPLC-Analytik als Mittel der Wahl erwiesen. Inzwischen ist man in der Lage, mit 300 mg Blattdroge mehr als 50 Cardenolidglycoside mit hoher Genauigkeit zu ermitteln. Allerdings sind sowohl Probenvorbereitung und Messung für eine Routinekontrolle einer hohen Anzahl von Blattdrogen relativ zeitaufwendig und somit preisintensiv.

Unsere Bestrebungen richten sich darauf, sowohl Probenvorbereitung als auch die HPLC-Analytik effektiver zu gestalten (z. B. Verwendung von neuen Säulenmaterialien), um die Routineanalytik als preiswerte Alternative zu anderen Anbietern zu etablieren. Gleichzeitig soll das Verfahren auf die Gehaltskontrolle neuer Sorten angewendet werden, die nach züchterischer Bearbeitung einen hohen Gehalt an verwertbaren Digoxin, bei hohem Ernteertrag und einer Eliminierung unerwünschter Inhaltsstoffe aufweisen sollen.

Reinhard Paschke studierte Chemie an der halle'schen Universität, promovierte 1983, ist seit 1993 Geschäftsstellenleiter des Universitätsbiozentrums und seit 1998 Geschäftsführer der BioService Halle GmbH. Jutta Kalbitz studierte Chemie an der Universität Halle, promovierte 1987 und ist seit September 2000 Leiterin des Naturstofflabors des An-Instituts BioService Halle GmbH.



Fingerhut – *Digitalis lanata*

»COOLE TECHNIKEN« FÜR DIE MIKROSKOPIE BIOLOGISCHER MATERIALIEN KRYOPRÄPARATIONSVERFAHREN IN ZENTRALER VERFÜGBARKEIT AM BIOZENTRUM

Gerd Hause

30

Die Perspektiven, die sich durch die neuen Methoden der Biotechnologie auf dem Gebiet der Materialwissenschaften eröffnen, erscheinen heute zuweilen grenzenlos. Das Spektrum reicht von modifizierten Nanopartikeln für pharmazeutische Belange, über Biopolymere für verschiedenste Anwendungen, modifizierten Pflanzenfasern bis hin zu immer effektiver einzusetzenden Implantatmaterialien in der Medizin.

Für all diese Stoffe gilt, dass sie als fertiges Produkt hohen Qualitätsanforderungen entsprechen müssen. Diese werden letztlich durch mannigfaltige Analyseverfahren während der Entwicklung, Herstellung und beim fertigen Produkt kontrolliert. Ein sehr wichtiges Instrument zur Bestimmung essentieller Parameter dieser Produkte ist die Mikroskopie. Neueste technische Entwicklungen haben hierbei in den letzten Jahren einen immensen Zuwachs an Möglichkeiten hinsichtlich des optischen Auflösungsvermögens und des Informationsgehaltes der mikroskopischen Abbildungen gebracht. Nach den Anfängen der Lichtmikroskopie vor circa 400 Jahren erfuhren die lichtoptischen Systeme durch die Arbeiten von Abbé (apochromatische Objektive), Zernicke (Phasenkontrast) und Nomarski (Differentieller Interferenz-Kontrast) im 19. und 20. Jahrhundert eine wesentliche Verbesserung. Weiterhin standen ab 1939 erste kommerzielle Elektronenmikroskope zur Verfügung. Ihre Anwendung in Medizin und Biologie setzte etwa ab Mitte des vorigen Jahrhunderts ein. All

diese Geräte, die auch heute für viele Untersuchungen essentiell sind, wurden in jüngster Vergangenheit durch Neuentwicklungen wie z. B. die Konfokale Laser-Scanning-Mikroskopie, die Rastersondenmikroskopie, die Elektronen-Energieverlust-Spektroskopie und die Rasterelektronenmikroskopie unter »atmosphärischen« Bedingungen (ESEM) ergänzt. Zu den Neuerungen auf technischem Gebiet kam die Entwicklung zahlreicher Methoden, z. B. Immunmarkierung und in situ-Hybridisierung. Durch diese Methoden ist es möglich, Proteine bzw. Nukleinsäuren in der Zelle und im Gewebe zu lokalisieren. Somit ist man in die Lage versetzt, Aussagen zur Struktur um Aussagen zur Funktion zu erweitern.

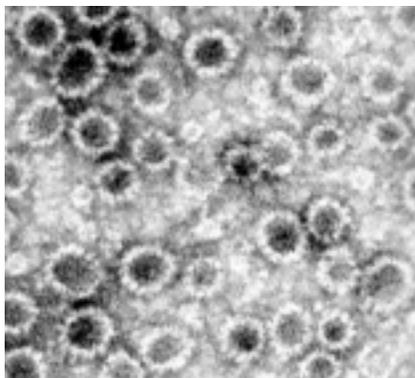
Abteilung »Bildgebende Verfahren«

Es ist also offensichtlich, daß die technischen und methodischen Möglichkeiten auf dem Gebiet der Mikroskopie rasant zunehmen. Das Gebiet insgesamt wird komplexer und es ist für den Einzelnen, der sich nicht täglich mit mikroskopischen Problemen auseinandersetzt, kompliziert, den Überblick über die Methodenvielfalt zu behalten. Um für die Universität, universitätsnahe Institute und Anwender aus der

Industrie diese zunehmende Komplexität nutzbar zu machen, wurde am Biozentrum der Martin-Luther-Universität die Abteilung »Bildgebende Verfahren« eingerichtet. Hier wird den Nutzern in mehrfacher Hinsicht Unterstützung bei der Lösung mikroskopischer Probleme angeboten. Das betrifft:

- die Beratung hinsichtlich der optimalen Wahl von Nachweismethode und Mikroskoptyp
- die Präparation von biologischem Material für die Mikroskopie
- die Durchführung mikroskopischer Analysen an den vorhandenen Geräten der Abteilung bzw. an Geräten, die bei Kooperationspartnern verfügbar sind
- die Nutzungsmöglichkeit der vorhandenen Geräteperipherie
- die praktische Unterstützung von Studierenden und Mitarbeitern bei der Einarbeitung in die Methodik.

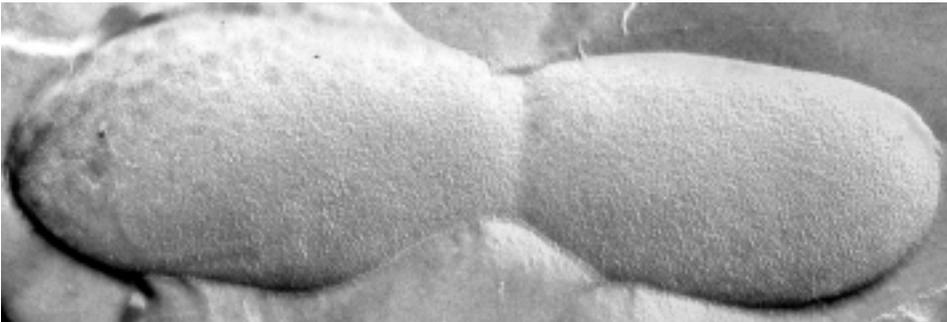
Bei der Einrichtung der Abteilung wurde davon ausgegangen, dass das Ergebnis der Arbeit, das mikroskopische Bild, nicht nur von einem sehr gut ausgerüsteten Mikroskop mit den dazugehörigen Dokumentations- und Bearbeitungsmöglichkeiten, sondern wesentlich auch von einer optimalen Präparation des biologischen Materials abhängt. Es gibt eine Reihe von Effekten, die zu sogenannten Präparationsartefakten führen. Das heißt, die Materialien werden während der Probenvorbereitung derart verändert, dass die letztlich im mikroskopischen Bild sichtbaren Strukturen nicht den tatsächlichen Gegebenheiten entsprechen. Dies tritt z. B. häufig dann auf, wenn chemische Substanzen eingesetzt werden, um die Strukturen für die mikroskopischen Analysen zu fixieren. Fixierung bedeutet dabei, über entsprechende Quervernetzungen in biologischen Material dieses so zu stabilisieren, dass es sich während der Färbung und während der mikroskopischen Analyse nicht mehr verändern kann. Es ist allerdings so, dass die chemischen Substanzen relativ lange Zeit benötigen, um in den gesamten zu untersuchenden Gewebereich einzudringen und somit als Fixans wirksam zu werden. Dies dauert in der Regel einige Sekunden und sogar Minuten und führt sehr häufig zu den bereits genannten Fixierungsartefakten. Durch chemische Fixierung erhält man z. B. Plasmamembranen, die sich von Zellwänden ablösen oder Doppelmembranen von Mitochondrien, die im elektronenmikroskopischen Bild aufgebläht erscheinen.



Diana Schmidt (links) am Transmissionselektronenmikroskop des Biozentrums, mit dem Details sehr kleiner Strukturen, wie z. B. ... (oben): ... dieser Capside sichtbar werden. Diese in vitro generierten Capside sind circa 20 bis 50 nm große Partikel aus viralen Proteinen.



Mit dieser am Biozentrum installierten Gefrierbruch/Gefrierätzapparatur können Oberflächenstrukturen, wie z. B. (unten): ... die von Bakterien, über eine spezielle Replikatechnik dargestellt werden.



Die Alternative zur chemischen Fixierung stellt die Gefrier- oder Kryopräparation dar. Hier werden die biologischen Materialien in Sekundenbruchteilen eingefroren und die Ausbildung der Fixierungsartefakte verhindert. Ein direkter Vergleich von chemisch und gefrierfixiertem Material bringt zum Teil sehr unterschiedliche mikroskopische Bilder hervor. Gut kryofixiertes Material ist in der Regel immer besser erhalten. Dies gilt sowohl für die zelluläre Strukturerhaltung als auch für die histochemische oder immunologische Nachweismöglichkeit biologischer Substanzen. All diese eindeutig für die Gefrierfixierung sprechenden Fakten werden durch eine Tatsache relativiert, nämlich durch die Bildung von kristallinem Eis. Wird unbehandeltes biologisches Material eingefroren, kommt es bereits ab einer Gewebetiefe von 10 Mikrometern zur Eiskristallbildung und somit zur mechanischen Zerstörung der Zellstruktur. Mit verschiedenen Apparaturen kann man dieses Problem umgehen und die Vorteile der Gefrierfixierung somit optimal nutzen.

Geräte zentral installiert

In den zurückliegenden zwei Jahren wurden deshalb in der Abteilung »Bildgebende Verfahren« des Biozentrums alle momentan verfügbaren Geräte für die Kryopräparation zentral installiert. Hierbei handelt es sich um:

- Eine Immersionsgefriereinrichtung zum Tauchgefrieren frischer und vorfixierter Proben. Diese relativ einfach zu bedienende Apparatur liefert vor allem für immunhistochemische Untersuchungen (Lichtmikroskopie) relativ schnell fixiertes Material.
- Eine Sprühfixierungsapparatur (Propan-Jet-Freezer) zur Kryopräparation von Zellsuspensionen (Viren, Bakterien, Hefen, pflanzliche und tierische Zellkulturen). Hiermit können die relativ kleinen Partikel extrem schnell eingefroren werden. Die Strukturhaltung ist auch für anspruchsvolle elektronenmikroskopische Untersuchungen optimal. Das fixierte Material kann anschließend über Kryosubstitution in ein Kunstharz eingebettet oder für Gefrierbrüche verwendet werden.

- Eine Hochdruckgefrier-Einrichtung zur Kryofixierung relativ dicker Gewebestücken. Durch den in dieser Apparatur zum Zeitpunkt des Einfrierens herrschenden hohen Druck (ca. 2000 bar) wird die Bildung kristallinen Eises und somit die Zerstörung der Zellen bis in eine Tiefe von 200 bis 400 Mikrometern verhindert. Das fixierte Material kann anschließend sowohl direkt geschnitten, gefriergebrochen oder in ein Kunstharz eingebettet werden.
- Eine Kryo-Substitutions-Apparatur zur schonenden Einbettung kryofixierten Gewebes in Kunstharze. Hierbei wird das Eis in den Zellen bei tiefen Temperaturen (-80 bis -90°C) gegen ein Lösungsmittel und anschließend gegen ein Kunstharz ausgetauscht.
- Eine Gefrierbruch/Gefrierätz-Anlage. Mit dieser Anlage können gefrierfixierte Materialien im gefrorenen Zustand gebrochen werden. Das gebrochene Material kann im gefrorenen Zustand betrachtet werden oder über das Aufdampfen eine Plantin/Kohleschicht werden Abdrücke (Replika) hergestellt. Diese Technik eignet sich besonders zur Darstellung von Membranflächen und kleinen Partikeln, wie z. B. Liposomen.
- Ein Tieftemperatur-Schneidesystem, das zur Herstellung von Ultradünnschnitten direkt nach dem Einfrieren des Materials genutzt werden kann.

Durch die in der Region einmalige Verfügbarkeit aller zur Zeit vorhandenen Kryopräparations-Apparaturen können für jede Problemstellung die optimalen Methoden-Kombinationen angewandt werden. Dies wird von Kooperationspartnern unterschiedlichster Forschungsrichtungen genutzt. Das Spektrum der Versuchsobjekte ist dementsprechend groß und umfasst sowohl virale Strukturen, Liposomen, Bakterienoberflächen, Hefezellen und verschiedenste Pilzarten als auch komplexe pflanzliche oder tierische Gewebe. ■

Der Verfasser studierte Biologie von 1979 bis 1984 an der Martin-Luther-Universität Halle. Hier promovierte er 1988 zum Dr. rer. nat. und 1996 an der Universität Wageningen (NL) zum Doktor der Landbau- und Umweltwissenschaften. Er arbeitete als Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Genetik in Halle sowie am Institut für Pflanzenzytologie und -morphologie in Wageningen. Seit 1998 leitet er die Abteilung »Bildgebende Verfahren« am Biozentrum der Universität Halle.

TIERISCHE ZELLKULTUREN IN DER ARZNEIMITTELFORSCHUNG: IN VITRO-MODELLE FÜR EPITHELIALE SCHRANKEN

Matthias Brandsch, Kathrin Möbus und Reinhard Neubert

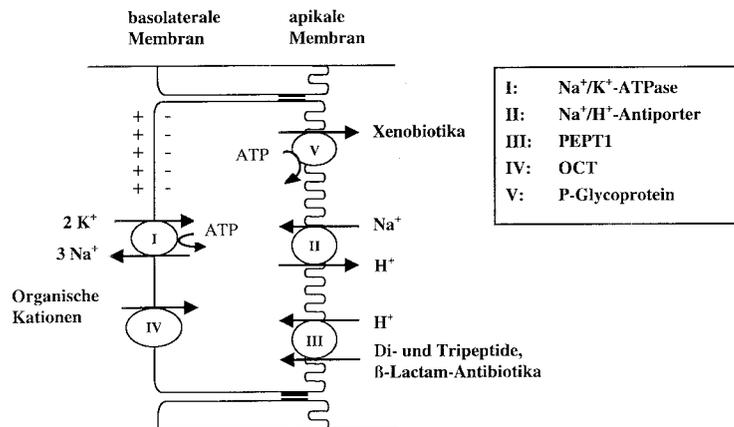
32

Vielzellige tierische Organismen haben in der Stammesentwicklung flächenförmige Zellverbände, sogenannte Epithelien entwickelt, die zum einen die äußere Körperoberfläche bedecken und zum anderen die inneren Hohlräume auskleiden. In den meisten Fällen grenzen diese Epithelien Flüssigkeiten unterschiedlicher Zusammensetzung voneinander ab: Das Darmepithel trennt das Darmlumen von Blut und Lymphe. Das Endothel dichter Kapillaren im Gehirn separiert Blut von Hirngewebe; es bildet die Blut-Hirn-Schranke.

Epithelien kontrollieren andererseits die Zusammensetzung der sie umgebenden Flüssigkeiten, indem sie die Passage von Nährstoffen, Wasser etc. selektiv erlauben oder verhindern. Diese Doppelfunktion eines Epithels, zu trennen und zu verbinden, wird besonders deutlich an der Placenta, dem Mutterkuchen: Die Placenta (genauer: ihr Syncytiotrophoblast) trennt den Blutkreislauf des (der) Fötus von dem Blut der Mutter, ist andererseits aber die einzige Verbindung zwischen ihnen.

Für Pharmazeuten entsteht durch solche epithelialen Schranken ein Problem: Wie bringt man einen Arzneistoff an seinen Wirkort, zum Zielgewebe? Bei oraler Gabe einer Substanz, die an Nervenzellen in bestimmten Hirnregionen wirken soll, muss die Substanz aus der Tablette freigesetzt werden, das Darmepithel überwinden, im Blutkreislauf lange genug und intakt verweilen und die Blut-Hirn-Schranke passieren. Unter physiologischen Bedingungen erfolgt eine solche Passage entweder parazellulär (zwischen den Zellen) oder transzellulär (durch die Zellen). Das Ausmaß der parazellulären Diffusion ist bei dichten Epithelien durch die Ausbildung von Schlussleisten, sogenannten »tight junctions«, sehr stark eingeschränkt. Der Transport von organischen Soluten wie Glucose, Aminosäuren, Vitaminen etc. an den Zellmembranen wird daher meist transzellulär durch spezielle Transportproteine (Carrier) realisiert (Abb. 1). Folgerichtig werden bezüglich des Transportes von Arzneistoffen große Bemühungen unternommen, die Substanzen durch die Aus-

nutzung vorhandener Transportsysteme »schrankengängig« zu machen.



1: Ausgewählte Transportsysteme an den Membranen einer epithelialen Darmzelle

Wie untersucht man den Transport einer Substanz an einem Epithel?

Dazu sind verschiedene Techniken entwickelt worden, z. B.:

- Perfusionsexperimente an Organen
- Inkubation von isolierten Geweben oder Zellen
- Inkubation von Vesikeln aus apikaler oder basolateraler Zellmembran und
- Expression spezifischer Transportproteine in heterologen Systemen, z. B. in Eizellen des Krallenfrosches.

Seit Anfang der 90er Jahre werden die meisten Transportstudien an permanent kultivierten Epithelzell-Linien durchgeführt; so auch in unserer Arbeitsgruppe (Brandsch 2000, <http://sundoc.bibliothek.uni-halle.de/habil-online/index.htm>).

Die Methoden sind hochgradig standardisiert und liefern schnelle, verlässliche Ergebnisse: Man kultiviert Epithelzellen auf impermeablen Oberflächen (spezielle Plastik, für Messungen der Aufnahme in die Zellen) oder auf permeablen Filtern (Polycarbonat in sogenannten Transwellkammern, für Messungen des transepithelialen Fluxes, Abb. 2).

Ein Beispiel: In der apikalen (dem Lumen zugewandten) Membran von Darmzellen befindet sich ein Peptidtransporter, PEPT1 (Fei et al. 1994, Nature 368, 563; Brandsch et al. 1998, J. Biol. Chem. 273, 3861; Knütter et al. 2001, Biochemistry 40, 4454; Abb. 1). Dieser Transporter ist für die Aufnahme von Di- und Tripeptiden verantwortlich, die bei der enzymatischen Proteinverdauung im Darmlumen entstehen. PEPT1 erkennt aufgrund ihrer tripeptid-ähnlichen Struktur aber auch viele β-Lactam-Antibiotika als Substrate und transportiert sie in die Darmzellen. Das ermöglicht die orale Applikation von Antibiotika dieser Gruppe bei bakteriellen Infektionen. Insofern ist PEPT1 ein »Wirkstofftransporter«.

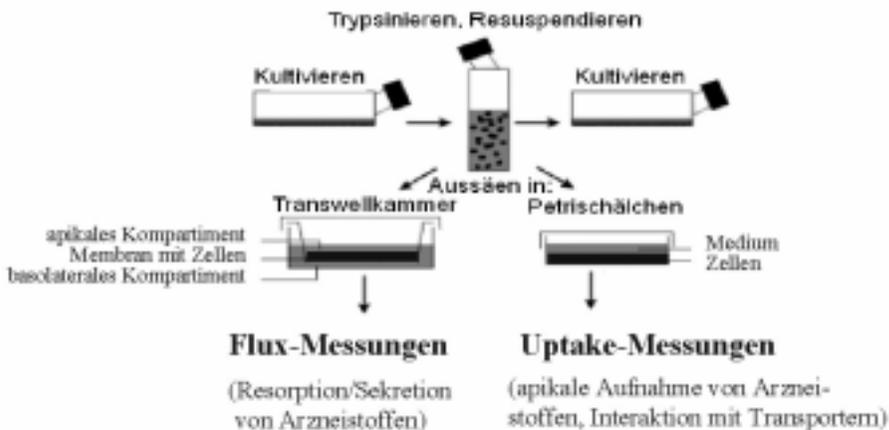
An Caco-2-Zellen bestimmten wir verschiedene Transportparameter von 23 Cephalosporinen und Penicillinen (Bretschneider et al. 1999, Pharm. Res. 16, 55). Ergebnis: Die Affinität der Antibiotika zu dem Transportsystem PEPT1 korreliert sehr gut mit ihrer derzeit praktizierten Applikation (oral bzw. parenteral). Die transepithelialen Fluxe der Antibiotika und ihre Affinitätskonstanten (K_i -Werte) an PEPT1 sind signifikant korreliert (Abb. 3). Die Variation der Fluxes wird also hauptsächlich von der Variation der Affinität am Transportprotein PEPT1 bestimmt. Unzweifelhaft ist die Korrelation zwischen

Auswahl der in der AG Membrantransport des Biozentrums genutzten Zell-Linien

Epitheliale Schranke	Zell-Linie	Ursprung/Zelltyp	Referenz
Darm	Caco-2	Coloncancer, human	ATCC ¹ HTB-37
Niere	SKPT-0193	Proximaler Tubulus, Ratte	Brandsch et al. 1995, FASEB J. 9, 1489
Placenta	BeWo	Choriocarcin, human	ATCC CCL-98
Gallengang	SK-ChA-1	Carcinom des extrahepatischen Gallenganges, human	Knuth et al. 1985, J. Hepatol. 1, 579
Haut	HaCaT	Keratinocyten, human	Boukamp et al. 1988, J. Cell Biol. 106, 761
Blut-Hirn-Schranke	RBE4	Cerebrales Endothel, Ratte	Roux et al. 1994, J. Cell Physiol. 159, 101

¹ATCC: American Type Culture Collection

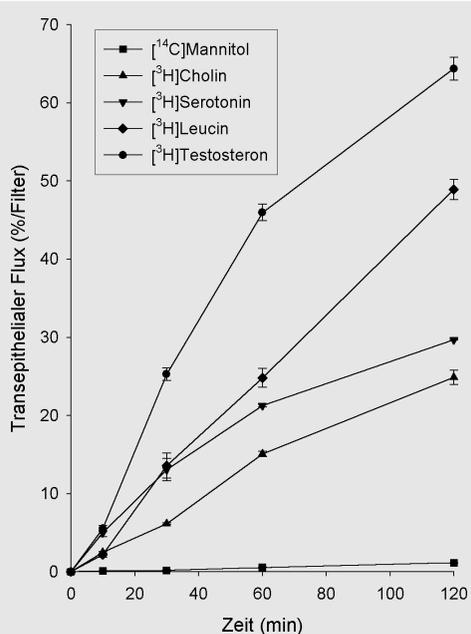
TIERISCHE ZELLKULTUR: ADHÄRENTE ZELLEN



2: Kultur tierischer Zellen auf impermeablen und permeablen Oberflächen

dem transepithelialen Flux der Substanzen an Caco-2-Zell-Monolayern und der Art ihrer Verabreichung. Mit anderen Worten: Die Substanzen, deren Flux am Zellmodell über einem ermittelten Schwellenwert liegt, sind die oral applizierbaren. Alle Substanzen mit Fluxen unter diesem Wert erfordern eine intravenöse Applikation.

In einem anderen Projekt beschäftigt sich die Gruppe mit dem Transport von kationischen, hydrophilen Arzneistoffen. Solche Substanzen werden von Carriern für physiologische organische Kationen (OCT, OCTN u.v.a.) ebenfalls als Substrate akzeptiert. Das erklärt ihren hohen transepithelialen Flux im Zellkultur-Modell und die orale Verfügbarkeit dieser Substanzen in vivo. Es gibt radioaktiv markierte Referenzsubstanzen, mit denen man die Permeabilität von adhärent wachsenden Zellschichten bestimmt (Abb. 4):

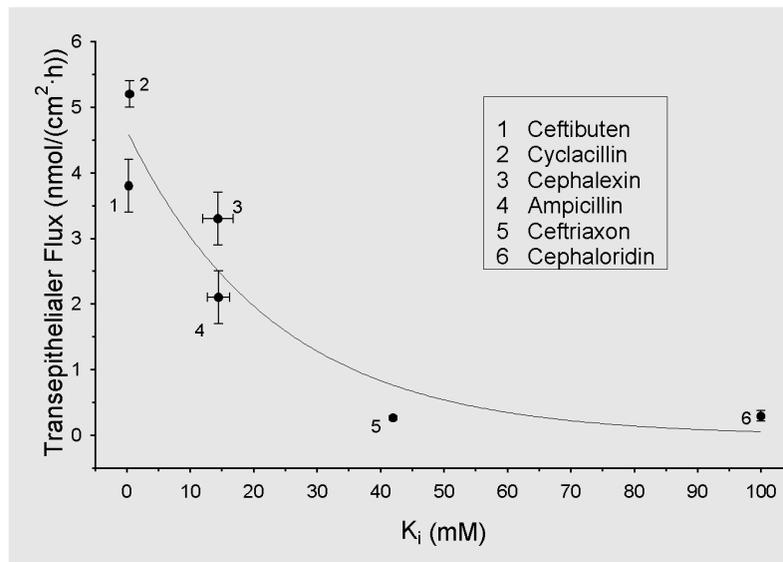


4: Transepithelialer Flux von radioaktiv markierten Referenz- und Testsubstanzen (Serotonin, Cholin) an Caco-2-Zell-Monolayern

$[^{14}\text{C}]$ Mannitol als sogenannter »space marker« (ein hydrophiles Molekül, für das kein Transportsystem existiert), $[^3\text{H}]$ Leucin als Substrat eines gut bekannten Transportsystems und $[^3\text{H}]$ Testosteron als hydrophober Marker. Vergleicht man die Fluxdaten der zu testenden Substanzen mit

den Fluxdaten der Referenzsubstanzen, lassen sich die Permeationen der Testsubstanzen an der jeweiligen epithelialen Barriere abschätzen. Innerhalb bestimmter Grenzen kann also durch in vitro Transportstudien an kultivierten Zellen die Bioverfügbarkeit neu entwickelter Substanzen prognostiziert werden.

Derzeit arbeiten weltweit Pharmafirmen und universitäre Forschungseinrichtungen daran, sich auf ein gemeinsames Protokoll für Messungen des Arzneistofftransportes an der Darmzell-Linie Caco-2 zu einigen. Lassen Behörden wie die US Food and Drug Administration dieses Protokoll als Standard für Voraussagen über die orale Verfügbarkeit eines Arzneistoffes zu, führt die Methode zur signifikanten Einsparung von Tierversuchen, Geld und Zeit.



3: Affinitätskonstanten (K_i) am Transporter und transepithelialer Flux von β -Lactam-Antibiotika an Caco-2-Zell-Monolayern (Auswahl; siehe Bretschneider et al. 1999, Pharm. Res. 16, 55)

Matthias Brandsch studierte von 1982 bis 1987 Tierphysiologie an der Universität Leipzig und wurde dort 1991 zum Dr. rer. nat. promoviert. Von 1992 bis 1995 arbeitete er als DFG-Postdoktorand am Medical College of Georgia, Augusta, USA. Seit 1996 leitet er im Biozentrum der halleschen Universität die Abteilung »Tierische Zellkultur/Versuchstierhaltung« und die Interdisziplinäre Arbeitsgruppe »Membrantransport«. Er habilitierte sich 2000 im Fach Biochemie.

Kathrin Möbus studierte von 1993 bis 1998 Pharmazie an der Universität Halle (Approbation 1998, Diplom 1998). Seit

1998 arbeitet sie als assoziierte Kollegiatin im DFG-Graduiertenkolleg 134 »Transport von Wirkstoffen in biologischen Systemen« im Biozentrum an der Dissertation. Reinhard Neubert studierte von 1970 bis 1974 Pharmazie an der Universität Halle, wurde 1978 zum Dr. rer. nat. promoviert und habilitierte sich 1987 im Fach Pharmazie. Seit 1992 ist er Professor für Arzneiformenlehre und Biopharmazie. Er ist Sprecher des o. g. Graduiertenkollegs. 2000 wurde er zum Prorektor für Forschung und wissenschaftlichen Nachwuchs der Universität Halle gewählt.

GEBÄUDE DER **BIO-ZENTRUM HALLE GMBH**

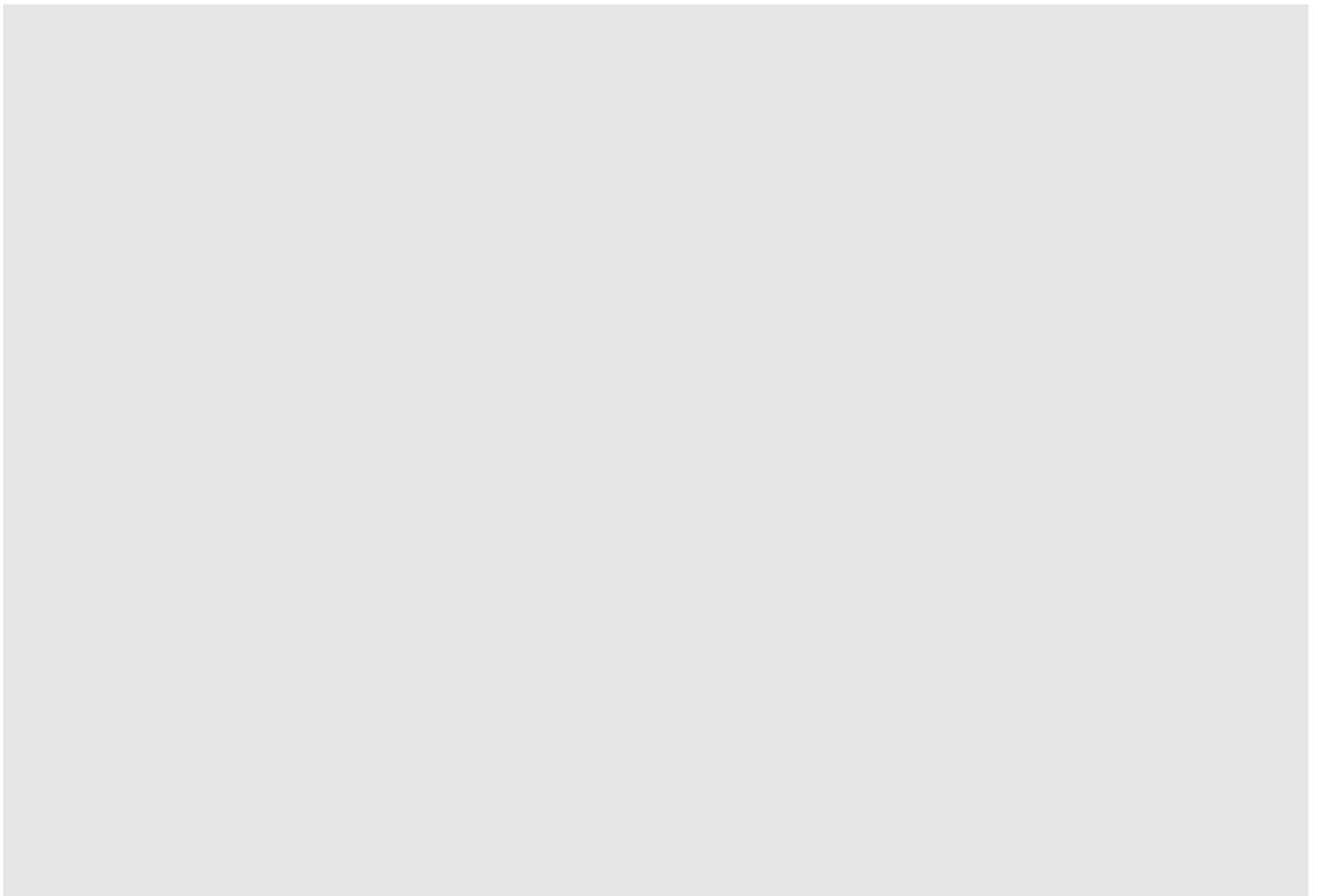
FORSCHUNGS-SCHWERPUNKT *BIOWISSENSCHAFTEN AM WEINBERG*

34



In dem modern ausgestatteten Forschungsverfügungsgebäude der Bio-Zentrum Halle GmbH am Weinbergweg 22 hat auch das Biozentrum der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg seinen Sitz.

Foto: Olbertz



DIE WISSENSCHAFTLICHE PHARMAZIE IM NEUEN JAHRTAUSEND – TRENDS, ENTWICKLUNGEN, HIGHLIGHTS

DEUTSCHE PHARMAZEUTISCHE GESELLSCHAFT E.V.
Jahrestagung vom 10.10. – 13.10. 2001 in Halle/Saale

DPhG

35

Anfang Oktober richtet die DPhG traditionell ihre Jahrestagung aus, deren Ziel es ist, einzelne pharmazeutische Fachdisziplinen (auch über die Gesellschaft hinaus) zusammenzuführen, damit die Teilnehmerinnen und Teilnehmer fachübergreifend aktuelle wissenschaftliche Fragestellungen und Probleme diskutieren können. Auf der gemeinsamen Jahrestagung wird allen aktiv forschenden Mitgliedern – aber auch Wissenschaftlern aus dem Ausland – die Möglichkeit geboten, ihre aktuelle Forschung in Form von Postern und Kurzvorträgen vorzustellen. Gleichzeitig kümmern sich die jeweiligen Organisationskomitees um ein interessantes Plenarvortragsprogramm. Die Tagung bietet vielfältige Möglichkeiten des interdisziplinären Erfahrungsaustauschs und fördert die Kooperation aller pharmazeutischen Fachdisziplinen untereinander.

Die vergangenen Jahrestagungen fanden in Zürich (1997, gemeinsam mit der Schwester-gesellschaft aus der Schweiz), in Tübingen (1998), in Frankfurt (1999) und 2000 in Münster statt. 2001 wird Halle an der Saale zum Tagungsort.

AUS DEM WISSENSCHAFTLICHEN PROGRAMM

Mittwoch, 10. Oktober 2001:

14 Uhr: Vorsymposien der Fachgruppen und Arbeitsgemeinschaften
17.15 Uhr: Mitgliederversammlungen

Donnerstag, 11. Oktober 2001:

13 Uhr Kongresseröffnung
Eröffnungsvortrag: Prof. Dr. W. Sadée, San Francisco, Thema: „Entschlüsselung des menschlichen Genoms: Wende in Medizin und Pharmazie“
Posterpräsentation

15.30 Uhr Kurzvorträge

19 Uhr Empfang in den Franckeschen Stiftungen, Festvortrag: Prof. Dr. P. Dilg, Marburg
Thema: Ein Zeitalter wird besichtigt: Arzneimittelforschung im 20. Jahrhundert

Freitag, 12. Oktober 2001:

8.30 Uhr: Vortrag, Prof. Dr. D. Crommelin, Utrecht: „Drug delivery: one cannot do without it“
ab 9.15 Uhr Kurzvorträge und Posterpräsentationen
17 Uhr: Vortrag: Prof. Dr. P. Oettel, Jena „Moderne Aspekte bei der Entwicklung von Steroiden“

Samstag, 13. Oktober 2001:

8.30 Uhr Kurzvorträge
10.15 Uhr Vortrag: Prof. Dr. G. Stock, Berlin
„Möglichkeiten und die Herausforderungen durch die molekulare Medizin am Beispiel der Pharmazeutischen Industrie“
11 Uhr Festvortrag: Dr. M. Kern, Frankfurt
„Nachhaltige Sicherung der globalen Lebensmittelproduktion im Spannungsfeld von Überleben, Genuss und Gesundheit“
11.45 Uhr Ehrungen und Preise
Bericht des Präsidenten
ab 13.30 Uhr Nachsymposien

Innerhalb der Pharmazeutischen Gesellschaft sind folgende Fachgruppen tätig:

- Allgemeinpharmazie
- Arzneistoffkontrolle/Pharmazeutische Analytik
- Geschichte der Naturwissenschaften und Pharmazie
- Pharmakologie und Toxikologie
- Pharmazeutische Biologie
- Pharmazeutische Chemie
- Pharmazeutische Technologie



Melanchthoneum am Universitätsplatz

Tagungsort:

Die Jahrestagung findet im Melanchthoneum der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg statt
Universitätsplatz 8/9
06108 Halle

Tagungsbüro:

ab Donnerstag, 11. Oktober 2001,
im Medienraum (EG) des Melanchthoneums
Universitätsplatz 8/9
06099 Halle

Informationen:

Prof. Dr. Peter Kleinebudde
Fachbereich Pharmazie, Institut für Pharmazeutische Technologie und Biopharmazie
Wolfgang-Langenbeck-Straße 4
06120 Halle
Tel.: (0345) 55 25167
E-Mail: kleinebudde@pharmazie.uni-halle.de
oder im Internet unter:
www.pharmazie.uni-halle.de/afl/dphg2001
oder:
Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft
Geschäftsstelle, Postfach 900440
60444 Frankfurt am Main
Tel.: (069) 7917 555

WETTEN, SIE WISSEN'S NICHT!

36 Zeigt das Foto:

- a) Wanderdünen in Südfrankreich?
- b) angetaute Eiskugeln?
- oder
- c) etwas ganz anderes – und wenn ja, was?

AUTORINNEN DIESER AUSGABE

Schwerpunkt »Biomaterialien«

**Martin-Luther-Universität
Halle-Wittenberg
Interdisziplinäres Zentrum für
Materialwissenschaften
Hoher Weg 8, 06120 Halle**

Prof. Dr. Hans-Reiner Höche
Tel.: 0345 / 55 25450
E-Mail: hoeche@physik.uni-halle.de
FB Physik, FG Experimentelle Physik IV
(Kristallphysik)

PD Dr. Andreas Röder
Tel.: 0345 / 55 25377
E-Mail: roeder@physik.uni-halle.de

Dr. Frank Heyroth
Tel.: 0345 / 55 25365
E-Mail: heyroth@physik.uni-halle.de

**Fachbereich Ingenieurwissenschaften
Geusaer Straße, 06217 Merseburg**

Institut für Werkstoffwissenschaften
Prof. Dr. Goerg H. Michler
Tel.: 03461 / 46 2745 / 2740
E-Mail: michler@iw.uni-halle.de

Dipl.-Phys. Sven Henning
Tel.: 03461 / 46 2764
E-Mail: sven.henning@iw.uni-halle.de

Institut für Bioengineering
Prof. Dr. Jörg Kressler
Tel.: 03461 / 46 2760
E-Mail: joerg.kressler@iw.uni-halle.de

Dr. Jürgen Vogel
Tel.: 03461 / 46 2741
E-Mail: juergen.vogel@iw.uni-halle.de

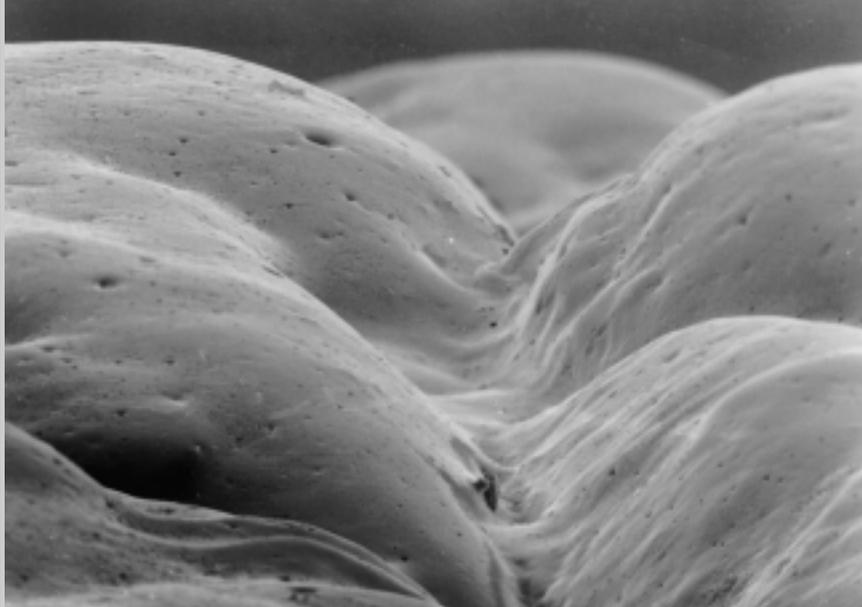


Foto: Herrmann / Seydewitz

Das Rätselphoto in der Ausgabe 1/2001 des Wissenschaftsjournals zeigte Kapillargefäße menschlicher Haut, aufgenommen mit einem Kapillar-Mikroskop.

Medizinische Fakultät 06097 Halle

Prof. Dr. Jürgen Setz
Universitätspoliklinik für Zahnärztliche
Prothetik, Große Steinstraße 19
Tel.: 0345 / 55 73765
E-Mail: juergen.setz@medizin.uni-halle.de

Prof. Dr. Gernot W. Duncker
Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde
Magdeburger Straße 8
Tel. 0345 / 55 71878 / 4173
E-Mail: gernot.duncker@medizin.uni-
halle.de
Dr. Thomas Hammer
Tel.: 0345 / 55 71881
E-Mail: thomas.hammer@medizin.uni-
halle.de

Fachbereich Pharmazie Wolfgang-Langenbeck-Straße 4, 06099 Halle

Institut für Pharmazeutische Chemie
Prof. Dr. Peter Nuhn
Tel.: 0345 / 55 25170
E-Mail: nuhn@pharmazie.uni-halle.de

Prof. Dr. Andreas Langner
Tel.: 0345 / 55 25080
E-Mail: langner@pharmazie.uni-halle.de

Prof. Dr. Hildegard Spahn-Langguth
Tel.: 0345 / 55 25193
E-Mail: spahn-langguth@pharmazie.uni-
halle.de

**Institut für Pharmazeutische Biologie,
Abteilung Zellphysiologie und Biotechnologie**
Kurt-Mothes-Straße 3, 06099 Halle
Prof. Dr. Werner Roos
Tel.: 0345 / 55 25011
E-Mail: roos@pharmazie.uni-halle.de

Katrin Viehweger
Tel.: 0345 / 55 25017
E-Mail: viehweger@pharmazie.uni-halle.de

**Institut für Pharmazeutische Techno-
logie und Biopharmazie,**
Wolfgang-Langenbeck-Str. 4, 06099 Halle
Prof. Dr. Reinhard Neubert
Tel.: 0345 / 55 25001
E-mail: neubert@pharmazie.uni-halle.de

**Fachbereich Chemie
Institut für Organische Chemie**
Kurt-Mothes-Str. 2, 06099 Halle
Prof. Dr. René Csuk
Tel.: 0345 / 55 25660
E-Mail: csuk@chemie.uni-halle.de

Biozentrum der Martin-Luther-Universität, Weinbergweg 22, 06120 Halle

Dr. Margret Köck
Tel.: 0345 / 55 21620
E-Mail: koeck@biozentrum.uni-halle.de

Dr. Reinhard Paschke
Tel.: 0345 / 55 21600
E-Mail: paschke@biozentrum.uni-halle.de

Dr. Jutta Kalbitz
Tel: 0345 / 55 21623 / 21637
E-Mail: kalbitz@biozentrum.uni-halle.de

Dr. Dr. Gerd Hause
Tel.: 0345 / 55 21626
E-Mail: hause@biozentrum.uni-halle.de

PD Dr. rer. nat. habil. Matthias Brandsch
Tel.: 0345 / 55 21630
E-Mail: brandsch@biozentrum.uni-halle.de

Dipl.-Pharm. Kathrin Möbus
Tel.: 0345 / 55 21635
E-Mail: k_moebus@yahoo.de

VEREINIGUNG DER FREUNDE UND FÖRDERER DER MARTIN-LUTHER-UNIVERSITÄT HALLE-WITTENBERG E.V.

Ehrenvorsitzender des Kuratoriums: Senator e. h. Dr. h. c. mult. Hans-Dietrich Genscher

STEINE FÜR DEN CAMPUS

Aktion zur Neugestaltung des Universitätsplatzes

Unglaublich, aber wahr: Weltberühmte halleische Gelehrte lassen sich kaufen. Von Institutionen, Unternehmen, ja sogar von Ihnen! Doch keine Sorge: In Forschung und Lehre der Martin-Luther-Universität geht alles mit rechten Dingen zu.

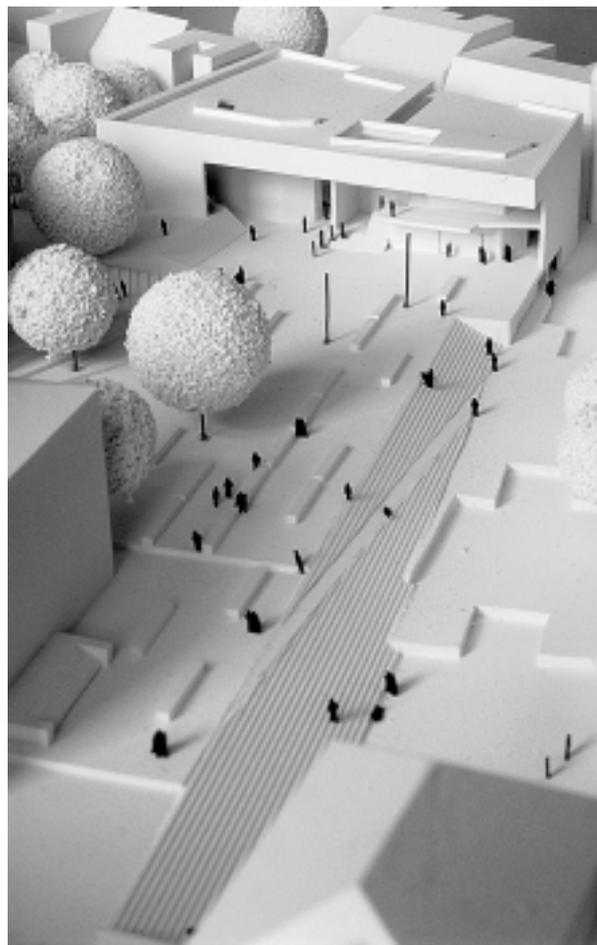
Wenn aber in Kürze der Uniplatz neu gepflastert wird, kommt nicht nur Granit unter den Hammer, sondern auch hochfeste Glasplatten, die den Namenszug bedeutender Wissenschaftler aus der 500jährigen Geschichte der Universität tragen. Auf diese Weise wird der Platz auch ein Ort der selbstverständlichen Begegnung mit der wissenschaftlichen Tradition der Stadt Halle.

Mit einem patentierten Verfahren der Firma BoRaGlas, einer Existenzgründung aus dem Fachbereich Physik, werden die Platten im Inneren beschriftet. Dieser Effekt beruht auf der lokal begrenzten Erzeugung von Nanometall-

partikeln unter Einsatz von Laserstrahlen. So lassen sich farbige Pixel computergesteuert zu Beschriftungen, Symbolen und Halbtonbildern zusammensetzen. Die ursprüngliche Beschaffenheit der Glasoberfläche wird dabei nicht verändert.

Interessenten haben jetzt die Gelegenheit, einen oder mehrere dieser Professorensteine durch eine Spende an die Vereinigung der Freunde und Förderer der Universität (VFF) zu erwerben. Selbstverständlich wird der Name des Spenders im Glas verewigt - neben Thomasius, Francke, Wolff oder Cantor. Auf Wunsch kann jeder „seinen“ Professor auch anonym erwerben. In jedem Fall unterstützt der Spender die Neugestaltung des Uniplatzes.

Die Liste aller Professoren-Namen finden Sie im Internet unter folgender Adresse: www.verwaltung.uni-halle.de/uniplatz.htm



Modell des künftigen Universitätsplatzes

Vorsitzender des Kuratoriums: Senator e. h. Dr. Gerhard Holland

Präsident: Senator e. h. Dr. Wolfgang Röller

Geschäftsführer: Peter Weniger

c/o Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 06099 Halle (Saale)

Telefon: (03 45) 55-2 10 24/25

Telefax: (03 45) 55-2 70 85

e-mail: PWeniger@vff.uni-halle.de

Internet: <http://www.uni-halle.de/vff/>

Für Mitgliedsbeiträge und Spenden wurden folgende Konten eingerichtet:

Dresdner Bank Halle,

Konto-Nr. 8 573 621 00, BLZ 800 800 00

Stadt- und Saalkreissparkasse Halle,

Konto-Nr. 3 863 007 62, BLZ 800 537 62

Spenden zur Verwirklichung der Ziele der Vereinigung und zum Nutzen der Universität sind jederzeit willkommen. Diese Spenden können an eine Zweckbestimmung gebunden sein. Die Vereinigung ist berechtigt, steuerwirksame Spendenbescheinigungen auszustellen