

# Das Adhäsionsverhalten primärer humaner Osteoblasten und Fibroblasten auf Polyetheretherketon im Vergleich zu Titan unter induzierten Entzündungsbedingungen – Eine Pilotstudie

Korbinian Benz<sup>1</sup>, Andreas Schöbel<sup>1</sup>, Marisa Dietz<sup>2</sup>, Peter Maurer<sup>3</sup>, Jochen Jackowski<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Universität Witten / Herdecke, Deutschland  
<sup>2</sup>Klinik für Mund-, Kiefer und Gesichtschirurgie - Klinikum Dortmund, Deutschland  
<sup>3</sup>Praxisklinik Prof. Maurer, Sankt Wendel, Deutschland  
 Korbinian.Benz@uni-wh.de



## EINLEITUNG

Bisheriges Standardmaterial für dentale Implantate ist der Werkstoff Titan und dessen Verbundmaterialien. Die hohe Steifigkeit von Titan bewirkt, dass Druckkräfte unverändert auf den umgebenden Knochen übertragen werden. Eine mögliche Alternative ist der Kunststoff Polyetheretherketon (PEEK), der eine hohe Bioverträglichkeit und eine dem Knochen vergleichbare Festigkeit besitzt.

**Zielsetzung** der *in-vitro* Pilotstudie war es, die Viabilität, Morphologie und das Adhäsionsverhalten von humanen Osteoblasten und Fibroblasten auf PEEK- im Vergleich zu Titan-Oberflächen im entzündlichen Milieu zu analysieren.

## MATERIAL & METHODE

Der Schwerpunkt der Studie lag auf einer induzierten Entzündungsbedingung durch Inkubation mit dem bakteriellen Toxin Lipopolysaccharid (LPS; 10µg/ml, 24 Stunden).

Primäre humane Osteoblasten (NH0st; LONZA, Basel, Schweiz) und Fibroblasten (NHDF; PromoCell, Heidelberg, Deutschland) wurden auf Titan- und PEEK-Proben (∅12mm, Dicke: 2,5 mm) der Firma MEDICON eG (Tuttlingen, Deutschland) kultiviert (Abb. 1). Die Viabilitätstestung der Zellen auf den beiden Materialien im Vergleich zu mit dem Protein Poly-L-Lysin-beschichteten Glasdeckgläsern (Referenz; Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) erfolgte mittels MTT-Methode. Zur Untersuchung des Anwachsverhaltens der beiden Zelltypen auf den verschiedenen Materialien wurden REM-Aufnahmen angefertigt. Realtime-PCR-Messungen dienten zur Analyse der Genexpression des LPS-Bindeproteins (LBP) und des LPS-Rezeptors (TLR4).

Der Nachweis auf Proteinebene und zusätzlich von Phalloidin (Aktin-Nachweis) und Vinculin (Extrazellulär-Matrix-Bindeprotein) erfolgte durch immunzytochemische (ICC-) Markierungen.

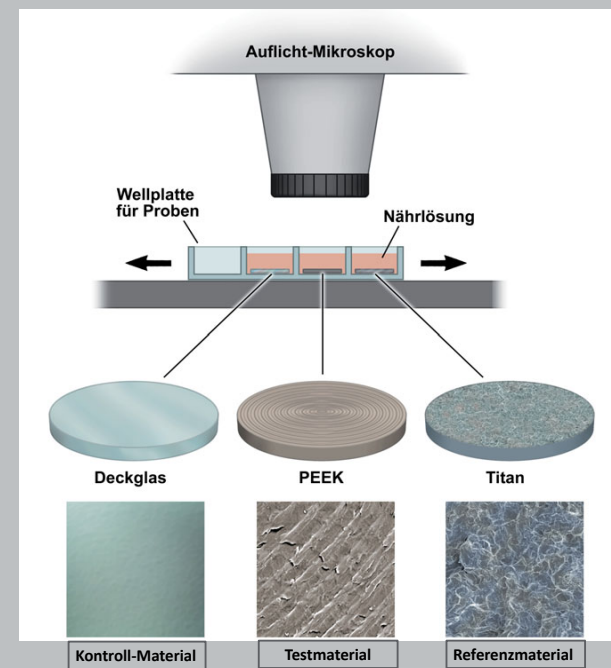


Abb. 1: Versuchsaufbau (schematisch)

## ERGEBNISSE

Die Osteoblasten und Fibroblasten wiesen auf den Deckgläsern die höchste Viabilität auf, gefolgt von den Titan- und PEEK-Proben (Abb. 2&3). In den REM-Aufnahmen zeigten die beiden Zelltypen auf den PEEK-Oberflächen dem Titan vergleichbare Adhäsionseigenschaften (Abb. 7&8).

Nach LPS-Stimulation zeigte sich eine signifikant gesteigerte LBP-Genexpression in den NH0st (Abb.4). Das war auch auf Proteinebene nach Wachstum auf den drei Materialien zu erkennen. Während unter LPS-Inkubation für TLR4 keine erhöhte mRNA-Konzentration in den NH0st nachgewiesen werden konnte, war in den ICC-Markierungen eine deutliche Zunahme der Antikörperreaktion auf allen Werkstoffen festzustellen. Bei den Fibroblasten hatte die LPS-Stimulation keinen Einfluss auf deren LBP- und TLR4-Gen-/Proteinexpression (Abb. 5).

Unter Kontrollbedingungen wuchsen die NH0st auf allen Materialien mit parallel angeordneten Aktinfasern. Nach LPS-Inkubation hatten sich die Osteoblasten zusammengezogen. Insbesondere auf den Deckgläsern war eine punktuelle Intensivierung der Adhäsionskontakte festzustellen. Nach LPS-Inkubation der NHDF zeigte sich bei den Deckgläsern und den Titan-Proben eine Umverteilung des Vinculin-Nachweises von perinukleär in die Peripherie der Zellfortsätze.

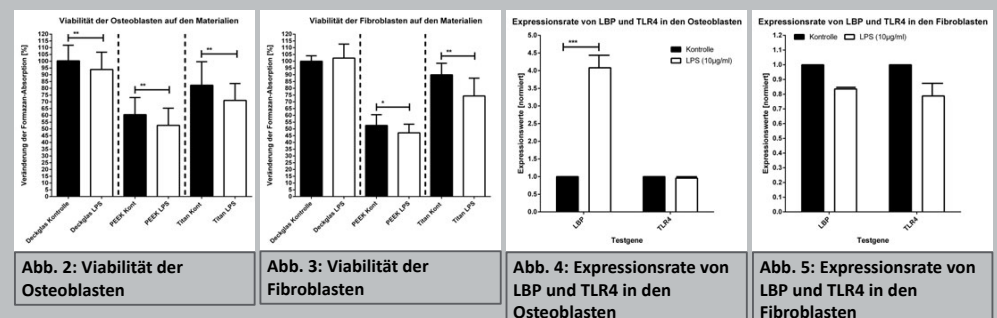


Abb. 2: Viabilität der Osteoblasten

Abb. 3: Viabilität der Fibroblasten

Abb. 4: Expressionsrate von LBP und TLR4 in den Osteoblasten

Abb. 5: Expressionsrate von LBP und TLR4 in den Fibroblasten

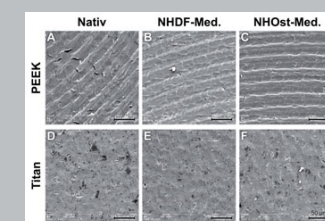


Abb. 6: PEEK und Titanproben ohne Zellen (REM)

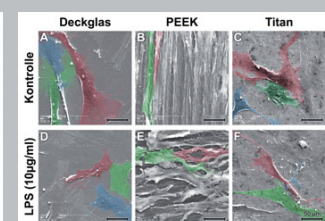


Abb. 7: Osteoblasten auf den Materialproben (REM)

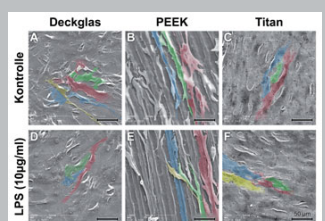


Abb. 8: Fibroblasten auf den Materialproben (REM)

## DISKUSSION

LPS ist der hauptpathogene Faktor aller gram-negativen Bakterien und bekannt für das Auslösen einer starken Entzündungsreaktion (1-4). Das bakterielle Toxin LPS besitzt außerdem eine hohe Bindungsaffinität zu Biomaterialien wie Titan (5). Insbesondere bei dentalen Implantaten kann dies zu Problemen führen, da gram-negative Bakterien der Hauptauslöser der sogenannten Periimplantitis sind (6).

Der Werkstoff PEEK erweist sich im Vergleich zum Standardmaterial Titan als histologisch hoch kompatibel. Wie beim Titan wird eine Ansiedelung von humanen Osteoblasten und Fibroblasten auf PEEK-Proben auch unter pro-inflammatorischen Umgebungsbedingungen (LPS) ermöglicht. Weitere Studien sind notwendig, um abzuklären, ob der Werkstoff PEEK als Material für dentale Implantate geeignet ist.

## LITERATUR

- Darveau, R. P. 2010. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Microbiol*, 8, 481-90.
- Into, T., Inomata, M., Shibata, K. & Murakami, Y. 2010. Effect of the antimicrobial peptide LL-37 on Toll-like receptors 2-, 3- and 4-triggered expression of IL-6, IL-8 and CXCL10 in human gingival fibroblasts. *Cell Immunol*, 264, 104-9.
- Soares, J. B., Pimentel-Nunes, P., Roncon-Albuquerque, R. & Leite-Moreira, A. 2010. The role of lipopolysaccharide/toll-like receptor 4 signaling in chronic liver diseases. *Hepato Int*, 4, 659-72.
- Kato, H., Taguchi, Y., Tominaga, K., Umeda, M. & Tanaka, A. 2014. Porphyromonas gingivalis LPS inhibits osteoblastic differentiation and promotes pro-inflammatory cytokine production in human periodontal ligament stem cells. *Arch Oral Biol*, 59, 167-75.
- Bonsignore, L. A., Anderson, J. R., Lee, Z., Goldberg, V. M. & Greenfield, E. M. 2013. Adherent lipopolysaccharide inhibits the osseointegration of orthopedic implants by impairing osteoblast differentiation. *Bone*, 52, 93-101.
- Casado, P. L., Otazu, I.B., Balduino, A., De Mello, W., Barboza, E. P., Duarte, M. E. 2011. Identification of periodontal pathogens in healthy periimplant sites. *Impl. Dent.* 2011 Jun;20(3):226-35.