

Heinz C. Schröder, Xiaohong Wang, Meik Neufurth, Werner E. G. Müller

Polyphosphat, das erste Bioenergie liefernde Material für zahnmedizinische Anwendungen – ein Ausblick

Indizes: Dentintubuli, Energielieferung, Erosion, Karies, morphogenetische Aktivität, Polyphosphat, Restauration, Zahnhartsubstanzverlust

Zusammenfassung: Polyphosphat (PolyP) ist ein natürliches, auch in menschlichen Zellen, insbesondere Blutplättchen, vorkommendes Polymer, das eine essenzielle Rolle bei der Wundheilung und Knochenreparatur spielt. PolyP besteht aus langen Ketten von Phosphatresten mit außergewöhnlichen Eigenschaften: morphogenetische Aktivität, Stimulierung der Zellneubildung einschließlich Zahnmineral produzierender Zellen, Energielieferung für das Zellwachstum, Bereitstellung des Ausgangsmaterials für die Knochen-/Zahnbildung, antibakterielle Aktivität vor allem gegenüber dem Karies verursachenden Bakterium *Streptococcus mutans* und antivirale Aktivität, insbesondere gegen SARS-CoV-2. PolyP hat keine Nebenwirkungen. Es lässt sich in großen Mengen in geeigneter Form auch synthetisch herstellen und ist sowohl für Knochenaufbau/-reparatur als auch für eine evidenzbasierte Zahnpflege bestens geeignet.

Warum Sie diesen Beitrag lesen sollten

Die Blutplättchen sind entscheidend für die Wundheilung. Dafür ist vor allem ein in ihnen gespeichertes Polymer verantwortlich: anorganisches Polyphosphat (PolyP). Diese Erkenntnis ermöglichte, wie hier gezeigt, die Entwicklung neuartiger Materialien für die Zahnmedizin mit bisher nicht gekannten Eigenschaften.

1. EINLEITUNG

Herkömmliche in der Zahnmedizin benutzte Materialien werden häufig unter Verwendung unphysiologischer Substanzen hergestellt, die, wenn in die orale Kavität freigesetzt, schädliche Nebenwirkungen haben können, beispielsweise 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA), Bisphenol-A-Glyceroldimethacrylat (BisGMA) oder Triethylenglycoldimethacrylat (TEGDMA), die eine signifikante Zyto- und Genotoxizität aufweisen

und die Wundheilung beeinträchtigen können.^{43,48} Deshalb besteht ein großes Interesse an natürlichen, physiologischen Materialien, die in der Regel biokompatibel sind, insbesondere an Materialien, die auch regenerative Aktivität aufweisen. Allerdings zeigen die derzeit verfügbaren osteokonduktiven Materialien auf Hydroxylapatit- und Tricalciumphosphatbasis nur geringe oder keine osteoinduktive Wirksamkeit. Insbesondere gibt es in der Zahnmedizin keine Materialien, die die für die Regeneration und Reparatur benötigte biologische Energie liefern oder, als Komponente einer Zahnpasta, eine Schutzwirkung nicht nur gegenüber bakteriellen, sondern auch viralen Krankheitserregern zeigen.

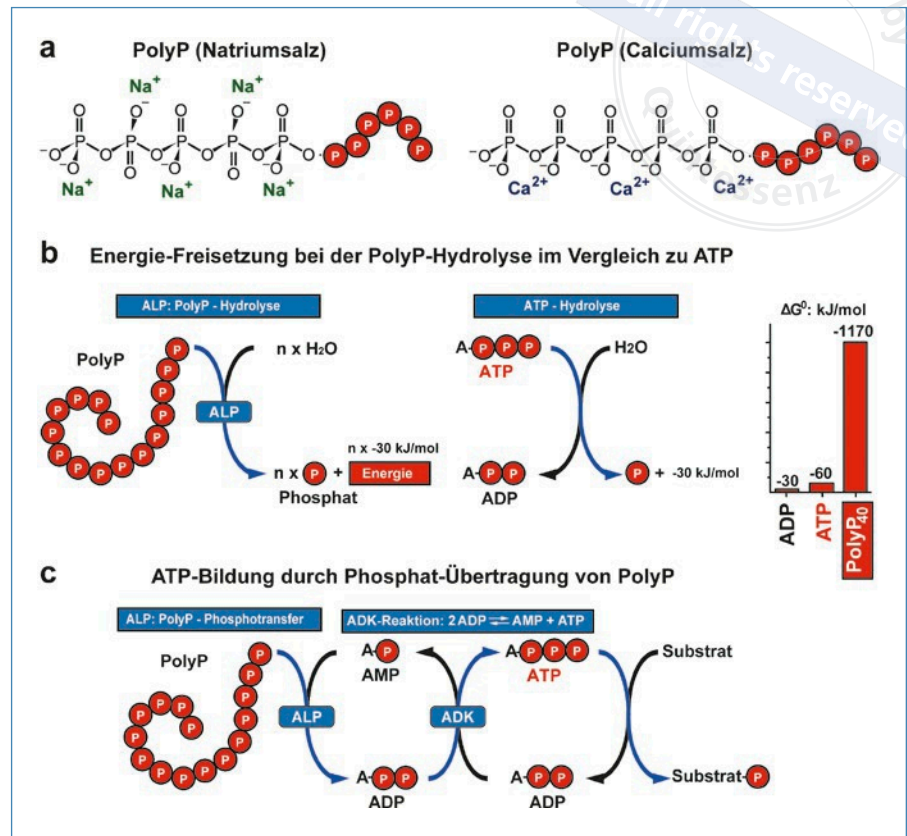
Die Fragen, die sich stellen, sind somit: Gibt es ein biokompatibles, möglichst physiologisches Material, das regenerativ aktiv und darüber hinaus in der Lage ist, die für Reparaturvorgänge und die Synthese neuer Zahnhartsubstanz benötigte metabolische Energie zu liefern, insbesondere auch im Extrazellularraum, der arm ist an Adenosintriphosphat (ATP), dem universellen Energietransportmolekül? Besitzt dieses Material antibakterielle Aktivität gegenüber dem kariogenen Bakterium *Streptococcus mutans* und ermöglicht es eine effiziente Versiegelung von Enamel und Dentin zum Schutz vor Karies? Ist dieses Material bioabbaubar und frei von lokaler oder systemischer Toxizität? In den letzten Jahren gelang es, ein Material zu identifizieren, das all diese Eigenschaften in einem Molekül vereint: *anorganisches Polyphosphat (PolyP)*.

Manuskript:

Eingang: 11.06.2024

Annahme: 22.07.2024

Abb. 1a bis c Anorganisches Polyphosphat (PolyP) und seine Rolle als Speicher und Quelle für energiereiches Phosphat. (a) PolyP kann sowohl als lösliches Natriumsalz als auch als Calciumsalz vorliegen, aus dem bei einem alkalischen pH-Wert biomimetisch Nano- oder Mikropartikel hergestellt werden können. (b) PolyP speichert ein Vielfaches der Energie, die ein Molekül des Energiecarriers ATP enthält und die bei der Hydrolyse des Polymers freigesetzt wird. Aus einem einzigen PolyP-Molekül mit 40 Phosphatresten (39 energiereiche Bindungen) kann fast das 20-Fache der Energie eines ATP-Moleküls (2 energiereiche Bindungen) gewonnen werden (Säulendiagramm rechts). (c) Über die beiden Enzyme alkalische Phosphatase (ALP) und Adenylatkinase (ADK) kann daraus auch ATP regeneriert werden.



2. POLYPHOSPHAT

PolyP ist ein physiologisches, nichttoxisches Polymer, das von lebenden Zellen synthetisiert wird.²⁹ Es besteht aus zahlreichen Phosphatbausteinen, die wie ATP über sehr energiereiche Säureanhydridbindungen unter Bildung einer linearen Kette miteinander verknüpft sind (Abb. 1a).¹⁴ Alkali- oder Erdalkaliionen können als Gegenionen dienen. Im Körper wird PolyP zu den Stellen von Gewebeerletzungen über die aus Megakaryocyten gebildeten Blutplättchen transportiert, in denen das Polymer zusammen mit Calciumionen in den 100–200 nm großen *dense granules* in Form von amorphen Calcium-PolyP-Mikropartikeln gespeichert wird.^{21,49} Nach Aktivierung der Blutplättchen an den Verletzungsstellen wird PolyP entweder als lösliches PolyP oder als Ca-PolyP-Mikropartikel freigesetzt, um dort aktiv die Geweberegeneration und -reparatur zu fördern. PolyP wirkt sowohl extra- als auch intrazellulär. In Form von Mikro- oder Nanopartikeln kann es auch in Zellen durch clathrinvermittelte Endozytose aufgenommen werden.⁴⁹ Die physiologisch im Blut vorhandenen polymeren PolyP-Moleküle besitzen eine Kettenlänge von ungefähr 40 Phosphatresten.^{24,49} Die Natriumsalze von PolyP-Molekülen in diesem Kettenlängenbereich sind gut wasserlöslich, im Gegensatz zu den Erdalkalisalzen wie Ca-PolyP, die in Abhängigkeit von den pH-Bedingungen entweder Mikropartikel (Speicherform des

PolyP; alkalischer pH-Bereich) oder ein gelartiges Koazervat (biologisch aktive Form; neutraler pH-Bereich) bilden.³³

Ausgehend von den monomeren Phosphatbausteinen können PolyP-Moleküle auch chemisch synthetisiert werden. Großtechnisch mit geringen Kosten hergestelltes PolyP wird unter anderem als Lebensmittelzusatzstoff, Düngemittel und Bestandteil von Feuerlöschmitteln verwendet. Die kettenförmigen PolyP-Polymere besitzen bei physiologischen pH-Werten eine starke negative Ladung. Ihre Natriumsalze sind bei diesen pH-Werten nahezu vollständig dissoziiert. Wichtig ist, dass PolyP, ein bei neutralem pH-Wert stabiles Polymer, enzymatisch bioabbaubar ist – durch die alkalische Phosphatase (ALP), ein ubiquitäres Enzym, das auch extrazellulär auf der Zelloberfläche vorkommt (Abb. 1b).^{16,29}

Ein Problem ist jedoch, dass PolyP oft nur unzureichend vorhanden ist, die Verletzungsstelle nicht erreichen kann oder seine Produktion pathologisch eingeschränkt ist. Die Lösung dieses Problems ist die Gabe von exogenem PolyP. Es gelang ein Verfahren zu entwickeln, mit dem erstmals Nano- und Mikropartikel von PolyP hergestellt werden können, die wie die natürliche Speicherform des Polymers aufgebaut sind und bei Kontakt mit Blut oder Wundsekret aktiviert und in die biologisch aktive PolyP-Koazervat-Phase umgewandelt werden.²⁹ Es ist wichtig, dass die Partikel in der amorphen Phase vorliegen, da generell

nur amorphe Biominerale physiologische Wirkung zeigen und nur amorphes Ca-PolyP die Aktivierung/Transformation zu einem Koazervat eingehen kann.³⁰ Darüber hinaus gelang es, ein einfaches thermisches *One-Pot*-Verfahren zu entwickeln, mit dem das zugrundeliegende Polymer unter GMP-Bedingungen (*Good Manufacturing Practice*) mit definierter – physiologischer – Kettenlänge innerhalb von weniger als 3 Stunden mit hoher Ausbeute und Reinheit gewonnen werden kann.

3. WIRKUNGEN VON PolyP

3.1 Energielieferung

Eine Wirkung von PolyP ist absolut neuartig und wird von keinem anderen bekannten Polymer erreicht: Es ist die Lieferung metabolischer Energie, die für alle Geweberegenerationsprozesse benötigt wird – von der Knochen- und Knorpelreparatur einschließlich der Reparatur des Dentins/Enamels bis hin zur Wundheilung, aber auch zur Aufrechterhaltung der angeborenen Immunität gegen Bakterien und Viren.

PolyP enthält ein Vielfaches der in ATP, der universellen biologischen „Energiewährung“, vorhandenen Energie (Abb. 1b).³⁶ Mittels der beiden Enzyme ALP und Adenylatkinase (ADK) kann die in PolyP gespeicherte Energie in ATP umgewandelt werden – nicht nur intrazellulär, sondern auch im extrazellulären Raum, in der extrazellulären Matrix, die arm an ATP ist (Abb. 1c).²⁸ Dies ist vor allem wichtig für Bindegewebe, das eine voluminöse extrazelluläre Matrix besitzt und nur wenige Zellen mit ihren „Energiefabriken“, den Mitochondrien, enthält, aber dennoch für den Aufbau und die Funktion der extrazellulären Matrix einen merklichen Energieaufwand aufbringen muss. Ein Vergleich der Energie, die aus ATP und PolyP freigesetzt werden kann, zeigt, dass ein PolyP-Molekül mit 40 Phosphatresten, also 39 energiereichen Bindungen, einen Energiebetrag von $39 \times -30 \text{ kJ/mol} = -1170 \text{ kJ/mol}$ freisetzen kann, also etwa das 20-Fache desjenigen von ATP mit 2 energiereichen Bindungen und $2 \times -30 \text{ kJ/mol} = -60 \text{ kJ/mol}$ (Gibbs freie Energie pro energiereiche Bindung: -30 kJ/mol) (Säulendiagramm in Abb. 1b rechts). PolyP kann somit als Lieferant von Stoffwechselenergie fungieren, indem es ATP mithilfe der Enzyme ALP und ADK bildet.²⁹

3.2 Regenerative Aktivität – Induktion der Proteinexpression

Darüber hinaus ist PolyP regenerativ, morphogenetisch aktiv und in der Lage, die Expression von Proteinen, die an der Zahnmineralisation beteiligt sind, wie von Kollagen oder der ALP zu induzieren.²² PolyP induziert die Expression von Genen, die an der Steuerung des Zellwachstums und der Zelldifferenzierung beteiligt sind, wie des knochenmorphogenetischen Proteins-2 (*Bone Morphogenetic Protein-2*, BMP-2).^{24,49} Weiterhin induziert PolyP die Expression von Genen, die an

der Pathogenabwehr beteiligt sind, beispielsweise des Schleimproteins Mucin-5AC in der Mundhöhle.

3.3 Antibakterielle und antivirale Aktivität

PolyP ist in der Lage, in Gegenwart von divalenten Kationen ein Koazervat zu bilden, eine wasserreiche gelartige Phase, die auf einer Phasentrennung in eine polymerreiche und eine polymerarme Phase beruht.³³ Die Koazervatbildung von PolyP, die in Gegenwart von Protein wie auf der Mundschleimhaut oder Zahnoberfläche auch ausgehend von Ca-PolyP-Mikropartikeln stattfindet, führt zur Einkapselung (Umhüllung) und damit Inaktivierung von pathogenen Organismen wie Bakterien und Viren in der Mundhöhle und auf Zähnen.⁴⁴

PolyP besitzt auch eine direkte antibakterielle Aktivität gegenüber grampositiven Bakterien, insbesondere dem Säure produzierenden Kariesbakterium *S. mutans*.²⁷ Der Hemmeffekt gegenüber anderen grampositiven Bakterien wie dem weitverbreiteten, normalerweise nicht pathogenen *Staphylococcus aureus* ist dagegen gering. Ein protektiver Effekt (sowohl gegenüber grampositiven als auch gegenüber gramnegativen Bakterien) kann darüber hinaus auch durch einen auf der Zahnoberfläche gebildeten PolyP-Koazervatfilm bewirkt werden.

Von speziellem Interesse ist die Eigenschaft von PolyP, auch Infektionen von Zellen durch das Coronavirus SARS-CoV-2 zu verhindern. PolyP bindet an die Spike-Proteine des Coronavirus und hemmt damit die Anheftung des Virus an den Zellrezeptor.^{31,32,37} Ein Zusatz von PolyP zu Zahnpasten oder Mundspülungen/Mundsprays könnte somit für eine mögliche Prophylaxe vor einer Coronainfektion von Interesse sein.

4. POLYPHOSPHAT: ANWENDUNGEN

Aufgrund dieser außergewöhnlichen Eigenschaften und Eigenschaftskombination ergibt sich für PolyP eine Reihe von Anwendungen, bei denen PolyP entweder als lösliches, unmittelbar wirksames PolyP (Natriumsalz) oder als Ca-PolyP-Mikropartikel (Depotform) eingesetzt werden kann.

4.1 Anwendung zur Wundheilung

Die Behandlung schwer oder nicht heilender chronischer Wunden ist noch immer eine große medizinische Herausforderung, für die es noch keine zufriedenstellende Lösung gibt. Ein wesentlicher Faktor, der zur Entstehung chronischer Wunden führt und deren Heilung erschwert, ist ein zugrundeliegender Energiemangel. Beispiele sind diabetische Fußgeschwüre, Druckgeschwüre und venöse Unterschenkelgeschwüre. Es konnte gezeigt werden, dass PolyP die Heilung solcher Wunden beschleunigt. Erste Anwendungen an Patienten führten zu einer vollständigen Heilung ansonsten nicht therapierbarer chronischer Wunden.^{35,42}

4.2 Anwendung zur Zahnhartsubstanzregeneration/-remineralisation

Bisher gab es kein regenerativ aktives und gleichzeitig energielieferndes Material zur Knochen- und Zahnhartsubstanzregeneration. Mit PolyP sowie den daraus bestehenden Mikropartikeln steht jetzt ein derartiges Material zur Verfügung. Materialien zur Knochenregeneration sollten vorzugsweise sowohl osteokonduktiv sein, d. h. in der Lage, die knochenbildenden Osteoblasten zum Ort der Läsion zu leiten, als auch osteoinduktiv, d. h. in der Lage, die Reifung von Osteoblasten aus ihren Vorläuferzellen (Stammzellen) und die Knochenneubildung zu stimulieren. PolyP besitzt beide Eigenschaften. Darüber hinaus ist es 3D-druckbar und sogar für den 3D-Zelldruck geeignet.³⁸

Neuere Untersuchungen zeigten, dass die Mineralisierung mit der Aggregation sogenannter Posner-Cluster $[Ca_9(PO_4)_6]$ zu amorphem Calciumphosphat (ACP) beginnt, das sich dann in kristallines Calciumphosphat und schließlich in Hydroxylapatit umwandelt.^{4,6,8} An Dentin/Schmelz menschlicher Zähne konnte gezeigt werden, dass PolyP bei einer Konzentration von >15 Gew.-% die amorphe Phase des Calciumphosphats (ACP) stabilisiert und deren Umwandlung in die kristalline Phase verhindert.³⁴ Sobald jedoch PolyP durch die allgegenwärtige ALP hydrolysiert wird, kann die Transformation der amorphen in die kristalline Phase stattfinden. Gleichzeitig wird weiteres Phosphat aus PolyP freigesetzt, was zusätzlich in das kristalline Mineral eingebaut wird. Somit kommt der ALP eine Schlüsselfunktion bei der Kontrolle der Hydroxylapatitsynthese aus dem zunächst gebildeten ACP bei der Mineralisation zu.

Reifer Zahnschmelz ist azellulär und deshalb im Gegensatz zu Dentin und Zement nicht in der Lage, seine Mineralablagerungen selbst zu regenerieren.²⁰ Dentin und Zement verfügen dagegen über ein begrenztes Regenerationspotenzial.¹¹ Allerdings können im Schmelz noch merkliche Mengen an ALP nachgewiesen werden, ebenso wie in Dentin und Zement.³⁴ Die ALP wird auch im Schmelzoberhäutchen (*Cuticula dentalis* oder Nasmyth-Membran) gefunden, einem Proteinfilm, der sich auf der Schmelzoberfläche der Zähne durch Bindung von Glykoproteinen aus dem Speichel bildet.¹⁰ Das Vorkommen der ALP in Schmelz, Dentin und Zement konnte mittels Messung der Enzymaktivität sowie auch mittels Immunfärbung demonstriert werden (Abb. 2). Somit ist es möglich, durch Gabe von exogenem PolyP als Phosphatquelle selbst im Schmelz (oder auch Dentin) Reparaturprozesse durch Remineralisierung in Gang zu halten. Das Polymer wird dabei durch die dort vorhandene ALP schrittweise zu monomerem Phosphat hydrolysiert, das dann im Fall einer Schädigung appositionell Calciumphosphatablagerungen auf beiden Zahnbestandteilen bilden kann.³⁴

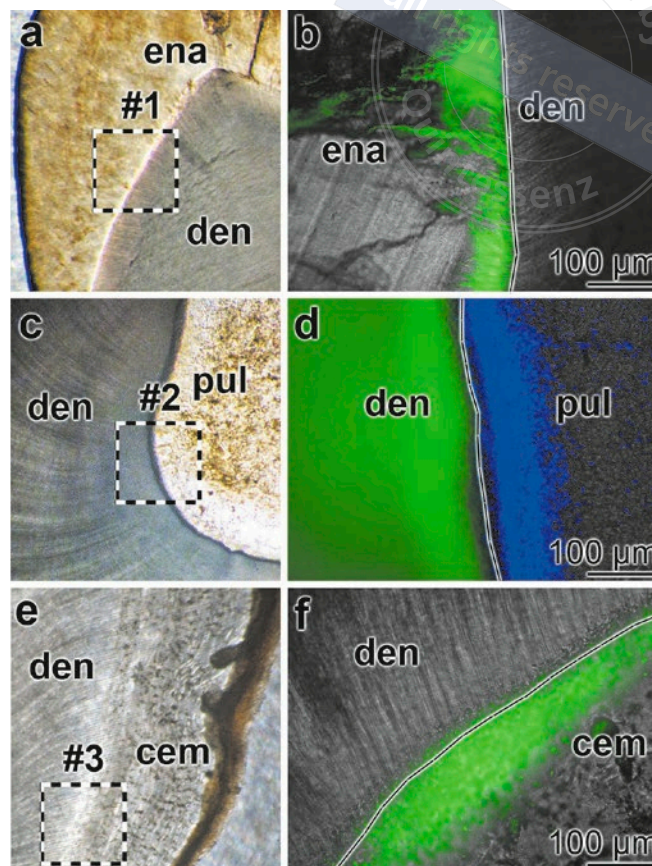


Abb. 2a bis f Immunnachweis der alkalischen Phosphatase (ALP) in verschiedenen Zahnregionen. Die lichtmikroskopischen Bilder zeigen die Längsschnitte der untersuchten Molaren mit der Region Schmelz (ena) – Dentin (den) (a), Dentin (den) – Pulpa (pul) (c) und Dentin (den) – Zement (cem) (e); die analysierten Bereiche #1, #2 und #3 sind markiert. Für die Immunfluoreszenzmikroskopie der Bereiche #1 (b), #2 (d) und #3 (f) wurden die Schnitte mit Anti-ALP-Antikörpern inkubiert (grüne Fluoreszenz) und zur Detektion der Zellkerne mit DRAQ5 gegengefärbt (blaue Fluoreszenz). Modifiziert nach Müller et al.³⁴

4.3 Anwendung als Anti-Corona-Nasen-/Mundspray und Mundspülung

Aufgrund seiner spezifischen Anti-SARS-CoV-2-Aktivität könnte PolyP zur Prävention und eventuell auch zur Therapie einer SARS-CoV-2 Infektion eingesetzt werden. PolyP besitzt zwei Wirkmechanismen. Zum einen bindet es an die Spike-Proteine des Coronavirus und hemmt dadurch die Anheftung des Virus an den Wirtszellrezeptor. Zweitens induziert PolyP die Produktion des Mukus, der vor Viren schützenden Mucin-Schleimschicht, die die Zellen der Atemwege und der Mundschleimhaut bedeckt. Dadurch werden die Viruspartikel eingeschlossen und können an den ACE2-Rezeptor der Epithelzellen nicht mehr binden.

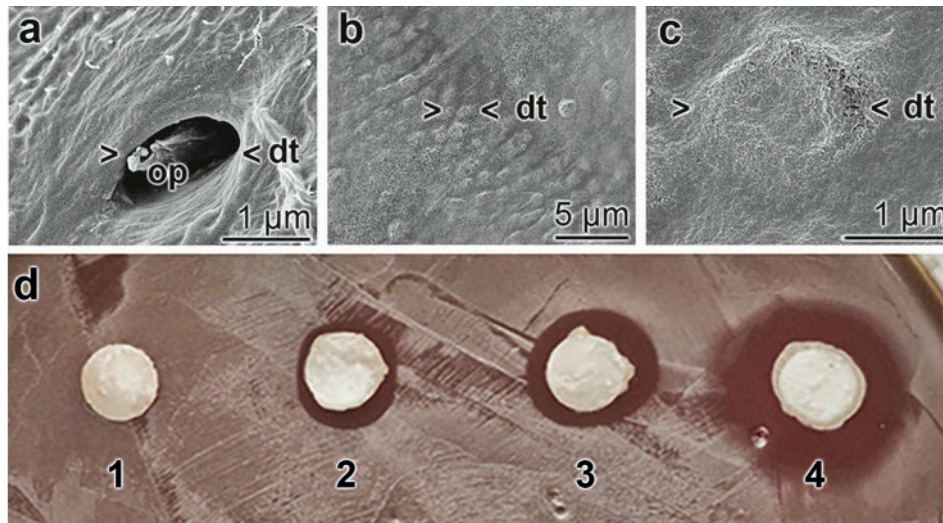


Abb. 3a bis d Versiegelung von Dentin und antibakterielle Aktivität von PolyP und PolyP-Mikropartikeln. **(a bis c)** Verschluss offener Dentintubuli (dt) nach fünftägiger Behandlung (2-mal täglich) mit einer PolyP/PolyP-Mikropartikel enthaltenden Zahnpasta; op: Odontoblasten-Prozess (Fortsatz). **(d)** Hemmung des Wachstums von *Streptococcus mutans* durch Ca-PolyP-Mikropartikel (Loch 1: 7 µg; Loch 2: 20 µg; Loch 3: 70 µg) und insbesondere lösliches Na-PolyP (Loch 4: 20 µg) im Agardiffusionstest. Modifiziert nach Müller et al.^{26,27}

4.4 Anwendung als remineralisierende Zahnpasta

Aufbauend auf diesen Ergebnissen konnte die Grundlage für eine neuartige Zahnpasta gelegt werden.²⁷ Der Zusatz von PolyP erlaubt es, Zahnpasten mit einer vorher nicht möglichen Dreifachwirkung auszustatten:

- regenerative Aktivität und Remineralisierung aufgrund der morphogenetischen Wirkung des PolyP (Enzyminduktion und Enzymstimulierung) und der Überführung der in den energiereichen Bindungen des PolyP gespeicherten Energie in ATP mittels der beiden Enzyme ALP und ADK (Lieferung der zur Regeneration benötigten Energie)
- effiziente Versiegelung von Rissen/Fissuren in Zahnschmelz und Dentin und damit Verhinderung von Zahnhypersensibilität
- spezifische Hemmung des kariogenen Bakteriums *S. mutans* (Kariesprophylaxe)

Darüber hinaus bietet eine derartige PolyP enthaltende Zahnpasta einen Schutz vor Infektion mit dem Coronavirus SARS-CoV-2.

4.4.1 Versiegelung von Fissuren/Grübchen und offenen Dentintubuli

PolyP bindet fest an die Zahnoberfläche und versiegelt die Zähne unter Ausbildung einer glatten Koazervatschicht. In Form von Calcium-PolyP-Mikropartikeln, etwa als Bestandteil einer Zahnpasta, führt PolyP zu einem Verschluss von Rissen/Fissuren im Zahnschmelz und Dentin sowie von offenliegenden Dentintubuli (Verhinderung der Dentinhypersensibilität) (Abb. 3a bis c).²⁵ Darüber hinaus können PolyP und amorphe

Ca-PolyP-Mikropartikel mit weiteren Komponenten kombiniert werden, die die morphogenetische Aktivität von Polymeren erhöhen, wie Retinylacetat.²⁶ So können PolyP-Mikropartikel durch Ausfällung von löslichem Na-PolyP mit Calciumchlorid zusammen mit Retinylacetat hergestellt werden. Retinol, das aus Retinylacetat (Speicherform) freigesetzt wird, wirkt synergistisch mit PolyP.²³ Die mit Retinylacetat angereicherten Ca-PolyP-Mikropartikel zeigen nach Einbau in eine Zahnpasta eine verstärkte stimulierende Wirkung auf das Wachstum humaner mesenchymaler Stammzellen (MSC).²⁶ Beobachtet wird eine Hochregulation der Expression von Kollagen Typ I und der ALP, beides Markergene für die Osteoblasten- und Odontoblastendifferenzierung.²⁶ Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen zeigten, dass die mit Retinylacetat angereicherten amorphen Ca-PolyP-Mikropartikel in der Zahnpasta bereits nach wenigen Tagen zu einer effizienten Reparatur der Risse/Fissuren im Zahnschmelz sowie zu einem wirksamen Verschluss der Dentintubuli führen (Abb. 3a bis c). Die Versiegelung blieb stabil auch bei starker Ultraschallbehandlung.²⁶ Während die PolyP-Mikropartikel vor allem zur Induktion der Mineralisation und Versiegelung von Dentinschäden führen, wird durch Retinylacetat die Kollagen-Genexpression in Zellen des umgebenden Parodontiums stimuliert.

Eine schematische Darstellung des Wirkmechanismus der Zahnpasta zeigt Abb. 4a.²⁶ Nach Verschmelzen der PolyP-Mikropartikel und gefördert durch einen Übergang in die biologisch aktive PolyP-Koazervatphase in Gegenwart von Protein an der Zahnoberfläche kommt es zur Induktion der Mineralisation vermittelt durch das Enzym ALP. Zurückzuführen ist dies auf die morphogenetischen Eigenschaften von PolyP gegenüber im Dentin befindlichen Zellen, verursacht durch Induktion der Expression der ALP und von BMP-2 und eventuell weiterer Proteine, die an der Bildung des Dentins beteiligt sind.^{3,5}

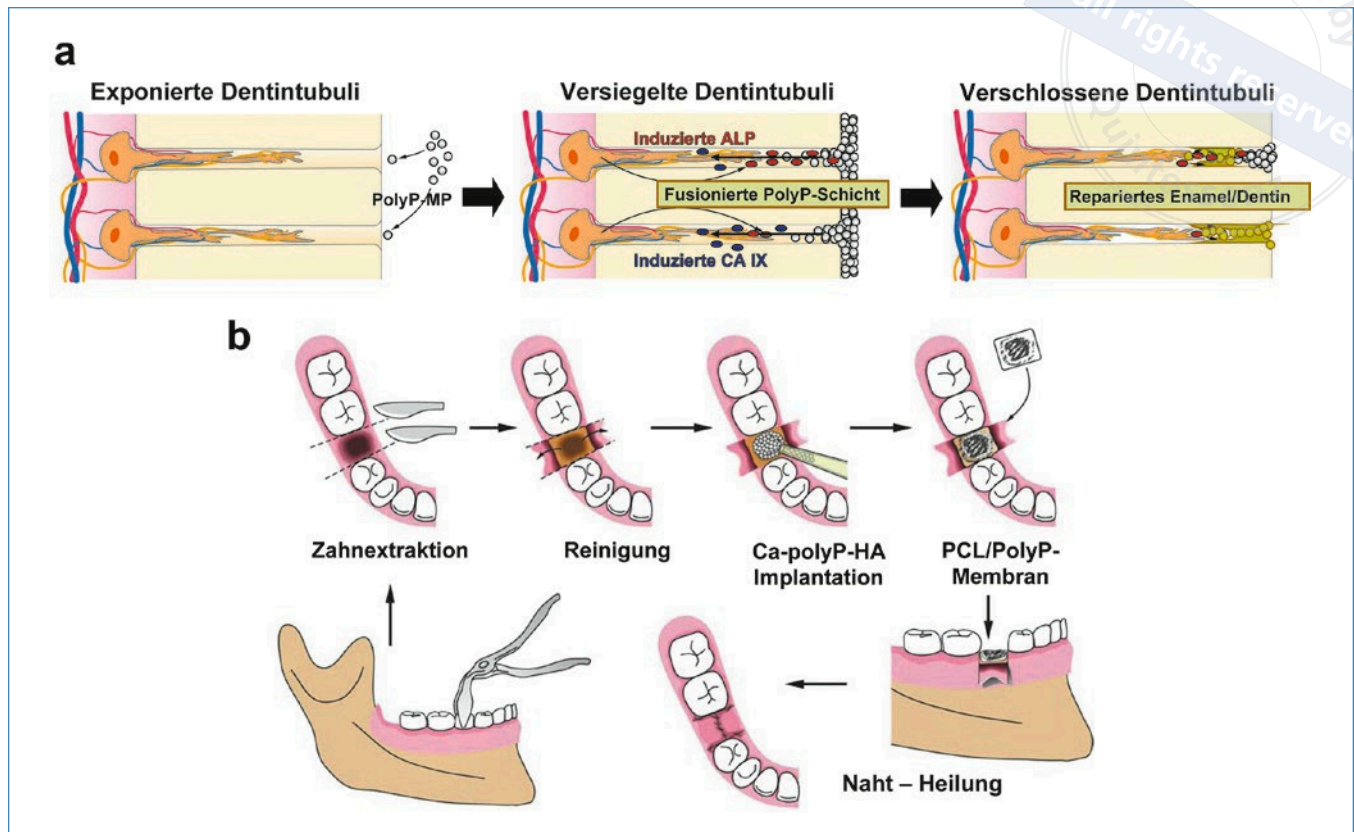


Abb. 4a und b Anwendung von PolyP zur Versiegelung von Dentin und zum Knochenaufbau. **(a)** Verschluss offener Dentintubuli durch PolyP-Mikropartikel. Nach der Adsorption der Mikropartikel an die Hydroxylapatitoberfläche und der Bildung eines regenerativ aktiven PolyP-Koazervats in Gegenwart von Protein an der Zahnoberfläche sowie der Freisetzung von monomerem Phosphat mittels der durch ALP vermittelten Hydrolyse des PolyP sowie einer Carboanhydrase (CA IX) kommt es zu einem Verschluss der Dentintubuli durch neugebildetes Enamel/Dentin; modifiziert nach Müller et al.²⁶ **(b)** Anwendung zum Knochenaufbau vor einer Zahnimplantation. Nach der Zahnextraktion wird der entstandene Defekt mit dem porösen, partikuläres PolyP enthaltenden Knochenaufbaumaterial gefüllt, z. B. mit durch Kryogelierung hergestellten Partikeln auf PolyP/Kollagen-Basis, um eine beschleunigte Knochenneubildung (und auch Wundheilung) zu bewirken. Das Füllmaterial (mit oder ohne Hydroxylapatit, HA) wird mit einer mit PolyP/Kollagen beschichteten PCL-Matten bedeckt, die als regenerative aktive Barriere fungiert, und die Wunde mit einer Naht geschlossen. Nach der Heilung erfolgt die Implantation. Modifiziert nach Wang et al.⁵⁰

4.4.2 Antibakterielle Aktivität

PolyP erwies sich als hochwirksam antibakteriell aktiv gegen das kariogene Bakterium *S. mutans*, zeigt jedoch keinen signifikanten hemmenden Effekt auf nichtkariogene, potenziell „nützliche“ Bakterien. Damit unterscheidet sich PolyP von Triclosan, einem Breitbandantibiotikum, das teils in anderen Zahnpasten enthalten ist. Triclosan hemmt *S. mutans*, wenn überhaupt, nur wenig²⁶, andere Bakterien, z. B. *Staphylococcus aureus*⁴⁵, dagegen stark, vermutlich über die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies.⁴¹ Darüber hinaus wirkt Triclosan als endokriner Disruptor, der den Hormonhaushalt negativ beeinflusst und im Verdacht steht, zu einer Abnahme der Fertilität zu führen und möglicherweise karzinogen zu wirken.⁵² Unter den verschiedenen PolyP-Formulierungen zeigte das lösliche PolyP (Natriumsalz des PolyP) gegen *S. mutans* die stärkste antibakterielle Aktivität.²⁷ Ca-PolyP-Mikropartikel als Bestandteil einer Zahnpasta waren etwas weniger wirksam (Abb. 3d), führten

jedoch ebenfalls zu einer signifikanten Reduktion der Biofilmbildung. Auch für Zink-PolyP-Mikropartikel wurde eine deutliche Hemmung des Wachstums von *S. mutans* gefunden.²⁶ Im Unterschied zu grampositiven Bakterien sind gramnegative Bakterien generell resistenter gegen PolyP.^{19, 39} Allerdings ist PolyP dank seiner Fähigkeit zur Koazervatbildung in der Lage, durch Umhüllung/Einschließen von Bakterienzellen ebenfalls einen Schutz vor gramnegativen Bakterien zu bewirken.

4.5 Anwendung zum Knochenaufbau bei Zahnimplantaten

PolyP und Ca-PolyP-Mikropartikel, kombiniert mit weiteren Materialien, haben auch das Potenzial, zukünftig als innovative Materialien für den Knochenaufbau (Sinuslift) vor Zahnimplantationen zu dienen. Auch als Komponente für Barrieremembranen für die Oral- und Parodontalchirurgie ist PolyP von Interesse. Mit derartigen künstlichen Membranen, die zur Trennung von schnell proliferierenden und langsam wachsenden

Gewebe wie Epithelien bzw. Knochen verwendet werden,² ist es möglich, das Periost zu ersetzen, das die Knochen bedeckt und die Proliferation und Differenzierung der benachbarten knochenbildenden Zellen reguliert.⁸ Unter Anwendung der Electrospinning-Technik gelang es, eine neuartige funktionell aktive Barrieremembran aus einem elektrogesponnenen, Kollagen und morphogenetisch aktives PolyP enthaltenen Polycaprolacton(PCL)-Netzwerk zu entwickeln.⁵⁰ In Gegenwart von Calciumionen kommt es dabei zu einer *In-situ*-Bildung von PolyP-Nanopartikeln, die die Kollagenfasern bedecken. Es zeigte sich, dass die das Ca-PolyP/Kollagenmaterial enthaltenden Membranen die Anheftung und Vitalität humaner mesenchymaler Stammzellen im Vergleich zu unbeschichteten Membranen deutlich verstärken.⁵⁰ PolyP, eingebaut in eine Kollagenmatrix, könnte somit ein vielversprechendes Material für die Geweberegeneration zum Knochenaufbau in der Zahnmedizin sein (Abb. 4b). Kürzlich konnte in einer Pilotstudie PolyP auch mit gutem Ergebnis zur Reparatur bei Patienten mit Lippen-Kiefer-Gaumenspalten eingesetzt werden.¹ Weiterhin konnte gezeigt werden, dass der Zusatz von PolyP, entweder als lösliches Na-PolyP oder als Ca-PolyP-Partikel, die mechanischen Eigenschaften von Biodentine, einem Zement auf Calciumsilikatbasis⁴⁷, verbessert.⁴⁶ Biodentine wird in Gegenwart einer calciumchloridhaltigen Flüssigkeit ausgehärtet.¹⁷ Die Verbesserung der mechanischen Eigenschaften wurde auf eine „Verschmelzung“ des Calciumsilikatmaterials mit dem polymeren PolyP zurückgeführt.⁴⁶

5. SICHERHEITSBEWERTUNG

PolyP ist ein nichttoxisches Polymer⁴⁰ und ein weitverbreiteter Lebensmittelzusatzstoff. Die EU erlaubt die Zugabe von PolyP zu Lebensmitteln gemäß der Verordnung (EG) Nr. 1333/2008 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. Dezember 2008 über Lebensmittelzusatzstoffe unter den E-Nummern E452i (Na-PolyP), E452ii (K-PolyP), E452iii (Na/Ca-PolyP) und E452iv (Ca-PolyP). Die maximal tolerierbare tägliche Aufnahme (MTDI) von PolyP liegt bei 70 mg/kg Körpergewicht.¹³ Die LD₅₀-Werte für Na-PolyP liegen bei >10.000 mg/kg (Ratten)⁵¹ bzw. 3.700 mg/kg (Mäuse).¹² Na-PolyP zeigt keine Karzinogenität, Reproduktions- oder Entwicklungstoxizität bei Ratten und keine Genotoxizität im Ames-Test in allen *Salmonella-typhimurium*-Stämmen (TA1535, TA1537 und TA1538) sowohl mit als auch ohne metabolische Aktivierung und wirkt nicht allergen.^{7,9,15}

6. FAZIT

Zusammenfassend kann festgestellt werden:

- PolyP ist ein physiologisches anorganisches Polymer, das metabolische Energie für Wachstum, Funktion und Regeneration von Gewebefekten sowie die Pathogenabwehr liefert; kein anderes Molekül speichert so viel Energie wie PolyP.

- Es besitzt darüber hinaus morphogenetische Aktivität, d. h., es induziert die Bildung von Proteinen, die für die Geweberegeneration benötigt werden.
- In Form von stabilen amorphen PolyP-Partikeln, die das natürliche PolyP nachahmen, wird es am Ort der Verletzung aktiviert, z. B. durch Wundsekret.
- Darüber hinaus stimulieren PolyP-Mikropartikel das Wachstum und die Differenzierung von Vorläufer-Odontoblasten.
- Es kann beim 3D-Druck angewandt werden – sogar beim 3D-Druck lebender Zellen.
- Mikropartikel aus amorphem Ca-PolyP binden fest an Zahnschmelz, Zement und Dentin.
- Damit werden Risse/Fissuren im Zahnschmelz und Dentin sowie offene Dentinkanälchen versiegelt.
- Amorphe PolyP-Mikropartikel weisen eine starke antibakterielle Aktivität auf – spezifisch gegen das kariogene Bakterium *S. mutans*.
- PolyP besitzt eine spezifische antivirale Aktivität gegen SARS CoV-2.
- Es ist ein kostengünstiges Material – PolyP-Partikel sind billig herzustellen.
- PolyP ist nicht toxisch, nicht mutagen und löst keine Allergie aus.

INTERESSENKONFLIKT

Die Autoren erklären, dass kein Interessenkonflikt im Sinne der Richtlinien des International Committee of Medical Journal Editors besteht.

LITERATUR

1. Alkaabi SA, Kalla DSN, Alsabri GA, Fauzi A et al.: Safety and feasibility study of using polyphosphate (PolyP) in alveolar cleft repair: a pilot study. *Pilot Feasibility Stud* 2021; 7: 199
2. Ashley FL, Stone RS, Lonsoartieda M, Syverud JM et al.: Experimental and clinical studies on the application of monomolecular cellulose filter tubes to create artificial tendon sheaths in digits. *Plast Reconstr Surg Transplant Bull* 1959; 23: 526–534
3. Beertsen W, Van den Bos T: Alkaline phosphatase induces the deposition of calcified layers in relation to dentin: an in vitro study to mimic the formation of afibrillar acellular cementum. *J Dent Res* 1991; 70: 176–181
4. Betts AS: Synthetic amorphous calcium phosphate and its relation to bone mineral structure. *Acc Chem Res* 1975; 8: 273–281
5. Casagrande L, Demarco FF, Zhang Z, Araujo FB et al.: Dentin-derived BMP-2 and odontoblast differentiation. *J Dent Res* 2010; 89: 603–608
6. Eanes ED, Gillissen IH, Posner AS: Intermediate states in the precipitation of hydroxyapatite. *Nature* 1965; 208: 365–367
7. EFSA Panel on Food Additives and Flavourings (FAF), Younes M, Aquilina G, Castle L et al.: Re-evaluation of phosphoric acid – phosphates – di-, tri- and polyphosphates (E 338–341, E 343, E 450–452) as food additives and the safety of proposed extension of use. *EFSA J* 2019; 17: 5674
8. Foolen J, van Donkelaar C, Nowlan N, Murphy P et al.: Collagen orientation in periosteum and perichondrium is aligned with preferential directions of tissue growth. *J Orthop Res* 2008; 26: 1263–1268
9. Food and Drug Administration (FDA): Evaluation of the health aspects of food ingredients. National Technical Information Service (NTIS) document number: PB-262–651. 1975
10. Hannig C, Spitzmüller B, Miller M, Hellwig E, Hannig M: Intrinsic enzymatic crosslinking and maturation of the in situ pellicle. *Arch Oral Biol* 2008; 53: 416–422

11. Huang GT: Dental pulp and dentin tissue engineering and regeneration: advancement and challenge. *Front Biosci* 2011; 3: 788–800
12. International Program on Chemical Safety (IPCS): Toxicological evaluation of certain food additives. World Health Organization (WHO) *Food Addit Ser* 1982; 17: 1–22
13. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA): Evaluation of certain food additives and contaminants (Twenty-sixth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). WHO *Tech Rep Ser* 1982; 683: 1982
14. Kornberg A: Inorganic polyphosphate: toward making a forgotten polymer unforgettable. *J Bacteriol* 1995; 177: 491–496
15. Lanigan RS: Final report on the safety assessment of sodium metaphosphate, sodium trimetaphosphate, and sodium hexametaphosphate. *Int J Toxicol* 2001; 20 Suppl 3: 75–89
16. Leyhausen G, Lorenz B, Zhu H, Geurtsen W et al.: Inorganic polyphosphate in human osteoblast-like cells. *J Bone Miner Res* 1998; 13: 803–812
17. Malkondu Ö, Karapinar Kazandag M, Kazazoglu E: A review on biodentine, a contemporary dentine replacement and repair material. *Biomed Res Int* 2014; 160951
18. Mancardi G, Hernandez Tamargo CE, Di Tommaso D, de Leeuw NH: Detection of Posner's clusters during calcium phosphate nucleation: a molecular dynamics study. *J Mater Chem* 2017; B 5: 7274–7284
19. Moon JH, Park JH, Lee JY: Antibacterial action of polyphosphate on *Porphyromonas gingivalis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 806–812
20. Moradian-Oldak, J: Protein-mediated enamel mineralization. *Front Biosci* 2012; 17: 1996–2023
21. Morrissey JH, Choi SH, Smith SA: Polyphosphate: an ancient molecule that links platelets, coagulation, and inflammation. *Blood* 2012; 119: 5972–5979
22. Müller WEG, Wang XH, Diehl-Seifert B, Kropf K et al.: Inorganic polymeric phosphate/polyphosphate as an inducer of alkaline phosphatase and a modulator of intracellular Ca²⁺ level in osteoblasts (SaOS-2 cells) in vitro. *Acta Biomater* 2011; 7: 2661–2671
23. Müller WEG, Tolba E, Schröder HC, Diehl-Seifert B, Wang XH: Retinol encapsulated into amorphous Ca²⁺ polyphosphate nanospheres acts synergistically in MC3T3-E1 cells. *Eur J Pharm Biopharm* 2015; 93: 214–223
24. Müller WEG, Tolba E, Schröder HC, Wang XH: Polyphosphate: a morphogenetically active implant material serving as metabolic fuel for bone regeneration. *Macromol Biosci* 2015; 15: 1182–1197
25. Müller WEG, Neufurth M, Tolba E, Wang SF et al.: A biomimetic approach to ameliorate dental hypersensitivity by amorphous polyphosphate micro-particles. *Dent Mater* 2016; 32: 775–783
26. Müller WEG, Ackermann M, Neufurth M, Tolba E et al.: A novel biomimetic approach to repair enamel cracks/carious damages and to reseal dentinal tubules by amorphous polyphosphate. *Polymers* 2017; 9: 120
27. Müller WEG, Neufurth M, Ackermann M, Tolba E et al.: Bifunctional dentifrice: amorphous polyphosphate a regeneratively active sealant with potent anti-*Streptococcus mutans* activity. *Dent Mater* 2017; 33: 753–764
28. Müller WEG, Wang SF, Neufurth M, Kokkinopoulou M et al.: Polyphosphate as a donor of high-energy phosphate for the synthesis of ADP and ATP. *J Cell Sci* 2017; 130: 2747–2756
29. Müller WEG, Schröder HC, Wang XH: Inorganic polyphosphates as storage for and generator of metabolic energy in the extracellular matrix. *Chem Rev* 2019; 119: 12337–12374
30. Müller WEG, Ackermann M, Al-Nawas B, Righesso LAR et al.: Amplified morphogenetic and bone forming activity of amorphous versus crystalline calcium phosphate/polyphosphate. *Acta Biomater* 2020; 118: 233–247
31. Müller WEG, Neufurth M, Schepler H, Wang SF et al.: The biomaterial polyphosphate blocks stoichiometric binding of the SARS-CoV-2 S-protein to the cellular ACE2 receptor. *Biomater Sci* 2020; 8: 6603–6610
32. Müller WEG, Schröder HC, Neufurth M, Wang XH: An unexpected biomaterial against SARS-CoV-2: bio-polyphosphate blocks binding of the viral spike to the cell receptor. *Mater Today* 2021; 51: 504–524
33. Müller WEG, Neufurth M, Lieberwirth I, Wang SF et al.: Functional importance of coacervation to convert calcium polyphosphate nanoparticles into the physiologically active state. *Mater Today* 2022; 16: 100404
34. Müller WEG, Neufurth M, Ushijima H, Muñoz-Espí R et al.: Molecular and biochemical approach for understanding the transition of amorphous to crystalline calcium phosphate deposits in human teeth. *Dent Mater* 2022; 38: 2014–2029
35. Müller WEG, Schepler H, Neufurth M, Wang SF et al.: The physiological polyphosphate as a healing biomaterial for chronic wounds: crucial roles of its antibacterial and unique metabolic energy supplying properties. *J Mater Sci Technol* 2023; 135: 170–185
36. Müller WEG, Neufurth M, Wang SF, Schröder HC, Wang XH: Polyphosphate nanoparticles: balancing energy requirements in tissue regeneration processes. *Small* 2024; 12: e2309528
37. Neufurth M, Wang XH, Tolba E, Lieberwirth I et al.: The inorganic polymer, polyphosphate, blocks binding of SARS-CoV-2 spike protein to ACE2 receptor at physiological concentrations. *Biochem Pharmacol* 2020; 182: 114215
38. Neufurth M, Wang S, Schröder HC, Al-Nawas B et al.: 3D bioprinting of tissue units with mesenchymal stem cells, retaining their proliferative and differentiating potential, in polyphosphate-containing bio-ink. *Biofabrication* 2021; 14. doi: 10.1088/1758–5090/ac3f29
39. Obritsch JA, Ryu D, Lampila LE, Bullerman LB: Antibacterial effects of long-chain polyphosphates on selected spoilage and pathogenic bacteria. *J Food Prot* 2008; 71: 1401–1405
40. Omoto M, Imai T, Seki K, Nomura R, Otahara Y: The effect on the bones of condensed phosphate when used as food additives: its importance in relation to preventive medicine. *Environ Health Prev Med* 1997; 2: 105–116
41. Park BK, Gonzales EL, Yang SM, Bang M et al.: Effects of triclosan on neural stem cell viability and survival. *Biomol Ther (Seoul)* 2016; 24: 99–107
42. Schepler H, Neufurth M, Wang SF, She Z et al.: Acceleration of chronic wound healing by bio-inorganic polyphosphate: in vitro studies and first clinical applications. *Theranostics*. 2022 Jan 1; 12(1): 18–34
43. Schertl P, Volk J, Perduns R, Adam K et al.: Impaired angiogenic differentiation of dental pulp stem cells during exposure to the resinous monomer triethylene glycol dimethacrylate. *Dent Mater* 2019; 35: 144–155
44. Schröder HC, Neufurth M, Zhou H, Wang SH et al.: Inorganic polyphosphate: Coacervate formation and functional significance in nanomedical applications. *Int J Nanomedicine* 2022; 17: 5825–5850
45. Suller MT, Russell AD: Triclosan and antibiotic resistance in *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46: 11–18
46. Tolba E, Wang XH, Wang SF, Neufurth M et al.: Amorphous polyphosphate and Ca-carbonate nanoparticles improve the self-healing properties of both technical and medical cements. *Biotechnol J* 2020; 15: e2000101
47. Tran XV, Gorin C, Willig C, Baroukh B et al.: Effect of a calcium-silicate-based restorative cement on pulp repair. *J Dent Res* 2012; 91: 1166–1171
48. Volk J, Leyhausen G, Geurtsen W: Glutathione level and genotoxicity in human oral keratinocytes exposed to TEGDMA. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2012; 100: 391–399
49. Wang XH, Schröder HC, Müller WEG: Polyphosphate as a metabolic fuel in Metazoa: A foundational breakthrough invention for biomedical applications. *Biotechnol J* 2016; 11: 11–30
50. Wang XH, Ackermann M, Neufurth M, Wang SF et al.: Morphogenetically-active barrier membrane for guided bone regeneration, based on amorphous polyphosphate. *Mar Drugs* 2017; 15: 142
51. Weiner ML, Salminen WF, Larson PR, Barter RA et al.: Toxicological review of inorganic phosphates. *Food Chem Toxicol* 2001; 39: 759–786
52. Yueh MF, Tukey RH: Triclosan: A widespread environmental toxicant with many biological effects. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2016; 56: 251–272

Polyphosphate, the first bioenergy-delivering material for dental applications — an outlook

Keywords: caries, dentinal tubules, energy supply, erosion, morphogenetic activity, polyphosphate, restoration, tooth hard tissue loss

Abstract: Polyphosphate (PolyP) is a natural polymer that also occurs in human cells, especially platelets, and plays an essential role in wound healing and bone repair. PolyP consists of long chains of phosphate residues that are characterized by exceptional properties: morphogenetic activity, stimulation of new cell formation including dental mineral-producing cells, energy supply for cell growth, provision of the starting material for bone/tooth formation, antibacterial activity especially against the caries-causing bacterium *Streptococcus mutans* and antiviral activity, especially against SARS-CoV-2. PolyP has no side effects. It can also be produced synthetically in large quantities in a suitable form and is ideally suited for both bone formation/repair and evidence-based dental care.



Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder
(korrespondierender Autor)
ERC-Advanced-Investigator-Gruppe,
Institut für Physiologische Chemie,
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-
Universität Mainz



Prof. Dr. Xiaohong Wang
ERC-Advanced-Investigator-Gruppe,
Institut für Physiologische Chemie,
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-
Universität Mainz



Dr. Meik Neufurth
ERC-Advanced-Investigator-Gruppe,
Institut für Physiologische Chemie,
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-
Universität Mainz



Univ.-Prof. Dr. Dr. h.c. Werner E. G. Müller
(korrespondierender Autor)
ERC-Advanced-Investigator-Gruppe,
Institut für Physiologische Chemie,
Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-
Universität Mainz

Kontakt: Prof. Dr. Dr. Heinz C. Schröder/Prof. Dr. Dr. h.c. Werner E. G. Müller, ERC-Advanced-Investigator-Gruppe, Institut für Physiologische Chemie, Universitätsmedizin der Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Duesbergweg 6, 55128 Mainz; hschroed@uni-mainz.de/wmueller@uni-mainz.de

Abb. 1: H.C. Schröder, W.E.G. Müller

Abb. 2: Entnommen aus Müller et al., *Dent Mater* 38: 2014–2029; Copyright 2022, Elsevier; Originalabbildung modifiziert in Übereinstimmung mit der Lizenzvereinbarung; lediglich die Einzelbilder mit den Ergebnissen für die ALP werden gezeigt.

Abb. 3: Entnommen aus Müller et al., *Polymers* 9: 120; Copyright 2017, Autoren und MDPI Basel, Creative Commons Attribution(CC BY)-Lizenz; und Müller et al., *Dent Mater* 33: 753–764; Copyright 2017, Elsevier; Originalabbildung modifiziert durch Beschränkung der Anzahl an Einzelbildern (Abb. 3a–c) bzw. minimal modifiziert entsprechend der Lizenzvereinbarung durch Nummerierung der Auftragspunkte im Disc Agar Diffusion Assay (Abb. 3d)

Abb. 4: Entnommen aus Müller et al., *Polymers* 9: 120; Copyright 2017, Autoren und MDPI Basel, Creative Commons Attribution(CC BY)-Lizenz; und Wang et al., *Mar Drugs* 15: 142; Copyright 2017, Autoren und MDPI Basel, Creative Commons Attribution(CC BY)-Lizenz. Originalbilder von Abb. 4a und Abb. 4b modifiziert durch Änderung der Beschriftung in Deutsch

Porträtfoto H. C. Schröder: H. C. Schröder
Porträtfoto W. E. G. Müller: W. E. G. Müller
Porträtfoto X. H. Wang: X. H. Wang
Porträtfoto M. Neufurth: M. Neufurth