

In-vivo-Reparatur von Blutgefäßen durch alternierende Adsorption von Polyelektrolyten

Thomas Groth* und Andreas Lendlein

Stichwörter:

Layer-by-Layer-Technik · Medizinische Chemie · Nanoschichten · Polyelektrolyte

Grundlagen

Polyelektrolyte sind Makromoleküle, die in einem polaren Lösungsmittel, in erster Linie Wasser, eine große Zahl von geladenen Gruppen aufweisen.^[1] Gewöhnlich sind es schwache Polysäuren oder -basen. Beim Auflösen in Wasser dissoziieren Polyelektrolyte in ein Makromolekül-Ion und Gegenionen, wobei die Nettoladung eines Segments durch den pH-Wert der Lösung bestimmt wird.^[2] Treibende Kraft für das Verhalten von Polyelektrolyten in Lösung und an Grenzflächen ist die elektrostatische Wechselwirkung. Eine charakteristische Eigenschaft ist die starke Ausdehnung oder Streckung der geladenen Polyelektrolytkette durch die starke elektrostatische Abstoßung zwischen den gleichartig geladenen Segmenten des Moleküls.^[3]

Die Layer-by-Layer-Technik, entwickelt durch Decher,^[4] nutzt die attraktiven elektrostatischen Kräfte zwischen einer geladenen Oberfläche und einem gegensätzlich geladenen Polyelektrolyten.^[5] Um damit ein System mit vielen Schichten aufbauen zu können, muss sich die Ladung des Polyelektrolyten von Schicht zu Schicht abwechseln (Abbildung 1). Der zu adsorbierende Polyelektrolyt muss zum einen eine hinreichende Zahl an Bindungsstellen für die zuvor adsorbierte Polyelektrolytschicht enthalten, und zum anderen noch genügend Bindungen für

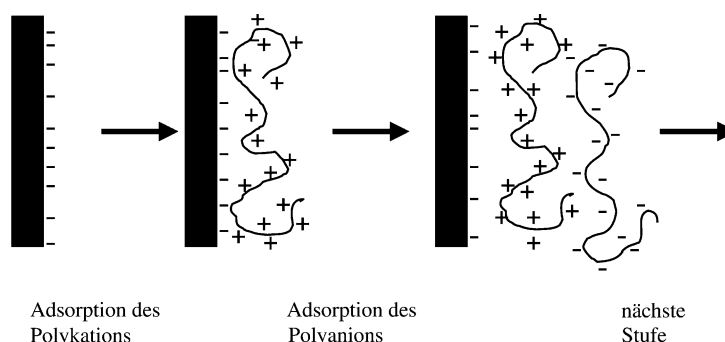


Abbildung 1. Alternierende Adsorption von Polyelektrolyten zum Aufbau von Multischichten (Layer-by-Layer-Technik).

den nachfolgend zu adsorbierenden Polyelektrolyten aufweisen.^[5]

Die elektrostatische Wechselwirkung ist die wichtigste Kraftkomponente beim Adsorptionsprozess. Darüber hinaus sind die Van-der-Waals-Wechselwirkung und Entropieeffekte für die Stabilität des Systems von Bedeutung.^[2] Die Layer-by-Layer-Technik wurde als eine vielseitige Methode zur Beschichtung und Modifikation von Oberflächen entwickelt. Sie wurde bereits zur Funktionalisierung von Oberflächen mit Proteinen und Nucleinsäuren eingesetzt und kann für die Sensortechnologie, den Transfer von Genen und andere biotechnologische Anwendungen genutzt werden.^[4]

Klinischer Hintergrund

Die Arteriosklerose ist eine der Hauptdiesursachen in den westlichen Ländern. Zur Aufweitung verengter Blutgefäße und Verbesserung der Blutzufuhr wird die Ballondilatation (z.B. perkutane transluminale Koronarangio-

plastie (PTCA)) eingesetzt. Die PTCA ist eine Alternative zur Bypass-Chirurgie und hat als minimal-invasive Therapie den Vorteil, weniger schmerzhaft und risikoloser zu sein.^[6] Daneben kann die Anwendung der PTCA die Dauer des Klinikaufenthaltes verkürzen, was die Behandlungskosten verringert.

Als Komplikation nach Durchführung der Angioplastie kann eine erneute Verengung der Blutgefäße (Restenose) auftreten. Eine Restenose ist Folge einer Reihe von Prozessen, wie eines Kollapses des aufgeweiteten Blutgefäßes, eines unvorteilhaften Umbaus der Gefäßwand und einer neointimalen Hyperplasie.^[7] Ein Kollaps des Blutgefäßes kann durch den Einbau von Stents verhindert werden.^[8] Stents sind tubuläre Platzhalter aus Metall, die während der Ballondilatation zur Stützung der Gefäßwand eingesetzt werden. Ein Umbau der Gefäßwand und eine neointimale Hyperplasie werden wahrscheinlich durch Verletzungen ausgelöst, die beim Aufweiten des Blutgefäßes auftreten. Solche Schädigungen entstehen aus der Abtragung der schützenden Endothel-

[*] Dr. T. Groth, Prof. Dr. A. Lendlein
GKSS Forschungszentrum
Institut für Chemie
Kantstraße 55, 14513 Teltow (Deutschland)
Fax: (+49) 3328-352-452
E-mail: Thomas.Groth@gkss.de

zellschicht auf der Gefäßinnenseite und einem teilweisen Einreißen der Arterienwand, wodurch es zu einer Aktivierung von Blutgerinnung und Blutzellen kommt. Dies kann die Bildung eines Thrombus auf der Gefäßwand zur Folge haben, was zu einem plötzlichen Verschluss des Blutgefäßes oder zu einer Embolie führen kann. Eine Langzeitfolge ist die neointimale Hyperplasie, die insbesondere durch ein überschießendes Wachstum glatter Muskelzellen verursacht wird. Dabei kommt es erneut zu einer Einengung oder dem Verschluss des Blutgefäßes.^[9]

Abbildung 2 zeigt schematisch die Struktur eines arteriellen Blutgefäßes, Abbildung 3 den Prozess der Restenose infolge neointimaler Hyperplasie. Eine systemische oder lokale Applikation von Wirkstoffen wie Heparin wurde angewendet, um die Aktivierung der Blutgerinnung auf Stents und dem verletzten Blutgefäß, aber auch das Wachs-

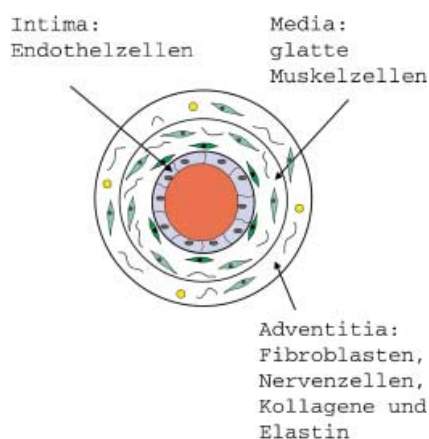


Abbildung 2. Querschnitt durch eine Arterie.

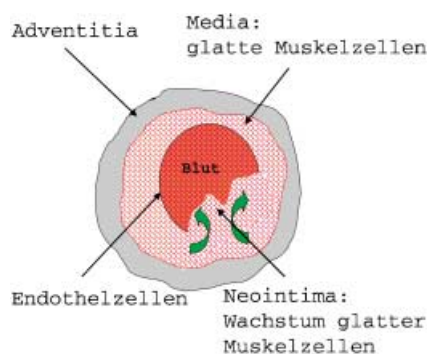


Abbildung 3. Restenose einer Arterie durch Bildung einer Neointima, verursacht durch ein überschießendes Wachstum glatter Muskelzellen.

tum glatter Muskelzellen zu verhindern.^[10] Während eine Blutgerinnung mit dieser Behandlung erfolgreich gestoppt werden kann, kommt es bei 15 bis 30 % aller Patienten infolge neointimaler Hyperplasie zu einer Restenose.^[11]

Ansätze zur Reparatur von Arterien

Aus den oben genannten Gründen ist es wünschenswert, die Blutgerinnung und ein starkes Wachstum glatter Muskelzellen zu verhindern sowie die Neubesiedelung des betroffenen Gefäßabschnittes mit Endothelzellen zu fördern. Unterschiedliche Strategien, z.B. mit Wirkstoffen modifizierte Stents, wurden entwickelt, um das exzessive Wachstum glatter Muskelzellen zu verhindern.^[12] Außerdem wurde eine Reihe von Techniken eingeführt, die darauf abzielen, die normale Architektur der Gefäßwand nach Anwendung einer Ballondilatation wiederherzustellen. Derartige Ansätze basieren auf der In-situ-Polymerisation abbaubarer Hydrogele aus Makromeren zur Beschichtung der inneren Oberfläche des Blutgefäßes. Solche Hydrogele können die Blutgerinnung und die Adhäsion von Blutplättchen hemmen und das Wachstum glatter Muskelzellen reduzieren.^[13,14]

Um eine Photopolymerisation zu ermöglichen, wurden Makromere aus Polyethylenglycol und Milchsäure mit Diacrylaten terminiert.^[13] In Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass eine dünne Hydrogelschicht, die durch In-situ-Photopolymerisation erhalten wurde, die Thrombose und Verdickung der Wand des beschädigten Blutgefäßes verhindern kann. Solche Hydrogele können auch als Depot zur lokalen Freisetzung von Wirkstoffen genutzt werden.

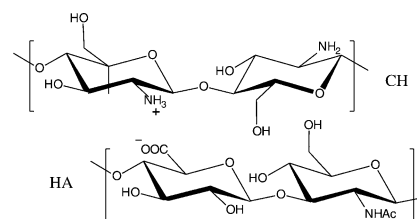
Weitere photopolymerisierbare Hydrogele basieren auf Acrylesterderivaten der Hyaluronsäure (HA).^[15] HA ist bioabbaubar, nicht-thrombogen, verhindert die Adhäsion von Blutzellen und hemmt das Wachstum glatter Muskelzellen. Vernetzte Hyaluronsäure wurde für die Beschichtung von Koronarstents verwendet und verminderte die neointimale Hyperplasie im Tiermodell.^[11]

Eine In-situ-Polymerisation in Blutgefäßen ist zwar prinzipiell durchführ-

bar, erfordert jedoch die Anwendung von UV-Licht und einem Photoinitiator, wodurch die Zellen der Gefäßwand geschädigt werden können. Denkbar ist auch, dass bei einer unvollständigen Umsetzung der Acrylate und der Entstehung von Abbauprodukten, z.B. Oligoacrylaten, ein toxischer Effekt auf die umgebenden Zellen ausgeübt wird. Deshalb wäre es vorteilhaft, wenn die Methoden zur In-situ-Reparatur von Blutgefäßen weiter vereinfacht würden und vor allem ohne Polymerisationsprozess auskämen.

Jüngste Entwicklungen

Thierry et al.^[16] beschrieben eine vielversprechende Layer-by-Layer-Methode zur Nanobeschichtung von Arterien unter Verwendung biogener Polyelektrolyte, nämlich des kationischen Polysaccharids Chitosan (CH) und der anionischen Hyaluronsäure. Da die Arterienwand aus dem Polyanion Kollagen besteht, resultiert eine alternierende



Multibeschichtung mit CH und HA, wobei das jeweilige Polyelektrolyt sehr rasch innerhalb weniger Sekunden adsorbiert. Die Multischichten wurden auf Kollagen-beschichtetem Glas oder Schweinearterien (Endothelzellen wurden zuvor entfernt) hergestellt. Ihre Stabilität in Pufferlösungen war bemerkenswert, was auf eine hinreichende Stabilität unter physiologischen Bedingungen in Gegenwart von Ionen und Blutproteinen hinweist. Die Beschichtung verringerte deutlich die Adhäsion von Thrombozyten und verbesserte damit die Blutverträglichkeit der geschädigten Arterien. In die Multischichten konnten Wirkstoffe eingebaut werden, die die Aktivierung von Blutplättchen und ein exzessives Wachstum von glatten Muskelzellen verhindern. Weitere biogene Polyelektrolyte für ähnliche

Anwendungen wären Alginat, Kollagen, Glycosaminoglycane wie Heparin, Fucoidane, Poly(L-lysin), aber auch synthetische Polyelektrolyte wie Polyethylimin kommen infrage.

Die herausragenden Vorteile der Layer-by-Layer-Technik sind: 1) die Einfachheit der Prozedur, die ohne Initiator oder Energiezufuhr auskommt, 2) die Anwendung wasserlöslicher, biokompatibler Polyelektrolyte und 3) die Geschwindigkeit der Adsorption. Es ist außerdem möglich, eine Vielzahl von unterschiedlichen Molekülen wie bioaktive Wirkstoffe, Proteine (z.B. Wachstums- und Adhäsionsfaktoren) oder Nucleinsäuren einzubauen. Mithilfe dieser Zusätze lassen sich die Wechselwirkung mit Blut und die Reparatur des Blutgefäßes in der gewünschten Weise beeinflussen. Beispielsweise hemmt Heparin die Blutgerinnung und das Wachstum glatter Muskelzellen, während es das Wachstum von Endothelzellen fördert.

Die Layer-by-Layer-Technik könnte damit zu einer interessanten Alternative zu bislang favorisierten Reparaturtechniken werden. Vor einer klinischen Anwendung sind jedoch noch einige Probleme zu lösen: So ist es notwendig, das Blut – eine Mischung aus Ionen und Polyelektrolyten (Proteinen) – aus dem betroffenen Gefäßabschnitt zu entfernen und das Gefäßlumen zur Entfernung des jeweils zuvor eingesetzten Polyelektrolyten zu spülen. Dies erfordert eine zeitweise Unterbrechung des Blutflusses, was ausschließlich in peripheren Regionen des Körpers ohne hohen Sauerstoffbedarf möglich ist. Andernfalls muss der betreffende Gefäßab-

schnitt durch eine Anastomose überbrückt werden, um eine ausreichende Sauerstoffversorgung des Gewebes zu gewährleisten.

Trotz dieser Einschränkungen kann man davon ausgehen, dass die Layer-by-Layer-Technik ein großes Potenzial für die klinische Anwendung zur Reparatur beschädigter Blutgefäße hat. Des Weiteren kann sie dazu eingesetzt werden, biokompatible Beschichtungen auf Implantaten herzustellen. So wurde die Layer-by-Layer-Technik genutzt, um die Biokompatibilität von Silicon so zu verbessern, dass Nervenzellen darauf wachsen konnten.^[17] Auch wurden auf diese Weise blutverträgliche Beschichtungen auf biomedizinischem rostfreiem Stahl hergestellt.^[18]

Ausblick

Die Layer-by-Layer-Technik ist ein vielversprechendes, robustes und einfaches Verfahren zur Modifikation von Oberflächen von Objekten unterschiedlichster Geometrie für spezifische Applikationen.^[4] Es ist zu erwarten, dass die Layer-by-Layer-Technik eine Reihe von Anwendungen in der Medizin finden wird, insbesondere bei kardiovaskulären Interventionen, aber auch bei der Verbesserung der Wundheilung und der Behandlung von Implantaten.

- [1] H. Dautzenberg, W. Jäger, J. Kötz, B. Phillip, C. Seidel, D. Stscherbina, *Polyelectrolytes*, Hanser, München, **1994**.
- [2] R. R. Netz, D. Andelman, *Phys. Rep.* **2003**, *380*, 1–95.

- [3] P.-G. DeGennes, P. Pincus, R. M. Velasco, F. Brochard, *J. Phys.* **1976**, *37*, 1461–1473.
- [4] *Multilayer Thin Films: Sequential Assembly of Nanocomposite Materials* (Hrsg.: G. Decher, J. B. Schlenoff), Wiley-VCH, Weinheim, **2002**.
- [5] S. Schwarz, K.-J. Eichhorn, E. Wischerhoff, A. Laschewsky, *Colloids Surf. A* **1999**, *159*, 491–501.
- [6] A. Gruntzig, R. Myler, S. Stertzer, *Circulation* **1979**, *60*, 264–265.
- [7] G. Pasterkamp, D. P. de Kleijn, C. Borst, *Cardiovasc. Res.* **2000**, *45*, 843–852.
- [8] E. Noldge, G. M. Richter, J. C. Palmaz, *Radiology* **1987**, *27*, 431–432.
- [9] H. C. Lowe, S. N. Oesterle, L. M. Khachigian, *J. Am. Coll. Cardiol.* **2002**, *39*, 183–193.
- [10] C. W. Hwang, E. R. Edelman, *Circ. Res.* **2002**, *90*, 826.
- [11] B. Heublein, E. G. Evagorou, R. Rohde, S. Ohse, R. R. Meliss, S. Barlach, A. Haverich, *Int. J. Artif. Organs* **2002**, *25*, 1166–1173.
- [12] a) J. E. Sousa, P. W. Serruys, M. A. Costa, *Circulation* **2003**, *107*, 2274–2279; b) Y. Huang, L. Wang, X. Liu, S. Li, E. K. Verbeken, I. de Scheerder, *Business Briefing: European Pharmacotherapy* **2003**, 1–6.
- [13] J. L. Hill-West, S. M. Chowdhury, M. J. Slepan, J. A. Hubbell, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1994**, *91*, 5967–5971.
- [14] Y. An, J. A. Hubbell, *J. Controlled Release* **2000**, *64*, 205–215.
- [15] Y. D. Park, N. Tirelli, J. A. Hubbell, *Biomaterials* **2003**, *24*, 893–900.
- [16] B. Thierry, F. M. Winnik, Y. Merhi, M. Tabrician, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 7494–7495.
- [17] H. Ai, H. Meng, I. Ichinose, S. A. Jones, D. K. Mills, Y. M. Lvov, X. Qiao, *J. Neurosci. Methods* **2003**, *128*, 1–8.
- [18] Q. Tan, J. Ji, M. A. Barbosa, C. Forensa, J. Shen, *Biomaterials* **2003**, *24*, 4699–4705.