

Poröse Scaffolds aus mineralisiertem Kollagen – ein biomimetisches Knochenersatzmaterial

Porous scaffolds made from mineralised collagen – a biomimetic bone graft material

M. Gelinsky¹, U. König¹, A. Sewing², W. Pompe¹

Aus biomimetisch mit Hydroxylapatit mineralisierten Kollagen Typ I Fibrillen wurde ein neuartiges poröses Knochenersatzmaterial entwickelt, das in seiner chemischen Zusammensetzung der extrazellulären Matrix von Knochengewebe nahekommt. Die Porenstruktur wird über einen Gefriertrocknungsprozeß erzeugt, wobei über die Geschwindigkeit und die Temperatur des Einfriervorgangs die Porengröße über einen weiten Bereich eingestellt werden kann. Durch chemische Quervernetzung des Kollagen-Anteils mit dem wasserlöslichen Carbodiimid-Derivat EDC wird die Struktur stabilisiert. Als optimal für die Besiedlung mit Knochenzellen haben sich interkonnektierende Poren mit Durchmessern von ca. 200 μm erwiesen; die entsprechenden Scaffolds sind im feuchten Zustand elastisch, was die Durchführung von Zellkulturexperimenten unter mechanischer Stimulation ermöglicht.

Schlüsselworte: Knochen, Tissue Engineering, Kollagen, Hydroxylapatit, biomimetisch

Using biomimetically mineralised collagen type I, a new porous bone graft material has been developed, the composition of which mimics extracellular matrix of bone tissue. The pore structure is generated by a freeze drying process, whereas the pore size can be controlled by temperature and velocity of the freezing over a wide range. The structure is stabilized by crosslinking of the collagen with the water soluble carbodiimide derivative EDC. For the seeding with bone cells, pores with diameters of about 200 μm have turned out to be optimal. These scaffolds are elastic in the wet state which allow for cell culture experiments under mechanical stimulation.

keywords: bone, tissue engineering, collagen, hydroxyapatite, biomimetic

1 Einleitung

Poröse Implantate für den Knochenersatz aus ganz unterschiedlichen Materialien werden seit langer Zeit klinisch eingesetzt. Hierbei kann zwischen solchen unterschieden werden, die im Körper resorbiert werden – und solchen, die dauerhaft im Gewebe verbleiben und nur von neuem Knochen durchwachsen werden. Erstere bestehen bislang zumeist aus synthetischen Polymeren wie Polylactid oder Polyglycolid, wohingegen nicht – oder nur sehr langsam abbaubare häufig aus hochgesinterter Calciumphosphat-Keramik hergestellt werden (z. B. Endobon[®]). Der poröse Aufbau bewirkt (eine geeignete Porenstruktur vorausgesetzt) in beiden Fällen, daß Knochenzellen und Blutkapillaren einwachsen und das Implantat damit schneller fest im umgebenden Knochen verankert wird, als dies bei einem kompakten Körper möglich wäre. Die notwendige hohe Porosität und Porendurchmesser von wenigstens 100 μm haben aber zur Folge, daß diese Implantatmaterialien keine voll lasttragenden Funktionen übernehmen können und das betroffene Knochensegment somit zumindest in der Anfangszeit zusätzlich durch metallische Werkstoffe in Form von Platten, Marknägeln oder einem *Fixateur externe* stabilisiert werden muß.

Während resorbierbare Knochenersatzmaterialien aus synthetischen Polymeren *in vivo* hydrolytisch degradieren, wobei oft saure Abbauprodukte (z. B. Milchsäure im Fall von Poly-

lactid) freigesetzt werden, werden solche aus natürlichen Körperbestandteilen aktiv von Zellen resorbiert. In der vorliegenden Arbeit wird ein poröses Biomaterial aus den Hauptkomponenten der extrazellulären Knochenmatrix – Kollagen Typ I und Hydroxylapatit (HAP) – vorgestellt, welches nach biomimetischen Gesichtspunkten entwickelt worden ist. Als Ausgangsmaterial dient ein säurelösliches, bovines Kollagen, welches in einem synchronen Prozeß zu Fibrillen assembliert und mit HAP mineralisiert wird [1,2]. Nachdem wir früher bereits über die Herstellung membranartiger Materialien („Tapes“) aus diesem mineralisierten Kollagen berichtet haben [3], werden in der vorliegenden Arbeit poröse dreidimensionale Scaffolds beschrieben, die durch Gefriertrocknung und sich anschließende chemische Quervernetzung erzeugt werden können. Das neue Knochenersatzmaterial wurde strukturell, physiko-chemisch und mechanisch charakterisiert, und es wurde begonnen, seine biologischen Eigenschaften in Zellkultur- und Tierexperimenten zu evaluieren. Ein besonderer Schwerpunkt liegt hierbei in der Untersuchung der Eignung der porösen Scaffolds für das *Tissue Engineering* von Knochen.

2 Materialien und Methoden

2.1 Materialien

Als Ausgangsmaterial wurde ein säurelösliches, bovines *medical grade* Typ I Kollagen (isoliert aus Rindersehnen) verwendet, welches von Fa. Innocoll (Saal/Donau, Deutschland) durch dreitägige Behandlung mit Pepsin speziell für die hier beschriebene Entwicklung vorbereitet wurde. Aus dem glei-

¹ TU Dresden, Max-Bergmann-Zentrum für Biomaterialien, Institut für Werkstoffwissenschaft, Dresden

² Biomet Merck Biomaterials GmbH, D-64271 Darmstadt



Abb. 1. Poröse Scaffolds aus mineralisiertem Kollagen in verschiedenen Größen und Formen (Maßstab im Bild: Zentimeter)

Fig. 1. Porous scaffolds, made from mineralised collagen, in different size and shape (the scale shows centimetres)

chen, jedoch nicht enzymatisch nachbehandelten Kollagenmaterial werden andere, bereits zugelassene und am Markt eingeführte Produkte der Firma Innocoll wie z.B. Collatamp® oder Collatamp®-G hergestellt. 1 g dieses Kollagens wurde in 1 l 10 mM HCl gelöst und nacheinander unter kräftigem Rühren mit folgenden Lösungen versetzt: 500 ml dest. Wasser, 180 ml 0,1 M CaCl₂-Lösung, 116 ml 2 M NaCl-Lsg., 168 ml 0,5 M Tris-Puffer (pH = 7,52; Tris = Tris(hydroxymethyl)aminomethan) und 22,6 ml 0,5 M Phosphat-Puffer (pH = 7,40) nach Sørensen. Die Mischung wurde mit destilliertem Wasser auf 2 l aufgefüllt und für 12 h bei 35 °C im Wasserbad stehengelassen.

Der sich bildende farblose, gallertartige Niederschlag (mineralisierte Kollagen-Fibrillen) wurde abzentrifugiert und anschließend mit gerade soviel Mutterlauge wieder aufgerührt, daß eine gießbare und homogene Suspension entstand. Zur Herstellung der zylindrischen Standard-Proben (in Abb. 1 oben rechts dargestellt) wurden je ca. 2,5 ml der Suspension in die Vertiefungen einer 24er-Zellkultur-Wellplatte aus Polystyrol gegossen und bei -25 °C langsam eingefroren. Das gefrorene Material wurde im Ölpumpenvakuum gefriergetrocknet und dann in einer 1%igen Lösung von *N*-(Dimethylaminopropyl)-*N'*-ethylcarbodiimid Hydrochlorid (EDC, Fa. Aldrich) in 80%igem Ethanol für 1 Std. chemisch quervernetzt. Die porösen Scaffolds wurden erst gründlich mit destilliertem Wasser, dann mit einer 1%igen Glycin-Lsg. und zuletzt nochmals mit Wasser gewaschen und dann erneut gefriergetrocknet. Für Zellkultur- oder Tierexperimente wurden die Proben durch Gamma-Bestrahlung (Dosis: 30-35 kGy) sterilisiert.

2.2 Methoden

Elementaranalyse

Die Elementaranalysen (Gehalt an C, H und N) wurden auf einem Eurovector EA 3000 Gerät am Institut für Organische Chemie der TU Dresden durchgeführt.

Lichtmikroskopie/Schnittpräparate

Zur Herstellung von Dünnschnitten wurden die Materialien in Paraffin eingebettet und an einem RM2155 Rotationsmikrotom des Herstellers Leica geschnitten. Es wurde eine Schnittdicke von 30 µm gewählt, um zusammenhängende und ausreichend kontrastierte Präparate zu erhalten. Nach dem Entfernen des Einbettmaterials wurden die Präparate mit Hämatoxylin-Eosin (unspezifisch für Protein) angefärbt. Lichtmikroskopische Aufnahmen entstanden an einem Zeiss Axiolab A Durchlichtmikroskop mit angeschlossener Digitalkamera.

Rasterelektronenmikroskopie

Die rasterelektronenmikroskopischen Bilder wurden an einem Zeiss DSM 982 Gemini Mikroskop (Zeiss, Oberkochen) mit einer Beschleunigungsspannung von 1 kV (Abb. 3) bzw. 5 kV (Abb. 6) aufgenommen. Die Proben wurden hierzu mit Kohlenstoff bedampft.

Mechanische Messungen

Die zyklischen Kompressionsversuche wurden an einer elektromechanischen Instron 5566 Materialprüfmaschine mit einem 10 kN Prüfraumen (Instron Wolpert GmbH, Darmstadt) durchgeführt.

Zellkultur-Experimente

Auf einer zylindrischen Probe mit einem Durchmesser von 13 mm und einer Höhe von 7 mm wurden 1×10^5 ST-2 Maus Osteoblasten (DSMZ, Braunschweig) ausgesät, wobei die Zell-Suspension unter Verwendung von leichtem Unterdruck in den porösen Scaffold eingesaugt wurde. Nach 24 Std. Vorkultur in einer 24er Wellplatte wurde der besiedelte Scaffold in einen Perfusionsreaktor (Minucells, Bad Abbach) überführt. Als Zellkulturmedium diente jeweils modifiziertes α -Medium (Biochrom, Berlin).

3 Ergebnisse und Diskussion

Knochengewebe besteht im wesentlichen aus dem Biopolymer Kollagen, das auf eine hoch geordnete Art und Weise mit der Calciumphosphatphase Hydroxylapatit mineralisiert ist. Das Protein-zu-Mineral-Verhältnis dieser Knochenmatrix schwankt etwas – nach der Lokalisation (und damit Funktion) des Knochens im Körper, dem Lebensalter und dem Geschlecht etc. Durchschnittlich findet man im entwässerten Knochen jedoch einen Mineralanteil von etwa 80%; der Rest besteht aus organischen Verbindungen – von denen das Protein Kollagen Typ I über 90% ausmacht. Durch *synchrone* Assemblierung und Mineralisierung von Kollagen-I-Fibrillen konnten wir ein Kompositmaterial erhalten, welches der Zusammensetzung der extrazellulären Knochenmatrix nahekommt [1,2]. Im Unterschied zu anderen publizierten Arbeiten [4-6] werden die Kollagenfibrillen im beschriebenen Prozeß nicht nur äußerlich mineralisiert, da die Kollagen-Assemblierung und die Kristallisation der Mineralphase gleichzeitig stattfinden.

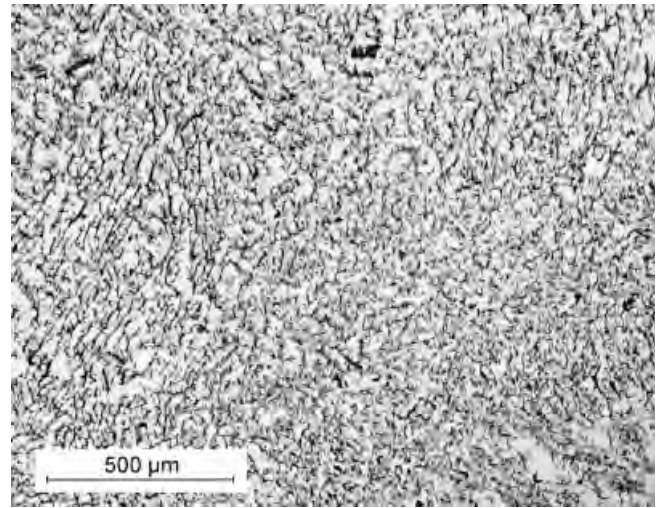
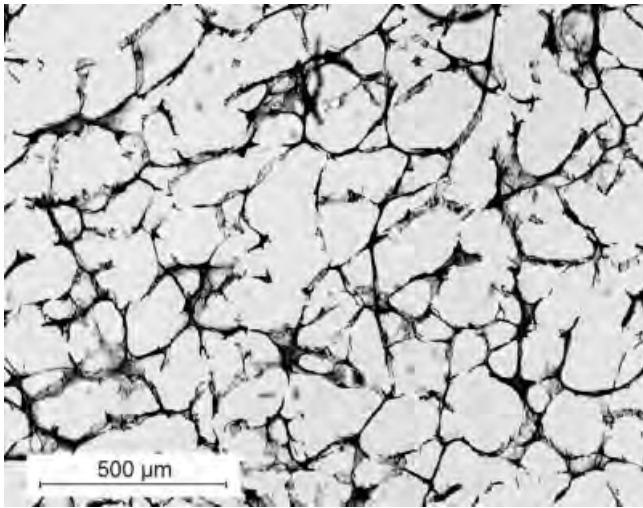


Abb. 2. Lichtmikroskopische Aufnahmen von $30\ \mu\text{m}$ dünnen Schnitten von porösen Scaffolds mit unterschiedlicher Mikrostruktur; *Bild a*: große Poren durch langsames Einfrieren bei $-25\ ^\circ\text{C}$ – *Bild b*: kleine Poren durch schnelles Einfrieren in fl. Stickstoff.

Fig. 2. Light microscopical pictures of $30\ \mu\text{m}$ thin sections of porous scaffolds with varying microstructures; *picture a*: big pores via slow freezing at $-25\ ^\circ\text{C}$ – *picture b*: small pores via fast freezing in liquid nitrogen.

Die Ergebnisse der Elementaranalysen des mineralisierten Kollagens schwanken etwas in Abhängigkeit der verwendeten Kollagen-Charge; typische Werte für den Kohlenstoffgehalt liegen im Bereich von 15,4-18,3 % und für den Stickstoffgehalt zwischen 5,6 % und 6,7 %. Daraus berechnet sich ein Kollagen-Anteil von ca. 30-35 % – die restlichen 65-70 % bestehen aus nanokristallinem HAP, was bereits früher durch FT-IR-Spektroskopie und Röntgenpulverdiffraktometrie eindeutig nachgewiesen werden konnte [1].

Durch Gefriertrocknung von Suspensionen des mineralisierten Kollagens und anschließende chemische Quervernetzung mit dem wasserlöslichen Carbodiimid-Derivat EDC konnten poröse Scaffolds mit variabler Form und Größe erzeugt werden (*Abb. 1*). Die Mikrostruktur kann dabei über die Geschwindigkeit und Temperatur des Einfrierens kontrolliert werden: *Abb. 2* zeigt zwei lichtmikroskopische Aufnahmen von Dünnschnitten, die von in Paraffin eingebetteten Scaffolds hergestellt worden sind. Probe a wurde bei ca. $-25\ ^\circ\text{C}$ langsam eingefroren; Probe b dagegen durch Eintauchen in flüssigen Stickstoff ($-196\ ^\circ\text{C}$) sehr rasch. Während bei ersterer Poren mit einem Durchmesser von durchschnittlich $200\ \mu\text{m}$ entstanden sind, weist Probe b etwa zehnmal kleinere auf. Da für das Einwachsen von Knochenzellen Porendurchmesser von wenigstens $100\ \mu\text{m}$ benötigt werden [7], wurden alle weiteren hier vorgestellten Untersuchungen an den bei $-25\ ^\circ\text{C}$ gefrorenen Proben durchgeführt.

Einen genaueren Blick auf die Mikrostruktur erlaubt die Rasterelektronenmikroskopie. Die *Abb. 3* zeigt die Fläche eines Schnittes durch einen porösen Scaffold: man erkennt die großen Porenräume des Materials und daß die einzelnen Poren über Durchbrüche in den Porenwänden miteinander zu einem interkonnektierenden System verbunden sind. Außerdem wird deutlich, daß die nanokristalline Mineralphase sehr gleichmäßig verteilt ist; die Mikrostruktur wirkt homogen. Durch die Gefriertrocknung tritt eine Schwindung um ca. 20-30 % ein (bezüglich der Größe der Form, welche mit dem suspendierten Material ausgegossen worden war). Wird das gefriergetrocknete Material anschließend wieder in Wasser, physiologische Kochsalzlösung oder Zellkulturmedium eingelegt, so quillt es um ca. 10 % – womit sich auch die Porendurchmesser um

durchschnittlich diesen Wert verkleinern. Die *Abb. 4* zeigt exemplarisch eine ausgewählte Pore unter dem Lichtmikroskop im gefriergetrockneten Probenkörper (*a*) und nach 24 Std. Quellung in destilliertem Wasser (*b*). Der Balken, der den Durchmesser der Pore von $130\ \mu\text{m}$ in (*a*) bezeichnet, ist an gleicher Stelle in (*b*) eingezeichnet, um die Verkleinerung der Probe an dieser Stelle auf ca. $116\ \mu\text{m}$ zu verdeutlichen. Die Porendurchmesser im gequollenen Zustand sind damit aber immer noch groß genug für das Einwachsen von Zellen.

Zur Untersuchung der mechanischen Eigenschaften wurden zylindrische Proben mit einem Durchmesser von 13 mm und einer Höhe von 8 mm, die zuvor für 24 Std. in destilliertem Wasser eingelegt worden waren, zyklischen Kompressionstests unterworfen. Hierbei wurden die Scaffolds 50 Mal um jeweils 4 mm auf die Hälfte ihrer ursprünglichen

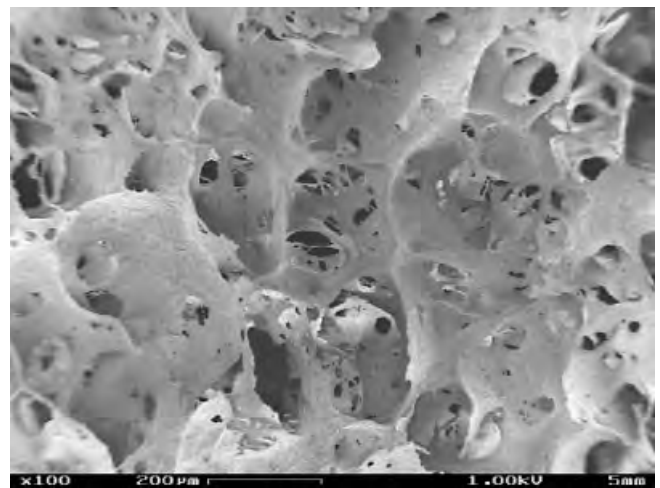


Abb. 3. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme eines Schnittes durch einen porösen Scaffold; Vergrößerung: $100\times$

Fig. 3. Scanning Electron micrograph of a section through a porous scaffold; magnification: $100\times$

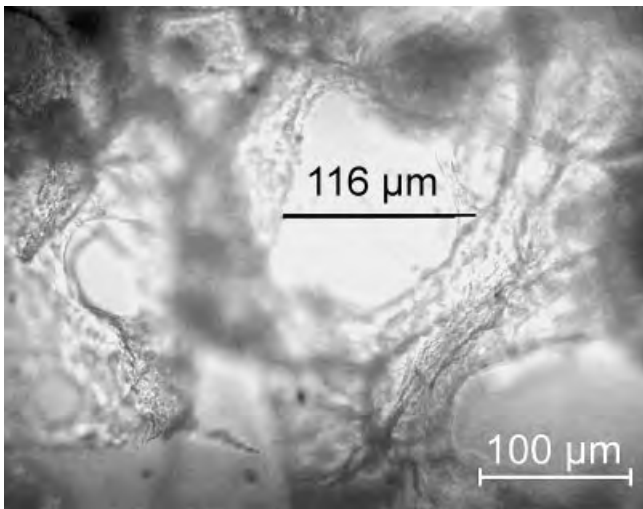
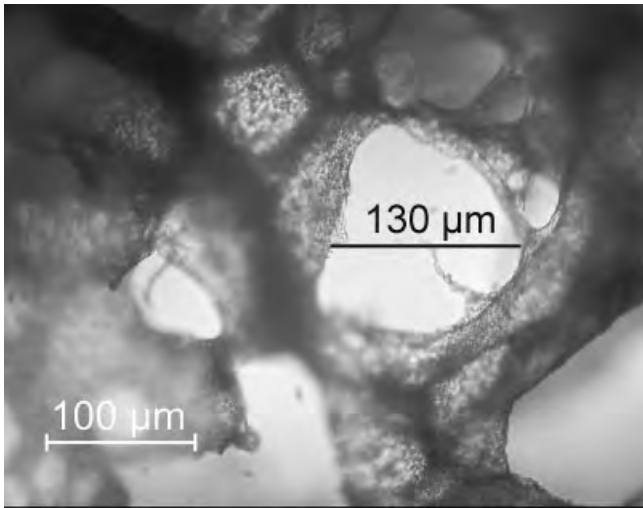


Abb. 4. Lichtmikroskopische Aufnahmen einer ausgewählten Pore im gefriergetrockneten Zustand (a) und nach 24 Std. Quellung in dest. Wasser (b). Der Porendurchmesser nimmt von 130 µm auf 116 µm ab (der Balken in (b) zeigt zur Verdeutlichung nochmals den Durchmesser im trockenen Zustand).

Fig. 4. Light microscopical pictures of a selected pore in the freeze dried state (a) and after swelling in dist. water for 24 h (b). The pore diameter decreases from 130 µm to 116 µm (for clarification, the bar in (b) shows again the pore size in the dry state).

Höhe komprimiert, wobei die Belastung in Richtung der Zylinderachse erfolgte. Die Abb. 5 enthält ein typisches Kraft-Zeit-Diagramm einer solchen Messung: man erkennt, daß sich nach den ersten 6 Zyklen, für die noch eine geringfügig höhere Kompressionskraft gemessen wurde, der Wert bei ca. 3,6 N einpendelt und konstant bleibt. Die porösen Scaffolds aus mineralisiertem Kollagen sind somit im feuchten Zustand hoch elastisch – was eine Voraussetzung dafür ist, Zellkultur-experimente unter mechanischer Stimulation durchzuführen, womit in der Arbeitsgruppe bereits begonnen wurde. Vernachlässigt man geringe Quergleitung zwischen Probenstempel und Probe während der Belastung, berechnet sich für die Kompression des Scaffolds auf die Hälfte seiner Höhe eine Spannung von ca. 800 kPa.

Wie bereits allgemein für hochporöse Knochenersatzmaterialien ausgeführt, sind solche Werte natürlich zu niedrig, um das Material in lasttragender Funktion zu implantieren. Je-

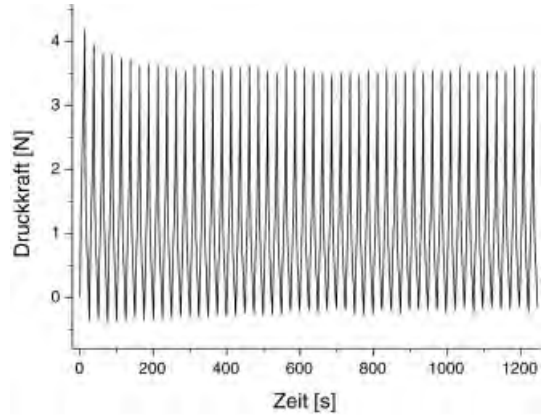


Abb. 5. Kraft-Zeit-Diagramm für die 50-malige einachsige Kompression eines zylindrischen Probenkörpers (Durchmesser 13 mm, Höhe 8 mm) im feuchten Zustand auf die Hälfte seiner Ausgangshöhe

Fig. 5. Load-time-diagram for 50-times uniaxial compression of a cylindrical sample (diameter 13 mm, height 8 mm) in the wet state to the half of its original height.

doch weisen die Scaffolds aus mineralisiertem Kollagen eine deutlich bessere mechanische Ausgangs-Stabilität auf als Schwämmchen aus nativem Kollagen, wie sie bereits klinisch eingesetzt werden. Diese kollabieren zumeist bereits spontan beim Anfeuchten, weswegen sie – anders als das hier vorgestellte Material – als Matrices für das *Tissue Engineering* oder für den Hartgewebeersatz ungeeignet sind.

Die biologischen Eigenschaften der porösen Scaffolds aus mineralisiertem Kollagen wurden und werden auf vielfältige Weise in unserer Arbeitsgruppe analysiert. So wurden verschiedene Typen von Osteoblasten (ST-2 Maus-Zelllinie, primäre Ratten Calvaria-Osteoblasten, primäre humane Kiefer-Osteoblasten und humane mesenchymale Stammzellen, die zu Osteoblasten differenziert werden können) sowohl in statischer als auch in Perfusions-Zellkultur für bis zu 8 Wochen auf dem Material erfolgreich kultiviert. Die Abb. 6 zeigt in



Abb. 6. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme von ST-2 Maus-Osteoblasten im Inneren eines porösen Scaffolds nach 4 Wochen Perfusionskultur; Vergrößerung 650×

Fig. 6. Scanning Electron micrograph of ST-2 mouse osteoblasts inside of a porous scaffold after 4 weeks of perfusion culture; magnification 650×

Form einer rasterelektronenmikroskopischen Aufnahme ST-2 Maus-Osteoblasten nach 4 Wochen Perfusionskultur im Inneren eines porösen Scaffolds. Der abgebildete Ausschnitt befindet sich ca. 4 mm unterhalb der oberen Stirnfläche der zylindrischen Probe, auf welche die Zellen ausgesät worden waren. Für die Aufnahme wurde der Scaffold nach der Kritisch-Punkt-Trocknung mit einer Rasierklinge längs durchgeschnitten. Die Tatsache, daß Zellen bis zu dieser Tiefe in der Probe nachzuweisen waren, zeigt, daß das interkonnektierende Porensystem für das Einwachsen von Zellen geeignet ist.

Daneben wurden humane Osteoclasten – Knochen-resorbierende Zellen – und auch Kokulturen aus Osteoblasten und Osteoclasten auf dem Material kultiviert. Ziel hierbei ist u. a., ein *in vitro*-Modell für den Knochenumbau (*Remodeling*) zu etablieren [8]. Auch wurde mit Experimenten begonnen, bei denen Osteoblasten in den Scaffolds mittels einer Piezo-Aktor-Einheit bzw. Ultraschall mechanisch stimuliert werden können. Erste Ergebnisse deuten auf eine erhöhte Zell-Proliferation und eine beschleunigte Differenzierung unter mechanischer Stimulation hin. Publikationen zu den Ergebnissen der Zellkulturexperimente sind z. Zt. in Vorbereitung – genauso wie Manuskripte zu zwei Tierexperimenten, welche mit den Scaffolds in Kooperation mit klinischen Arbeitsgruppen durchgeführt worden sind. In einem ersten Modellversuch wurde das Material am Universitätsklinikum in Sapporo/Japan im Ratten-Femur implantiert und die knöchernen Einheilung beobachtet. Bei der zweiten Studie, welche an der Charité in Berlin durchgeführt wurde, wurde das Material hinsichtlich seiner Eignung für die knöchernen Fusion von Wirbelkörpern an 24 Schafen getestet. In diesem bereits gut etablierten Tiermodell [9] diente das Biomaterial als Ersatz für autologen Knochenspan zum Füllen sogenannter Titan-Cages, welche die lasttragende Funktion erfüllen. In beiden Tierversuchen zeigten die porösen Scaffolds aus mineralisiertem Kollagen eine gute Biokompatibilität.

4 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde ein neues poröses, biomimetisches Biomaterial für den Hartgewebeersatz und das *Tissue Engineering* von Knochengewebe vorgestellt, welches in seiner chemischen Zusammensetzung der natürlichen Knochenmatrix nahekommt. Die Scaffolds besitzen eine interkonnektierende Porenstruktur, welche das Einwachsen von Zellen ermöglicht und die sich über die Bedingungen der Gefrier-trocknung einstellen läßt. Das Material ist im feuchten Zustand druckelastisch, was Zellkulturexperimente unter mecha-

nischer Stimulation erlaubt. Zellversuche mit Osteoblasten und Osteoclasten wie auch erste Tierexperimente zeigten eine gute Biokompatibilität des neuen Knochenersatzmaterials; durch die Kokultivierung von Osteoblasten und Osteoclasten soll überdies versucht werden, ein *in vitro*-Modell für den Knochenumbau zu etablieren.

5 Danksagung

Wir danken dem Bundesministerium für Bildung und Forschung für die finanzielle Förderung des Vorhabens (BMBF-Projekt Nr. 03N4020). Herrn Dr. Z. Ruzczak und Herrn R. Mehrl (Fa. Innocoll in Saal/Donau) danken wir für die großzügige Überlassung des Kollagens und Frau O. Zieschang für ihren Einsatz und ihre Gewissenhaftigkeit bei den präparativen Arbeiten. Frau Dr. A. Bernhardt hat das erwähnte Zellexperiment durchgeführt. Die Dünnschnitte wurden von Frau I. Kleiber an der Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie der TU Dresden präpariert.

6 Literatur

1. J. Bradt, M. Mertig, A. Teresiak, W. Pompe, *Chem. Mater.* **1999**, *11*, 2694.
2. K. Weis, W. Pompe, J. Bradt, Patent EP 0945146/7 (**1999**) und: *dieselben*, Patent US 6384196/7 (**2002**).
3. R. Burth, M. Gelinsky, W. Pompe, *Tech. Textile* **1999**, *8*, 20.
4. S.-H. Rhee, J. Tanaka, *J. Am. Ceram. Soc.* **1998**, *81*, 3029.
5. R. Z. Wang, F. Z. Cui, H. B. Lu, H. B. Wen, C. L. Ma, H. D. Li, *J. Mater. Sci. Lett.* **1995**, *14*, 490.
6. K. S. TenHuisen, R. I. Martin, M. Klimkiewicz, P. W. Brown, *J. Biomed. Mater. Res.* **1995**, *29*, 803.
7. H. Schliephake, F. W. Neukam, D. Klosa, *Int. J. Oral. Maxillofac. Surg.* **1991**, *20*, 53.
8. B. Burmeister, H. Domaschke, M. Gelinsky, A. Rösen-Wolff, Th. Hanke, W. Pompe, *Eur. Cells Mater.* **2003**, *5 Suppl. 2*, 18.
9. F. Kandziora, G. Schollmeier, M. Scholz, J. Schaefer, A. Scholz, G. Schmidmaier, R. Schröder, H. Bail, G. Duda, T. Mittlmeier, N. P. Haas. *J. Neurosurg.* **2002**, *96*, 321.

Korrespondierender Autor: Dr. Michael Gelinsky, Max-Bergmann-Zentrum für Biomaterialien, TU Dresden, Institut für Werkstoffwissenschaft, Budapester-Straße 27, D-01069 Dresden. Tel.: 0351/463-39370, Fax: -39401, e-mail: gelinsky@tmfs.mpgfk.tu-dresden.de

Eingangsdatum für endgültige Form: 2.2.04 [T 732]