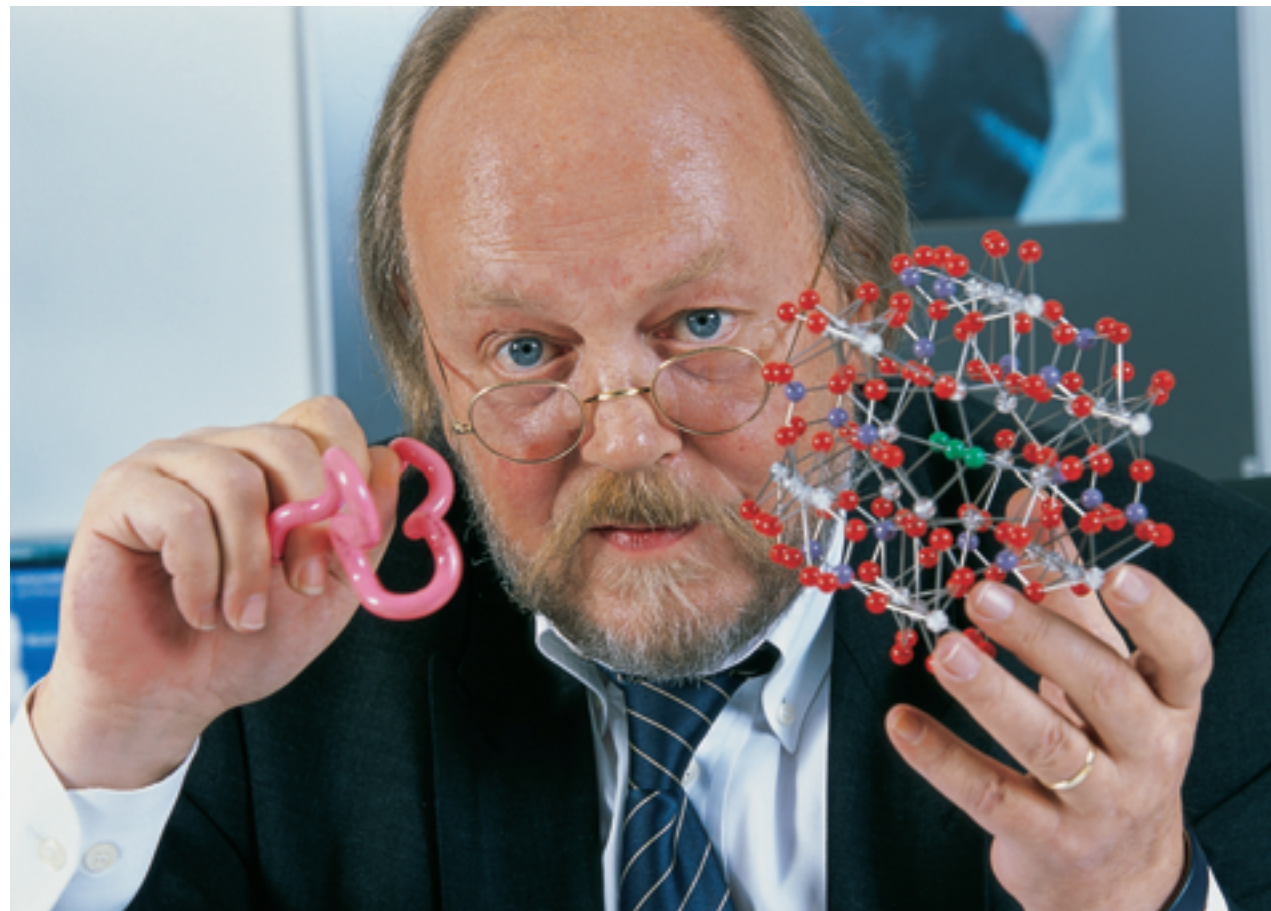


Knochenarbeit mit Kristallen und Molekülen

*Knochen und Zähne kommen aus dem „Baukasten“ der Natur: Winzige Mineralkristalle und organische Makromoleküle bilden in ihnen so genannte Komposite. Wie aber wachsen zum Beispiel aus dem Calciumphosphat-Apatit und dem Eiweiß Kollagen feste, aber dennoch elastische Knochen? Das untersucht eine Gruppe um **PROF. RÜDIGER KNIEP**, Direktor des **MAX-PLANCK-INSTITUTS FÜR CHEMISCHE PHYSIK FESTER STOFFE** in Dresden.*



Rüdiger Kniep, Direktor des Max-Planck-Instituts für chemische Physik fester Stoffe in Dresden, erforscht die Wechselwirkungen zwischen organischen Makromolekülen (links) und anorganischen Kristallen (rechts).

Mancher Architekt, Bauingenieur oder Statiker wird ins Grübeln kommen, wenn er Gebilde sieht, die die Natur scheinbar aus simplem Calciumcarbonat fertigt – dem Hauptbestandteil von Kreide und Kalkstein: Die Stacheln eines Seeigels beispielsweise, die nur Millimeter dick aber Zentimeter lang sind und dennoch so stabil, dass sie den Stachelhäuter wirkungsvoll vor Feinden schützen. Oder kunstvoll gewundene Schneckenhäuser, die nicht nur relativ fest sind, sondern auch so formvollendet aussehen, dass man annehmen könnte, ein Star-Designer hätte sie entworfen. Aber wie wird aus dem mitunter stumpfen, bröseligen Calciumcarbonat ein spitzer Seeigelstachel oder ein mehrfarbiges, glänzendes Schneckenhaus?

Wenn biologische Systeme an der Entstehung von anorganischen Festkörpern aktiv beteiligt sind, sprechen Wissenschaftler von Biomineralisation. Wie diese im Detail abläuft, erforschen sie erst seit wenigen Jahren. Einer der Pioniere auf diesem Gebiet in Deutschland ist Rüdiger Kniep, Direktor des Max-Planck-Instituts für chemische Physik fester Stoffe in Dresden. Zwar widmet der Chemiker und Mineraloge den größten Teil seiner Zeit der Erforschung von intermetallischen Verbindungen, metallreichen Nitriden und mikroporösen Borophosphaten. Letztere haben zum Teil ähnliche Strukturen wie die in Waschmitteln verwendeten Zeolithe

– sind jedoch vielfach chiral (unterscheiden sich also in ihrer Struktur wie linke und rechte Hand, die nicht zur Deckung gebracht werden können); damit sind sie Anwärter für hochselektive Katalysatoren. Die metallreichen Nitride und Nitridverbindungen sind wegen ihres ungewöhnlichen Redox-Verhaltens ebenfalls Kandidaten für neue Katalysatoren. Während Kniep und seine Mitarbeiter hier vor allem wertvolle Grundlagenforschung betreiben, gelang es ihnen, Forschungsergebnisse auf dem Gebiet der Biomineralisation zu handfesten Anwendungen vorzuschlagen, die nun über eine vom Bundesministerium für Bildung und Forschung unterstützte Firma entwickelt werden.

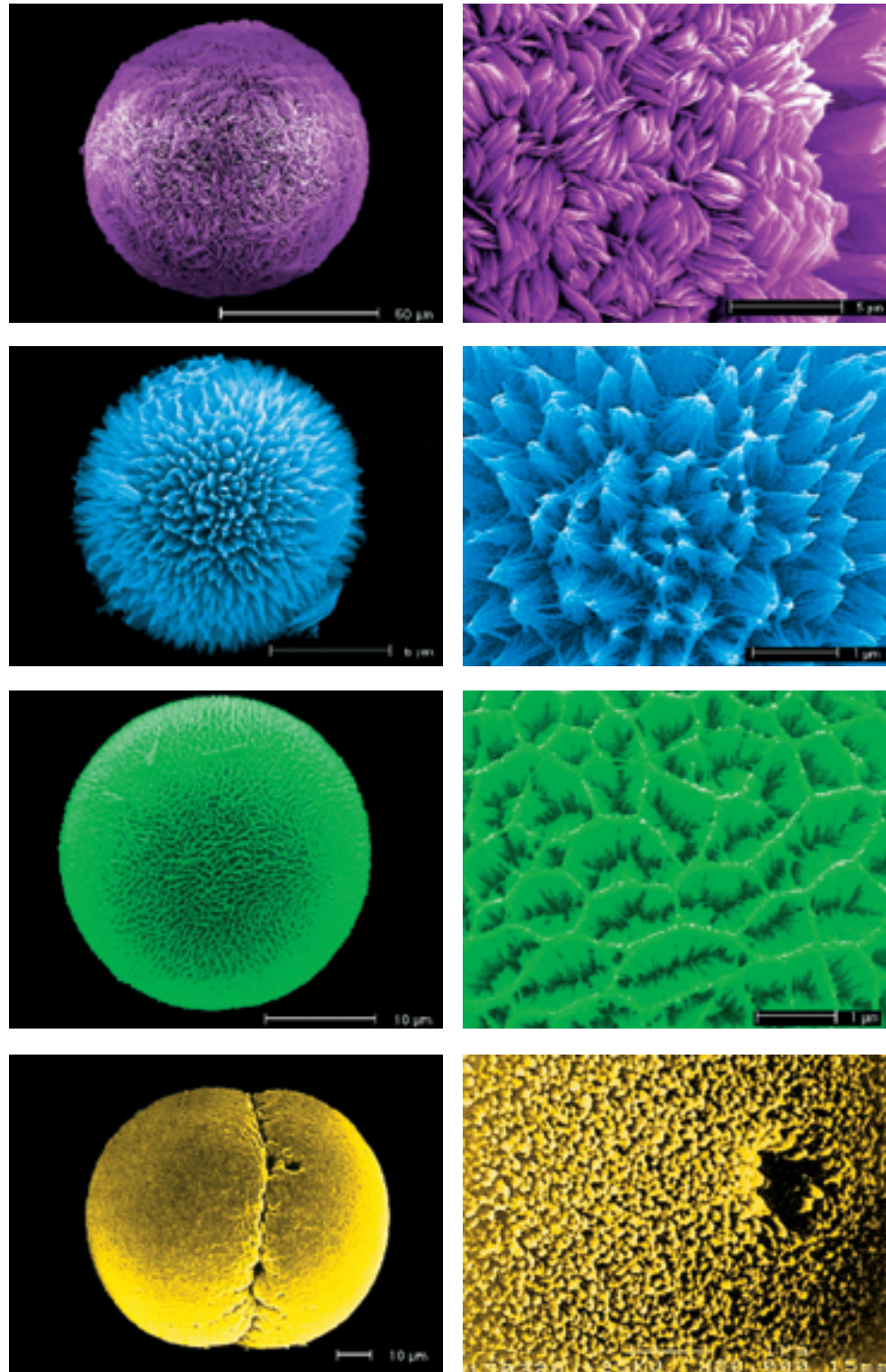
60 MINERALIEN IM ANGEBOT

Das kleine Dresdner Biomineralisationsteam um Rüdiger Kniep, dem auch Susanne Busch, Jana Buder, Oliver Hochrein und Caren Göbel angehören, beschäftigt sich allerdings weder mit Seeigelstacheln noch mit Schneckenhäusern. Ihre Forschungsobjekte sind auf den ersten Blick weit weniger dekorativ, dafür aber für den Menschen lebenswichtig: Sie untersuchen die Entstehung von Knochen und Zähnen. Sowohl beim Menschen als auch bei Wirbeltieren und Fischen bestehen diese aus Apatit, einer Calciumphosphat-Verbindung. In unbelebter Um-

gebung bildet Apatit – je nachdem, mit welchen Stoffen er „verunreinigt“ ist – große, verschiedenfarbige Kristalle, die früher oft mit Beryll oder Turmalin verwechselt wurden; daher stammt der Name Apatit, der sich vom griechischen *apate* (= Täuschung) ableitet. Ähnlich wie beim Calciumcarbonat stellt sich also auch hier die Frage: Wie verwandelt die Natur mineralischen Apatit in feste, aber elastische Knochen und Zähne?

Insgesamt kennen Wissenschaftler inzwischen rund 60 Mineralien, die lebende Organismen für ihre Zwecke nutzen – und die Liste der „Einsatzgebiete“ ist lang. Denn die anorganischen Festkörper sind nicht nur Hauptbestandteile von Werkzeugen (Zähnen), stützenden Gerüsten (Knochen) oder Schutzschilden gegen Feinde (Stacheln oder Schalen). Forscher fanden sie auch in Augenlinsen von Krebsen, Schwerkraftsensoren von Fischen und Quallen sowie als magnetische Rezeptoren in Bakterien. „In all diesen Fällen hat die Natur es verstanden, aus relativ einfachen chemischen Verbindungen im Lauf der Evolution vielseitige Funktionsmaterialien herzustellen“, sagt Rüdiger Kniep. Das allgemeine Prinzip, das dahinter steckt: Winzige Mineralkristalle und organische Makromoleküle bilden so genannte Komposite, die ganz andere Materialeigenschaften haben können als die Ausgangsverbindungen. Knochen bestehen beispielsweise aus Apatit und

FOTO: WOLFGANG FILSER



Durch Selbstorganisation wachsen kugelförmige Komposit-Aggregate aus Calciumphosphat und Gelatine in Gelatinegel. Mit von oben nach unten zunehmendem Fluoridgehalt verändert sich deren Oberflächenstruktur; aus Fluorapatit bilden sich hantelförmige Aggregate. (Oberes Teilbild: Octacalciumphosphat, mittlere Teilbilder: Apatit mit zunehmendem Fluoridgehalt, unten: Fluorapatit).

dem Eiweiß Kollagen. Letzteres bildet etwa 300 Nanometer lange, fadenförmige Moleküle, von denen sich jeweils drei zu Helices verdrehen. In dieser organischen Matrix liegen winzige Apatitkristalle. Es handelt sich dabei um 2 bis 4 Nanometer dünne Plättchen, die parallel zu den Kollagenhelices angeordnet sind. So entstehen mineralisierte Fasern (Fibrillen), die einige 10 Mikrometer (Millionstel Meter) lang sind. „Chemiker würden dies als Verbundwerkstoff bezeichnen“, sagt Rüdiger Kniep. Wie der Körper Knochen und Zähne aus mineralischen Kristallen und organischen Makromolekülen produziert, ist allerdings weitgehend unklar.

WACHSTUM IM REAGENZGLAS

Genau hier setzen die Arbeiten des Dresdner Wissenschaftlers an. Denn Kniep und seine Mitarbeiter simulieren die Bildung von knochen- und zahnähnlichem Material im Reagenzglas: „Wir untersuchen dabei zunächst, welche Wechselwirkungen zwischen Apatit und Kollagen beim Wachstum bestehen und versuchen, diese zu erklären.“ Würden die Forscher dazu schlicht Apatitkristalle auf Kollagenfasern wirken lassen, würde wohl kaum etwas geschehen. Denn Apatit ist in Wasser extrem schwer löslich und daher reaktionsträge. Das heißt: Haben sich erst einmal Kristalle gebildet, sind sie bei biologischem pH-Wert kaum dazu zu bewegen, an Laborversuchen teilzunehmen. Die Wissenschaftler greifen deshalb zu einem Trick, den Chemiker generell immer dann anwenden, wenn sie Kristalle aus schwer löslichen Verbindungen kontrolliert züchten wollen: Sie füllen Lösungen mit je einer Kristall bildenden Komponente in die beiden Schenkel eines U-förmigen Rohrs. In dessen Mitte trennt ein Gelpfropfen die beiden Flüssigkeiten. In seinem Inneren fangen Ionen der beiden Lösungen dann an, aufeinander zuzuwandern. Sobald sie sich treffen, wachsen Kristalle. Normalerweise ist das Gel an dem Kristallisationspro-

zess nicht beteiligt. Wäre dies auch bei den Dresdner Experimenten der Fall, wären diese eindeutig gescheitert. Denn die Gruppe um Kniep verwendet Gelatine – die denaturierte Form des Kollagens. Ziel der Forscher ist es, innerhalb des Gel-Pfropfens die Bildung von knochen- oder zahnähnlichem Material nachzuweisen. Hier-zu müssen sich die Apatitkomponenten mit der Gelatine verbinden. „Tatsächlich beobachten wir nach wenigen Stunden bis Tagen helle Bänder innerhalb des Gels“, berichtet Rüdiger Kniep. Die Tatsache, dass dies nur mit Gelatine und keinem anderen Gel gelingt, ist der erste Hinweis darauf, dass die Dresdner Wissenschaftler die richtige Spur verfolgen. Chemisch betrachtet mussten sie sich aber zunächst einen Schritt weit vom idealen Modellsystem entfernen. „Ursprünglich wollten wir Verbindungen von Gelatine und dem in menschlichen Knochen und Zähnen vorkommenden Hydroxy-Apatit untersuchen“, so Kniep: „Die äußere Form der Aggregate, die dabei entstanden, waren jedoch so kompliziert, dass wir erst einmal auf Fluorapatit umgestiegen sind.“ Immerhin ist auch Fluorapatit biologisch nicht ganz unbedeutend. Denn er ist Bestandteil von Haifiszähnen – den einzigen Zähnen, die nach dem Herausbrechen wieder nachwachsen.

Als Kniep und seine Mitarbeiter die in der Gelatine gewachsenen Bänder erstmals aufschnitten und im Rasterelektronenmikroskop betrachteten, staunten sie nicht schlecht: sahen sie doch eine Vielzahl unterschiedlicher Formen, die sich bei genauer Analyse als verschiedene Wachstumsstadien des gleichen Prozesses herausstellten. Als „Ausgangsform“ dient jeweils ein perfekt ausgebildetes, lang gestrecktes Prisma. Sobald dieses eine bestimmte Größe erreicht hat, bilden sich an beiden Enden Aufwachsungen, die ebenfalls aus kleinen Prismen bestehen. Diese bilden bald kleine Hanteln. Kniep: „Bemerkenswerterweise sind beide Hantelhälften stets gleich

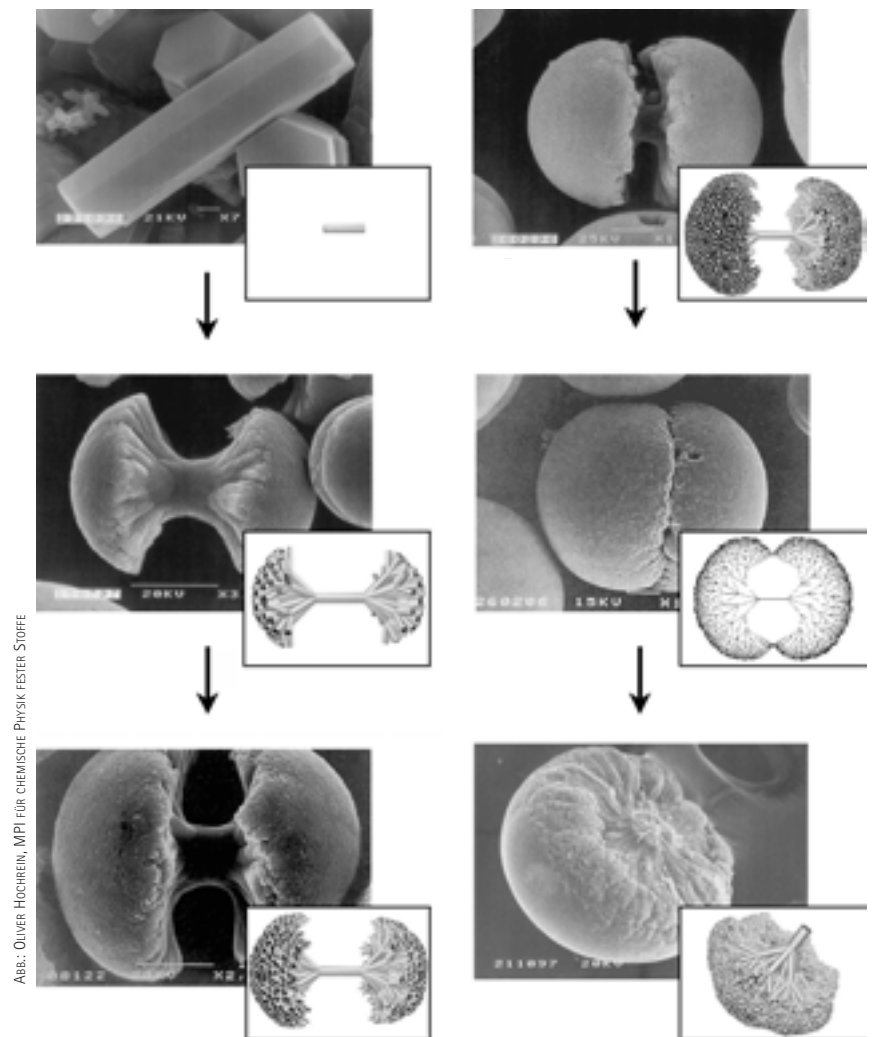


Abb.: OLIVER HOCHREIN, MPI FÜR CHEMISCHE PHYSIK FESTER STOFFE

groß, deshalb scheint es so, als ob eine Struktur dirigierende Spiegelebene zwischen ihnen wirksam wäre.“ Sobald die Hantelhälften groß genug sind, wachsen sie zu einer Kugel zusammen, deren Durchmesser bis zu 150 Mikrometer beträgt.

Die Entstehung der Aggregate wird also durch einen ungewöhnlichen Musterbildungsprozess gesteuert. Die Forscher sprechen von einer selbst organisierten Entwicklung, die vom Prinzip der „Selbstähnlichkeit“ getragen ist: Die Oberflächen der Kugeln bestehen aus kleinen Stäbchen, die die gleiche Form haben wie der zentrale, prismenförmige „Keim“ der Struktur. „Für mich ist dies Leben auf der niedrigsten Stufe“, kommen-

So „reifen“ Fluorapatit-Gelatine-Komposite: Aus einem hexagonal-prismatischen Keim bilden sich erst „Hanteln“, dann eingeschnürte Kugeln. Dieses fraktale Wachstum lässt sich per Computer simulieren.

tiert Kniep. Mathematisch betrachtet handelt es sich um fraktales Wachstum. Die Entstehung der Kugeln aus einem Prisma über die verschiedenen Hantelstufen lässt sich deshalb leicht per Computer simulieren; genau wie beim Original besteht die Oberfläche der berechneten Kugel aus kleinen nadelförmigen Einheiten. Mathematiker kennen das Prinzip der fraktalen Musterbildung seit langem. „Prinzipiell könnte es vielen natürlichen Phänomenen zugrunde liegen, die wir bisher nur teilweise verste-

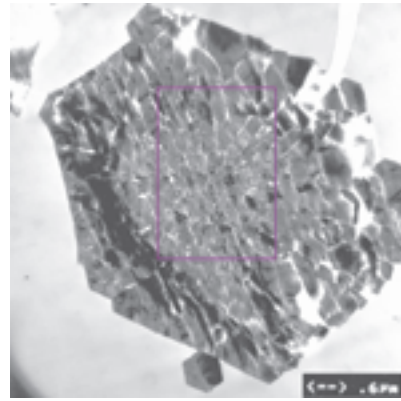
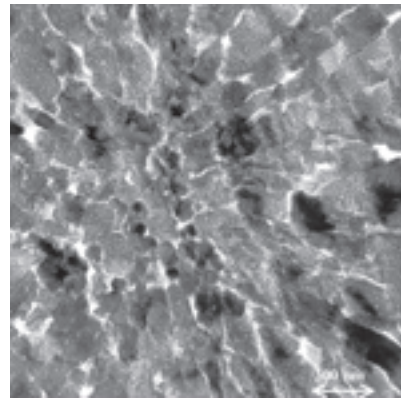


ABB.: OLIVER HOCHREIN, MPI FÜR CHEMISCHE PHYSIK FESTER STOFFE



Das Bild oben zeigt einen Dünnschnitt etwa senkrecht durch den Kompositkeim, aufgenommen durch ein Transmissions-Elektronenmikroskop. Das Bruchverhalten lässt erkennen, dass es sich nicht um einen Einkristall handelt. Unten: Ein Ausschnitt der Feinstruktur zeigt eine „dichtest gepackte“ Anordnung von Apatit-Nanopartikeln.

hen“, meint Kniep, „es ist daher grundsätzlich nicht verwunderlich, dass wir es bei dem Apatit-Gelatine-System beobachten.“

Gegenwärtig untersuchen die Forscher die Ursachen, die zu dieser Art Wachstum führen. „Bemerkenswert ist dabei unter anderem, dass weniger als drei Gewichtsprozent Gelatine ausreichen, um die ungewöhnliche Musterbildung zu erreichen“, sagt Rüdiger Kniep. Weiter fanden die Wissenschaftler, dass die Strukturen, die äußerlich wie Einkristalle aussehen, im klassischen Sinn keine sind. „Es handelt sich dabei vielmehr um eine kollektive Anordnung winziger Nanokristalle, die gemeinsam so tun, als wären sie ein Einkristall.“ Dies sei ein Prinzip das bei Biomine-

ralen häufig vorkomme, und letztlich wohl auch dem „Tuning“ der Materialeigenschaften diene.

Jedes Apatit-Gelatine-Kompositpartikel, das als Keim für die Hantelbildung dient, ist außerdem ein permanenter elektrischer Dipol. Entsprechend sind die hexagonal-prismatischen Stäbchen von einem elektrischen Feld umgeben. Dies scheint der Schlüssel für eine Erklärung des ungewöhnlichen Wachstums zu sein. „Sobald ein Kompositkeim – und damit auch das elektrische Feld – groß genug ist, beginnt in der Lösung eine Umorientierung der Gelatinemoleküle, die selbst permanente Dipole darstellen“, erklärt Kniep. Nach und nach richten sich die langen Gelatinehelices in Richtung der elektrischen Feldlinien aus; auf diese Weise entstehen symmetrische Hanteln, die sich letztlich zu Kugeln schließen.

Eindeutig beweisen können die Dresdner Forscher dies alles zwar noch nicht. Aber es gibt ein deutliches Indiz dafür, dass ihre Theorie stimmt: Legen sie während ihrer Experimente ein äußeres elektrisches Feld an, wird die fraktale Musterbildung unterdrückt. Außerdem reagiert Knochengewebe auf Zug und Druck mit Ladungstrennung. Und Ärzte haben beobachtet, dass ein gebrochenes Bein unter Umständen schneller heilt, wenn eine Manschette am Bein befestigt wird, an der eine konstante elektrische Spannung anliegt.

Aber was haben die unter Laborbedingungen erzeugten Miniaturkugeln tatsächlich mit menschlichen Knochen oder Zähnen zu tun? „In gesunden Knochen oder Zähnen lassen sich keine kugelförmigen Apatit-Aggregate nachweisen – auch nicht in Haifischzähnen“, sagt Rüdiger Kniep. „Die chemische Analyse zeigt jedoch, dass das künstlich erzeugte Komposit genau gleich viel organische Komponenten enthält wie menschlicher Zahnschmelz.“ Während das Zahnbein im Zahninneren ähnlich aufgebaut ist wie Knochen,



FOTOS: WOLFGANG FISLER

Bänder aus Apatit-Gelatine-Komposit werden aus Gelatine-Pfropfen herausgeschnitten (oben und unten).



In einem 40 Grad Celsius heißen Wasserbad wird das Apatit-Gelatine-Komposit (weißes Produkt) von der überschüssigen Gelatine getrennt.



Gereinigtes Apatit-Gelatine-Komposit.

enthält der auf der Außenseite liegende Zahnschmelz Apatitkristalle, die wesentlich größer sind als die in Knochen oder Zahnbein. Mit 98 bis 99 Gewichtsprozent Apatit ist Zahnschmelz das mineralreichste und härteste Material im menschlichen Körper – und genau den gleichen, hohen Mineralanteil finden die Dresdner Forscher in ihrem künstlich erzeugten Komposit.

EINE SCHALE AUS APATITNADELN

Interessant ist auch, dass sich um die geschlossenen fraktalen Kugeln bald eine Schale bildet, die aus etwa parallel zueinander ausgerichteten Apatitnadeln besteht. Ihre Struktur gleicht der des Zahnschmelzes. „Auch dieses ‚zweite Leben‘ entwickelt sich ohne das Zutun von Zellen“, stellt Kniep fest. Geben die Forscher die Kugel-Schale-Komposite in eine Lösung, in der sich die mineralische Komponente langsam auflöst, beobachten sie ebenfalls Ähnlichkeiten mit natürlichem Zahnmaterial. Denn zuerst löst sich der Kern der Struktur. Dabei entsteht eine Hohlkugel, die immer dünner wird, bis sie in sich zusammenbricht. Auch bei Karies löst sich zunächst das Zahnbein. Es entsteht ein Hohlraum, bis der Zahnschmelz ebenfalls bricht.

Inzwischen haben die Dresdner Wissenschaftler begonnen, auch Komposite aus Gelatine und Hydroxy-Apatit zu züchten und zu untersuchen. Während diese Detailstudien vor allem der Grundlagenforschung dienen, sind die Forscher längst dabei, ihre Apatit-Komposite zur Anwendungsreife zu entwickeln. „Unsere Komposite wachsen regelrecht mit dem Zahn zusammen“, schildert Kniep. Damit entsteht eine natürliche Verbindung zwischen Zahn und Füllmaterial. Mitarbeiter der von Rüdiger Kniep und anderen Forschern gegründeten Firma Sus-Tech arbeiten derzeit an den Details, um die neue Technik marktreif zu machen. Finanziell unterstützt werden sie dabei vom Bundesforschungsministerium, der Techni-

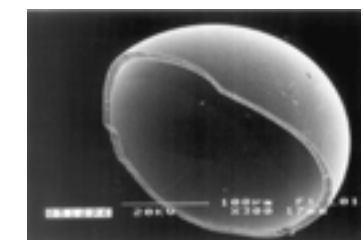
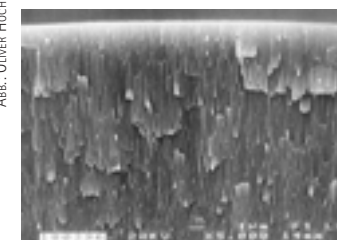
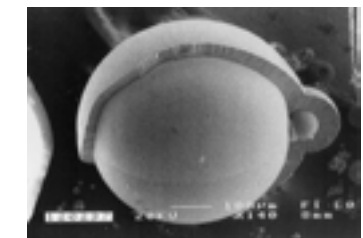
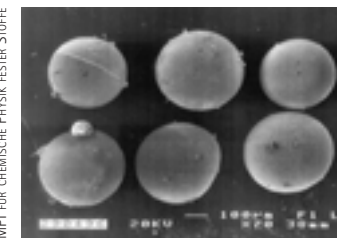
schen Universität Darmstadt und dem Chemiekonzern Henkel.

Ein anderes Konzept zur Erzeugung und Nutzung von Biomineralien wird heute bereits medizinisch genutzt. Chirurgen greifen beispielsweise schon seit einiger Zeit zu Knochenersatz aus Apatit – vor allem, wenn sie größere Knochendefekte auffüllen müssen. Die Anforderungen an ein ideales Implantat sind hoch: Es muss ausreichend porös sein, sodass Knochen und Implantat zusammenwachsen können; es muss vom Körper ähnlich schnell akzeptiert werden wie natürlicher Knochen, der ständig auf- und abgebaut wird; und es muss ausreichend stabil sein, damit der behandelte Knochen nicht bei nächster Gelegenheit bricht. Neben festem Knochenersatz gibt es außerdem Knochenzemente, die Apatit enthalten. Der Chirurg verarbeitet sie als Paste, die dann im Körper aushärtet. Schließlich werden Implantate aus Metall (wie beispielsweise künstliche Hüftgelenke) häufig mit Calciumphosphat beschichtet. Letzteres wirkt wie ein Klebstoff zwischen dem Knochen und dem Implantat – zwischen blan-

kem Metall und Knochen würde keine feste Verbindung entstehen. Durch die Erforschung der Biomineralisation von Calciumphosphat wollen Wissenschaftler aber nicht nur zur Entwicklung weiterer und besserer Materialien für Knochen- und Zahnersatz beitragen. Vielmehr geht es auch darum, die Ursachen häufiger Zivilisationskrankheiten unter die Lupe zu nehmen, die immer dann auftreten, wenn Calciumphosphat im Körper am „falschen“ Ort kristallisiert. So blockieren Ablagerungen aus Apatit und Cholesterin die Blutgefäße und führen zu Arteriosklerose, der häufigsten Todesursache bei Menschen in Industrieländern. Auch Blasensteine und Zahnstein bestehen zum größten Teil aus Apatit. Schließlich kommt es zur Osteoporose, wenn Knochen im Körper vermehrt abgebaut wird, ohne dass sich gleichzeitig neues Material bildet, wie dies normalerweise der Fall ist. Auch hier könnte die Erforschung der Biomineralisation von knochen- und zahnähnlichen Materialien in Zukunft neue Behandlungsmöglichkeiten eröffnen.

UTE HÄNSLER

ABB.: OLIVER HOCHREIN, MPI FÜR CHEMISCHE PHYSIK FESTER STOFFE



Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigen oben links Fluorapatit-Gelatine-Komposit-Kugeln. Auf die geschlossene Kugel wächst eine Schale auf (oben rechts), die aus parallel zueinander orientierten Nadeln besteht (unten links). Unten rechts ist ein Schalenbruchstück zu sehen. Die Schalen sind relativ hart; ihre Struktur gleicht der des menschlichen Zahnschmelzes.