



BAYERISCHE AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN

SYMPOSIUM AM 10. MAI 2006

**Medizintechnik:  
Möglichkeiten und Grenzen**

TAGUNGSBAND

Eine Veranstaltung des **BAdW Forums Technologie** in Kooperation mit



Nuklearmedizinische Klinik und  
Poliklinik der TU München



## Vorwort

Prof. Dr. Josef Dudel

In der Medizin sind in den letzten Jahrzehnten zunehmend moderne technische Entwicklungen zur Anwendung gekommen. Sie haben neue Möglichkeiten eröffnet, die Diagnosen von Beschwerden und Krankheiten zu verfeinern und Therapien zu verbessern. Diese Entwicklungen stammen einerseits aus der Biochemie, Molekularbiologie und Genetik, andererseits aus Physik, Biomechanik, Elektronik und Informatik. Unser Symposium Medizintechnik kann nicht alle diese Felder umfassen, es wird sich dieses Mal auf die physikalischen Aspekte beschränken müssen. Auch aus diesem großen Gebiet können nur einige Beispiele erörtert werden.

Die älteste physikalische diagnostische Methode ist wohl die Messung der Körpertemperatur, und als erste komplexere Anwendung ist die Röntgenuntersuchung wohl bekannt. Das Sichtbarmachen der inneren Körperorgane und ihrer Störungen wurde mit verschiedenen physikalischen Techniken weiterentwickelt, z. B. in der Positronenemissionstomografie (PET). Die moderne biologische Bildgebung nimmt im Symposium breiten Raum ein. Sie kommt in wachsendem Umfang, meist in hochentwickelten Großgeräten zur Anwendung.

Als therapeutische Verfahren kommen die mikroinvasive Chirurgie und die nervengesteuerte Prothese zur Sprache. Erstere operiert im Körperinneren durch ein kleines Zugangsloch, verwendet Faseroptiken für Beleuchtung und Sicht, sowie minimalisierte mechanische Instrumente die auch Roboterfunktionen integrieren können. Prothesen, z.B. die eines Beines, werden gewöhnlich nur passiv mitbewegt. Neue Entwicklungen verknüpfen Motoren und Sensoren in den Gelenken der Prothese mit der Aktivität von Nerven des Prothesenträgers, der lernen kann, Prothesenbewegungen zu steuern.

Nach diesen Beispielen soll allgemeiner die Rolle der Medizintechnik in der Gesellschaft gewürdigt werden. Die innovativen Entwicklungen in Deutschland werden mit deren Stand im Ausland verglichen. In einer Podi-

umsdiskussion werden schließlich die gesellschaftlichen Probleme der Medizintechnik angesprochen. Das sind zum einen die Finanzierungslasten für die zum Teil teuren Geräte und ihren Betrieb: Wie viel nützen die technischen Verfahren dem Patienten, und wie weit kann die Gesellschaft die Kosten tragen? Am Ende – und eigentlich `vorher` zu überlegen, die ethischen Probleme: Wird die Würde des Menschen durch seine Auslieferung an die Maschinen unverantwortlich verletzt? Soll die Technik alles tun was sie kann, in der Absicht dem Menschen zu helfen?

Josef Dudel

Mitglied im „BAW Forum Technologie“

Institut für Neurowissenschaften der Technischen Universität München

Symposium

## Medizintechnik: Möglichkeiten und Grenzen

10. Mai 2006 in der Residenz München, Alfons-Goppel-Straße 11  
Plenarsaal der Bayerischen Akademie der Wissenschaften, 1. OG

### Programm

- 15.00 – 15.30 Uhr **„Minimalinvasive Chirurgie: Chirurg und/oder Roboter“**  
Prof. Dr. Rüdiger Siewert, ärztlicher Direktor des Klinikums rechts der Isar,  
TU München
- 15.30 – 16.00 Uhr **„Die nervengesteuerte Prothese“**  
Prof. Dr. Thomas Brandt, Direktor der Neurologischen Klinik, Klinikum Großhadern,  
LMU München
- 16.00 – 16.30 Uhr **„CT-Technology: Der gläserne Patient“**  
Prof. Dr. Willi Kalender, Direktor des Instituts für Medizinische Physik,  
Universität Erlangen-Nürnberg
- 16.30 – 17.00 Uhr **Pause**
- 17.00 – 17.30 Uhr **„Biologische Bildgebung: Form und Funktion“**  
Prof. Dr. Markus Schwaiger, Direktor der Nuklearmedizinischen Klinik und Poliklinik,  
TU München
- 17.30 – 18.00 Uhr **„Nanotechnologie: Klein aber fein“**  
Prof. Dr. Joachim P. Spatz, Lehrstuhl für Biophysikalische Chemie,  
Universität Heidelberg
- 18.00 – 18.30 Uhr **„Medizintechnik: Deutschland im Vergleich“**  
Dr. Heinrich Kolem, Siemens Medical Solutions
- 18.30 - 19.30 Uhr **Podiumsdiskussion**  
mit den Referenten und  
– Prof. Schwaiger (Moderator)  
– Staatssekretär Jürgen W. Heike, Bayerisches Staatsministerium für Arbeit und Sozi-  
alordnung, Familie und Frauen  
– Prof. Dr. Friedrich W. Graf, Lehrstuhl für Systematische Theologie, LMU München
- 19.30 - 20.30 Uhr **Empfang**

## Minimal-invasive Chirurgie und/oder Roboter?

**Prof. Dr. Rüdiger Siewert**  
**Klinikum rechts der Isar, TU München**

Moderne Technologien haben die Einführung so genannter minimal-invasiver Operationstechniken überhaupt erst möglich gemacht. Da diese neuen Verfahren für den Patienten bei bestimmten Indikationen durchaus Vorteile bieten, lag der Ansatz nahe, durch eine noch weitergehende Technisierung der Chirurgie eine nochmalige Verbesserung des therapeutischen Vorgehens zu erreichen. Der Einsatz von so genannten Operationsrobotern – besser als mechatronische Unterstützungssysteme zu bezeichnen – war der Kulminationspunkt derartiger Tendenzen.

Für hochpräzise Aufgaben, wie z.B. Markraumborungen, wurden modifizierte Industrieroboter als programmierbare Automaten eingesetzt.

Speziell konstruierte, technisch durchaus anspruchsvolle Systeme wurden vor allem für die Kameranachführung entwickelt. Für das echte maschinelle – allerdings vom Chirurgen gesteuerte – Operieren wurden so genannte „Master-Slave-Systeme“ entwickelt.

Heute steht einwandfrei fest, dass mit keinem System und in keinem Anwendungsbereich auch nur annähernd die erwartete Verbesserung des Versorgungsprozesses erreicht werden konnte. Das hochpräzise Ausfräsen bzw. -bohren von Implantatlagern geht offensichtlich mit einer massiven Traumatisierung der Weichteile her, während die quasi feinmechanische Präzision in dem biologischen System des Knochens keineswegs Vorteile bringt. Unter aufsehenerregenden Begleitumständen sind derartige programmierbare Automaten praktisch über Nacht wieder aus dem klinischen Einsatz genommen worden.

Auch Kameraführungssysteme – technisch durchaus ausgereift – wurden bedeutungslos, sobald im klinischen Einsatz klar wurde, dass zwar unter günstigen Bedingungen eine Verringerung des Personalaufwands während des Eingriffs möglich wurde („Solo-Chirurgie“), dafür aber deutlich verlängerte Rüstzeiten im OP in

Kauf genommen werden mussten. In der Summe blieb der Personalaufwand somit gleich.

Zudem ist das flexible Reagieren auf Sondersituationen beim Einsatz von Führungssystemen problematisch, sodass eine „menschliche Eingreifreserve“ weiterhin vorgehalten werden muss. Folgerichtig scheiterte die breite Einführung auch dieser Systeme.

Die Verwendung von „Master-Slave-Systemen“ ist der konsequenteste Ansatz, die Vorteile von mechatronischen Systemen wie die hohe Präzision, die fast fehlerfreie Ausführung der intendierten Bewegung usw. für den chirurgischen Eingriff zu nutzen. Zwischenzeitlich konnte zwar nachgewiesen werden, dass fast jeder chirurgische Eingriff prinzipiell auf diese Weise durchführbar ist, aber der immense zusätzliche Aufwand in keiner Weise durch besondere Vorteile gerechtfertigt ist.

Vordergründig könnte der Eindruck entstehen, dass das Thema Robotik in der Chirurgie für die absehbare Zukunft erledigt sei. Aus unserer Sicht wäre das aber wiederum zu kurzsichtig. Ähnlich wie nicht erwartet werden kann, dass der Einbau eines modernen Hochleistungstriebwerks in einen Oldtimer zu einer Funktionsverbesserung des Fahrzeugs führt, genau so wenig konnte der Einsatz von hochkomplexen Geräten wie z.B. von Master-Slave-Systemen in konventionellen OP's und bei ansonsten konventionell ablaufenden Prozessen erfolgreich sein.

Vorstellbar ist aber, dass im Umfeld der künftigen „computerassistierten Chirurgie“ das Modul Robotik (wieder) einen sinnvollen Platz finden könnte. In den Bereichen der rechnergestützten Therapieplanung und -simulation, der intraoperativen Navigation und der Prozessmodellierung und -optimierung werden derzeit klinisch außerordentlich relevante Fortschritte gemacht. Diese werden zwar wesentlich weniger spektakulär wahrgenommen, aber revolutionieren in viel höherem Maße als die Robotik das chirurgische Handeln. Mittel-

fristig wird die Veränderung der Handlungsumgebung, d.h. des Interventionsraums, dann auch den Einsatz von mechatronischen Hilfssystemen wieder möglich und sogar sinnvoll machen. Dabei wird es sich aber um eine neue Generation von zumindest teilautonomen, „humanoiden“ Assistenzeinheiten, die neben geeigneteren Schnittstellen zwischen dem Operateur und dem System auch eine gewisse Intelligenz aufweisen, handeln, die mit den heutigen Lösungsansätzen nur noch die Begrifflichkeit gemeinsam haben.

## Die nervengesteuerte Prothese

Prof. Dr. Thomas Brandt  
Neurologische Klinik und Poliklinik, Klinikum Großhadern, LMU München

Die sensomotorische Steuerung biologischer und technischer Systeme unterliegt eng verwandten Gesetzmäßigkeiten. Einerseits können mit Hilfe externer elektrischer Reize neuronale Funktionsstörungen von Hirn oder Rückenmark therapeutisch verbessert werden, andererseits können biologische Prinzipien technische Konzeptionen inspirieren. Drei Beispiele sollen die vielversprechende Interaktion von Biologie und Technik, Mensch und Maschine für die Neurologie und Neuropsychologie erläutern.

### 1. Fahrradfahren Querschnittgelähmter mittels funktioneller Elektrostimulation

Zu einer Querschnittlähmung kommt es bei einer Unterbrechung der motorischen Nervenbahnen im Rückenmark, häufig durch Wirbelsäulenverletzungen. Das Rückenmark verbindet das Gehirn mit den Nerven und Muskeln. Eine willkürliche Bewegung wird in der motorischen Hirnrinde geplant, in Form unterschiedlicher Bewegungsmuster von Nervenzellen kodiert und über einen langen Nervenzellfortsatz, das Axon, durch das Rückenmark weitergeleitet. Hier erfolgt in unterschiedlicher Höhe die Umschaltung auf die 2. motorische Nervenzelle, die dann über die Arm- und Beinerven die Muskeln erreicht. Patienten mit einer Querschnittlähmung haben intakte nachgeschaltete Nerven der Gliedmaßen und eine funktionsfähige Muskulatur. Die Übertragung der Erregung von Nerv zu Muskel erfolgt über die motorische Endplatte. Nerv und Muskel erhalten jedoch vom zentralen Nervensystem keine sinnvollen Signale mehr.

Durch elektrische Reizung über in die Muskulatur eingepflanzte oder an der Haut oberflächlich angebrachte Elektroden ist es grundsätzlich möglich, die zu den gelähmten Muskeln gehörigen Nerven zu erregen und dadurch Muskelkontraktionen auszulösen. Bei der Elektrostimulation über die Hautelektroden fließt zwischen positiver und negativer Elektrode Strom, die die

darunter liegenden Nervenfasern erregt. So kann man je nach Lage der Elektrode gezielt Streck- oder Beugemuskeln erregen. Grundsätzlich kann man es so querschnittsgelähmten Patienten ermöglichen, mit Hilfe des Stroms aus dem Sitzen aufzustehen, einige Schritte zu gehen oder Fahrrad zu fahren (Vgl. Abb.). Dies erfolgt durch sinnvolle Kombination der Reizfolge an unterschiedlichen Muskeln, beim Fahrrad in Form einer pedalwinkelabhängigen Reizung über einen programmierbaren Stimulator.

### 2. Behandlung der Parkinson-Erkrankung, der Dystonie und des Tremors mit der elektrischen tiefen Hirnstimulation

Nachdem die neurologische Forschung der letzten Jahrzehnte verschiedene funktionelle Verbindungen des Gehirns definieren konnte, gelang die selektive Beeinflussung einzelner Schaltglieder dieser Verbindungen mittels der „tiefen Hirnstimulation“. Hierbei werden durch eine dünne Elektrode, die im Gehirn verbleibt, über Jahre und Jahrzehnte kurze, hochfrequente Stromimpulse appliziert, so dass das umliegende Nervengewebe gehemmt wird. So gelingt unter anderem die Aufhebung der Hemmung anderer Nervenzentren, so dass z. B. die verlangsamten Bewegungen des Parkinson-Patienten wieder schnell und flüssig werden. Auch grobes Zittern von Kopf und Extremitäten (Tremor) und schmerzhaft unwillkürliche Dystonien können mit Hilfe der gezielten elektrischen Reizung tiefer motorischer Kernkomplexe nachhaltig unterdrückt werden. Während derzeit die Anwendungen hauptsächlich auf dem Gebiet der neurologischen Bewegungsstörungen liegen, zeigen einige erfolgreiche Therapieveruche, dass auch psychiatrische Erkrankungen, die anderweitig nicht therapierbar wären, mit dieser Methode günstig beeinflusst werden können.



Abb.: Ein komplett querschnittsgelähmter Patient fährt mit Hilfe der funktionellen Elektrostimulation Fahrrad.

### 3. Blickgesteuerte Kopfkamera

An der Neurologischen Klinik wurde in Zusammenarbeit mit Ingenieuren der LMU und TU ein kopffixiertes Kamerasystem entwickelt, dessen optische Achse von der Blickrichtung seines Trägers gesteuert wird, so dass unter Einsatz herkömmlicher Videotechnik verwacklungsfreie Bilder aus der Perspektive des Trägers aufgenommen werden können, ohne dass dessen Bewegungsfreiheit von Augen, Kopf, Armen und Beinen eingeschränkt werden. Das menschliche Augenbewegungssystem dient als biologisches Modell und Antrieb für die mechanische Steuerung der Kamera. Entsprechend können sowohl monokuläre als auch binokuläre Kamerasysteme entwickelt werden, die – tragbar und/oder kopffest montiert – ihre optische Achse kontinuierlich zur Blickrichtung des Trägers parallel ausrichten. Die Information zur Ausrichtung des Kamerasystems liefert ein videogestütztes Messsystem (Videookulographie), das die Augenbewegungen des Kameraträgers ermittelt. Dazu werden sowohl willkürliche Augenbewegungen, wie sakkadische Blicksprünge oder lang-

same Folgebewegungen, als auch unwillkürliche Augenbewegungen, wie sie bei der Aktivierung der vestibulo-okulären oder optokinetischen Reflexe auftreten, durch dreidimensionale Videookulographie erfasst, um als Signal für den Antrieb der in 3 Ebenen angeordneten Kamera-Servomotoren zu dienen. Das heißt, der motorische Ausgang eines in der Biologie über Millionen von Jahren optimierten sensomotorischen Systems zur Kontrolle von Augenbewegungen während gleichzeitiger Kopfbewegungen dient zur Steuerung eines technischen „Auges“. Das neuartige Kamerasystem wurde bereits von Chirurgen zur Dokumentation von Operationen getestet.

## CT-Technologie: Der gläserne Patient

Prof. Dr. Willi A. Kalender

Institut für Medizinische Physik, Universität Erlangen-Nürnberg

Die Röntgen-Computertomographie (CT) zeichnet sich seit Jahren durch eine rasante technische Entwicklung und damit einhergehend durch eine starke Ausweitung ihres klinischen Leistungsvermögens aus. Die technischen Voraussetzungen wurden durch die Einführung der Spiral-CT, d.h. den Übergang von der Aufnahme einzelner Schichten zu kontinuierlicher Volumenerfassung, und durch die Entwicklung von mehrzeiligen Detektorarrays zur simultanen Erfassung mehrerer Schichten geschaffen. Die daraus resultierende Mehrschicht-Spiral-CT (MSCT) stellt heute das Standardaufnahmeverfahren in der klinischen CT dar. In diesem Beitrag sollen die technischen Voraussetzungen, aktuelle Weiterentwicklungen und Beispiele zum klinischen Einsatz dargestellt und diskutiert werden.

### Technologie

Moderne CT-Geräte der Spitzenklasse haben inzwischen erstaunliche Leistungsmerkmale erreicht; einige typische Werte sind in Tabelle 1 in ihrer Entwicklung über die Zeit aufgezeigt. Wesentliche Basistechnologien, die diese Leistungssteigerungen hervorgebracht

haben, sind die Mechanik, die Röntgenquelle, der Detektor und die Bildrekonstruktions-Hardware und -Algorithmen.

Bei Rotationszeiten von nur 0,3 bis 0,5 Sekunden pro 360° und den dabei auftretenden Kräften ist die Bedeutung der mechanischen Konstruktion nicht zu unterschätzen und stellt für zukünftige Entwicklungen einen wesentlichen Faktor dar. Die Röntgentechnik und die Detektortechnologie standen hingegen schon immer als Kerntechnologien im Zentrum des Interesses. Hier sind in den letzten Jahren erneut erfreuliche Fortschritte erzielt worden. Neuentwicklungen in der Röhrentechnologie, Weiterentwicklung von vielzeiligen Detektoren und die erstmalige Bereitstellung eines Gerätes mit zwei Röhren und zwei Detektoren (Dual Source CT - DSCT) stehen dabei im Vordergrund.

Die neue Drehkolbenröhrentechnologie (Stratonröhre - Abb. 1a) basiert darauf, dass das gesamte Vakuumgefäß rotiert (und nicht nur die Anode im Vakuumgefäß), und erlaubt damit erstmals eine direkte Kühlung der Anodenrückseite, die Teil dieses Gefäßes ist, und damit

**Tabelle 1: Einige Leistungsmerkmale der CT im Vergleich von 1972 bis 2006**  
(typische Werte für Scanner der höchsten Leistungsklasse)

	1972	1980	1990	1998	2003	2005 (DSCT)
Rotationszeit pro 360°	300 s	5-10 s	1-2 s	0,4-1,0 s	0,33-0,5 s	eff. < 330 ms
Leistung	2 kW	10 kW	40 kW	40-60 kW	60-80 kW	2 × 80 kW
Schichten pro 360°-Scan	2	1-2	1	4	32-64	2 × 64
Schichtdicke	13 mm	2-10 mm	1-10 mm	0,5-5 mm	0,5-1 mm	0,5-1 mm
Ortsauflösung	3 Lp/cm	8-12 Lp/cm	10-15 Lp/cm	10-15 Lp/cm	12-25 Lp/cm	12-25 Lp/cm
Bildmatrix	80 × 80	256 × 256	512 × 512	512 × 512	512 × 512	512 × 512
Kontrastauflösung	5 mm/5 HU/ 50 mGy	3 mm/3 HU/ 30 mGy	3 mm/3 HU/ 30 mGy	3 mm/3 HU/ 30 mGy	3 mm/3 HU/ 30 mGy	3 mm/3 HU/ 30 mGy

deutlich erhöhte Dauerleistungswerte. Zusätzlich verfügt sie über Möglichkeiten der Fokuspositionskontrolle, die eine verfeinerte Abtastung des Objektes ermöglicht. Die Kombination dieser Röhrentechnik mit Doppelabtastung und einem 32-zeiligen Detektor (Abb. 1b) ermöglicht es zum Beispiel, 64 Schichten simultan zu erfassen.

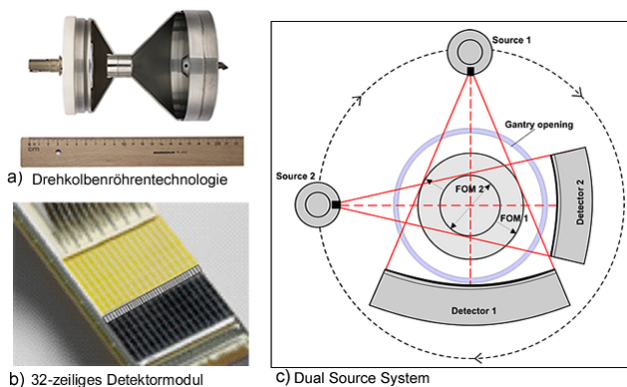


Abb. 1: Die technologische Basis der modernen Mehrschicht-CT

- Neue Röntgenröhrentechnologien, z.B. die so genannten Drehkolbenröhren mit höheren Leistungsreserven bei geringerer Baugröße und geringerem Gewicht.
- Scintillationskeramiksensoren mit integrierter Elektronik.
- Neue Systeme mit zwei Röhren und zwei Detektoren (DSCT).

Einen weiteren Höhepunkt der Entwicklung stellt die Einführung eines neuen CT-Systems mit zwei Messsystemen dar (Abb. 1c). Auf der Basis dieser technischen Entwicklungen sind die Untersuchungen ganzer Organe oder auch des kompletten Körperstamms bei Rotationszeiten von 0,33 bis 0,5 Sekunden in 5 bis 30 Sekunden mühelos und damit auch sehr patientenfreundlich möglich. Neben der Erhöhung der Untersuchungsgeschwindigkeit ist ein besonderer Vorteil darin zu sehen, dass mit den verfeinerten Detektoren und verbes-

serter Abtastung nicht nur die Bildqualität sondern insbesondere die Ortsauflösung erhöht werden konnten. Inzwischen sind isotrope 3D-Ortsauflösungswerte von besser als 0,4 mm verfügbar. Dies schließt auch die Bildgebung am Herzen mit MSCT ein.

Als Ergebnis liegen Datensätze von typischerweise 500 bis 2000 Bildern pro Untersuchung vor. Die Auswertung und Weiterverarbeitung dieser Daten stellt inzwischen ein eigenes Arbeitsgebiet mit eigener Technologie dar. Visualisierungstechniken und die computerunterstützten Diagnoseverfahren sind Beispiele hierfür.

## Anwendungen

Die moderne CT weist ein außerordentlich breites Anwendungsspektrum auf, das sich in den letzten Jahren noch erweitert hat. Ein wesentlicher Grund ist die mit kurzen und damit routine- und patientenfreundlichen Untersuchungszeiten erreichte hohe Bildqualität (Abb. 2). An dieser Stelle soll gezielt nur auf die Bildgebung am Herzen und auf bildgestützte navigierte Interventionen eingegangen werden.

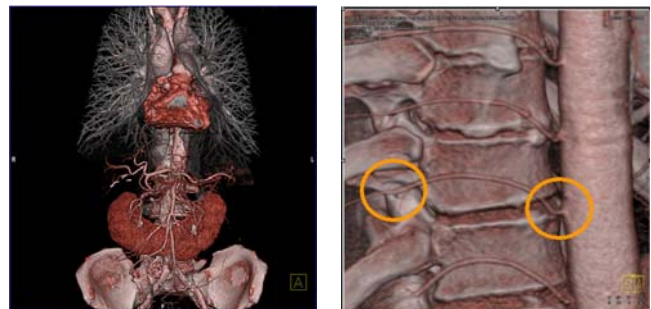


Abb. 2: CT-basierte 3D-Darstellungen der Patientenanatomie sind diagnostisch in vielen Fällen entscheidend. Sie sind oft auch als Information für den überweisenden Arzt und für den Patienten wertvoll.

Obwohl die Kardio-CT und insbesondere die nichtinvasive CT-Koronarangiographie sich inzwischen weitgehend etablieren konnten, mussten Einschränkungen bei hohen Herzfrequenzen anerkannt werden. Daraus ergab sich die Forderung nach kürzeren effektiven Scanzeiten, die über den Einsatz von Systemen mit zwei Röhren und zwei Detektoren (Dual Source) (Abb. 1c) weitgehend gelöst werden. Bei Rotationszeiten von 330 ms werden effektive Scanzeiten von maximal 83 ms und in günstigen Fällen unter 50 ms erreicht. Nach unserer Erfahrung über nunmehr vier Monate Einsatz eines SOMATOM Definition können damit praktisch alle klinischen Fälle erfolgreich erfasst werden (Abb. 3).

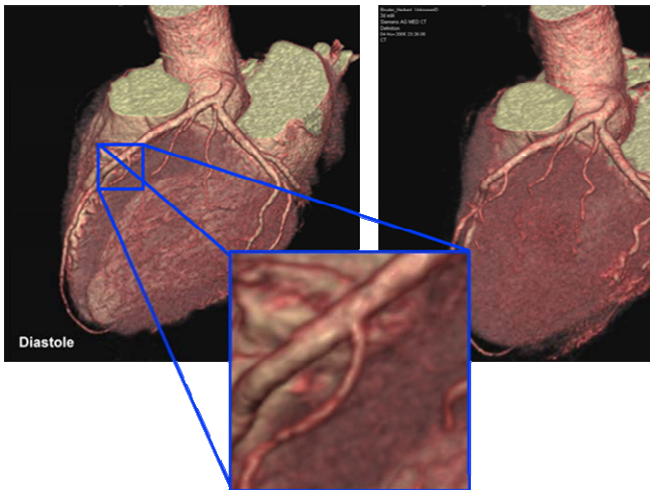


Abb. 3: CT-Koronarangiographie mit dem Dual-Source-System SOMATOM Definition. Bei effektiven Scanzeiten von 83 ms und weniger werden auch in schwierigen Situationen hervorragende Ergebnisse erzielt.

Die hohe und isotrope Ortsauflösung stellt auch die Grundlage für verbesserte und präzisere interventionelle und chirurgische Eingriffe dar. Navigierte bildgestützte Interventionen können heute unter Navigationskontrolle präziser und mit höherer Sicherheit durchgeführt werden.



Abb. 4: Auf der Basis der 3D-Bildinformation und mit Hilfe moderner Navigationstechnik können auch komplizierte Interventionen millimetergenau und mit erhöhter Sicherheit durchgeführt werden.

Die Abbildungen wurden mit freundlicher Genehmigung des Verlags aus W.A. Kalender: Computertomographie, 2. Aufl., Publicis, Erlangen 2006 entnommen.

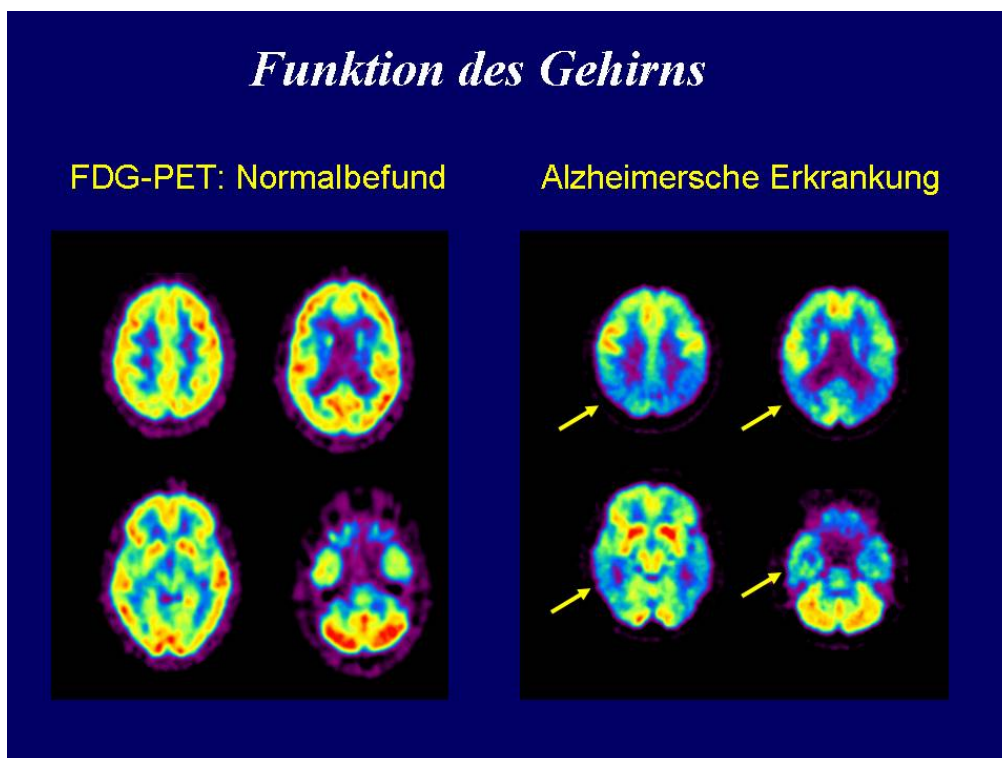
## „Biologische Bildgebung: Form und Funktion“

Prof. Dr. Markus Schwaiger

Nuklearmedizinische Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München

Vor ungefähr 100 Jahren wurden die Röntgenstrahlen erstmals beschrieben. Der Einsatz dieser neuen Technologie in der Medizin hat zu einer raschen Entwicklung der medizinischen Bildgebung geführt. Mit Röntgenstrahlen wird die Dichte von Gewebe dargestellt und somit die Struktur von Knochen, Weichteile und Muskel mit hoher räumlicher Auflösung erfasst. Seit der ersten Anwendung hat sich die Methodik in vielen Aspekten weiter entwickelt. Planare Bildgebung wurde durch dreidimensionale Bildgebung durch die Computertomographie ersetzt, die eine Erfassung des ganzen Körpers in wenigen Sekunden erlaubt. In Kombination mit Kontrastmitteln kann nicht nur das Gewebe, sondern auch das Gefäßsystem visualisiert werden, und somit Änderungen der vaskulären Versorgung einzelner Organe mit hoher diagnostischer Genauigkeit dargestellt werden. Ein entscheidender Fortschritt war die Erfindung der Kernspintomographie. Diese Methode arbeitet ebenfalls ohne Strahlung und erlaubt die Erfassung der

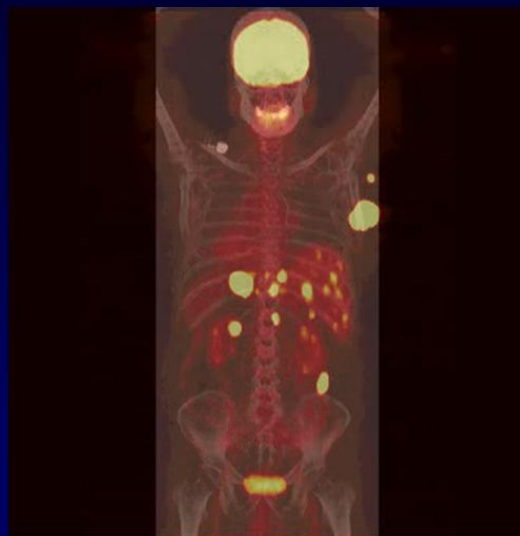
Protonenverteilung im Körper aufgrund ihres Verhaltens im Magnetfeld. Computertomographie, Ultraschall und Kernspintomographie sind Verfahren, die zu einer hervorragenden Darstellung der Körperstrukturen in submillimeter Auflösung geführt haben. Neben diesen strukturellen Verfahren hat sich insbesondere die Szintigraphie, d.h. der Einsatz von radioaktiv markierten Markern zur Erfassung der Gewebefunktion bewährt. Mit Hilfe radiochemischer Verfahren können Substanzen mit Radioisotopen markiert werden, ohne dass sich ihr biologisches Verhalten im Körper wesentlich verändert. Nach intravenöser Gabe solcher radioaktiv markierter Substanzen kann z.B. der Stoffwechsel im Gehirn (Fig. 1) spezifisch dargestellt und gemessen werden. Durch die Gabe z.B. von radioaktivem Jod wird die Funktion der Schilddrüse charakterisiert, und ihre Produktion von Schilddrüsenhormonen abgeschätzt. Die szintigraphische Bildgebung hat einen wesentlichen



Impuls durch die Einführung der Positronen-Emissions-Tomographie erhalten. Diese ebenfalls tomographische Methode erlaubt die Quantifizierung der regionalen Verteilung radioaktiver Stoffe im Körper mit hoher Sensitivität. Picomolare Konzentrationen radioaktiv markierter Substanzen können mit dieser Methode entdeckt werden. Positronenstrahler sind z.B. Kohlenstoff-11, Sauerstoff-15 oder Fluor-18. Diese Radioisotope werden in Moleküle eingebaut, ohne deren biologisches Verhalten wesentlich zu verändern. So kann ganz speziell mit der Fluor-18-markierten Glukose der Stoffwechsel im Tumorgewebe gemessen werden und damit die Aggressivität von Tumorerkrankungen abgeschätzt werden (Fig. 2). Mit Sauerstoff-15 markiertem Wasser kann die Durchblutung im Hirn und Herzen gemessen und somit die Versorgung dieser Organe mit Sauerstoff quantifiziert werden. Insbesondere in der Neurologie hat diese Methode dazu geführt, dass man die regiona-

le Aktivierung von Neuronen während bestimmter Aktivitäten überprüfen und somit Rückschlüsse auf die regionale Hirnfunktion ziehen kann. Durch den Einsatz verschiedener radioaktiv markierter Substanzen ist es möglich, biologische Prozesse zu visualisieren und somit diagnostische Untersuchungen durchzuführen, die nicht die Struktur des Körpers betreffen, sondern die molekulare Funktion einzelner Organe. Insbesondere hat sich diese Methode bei der Früherkennung von Tumorerkrankungen bewährt, da Tumorzellen eine hohe Zucker-Aufnahme aufweisen. Somit können kleine Absiedelungen von Tumoren aufgrund ihres Stoffwechsels von Normalgewebe unterschieden werden. Ebenfalls wurde gezeigt, dass die Veränderung des Stoffwechselsignals nach Beginn einer Therapie einen hohen Vorhersagewert für den Erfolg einer Therapie hat. So können mit der Positronen-Emissions-Tomographie Krebspatienten während der Therapie

## Metastasierendes Melanom

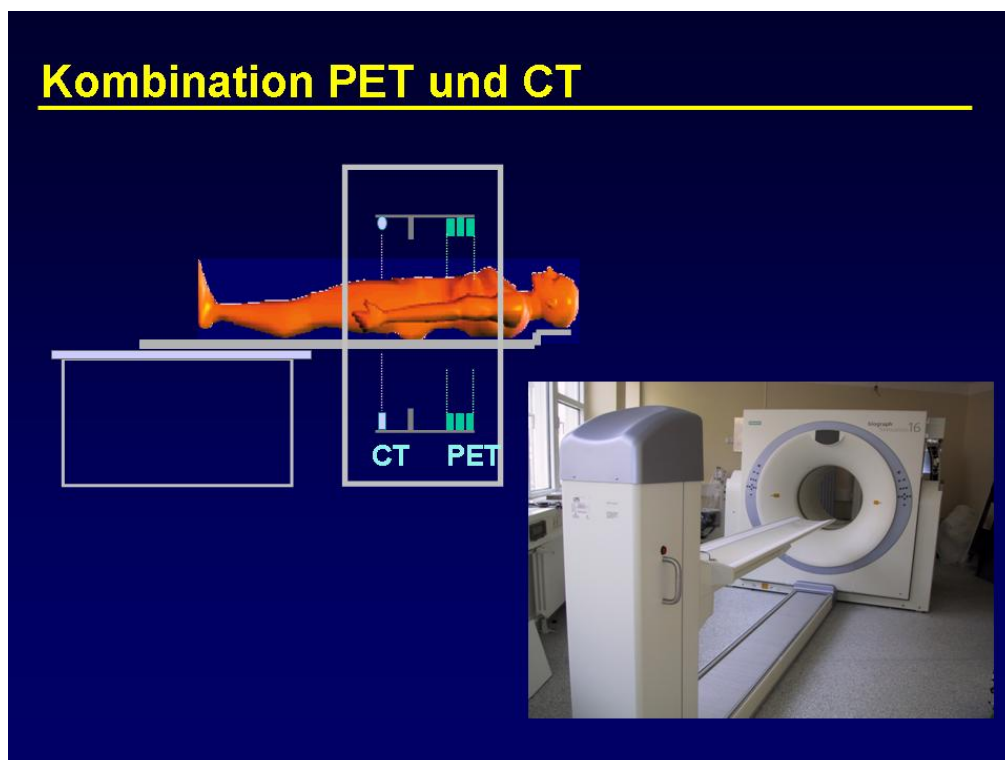


Zuckerdarstellung

überwacht werden und anhand der Ergebnisse dieser Bildgebung die Therapie individuell verbessert werden.

Der Einsatz dieser Methode hilft auch, die Vitalität von Herzmuskelzellen bei Patienten mit Herzinfarkt zu überprüfen und somit bei einer Bypass-Operation wichtige diagnostische Hilfestellung leisten. In der Kardiologie hat sich der Einsatz von spezifischen Markern der Herzinnervierung wissenschaftlich bewährt. Mit Tracermethoden können die das Herz versorgenden Nerven spezifisch dargestellt werden und Störungen, wie z.B. bei der Herzinsuffizienz gezeigt werden.

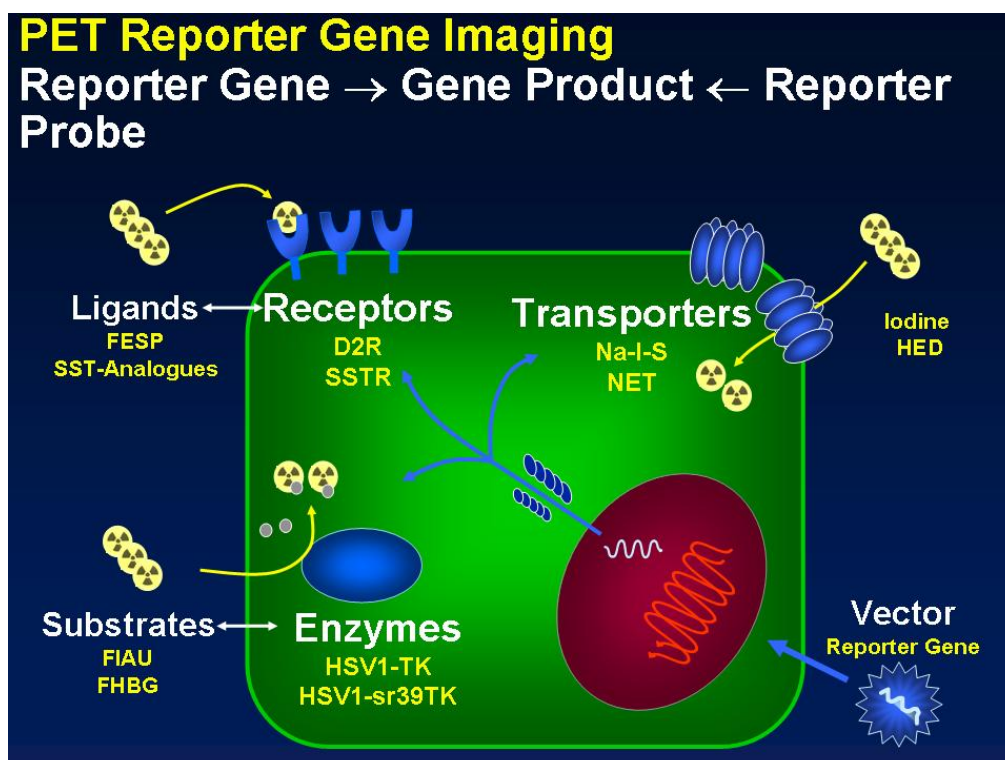
Einen Fortschritt stellt die Kombination der morphologischen und biologischen Bildgebung in einem Gerät dar (Fig. 3). So wurde vor nicht langer Zeit die PET/CT-Methodik eingeführt, ein kombiniertes Gerät, bestehend aus Computer-Tomographie und Positronen-Emissions-Tomographie. Dieses Gerät erlaubt eine Überlagerung von anatomischer und biologischer Information, die zu einer höheren diagnostischen Genauigkeit führt. So können frühe Veränderungen von Körperstrukturen auf ihre Stoffwechselaktivität untersucht werden und somit Rückschlüsse auf eine etwaige Bösartigkeit der Veränderung getroffen werden.



Neue Ansätze der molekularen Bildgebung zielen darauf hin, Proteine zu visualisieren, die durch das Einbringen genetischer Information in die Zelle exprimiert werden. Diese so genannte ‚Reporter Gen‘-Bildgebung erlaubt es, neue therapeutische Ansätze wie die Gentherapie und Stammzelltherapie zu überwachen. Bei der Gentherapie wird ein spezifisches Gen in die Zelle eingeschleust, das zu einer spezifischen Proteinsynthese führt (Fig. 4). Koppelt man diese therapeutische Proteinsynthese mit einer Reporterproteinsynthese, ist es möglich, diesen Prozess durch den Einsatz radioaktiv markierter Substanzen zu überprüfen. Diese Methoden werden zurzeit vorwiegend experimentell eingesetzt, um im Tiermodell diese neuen therapeutischen Methoden zu testen. Es wird erwartet, dass durch die Weiterentwicklung der molekularen Bildgebung auch therapeutische Zielstrukturen identifiziert werden

können und somit neue Therapieansätze am Menschen verwirklicht werden können. Es ist das Ziel, bei der Entwicklung neuer Medikamente die Bildgebung einzusetzen, um den Wirkstoff bei Patienten zu überprüfen.

Die rasche Entwicklung der Bildgebung hat in den letzten Jahren das medizinische Vorgehen stark verändert. Die Möglichkeit, durch nicht-invasive Verfahren eine Krankheit mit hoher Sicherheit zu identifizieren oder auszuschließen, wird eine gezielte Behandlung möglich. Die Therapie einer Erkrankung wie z.B. einer Krebserkrankung kann mit Bildgebung zeitnah verfolgt werden und somit auf den individuellen Patienten ausgerichtet werden. Es ist zu erwarten, dass durch die Entwicklung neuer sehr zielgerichteter Medikamente



die Bildgebung eine wichtige Unterstützung wird, diese Medikamente beim Patienten einzusetzen. Die dazu notwendige Infrastruktur, die Bildgebung möglichst vielen Patienten zur Verfügung zu stellen, ist mit hohen Investitionskosten verbunden. Es muss jedoch bedacht werden, dass durch eine gezieltere Diagnostik und eine Verbesserung der Therapie große Einsparungseffekte erreicht werden können. Deshalb erscheint in einer Kosten/Nutzenrechnung die Einführung dieser neuen, oft sehr aufwändigen Methoden gerechtfertigt, da dadurch nicht nur die Behandlung einzelner Patienten verbessert wird, sondern auch die vorhandenen Ressourcen sinnvoller genutzt werden können.

## Models of the Extracellular Matrix for Regulating Cell Function

Prof. Dr. Joachim P. Spatz

Max-Planck-Institute for Metals Research / University of Heidelberg, Biophysical Chemistry

Materials scientists can learn a great deal from the mechanisms whereby cells construct their own environment. Recent studies have shown that cell-matrix interaction is regulated by the specific multi-protein composition of the matrix, its chemical topology and its mechanical properties (Fig. 1). These studies demonstrated how cell responses associated with adhesion-mediated signaling and the subsequent molecular interactions at the cytoplasmic faces of adhesion sites can be switched on or off by changes of the molecular arrangement provided.

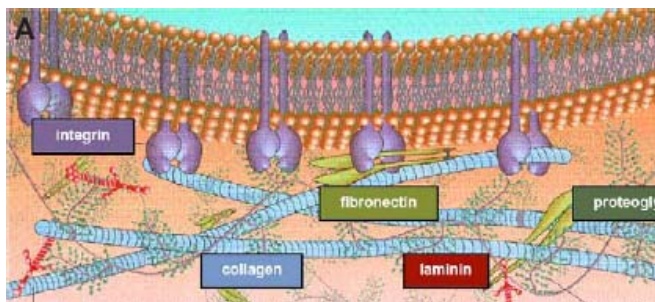
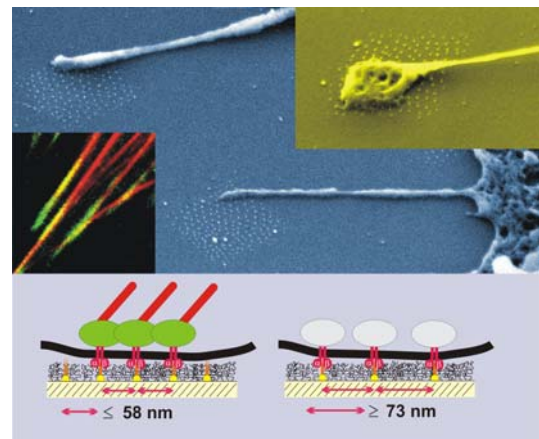


Fig. 1: A: Scheme of the extracellular matrix network. The proteins are linked to cells via transmembrane receptors which bind to adhesion-mediating ligands such as collagen, laminin or fibronectin. B: TEM image of a fibroblast surrounded by collagen fibrils, seen as black dots (perpendicular) and lines (in plane to image axis). Higher magnification shows the typical striped morphology of collagen I fibers. Images are taken from [1,2]

To study the function behind molecular and microscopic arrangement of RGD-based peptides and collagen or fibronectin fibers, we developed different materials science based tools which allow for the formation extracellular model matrices. These model surfaces enable the active manipulation of cell responses or even programming of cell responses as well as to measure molecular length scale associated with it.

Microscopic fabrication of pillar interfaces enables the formation of fibronectin or collagen fiber networks which span the micro-pillar array for testing cell responses entirely due to interaction of a cell with this particular protein fiber network of defined chemical composition and strength [3].



To study the function behind molecular arrangement of single integrins in cell adhesion, we designed a hexagonally close-packed rigid template of cell adhesive gold nano-dots coated with cyclic RGDfK peptide by lithographic means of diblock copolymer self-assembly [4]. The diameter of the adhesive dots is  $< 8$  nm, which allows the binding of one integrin per dot. These dots are positioned with high precision at 28, 58, 73 and 85 nm spacing at interfaces. A separation of  $\geq 73$  nm between the adhesive dots results in limited cell attachment and spreading and dramatically reduces the formation of focal adhesion and actin stress fibers. Protein synthesis is drastically affected by different nanopattern. We attribute these cellular responses to restricted integrin clustering. The range between 58-73 nm has been identified as a universal length scale for integrin clustering and activation, since these properties are shared by a variety of cultured cells.

- [1] R.A. Brown, G.W. Blunn, O.S. Ejim: Preparation of orientated fibrous mats from fibronectin: composition and stability. *Biomaterials*, 15(6):457–64, 1994.
- [2] M. Dembo, T. Oliver, A. Ishihara, K. Jacobson: Imaging the traction stresses exerted by locomoting cells with the elastic substratum method. *Biophys J*, 70(4):2008–22, 1996.
- [3] W. Roos, A. Roth, E. Sackmann, J.P. Spatz: Freely Suspended Actin Cortex Models on Arrays of Micro-Fabricated Pillars. *ChemPhysChem* 4: 872-877, 2003
- [4] M. Arnold, A. Cavalcanti-Adam, R. Glass, J. Blümmel, W. Eck, H. Kessler, J.P. Spatz: Activation of Integrin Function by Nanopatterned Adhesive Interfaces. *ChemPhysChem* 3: 383-388, 2004

## Activation of Integrin Function by Nanopatterned Adhesive Interfaces

Prof. Dr. Joachim P. Spatz

Max-Planck-Institute for Metals Research / University of Heidelberg, Biophysical Chemistry

Cell-cell and cell-extracellular matrix (ECM) adhesion is a complex, highly regulated process which plays a crucial role in most fundamental cellular functions including motility, proliferation, differentiation and apoptosis.[1,2] Focal adhesions are the primary cellular domains responsible for surface adhesion. These are complex multimolecular assemblies consisting of transmembrane proteins, the integrin receptors, and cytoplasmic proteins, such as vinculin, paxillin and focal adhesion kinase.[3,4,5,6,7,8,9] Cell binding to the ECM results in local accumulation of integrins, cytoplasmic proteins, which form focal adhesion clusters (FAC), and reorganization of the actin cytoskeleton, which generates forces to the underlying substrate by the work of myosin molecular motors.[10]

Despite enormous progress and challenging studies in the field of cell adhesion in the last 50 years, [3] numerous of questions concerning signaling of focal adhesion which are based on single protein assembly are unsolved. Also we know partly the existence of hierarchical and cooperative arrangement and synergetic interactions between focal adhesion proteins the understanding of its function is mainly missing as well as the significance of focal adhesion cluster size, shape, characteristic length scales between proteins in a focal adhesion cluster, and protein assembly dynamics. The existence of such knowledge together with tools that control these processes in focal adhesion will allow for tuning cell adhesion and its associated signaling with molecular precision in future.

Integrin clustering into linear objects can be clearly observed by differential interference contrast (DIC) microscopy or fluorescent optical microscopy after immunohistochemical staining of a specific protein involved in the focal adhesion cluster formation.[11] However, it is not known how adhesion and signaling of cells is coordinated by integrin clustering, integrin-integrin separation distances and integrin pattern geometries in cell membranes as well as how many in-

tegrins are necessarily involved in the formation of stable adhesion.[12] Control of these structural arrangements in the cell membrane is offered by adhesive nanotemplates or substrate topographies, and points clearly to the value of nanostructures for understanding molecular dimensions and processes in focal adhesion formation.

Integrins are heterodimers formed by the non-covalent association of  $\alpha$  and  $\beta$  subunits; the  $\beta$  subunit recognizes the RGD (Arginine-Glycine-Aspartate) motif, a sequence present in many ECM proteins. The  $\alpha$  and  $\beta$  tails form together a V-shaped flexible structure of an estimated lateral diameter of 80-120  $\Delta$ , [13,14] with the head ranging between 57-73  $\Delta$  for  $\alpha$ IIb $\beta$ 3-integrin, and ~90  $\Delta$  by 60  $\Delta$  by 45  $\Delta$  for  $\alpha$ v $\beta$ 3-integrin.[15,16] Ligand binding affinity is influenced by the conformational changes in the receptor caused by the extracellular environment and by the interactions with the cytoplasmic proteins.[17]

The adenovirus is a major example where nature demonstrates regulation of cell interactions with the extracellular site by single ligand pattern of specific geometry and that this length scale opens challenging opportunities for understanding and tailoring cell functions with ultrahigh sensitivity. The formation of a regular and stiff ligand template is a basic requirement for mimicking such molecular defined adhesive "keys" that are set by the spatial distribution of ligands for single integrin occupation. As described in the following, methods from nanotechnology already approach fidelity and functionality which provide these requirements for control of cell adhesion on a molecular level.

Making use of advanced opportunities from material sciences for the identification, location, and systematic manipulation of molecular components at interfaces points to the great potential in the development of new materials for biophysical and biochemical investigations and particularly in the field of cell adhesion. In principal,

cellular adhesion studies on the nanoscale may be divided into reaction of cells to variations in substrate topography or the presence of a chemical contrast along a substrate. While topography induces surface roughness and such greater adhesive areas, substrate's chemical contrast points to the opportunity to control transmembrane and intracellular molecule as well as protein distribution.

A group of researchers at Glasgow University demonstrated the responds of cells not only to micrometric but also to nanometric scale topography. [18,19,20] The formation of nanotopography was explored by methods based on polymer demixing, that is demixing of polystyrene and polybromostyrene, where nanoscale islands of reproducible height were fabricated. The islands showed to effect cell spreading compared to planar surfaces where morphological, cytoskeletal, and molecular changes in fibroblast reaction to 13-nm high islands were observed. It is worthwhile to notify that this topography length scale is on the order of roughness which is induced by adhesive proteins such as fibronectin or lamin as well as collagen fibers dominantly present in the ECM.

A prerequisite for the preparation of model systems which demonstrate the role of spatial ligand distributions and ligand concentration for cell adhesion in vitro is the availability of a non-adhesive surface, enabling the attribution of specific cellular responses entirely to the interaction with specific adhesion-mediating ligands. Polyethylene glycol (PEG) or polyethylene oxide (PEO) based substrates are widely used as biologically inert interfaces. Approaches that have been developed include grafting of high molecular weight PEG [21] and star shaped PEG macromolecules to substrates, [22,23] or the use of oligo(ethylene oxide) functionalized self-assembled monolayers (SAMs).[24,25]

The surface concentration and spatial distribution of cell adhesive ligands in such a biological inert PEG or PEO

background may be controlled statistically by mixing bioactive macrosystems with unsubstituted molecules, [26] or dynamically by electrochemical control of ligand release.[27] Modification of inert polymers with cell adhesive motif which often contain the amino acid sequence RGD that is also found in fibronectin and its influence on cell adhesion and signaling has been recently reviewed in detail by Kessler et al.[28]

Cell attachment to interfaces depends on many factors such as affinity and specificity of surface bound ligands to integrins, mechanical strength of ligand support and linkage, spacer length, overall ligand concentration and ligand clustering.[28] As an example, the number of attached cells is clearly correlated to RGD surface density as shown by a sigmoidal increase with RGD concentration in reference [29]. This indicates that there is a minimum ligand density for cell response. As a general rule a higher RGD surface density is related to intense cell spreading, cell survival, and focal contact formation. Since the early days of RGD mediated cell adhesion there has been an ongoing discussion about how many RGD molecules are required to induce not only cell attachment but also cell spreading and focal contact formation. Hubbell produced a benchmark result when he found that a minimal amount of as low as 1 fmol RGD ligands/cm<sup>2</sup> sufficient for cell spreading and as low as 10 fmol/cm<sup>2</sup> sufficient for formation of focal contacts and stress fibres [30]. In these studies, RGD molecules were covalently bound to glycophase glass cover slips via NH<sub>2</sub>-terminal primary amines. Smart macromolecular designs of PEG molecules such as PEG-stars allow the control of an average number of RGD ligands per star (1, 5 or 9 YGRGD peptides per star) as demonstrated by Griffith and Lauffenburger. [23,31,32,33] Cell adhesion and movement was observed for 1000 ligands/μm<sup>2</sup> or more.[23] The macromolecular approach has the advantage that the large and flexible chains may account for different cell binding activity probably caused by local enrichment of ligands at the cell membrane and anchoring compli-

ance. However, it may not account for control of precise ligand clustering as the ligand template may be not well ordered and too flexible. This offers ligands to cluster by pure chemical affinity or cells to arrange ligands to their most convenience.[32] This is different than in the case of the adenovirus where control of cell function is obtained by the arrangement of single ligands in patterns on a rigid template.

A clear understanding of how adhesion and signaling of cells depend on composition, sizes and distributions of focal adhesion clusters has been limited in patterning studies of ligands to sub-micrometer patches for a long time. Using micro contact printing,[34] surfaces patterned with adhesive and non-adhesive domains at length scales down to the micrometer level have been prepared. Such surfaces have been successfully used to geometrically control cell shape and viability.[34] Their results indicate strongly that cell shape and integrin distribution may control survival / apoptosis of cells and can switch between these two basic programs of cells.

Even smaller adhesion pattern were prepared by dip-pen nanolithography where cell adhesive patches (retroectin) of 200 nm diameter and 700 nm separation still showed attachment of cells.[35] Control of defined spacing between adhesive ligands on interfaces at protein length scales between 10 – 200 nm over large surface areas is still a challenge. However, this is the length scale on which protein clustering in focal adhesions occurs when cells adhere to interfaces. The exact spatial control of receptor clustering in cell's membrane on this length scale is demanding for challenging concepts from nanotechnology which offer nano-adhesive pattern with flexible geometries over extended surface areas at rather low production costs.

A substrate patterning strategy based on self-assembly of polystyrene-block-poly(2-vinylpyridine) (PS-b-P2VP) diblock copolymer micelles covers the mentioned length scale, that is diblock copolymer micelle lithography.

[36,37,38,39,40] PS-b-P2VP diblock copolymers form reverse micelles in toluene. The core of a micelle consists of associated P2VP blocks which complex  $\text{HAuCl}_4$  if this is added to the micellar solution. Dipping and retracting a substrate from such a solution results in uniform and extended mono micellar films supported by the substrate. Each micelle contains approximately the same quantity of Au. Treating these films with a gas plasma results in deposition of highly regular Au-nanodots forming a rather perfect hexagonal pattern on solid-state interfaces such as glass or Si-wafers. A preparation scheme is presented in Figure 1A. The scanning electron microscopy (SEM) images in Figure 1B-E show Au-dots as white spots which are arranged in pattern on Si-wafers by self-assembly of polystyrene-block-poly(2-vinylpyridine)( $\text{HAuCl}_4$ )<sub>0.5</sub> diblock copolymer micelles, that is PS-b-P[2VP( $\text{HAuCl}_4$ )<sub>0.5</sub>]. The nanoscopic patterns consist of Au-nanodots (3,5,6 or 8 nm in diameter) with spacings between dots of 28,58,73, and 85 nm respectively since adjusted by the molecular weights of PS-b-P2VP and the amount of  $\text{HAuCl}_4$  added to the micellar solution. A side view of the Au-nanodots on a Si-wafer is shown by the high resolution electron transmission microscopy image in Figure 1F.

These nanostructures serve as chemical templates for spatial arrangement of RGD based ligands as shown in Figure 1F.[41] Biofunctionalization of the interface comprises binding a polyethylene oxide layer to the silicon oxide substrate between the Au-nanodots to avoid any non-specific adsorption of proteins or parts of a cell membrane. Subsequently, the Au-dots are functionalized by RGD ligands that bind selectively to Au from a solution containing these ligands. In this study, cyclic RGD molecules have been used, that is c(RGDfK)-thiol, and has been synthesized in the group of Kessler (TU Munich). c(RGDfK)-thiols contain the cell adhesive RGD sequence which is recognized by  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ -integrin with high affinity.[42,43] In Figure 1F, Au-dots and in-

tegrins are drawn approximately to scale indicating that the size of a Au-nanodot provides dimensions of a chemical anchor point to which potentially only one integrin can bind. This is a valuable tool since the pattern dimensions and geometries control the assembly of single integrins to form the basis of a focal adhesion cluster. Thus, uniform patterning of extended substrate areas by diblock copolymer micelle lithography provides access to an important length-scale that is otherwise hardly accessible.

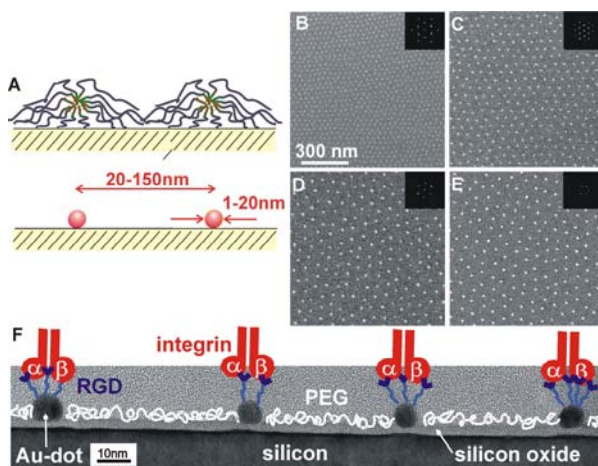


Fig. 1:

Micellar block copolymer lithography and biofunctionalization. (A) Scheme of diblock copolymer micelle lithography. (B-E) Extended Au-nanodot pattern are displayed by scanning electron microscopy.[36] Uniform Au-nanodots (bright spots) of (B) 3 nm by PS(190)-b-P[2VP(HAuCl<sub>4</sub>)<sub>0.5</sub>](190), (C) 5 nm by PS(500)-b-P[2VP(HAuCl<sub>4</sub>)<sub>0.5</sub>](270), (D) 6 nm by PS(990)-b-P[2VP(HAuCl<sub>4</sub>)<sub>0.5</sub>](385), and (E) 8 nm by PS(1350)-b-P[2VP(HAuCl<sub>4</sub>)<sub>0.5</sub>](400) deposited onto Si-wafers are shown. The number in brackets refers to the number of monomer units in each block which control the separation between Au-dots. These varied between (B) 28, (C) 58, (D) 73 to (E) 85 nm. The Au-dots form extended, nearly perfect hexagonally close packed pattern as indicated by the Fourier transformed images (inset) which show second order intensity spots. (F)

Biofunctionalization of the Au-nanodots pattern.[41] Since the Au-dot is sufficient small it is most likely that only one integrin transmembrane receptor occupies one dot. The Au-dots are presented as side view micrographs of a high resolution transmission electron microscope.

In Figure 2, MC3T3-Osteoblasts were seeded on glass and examined after one day by optical phase contrast microscopy. Only  $\frac{3}{4}$  of the glass substrate area was patterned with Au-nanodots with different spacings between the dots. The Au-dots were functionalized by c(RGDfK)-thiols and the free glass was passivated by PEG. A line of cells marks the borderline of the nano-pattern area (white arrows). The right side was entirely passivated against cell adhesion – thus, cell adhesion and attachment is only observed on the left side of the images. When plated on Au-nanodot patterns with various spacing, functionalized by c(RGDfK)-thiols, MC3T3-Osteoblasts show different adhesion behavior. It is evident that cells spread very well on the 58 nm (Figure 2A) patterns, appearing as they do on uniformly RGD- or fibronectin-coated surfaces (not shown). On the other hand, hardly any cell spreading is observed on substrates with 73 nm spaced nanodots (Figure 2B). Quiescent and migrating cells can be noted. Quiescent cells (yellow arrows) present a rounded shape which causes strong scattering of light, while migrating cells (green arrows) are usually characterized by extended filopodia. These observations have been repeated with additional cell types, i.e. REF52-Fibroblasts, 3T3-Fibroblasts and B16-Melanocytes, indicating a universal characteristic cell adhesion behavior. Figure 2C shows MC3T3-Osteoblasts on Au-nanodots separated by 58 nm and not conjugated to c(RGDfK)-thiols. Cell spreading on these surfaces is rather poor and only few cells are remain attached after gentle rinsing.

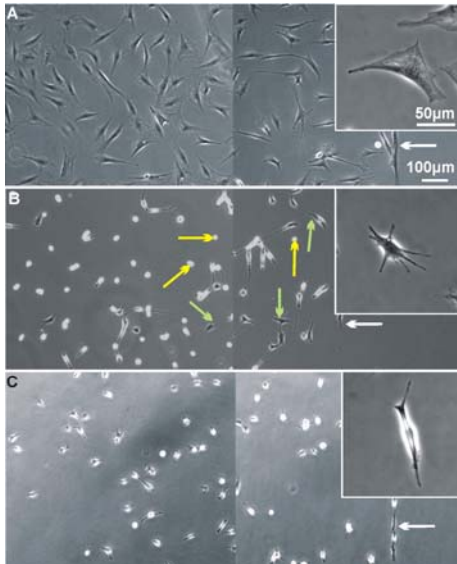


Fig. 2:

Optical phase contrast microscopy images of MC3T3-Osteoblasts on nano-patterns of different spacing [41]: (A) ~58 and (B) ~73 nm. Cells mark the borderline of nanostructures. Extending the separation between individual dots from 58 nm to 73 nm causes failure in cell spreading. (C) Cell attach also to Au-nanodots that were not covered by c(RGDfK)-thiols but cell adhesion and spreading is truly limited as in the case of 73 nm spacing between dots.

The molecular formation of focal contacts and the assembly of actin stress fibres in MC3T3-Osteoblasts adhering on these nanopattern substrates were investigated by culturing cells for one day, fixing and staining them against vinculin and actin. Figure 3 presents confocal micrographs where c(RGDfK) covered Au-dots had spacings of (A) 58 and (B) 73 nm. It is obvious that pattern with adhesive c(RGDfK) Au-nanodot separations of 58 nm establish well constituted, rather long vinculin clusters (displayed as green) and well defined actin stress fibres (displayed in red). The adhesion area of these cells is a factor of ~4 greater. Fairly blurred images of vinculin and actin distribution were obtained when Au-dots were not covered by c(RGDfK)-thiols (not shown), or separations between dots were 73 nm (B). It has to be noticed that only these cells remained on

substrates after fixing and staining which could either establish strong and stable adhesion (see Figure 3A) or cells which could at least form non-stable adhesion (marked by red arrows in Figure 3B). All other cells (see yellow arrows in Figure 3B) are washed-off by the fixing and staining process.

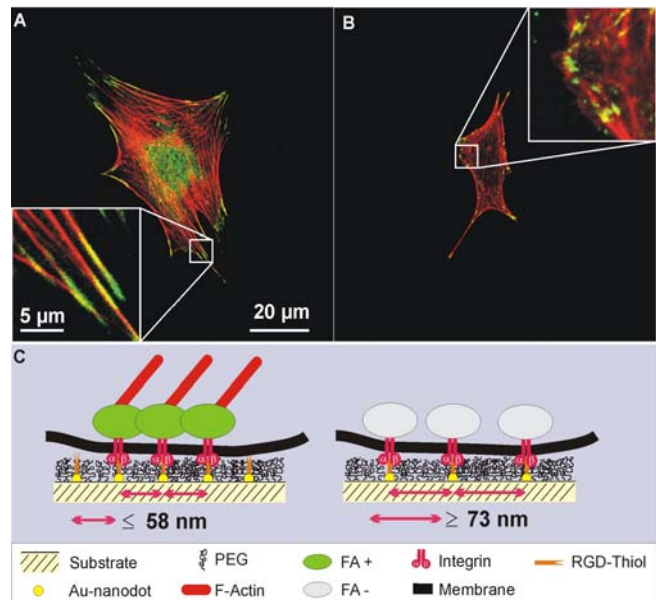


Fig. 3:

Pair of confocal fluorescent optical micrographs of MC3T3 Osteoblasts stained for vinculin (green) and actin (red).[41] Cells interacting with Au-nanodot patterns with Au-dot spacing of (a) 58 and (b) 73. (C) Scheme of biofunctionalized nanopattern to control integrin clustering in cell membranes: Au-dots are conjugated with c(RGDfK)-thiols and areas between cell adhesive Au-dots are passivated by PEG against cell adhesion. Therefore, cell adhesion is mediated entirely via c(RGDfK) covered Au-nanodots. A separation of Au/RGD dots by  $\geq 73$  nm causes limited cell attachment and spreading and actin stress fiber formation because of restricted integrin clustering. This is indicated by failure of focal adhesion activation (FA-) whereas distances between dots of  $\leq 58$  nm caused focal adhesion activation (FA+).

The increase in dot separation distances causes a decrease in global dot density. Therefore, the observed limitation of cell adhesion at increased dot separation could be reasoned either on the global density of c(RGDfK)-thiol covered Au-dots or on the local dot-to-dot distance. In order to address this issue “micro”-nanostructured interfaces were created as described in ref. [36]. This technique allows for deposition of a defined number of Au-nanodots in a confined area of the substrate. The surfaces were designed such that the global dot density was  $90 \text{ dots}/\mu\text{m}^2$  and thus significantly smaller than in all cases of extended Au-dot pattern that was  $280 \text{ dots}/\mu\text{m}^2$  with the 58 nm and  $190 \text{ dots}/\mu\text{m}^2$  with the 73 nm separated dots. The local dot density organized in  $2 \times 2 \mu\text{m}^2$  patches of 58 nm spaced dots was  $280 \text{ dots}/\mu\text{m}^2$  (Figure 4A). Figure 4B shows a bright field optical micrograph 3 hours after plating of MC3T3-Osteoblasts on the substrate. Clearly, cells are confined to the structured area only, and the process of cell spreading advanced as indicated in the inset. After 24 hours (C), well-spread cells are present in this area whereas cells located outside the frame (indicated by arrows) poorly spread. Figure 4D illustrates a confocal fluorescent micrograph of a cell from (C) after immunohistochemical staining for vinculin (green) and actin (red) demonstrating the confinement of focal adhesion to the square pattern and the origin of actin stress fibers from there. In this case the mean average focal adhesion length is  $2.6 \pm 0.9 \mu\text{m}$ . This value is between the side length of one square pattern and its diagonal. The distribution in focal adhesion lengths is remarkably narrow and displays the confinement by a square. Cells do not adhere to all squares, but in some areas a separation distance between focal adhesions of  $1.5 \mu\text{m}$  is recognized as illustrated by the inset in Figure 4D. If cultured on pattern uniformly structured with dots separated by 58 nm, these cells form focal adhesion lengths with an average mean value of  $5.6 \pm 2.7 \mu\text{m}$ .

These adhesion experiments indicate that local dot-dot separation, rather than global dot density was critical for inducing cell adhesion and focal adhesion assembly. Thus, for example, the dot density located under cells attached to the “micro”-nanostructured squares, consisting of 58 nm separated dots is considerable lower than that of dots located underneath cells attached to a substrate, uniformly patterned by dots, separated by  $\geq 73 \text{ nm}$ . Nevertheless, cells did form focal adhesions on the former surface and failed to do so on the latter. This is schematically summarized in Figure 4C.

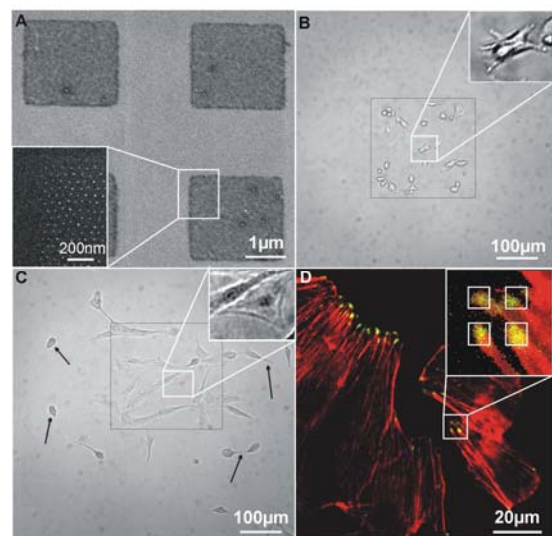


Fig. 4:

MC3T3-Osteoblast adhesion on “micro”-nanostructures occupied by c(RGDfK)-thiols. [41] (A) SEM-micrograph of “Micro”-nanostructures: SEM-micrograph of 5 nm Au-dots separated by 58 nm in a hexagonally-close packed pattern localized in  $2 \mu\text{m} \times 2 \mu\text{m}$  squares which are separated by  $1.5 \mu\text{m}$ . [36] Bright field optical micrograph of adhesive MC3T3-Osteoblasts on pattern shown in (A) which is covering the area in the marked box after (B) 3 hours and (C) 24 hours cell culture. (D) Fluorescent optical micrograph of MC3T3-Osteoblast show the location of FA by staining for vinculin in green showing small strip like, bright green objects on pattern in (A). Actin filaments are marked in red.

Cell attachment to interfaces depends on many factors such as affinity and specificity of surface bound ligands to integrins, mechanical strength of ligand support and linkage, spacer length, overall ligand concentration and ligand clustering.[28] This survey of challenging investigations that are concerned with cell adhesion on nanostructured interfaces summarises that very intriguing cellular processes are stimulated and controlled by substrate nanotopography and spatial ligand patterning for single integrin receptor occupation. Thus, nano adhesive patterns offer the unique opportunity to define length scales in multimolecular complexes within focal adhesions with an unprecedented resolution as small as a single protein. Variations in nano adhesive site organization, including alterations in ligand template pliability, and presentation of small dot clusters, for example pairs or triplets, may shed light on the minimal molecular number of an effective integrin cluster necessary to obtain cell attachment, spreading or migration and of possible pattern specific features (molecularly defined adhesion "keys") that trigger cell adhesion based signaling. [41]

#### Literatur:

- [1] H. M. Blau, D. J. Baltimore, 1991 (112) 781-783, *J. Cell Biol.*
- [2] E. Ruoslahti, B. Obrink, 1996 (227) 1-11, *Exp. Cell. Res.*
- [3] B. Geiger, A. Bershadsky, R. Pankov, K. M. Yamada, 2001 (2) 1, *Nature Reviews Molecular Cell Biology.*
- [4] E. Zamir, B. Geiger, 2001 (114) 3583, *J. Cell Sci.*  
E. Zamir, B. Geiger, 2001 (114) 3577, *J. Cell Sci.*
- [5] D. R. Critchley, 2000 (12) 133, *Curr. Opin. in Cell Biol.*
- [6] F. G. Giancotti, E. Ruoslahti, 1999 (285) 1028, *Science.*
- [7] R. O. Hynes, 1987 (4) 549, *Cell.*
- [8] S. Miyamoto, S. K. Akiyama, K. M. Yamada, 1995 (267) 883, *Science*
- [9] S. Levenberg, B. Z. Katz, K. M. Yamada, B. Geiger, 1998 (111) 347, *J. Cell Sci.*
- [10] N. Q. Balaban, U. S. Schwarz, D. Rivelin, P. Goichberg, G. Tzur, L. Sabanay, D. Mahalu, S. Safran, A. Bershadsky, L. Addadi, B. Geiger, 2001 (3) 466, *Nature Cell Biology*
- [11] B. Alberts, D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, J. D. Watson, *Molecular Biology of the Cell*, 3rd Ed., Garland Publishing New York, USA, 1994.
- [12] L. A. Lasky, 1997 (390) 15-1, *Nature*
- [13] J. W. Weisel, C. Nagaswami, G. Vilaire, J. S. Bennett, 1992 (267) 16637-16643, *J. Bio. Chem.*
- [14] M. V. Nermut, N. M. Green, P. Eason, S. S. Yamada, K. M. Yamada, 1988 (7) 4093-4099, *EMBO J.*
- [15] J. P. Xiong, T. Stehle, B. Diefenbach, R. Zhang, R. Dunker, D. L. Scott, A. Joachimiak, S. L. Goodman, M. A. Arnaout, 2001 (294) 339, *Science.*
- [16] E. M. Erb, K. Tangemann, B. Bohrmann, B. Müller, J. Engel, 1997 (36) 7395-7402, *Biochem.*
- [17] J. P. Xiong, T. Stehle, R. Zhang, A. Joachimiak, M. Frech, S. L. Goodman, M. A. Arnaout, 2002 (296) 151-155, *Science.*
- [18] M. J. Dalby, S. J. Yarwood, M. O. Riehle, H. J. H. Johnstone, S. Affrossman, A. S. G. Curtis, 2002 (276) 1-9, *Experimental Cell Research.*
- [19] M. J. Dalby, M. O. Riehle, H. Johnstone, S. Affrossman, A. S. G. Curtis, 2002 (23) 2945-2954, *Biomaterials.*
- [20] M. J. Dalby, S. Childs, M. O. Riehle, H. J. H. Johnstone, S. Affrossman, A. S. G. Curtis, 2003 (24) 927-935, *Biomaterials.*
- [21] D. L. Elbert, J. A. Hubbell, 2001 (2) 430-441, *Bio-macromolecules.*

- [22] G. B. Brown, Spatial Control of Ligand Presentation on Biomaterials Surfaces. In *Materials Science and Engineering*. MIT, Cambridge, 1999, pp. 165.
- [23] G. Maheshwari, G. Brown, D. A. Lauffenburger, A. Wells, L. G. Griffith, 2000 (113) 1677, *J. Cell Sci.*
- [24] M. Mrksich, G. M. Whitesides, 1997 (680) 361, *ACS Symp. Ser.*
- [25] R. L. C. Wang, H. J. Kreuzer, M. Grunze, 1997 (101) 9767-9773, *J. Phys. Chem. B.*
- [26] C. Roberts, C. S. Chen, M. Mrksich, V. Martichonok, D. E. Ingber) G. M. Whitesides, 1998 (120) 6548-6555, *J. Am. Chem. Soc.*
- [27] W. S. Yeo, C. D. Hodneland, M. Mrksich, 2001 (2) 590-592, *ChemBioChem.*
- [28] U. Hersel, C. Dahmen, H. Kessler, in press, *Biomaterials.*
- [29] M. Kantlehner, P. Schaffner, D. M. J. Finsinger, A. Jonczyk, B. Diefenbach, B. Nies, G. Holzemann, S. L. Goodman, H. Kessler, 2000 (1) 107-114, *ChemBioChem.*
- [30] S. P. Massia, J. A. Hubbell, 1991 (114) 1089-1100, *J. Cell Biol.*
- [31] L. Y. Koo, D. J. Irvine, A. M. Mayes, D. A. Lauffenburger, L. G. Griffith, 2002 (115) 1423-1433, *J. of Cell Sci.*
- [32] D. J. Irvine, A. M. Mayes, L. G. Griffith, 2001 (2) 85-94, *Biomacromolecules.*
- [33] D. J. Irvine, A. V. G. Ruzette, A. M. Mayes, L. G. Griffith, 2001 (2) 545, *Biomacromolecules.*
- [34] C. S. Chen, M. Mrksich, S. Huang, G. M. Whitesides, D. E. Ingber, 1997 (276) 1425, *Science.*
- [35] K. B. Lee, S. J. Park, C. A. Mirkin, J. C. Smith, M. Mrksich, 2002 (295) 1702, *Science.*
- [36] R. Glass, M. Arnold, M. Möller, J. P. Spatz, in press, *Adv. Funct. Mater.*
- [37] J. P. Spatz, S. Mößmer, M. Möller, T. Herzog, A. Plettl, P. Ziemann, 2000 (16) 407, *Langmuir.*
- [38] J. P. Spatz, S. Mößmer, M. Möller, 1996 (2) 1552-1555, *Chem. Eur. J.*
- [39] J. P. Spatz, A. Roescher, M. Möller, 1996 (8) 337, *Adv. Mater.*
- [40] J. P. Spatz, S. Sheiko, M. Möller, 1996 (29) 3220-3226, *Macromolecules.*
- [41] M. Arnold, E. Ada Cavalcanti-Adam, R. Glass, J. Blümmel, W. Eck, M. Kantlehner, H. Kessler, J. P. Spatz, submitted.
- [42] M. Pfaff, K. Tangemann, H. Kessler, 1994 (269) 20233, *J. Biol. Chem.*
- [43] R. Haubner, D. Finsinger, H. Kessler, 1997 (109) 1440, *Angew. Chem.*

## Medizintechnik: Deutschland im Vergleich

**Dr. Heinrich Kolem**  
**Siemens Medical Solutions**

In diesem Vortrag wird an exemplarischen Beispielen die Position der Medizintechnik technologisch und wirtschaftlich im weltweiten Vergleich dargestellt. Der Vergleich schließt insbesondere die Entwicklung im asiatischen und amerikanischen Wirtschaftsraum ein. Es wird ein Ausblick über mögliche Weiterentwicklungen in der Zukunft gegeben. Anhand der wahrscheinlichen Erfolgsfaktoren wird dargestellt, welche Maßnahmen dazu beitragen können, diese Position beizubehalten und zu stärken.

Die Medizintechnik hat viele beitragende Industriezweige. Da die Anwendung der Medizintechnik immer am Patienten vor Ort stattfindet, sind zahlreiche technische Geräte spezifisch für die Medizinpraxis im jeweiligen Land und daher auch oft durch lokale mittelständische Unternehmen abgedeckt. Im Gegensatz dazu gibt es Bereiche, in denen die Anforderungen des Marktes weltweit so ähnlich sind, dass es einige weltweit tätige Medizintechnikunternehmen gibt. Im Bereich der bildgebenden Verfahren, hier als spezielles Beispiel in der Magnetresonanztomographie, waren es Anfangs der 90er Jahre die Firmen Shimadzu, Elscint, Hitachi, Toshiba, General Electric, Picker, Philips und Siemens. Durch Zusammenschlüsse und Aufkäufe sind die Marken Shimadzu, Elscint und Picker heute nicht mehr im Markt der Magnetresonanz präsent. In jüngster Zeit gibt es einige chinesische Firmen, die versuchen, ebenfalls am Weltmarkt zu partizipieren.

In diesem Umfeld haben sich deutsche Unternehmen gut dargestellt. So ist z.B. der Umsatz der Siemens Medical Solutions in den letzten Jahren deutlich gestiegen. Die Marktposition wurde dabei insbesondere in den großen Märkten USA und China signifikant gestärkt. Dabei ist Siemens schon seit längerer Zeit in USA präsent; in China wurden in jüngster Zeit Joint-Venture Unternehmungen aufgebaut. Diese lokale Präsenz hat sicherlich zum Erfolg beigetragen, im Moment werden aber der Großteil der Produkte in Deutschland entwickelt und gefertigt. Der deutsche Markt hat in

Stückzahlen eine relativ geringe Bedeutung: Weniger als 8% der Magnetresonanztomographen aus deutscher Produktion verbleiben in Deutschland.

Ein wesentlicher Erfolgsfaktor ist sicherlich die Entwicklung von innovativen Produkten und Lösungen. An exemplarischen Beispielen wird der wirtschaftliche Effekt von innovativen Lösungen dargestellt. Dabei ist eine große Nähe zum jeweiligen Markt erforderlich, um die richtigen Produkte zu entwickeln. Eine weitere Voraussetzung für die erfolgreiche Entwicklung sind die richtig und gut ausgebildeten Mitarbeiter. Eine große Stärke entsteht dann, wenn die entwickelnden Mitarbeiter selbst den Markt und die Anforderungen des medizinischen Nutzers gut verstehen, um dann die richtigen Produkte auch schnell entwickeln zu können.

Regulatorische Einflüsse durch unterschiedliche Vorschriften in den USA, China und Europa beeinflussen die Entwicklungen ebenfalls. Auch wenn diese Vorschriften sich tendenziell ähnlicher werden, gibt es immer wieder einzelne Beispiele, die die Entwicklung z.B. in Europa erschweren.

Um die o.g. innovativen Produkte zu entwickeln, sind Zusammenarbeiten mit führenden wissenschaftlichen Institutionen weltweit erforderlich. Der Anteil der wissenschaftlichen Kooperationen mit deutschen Universitäten ist jedoch deutlich höher als der Anteil der in Deutschland gelieferten Geräte. Um diese Position in Deutschland zu halten, sind auch im akademischen Umfeld ständige Weiterentwicklungen und Verbesserungen erforderlich, die aber durchaus möglich sind.