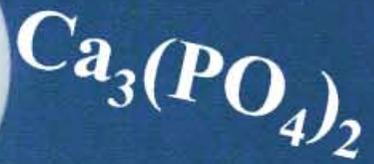


Düngemittel

Hydroxylapatit



Brushit



DCPD

Knochen

Implantate



Zähne

β -TCP

Tricalciumphosphat

Die biologische und medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten

Sergey V. Dorozhkin und Matthias Epple*

Professor Sir John Meurig Thomas zum 70. Geburtstag gewidmet

Die anorganische Komponente der Hartgewebe (Knochen und Zähne) von Säugetieren besteht aus Calciumphosphat, hauptsächlich aus Hydroxylapatit. Auch die meisten pathologischen Verkalkungen, die zu oft schweren Erkrankungen führen, beruhen letztlich auf der Kristallisation von Calciumphosphaten an unerwünschten Orten im Körper. Medizinisch wichtig ist hier vor allem die Arteriosklerose, d. h. die Blockierung von Blutgefäßen durch Cholesterin und Calciumphosphate. Die Kariesbildung beruht auf dem Ersatz des wenig löslichen, harten Hydroxylapatits durch andere, besser

lösliche und weichere Calciumphosphatphasen. Osteoporose ist eine Demineralisierung von Knochen. Chemisch kann man die Bildung von Knochen und Zähnen genau wie die pathologische Verkalkung (Arteriosklerose) als eine In-vivo-Kristallisation bezeichnen, ebenso wie man Karies und Osteoporose als In-vivo-Auflösung von Calciumphosphat beschreiben kann. Calciumphosphate sind an vielen Stellen im Körper präsent. Viele Biomaterialien mit hoher Biokompatibilität beruhen daher auf diesen Materialien. Calciumphosphatzemente werden als Knochenersatz verwendet, und

Titan-Implantate zum Zahn- oder Hüftgelenkersatz werden mit Calciumphosphaten beschichtet, um das Anwachsen von Knochen und damit die mechanische Stabilität zu erhöhen. In diesem Aufsatz wird die biologische und medizinische Bedeutung der Calciumphosphate aus dem Blickwinkel eines Chemikers beleuchtet und an Beispielen erläutert.

Stichwörter: Bioanorganische Chemie · Biomaterialien · Biomimetische Synthesen · Biomineralisation · Materialwissenschaften

1. Einleitung

Vom anthropozentrischen Standpunkt aus betrachtet sind Calciumphosphate das wichtigste Biomineral. Die Hartgewebe im menschlichen Körper beruhen auf dieser Stoffklasse, die als carbonathaltiger Hydroxylapatit (HA) in Knochen, Zähnen und Sehnen vorkommt und diesen Stabilität, Härte und Funktion verleiht. Auch in der unbelebten Natur kommen Calciumphosphate häufig vor, z. B. als große Einkristalle, deren Wachstum über viele Jahre unter zum Teil extremen Temperatur- und Druckbedingungen erfolgte. Hingegen handelt es sich bei den „biologischen“ Calciumphosphaten fast immer um Nanokristalle, deren Kristallisation unter milden physiologischen Bedingungen abläuft.

Die Bildung von anorganischen Mineralien durch lebende Organismen wird allgemein als Biomineralisation bezeichnet.^[1–9] Man kennt heute mehr als 60 unterschiedliche

Mineralien, die von Lebewesen für die unterschiedlichsten Zwecke verwendet werden: zum Schutz gegen Feinde (Schale), als Werkzeug (Zähne), als Schwerkraftsensor (Octocorien oder Statolithen) oder als stützendes Gerüst (Skelett). Mengenmäßig betrachtet sind die Calciumphosphate gegenüber Calciumcarbonat (CaCO_3) und Kieselsäure ($\text{SiO}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) von geringerer Bedeutung, da diese beiden Stoffe in riesigen Mengen von marinen Einzellern als Skelettsubstanz verwendet werden. Eine weitere wichtige Klasse von Biomineralien sind die Eisenoxide, die z. B. in den Zähnen von Schnecken oder in magnetotaktischen Bakterien vorkommen.^[1] Da Calciumphosphate in Wirbeltieren (wie den Menschen) vorkommen und viele Krankheiten auf Störungen in Knochen oder in Zähnen zurückzuführen sind, spielen sie eine große Rolle in der Biomedizin. Obwohl die Gegenwart ausreichender Mengen von Calciumphosphaten in diesen Hartgeweben wichtig ist, muss hier betont werden, dass es zahlreiche Fälle gibt, in denen eine Kristallisation von Calciumphosphaten am falschen Ort zu ernsten und teilweise lebensbedrohenden Krankheiten führt. Dies bezeichnet man als pathologische Kristallisation oder ektopre Mineralisation. Arteriosklerose, Steinbildung und Zahnstein sind hierfür bekannte Beispiele.

[*] Prof. Dr. M. Epple, Dr. S. V. Dorozhkin
Lehrstuhl für Anorganische Chemie I, AG Festkörperchemie
Fakultät für Chemie, Ruhr-Universität Bochum
Universitätsstraße 150, 44780 Bochum (Deutschland)
Fax: (+49)234-3214558
E-mail: matthias.epple@ruhr-uni-bochum.de

Hier wollen wir einen Überblick über Vorkommen, Bildung und Bedeutung von Calciumphosphaten in lebenden Organismen geben, wobei ein Schwerpunkt auf derzeitigen biomedizinischen Fragestellungen liegt.

2. Geologisches und biologisches Vorkommen

Calcium und Phosphor sind weit verbreitete Elemente auf der Erde. Die Erdkruste enthält etwa 3,4% Calcium und etwa 0,1% Phosphor.^[10] Durch formale Kombination der Oxide dieser beiden Elemente und gegebenenfalls Wasser entsteht eine Reihe von unterschiedlichen Calciumphosphaten. Im reinen Zustand handelt es sich stets um weiße Festkörper, wobei die natürlich vorkommenden Calciumphosphate häufig wegen des Einbaus von Übergangsmetallionen farbig sind. Die meisten Calciumphosphate lösen sich nur schlecht oder gar nicht in Wasser, während sie alle säurelöslich sind. Strukturell kann man Ortho- (PO_4^{3-}), Pyro- ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) und Polyphosphate ($(\text{PO}_3)_n^{n-}$) unterscheiden. Obwohl Calciumpyrophosphate in einigen pathologischen Verkalkungen vorkommen können, werden hier ausschließlich Calciumorthophosphate beschrieben. Diese sind die Hauptmineralkomponente im menschlichen Hartgewebe und überdies die Ausgangsverbindung zur Herstellung von phosphathaltigen Düngemitteln.^[11–14]

Geologisch handelt es sich bei Calciumphosphaten um weit verbreitete Mineralien. Wichtig sind dabei der Fluorapatit, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$, und die Phosphorite. Normalerweise kommen diese Mineralien begleitend in vielen Gesteinen vor (<5%). Ausreichend hohe Konzentrationen für eine bergbauliche

Verwertung findet man in Sedimentgesteinen (Phosphorite) und selten in Eruptivgesteinen (Fluorapatit). Die weltweit größten Vorkommen liegen in Marokko, Russland, Kasachstan und in den USA (Florida und Tennessee).^[11–14] In der Regel handelt es sich um polykristalline Mineralien. Größere Einkristalle haben gewöhnlich die Apatitstruktur (hexagonal, Raumgruppe $P6_3/m$, oder monoklin, Raumgruppe $P2_1/b$). Fast immer sind Fremdionen in das Kristallgitter eingebaut. Hierbei können beispielsweise Calcium durch Sr, Ba, Mg, K, Na oder Fe, Phosphat durch AsO_4^{3-} , CO_3^{2-} oder VO_4^{3-} sowie Fluorid durch OH^- , Cl^- , Br^- , CO_3^{2-} oder O^{2-} substituiert werden. Zudem können auch Defekte im Kristallgitter vorkommen. Insgesamt erhält man damit nichtstöchiometrische Verbindungen. Abbildung 1 zeigt polykristalline und einkristalline Calciumphosphatmineralien.

Die wichtigste wirtschaftliche Anwendung von Calciumphosphatmineralien ist die Herstellung von Phosphatdüngern. Dafür werden Mineralien sowohl biologischen als auch geologischen Ursprungs verwendet. Bei ersteren handelt es sich im Allgemeinen um die mineralisierten Exkremate (Guano) von Vögeln, welche im Laufe von Jahrtausenden angehäuft wurden, z. B. auf den Südseeinseln Nauru, Banaba und Makatea. Auf der nur 21 km² großen Insel Nauru werden pro Jahr etwa 2 Millionen t Phosphate abgebaut, wodurch schwere ökologische Schäden entstehen. Die weltweite Produktionskapazität aller Phosphatdünger-Fabriken ist größer als 25 Millionen t (bezogen auf P_2O_5).^[12]

In biologischen Systemen kommen Calciumorthophosphate als anorganische Komponente von physiologischen Hartgeweben (Knochen, Zähne, Fischgräten und einige Muschelschalen) und von pathologischen Verkalkungen vor (Zahn-

Matthias Epple studierte an der Technischen Universität Braunschweig Chemie und promovierte 1992 bei Prof. H. K. Cammenga. 1993 war er als Postdoc an der University of Washington in Seattle bei Prof. J. C. Berg tätig. Zwischen 1994 und 1997 arbeitete er an seiner Habilitation in der Arbeitsgruppe von Prof. A. Reller an der Universität Hamburg, mehrfach unterbrochen durch Forschungsaufenthalte an der Royal Institution in London bei Prof. J. M. Thomas. 1998 erhielt er den Heinz-Maier-Leibnitz-Preis und ein Heisenberg-Stipendium der DFG. Seit 2000 ist er als Professor für Anorganische Chemie an der Universität Bochum tätig. Seine Forschungsinteressen umfassen Festkörperreaktionen, molekulare Kristalle, Synchrotronstrahlung, Biomaterialien und Biomineralisation. Auf diesen Gebieten hat er mehr als 90 Publikationen veröffentlicht. Er ist Mitglied des Beirats für Synchrotronstrahlung am Deutschen Elektronen-Synchrotron (DESY, Hamburg) und Mitglied des Vorstands des Kompetenzzentrums für Medizintechnik Ruhr.



M. Epple



S. V. Dorozhkin

Sergey V. Dorozhkin studierte Chemie und Chemieingenieurwesen am Moscow Institute for Chemical Technology, Moskau, Russland. Anschließend wechselte er an das Research Institute of Fertilizers (Moskau, Russland), wo er sich mit dem Lösungsmechanismus des natürlichen Fluorapatits beschäftigte. Er promovierte 1992 bei Prof. I. V. Melikhov an der Fakultät für Chemie an der M.V.Lomonosov Moscow State University, Russland. Daran schlossen sich Forschungsaufenthalte an den Universitäten von Straßburg und Nantes (Frankreich) sowie an der Universidade de Aveiro (Portugal) an, wo er sich mit Calciumphosphaten und Biomineralien beschäftigte. Von 2000 bis 2002 forschte er an der Ruhr-Universität Bochum, Abteilung Festkörperchemie, auf dem Gebiet der Biomineralisation.

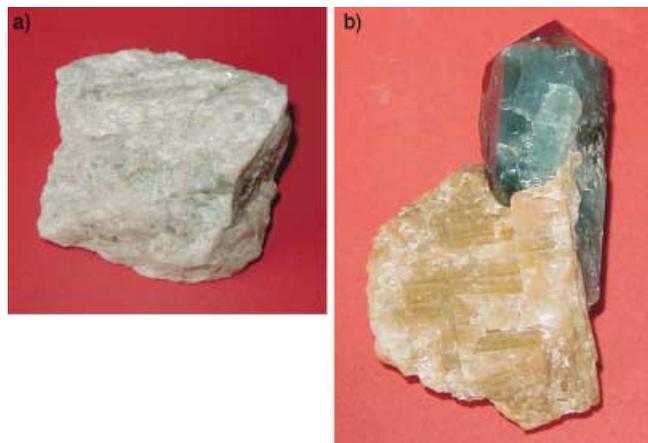


Abbildung 1. Polykristalliner (a) und einkristalliner (b) Fluorapatit (chemische Formel: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{F}_2$) geologischen Ursprungs. Der Einkristall hat eine grau-grüne Farbe aufgrund von eingebauten Übergangsmetallionen.

stein, Blasensteine, arteriosklerotische Ablagerungen).^[15–18] Strukturell handelt es sich hier hauptsächlich um niedrig kristalline nichtstöchiometrische Apatitphasen, die zu einem gewissen Teil auch Natrium, Magnesium und Carbonat enthalten („biologischer Apatit“ oder „Dahlit“). Humaner Knochen besteht zu 50–60% aus solchem biologischen Apatit, zu 30–40% aus Kollagen und zu etwa 10% aus Wasser. Ultrastrukturelle Untersuchungen der Grenzfläche zwischen implantierten Calciumphosphatkeramiken und den umgebenden Knochen bestätigten, dass eine dünne Schicht aus knochenähnlichem Apatit zwischen den beiden Materialien vorkommt.^[19–21] Die grundlegenden Daten über die chemische Zusammensetzung der wichtigsten humanen Hartgewebe sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Abbildung 2 zeigt das Bild einer calcinierten Knochenprobe, d. h. das Calciumphosphatskelett, das nach dem Abbrand aller organischen Bestandteile zurückbleibt.

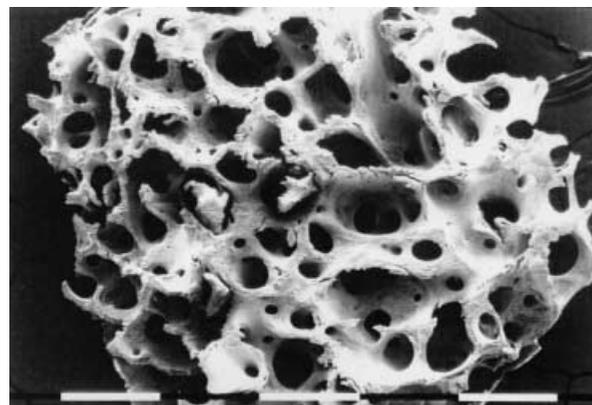


Abbildung 2. Schwammartiger Knochen (*Spongiosa*) mit hoher Porosität und interkonnektierendem Porennetzwerk (calciniert; Vergrößerung: 20,4-fach).

Zur schnelleren Benennung der Calciumphosphate wurden Abkürzungen eingeführt. Die entscheidenden Parameter sind das molare Ca:P-Verhältnis und die Löslichkeit in Wasser. In Tabelle 2 sind die bekannten Calciumphosphatphasen zusammengefasst. Für die stöchiometrisch zusammengesetzten Phasen werden Ca:P-Verhältnisse von 0,5–2,0 gefunden. Allgemein gilt: Je kleiner das Ca:P-Verhältnis, desto saurer und besser wasserlöslich ist das Calciumphosphat (siehe Lit. [22] für die Löslichkeit dieser Phasen in Abhängigkeit vom pH-Wert und der Calciumkonzentration). Eine kurze Beschreibung dieser Calciumphosphatphasen wird nachfolgend gegeben. In Tabelle 3 finden sich ihre kristallographischen Daten.

MCPM (Monocalciumphosphat-Monohydrat, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$) ist das am stärksten saure und am besten wasserlösliche Calciumphosphat. Man kann es aus stark sauren Lösungen fällen, wie sie in der Düngemittelindustrie vorkommen („Tripelsuperphosphat“).^[12] Oberhalb von 100 °C wandelt es

Tabelle 1. Zusammensetzung und Strukturparameter der anorganischen Phasen im humanen ausgewachsenen Hartgewebe.^{[a],[15, 21]}

	Enamel (Zahnschmelz)	Dentin (Zahnbein)	Knochen	Hydroxylapatit (HA)
Calcium [Gew.-%] ^[b]	36.5	35.1	34.8	39.6
Phosphor (als P) [Gew.-%] ^[b]	17.7	16.9	15.2	18.5
Ca:P (molares Verhältnis) ^[b]	1.63	1.61	1.71	1.67
Natrium [Gew.-%] ^[b]	0.5	0.6	0.9	–
Magnesium [Gew.-%] ^[b]	0.44	1.23	0.72	–
Kalium [Gew.-%] ^[b]	0.08	0.05	0.03	–
Carbonat (als CO_3^{2-}) [Gew.-%] ^[c]	3.5	5.6	7.4	–
Fluorid [Gew.-%] ^[b]	0.01	0.06	0.03	–
Chlorid [Gew.-%] ^[b]	0.30	0.01	0.13	–
Pyrophosphat (als $\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) [Gew.-%] ^[c]	0.02	0.10	0.07	–
Anorganischer Anteil [Gew.-%] ^[c]	97	70	65	100
Organischer Anteil [Gew.-%] ^[c]	1.5	20	25	–
Wasser [Gew.-%] ^[c]	1.5	10	10	–
a-Achse [Å] ^[d]	9.44	9.42	9.41	9.43
c-Achse [Å] ^[d]	6.88	6.89	6.89	6.89
Kristallinitätsindex (HA = 100)	70–75	33–37	33–37	100
Typische Kristallgröße [nm] ^[1, 105, 107]	100 $\mu\text{m} \times 50 \times 50$	35 · 25 · 4	50 · 25 · 4	200–600
Calcinierungsprodukt (800 °C)	β -TCP + HA	β -TCP + HA	HA + CaO	HA
Elastizitätsmodul [GPa] ^[261]	80	15	0,3–13,8	10
Druckfestigkeit [MPa]	10	100	150	100

[a] Wegen der beträchtlichen Streuung in biologischen Proben sind typische Werte angegeben. [b] Calcinierte Proben. [c] Nichtcalcinierte Proben. [d] Gitterparameter $\pm 0.003 \text{ \AA}$.

Tabelle 2. Eigenschaften der biologisch relevanten Calciumorthophosphate.^{[a][103, 104]}

Ca:P-Verhältnis	Verbindung	Formel	Lösl. bei 25 °C [−log(<i>K_{sp}</i>)]	Lösl. bei 37 °C [−log(<i>K_{sp}</i>)]	pH-Stabilitätsbereich (in H ₂ O bei 25 °C)
0.5	Monocalciumphosphat-Monohydrat (MCPM)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂ · H ₂ O	1.14	Keine Daten	0.0–2.0
0.5	Monocalciumphosphat-Anhydrat (MCPA)	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	1.14	Keine Daten	^[d]
1.0	Dicalciumphosphat-Dihydrat (DCPD, Brushit)	CaHPO ₄ · 2 H ₂ O	6.59	6.63	2.0–6.0
1.0	Dicalciumphosphat-Anhydrat (DCPA, Monetit)	CaHPO ₄	6.90	7.02	^[d]
1.33	Octacalciumphosphat (OCP)	Ca ₈ (HPO ₄) ₂ (PO ₄) ₄ · 5 H ₂ O	96.6	95.9	5.5–7.0
1.5	α-Tricalciumphosphat (α-TCP)	α-Ca ₃ (PO ₄) ₂	25.5	25.5	^[b]
1.5	β-Tricalciumphosphat (β-TCP)	β-Ca ₃ (PO ₄) ₂	28.9	29.5	^[b]
1.2–2.2	Amorphes Calciumphosphat (ACP)	Ca _x (PO ₄) _y · n H ₂ O	^[c]	^[c]	^[c]
1.5–1.67	Calcium-defizitärer Hydroxylapatit (CDHA)	Ca _{10–x} (HPO ₄) _x (PO ₄) _{6–x} (OH) _{2–x} (0 < x < 1)	~ 85.1	~ 85.1	6.5–9.5
1.67	Hydroxylapatit (HA)	Ca ₁₀ (PO ₄) ₆ (OH) ₂	116.8	117.2	9.5–12.0
2.0	Tetracalciumphosphat (TTCP)	Ca ₄ (PO ₄) ₂ O	38–44	37–42	^[b]

[a] Die Löslichkeit ist angegeben als Logarithmus des Ionenprodukts für die angegebene Formel (ohne Hydratwasser) mit Konzentrationen in mol L⁻¹. [b] Diese Verbindungen können nicht aus wässriger Lösung gefällt werden. [c] Kann nicht genau angegeben werden. Folgende Werte wurden berichtet: 25.7 ± 0.1 (pH 7.40), 29.9 ± 0.1 (pH 6.00), 32.7 ± 0.1 (pH 5.28).^[78] [d] Stabil oberhalb von 100 °C. [e] Immer metastabil. Die Zusammensetzung eines Niederschlags hängt vom pH-Wert und der Zusammensetzung der Lösung ab.

Tabelle 3. Kristallographische Daten der Calciumorthophosphate.^[72, 73]

Verb.	Raumgruppe	Elementarzellenparameter ^[a]	Z ^[b]	Dichte [g cm ⁻³]
MCPM	triklin <i>P</i> $\bar{1}$	<i>a</i> = 5.6261(5), <i>b</i> = 11.889(2), <i>c</i> = 6.4731(8) <i>α</i> = 98.633(6), <i>β</i> = 118.262(6), <i>γ</i> = 83.344(6)	2	2.23
MCPA	triklin <i>P</i> $\bar{1}$	<i>a</i> = 7.5577(5), <i>b</i> = 8.2531(6), <i>c</i> = 5.5504(3) <i>α</i> = 109.87(1), <i>β</i> = 93.68(1), <i>γ</i> = 109.15(1)	2	2.58
DCPD	monoklin <i>Ia</i>	<i>a</i> = 5.812(2), <i>b</i> = 15.180(3), <i>c</i> = 6.239(2) <i>β</i> = 116.42(3)	4	2.32
DCPA	triklin <i>P</i> $\bar{1}$	<i>a</i> = 6.910(1), <i>b</i> = 6.627(2), <i>c</i> = 6.998(2) <i>α</i> = 96.34(2), <i>β</i> = 103.82(2), <i>γ</i> = 88.33(2)	4	2.89
OCP	triklin <i>P</i> $\bar{1}$	<i>a</i> = 19.692(4), <i>b</i> = 9.523(2), <i>c</i> = 6.835(2) <i>α</i> = 90.15(2), <i>β</i> = 92.54(2), <i>γ</i> = 108.65(1)	1	2.61
α-TCP	monoklin <i>P</i> ₂ / <i>a</i>	<i>a</i> = 12.887(2), <i>b</i> = 27.280(4), <i>c</i> = 15.219(2) <i>β</i> = 126.20(1)	24	2.86
β-TCP	rhomboedrisch <i>R</i> 3cH	<i>a</i> = <i>b</i> = 10.439(1), <i>c</i> = 37.375(6) <i>γ</i> = 120	21 ^[c]	3.07
HA	monoklin <i>P</i> ₂ / <i>b</i>	<i>a</i> = 9.84214(8), <i>b</i> = 2 <i>a</i> , <i>c</i> = 6.8814(7) <i>γ</i> = 120 (monoklin)	4	3.16
	oder hexagonal <i>P</i> ₆ / <i>m</i>	<i>a</i> = <i>b</i> = 9.4302(5), <i>c</i> = 6.8911(2) <i>γ</i> = 120 (hexagonal)	2	
TTCP	monoklin <i>P</i> ₂ ₁	<i>a</i> = 7.023(1), <i>b</i> = 11.986(4), <i>c</i> = 9.473(2) <i>β</i> = 90.90(1)	4	3.05

[a] *a*, *b*, *c* sind in Å und *α*, *β*, *γ* in ° angegeben. [b] Formeleinheiten je Elementarzelle. [c] Pro hexagonaler Elementarzelle.

sich unter Wasserabgabe in Monocalciumphosphat-Anhydrat um. Wegen seiner relativ hohen Acidität und Löslichkeit wird MCPM nicht biologisch calcifiziert. Es wird jedoch in der Biomedizin als Komponente von einigen Calciumphosphatzementen verwendet.^[23–27] Als Magensäurebinder, Säuerungsmittel und Mineraladditiv wird es in Backpulver, Nahrungsmitteln und Getränken zugesetzt.^[28]

MCPA (Monocalciumphosphat-Anhydrat, Ca(H₂PO₄)₂) ist die wasserfreie Form von MCPM. Es kristallisiert oberhalb 100 °C unter den gleichen Bedingungen wie MCPM, z. B. aus hoch konzentrierten Mutterlaugen in der Düngemittelherstellung. Ebenso wie MCPM kommt es nicht biologisch vor. Es gibt derzeit keine Anwendung in der Medizin, sondern es wird ausschließlich in der Düngemittelindustrie eingesetzt.^[12, 28]

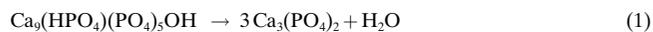
DCPD (Dicalciumphosphat-Dihydrat, CaHPO₄ · 2 H₂O; das Mineral Brushit) kann leicht aus wässriger Lösung kristallisiert werden. Es entwässert leicht zu Dicalciumphosphat-Anhydrat oberhalb 80 °C. Biologisch ist es wichtig, da es

häufig in pathologischen Verkalkungen (Zahnstein, Chondrocalcinose^[15–17] und Blasensteine^[18]) vorkommt. Weiterhin wurde es als intermediäre Phase in der Knochenbildung und bei der Auflösung von Zahnschmelz durch Karies postuliert.^[15–18] In der Chirurgie wird es in Calciumphosphatzementen verwendet^[27, 29–34] und in Zahnpasta zusammen mit fluoridhaltigen Verbindungen (z. B. NaF) zur Kariesprophylaxe.^[35–38] Weitere Anwendung findet DCPD als Düngemittel,^[12] in der Glasherstellung und als Calciumquelle in Nahrungsmitteln.^[28]

DCPA (Dicalciumphosphat-Anhydrat, CaHPO₄; das Mineral Monetit) ist die wasserfreie Form von DCPD. Ebenso wie DCPD kann DCPA aus wässriger Lösung kristallisiert werden, allerdings oberhalb 100 °C. Anders als DCPD kommt das wasserfreie DCPA weder in physiologischen noch in pathologischen Verkalkungen vor. Verwendung findet es in medizinischen Calciumphosphatzementen,^[33, 39–44] als Schleifmittel, als Calcium- und Phosphatzusatz in Lebensmitteln, als Tablettierhilfsstoff und in Zahnpasta.^[28]

OCP (Octacalciumphosphat, $\text{Ca}_8(\text{HPO}_4)_2(\text{PO}_4)_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) tritt häufig als metastabile Zwischenphase bei der Ausfällung von thermodynamisch stabileren Calciumphosphaten (Hydroxylapatit, Calcium-defizitärer Hydroxylapatit) aus wässriger Lösung auf. Strukturell besteht es aus apatitähnlichen Schichten, die durch hydratisierte Schichten getrennt sind. Es ist als stabiler Bestandteil von Zahnstein und Blasensteinen von großer biologischer Bedeutung.^[45–47] Weiterhin spielt es eine wichtige Rolle als Zwischenprodukt bei der In-vivo-Bildung von Biomineralien. Ein „zentraler OCP-Einschluss“ (auch als „zentrale dunkle Linie“ bezeichnet) wurde durch Transmissionselektronenmikroskopie in vielen biologischen und einigen synthetischen Apatiten gefunden (detaillierte Diskussion siehe unten).^[48–51] OCP selbst wurde nicht bei Gefäßverkalkungen nachgewiesen, aber als Vorstufe zum biologischen Apatit bei der Verkalkung von natürlichen und künstlichen Herzklappen postuliert.^[52, 53]

β -TCP (β -Tricalciumphosphat) ist das „echte Calciumorthophosphat“ mit der stöchiometrischen Zusammensetzung $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Es kann nicht aus wässriger Lösung gefällt, sondern nur durch Calcinieren oberhalb 800°C hergestellt werden (z. B. aus Calcium-defizitärem Hydroxylapatit) [Gl. (1)]:



Oberhalb von 1125°C wandelt es sich in die Hochtemperaturphase α -TCP um. Da β -TCP die stabilere Phase bei Raumtemperatur ist, hat es eine geringere Löslichkeit als α -TCP (Tabelle 2). Reines β -TCP kommt als Biomaterial nicht vor. Lediglich die magnesiumhaltige Form (das Mineral Whitlockit) mit der Formel β - $(\text{Ca,Mg})_3(\text{PO}_4)_2$ wurde in Zahnstein, Blasensteinen,^[15–18, 54] Speicheldrüsensteinen, Kariesbildungen, arthritischem Knorpel und einigen Verkalkungen im Weichgewebe gefunden.^[15–18] In der Biomedizin wird β -TCP in calciumphosphathaltigen Knochenzementen verwendet.^[23, 24, 55–58] Eine Mischung von β -TCP mit Hydroxylapatit (=biphasisches Calciumphosphat) wird als Knochenersatz verwendet.^[59–65] Weitere Verwendung findet es als Düngemittel,^[12] Schleifmittel, in der Porzellan- und Emailleherstellung sowie als Tierfutterzusatz.^[28]

α -TCP (α -Tricalciumphosphat, α - $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$) wird aus β -TCP durch Erhitzen auf mehr als 1125°C hergestellt. Die bei Raumtemperatur metastabile Hochtemperaturphase ist reaktiver als β -TCP und kann zu einem Gemisch von anderen Calciumphosphaten hydrolysiert werden. α -TCP kommt nie in biologischen Verkalkungen vor und findet in der Medizin lediglich Verwendung in Calciumphosphatzementen.^[26, 31, 33, 34, 41–44, 66] Technisch wird es auch als Düngemittel verwendet.^[28]

ACP (Amorphes Calciumphosphat) ist häufig ein Zwischenprodukt bei der Fällung von Calciumphosphaten aus wässriger Lösung.^[67–71] Seine chemische Zusammensetzung hängt stark von den Fällungsbedingungen (pH-Wert, Calcium- und Phosphatkonzentrationen) ab. So wurden beispielsweise ACP-Phasen mit Ca:P-Verhältnissen von 1.18 (Fällung bei pH 6.6), 1.53 (Fällung bei pH 11.7)^[72, 73] bis hin zu 2.5 beschrieben.^[15–17]

Die Struktur von ACP ist immer noch nicht eindeutig bestimmt. IR-Spektren von ACP zeigen breite Phosphatban-

den. Gemäß dem Röntgendiffraktogramm ist ACP amorph. Bei elektronenmikroskopischen Untersuchungen wird es gewöhnlich als annähernd runde Partikel mit Durchmessern von 20–200 nm ohne besondere Morphologie beschrieben. Möglicherweise hat ACP eine apatitische Mikrostruktur mit einer so kleinen Domänengröße, dass es röntgenamorph ist. Diese Annahme wird gestützt durch röntgenabsorptionsspektroskopische Messungen (EXAFS) an biologischen und synthetischen Proben.^[74–77] Andererseits wurde auch vorgeschlagen, dass die strukturelle Grundeinheit von ACP ein annähernd kugelförmiger Cluster mit einem Durchmesser von etwa 9.5 \AA und der Zusammensetzung $\text{Ca}_9(\text{PO}_4)_6$ ist.^[72, 73] Solche Cluster wurden experimentell als erste Keime während der Kristallisation von Hydroxylapatit gefunden. Auf dieser Basis wurde ein Modell vorgeschlagen, das die Kristallisation von Hydroxylapatit als stufenweise Zusammenlagerung dieser Einheiten beschreibt.^[78] Biologisch kommt ACP (oft mit den Fremdionen Magnesium, Carbonat und Pyrophosphat) in pathologischen Verkalkungen in Weichgeweben vor (z. B. Verkalkungen von Herzklappen bei urämischen Patienten).^[15–18] In der Medizin wird ACP gelegentlich in Calciumphosphatzementen verwendet.^[31–33] Bioaktive Composit-Werkstoffe aus ACP und Polymeren haben Eigenschaften, die sie für Anwendungen in der Zahnheilkunde^[79–82] und der Chirurgie interessant machen.^[83–86]

CDHA (Calcium-defizitärer Hydroxylapatit) ist leicht durch Fällung herstellbar. Man gibt calcium- und phosphathaltige Lösungen simultan in kochendes Wasser und lässt die Suspension für einige Stunden kochen. Hierbei wandelt sich das zunächst gefällte OCP oder ACP (je nach pH-Wert der Lösung) in CDHA um. Beim Erhitzen auf mehr als 700°C wandelt sich der gefällte CDHA in β -TCP (Ca:P-Verhältnis 1.5) oder eine Mischung aus β -TCP und HA (Ca:P-Verhältnis <1.5 : <1.67) um, je nach Stöchiometrie des Niederschlags. Die Mischung aus β -TCP und HA wird als biphasisches Calciumphosphat (BCP) bezeichnet.^[59–65]

Bedingt durch den nicht stöchiometrischen Charakter enthält CDHA stets einen kleinen Anteil an Fremdionen (z. B. Na^+ , Cl^-), je nach den bei der Fällung anwesenden Fremdionen. Daher gibt es keine direkte Strukturbestimmung von CDHA, und auch die angegebenen Elementarzellenparameter variieren. In erster Näherung kann CDHA als Hydroxylapatit mit Gitterstörungen durch Fehlstellen und Fremdionen beschrieben werden.^[87] Entsprechend der chemischen Bruttoformel von CDHA (Tabelle 2) werden Leerstellen auf Calcium-Positionen (hauptsächlich $\text{Ca}2$ ^[88, 89]) und Hydroxid-Positionen angenommen. Über die Baufehler im Phosphat-Teilgitter ist bekannt, dass Phosphat teilweise protoniert und teilweise durch Carbonat ersetzt ist.

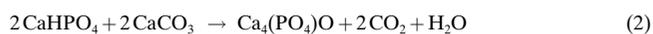
Unsubstituierter CDHA (d. h. nur aus den Ionen Ca^{2+} , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} und OH^- bestehend) kommt in biologischen Systemen nicht vor. In allen Fällen sind Fremdionen in unterschiedlichem Ausmaß vorhanden: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} und Sr^{2+} für Ca^{2+} ; Carbonat für Phosphat; Fluorid, Chlorid und Carbonat für Hydroxid; sowie Einbau von Kristallwasser. Dies führt zum „biologischen Apatit“ oder „Dahlit“, der Mineralphase in Hartgeweben und pathologischen Verkalkungen.^[15, 16] Aus diesem Grund ist CDHA ein vielversprechendes Material für synthetische Knochenersatzstoffe.

HA (Hydroxylapatit, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) ist das am schlechtesten lösliche und somit das stabilste Calciumorthophosphat (Tabelle 2). Chemisch reiner Hydroxylapatit kristallisiert monoklin in der Raumgruppe $P2_1/b$. Oberhalb 250°C ^[72, 73] durchläuft er allerdings eine Phasenumwandlung (hexagonale Raumgruppe $P6_3/m$).^[90, 91] Fremdionen im Kristallgitter (z. B. Hydroxid statt Fluorid oder Chlorid) stabilisieren die hexagonale Struktur auch bei Raumtemperatur. Daher weisen die (geologisch selten vorkommenden) Einkristalle stets eine hexagonale Symmetrie auf.

Die Herstellung von Hydroxylapatit gelingt durch Umsetzung von exakt stöchiometrischen Mengen an Calcium- und Phosphatsalzlösungen mit einem pH-Wert >9 und anschließendem mehrtägigem Erhitzen auf 100°C in CO_2 -freier Atmosphäre. Mikrokristalliner Hydroxylapatit kann auch durch Festkörperreaktion von geeigneten Calciumphosphaten (z. B. MCPM, DCPA, DCPD, OCP) mit CaO , $\text{Ca}(\text{OH})_2$ oder CaCO_3 hergestellt werden ($>1200^\circ\text{C}$, äquimolare Atmosphäre aus Wasserdampf und Stickstoff). Einkristalle erhält man durch Hydrothermalsynthese.^[72, 73] Eine wasserfreie Synthese ist in Ethanol ausgehend von $\text{Ca}(\text{OEt})_2$ und H_3PO_4 möglich.^[92, 93]

Stöchiometrisch reiner Hydroxylapatit kommt nicht in biologischen Systemen vor. Da der „biologische Apatit“ in Knochen und Zähnen dem Hydroxylapatit aber recht nahe kommt (Tabelle 1), wird Hydroxylapatit häufig als biologisch aktive Beschichtung auf chirurgischen und zahnmedizinischen Implantaten (z. B. Hüftendoprothese, Zahnimplantate) eingesetzt (siehe Lit. [94, 95] für Übersichten). Ein Calciumphosphatzement auf Hydroxylapatit-Basis wurde vorgeschlagen.^[29] Wegen seiner Ähnlichkeit mit dem Knochenmineral wird Hydroxylapatit auch als stationäre Phase in der Flüssigchromatographie zur Trennung von Proteinen und anderen Biomolekülen eingesetzt.^[96–101]

TTCP (Tetracalciumphosphat $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$) ist das basischste Calciumorthophosphat, wobei seine Löslichkeit höher als die des Hydroxylapatits ist (Tabelle 2). Es kann nicht aus Wasser gefällt werden, sondern nur durch Festkörperreaktion oberhalb 1300°C hergestellt werden, z. B. aus äquimolaren Mengen von DCPA und CaCO_3 in trockener Luft oder Stickstoff [Gl. (2)]:^[72, 73]



TTCP ist in Gegenwart von Wasser instabil: Es tritt langsame Hydrolyse zu Hydroxylapatit und Calciumhydroxid ein.^[72, 73] Deshalb kommt es nicht in biologischen Verkalkungen vor. In der Medizin wird TTCP vor allem zur Herstellung von Calciumphosphatzementen für den Knochenersatz verwendet.^[27, 29–31, 39, 41, 102–104]

3. Biomineralisation und biologische Hartgewebe

Als biologische Mineralisation (Biomineralisation) bezeichnet man die In-vivo-Bildung von anorganischen Mineralien. Im menschlichen Körper kommen sowohl physiologische als auch pathologische Verkalkungen vor, die in den meisten Fällen aus Calciumphosphaten bestehen. Ebenfalls von

großer Bedeutung sind andere Mineralien wie Calciumcarbonat (in Muschel- und Schnecken-schalen, marinen Kalkalgen, Fischen, Ascidien und Pflanzen), Calciumoxalat (in Pflanzen), Calciumsulfat (in Quallen), Strontiumsulfat (in den Meereseinzellern der Gattung *Acantharia*), Bariumsulfat (in Algen), Kieselsäure (in marinen Kieselalgen und in Pflanzen) und Eisenoxide (in Bakterien und in Schnecken-zähnen).^[1, 4, 5] An dieser Stelle sollen aber nur die chemischen und strukturellen Besonderheiten von Hartgeweben aus Calciumphosphaten diskutiert werden.

Nach Weiner und Wagner bezeichnet der Begriff Knochen eine Familie von Materialien, die alle aus mineralisierten Kollagenfasern aufgebaut sind.^[105, 106] Diese Materialfamilie umfasst neben dem eigentlichen Knochen auch Dentin (d. h. das innere Material von Zähnen), Zahnzement (die dünne Schicht zwischen Zahnwurzel und Kiefer) und mineralisierte Sehnen.^[105, 107] Beginnen wir die Diskussion mit der Betrachtung des „echten“ Knochens.

3.1. Knochen

Der größte Teil des Hartgewebes im menschlichen Körper besteht aus Knochen.^[1] Seine Hauptfunktionen sind zum einen die mechanische Stabilisierung und zum anderen die Speicherung von Calcium und Phosphat für unterschiedliche metabolische Zwecke. Aus Sicht eines Chemikers ist Knochen ein Verbundwerkstoff aus Calciumphosphat und Kollagen (Tabelle 1). Die physiologischen Flüssigkeiten im Knochen erhöhen die Elastizität. Die Porosität des Knochens ist von großer Bedeutung für den Stoffaustausch und die Zugänglichkeit für Zellen. Daneben spielt sie eine große Rolle für die anisotrope mechanische Stabilität des Knochens.^[1, 5, 15–17, 19–21, 105, 108–112]

Normalerweise besteht Knochen aus einer relativ dichten äußeren Schicht (*Corticalis* oder kompakter Knochen), die einen weniger dichten porösen Innenraum (*Spongiosa* oder schwammartiger Knochen) umgibt, der mit gelartigem Knochenmark gefüllt ist (Abbildung 3). Die Struktur von Knochen kann durch einen hierarchischen Aufbau auf unter-



Abbildung 3. Der nichtcalcinierte schwammartige Knochen (Femurkopf) zeigt den Übergang von der kompakten äußeren Schicht (*Corticalis*) zum porösen Inneren (*Spongiosa*).

schiedlichen Längenskalen erklärt werden (detaillierte Beschreibungen siehe Lit. [1, 5, 105, 108–112]).

Knochen ist aus mikroskopisch kleinen Bauelementen zusammengesetzt, den mineralisierten Kollagenfasern (Fibrillen) von etwa 80–100 nm Durchmesser und einigen 10 µm Länge (Abbildung 4). Diese bestehen aus biologischem

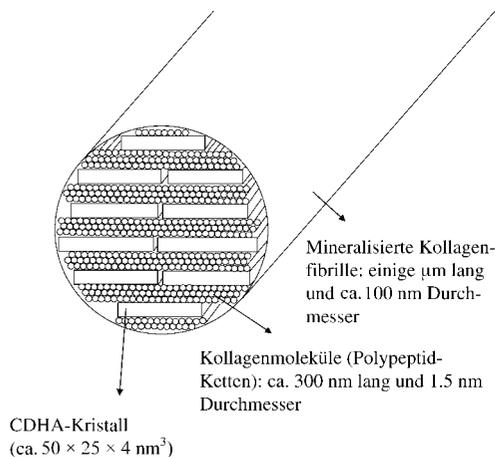


Abbildung 4. Schematische Darstellung der mineralisierten Kollagenfibrillen, die die grundlegenden Bausteine des Knochens sind. Plättchenförmige Nanokristalle aus CDHA sind parallel zwischen den Kollagenmolekülen eingelagert, wobei die *c*-Achse parallel zur Faserachse angeordnet ist.

Apatit (d. h. substituiertem CDHA) und Kollagen-I-Molekülen. Letztere lagern sich zu Tripelhelices zusammen. Die Apatitkristalle im Knochen sind plättchenförmig gestreckt (entlang der *c*-Achse im Kristall) und ca. 2–4 nm dünn (nur einige Elementarzellen!, Tabelle 1). Die Kristalle sind parallel in die Kollagenfibrillen eingebaut.^[105] Im Labor konnte diese hierarchische Anordnung durch Fällung von Hydroxylapatit mit amphiphilen Polymermolekülen (Bildung von mineralisierten Nanofasern) kürzlich nachgeahmt werden.^[113] Dennoch ist die Grenzfläche zwischen dem biologischen Apatit und der Kollagen-Proteinkomponente bis heute nur schlecht verstanden. Auch der Grund für die besondere Geometrie der Calciumphosphat-Anordnung im Kollagen ist nicht bekannt.^[1, 5, 105, 108–112]

Allgemein kann eine typische Abfolge der Knochenbildung beschrieben werden. Der erste Schritt umfasst die Biosynthese und extrazelluläre Anordnung des Netzwerks aus faserartigem Kollagen-I, woran sich die Mineralisation anschließt. Dabei wachsen die Kristalle des biologischen Apatits epitaktisch auf, d. h., die *c*-Achse im Kristall verläuft parallel zur Längsachse der Kollagenfaser.^[5, 105, 107] Entsprechendes gilt für Dentin und Enamel^[114, 115] sowie für Niedere Tiere. Beispielsweise sind in der Schale der Molluske *Lingula unguis* CDHA-Kristalle so angeordnet, dass die *c*-Achsen der Kristalle parallel zu den β -Chitin-Fasern verlaufen.^[116] Offenbar ist eine solche parallele Anordnung von Apatitkristallen entlang der Längsachse einer organischen Faser ein Charakteristikum dieses Biomineralisationsprozesses.

Anders als andere Hartgewebe durchläuft Knochen kontinuierlich einen Auf- und Abbauprozess, die Knochengebeberemodellierung („Remodelling“). Spezialisierte Zellen

(„Osteoklasten“) bauen kontinuierlich Knochensubstanz ab, während andere Zellen („Osteoblasten“) laufend neues Knochengewebe aufbauen. Im gesunden Organismus liegt hier ein dynamisches Gleichgewicht vor, sodass sich die Knochensubstanz netto nicht verändert (überwiegt der Knochenabbau, so kommt es zur Osteoporose; überwiegt der Knochenaufbau, so kommt es zur Osteopetrose). Daher besteht der Knochen im erwachsenen Menschen aus einer Vielzahl von kleinen Bereichen unterschiedlichen „Alters“ und gegebenenfalls unterschiedlicher Struktur; eine Tatsache, die die Strukturuntersuchung erheblich erschwert.^[1, 5, 105, 107–112]

Bis heute ist der chemische Mechanismus der Knochenbildung nicht vollständig geklärt. Unumstritten ist, dass der anorganische Anteil des Knochens aus biologischem Apatit besteht, d. h. aus CDHA mit ionischen Substitutionen (interessanterweise konnte kein Hydroxid nachgewiesen werden).^[117–119] Versuche zur Nachahmung der Knochenmineralisation in vitro haben gezeigt, dass bei der Fällung von CDHA und HA aus übersättigter Lösung stets Zwischenprodukte auftreten.^[15–17, 48–53, 67–71] Drei Verbindungen werden als solche intermediäre Phasen diskutiert: DCPD, ACP und OCP. Es liegt nahe, diese Verbindungen auch als Intermediate bei der Knochenmineralisation in vivo anzunehmen. Es ist allerdings schwierig, eine solche Zwischenstufe in vivo nachzuweisen. Brown schlug 1966 OCP als erste feste Phase bei der Knochenbildung vor, die auch als Templat für die weitere Keimbildung von biologischem Apatit dienen sollte.^[120] In der Folge wurden weitere Arbeiten publiziert, die diese Annahme stützten.^[121–124] Direkte Hinweise wurden durch hochauflösende Transmissionselektronenmikroskopie erhalten: computersimulierte Kristallgitteraufnahmen zeigten, dass die „zentrale dunkle Linie“ in mineralisiertem Gewebe aus OCP besteht.^[48–50]

Gleichzeitig mit Brown postulierte die Gruppe um Posner das ACP als erste feste Phase bei der Knochenmineralisation.^[125–127] Dies wurde aus den folgenden Tatsachen abgeleitet:

- Bei der Fällung von Calciumphosphaten in vitro bei pH > 8.5 ist die erste feste Phase amorph.
- Im ausgewachsenen Knochen besteht die Mineralphase aus einer Mischung von ACP und niedrig kristallinem CDHA.
- „Junges“ Knochenmineral hat eine niedrigere Kristallinität als „altes“ Knochenmineral.^[125–133] Dies deutet auf einen Reifungsprozess der Knochenmineralkristalle hin.

Es gibt nur indirekte Hinweise auf diesen Reifungsprozess in vivo. Es zeigt sich beispielsweise, dass die Röntgenbeugungsreflexe von tierischem Knochen mit zunehmendem Alter schärfer werden. Dieser Effekt ist in der *a*-Achse ((310)-Reflexe) ausgeprägter als in der *c*-Achse ((002)-Reflexe).^[134, 135] Weitere Veränderungen sind eine Zunahme des Calciumgehalts und eine Abnahme des Hydrogenphosphatanteils mit zunehmendem Alter.^[136, 137] Sowohl die Kristallitgröße als auch der Carbonatanteil nahmen in Knochen von Ratten und Kühen mit dem Alter zu.^[137] Chemisch betrachtet zeigen diese Befunde einen langsamen Übergang vom „schlecht“ kristallisierten CDHA zu einem „besser“ kristallisierten Hydroxylapatit.

Gegenstand einer anhaltenden Diskussion ist die Frage, ob es sich bei der Knochenbildung um einen aktiven oder um

einen passiven Prozess handelt. Unter einem aktiven Prozess versteht man hier die Akkumulation von Calciumphosphat-Nanokristallen in einem räumlich begrenzten Zellbereich eines Osteoblasten, d.h. in einem Matrixvesikel. Solche Matrixvesikel wurden durch Transmissionselektronenmikroskopie in Frühstadien der Knochen- und Zahnmineralisation nachgewiesen.^[138–140]

Als passiver Prozess wird eine spontan ablaufende Mineralbildung an geeigneten Keimbildungsplätzen bezeichnet (z. B. auf einer Kollagenfaser). Das Blutserum ist bezogen auf die Calciumphosphatausfällung übersättigt.^[141] Die Kollagenfibrillen haben eine spezielle Struktur mit einer Periodizität von 67 nm und 35–40 nm Lücken oder Löchern zwischen den Enden der Kollagenmoleküle, in denen im ausgewachsenen Knochen die Calciumphosphat-Nanokristalle lokalisiert sind. Eine Keimbildung an diesen Stellen würde zu diskreten Kristallen in der Größe der Hohlräume führen, wobei die Größe durch die Kollagenfibrille begrenzt wäre. Das zeitweilige Fehlen von spezialisierten Inhibitoren soll zur Ausfällung von Calciumphosphat und somit zur Mineralisation führen.^[142–144] Bis heute ist die Frage, ob das Knochenmineral von Zellen aktiv gebildet und ausgeschieden wird oder eine systemische Regulation der Inhibitorkonzentration die Mineralisation lenkt, nicht beantwortet.^[145] Vermutlich liegt die Wahrheit zwischen diesen beiden Extremfällen, d.h., Calciumphosphat-Nanokristalle werden in Zellen aus einem übersättigten Serum gebildet und anschließend in der Nähe der Kollagenfibrille ausgeschieden, um dort an geeignetem Ort angelagert zu werden.

3.2. Zähne

Nach den Knochen sind Zähne das zweite wichtige Hartgewebe in Höheren Tieren.^[1] Die Struktur von Zähnen ist noch komplexer als die von Knochen (Abbildung 5). Beispielsweise bestehen Zähne aus mindestens zwei unterschiedlichen Biomaterialien: Zahnschmelz (Enamel) an der Außenseite und Zahnbein (Dentin) an der Innenseite. Tabelle 1 zeigt, dass Dentin und Knochen eine sehr ähnliche Struktur haben, sodass man in der Praxis beide gleichsetzen kann.^[1, 72, 73, 105, 107–112, 136]

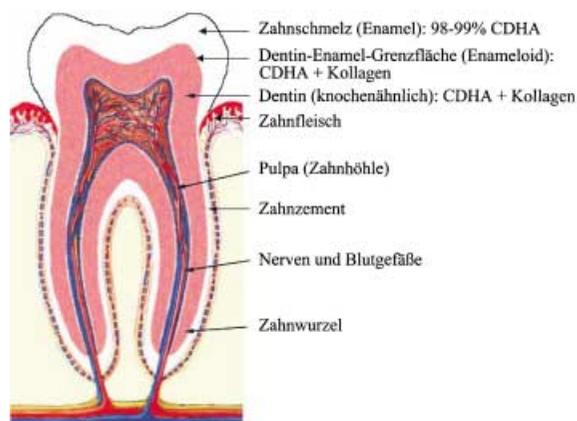


Abbildung 5. Schematische Darstellung eines Zahns und seiner lokalen chemischen Zusammensetzung.

Zahnschmelz hat eine andere Struktur. Er enthält Kristalle aus biologischem Apatit, die deutlich größer als die Nanokristalle in Knochen und Dentin sind (Tabelle 1). Allerdings enthält er kein Kollagen. Die Grenzphase zwischen Enamel und Dentin bezeichnet man als Enameloid. Hier handelt es sich um ein Hartgewebe mit enamelähnlichen Kristallen aus biologischem Apatit im Verbund mit Kollagen.^[1]

Einer der wesentlichen Unterschiede zwischen Enamel und Enameloid auf der einen Seite und allen anderen Hartgeweben im Körper auf der anderen Seite ist die Größe der Kristalle. Die Mineralphase im Zahnschmelz besteht aus nadelförmigen Kristallen, die einige 10 µm lang werden (bis zu 100 µm), aber teilweise nur 50 nm breit sind.^[146–150] Obwohl diese Kristalle viel größer als die in Dentin oder Knochen sind (Tabelle 1), so bestehen sie dennoch aus carbonathaltigem CDHA.^[151–153] An der Oberfläche enthält Zahnschmelz auch Fluorid (ca. 500–1000 ppm, ca. 0.01 Gewichts-% insgesamt^[16]), welches die Hydroxid-Positionen im Apatit besetzt.^[154] Fluorapatit kommt im Zahnschmelz nicht vor.^[1]

Die Enamelkristalle entstehen in paralleler Anordnung unter strenger biologischer Kontrolle, die bei allen Stufen der Zahnschmelzbildung vorliegt. Die Kristallite haben dabei eine bemerkenswert einheitliche Form (Abbildung 6).^[146–148] Die ersten Kristalle bei der Schmelzbildung sind flache, dünne Bänder,^[146–148] die als OCP,^[109, 155–157] β -(Ca,Mg)₃(PO₄)₂^[156] oder DCPD identifiziert wurden.^[117, 119] Während der Reifung des Zahnschmelzes nimmt der Mineralgehalt von 45 auf 98–99 Gewichts-% zu.^[117] Parallel hierzu werden die Kristallite breiter^[117, 119, 158, 159] unter Zunahme des Ca:P-Verhältnisses^[158, 159] und Abnahme des Carbonatanteils.^[160–162] Am Ende dieses Prozesses steht das härteste Gewebe mit dem höchsten Mineraliengehalt im Körper.

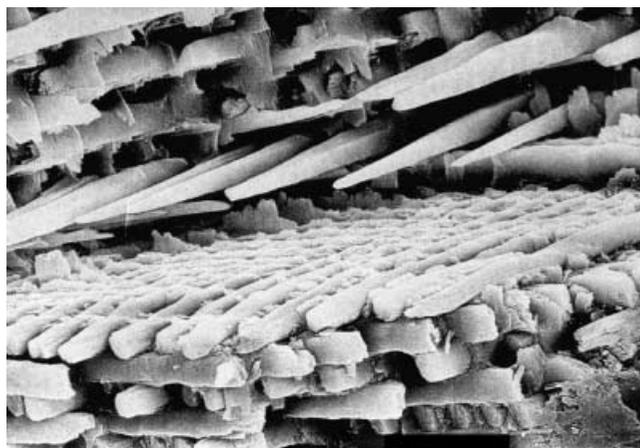


Abbildung 6. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme des Zahnschmelzes eines kontinuierlich wachsenden Rattenschneidezahns mit geordneten Stäbchen aus Calciumphosphaten. Längenmaßstab: 10 µm (aus Lit. [1] mit Genehmigung).

Die in den Enamelkristalliten vorhandenen Kristallflächen sind stets die (100)-Fläche an den Seiten und vermutlich die (001)-Fläche an den Enden,^[163, 164] die üblicherweise bei Apatit auftretenden Flächen. Im Zentrum der Enamelkristalle findet man eine lineare Struktur, die wie in Knochen und Dentin als „zentrale dunkle Linie“ bezeichnet wird und ebenfalls aus OCP besteht.^[48–51] Bei Dentin beobachtet man

ebenso wie im Knochen einen Reifungsprozess mit zunehmendem Alter, erkennbar durch schärfer werdende Röntgenbeugungsmuster.^[136] Auch hier tritt also eine Umwandlung von niedrig kristallinem CDHA zu höher kristallinem HA auf.

Die Bildung von Enamel- und Dentinkristallen wurde auf mikroskopischer Ebene durch hochauflösende Transmissions-elektronenmikroskopie untersucht.^[165–167] Der Verlauf ist bei beiden ähnlich und wurde als vierstufiger Prozess beschrieben. Die ersten beiden Schritte bestehen aus Keimbildung und Kristallisation von Nanopartikeln aus CDHA. Daran schließt sich die Bildung von bänderförmigen Kristallen an, die bis vor kurzem als erster Schritt der Biomineralisation im Zahn angesehen wurde.^[165–167] Diese komplexen Vorgänge bei Keimbildung und Kristallwachstum laufen unter Beteiligung der extrazellulären organischen Matrix und unter strenger Kontrolle durch entsprechend spezialisierte Zellen (Odontoblasten, Ameloblasten) ab.^[168] Überdies wurden regelmäßige Anordnungen unterschiedlicher Oberflächenladungsdichten an der Oberfläche von biogenen CDHA-Kristallen aus natürlichem Enamel durch kombinierte Rastersondenmikroskopie nachgewiesen.^[169] An diesen geladenen Oberflächenstellen tritt offenbar bevorzugt Adsorption von spezifischen organischen Molekülen (z. B. Amelogenin^[169]) bei physiologischem pH-Wert auf.

Trotz dieser strukturellen Gegensätze haben Dentin und Enamel einen gemeinsamen Startpunkt: die Dentin-Enamel-Grenzfläche („junction“).^[170–172] In welcher Weise hier das Wachstum der Zahnschmelzkristalle abläuft, wird derzeit intensiv diskutiert. Einige Autoren postulieren ein epitaktisches Wachstum von Enamelkristallen auf bereits vorhandenen Dentinkristallen, da keine scharfe Grenzfläche auftritt.^[173–175] Andere konnten zeigen, dass die Enamelkristalle in einem gewissen Abstand zur Dentinoberfläche gebildet werden^[155–157, 176] und entweder Letztere durch Kristallwachstum erreichen^[177] oder ihr fern bleiben.^[176, 178] Die Bildung des Hartgewebes Zahn ist eher noch komplizierter als die des Hartgewebes Knochen.

Eine physikalisch-chemische Form der Biomineralisation läuft beständig in unseren Zähnen ab. Da Enamel nur bei der Zahnbildung im Kiefer entsteht, kann es nicht durch zelluläre Mechanismen repariert werden. Eine chemische Schädigung durch Säure (z. B. durch säurehaltige Lebensmittel oder Getränke) führt zur lokalen Auflösung des Calciumphosphatminerals im Zahnschmelz. Glücklicherweise ist der Speichel (ebenso wie das Blutserum) bezogen auf die Abscheidung von CDHA übersättigt, sodass eine Selbstheilung durch Kristallisation auftritt. Dieser Vorgang ist rein physikalisch-chemischer Natur, d. h. nicht unter biologischer Kontrolle. Daher kann man ihn als „passive Mineralisation“ bezeichnen (siehe hierzu auch die Abschnitte zur Knochenbildung). Eine Substitution von Hydroxid durch Fluorid im Zahnschmelz führt zur Bildung von Fluorhydroxylapatit, der eine geringere Löslichkeit und damit eine höhere Säurebeständigkeit aufweist.^[154]

3.3. Knorpel

Knorpel ist hauptsächlich ein Bestandteil des Skelettsystems.^[179] Er kommt sowohl in mineralisierter als auch in

nichtmineralisierter Form vor. Der mineralisierte Knorpel kommt nur in Wirbeltieren vor, ist hier aber nicht die normale Form. Man findet ihn vor allem im Wirbelbereich und im Kiefer. Knorpel kann auf zwei unterschiedliche Weisen mineralisieren: Als Zwischenstufe bei der Knochenbildung (endochondrale Ossifikation) oder (untergeordnet) als Endprodukt. Erstere tritt in fast allen Wirbeltieren auf,^[1] während Letzteres nur in einigen Haifisch- und bestimmten anderen Fischarten vorkommt.^[180]

Mineralisierter Knorpel besteht aus dem nichtmineralisierten Knorpelgewebe, welchem CDHA-Kristalle und beträchtliche Mengen Aminosäuren, Phosphoserin und anderen Biomolekülen zugesetzt sind. Bis heute ist die molekulare Anordnung von Biomakromolekülen und CDHA nicht hinreichend verstanden. Man vergleicht den mineralisierten Knorpel oft mit Knochen, da beide in enger Nachbarschaft in der Wachstumsfuge vorkommen und ähnliche biologische Bausteine sowie CDHA enthalten.^[1] Anders als die plättchenförmigen Mineralkristalle im Knochen sind die Mineralkristalle im Knorpel eher nadelförmig,^[1, 105, 108–112] und wesentlich kürzer (25–75 nm^[181] oder 50–160 nm^[182]) als im Zahnschmelz (bis zu 100 µm^[146–150]). Die Breite der CDHA-Kristalle im Knorpel wurde mit 5–7.5 nm^[181] und 1.8 nm angegeben.^[182]

Übersichten zur Mineralisation in Knorpel sind in Lit. [183–185] gegeben. Vor der Kristallisation nimmt die organische Matrix (Proteoglycane, Kollagen-II und Wasser)^[1] zunächst Calcium und dann Phosphat auf.^[185] Die ersten Kristalle aus CDHA im Knorpel sind nadelförmig und entstehen in zellulären Matrixvesikeln.^[183, 184] Nach der Ausscheidung aus den Zellen ordnen sie sich an der organischen Matrix als Cluster von zufällig orientierten Kristallen an. Diese Cluster verschmelzen anschließend zum ausgewachsenen mineralisierten Knorpel, der anders als Knochen und Zahnschmelz zufällig orientierte Mineralkristalle aufweist.^[181] Physikalisch-chemische Untersuchungen zeigen die niedrige Kristallinität und die Anwesenheit von signifikanten Mengen nichtapatitischer Calciumphosphate. Der Anteil dieser nichtapatitischen Calciumphosphate nimmt zu Beginn zu und bei fortschreitender Reifung des Gewebes bei zunehmendem Gesamtmineralgehalt wieder ab.^[186] Man kann hieraus schließen, dass die in den Vesikeln gebildeten CDHA-Kristalle als Keime für die weitergehende Mineralisation dienen. Von einem umfassenden Verständnis der hier ablaufenden Prozesse der Keimbildung und Kristallisation sind wir heute noch weit entfernt.^[1]

3.4. Schalen

In seltenen Fällen bilden Weichtiere (Mollusken) Schalen aus Calciumphosphat.^[187, 188] Als vor etwa 570 Mio. Jahren die Biomineralisation von Weichtieren einsetzte, gab es sowohl Mollusken mit Schalen aus Calciumcarbonat als auch solche mit Schalen aus Calciumphosphat. Im Laufe der Entwicklungsgeschichte sind die Arten mit Calciumphosphatschalen fast völlig ausgestorben (als „Problematica“ bezeichnete Arten), sodass die bei weitem überwiegende Zahl heutiger Schnecken und Muscheln Schalen aus Calciumcarbonat bildet.^[1] Abbildung 7 zeigt die versteinerten Schalen der Art *Lingula*, die aus Calciumphosphat (Apatit) bestehen.^[116]



Abbildung 7. Versteinerte Schalen der Molluske *Lingula* aus Calciumphosphat (unterer Trias; aus <http://inyo.topcities.com/ef/lingula.html> mit Genehmigung).

4. Die pathologische Kristallisation von Calciumphosphaten

Die Abscheidung von Calciumphosphaten im Körper am falschen Ort kann zu schweren Erkrankungen führen. Solche pathologischen Verkalkungen sind z. B. verantwortlich für Blasensteine,^[15, 189, 190] Arteriosklerose,^[141, 191–193] Zahnstein,^[45, 46] die Verkalkung von künstlichen Herzklappen,^[194–198] und verkalkte Menisken („Chondrocalcinose“).^[199, 200] Abbildung 8 zeigt eine arteriosklerotische Ablagerung von Calciumphosphat (gemeinsam mit Cholesterin), die aus verkalkten Arterien isoliert wurde.^[193, 201] Diese Art der Gefäßblockierung ist heute die häufigste Todesursache beim Menschen in den Industrieländern.

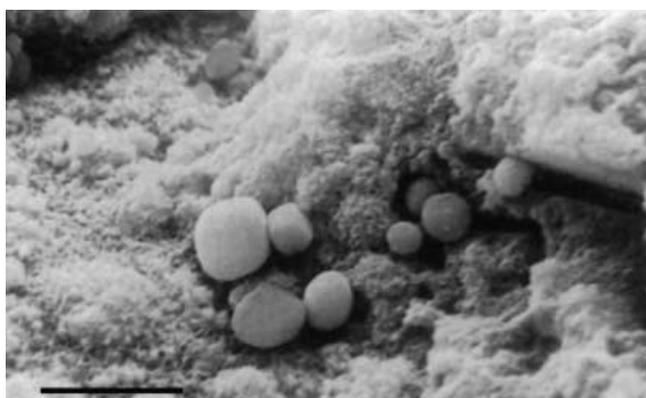


Abbildung 8. Kugelförmige Partikel aus Calciumphosphat aus arteriosklerotischen Ablagerungen. Längenmaßstab: 4 μm (aus Lit. [193] mit Genehmigung).

Da einige Körperflüssigkeiten (Blut, Speichel) hinsichtlich der Hydroxylapatitabscheidung übersättigt sind,^[141] können wir folgern, dass die Verkalkung thermodynamisch zwar stets möglich, aber kinetisch im Allgemeinen gehindert ist. Es muss also geeignete Inhibitionsmechanismen im Körper geben, die

eine Mineralisation am unerwünschten Ort im gesunden Organismus verhindern. Die Untersuchung dieser Inhibitionsmechanismen ist Gegenstand der aktuellen Forschung in der Molekularen Medizin. Es ist möglich, dass Störungen dieser Inhibition die Ursache für eine Reihe der pathologischen Verkalkungen sind. Außerdem gibt es Hinweise darauf, dass das dynamische Gleichgewicht zwischen Knochenauflösung und Knochenneubildung ebenfalls von der Inhibition abhängt. So neigen „Knock-out-Mäuse“, die bestimmte Proteine im Blut nicht bilden können, zu massiver unkontrollierter Gefäßverkalkung. Vermutlich wirken diese Proteine (z. B. Fetuin,^[142, 144] Matrix-Gla-Protein^[143, 202]) im gesunden Organismus als Inhibitoren der Verkalkung. Mögliche Mechanismen sind das Komplexieren der Calcium- oder Phosphationen und das Verhindern des Wachstums von ersten Calciumphosphatkeimen durch spezifische Adsorption.^[203–205]

Daneben wurden auch Mechanismen identifiziert, die die Kristallisation begünstigen.^[141] Insbesondere für die Arteriosklerose werden derzeit diskutiert:

- die heterogene Keimbildung von Calciumphosphaten an den Membranen von toten Zellen (Induktion der Kristallisation durch die Phosphatgruppen von Zellmembran-Phospholipiden)^[192, 195]
- Keimbildung durch Antikörper, die spezifisch mit Cholesterin reagieren^[205, 206]
- Bildung von knochenähnlichen Strukturen auf der Innenseite von Gefäßen durch osteoblastenähnliche Zellen (Perizyten)^[207]

Im Fall der Arteriosklerose ist es wahrscheinlich, dass eine Reihe von Effekten für die pathologische Kristallisation verantwortlich sind, angefangen bei rein physikalisch-chemischen Prozessen (Abscheidung aus übersättigter Lösung)^[141] über biologisch induzierte Kristallkeimbildung bis hin zur zellulär kontrollierten Abscheidung von Calciumphosphaten.^[141]

Ähnliche Effekte werden für die Verkalkung von künstlichen Herzklappen diskutiert. Der Ersatz von Herzklappen durch biologische Implantate (Herzklappen von Schweinen) oder synthetische Implantate ist heute in der Herzchirurgie etabliert (ca. 150 000 Implantationen weltweit pro Jahr).^[196] Problematisch ist die Verkalkung der Implantate, teilweise schon nach wenigen Monaten, d. h., die Herzklappen werden durch die Ablagerung von Calciumphosphaten steif. Es ist bis heute nicht klar, warum dies geschieht. Zumindest bei Herzklappen biologischen Ursprungs scheint eine Keimbildung an den Phospholipidgruppen von toten Zellen wahrscheinlich.^[194–198]

5. Calciumphosphate als Biomaterialien

Die Behandlung von Verletzungen oder Erkrankungen erfordert häufig einen chirurgischen Eingriff. Seit etwa 50 Jahren werden zunehmend Biomaterialien zur Verbesserung der chirurgischen Eingriffe oder zum Ersatz von geschädigten Körperorganen eingesetzt. Knochenbrüche werden heute meist mit metallischen Drähten, Nägeln, Schrauben und Platten behandelt, abgenutzte Gelenke (Knie, Hüfte) werden durch künstliche Endoprothesen ersetzt und verlorene Zähne können durch metallische Implantate ersetzt

werden, um nur einige Beispiele zu nennen. Sobald ein solches körperfremdes Material Körperkontakt hat, wird die Frage nach der Biokompatibilität aufgeworfen, da jede Nebenwirkung möglichst vermieden werden muss (vor allem Toxizität, Allergieauslösung, Entzündung, Korrosion, mechanisches Versagen). Die Entwicklung optimaler Biomaterialien ist Gegenstand gemeinsamer Arbeiten von Medizinern, Ingenieuren, Chemikern und Physikern.^[15, 194, 208–213]

Calciumphosphate verfügen normalerweise über eine ausgezeichnete Biokompatibilität, d. h., sie werden vom Körper gut angenommen und integriert, z. B. in den Knochen nach einer Implantation. Dies liegt an ihrer weiten Verbreitung im Körper in gelöster oder fester Form. Calciumphosphate sind daher heute als Biomaterialien weit verbreitet, vor allem zur Hartgeweberegeneration (Knochen, Zähne).^[21, 47, 66, 214–221]

In Form von größeren Werkstücken werden Calciumphosphate als künstliche Knochenersatzmaterialien zur chirurgischen Behandlung von Knochendefekten eingesetzt.^[15, 16, 219, 222] Ein durch eine Tumorextraktion, einen komplizierten Knochenbruch oder Entzündung hervorgerufener Knochendefekt muss mit geeignetem Material aufgefüllt werden, um das Einwachsen von neuem Knochengewebe zu ermöglichen. Wenn dies nicht geschieht, kann Bindegewebe in den Defekt einwachsen, sodass die Knochenbildung unterbleibt. Das ideale Ersatzmaterial (der „goldene Standard“), der körpereigene spongiöse Knochen aus dem Beckenkamm (Hüfte), ist gewöhnlich nicht in ausreichender Menge vorhanden. Fremdmaterialien biologischer Herkunft (von humanen oder tierischen Spendern) werden wegen möglicher Infektionsgefahren kritisch diskutiert, und die Notwendigkeit für ein vollsynthetisches Material ist offenkundig. Heute ist eine Vielzahl von unterschiedlichen Calciumphosphaten zur Behandlung von Knochendefekten auf dem Markt (Übersichten siehe Lit. [15, 16, 219, 222]).

Chemisch handelt es sich im Allgemeinen um Hydroxylapatit, β -TCP oder BCP (d. h. einen Composit-Werkstoff aus HA und β -TCP).^[15, 16, 219, 222, 223] Die Anforderungen an ein ideales Knochenimplantat sind in der Regel:

- eine Porosität mit Porendurchmessern von einigen 100 μm (zum Einwachsen des Knochens; siehe Abbildung 2 und Abbildung 3)
- eine biologische Abbaubarkeit mit einer ähnlichen Geschwindigkeit wie bei der Neubildung von Knochen (d. h. zwischen einigen Monaten und etwa zwei Jahren)
- eine ausreichende mechanische Stabilität^[15, 16, 219, 222]

Hydroxylapatit ist unter physiologischen Bedingungen stabiler als α - und β -TCP, da es schlechter löslich ist und langsamer resorbiert wird.^[15, 16, 219, 222] Implantate aus calciniertem HA mit hoher Kristallinität sind in einem Knochendefekt noch nach Jahren in nahezu unveränderter Form nachweisbar. Daher scheinen β -TCP^[218] und BCP^[21, 61, 63, 64] derzeit favorisiert zu werden. Ein ideales Material sollte sich so schnell auflösen, wie neuer Knochen gebildet wird, d. h., nach der Heilung sollte der Defekt vollständig mit gesundem Knochengewebe gefüllt sein. Abbildung 9 zeigt drei Knochenersatzmaterialien auf der Basis von Calciumphosphaten unterschiedlicher Herkunft. Die Porosität der Implantate ist sehr wichtig, um Zellinvasion und Knocheneinwachstum zu ermöglichen.

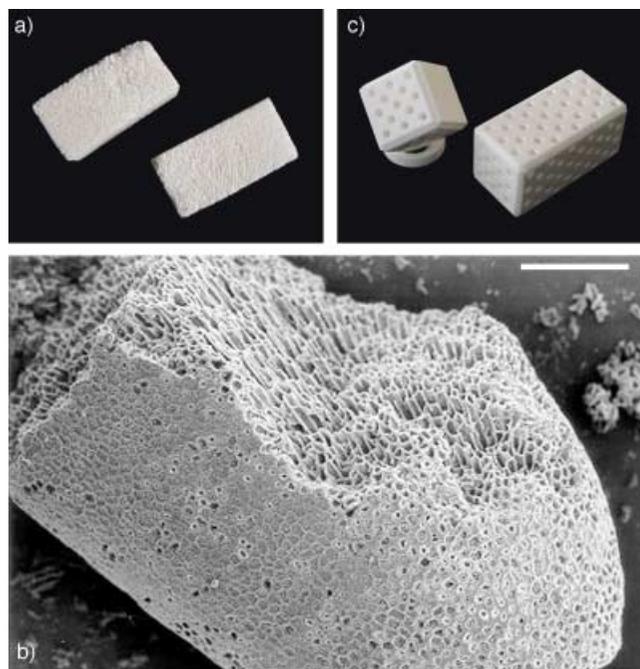
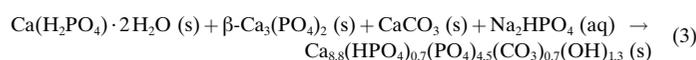


Abbildung 9. Beispiele für poröse Knochenersatzmaterialien auf Calciumphosphat-Basis: a) Cerabone (Hydroxylapatit) aus calcinierter Rinderspongiosa (ca. $3 \times 1 \times 1 \text{ cm}^3$). b) Algipore (Hydroxylapatit) aus der hydrothermalen Umwandlung von Calciumcarbonatalgen mit Ammoniumphosphat. Längenmaßstab: 100 μm . c) Cerasorb (synthetisches phasenreines β -TCP) mit CNC-gebohrten Löchern (ca. $1 \times 1 \times 2 \text{ cm}^3$). CNC = computer numerical control.

Ein neues Material für die Behandlung von Knochendefekten sind Knochenzemente auf Calciumphosphat-Basis. Diese werden als Paste eingebracht und härten dann im Defekt aus. Es gibt viele solcher Zemente mit unterschiedlicher Zusammensetzung auf dem Markt (siehe auch die Diskussion der einzelnen Calciumphosphate). Gewöhnlich bestehen sie alle aus einer Mischung fester Calciumphosphate, die mit einer Lösung angerührt werden, um die Ausfällung einer CDHA-Phase zu erreichen [Gl. (3); nicht stöchiometrisch ausgeglichen].^[66, 102–104, 211, 212]



Dieses Verfahren ist vorteilhaft, da es anders als bei vorgeformten festen Implantaten eine gute geometrische Anpassung des Zements an den Defekt ermöglicht. Struktur und Zusammensetzung des ausgehärteten Materials ähneln dem Knochenmineral, was eine gute Resorption zur Folge hat.^[66]

Die Beschichtung von metallischen Implantaten mit Calciumphosphat spielt eine große Rolle in der Medizin. Solche Implantate werden vor allem als Endoprothesen (künstliches Hüftgelenk) und als Zahnimplantate im Kiefer verwendet. Die notwendige mechanische Stabilität erfordert metallische Grundkörper. Da Metalle aber gewöhnlich keine feste Verbindung mit dem Knochen bilden, wurde schon früh nach Wegen gesucht, den mechanischen Kontakt an der Grenzfläche Implantat-Knochen zu verbessern.^[194, 208, 224] Neben einer Erhöhung der Oberflächenrauigkeit ermöglicht eine Beschichtung mit Calciumphosphaten, dass Knochen gut an

die Calciumphosphatdeckschicht anwächst: Die Beschichtung wirkt wie ein Klebstoff zwischen Metall und Knochen (Abbildung 10).



Abbildung 10. Calciumphosphate in der Hüftendoprothetik: Ein keramisches Kugelgelenk (Al_2O_3), eine calciumphosphatbeschichtete Endoprothese (zementfreie Endoprothese) und eine unbeschichtete Endoprothese, die im Femurschaft mit PMMA-Knochenzement fixiert wird. PMMA = Poly(methylmethacrylat).

Derzeit werden zwei Beschichtungsmethoden praktisch angewendet: Zum einen das Aufbringen von geschmolzenem Calciumphosphat durch Hochtemperatur-Plasmaspritzen, zum anderen die Kristallisation aus übersättigter Calciumphosphatlösung. Die erste Methode^[94, 95, 216, 224] ist chemisch gesehen recht rauh. Festes Calciumphosphatpulver wird in eine Plasmaflamme eingespritzt und gegen ein Implantat geschleudert. Dieses wird entsprechend rotiert, um eine gleichmäßige Beschichtung zu erreichen. Das extrem schnelle Abschrecken führt zur Bildung einer Mischphase unterschiedlicher Calciumphosphate, die fest mit der Metalloberfläche verzahnt ist.^[94, 95, 216, 224]

Bei der zweiten Methode werden metallische Implantate in übersättigte Calciumphosphatlösungen getaucht. Das Verfahren wurde hauptsächlich von Kokubo et al. sowie van Blitterswijk et al. entwickelt. Sie konnten zeigen, dass nach entsprechender Oberflächenvorbehandlung des Metalls eine stabile Verbindung zwischen Calciumphosphat und Metall entsteht.^[225–230] Diese Methode ermöglicht auch die Beschichtung innerer Oberflächen (mit Plasmaspritzen schwierig) und den Einbau biologisch aktiver Wirkstoffe (z.B. Proteine, Antibiotika) in die Deckschicht.^[231] Ein Spezialfall ist die Abscheidung von biomimetischen Defektopatiten durch Tauchen in eine „simulierte Blutplasmaflüssigkeit“ (SBF), d.h., in eine übersättigte Lösung, die die anorganischen Ionen des menschlichen Blutplasmas in nahezu natürlicher Konzentration enthält.^[225–228, 232–235] Abbildung 10 zeigt sowohl eine mit Calciumphosphat beschichtete als auch eine unbeschichtete Hüftendoprothese. Letztere muss im Oberschenkelknochen (Femur) mit einem geeigneten Knochenzement auf Poly(methylmethacrylat)-Basis fixiert werden, um einen ausreichenden Halt zu gewährleisten. Dieser Knochenzement ist nicht biologisch abbaubar und verbleibt im Implantatraum.^[224, 236]

Die gleichen Überlegungen gelten für Zahnimplantate, die in den Kiefer eingebracht werden. Auf diese metallischen Implantate werden künstliche Zähne aus Keramik aufgeschraubt. Um den beträchtlichen Kaukräften standhalten zu können, muss die mechanische Anbindung des Implantats an den Kiefer optimal sein. Eine Beschichtung mit Calciumphosphaten (gewöhnlich durch Plasmasprayverfahren) verbessert die Bindung an den Knochen wesentlich. Abbildung 11 zeigt ein solches plasmaspraybeschichtetes Implantat bei unterschiedlicher Vergrößerung. In Abbildung 12 ist die Oberfläche einer Nickel-Titan-Formgedächtnislegierung (Ni-Ti, Nitinol®) zu sehen, die durch Tauchen in Lösung beschichtet wurde, um die Biokompatibilität zu erhöhen.^[237]

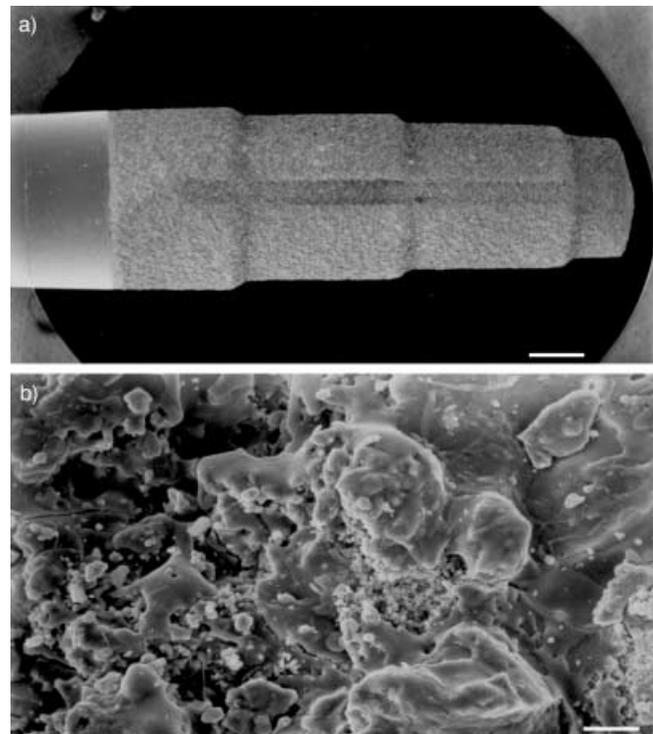


Abbildung 11. Zahnimplantate (von Friadent) mit Calciumphosphatbeschichtung aus dem Plasmasprayverfahren. Vergrößerung: a) $10\times$, b) $1000\times$. Zu beachten ist die irreguläre, raue Struktur der Calciumphosphatschicht bei höherer Vergrößerung. Längenmaßstäbe: a) 1 mm, b) $10\ \mu\text{m}$.



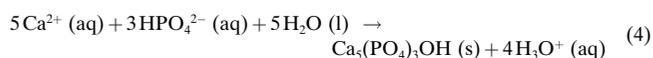
Abbildung 12. Die Oberfläche einer Nickel-Titan-Formgedächtnislegierung (Nitinol®), die durch Tauchen in übersättigte Calciumphosphatlösung beschichtet wurde. Vorne sieht man die geätzte Metalloberfläche, von der die Deckschicht mechanisch entfernt wurde. Längenmaßstab: $2\ \mu\text{m}$.

6. Die biomimetische Kristallisation von Calciumphosphaten

Die Fähigkeit biologischer Systeme, anorganische Verbindungen in besonderen Strukturen (z.B. Schalen, Stacheln, Zähne, Knochen, Skelette) anzuordnen, kann bis heute nicht durch chemische Synthesen nachgeahmt werden. Um die besonderen mechanischen und strukturellen Eigenschaften solcher Biomaterialien nachzuahmen, arbeiten weltweit mehr und mehr Forschungsgruppen an der Klärung des Biomaterialisationsprozesses. Im Fall der Calciumphosphate kommt das große Interesse der klinischen Medizin an biokompatiblen Implantaten und an der Behandlung pathologischer Verkalkungen hinzu. Die Grundlagen der Biomaterialisation wurden bereits ausführlich in Übersichtsartikeln beschrieben.^[1, 3-7, 238-241] Daher werden wir uns hier auf die biologisch inspirierte Kristallisation von Calciumphosphaten beschränken und an einigen Beispielen die derzeitigen Möglichkeiten aufzeigen.

Ein Ansatz zur Herstellung biomimetischer Knocheneratzmaterialien wurde von Pompe et al. vorgestellt, die HA auf Kollagen kristallisierten, um einen knochenähnlichen Composit-Werkstoff zu erhalten.^[242] Obwohl die Ultrastruktur von Knochen nicht realisiert werden konnte, werden die klinischen Einsatzmöglichkeiten von solchen Kollagen-HA-Membranen zurzeit intensiv untersucht. Es ist hier auch anzumerken, dass die Umwandlung eines biologisch abbaubaren Implantats in Knochengewebe letztlich nur durch den Körper selbst erfolgen kann. Ozin et al. fällten HA in Gegenwart von Tensiden, um ein biomimetisches lamellares Produkt zu erhalten.^[243] Stupp et al. stellten Organoapatite mit knochenmineralähnlicher Kristallinität durch Fällung in Gegenwart von organischen Polyelektrolyten her.^[214, 217, 244, 245] Wie bereits erwähnt, gelang es Kokubo et al. und van Blitterswijk et al., unterschiedliche Substrate mit knochenmineralähnlichem Apatit zu beschichten (siehe hierzu Lit. [229, 234] und die Literaturstellen zu beschichteten Metallprothesen). Wir berichteten kürzlich über die Herstellung von Formkörpern aus knochenmineralähnlichem Apatit und Composit-Werkstoffen in Verbindung mit biologisch abbaubaren Polymeren.^[84-86, 246]

Zur besseren Kontrolle der Fällungsbedingungen stellten Nancollas et al. die „Konstante-Zusammensetzung-Methode“ (constant composition method) vor. Diese ermöglicht die Beobachtung und Konstanzhaltung der externen Kristallisationsparameter (vor allem pH-Wert und Konzentrationen der beteiligten Ionen) während einer Fällung.^[22, 247] Normalerweise sinkt der pH-Wert bei der Fällung von Calciumphosphaten durch die Freisetzung von Protonen, die zuvor an Hydrogenphosphat oder Dihydrogenphosphat gebunden waren [Gl. (4)]:



Einer der wesentlichen Unterschiede zwischen der chemischen und der biologischen Kristallisation ist die Geschwindigkeit der Fällung. Bei einer chemischen Fällung findet die

Kristallisation im Allgemeinen schnell statt, während biologische Kristalle normalerweise Tage, Wochen oder Monate zum Wachstum brauchen. Ein geeignetes Experiment zur Nachahmung der Biomaterialisation muss daher eine langsame Kristallisation ermöglichen, insbesondere wenn der Einfluss von organischen oder biologischen Fremdstoffen untersucht werden soll.

Als günstig hat sich hierbei die Doppeldiffusionstechnik herausgestellt, bei der zwei Salzlösungen durch eine geeignete Diffusionsbarriere (z.B. eine Membran) getrennt sind. Falls diese Membran oder Matrix nicht nur inert ist, sondern selbst über biomimetische funktionelle Gruppen verfügt, kann deren Einfluss auf die Keimbildung untersucht werden. Entsprechende Experimente wurden von Iijima et al. (Kollagen-Matrix aus Rinder-Achillessehnen^[248] und -häuten in Gegenwart von Rinder^[249] und Mäuseamelogeninen^[250]), Kniep et al. (Matrix aus denaturiertem Kollagen),^[154, 251, 252] Epple et al. (Matrix aus mikroporösem Polyglycolid),^[253-256] Falini et al. (Matrix aus Kollagen),^[257] und Stupp et al. (Matrix aus kohlenstoffbeschichtetem TEM-Netz) durchgeführt.^[113] Die Kristallisation von knochenmineralähnlichem Apatit aus simulierter Blutplasmaflüssigkeit wurde unter kontrollierten statischen und dynamischen Bedingungen von Vallet-Regi et al.^[258, 259] und Epple et al.^[256, 260] durchgeführt.

Das fraktale Wachstum von hantelförmigen Fluorapatitkristallen, die sich bis zu Kugeln schließen, wurde auf die Wechselwirkung zwischen Kollagen und wachsenden Fluorapatitkristallen zurückgeführt.^[154, 251, 252] Abbildung 13 zeigt diese besondere Kristallmorphologie.



Abbildung 13. Ein biomimetisch in einer Gelatine-Matrix gewachsener Kristall aus Fluorapatit. Die besondere Wachstumsmorphologie kann durch ein fraktales Modell gut erklärt und simuliert werden. Längenmaßstab: 10 μm (aus Lit.^[252] mit Genehmigung).

Durch Kombination der „Konstante-Zusammensetzung-Methode“ mit dem Doppeldiffusionsansatz konnten wir unterschiedliche Kristallmorphologien von Fluorapatit in Abhängigkeit von der Gesamtkonzentration (d.h. Übersättigung), dem pH-Wert und der Fluoridkonzentration identifizieren.^[254, 255] Abbildung 14 zeigt eine gleichmäßige Kristallpopulation, die mit dieser Methode erhalten wurde.

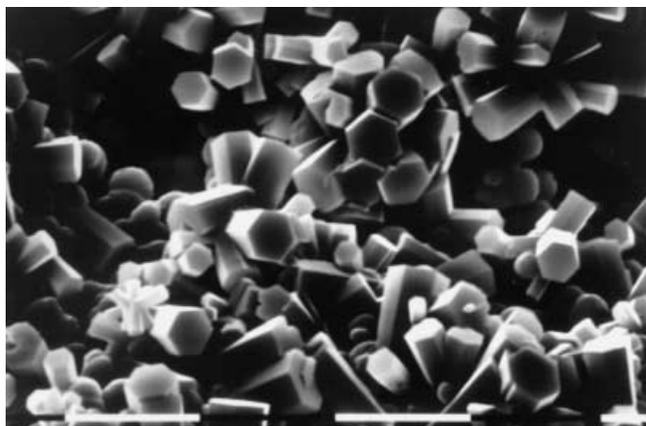


Abbildung 14. Hexagonale Fluorapatitkristalle aus einem Doppeldiffusionsexperiment unter kontrollierten Bedingungen (pH 7,4, 37°C, konstante Ionenkonzentrationen, 7 Tage Wachstumszeit). Zu beachten sind die gleichmäßige Form der Kristalle und ihre Morphologie. Längenmaßstab: 10 µm.

7. Zusammenfassung und Ausblick

Obwohl es den Nichtfachmann erstaunen mag, gibt es noch viele offene Fragen auf dem Gebiet der Calciumphosphat-Chemie. Die grundlegenden Fragen nach Kristallographie, Thermodynamik und Phasenbeziehungen sind geklärt. Wenn es aber um die biologische Bildung von Calciumphosphaten geht, dann kommen Aspekte wie Kristallisationsgeschwindigkeit, Kontrolle der Kristallmorphologie, Einbau von Fremdionen und Wechselwirkung mit Biomolekülen ins Spiel, die bis heute nur unzureichend verstanden werden. Ein umfassenderes Verständnis der Struktur, Bildung und Auflösung solcher Biomminerale wird schließlich zu besseren Biomaterialien führen, die die Behandlung von Knochen- und Zahnerkrankungen verbessern werden. Es wird auch helfen, weit verbreitete pathologische Verkalkungen wie Arteriosklerose, Steinbildung und Zahnstein besser bekämpfen zu können. Von den rein chemischen Aspekten abgesehen, werden die Ergebnisse der modernen Genforschung unser Verständnis revolutionieren: Hier wird zurzeit damit begonnen, genetische Informationen mit Bildung und Erkrankungen von Hartgeweben zu korrelieren.

Wir danken Alexander Becker, Dr. Jongsik Choi, Elena Dorozhkina, Dr. Bernd Hasse (jetzt am DESY), Dr. Fabian Peters (jetzt bei Curasan), Carsten Schiller, Dr. Karsten Schwarz (jetzt bei Tutogen), Dr. Michael Siedler und Drazen Tadic für ihre Forschungsbeiträge während der letzten Jahre. Wir danken ebenfalls Dr. Jörg Arnoldi (Mathys), Dr. Philip Cantzler (Friadent), Dr. Peter Seidel (Coripharm) und Prof. Gerd Willmann (Ceramtec) für die Bereitstellung von Material für diese Arbeit. Unser Dank gilt außerdem der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG), dem Fonds der Chemischen Industrie, dem Deutschen Akademischen Austauschdienst (DAAD) und dem HASYLAB am DESY (Hamburg) für großzügige Unterstützung unserer Arbeiten.

Eingegangen am 3. Dezember 2001 [A.505]

- [1] H. A. Lowenstam, S. Weiner, *On Biomineralization*, Oxford University Press, New York, **1989**.
- [2] K. Simkiss, K. M. Wilbur, *Cell Biology and Mineral Deposition*, Academic Press, San Diego, **1989**.
- [3] L. Addadi, S. Weiner, *Angew. Chem.* **1992**, *104*, 159–176; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1992**, *31*, 153–169.
- [4] S. Mann, *J. Mater. Chem.* **1995**, *5*, 935–946.
- [5] S. Mann, *Biomimetic Materials Chemistry*, Wiley/VCH, New York/Weinheim, **1995**.
- [6] G. A. Ozin, *Acc. Chem. Res.* **1997**, *30*, 17–27.
- [7] E. Baeuerlein, *Biomineralization*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [8] S. Mann, *Angew. Chem.* **2000**, *112*, 3532–3548; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3392–3406.
- [9] S. A. Davis, M. Breulmann, K. H. Rhodes, B. Zhang, S. Mann, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3218–3226.
- [10] R. C. Weast, *The CRC Handbook of Chemistry and Physics*, 66. Aufl., CRC, Boca Raton, FL, **1985–1986**.
- [11] D. McConnell in *Apatite: Its Crystal Chemistry, Mineralogy, Utilization, and Biologic Occurrences*, Springer, New York, **1973**, S. 111–115.
- [12] P. Becker in *Fertilizer Science and Technology Series*, Marcel Dekker, New York, **1989**, S. 6–20.
- [13] D. K. Smith in *Hydroxyapatite and Related Materials* (Hrsg.: P. W. Brown, B. Constantz), CRC, Boca Raton, FL, **1994**, S. 29–44.
- [14] A. I. Angelov, B. V. Levin, Y. D. Chernenko in *Phosphaterz. Ein Nachschlagewerk (auf Russisch)*, Nedra busyness centre, Moskau, **2000**, S. 1–120.
- [15] R. Z. LeGeros, *Calcium Phosphates in Oral Biology and Medicine*, Karger, Basel, **1991**.
- [16] R. Z. LeGeros in *Hydroxyapatite and Related Materials* (Hrsg.: P. W. Brown, B. Constantz), CRC, Boca Raton, FL, **1994**, S. 3–28.
- [17] R. Z. LeGeros, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/116–III/125.
- [18] A. Hesse, D. Heimbach, *World J. Urol.* **1999**, *17*, 308–315.
- [19] B. M. Tracy, R. H. Doremus, *J. Biomed. Mater. Res.* **1984**, *18*, 719–726.
- [20] G. Daculsi, R. Z. LeGeros, M. Heughebaert, I. Barbioux, *Calcif. Tissue Int.* **1990**, *46*, 20–27.
- [21] G. Daculsi, J. M. Bouler, R. Z. LeGeros, *Int. Rev. Cytol.* **1997**, *172*, 129–191.
- [22] P. Koutsoukos, Z. Amjad, M. B. Tomson, G. H. Nancollas, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 1553–1557.
- [23] A. A. Mirtchi, J. Lemaitre, N. Terao, *Biomaterials* **1989**, *10*, 475–480.
- [24] A. A. Mirtchi, J. Lemaitre, E. Munting, *Biomaterials* **1989**, *10*, 634–638.
- [25] O. Bermúdez, M. G. Boltong, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1994**, *5*, 67–71.
- [26] O. Bermúdez, M. G. Boltong, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1994**, *5*, 160–163.
- [27] F. C. M. Driessens, M. G. Boltong, O. Bermúdez, J. A. Planell, M. P. Ginebra, E. Fernández, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1994**, *5*, 164–170.
- [28] M. Windholz, *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*, 10. Aufl., Merck, Rahway, NJ, **1983**.
- [29] M. Otsuka, Y. Matsuda, Y. Suwa, J. L. Fox, W. I. Higuchi, *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo)* **1993**, *41*, 2055–2057.
- [30] C. Hamanishi, K. Kitamoto, K. Ohura, S. Tanaka, Y. Doi, *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, *32*, 383–389.
- [31] K. Kurashina, H. Kurita, M. Hirano, A. Kotani, C. P. Klein, K. de Groot, *Biomaterials* **1997**, *18*, 539–543.
- [32] F. C. M. Driessens, J. A. Planell, M. G. Boltong, I. Khairoun, M. P. Ginebra, *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H* **1998**, *212*, 427–435.
- [33] S. Takagi, L. C. Chow, K. Ishikawa, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1593–1599.
- [34] H. Yamamoto, S. Niwa, M. Hori, T. Hattori, K. Sawai, S. Aoki, M. Hirano, H. Takeuchi, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1587–1591.
- [35] J. J. Crall, J. M. Bjerga, *J. Oral Pathol.* **1987**, *16*, 488–491.
- [36] J. S. Wefel, J. D. Harless, *J. Dent. Res.* **1987**, *66*, 1640–1643.
- [37] P. M. Hoppenbrouwers, E. Groenendijk, N. R. Tewarie, F. C. M. Driessens, *J. Dent. Res.* **1988**, *67*, 1254–1256.
- [38] A. Gaffar, J. Blake-Haskins, J. Mellberg, *Int. Dent. J.* **1993**, *43* (Suppl. 1), 81–88.
- [39] Y. Fukase, E. D. Eanes, S. Takagi, I. C. Chow, W. E. Brown, *J. Dent. Res.* **1990**, *69*, 1852–1855.

- [40] K. S. TenHuisen, P. W. Brown, *J. Dent. Res.* **1994**, *73*, 598–606.
- [41] O. Bermúdez, M. G. Boltong, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1994**, *5*, 144–146.
- [42] E. Fernandez, M. P. Ginebra, M. G. Boltong, F. C. M. Driessens, J. Ginebra, E. A. de Maeyer, V. M. Verbeeck, J. A. Planell, *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, *32*, 367–374.
- [43] E. Fernandez, F. J. Gil, S. M. Best, M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *42*, 403–406.
- [44] E. Fernandez, F. J. Gil, S. M. Best, M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, *J. Biomed. Mater. Res.* **1998**, *41*, 560–567.
- [45] R. Z. LeGeros, *J. Dent. Res.* **1974**, *53*, 45–50.
- [46] H. Schroeder, *Formation and Inhibition of Dental Calculus*, Hubert, Vienna, **1969**.
- [47] L. C. Chow, E. D. Eanes, *Octacalcium Phosphate, Vol. 18*, Karger, Basel, **2001**.
- [48] D. G. A. Nelson, G. J. Wood, J. C. Barry, *Ultramicroscopy* **1986**, *19*, 253–266.
- [49] M. Iijima, D. G. A. Nelson, Y. Pan, A. T. Kreinbrink, M. Adachi, T. Goto, Y. Moriwaki, *Calcif. Tissue Int.* **1996**, *59*, 377–384.
- [50] P. S. Bodier-Houllé, P. J. C. Voegel, F. J. G. Cuisinier, *Acta Crystallogr. Sect. D* **1998**, *54*, 1377–1381.
- [51] T. Aoba, H. Komatsu, Y. Shimazu, H. Yagishita, Y. Taya, *Connect. Tissue Res.* **1998**, *38*, 129–145.
- [52] B. B. Tomazic, W. E. Brown, F. J. Shoen, *J. Biomed. Mater. Res.* **1994**, *28*, 35–47.
- [53] G. H. Nancollas, W. Wu, *J. Crystal Growth* **2000**, *211*, 137–142.
- [54] T. Kodaka, K. Debari, S. Higashi, *J. Electron Microsc. (Tokyo)* **1988**, *37*, 73–80.
- [55] A. A. Mirtchi, J. Lemaitre, E. Munting, *Biomaterials* **1990**, *11*, 83–88.
- [56] A. A. Mirtchi, J. Lemaitre, E. Munting, *Biomaterials* **1991**, *12*, 505–510.
- [57] J. Lemaitre, E. Munting, A. A. Mirtchi, *Rev. Stomatol. Chir. Maxillofac.* **1992**, *93*, 163–165.
- [58] K. Ohura, M. Bohner, P. Hardouin, J. Lemaitre, G. Pasquier, B. Flautu, *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, *30*, 193–200.
- [59] G. Daculsi, R. Z. LeGeros, E. Nery, K. Lynch, B. Kerebel, *J. Biomed. Mater. Res.* **1989**, *23*, 883–894.
- [60] G. Daculsi, M. D'Arc Bagot, P. Corlieu, M. Gersdorff, *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* **1992**, *101*, 669–674.
- [61] J. M. Bouler, M. Trecant, J. Delecrin, J. Royer, N. Passuti, G. Daculsi, *J. Biomed. Mater. Res.* **1996**, *32*, 603–609.
- [62] J. Wang, W. Chen, Y. Li, S. Fan, J. Weng, X. Zhang, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1387–1392.
- [63] G. Daculsi, *Biomaterials* **1998**, *19*, 1473–1478.
- [64] G. Daculsi, P. Weiss, J. M. Bouler, O. Gauthier, F. Millot, E. Aguado, *Bone* **1999**, *25* (Suppl. 2), 59S–61S.
- [65] I. Alam, I. Asahina, K. Ohmamiuda, S. Enomoto, *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *54*, 129–138.
- [66] B. R. Constantz, I. C. Ison, M. T. Fulmer, R. D. Poser, S. T. Smith, M. VanWagoner, J. Ross, S. A. Goldstein, J. B. Jupiter, D. I. Rosenthal, *Science* **1995**, *267*, 1796–1799.
- [67] J. D. Termine, E. D. Eanes, *Calcif. Tissue Res.* **1972**, *10*, 171–197.
- [68] E. D. Eanes, J. D. Termine, M. U. Nylen, *Calcif. Tissue Res.* **1973**, *12*, 143–158.
- [69] J. L. Meyer, E. D. Eanes, *Calcif. Tissue Res.* **1978**, *28*, 59–68.
- [70] J. L. Meyer, E. D. Eanes, *Calcif. Tissue Res.* **1978**, *28*, 209–216.
- [71] R. E. Wuthier, G. S. Rice, J. E. Wallace, R. L. Weaver, R. Z. LeGeros, E. D. Eanes, *Calcif. Tissue Int.* **1985**, *37*, 401–410.
- [72] J. C. Elliot, *Structure and Chemistry of the Apatites and Other Calcium Orthophosphates*, Elsevier, Amsterdam, **1994**.
- [73] J. C. Elliot in *Les matériaux en phosphate de calcium. Aspects fondamentaux* (Hrsg.: E. Brès, P. Hardouin), Sauramps Medical, Montpellier, **1998**.
- [74] J. E. Harries, D. W. L. Hukins, S. S. Hasnain, *J. Phys. C* **1986**, *19*, 6859–6872.
- [75] J. E. Harries, D. W. L. Hukins, C. Holt, S. S. Hasnain, *J. Cryst. Growth* **1987**, *84*, 563–570.
- [76] M. G. Taylor, K. Simkiss, J. Simmons, L. N. Y. Wu, R. E. Wuthier, *Cell. Mol. Life Sci.* **1998**, *54*, 192–202.
- [77] F. Peters, K. Schwarz, M. Epple, *Thermochim. Acta* **2000**, *361*, 131–138.
- [78] K. Onuma, A. Ito, *Chem. Mater.* **1998**, *10*, 3346–3351.
- [79] D. Skrtic, A. W. Hailer, S. Takagi, J. M. Antonucci, E. D. Eanes, *J. Dent. Res.* **1996**, *75*, 1679–1686.
- [80] D. Skrtic, J. M. Antonucci, E. D. Eanes, *Dent. Mater.* **1996**, *12*, 295–301.
- [81] M. S. Park, E. D. Eanes, J. M. Antonucci, D. Skrtic, *Dent. Mater.* **1998**, *14*, 137–141.
- [82] D. Skrtic, J. M. Antonucci, E. D. Eanes, F. C. Eichmiller, G. E. Schumacher, *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *53*, 381–391.
- [83] C. Schiller, M. Siedler, F. Peters, M. Epple, *Ceram. Trans.* **2001**, *114*, 97–108.
- [84] W. Linhart, F. Peters, W. Lehmann, A. F. Schilling, K. Schwarz, M. Amling, J. M. Rueger, M. Epple, *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *54*, 162–171.
- [85] D. Tadic, M. Epple, *Biomed. Tech.* **2001**, 224–225.
- [86] D. Tadic, F. Peters, M. Epple, *Biomaterials* **2002**, *23*, 2553–2559.
- [87] P. W. Brown, R. I. Martin, *J. Phys. Chem. B* **1999**, *103*, 1671–1675.
- [88] A. Mortier, J. Lemaitre, L. Rodrique, P. G. Rouxhet, *J. Solid State Chem.* **1989**, *78*, 215–219.
- [89] J. Jeanjean, U. Vincent, M. Fedoroff, *J. Solid State Chem.* **1994**, *103*, 68–72.
- [90] N. Rangavittal, A. R. Landa-Cánovas, J. M. González-Calbet, M. Vallet-Regi, *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *51*, 660–668.
- [91] J. Y. Kim, R. R. Fenton, B. A. Hunter, B. J. Kennedy, *Aust. J. Chem.* **2000**, *53*, 679–686.
- [92] P. Layrolle, A. Lebugle, *Chem. Mater.* **1994**, *6*, 1996–2004.
- [93] P. Layrolle, A. Lebugle, *Chem. Mater.* **1996**, *8*, 134–144.
- [94] W. Suchanek, M. Yoshimura, *J. Mater. Res.* **1998**, *13*, 94–117.
- [95] L. L. Hench, *J. Am. Ceram. Soc.* **1998**, *81*, 1705–1728.
- [96] M. Fountoulakis, M. F. Takacs, P. Berndt, H. Langen, B. Takacs, *Electrophoresis* **1999**, *20*, 2181–2195.
- [97] M. Mirshahi, L. Camoin, C. Nicolas, I. Ghedira, J. Cozette, J. P. Faure, *Curr. Eye Res.* **1999**, *18*, 327–334.
- [98] R. Freitag, S. Vogt, M. Modler, *Biotechnol. Prog.* **1999**, *15*, 573–576.
- [99] J. Wissing, S. Heim, L. Flohe, U. Bilitewski, R. Frank, *Electrophoresis* **2000**, *21*, 2589–2593.
- [100] S. R. Shepard, C. Brickman-Stone, J. L. Schrimsher, G. Koch, *J. Chromatogr. A* **2000**, *891*, 93–98.
- [101] G. Yin, Z. Liu, R. Zhou, J. Zhan, J. Wang, N. Yuan, *J. Chromatogr. A* **2001**, *918*, 393–399.
- [102] L. C. Chow, *Nippon Seramikkusu Kyokai Gakujutsu Ronbunshi* **1991**, *99*, 954–964.
- [103] E. Fernandez, F. J. Gil, M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, S. M. Best, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1999**, *10*, 169–176.
- [104] E. Fernandez, F. J. Gil, M. P. Ginebra, F. C. M. Driessens, J. A. Planell, S. M. Best, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1999**, *10*, 177–183.
- [105] S. Weiner, H. D. Wagner, *Annu. Rev. Mater. Sci.* **1998**, *28*, 271–298.
- [106] S. Weiner, W. Traub, H. D. Wagner, *J. Struct. Biol.* **1999**, *126*, 241–255.
- [107] H. Limeback, *Curr. Opin. Dent.* **1991**, *1*, 826–835.
- [108] N. M. Hancox, *Biology of Bone*, Cambridge University Press, Cambridge, **1972**.
- [109] W. E. Brown, L. C. Chow, *Annu. Rev. Mater. Sci.* **1976**, *6*, 213–236.
- [110] J. Currey, *The Mechanical Adaptations of Bones*, Princeton University Press, Princeton, **1984**.
- [111] R. Lakes, *Nature* **1993**, *361*, 511–515.
- [112] A. C. Lawson, J. T. Czernuszka, *Proc. Inst. Mech. Eng. Part H* **1998**, *212*, 413–425.
- [113] J. D. Hartgerink, E. Beniash, S. I. Stupp, *Science* **2001**, *294*, 1684–1688.
- [114] A. Jodaikin, S. Weiner, Y. Talmon, E. Grossman, W. Traub, *Int. J. Biol. Macromol.* **1988**, *10*, 349–352.
- [115] A. G. Fincham, J. Moradian-Oldak, T. G. H. Diekwisch, D. M. Lyaruu, J. T. Wright, P. Bringas, H. C. Slavkin, *J. Struct. Biol.* **1995**, *115*, 50–59.
- [116] M. Iijima, Y. Moriwaki, *Calcif. Tiss. Int.* **1990**, *47*, 237–242.
- [117] L. C. Bonar, M. Shimizu, J. E. Roberts, R. G. Griffin, M. J. Glimcher, *J. Bone Miner. Res.* **1991**, *6*, 1167–1176.
- [118] C. Rey, V. Renugopalakrishnan, B. Collins, M. J. Glimcher, *Calcif. Tissue Int.* **1991**, *49*, 251–258.
- [119] C. Rey, J. L. Miquel, L. Facchini, A. P. Legrand, M. J. Glimcher, *Bone* **1995**, *16*, 583–586.

- [120] W. E. Brown, *Clin. Orthop. Relat. Res.* **1966**, *44*, 205–220.
- [121] M. S. Tung, W. E. Brown, *Calcif. Tissue Int.* **1983**, *35*, 783–790.
- [122] M. S. Tung, W. E. Brown, *Calcif. Tissue Int.* **1985**, *37*, 329–331.
- [123] W. E. Brown, N. Eidelman, B. Tomazic, *Adv. Dent. Res.* **1987**, *1*, 306–313.
- [124] C. Siew, S. E. Gruninger, L. C. Chow, W. E. Brown, *Calcif. Tissue Int.* **1992**, *50*, 144–148.
- [125] E. D. Eanes, I. H. Gillessen, A. S. Posner, *Nature* **1965**, *208*, 365–367.
- [126] J. D. Termine, A. S. Posner, *Science* **1966**, *153*, 1523–1525.
- [127] J. D. Termine, A. S. Posner, *Nature* **1966**, *211*, 268–270.
- [128] R. A. Harper, A. S. Posner, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **1966**, *122*, 137–142.
- [129] A. S. Posner, *Physiol. Rev.* **1969**, *49*, 760–792.
- [130] A. S. Posner, *Fed. Proc.* **1973**, *32*, 1933–1937.
- [131] A. L. Boskey, A. S. Posner, *J. Phys. Chem. A* **1973**, *77*, 2313–2317.
- [132] A. S. Posner, *Bull. Hosp. Jt. Dis.* **1978**, *39*, 126–144.
- [133] M. J. Glimcher, L. C. Bonar, M. D. Grynypas, W. J. Landis, A. H. Roufosse, *J. Cryst. Growth* **1981**, *53*, 100–119.
- [134] J. M. Burnell, E. J. Teubner, A. G. Miller, *Calcif. Tissue Int.* **1980**, *31*, 13–19.
- [135] S. Weiner, W. Traub, *FEBS Lett.* **1986**, *206*, 262–266.
- [136] E. D. Pellegrino, R. M. Blitz, *Calcif. Tissue Res.* **1972**, *10*, 118–135.
- [137] R. Legros, N. Balmain, G. Bonel, *Calcif. Tissue Int.* **1987**, *41*, 137–144.
- [138] H. P. Wiesmann, L. Chi, U. Stratmann, U. Plate, H. Fuchs, U. Joos, H. J. Höhling, *Cell Tissue Res.* **1998**, *294*, 93–97.
- [139] U. Plate, T. Kotz, H. P. Wiesmann, U. Stratmann, U. Joos, H. J. Höhling, *J. Microsc.* **1996**, *183*, 102–107.
- [140] U. Stratmann, K. Schaarschmidt, H. P. Wiesmann, U. Plate, H. J. Höhling, *Cell Tissue Res.* **1996**, *284*, 223–230.
- [141] M. Epple, P. Lanzer, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/2–III/5.
- [142] W. Jahn-Dechent, T. Schinke, A. Trindl, W. Müller-Esterl, F. Sablitzky, S. Kaiser, M. Blessing, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 31496–31503.
- [143] T. Schinke, M. D. McKnee, G. Karsenty, *Nat. Genet.* **1999**, *21*, 150–151.
- [144] W. Jahn-Dechent, G. Schäfer, A. Heiss, J. Grötzinger, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/47–III/56.
- [145] P. Ducy, M. Amling, S. Takeda, M. Priemel, A. F. Schilling, F. T. Beil, J. Shen, C. Vinson, J. M. Rueger, G. Karsenty, *Cell* **2000**, *100*, 197–207.
- [146] E. Rönholm, *J. Ultrastruct. Res.* **1962**, *6*, 249–303.
- [147] M. U. Nylen, E. D. Evans, K. A. Omnel, *J. Cell. Biol.* **1963**, *18*, 109–123.
- [148] Y. Miake, S. Shimoda, M. Fukae, T. Aoba, *Calcif. Tissue Int.* **1993**, *53*, 249–256.
- [149] G. Daculsi, J. Menanteau, L. M. Kerebel, D. Mitre, *Calcif. Tissue Int.* **1984**, *36*, 550–555.
- [150] A. Jodaikin, W. Traub, S. Weiner, *J. Ultrastruct. Res.* **1984**, *89*, 324–332.
- [151] R. M. Frank, R. F. Sognaes, R. Kerns in *Calcification in Biological Systems*, AAAS, Washington, DC, **1960**, S. 163–202.
- [152] I. Schroeder, R. M. Frank, *Cell. Tissue Res.* **1985**, *242*, 449–451.
- [153] E. F. Brès, J. C. Voegel, R. M. Frank, *J. Microsc.* **1990**, *160*, 183–201.
- [154] S. Busch, U. Schwarz, R. Kniep, *Chem. Mater.* **2001**, *13*, 3260–3271.
- [155] J. P. Simmer, A. G. Fincham, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **1995**, *6*, 84–108.
- [156] T. G. Diekwisch, B. J. Berman, S. Ginters, H. C. Slavkin, *Cell. Tissue Res.* **1995**, *279*, 149–167.
- [157] T. Aoba, *Anat. Rec.* **1996**, *245*, 208–218.
- [158] C. Robinson, S. J. Brookes, W. A. Bonass, R. C. Shore, J. Kirkham, *Ciba Found. Symp.* **1997**, *205*, 156–170.
- [159] C. E. Smith, *Crit. Rev. Oral Biol. Med.* **1998**, *9*, 128–161.
- [160] M. Sydney-Zax, I. Mayer, D. Deutsch, *J. Dent. Res.* **1991**, *70*, 913–916.
- [161] C. Rey, V. Renugopalakrishnan, M. Shimizu, B. Collins, M. J. Glimcher, *Calcif. Tissue Int.* **1991**, *49*, 259–268.
- [162] T. Takagi, T. Ogasawara, J. Tagami, M. Akao, Y. Kuboki, N. Nagai, R. Z. LeGeros, *Connect. Tissue Res.* **1998**, *38*, 181–187.
- [163] K. A. Selvig, *Calcif. Tissue Res.* **1970**, *6*, 227–238.
- [164] K. A. Selvig, *J. Ultrastruct. Res.* **1972**, *41*, 369–375.
- [165] F. J. G. Cuisinier, P. Steuer, B. Senger, J. C. Voegel, R. M. Frank, *Cell. Tissue Res.* **1993**, *273*, 175–182.
- [166] F. J. G. Cuisinier, P. Steuer, A. Brisson, J. C. Voegel, *J. Crystal Growth* **1995**, *156*, 443–453.
- [167] P. Houllé, J. C. Voegel, P. Schultz, F. J. G. Cuisinier, *J. Dent. Res.* **1997**, *76*, 895–904.
- [168] S. Mann, *Nature* **1993**, *365*, 499–505.
- [169] J. Kirkham, J. Zhang, S. J. Brookes, R. C. Shore, S. R. Wood, D. A. Smith, M. L. Wallwork, O. H. Ryu, C. Robinson, *J. Dent. Res.* **2000**, *79*, 1943–1947.
- [170] A. Boyde in *Tooth Enamel* (Hrsg.: M. V. Stack, R. W. Fearnhead), Wright, Bristol, **1965**, S. 163–167.
- [171] H. Warshawsky, A. Nanci, *J. Dental Res.* **1982**, *61*, 1504–1514.
- [172] H. Warshawsky, *Anat. Rec.* **1989**, *224*, 242–262.
- [173] A. L. Arsenault, B. W. Robinson, *Calcif. Tissue Int.* **1989**, *45*, 111–121.
- [174] Y. Hayashi, *J. Electron Microsc.* **1992**, *41*, 387–391.
- [175] Y. Hayashi, *J. Electron Microsc.* **1993**, *42*, 141–146.
- [176] P. Bodier-Houllé, P. Steuer, J. M. Meyer, L. Bigeard, F. J. G. Cuisinier, *Cell. Tissue Res.* **2000**, *301*, 389–395.
- [177] Y. Takano, Y. Hanaizumi, H. Oshima, *Anat. Rec.* **1996**, *245*, 174–185.
- [178] W. Dong, H. Warshawsky, *Adv. Dent. Res.* **1996**, *10*, 232–237.
- [179] P. Person in *Cartilage: Structure, Function and Biochemistry* (Hrsg.: B. K. Hall), Academic Press, New York, **1983**, S. 31–57.
- [180] M. L. Moss, L. Moss-Salentijn in *Cartilage: Structure, Function and Biochemistry* (Hrsg.: B. K. Hall), Academic Press, New York, **1983**, S. 1–30.
- [181] R. A. Robinson, D. A. Cameron, *J. Biophys. Biochem.* **1956**, *2* (Suppl.), 253–260.
- [182] E. Bonucci, *J. Ultrastruct. Res.* **1967**, *20*, 33–50.
- [183] S. Y. Ali, A. Wisby, L. Evans, J. Craig-Grey, *Calcif. Tissue Res.* **1977**, *22* (Suppl.), 490–493.
- [184] S. Y. Ali in *Cartilage: Structure, Function and Biochemistry* (Hrsg.: B. K. Hall), Academic Press, New York, **1983**, S. 343–378.
- [185] I. M. Shapiro, A. Boyde, *Metab. Bone Dis. Relat. Res.* **1984**, *5*, 317–322.
- [186] C. Rey, K. Beshah, R. Griffin, M. J. Glimcher, *J. Bone Miner. Res.* **1991**, *6*, 515–525.
- [187] D. McConnell, *Bull. Geol. Soc. Am.* **1963**, *74*, 363–364.
- [188] H. A. Lowenstam, *Chem. Geol.* **1972**, *9*, 153–166.
- [189] W. Achilles, *Contrib. Nephrol.* **1987**, *58*, 59–64.
- [190] W. Achilles, U. Jockel, A. Schaper, M. Burk, H. Riedmiller, *Scanning Microsc.* **1995**, *9*, 577–585.
- [191] H. C. Stary, *Z. Kardiol.* **2000**, *89* (Suppl. 2), II/28–II/35.
- [192] K. M. Kim, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/99–III/105.
- [193] B. B. Tomazic, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/68–III/80.
- [194] E. Wintermantel, S. W. Ha, *Medizintechnik mit biokompatiblen Werkstoffen und Verfahren*, Springer, Heidelberg, **2002**.
- [195] C. Giachelli, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/31–III/38.
- [196] B. Glasmacher, E. Nellen, H. Reul, G. Rau, *Materialwiss. Werkstofftech.* **1999**, *30*, 806–808.
- [197] M. Deiwick, B. Glasmacher, E. Pettenazzo, D. Hammel, W. Castellon, G. Thiene, H. Reul, E. Berendes, H. H. Scheld, *Thorac. Cardiovasc. Surg.* **2001**, *49*, 78–83.
- [198] E. Pettenazzo, M. Deiwick, G. Thiene, G. Molin, B. Glasmacher, F. Martignago, T. Bottio, H. Reul, M. Valente, *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* **2001**, *121*, 500–509.
- [199] D. J. McCarty, H. M. Hogan, R. A. Gatter, M. Grossmann, *J. Bone Jt. Surg. Am. Vol.* **1966**, *48*, 309–317.
- [200] *Oxford Textbook of Rheumatology, Vol. 2* (Hrsg.: P. J. Maddison, D. A. Isenberg, P. Woo, D. N. Glass), 2. Aufl., Oxford University Press, Oxford, **1998**, S. 1567–1581.
- [201] B. B. Tomazic in *Hydroxyapatite and Related Materials* (Hrsg.: P. W. Brown, B. Constantz), CRC, Boca Raton, FL, **1994**, S. 93–116.
- [202] G. Luo, P. Ducy, M. D. McKee, G. J. Pinero, E. Loyer, R. R. Behringer, G. Karsenty, *Nature* **1997**, *386*, 78–81.
- [203] S. Albeck, S. Weiner, L. Addadi, *Chem. Eur. J.* **1996**, *2*, 278–284.
- [204] N. Kessler, D. Perl-Treves, L. Addadi, M. Eisenstein, *Proteins* **1999**, *34*, 383–394.
- [205] L. Addadi, S. Weiner, M. Geva, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/92–III/98.
- [206] D. Izhaky, L. Addadi, *Chem. Eur. J.* **2000**, *6*, 869–874.

- [207] A. E. Canfield, M. J. Foherty, A. C. Wood, C. Farrington, B. Ashton, N. Begum, B. Harvey, A. Poole, M. E. Grant, R. P. Boot-Handford, *Z. Kardiol.* **2000**, *89* (Suppl. 2), II/20–II/27.
- [208] D. F. Williams, *Medical and Dental Materials, Vol. 14*, VCH, Weinheim, **1992**.
- [209] P. Fratzl, *Phys. Unserer Zeit* **1999**, *30*, 196–200.
- [210] R. Langer, *Acc. Chem. Res.* **2000**, *33*, 94–101.
- [211] M. Bohner, *Injury* **2000**, *31* (Suppl. 4), D37–D47.
- [212] M. Bohner, *Eur. Spine J.* **2001**, *10*, S114–S121.
- [213] M. Epple, *Biomed. Tech.* **2001**, 36–38.
- [214] S. I. Stupp, G. W. Ciegler, *J. Biomed. Mater. Res.* **1992**, *26*, 169–183.
- [215] G. Berger, R. Gildenhaar, U. Ploska, M. Willfahrt, *Bioceramics* **1997**, *10*, 367–370.
- [216] D. M. Liu, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1997**, *8*, 227–232.
- [217] S. I. Stupp, P. V. Braun, *Science* **1997**, *277*, 1242–1248.
- [218] J. M. Rueger, W. Linhart, D. Sommerfeldt, *Orthopäde* **1998**, *27*, 89–95.
- [219] J. M. Rueger, *Orthopäde* **1998**, *27*, 72–79.
- [220] M. Epple, J. M. Rueger, *Nachr. Chem. Techn. Lab.* **1999**, *47*, 1405–1410.
- [221] S. A. Redey, S. Razzouk, C. Rey, D. Bernache-Assollant, G. Leroy, M. Nardin, G. Cournot, *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *45*, 140–147.
- [222] R. Z. LeGeros, J. P. LeGeros in *Knochenersatzmaterialien und Wachstumsfaktoren* (Hrsg.: R. Schnettler, E. Markgraf), Thieme, Stuttgart, **1997**, S. 180.
- [223] Z. Z. Zyman, I. Ivanov, D. Rochmistrov, V. Glushko, N. Tkachenko, S. Kijko, *J. Biomed. Mater. Res.* **2001**, *54*, 256–263.
- [224] G. Willmann, *Adv. Eng. Mater.* **1999**, *1*, 95–105.
- [225] T. Kokubo, F. Miyaji, H. M. Kim, *J. Am. Ceram. Soc.* **1996**, *79*, 1127–1129.
- [226] W. Q. Yan, T. Nakamura, K. Kawanabe, S. Nishigochi, M. Oka, T. Kokubo, *Biomaterials* **1997**, *18*, 1185–1190.
- [227] T. Kokubo, *Acta Mater.* **1998**, *46*, 2519–2527.
- [228] F. Barrère, P. Layrolle, C. A. van Blitterswijk, K. de Groot, *Bone* **1999**, *25*, 107S–111S.
- [229] F. Barrère, P. Layrolle, C. A. van Blitterswijk, K. de Groot, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **2001**, *12*, 529–534.
- [230] T. Kokubo, H. M. Kim, M. Kawashita, T. Nakamura, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/86–III/91.
- [231] H. B. Wen, J. R. de Wijn, C. A. van Blitterswijk, K. de Groot, *J. Biomed. Mater. Res.* **1999**, *46*, 245–252.
- [232] T. Kokubo, *Thermochim. Acta* **1996**, *280/281*, 479–490.
- [233] H. B. Wen, R. A. J. Dalmeijer, F. Z. Cui, C. A. van Blitterswijk, K. de Groot, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* **1998**, *9*, 925–930.
- [234] C. Loty, J. M. Sautier, H. Boulekbache, T. Kokubo, H. M. Kim, N. Forest, *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *49*, 423–434.
- [235] H. M. Kim, T. Miyazaki, T. Kokubo, T. Nakamura in *Bioceramics 13, Vol. 192–195* (Hrsg.: S. Giannini, A. Moroni), Trans Tech Publications, Ütikon-Zürich, **2001**, S. 47–50.
- [236] K. D. Kühn, *Bone Cements*, Springer, Berlin, **2000**.
- [237] J. S. Choi, M. Köller, D. Müller, G. Muhr, M. Epple, *Biomed. Tech.* **2001**, 226–227.
- [238] S. Mann, G. A. Ozin, *Nature* **1996**, *382*, 313–318.
- [239] S. Mann, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1997**, 3953–3961.
- [240] S. Weiner, L. Addadi, *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 689–702.
- [241] J. Moradian-Oldak, *Matrix Biol.* **2001**, *20*, 293–305.
- [242] W. Pompe, S. Lampenschert, S. Rößler, D. Scharnweber, K. Weis, H. Worch, J. Hofinger, *Mater. Sci. Forum* **1999**, *308–311*, 325–330.
- [243] G. A. Ozin, N. Varaksa, N. Coombs, J. E. Davies, D. D. Perovic, M. Ziliox, *J. Mater. Chem.* **1997**, *7*, 1601–1607.
- [244] S. I. Stupp, G. C. Mejicano, J. A. Hanson, *J. Biomed. Mater. Res.* **1993**, *27*, 289–299.
- [245] S. I. Stupp, J. A. Hanson, J. A. Eurell, G. W. Ciegler, A. Johnson, *J. Biomed. Mater. Res.* **1993**, *27*, 301–311.
- [246] S. Weihe, M. Wehmöller, A. Tschakaloff, R. von Oepen, C. Schiller, M. Epple, H. Eufinger, *Mund Kiefer Gesichtschir.* **2001**, *5*, 299–304.
- [247] M. B. Tomson, G. H. Nancollas, *Science* **1978**, *200*, 1059–1060.
- [248] M. Iijima, Y. Moriwaki, R. Yamaguchi, Y. Kuboki, *Connect. Tissue Res.* **1997**, *36*, 73–83.
- [249] M. Iijima, Y. Moriwaki, T. Takagi, J. Moradian-Oldak, *J. Cryst. Growth* **2001**, *222*, 615–626.
- [250] M. Iijima, Y. Moriwaki, H. B. Wen, A. G. Fincham, J. Moradian-Oldak, *J. Dental Res.* **2002**, *81*, 69–73.
- [251] R. Kniep, S. Busch, *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 2788–2791; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 2624–2627.
- [252] S. Busch, H. Dolhaine, A. DuChesne, S. Heinz, O. Hochrein, F. Laeri, O. Podebrad, U. Vietze, T. Weiland, R. Kniep, *Eur. J. Inorg. Chem.* **1999**, 1643–1653.
- [253] K. Schwarz, M. Epple, *Chem. Eur. J.* **1998**, *4*, 1898–1903.
- [254] F. Peters, M. Epple, *Z. Kardiol.* **2001**, *90* (Suppl. 3), III/81–III/85.
- [255] F. Peters, M. Epple, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **2001**, 3585–3592.
- [256] S. V. Dorozhkin, E. I. Dorozhkina, F. Peters, M. Epple, *Z. Kardiol.* **2002**, in press.
- [257] G. Falini, M. Gazzano, A. Ripamonti, *J. Mater. Chem.* **2000**, *10*, 535–538.
- [258] I. Izquierdo-Barba, A. J. Salinas, M. Vallet-Regi, *J. Biomed. Mater. Res.* **2000**, *51*, 191–199.
- [259] M. Vallet-Regi, J. Pérez-Pariente, I. Izquierdo-Barba, A. J. Salinas, *Chem. Mater.* **2000**, *12*, 3770–3775.
- [260] S. V. Dorozhkin, E. I. Dorozhkina, M. Epple, unveröffentlichte Ergebnisse.
- [261] J. S. Rees, *Eur. J. Oral Sci.* **1998**, *106*, 1028–1032.