

SCHWEIZERISCHE Eidgenossenschaft  
EIDGENÖSSISCHES INSTITUT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

(11) **CH 708 835 A1**

**Patentanmeldung für die Schweiz und Liechtenstein**

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978

(51) Int. Cl.: **A61F 2/00** (2006.01)  
**A61L 31/10** (2006.01)  
**A61L 31/02** (2006.01)  
**A61L 31/04** (2006.01)

(12) **PATENTANMELDUNG**

(21) Anmeldenummer: 01905/13

(71) Anmelder:  
Qvanteq AG, Technoparkstrasse 1  
8005 Zürich (CH)

(22) Anmeldedatum: 14.11.2013

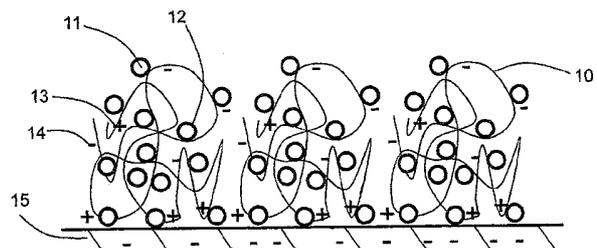
(72) Erfinder:  
Arik Zucker, 8003 Zürich (CH)  
Stefano Buzzi, 8049 Zürich (CH)  
Armin W. Mäder, 8805 Richterswil (CH)  
Vincent Milleret, 8057 Zürich (CH)  
Martin Ehrbar, 9500 Wil (CH)  
Algirdas Ziogas, 8052 Zürich (CH)

(43) Anmeldung veröffentlicht: 15.05.2015

(74) Vertreter:  
BOVARD AG, Patent- und Markenanwälte  
Optingenstrasse 16  
3000 Bern 25 (CH)

(54) **Implantat mit verbesserten Oberflächeneigenschaften.**

(57) Es wird ein Implantat zur Implantation in einen Körper mit einer Oberfläche vorgesehen, die in implantiertem Zustand für einen Kontakt mit dem Körper oder einem Körperfluid vorgesehen ist und eine Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation aufweist. Vorteilhafterweise umfasst die Oberfläche eine Lage von Proteinen Fibrinogen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation. Die Oberfläche ist vorteilhaft als blank Metalloberfläche aus einer Chromlegierung.



## Beschreibung

### Implantat mit verbesserten Oberflächeneigenschaften

**[0001]** Die vorliegende Erfindung betrifft ein Implantat zur Implantation in einen Körper, insbesondere eine Gefässprothese z. B. in Form eines Stents, eine Verwendung des Implantats zur Regulierung einer Adsorption von Proteinen auf einer Oberfläche des Implantats bei der Implantation und ein Verfahren zur Herstellung des Implantats.

**[0002]** Implantate, wie z. B. in Blutgefässe eingesetzte Stents, bergen gewisse Risiken für den Patienten. Unter anderem können Entzündungsreaktionen auftreten und es kann zu einer erneuten Stenose in den Blutgefässen kommen z. B. durch Thrombosebildung an der Oberfläche des Implantats oder durch eine neointimale Hyperplasie. Beispielsweise können Verunreinigungen der Oberfläche des Implantats, wie sie durch herkömmliche Handhabung und Reinigung des Implantats oder beim Transfer in den Körper des Implantats entstehen können, die Reaktion des Körpers auf das Implantat beeinflussen. Komplikationen können durch die Adsorption von Proteinen auf der Oberfläche des Implantats ausgelöst werden sobald diese in Kontakt mit dem Körper, bzw. mit Blut kommen. Menge und Art der anhaftenden Proteine bestimmen die weiteren biologischen Reaktionen zwischen dem Körper und dem Implantat. Dabei wird die Adsorption bestimmter Blutkomponenten gefördert oder verringert und deren Wirkungen aktiviert oder gehemmt. Diese Interaktion zwischen Implantat und Körper entscheidet über Erfolg oder Misserfolg des Einwachsens des Implantats in den Körper.

**[0003]** Das erfolgreiche Einwachsen eines Implantats hängt somit von den Eigenschaften und der Beschaffenheit der Oberfläche des Implantats ab. Aus dem Stand der Technik sind Implantate mit diversen Oberflächenbeschichtungen bekannt, wobei die einzelnen Beschichtungen auf die eine oder andere Art das Einwachsen des Implantats unterstützen und beeinflussen sollen.

**[0004]** Weiter ist aus der US 2008/0 086 198 A1 z. B. ein Stent mit einer nanoporösen Oberflächenschicht bekannt, die das Einwachsen des Stents und dessen Reendothelialisation verbessern und eine Inflammation und eine neointimale Proliferation verringern soll. Dabei kann die nanoporöse Oberflächenschicht mit einem oder mehreren therapeutischen Wirkstoffen versehen sein. In der US 2008/0 086 198 A1 offenbarte experimentelle Ergebnisse für Stents mit einem kontrollierbaren Elutionssystem zeigen im Vergleich zu Stents mit blanker Metalloberfläche (bare metal Stents) eine geringere Restenose. Bei einem Stent mit einfacher Metalloberfläche wird eine chronische Irritation des den Stent umgebenden Gewebes vermutet.

**[0005]** In der EP 1 254 673 B1 wird ein Stent gezeigt, dessen Oberfläche derart beschaffen sein soll, dass eine Erkennung des Stents als Fremdkörper minimiert wird. Hierfür soll die Oberflächenstruktur des Stents die Oberflächenstruktur von körpereigenen Zellen imitieren. Dies wird durch von einander beabstandete Mikrostrukturen auf der Stentoberfläche realisiert, die eine Ausdehnung im Mikrometerbereich haben. Es wurde festgestellt, dass derartige Stents eine verbesserte Immuntoleranz zeigen, als Stents mit einer glatten oder allgemein rauen Oberfläche. Das Einwachsen des Stents kann weiter verbessert werden, indem Material mit einer positiven Oberflächenladung im Bereich von 0.03 bis 0.05 N/m verwendet wird. Dadurch wird die Adhäsion von Fibrinogen auf der Stentoberfläche reduziert. Dies soll zu einer verminderten Entzündungsreaktion führen und somit die Immunreaktion verringern.

**[0006]** Implantate mit beschichteten Oberflächen oder mit Oberflächen, die mit Strukturen oder einer definierten Rauigkeit versehen sind, sind aufwendig in der Herstellung. Ferner erschweren derartige Oberflächen das Reinigen und Reinhalten der Oberfläche während der Handhabung beim Herstellungs-, Lagerungs- und Implantationsprozess. Zudem kommt es auch bei derartigen Implantaten in einigen Fällen zu erneuter Restenose oder anderen Komplikationen.

**[0007]** Es ist eine Aufgabe der Erfindung ein Implantat bereitzustellen, das Komplikationen bei der Anwendung des Implantats im Körper verringert, eine Funktion des Implantats im Körper langfristig sicherstellt und insbesondere ein gewünschtes Einwachsen des Implantats im Körper verbessert und eine Restenose verhindert. Ferner ist es eine Aufgabe der Erfindung eine Adsorption von Proteinen auf der Oberfläche des Implantats in Bezug auf die Verträglichkeit des Implantats und eine erfolgreiche Implantation zu verbessern.

**[0008]** Diese Aufgabe wird von der Erfindung durch ein Implantat nach Anspruch 1 gelöst. Vorteilhafte Ausgestaltungen und bevorzugte Beispiele sind in den abhängigen Ansprüchen beschrieben.

**[0009]** Gemäss der Erfindung wird ein Implantat zur Implantation in einen Körper vorgesehen. Das Implantat weist eine Oberfläche auf, die in implantiertem Zustand für einen Kontakt mit dem Körper oder einem Körperfluid vorgesehen ist und die eine Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation aufweist.

**[0010]** Die Erfindung umfasst Implantate jeglicher Art, insbesondere Implantate, die in Kontakt mit Körperfluiden kommen und im Bereich einer Fluidynamik des Körpers zum Einsatz kommen. Insbesondere kann ein Implantat mit den Merkmalen nach der vorliegenden Erfindung vorteilhaft als Gefässprothese ausgebildet sein, wie z. B. Stents, Grafts, Herzklappen, Elemente von Herzschrittmachern, etc.. Die Erfindung bezieht sich insbesondere auf kardiovaskuläre Implantate, die in Weichgewebe des Körpers eingesetzt werden, wie etwa Stents. Im Gegensatz zu Knochenimplantaten sollen derartige Implantate das Körperfluid, wie Blut, nicht in sich aufnehmen, bzw. aufsaugen. Stents sind in der Regel röhrenförmig ausgebildet und aus einer Vielzahl von Stegen aufgebaut, die gemeinsam eine Art Gitter bilden. Die Oberfläche eines Stents wird von der Oberfläche der Stege, bzw. des Gitters gebildet.

**[0011]** Die Konformation von auf einer Implantatoberfläche adsorbierten Proteinen nimmt ebenfalls Einfluss auf das Anhaften von Neutrophilen und Thrombozyten und somit auf das Einwachsenverhalten eines Implantats. Proteine sind komplexe Kopolymere, deren 3-dimensionale Struktur aus mehreren Niveaus aufgebaut ist. Am Strukturaufbau können Aminosäuresequenzen, verschiedene  $\mu$ -helix und  $\beta$ -sheet Strukturen, die gemeinsame Struktur mehrerer Polypeptide und dergleichen beteiligt sein. Als natürliche Konformation wird eine Konformation der Proteine verstanden, welche die Proteine einnehmen, wenn keine äusseren Einflüsse auf die Struktur der Proteine einwirken und diese beeinflussen. Als eine zumindest nahezu natürliche, bzw. naturähnliche Konformation soll eine Konformation bezeichnet werden, bei der zwar geringe Veränderungen in der Proteinstruktur vorliegen, diese Veränderungen jedoch keinen oder einen vernachlässigbaren Einfluss auf Funktion und Wirkung des Proteins haben. Bei den Proteinen gibt es verschiedene Bereiche, z. B. positiv oder negativ geladene Bereiche, hydrophile und hydrophobe Bereiche, welche je nach räumlicher Organisation exponiert werden und spezifische biologische Funktionen durchführen können. Durch Adsorption auf einer Oberfläche ändert sich die Proteinkonformation. Generell hat ein Protein z. B. auf einer hydrophoben Oberfläche eine stark denaturierte Konformation, während auf einer hydrophilen Oberfläche eine weniger denaturierte Konformation vorliegt. Die hydrophilen Komponenten der Proteine in der natürlichen Konformation liegen meist aussen und die hydrophoben Komponenten liegen meist innen und sind nur durch starke eine Konformationsänderung für die hydrophobe Oberfläche zugänglich. Durch eine Messung des Verhältnisses von  $\alpha$ -helix und  $\beta$ -sheets oder durch die Messung von spezifischen Aminosäuren auf der Proteinoberfläche können Informationen über die Proteinkonformation gewonnen werden.

**[0012]** Bei der vorliegenden Erfindung wurde überraschend festgestellt, dass eine Implantatoberfläche mit einer Lage von Proteinen, insbesondere Fibrinogen, die zumindest nahezu in ihrer natürlichen, bzw. naturähnlichen Konformation vorliegen, das Einwachsen des Implantats verbessert, also z. B. das Auftreten von Restenosen verringert. Somit kann die Wirkung von Fibrinogen auf einer Implantatoberfläche beim Einwachsen begünstigend verändert werden. Im Gegensatz dazu zeigt eine Implantatoberfläche, bei der Fibrinogen in einem denaturierten Zustand adsorbiert ist, einen negativen Einfluss auf das Einwachsen des Implantats. In einem denaturierten Zustand weist Fibrinogen eine veränderte 3-dimensionale Struktur und eine veränderte räumliche Aufteilung unterschiedlicher Fibrinogenbereiche auf, als in natürlichem Zustand. Als eine zumindest nahezu natürliche Konformation soll eine Proteingestalt verstanden werden, bei welcher die biologische Aktivität zumindest grössten Teils der biologischen Aktivität der natürlichen Konformation entspricht. Das Protein hat in der zumindest nahezu natürlichen Konformation also im Wesentlichen die gleiche Wirkung beim Einwachsen eines Implantats als in der natürlichen Konformation. Auch bei anderen Proteinen fördert eine natürliche Konformation ein positives Einwachsen des Implantats.

**[0013]** Bei der Implantation in ein Körperlumen kann die körpereigene Abwehr den Unterschied zwischen natürlichem und denaturiertem Protein, insbesondere von Fibrinogen erkennen, so dass ein denaturiertes Protein als Fremdkörper identifiziert und eine Gegenreaktion ausgelöst wird. Der Erfindung liegt somit die Erkenntnis zu Grunde, dass insbesondere Fibrinogen in einer natürlichem Konformation einem gesunden Einwachsenverhalten eines Implantats förderlich sein kann, während Fibrinogen in einer denaturierten Konformation dem Einwachsenverhalten abträglich ist. Die blosse Menge an Fibrinogen ist daher weniger entscheidend für das Einwachsen des Implantats.

**[0014]** Bei dem Implantat nach der Erfindung wird vorteilhaft eine blanke Metalloberfläche und/oder eine hydrophile Oberfläche verwendet. Eine solche Oberfläche begünstigt die Adsorption von Proteinen in einer natürlichen Konformation. Die Proteinlage bildet somit eine Art Beschichtung auf der Implantatoberfläche. Als hydrophil soll hier eine Oberfläche verstanden werden, die z. B. bei einer Kontaktwinkelmessung eines Tropfens auf der Oberfläche vorzugsweise einen Kontaktwinkel von  $< 40^\circ$  aufweist.

**[0015]** In einer bevorzugten Ausführungsform kann die Metalloberfläche in einem ersten Zustand eine erste Oberflächenladung aufweisen und durch eine Oberflächenbehandlung einen zweiten Zustand mit einer zweiten Oberflächenladung einnehmen, wobei die zweite Oberflächenladung eine niedrigere positive Oberflächenladung oder eine höhere negative Oberflächenladung im Vergleich zur ersten Oberflächenladung aufweist. Eine blanke Metalloberfläche mit einer solchen Oberflächenladung begünstigt wiederum die Adsorption von Proteinen in einer natürlichen Konformation.

**[0016]** Die Charakteristik der Implantatoberfläche im ersten Zustand, insbesondere die Oberflächenladung, kann den Merkmalen und der Oberflächenladung eines Ausgangsmaterials, aus dem das Implantat gefertigt ist, entsprechen. Der erste Zustand kann auch als Zustand eines herkömmlich hergestellten und zur Implantation bereit gestellten Implantats betrachtet werden. Der erste Zustand kann somit als Ausgangszustand des Implantats angesehen werden, in dem das Implantat z. B. nach der Formgebung oder einer ersten Reinigung vorliegt. Auch kann das Implantat im Ausgangszustand bereits in oder auf einem Einführsystem montiert sein. Im zweiten Zustand, in dem das Implantat in den Körper oder ein Körperlumen eingesetzt wird, weist die Oberfläche insgesamt eine negativere Oberflächenladung auf als im ersten Zustand auf. Dies kann durch die Oberflächenbehandlung auch dann realisiert werden, wenn die Oberflächenladung im ersten Zustand einen positiven Wert hat.

**[0017]** Die Verwendung des Implantats nach der vorliegenden Erfindung kann zur Regulierung einer Adsorption von Proteinen auf der Oberfläche des Implantats in Bezug auf Art, Menge und/oder Konformation weiterer Proteine beitragen. Bei einer Implantation des Implantats mit einer erfindungsgemässen Oberfläche können vermehrt Neutrophile auf der Implantatoberfläche angesiedelt werden, die Cathelicidin absondern und somit für eine Reduktion von Restenose verantwortlich sind. Die Adsorption von Thrombozyten kann verringert werden.

**[0018]** Somit wird die Gefahr von Komplikationen bei der Implantation eines Implantats deutlich verringert und das Einwachsverhalten des Implantats wird verbessert. Komplikation durch ein Brechen oder ein Absplittern von Beschichtungen auf dem Implantat, wie sie aus dem Stand der Technik bekannt sind, werden ausgeschlossen.

**[0019]** Die Anmelderin behält sich daher vor, eine eigene Patentanmeldung zu richten auf ein Implantat zur Implantation in einen Körper mit einer Oberfläche, die in implantiertem Zustand für einen Kontakt mit dem Körper oder einem Körperfluid vorgesehen ist und die in einem ersten Zustand eine erste Oberflächenladung aufweist, wobei die Oberfläche durch eine Oberflächenbehandlung einen zweiten Zustand mit einer zweiten Oberflächenladung einnimmt und die zweite Oberflächenladung eine niedrigere positive Oberflächenladung oder eine höhere negative Oberflächenladung im Vergleich zur ersten Oberflächenladung aufweist. Die Beschreibung bzgl. der Oberflächenladung einer Implantatoberfläche aus dieser Patentanmeldung wird vollumfänglich zur Erläuterung von Ausführungsformen der vorliegenden Erfindung in Bezug genommen.

**[0020]** Gute Ergebnisse zur Adsorption von Proteinen in einer natürlichen Konformation wurden mit Implantaten erzielt, bei welchen die zweite Oberflächenladung um wenigstens 10%, vorzugsweise um 20% oder mehr, gegenüber der ersten Oberflächenladung negativer ist. Ein Zeta-Potential Wert der Oberfläche soll im zweiten Zustand unterhalb des Zeta-Potential Werts im ersten Zustand liegen. Bei einem pH-Wert von ca. 7.4, der dem pH-Wert von Blut entspricht, ist ein Zeta-Potential Wert von weniger als - 60 mV, insbesondere weniger als - 70 mV, vorteilhaft. Das Zeta-Potential kann z. B. zur Bestimmung eines definierten Zustands der Implantatoberfläche dienen. Die genannten Potentialwerte beziehen sich auf ein Bestimmungsverfahren mittels elektrokinetischer Analyse. Bei der Verwendung anderer Bestimmungsverfahren müssen die Angaben von Potentialwerten möglicherweise entsprechend dem Verfahrensstandard angepasst werden.

**[0021]** Ferner kann die Oberfläche des Implantats durch den isoelektrischen Punkt an der Oberfläche charakterisiert werden. Der isoelektrische Punkt ist als pH-Wert definiert, bei welchem die Oberflächenladung gleich null ist. Nach der Erfindung liegt bei der Oberfläche im zweiten Zustand ein isoelektrischer Punkt vor, der niedriger ist als im ersten Zustand der Oberfläche. Beispielsweise liegt der isoelektrische Punkt im ersten Zustand über 5.0 und nach der Oberflächenbehandlung im zweiten Zustand für die Oberfläche mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation unter 5.0.

**[0022]** Die Implantatoberfläche kann für das Anhaften der Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation vorbereitet werden, indem eine Oberflächenbehandlung in Form einer Oberflächenladungsreduktionsbehandlung durchgeführt wird. Hierfür ist insbesondere eine Oxidationsbehandlung geeignet. Diese kann z. B. durch eine Reinigungsbehandlung, eine Lagerung in einer Behandlungslösung und/oder durch eine Beschichtung gegeben sein. Insbesondere kann die Implantatoberfläche einer Plasmabehandlung unterzogen werden und/oder in einer neutralen oder leicht sauren, wässrigen Lösung gelagert werden, beispielsweise in einer NaCl-Lösung oder WFI-Wasser (water for injection). Mit der Lagerung wird vorteilhaft eine hydratisierte Oberfläche auf dem Implantat geschaffen. Details zur Oberflächenbehandlung werden nachfolgend bei der experimentellen Beschreibung erläutert.

**[0023]** Bei der vorliegenden Erfindung wurde überraschend festgestellt, dass eine hydratisierte Implantatoberfläche das Einwachsverhalten des Implantats positiv beeinflusst, insbesondere wird die Adhäsion von Neutrophilinhibitoren reduziert und von Neutrophilprohibitoren gefördert. Die Anmelderin behält sich daher vor, eine eigene Patentanmeldung zu richten auf ein Implantat zur Implantation in einen Körper mit einer Oberfläche, die in implantiertem Zustand für einen Kontakt mit dem Körper oder einem Körperfluid vorgesehen ist, wobei die Oberfläche hydratisiert ist. Die Ausführungen zu den Eigenschaften und den Vorteilen einer hydratisierten Implantatoberfläche, insbesondere bei einem Implantat aus einer chromhaltigen Legierung, aus einer solchen Patentanmeldung werden vollumfassend in den Umfang der vorliegenden Patentanmeldung aufgenommen, um die Ausführungen zur vorliegenden Erfindung zu ergänzen und zu unterstützen.

**[0024]** Das Implantat besteht vorzugsweise aus Metall oder einer Metalllegierung, insbesondere aus einer chromhaltigen Legierung, wie einer Kobaltchromlegierung oder einer Platinchromlegierung, oder aus Nitinol. Es kann auch rostfreier Stahl verwendet werden. Derartige Materialien und ihre Eigenschaften sind für die Verwendung bei Implantaten bekannt. Besonders bevorzugt weist das Implantat eine blanke Metalloberfläche auf. Es sind somit keine Beschichtungs Vorgänge, wie es z. B. für Medikamente oder dergleichen bekannt ist, notwendig. Auch muss die Oberfläche nicht zur Herstellung einer bestimmten Oberflächenstruktur nachbehandelt werden. Ferner erleichtert eine blanke Oberfläche die Reinigung und ermöglicht somit hochreine Implantatoberflächen. Besonders bevorzugt ist eine hydrophile Oberfläche vorgesehen. Die Hydrophilizität kann z. B. gleichzeitig mit der Oberflächenladungsreduktionsbehandlung erzeugt oder erhöht werden. Alternativ kann eine zweite Oberflächenladung und eine Hydratisierung auch bei einem Implantat mit einer Medikamentenbeschichtung vorgesehen sein. Als hydrophil wird eine Oberfläche verstanden, die vorzugsweise einen Kontaktwinkel von  $< 40^\circ$  aufweist, wie vorher beschrieben.

**[0025]** Die gemäss der Erfindung verwendeten Metalle oder Metalllegierungen, die für die Implantate verwendet werden, haben Metalloberflächen, die in der äussersten Lage ihrer Metallstruktur eine Oxidschicht aufweisen. Die Oxidschicht ist 2 - 3 nm dick und weist Oxide entsprechend des verwendeten Metalls auf. Eine Kobaltchromoberfläche weist z.B. einen Anteil von ca.  $2/3\text{Cr}_2\text{O}_3$  Oxid auf. Bei einem Implantat nach der vorliegenden Erfindung weist die Oberfläche im zweiten Zustand vorteilhafterweise eine Oxidschicht auf, die gegenüber der Oxidschicht im ersten Zustand, d. h. gegenüber dem Ausgangszustand, veränderte Mengen an Oxiden aufweist. Es ist auch möglich, dass die Oxidschicht im zweiten Zustand eine veränderte Dicke aufweist, vorzugsweise dicker ist, als im ersten Zustand. Im Fall eines Implantats aus Kobaltchrom

kann die Oxidschicht der Oberfläche im zweiten Zustand relativ zum ersten Zustand eine erhöhte Menge an Chromoxid und/oder eine verminderte Menge an Kobaltoxid und Nickeloxid aufweisen. Für die erfindungsgemässe Oberfläche mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation weist die Oxidschicht vorzugsweise wenigstens 30% Chromoxid auf. Im Fall eines Nitinol Implantats kann eine verminderte Menge an Nickeloxid oder eine Elimination von Nickeloxid erreicht werden. Somit kann eine definierte Oberflächenladung auf der Implantatoberfläche mit einer vorbestimmten Zusammensetzung verschiedener Oxide in der Oxidschicht erzeugt werden. Für eine selektive Veränderung der Oxidschicht bei einer Metalloberfläche für Implantate eignen sich besonders Chromlegierungen. Bevorzugt werden Chromlegierungen mit mindestens 5% Chrom verwendet.

**[0026]** Bei der Verwendung des Implantats nach der Erfindung können bestimmte Arten von Proteinen vermehrt und andere Arten von Proteinen vermindert adsorbiert werden. Insbesondere kann die Ablagerung von Neutrophilen gefördert werden und das Risiko von unerwünschten Ablagerungen wird vermindert. Durch die natürliche Konformation der Proteine bleibt deren natürliche Wirksamkeit erhalten. Insbesondere bei Fibrinogen ist dies vorteilhaft, da dessen nachteilige Wirkung im Fall einer denaturierten Konformation, wie die Anlagerung von Neutrophilinhibitoren, reduziert wird.

**[0027]** Ausführungsbeispiele und experimentelle Ergebnisse für Implantate nach der Erfindung werden im Folgenden anhand der Figuren erläutert, welche nicht einschränkend auszulegen sind. Aus den Figuren offenbar werdende Merkmale und Zusammenhänge sollen einzeln und in jeder Kombination als zur Offenbarung der Erfindung gehörend betrachtet werden. In den Figuren zeigen:

Fig. 1 schematischer Ablauf des Einwachsens eines herkömmlichen blanken Metallstents (oben) und eines erfindungsgemässen blanken Metallstents mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation nach der Erfindung (unten),

Fig. 2a Schematische Darstellung eines Proteins in einer natürlichen Konformation,

Fig. 2b Schematische Darstellung einer Implantatoberfläche mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation,

Fig. 2c Schematische Darstellung einer Implantatoberfläche mit einer Lage von Proteinen in einer denaturierten Konformation,

Fig. 3 Diagramm der Proteinadsorption von Fibrinogen auf einer Implantatmetallprobe mit einer Kobaltchromoberfläche,

Fig. 4 Diagramm des Zusammenhangs einer Fibrinogenkonzentration auf die Adsorption von Neutrophilen

Fig. 5 Diagramm einer Anzahl an Neutrophilen auf Probenoberflächen mit einer ersten Oberflächenladung und einer zweiten Oberflächenladung in unterschiedlicher Umgebung,

Fig. 6a Diagramm der Menge an adsorbierten Proteinen auf einer Implantatmetallprobe mit einer Kobaltchromoberfläche mit einer ersten Oberflächenladung und einer zweiten Oberflächenladung aus einer Messung mittels u-BCA Methode und

Fig. 6b Diagramm der Menge an adsorbierten Proteinen auf einer Implantatmetallprobe mit einer Kobaltchromoberfläche mit einer ersten Oberflächenladung und einer zweiten Oberflächenladung aus einer Messung mittels Qubit Methode.

**[0028]** Es wurden verschiedene Experimente durchgeführt und verschiedene Messverfahren angewendet, um die Signifikanz des verbesserten Einwachsens eines Implantats nach der vorliegenden Erfindung zu untersuchen. Dabei wurde eindeutig festgestellt, dass ein Implantat mit einer Oberfläche, die eine Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen, bzw. naturähnlichen Konformation aufweist, ein Einwachsen des Implantats ohne Komplikationen begünstigt.

**[0029]** Als Implantat wurde ein Stent mit blanker Metalloberfläche verwendet, wie er z. B. im Stand der Technik hergestellt und als Gefässprothese verwendet wird. Die äussere Oberfläche des Stents ist zum Anliegen an einer Gefässwand eines Körpers vorgesehen. Die Oberflächen des Stents kommen mit dem Blut im Gefäss in Kontakt. Ferner wurden Metallproben z. B. in Form von Scheiben für die Durchführung von Oberflächenmessungen verwendet. Die Metallproben bestehen aus einem Metall oder einer Metalllegierung, wie es auch für ein Implantat, bzw. den Stent, verwendet wird. Somit sind die Metalloberflächen der Proben äquivalent zu Oberflächen von zur Implantation vorgesehenen Stents. Es wird Kobaltchrom, Platinchrom und Nitinol untersucht. Grundsätzlich können auch andere Metalle oder Metalllegierungen mit vergleichbaren Eigenschaften für ein erfindungsgemässes Implantat verwendet werden.

**[0030]** Bei den nachfolgend beschriebenen Messungen wurden folgende Metallproben verwendet: Eine Kobaltchromlegierung MP35N (ASTM F562) bestehend aus ca. 34 wt% Kobalt, ca. 35 wt% Nickel, ca. 20 wt% Chrom, ca. 10 wt% Molybdän und weniger als 1 wt% von Titan und Eisen und eine Kobaltchromlegierung L605 (ASTM F90) bestehend aus ca. 51 wt% Kobalt, ca. 20 wt% Chrom, ca. 15 wt% Wolfram, ca. 10 wt% Nickel, weniger als 3 wt% Eisen, ca. 1.5 wt% Mangan und weniger als 1 wt% Silizium.

**[0031]** Es wurden folgende Messverfahren und Messeinrichtungen verwendet: Röntgenphotoelektronenspektroskopie (XPS-Messung) mit einem Kratos Axis Nova Gerät an 12 unterschiedlichen Proben und Zeta Potential Messung mit einem Surpass Electrokinetik Analyzer mit variablem pH-Wert an 2 unterschiedlichen Proben.

**[0032]** Für die Untersuchungen wurden Stents und Metallproben mit einer blanken Metalloberfläche mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation verwendet. Eine solche Lage kann z. B. durch die Verwendung eines Stents mit einer reduzierten Oberflächenladung erreicht werden. Hierfür liegen die untersuchten Stents und die Metallproben zunächst in einem ersten Zustand mit einer ersten Oberflächenladung vor, der einem Ausgangszustand entspricht. Der Ausgangszustand liegt z. B. bei einem Stent vor, wie er in herkömmlicher Weise zur Implantation verwendet wird. Der Stent ist also im Ausgangszustand fertig hergestellt und im Sinne des Standes der Technik zur Implantation bereit.

Zur Erzeugung des zweiten Zustands mit einer veränderten Oberflächenladung werden der Stent und die Metallproben einer Oberflächenbehandlung unterzogen. Eine solche Oberflächenbehandlung zur Veränderung der Oberflächenladung kann z. B. eine Oxidationsbehandlung in Form einer Plasmabehandlung und/oder eines Bads in einer vorher erwähnten wässrigen Lösung sein. Die Plasmabehandlung führt zu einer Oxidation und Entfernung von Kohlenwasserstoff. Für das Plasma können unterschiedliche Gase verwendet werden, wie sie aus dem Stand der Technik bekannt sind. Beispielsweise wird ein Sauerstoffplasma verwendet. Das Bad kann einen vorbestimmten pH-Wert aufweisen, der auf das Material der Metallproben abgestimmt ist. Beispielsweise wird eine alkalische Lösung verwendet. Zur Herstellung des zweiten Zustands wird beispielsweise ein Argonplasma, das nicht oxidierend wirkt, in Kombination mit einem Bad in einer wässrigen NaCl-Lösung, die oxidierend wirkt, verwendet werden. Die behandelte Oberfläche weist einheitliche Oberflächeneigenschaften mit einer zweiten Oberflächenladung im Sinne der Erfindung auf.

**[0033]** Zur Aufrechterhaltung des zweiten Zustands der Implantatoberfläche können eine Handhabung und Lagerung des Implantats erfolgen, wie sie in der parallelen Patentanmeldung der Anmelderin (Anmeldenummer CH 00 048/12) beschrieben sind. Diese Anmeldung wird vollumfänglich zur Offenbarung der Erfindung in Bezug genommen, da sie aufzeigt in welcher Weise Stentoberflächen mit definierten Oberflächeneigenschaften bis zur Implantation beibehalten werden können. Mit der Bereitstellung eines Stents innerhalb eines Stroms eines definierten Mediums in einer Umhüllung, kann der zweite Zustand der Implantatoberfläche beibehalten werden.

**[0034]** Der Stent kann einer Oberflächenbehandlung auch dann unterzogen werden, wenn er bereits in oder auf einem Einführsystem zum Einführen des Stents in den Körper oder ein Körperlumen eingesetzt ist oder nach der Behandlung in ein solches System eingesetzt werden. Dabei ist darauf zu achten, dass die Oberflächenladung des zweiten Zustands erhalten bleibt.

**[0035]** Fig. 1d zeigt für die Stents 1 und V das Einwachsen der Stents in einer Herzkranzarterie eines Schweins nach 30 Tagen. Es wird der Ablauf des Einwachsens eines herkömmlichen Metallstents V mit blanker Oberfläche in einem ersten Zustand (oben) und eines erfindungsgemässen Metallstents 1 mit blanker Oberfläche in einem zweiten Zustand mit einer erhöhten negativen Oberflächenladung (unten) gezeigt.

**[0036]** Die Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation auf der Metalloberfläche entsteht z. B. durch Kontakt mit einem proteinhaltigen Fluid. Aufgrund der Vorbehandlung der Oberfläche werden die Proteine aus dem proteinhaltigen Fluid in einer natürlichen Konformation auf der Oberfläche adsorbiert. Als proteinhaltiges Fluid kann beispielsweise Blut oder ein Blutserum verwendet werden. Grundsätzlich ist es auch denkbar, dass die Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation erst durch Kontakt mit einem Körperfluid adsorbiert wird.

**[0037]** In Fig. 1a ist der Stent am Ort der Implantation platziert und die Oberflächen sind gegenüber Blut exponiert. Beim herkömmlichen Stent 1' (Fig. 1a, oben) erfolgt zunächst eine Ablagerung von Proteinen, welche sowohl das Anhaften, als auch die Funktionalität von Neutrophilen verhindern, so genannte Neutrophilinhibitoren 2 u. a. Fibrinogen in denaturierter Konformation. Beim Stent 1 mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation (Fig. 1a, unten) sind die Neutrophilinhibitoren stark reduziert und zugleich lagern sich sowohl Proteine ab, welche die Anhaftung von Thrombozyten verhindern (Kininogen high molecular weight - HMWK), als auch Proteine, welche das Anhaften von Neutrophilen auf der Stentoberfläche fördern (z. B. Plasminogen), so genannte Neutrophilipromotoren 3. Entsprechend werden anschließend bei dem Stent 1' (Fig. 1b, oben) auf den Neutrophilinhibitoren 2 hauptsächlich Thrombozyten 4 angesiedelt, welche grundsätzlich unerwünscht sind. Bei dem Stent 1 mit der Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation (Fig. 1b, unten) werden hingegen vermehrt Neutrophile 5 aus dem Blut des Patienten angesiedelt und aktiviert, während Thrombozyten abgewiesen werden. Die aktivierten Neutrophile 5 sondern das Protein Cathelicidin (LL37) 6 auf der Stentoberfläche ab, vgl. Fig. 1c unten. Dadurch kann der Vorgang des Einwachsens positiv unterstützt werden, ohne dass hierfür eine Beschichtung auf der Metalloberfläche aufgetragen werden muss oder eine Medikamentenabgabe erforderlich ist. Bei dem Stent 1' wurde Cathelicidin nur in geringem Mass gefunden. Die Untersuchungen haben gezeigt, dass der Stent 1 mit der Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation zwei bis dreimal mehr Cathelicidin ansammelt als der herkömmliche Stent 1'. Der Stent 1 zeigt ein gleichmässiges Einwachsenverhalten mit einem weit offenen Innenlumen (siehe Fig. 1d, unten). Der Stent 1' zeigt jedoch ein Einwachsen mit einer erneuten Verengung des Durchgangs (siehe Fig. 1d, oben). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass eine Stentoberfläche mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation diejenigen bioaktiven Prozesse, die zu einem gesunden und erwünschten Einwachsen des Stents 1 führen, unterstützt und fördert. Unerwünschte Prozesse werden dagegen eingedämmt oder unterbunden.

**[0038]** In Fig. 2a ist ein 3-dimensionales Protein in einer natürlichen Konformation als 2-dimensionale Darstellung schematisch gezeigt. Das gezeigte Protein repräsentiert ein ungebundenes Protein. Eine gewundene Linie 10 repräsentiert verschiedene  $\alpha$ -helix und  $\beta$ -sheet Strukturen des Proteins. Leere Kreise 11 bezeichnen hydrophile Regionen und ausgefüllte Kreise 12 bezeichnen hydrophobe Regionen des Proteins. Bereiche mit einem Plus zeigen positiv geladene Bereiche 13 und Bereiche mit einem Minus zeigen negativ geladene Bereiche 14. Die Bereiche 11, 12, 13 und 14 sind beispielhaft an der Struktur 10 des Proteins verteilt. Wie dargestellt, liegen die hydrophoben Regionen 12 vermehrt im Inneren des Proteins, während die hydrophilen Regionen 11 vermehrt an einer Aussenseite des Proteins liegen. Die positiv und negativ geladenen Bereiche 13 und 14 befinden sich vor allem auf der Oberfläche des Proteins und sind dort im Wesentlichen gleichverteilt. Das Protein ist in dieser Konfiguration biologisch aktiv.

**[0039]** In Fig. 2b sind mehrere Proteine auf einer hydrophilen, stark negativ geladenen Metalloberfläche 15 adsorbiert. Die Proteine weisen eine geringfügige Konformationsänderung im Vergleich zur natürlichen Konformation gemäss Fig. 2a auf. Die Ausdehnung der einzelnen Proteine ist demgegenüber etwas geringer. Auf der zur stark negativ geladenen Metalloberfläche zugewandten Seite der Proteine ergibt sich eine höhere Konzentration der positiven Ladungen 13. Hingegen auf der von der Metalloberfläche abgewandten Seite bleiben die unterschiedlichen Bereiche 11,12, 13 und 14 im Wesentlichen gleich verteilt, so wie in Fig. 2a. Es liegt somit eine zumindest nahezu natürliche, bzw. eine naturähnliche Konformation vor. Die Proteine sind daher biologisch aktiv.

**[0040]** Demgegenüber sind in Fig. 2c mehrere Proteine auf einer hydrophoben, nur geringfügig negativ geladenen Metalloberfläche 16 adsorbiert. Die Konformation der einzelnen Proteine hat sich deutlich verändert. Die Aussenseite der Proteine wird von hydrophoben Regionen 12 besetzt. Die hydrophilen Regionen 11 sind dagegen im Inneren angeordnet. Auf der zur geringfügig negativ geladenen Oberfläche zugewandten Seite der Proteine ergibt sich eine etwas höhere Konzentration der positiven Ladungen 13. Insgesamt sind die Proteine dichter gepackt. Die Proteine befinden sich in einer denaturierten Konformation. Die Proteine sind in dieser Konformation entweder nicht biologisch aktiv oder zeigen eine veränderte biologische Wirkung, die möglicherweise nicht erwünscht ist.

**[0041]** Experimentelle Untersuchungen der Oxidschicht auf der Oberfläche von MP35N und L605 Proben haben gezeigt, dass im ersten Zustand mit einer ersten Oberflächenladung die Oxidschicht eine Dicke von 2 - 3 nm aufweist. Bei der Bestimmung von MP35N Proben mit dem Elektrokinetik Analyzer (XPS-Messung) wurde Folgendes festgestellt. Bei einer ersten MP35N Probe, die in einem ersten Zustand im Sinne der Erfindung untersucht wurde, besteht die Oxidschicht im Wesentlichen aus ca. 66% Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Cr(III)) Oxid, ca. 10% Co-Oxid, ca. 10% Mo-Oxid, ca. 9 % Ni-Oxid, ca. 5% Ti-Oxid. Eine zweite MP35N Probe wurde einer Oxidierungsbehandlung gefolgt von einer Lagerung in einer neutralen Lösung unterzogen und liegt somit in einem zweiten Zustand gemäss der Erfindung vor. Bei der zweiten MP35N Probe weist die Oxidschicht ebenfalls eine Dicke von 2 – 3 nm auf und besteht aus 75% Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Cr(III)) Oxid, ca. 7% Co-Oxid, ca. 8% Mo-Oxid, ca. 7 % Ni-Oxid und ca. 4% Ti-Oxid. Bei der Messung der L605 Proben wurden vergleichbare Ergebnisse ermittelt. Lediglich Molybdän ist durch Wolfram substituiert und es wird weniger Nickel gemessen, das durch Kobalt kompensiert wird, wie es den unterschiedlichen Verhältnissen der Metalle in den unterschiedlichen Legierungen entspricht. Es wurde eine grössere Menge an Chromoxid und eine geringere Menge an Kobalt- und Nickeloxid gemessen. Daraus ergibt sich, dass im zweiten Zustand mit einer gesteigerten negativen Oberflächenladung die Menge an Chromoxid höher und die Menge an Kobaltoxid und Nickeloxid niedriger ist als im ersten Zustand.

**[0042]** Durch die Art der Oberflächenbehandlung, also z. B. Reinigung durch Plasma-Behandlung und nasser Lagerung in Lösungen, kann zum Einen die Oberflächenladung auf einen negativeren Wert verändert werden und zum Anderen kann die Zusammensetzung der Oxidschicht beeinflusst und somit reguliert werden. Derartig vorbehandelte Oberflächen eignen sich besonders zur Erzeugung einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation.

**[0043]** In Fig. 3 ist ein Diagramm einer Messung der Proteinadsorption eines Implantats mit einer Kobaltchromoberfläche mit einer ersten Oberflächenladung und einer zweiten Oberflächenladung für Fibrinogen gezeigt. Daraus ergibt sich, dass Fibrinogen auf der Oberfläche mit der zweiten Oberflächenladung anders adsorbiert wird, nämlich mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation. Die Metallproben entsprechen dem Material eines erfindungsgemässen Implantats und weisen eine blanke Kobaltchromoberfläche auf. Im ersten Zustand wird die Oberfläche ohne weitere Behandlungsschritte, also im Ausgangszustand, vermessen. Im zweiten Zustand weist die Oberfläche eine erhöhte negative Oberflächenladung auf. Die Metallproben wurden zur Messung der Proteinadsorption in Blut inkubiert. Hierfür wurden die Proben in Schalen mit frischem Blut eingelegt und für zwei Stunden bei 37 °C und statischen Bedingungen inkubiert. Anschliessend wurden die Proben mit dem vorher erwähnten Verfahren gemessen.

**[0044]** In Fig. 3 wird die Menge an Fibrinogen auf der Probenoberfläche im ersten Zustand mit der ersten Oberflächenladung (linker Balken) und im zweiten Zustand mit der zweiten Oberflächenladung mit höherer negativer Oberflächenladung (rechter Balken) gezeigt. Die Adsorption im ersten Zustand ist auf 100 +/-10 normiert. Im zweiten Zustand mit geringerer negativer Oberflächenladung wird dagegen nur ein Wert von 70 +/-5 erreicht. Fibrinogen kann die Adsorption von Thrombozyten fördern und von Neutrophilen hemmen. Es ist daher vorteilhaft die Menge an Fibrinogen auf der Implantatoberfläche zu reduzieren. Zudem haftet das im zweiten Zustand der Oberfläche adsorbierte Fibrinogen mit einer natürlichen Konformation auf der Metalloberfläche an und kann in diesem Zustand das Anhaften von Neutrophilen begünstigen. Somit werden die Oberflächeneigenschaften für ein Implantat mit einer solchen Oberfläche weiter verbessert.

**[0045]** Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass die Oberfläche im zweiten Zustand mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation im Vergleich zur Oberfläche mit Proteinen in einer denaturierten Konfiguration weniger Proteine aufweist, die die Menge und Funktion von Neutrophilen auf der Oberfläche verringern, und mehr Proteine aufweist, die die Aggregation von Thrombozyten verringern. Es werden bevorzugt Thrombozytinhhibitoren, wie Kininogen, und Neutrophilpromotoren, wie Plasminogen, adsorbiert. Auf einer implantierten Oberfläche können daher schnell Neutrophile anhaften und ein erfolgreiches Einwachsen des Stents unterstützen.

**[0046]** Die Implantatoberfläche gemäss der Erfindung mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation bildet einen definierten Oberflächenzustand zur Regulierung der Proteinadsorption auf der Oberfläche. Somit kann auf die Adsorption von Proteinen Einfluss genommen werden, die Adsorption von erwünschten Proteinen wird

gefördert und die Adsorption von unerwünschten Proteinen wird gehemmt. Es erfolgt somit eine selektive Proteinadhäsion auf der Metalloberfläche.

**[0047]** In Fig. 4 wird am Beispiel des Proteins Fibrinogen der Einfluss der Präsenz dieses Proteins auf eine Metalloberfläche im Ausgangszustand (linker Balken) und eine Metalloberfläche mit einer gegenüber dem Ausgangszustand niedrigeren positiven Oberflächenladung oder einer höheren negativen Oberflächenladung (rechter Balken) veranschaulicht. Bei der Messreihe werden jeweils eine Metalloberfläche im Ausgangszustand und im Zustand niedrigerer Oberflächenladung einem Fluid mit gleichbleibendem Anteil an Albumin von 50mg/ml und unterschiedlichen Anteilen an Fibrinogen ausgesetzt und anschliessend die Menge an adsorbierten Neutrophilen gemessen. Bei den Balkenpaaren wurden von links nach rechts gesehen folgende Anteile an Fibrinogen verwendet: 3 mg/ml, 0.3 mg/ml und 0.03 mg/ml. Bei allen Messungen werden auf der Metalloberfläche mit niedrigerer positiver Oberflächenladung oder höherer negativer Oberflächenladung 15–20-mal mehr Neutrophile adsorbiert als bei der Metalloberfläche im Ausgangszustand. Die Anzahl der adsorbierten Neutrophilen ist unabhängig von der sich zuvor auf der Oberfläche befindenden Menge an Fibrinogen. Diese Messungen bestätigen somit, dass eine behandelte Oberfläche mit niedrigerer positiver Oberflächenladung eine Lage von Fibrinogen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation adsorbiert und dadurch die Anzahl von adsorbierten Neutrophilen erhöht ist im Vergleich zur Oberfläche im Ausgangszustand. Somit fördert eine behandelte Oberfläche mit niedrigerer positiver Oberflächenladung ein gewünschtes Einwachsverhalten. Vergleichbare Resultate können auch für andere Proteine als Fibrinogen erzielt werden.

**[0048]** Die durchgeführten Messungen belegen die positive Einwirkung einer Implantatoberfläche mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation auf das Einwachsen eines Implantats bei der Implantation, wie es in den in Fig. 1a bis 1d erläuterten in-vivo Experimenten gezeigt ist. Durch eine gezielte Ansiedlung von Fibrinogen in einer natürlichen Konformation auf der Implantatoberfläche kann die Adsorption von Zellen auf der Oberfläche reguliert werden. Ein Implantat mit einer solchen Oberfläche vermindert somit das Risiko einer Restenose oder anderer Komplikationen bei der Implantation.

**[0049]** Diese Zusammenhänge werden durch Messungen der Menge an Neutrophilen auf einer Oberfläche einer Metallprobe, die einer Stentoberfläche entspricht, zum Einen im Ausgangszustand und zum Anderen mit einer Lage von Proteinen mit einer zumindest nahezu natürlichen Konformation bestätigt. In Fig. 5 werden derartige Kobaltchrom-Proben in Fluiden mit unterschiedlichen Anteilen an Proteinen inkubiert. Grundsätzlich wirken Proteine als Mediatoren für die Ansiedlung von Neutrophilen, wobei zuerst Proteine auf der Oberfläche anhaften und erst anschliessend Neutrophile. Das linke Balkenpaar zeigt eine Messung, bei der die Metallprobe regulärem, menschlichem Blut ausgesetzt ist. Es zeigt sich, dass die Probe im Ausgangszustand (linker Balken), nur ca. 8% der Menge an Neutrophilen im Vergleich zum Zustand mit der genannten Proteinlage (rechter Balken) annimmt. Das mittlere Balkenpaar in Fig. 5 zeigt eine Messung, bei der eine Metallprobe einem Fluid mit Neutrophilen ausgesetzt wurde, das jedoch keine Proteine enthält, wie es normalerweise bei einem Blutfluid der Fall wäre. Im Zustand mit der genannten Proteinlage (rechter Balken) werden ungefähr 15% weniger Neutrophile angelagert als im Ausgangszustand (linker Balken). Das rechte Balkenpaar zeigt eine Messung, bei der eine Metallprobe zuerst in Blutplasma inkubiert wurde. Das heisst, es erfolgte zuerst eine Ablagerung von Proteinen aus Blut und anschliessend eine Adsorption von Neutrophilen. Im Ausgangszustand (linker Balken) werden ungefähr nur 5% der Menge an Neutrophilen im Vergleich zum Zustand mit der genannten Proteinlage (rechter Balken) angelagert. Die Messungen zeigen, dass bei einer Metalloberfläche mit einer Lage von Proteinen mit einer zumindest nahezu natürlichen Konformation im Vergleich zu einer unbehandelten Metalloberfläche im Ausgangszustand, deutlich mehr Neutrophile adsorbiert werden, sofern Proteine verfügbar sind, die mit der Oberfläche reagieren können.

**[0050]** In den Fig. 6a und 6b werden Ergebnisse aus der Bestimmung der Gesamtmenge an adsorbierten Proteinen gezeigt. Fig. 6a zeigt das Ergebnis aus einer  $\mu$ -BCA Messung, bei welcher der Effekt der Protein-Kupfer-Chelatbildung und der Reduktion des Kupfers mit Bicinchoninsäure (BCA) zu einem farbigen Lösungsprodukt für eine Fluoreszenzmessung ausgenutzt wird. Fig. 6b zeigt das Ergebnis aus einer Qubit Messung, bei welcher die auf der Oberfläche anhaftenden Proteine desorbiert und mit einem Marker für eine Fluoreszenzanalyse versehen werden. Mit beiden Messmethoden zeigt sich eine signifikante Reduktion der Proteinadsorption.

**[0051]** In Fig. 6a wird die Gesamtadsorption von Proteinen für eine Metallprobe in einem ersten Zustand mit einer Lage denaturierter Proteine (linker Balken) und für die Metallprobe im zweiten Zustand mit einer Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation (rechter Balken) gezeigt. Im ersten Zustand werden zwischen 1.2 und 1.7  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  Proteine auf der Metalloberfläche adsorbiert. Im zweiten Zustand werden dagegen zwischen 0.7 und 0.9  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  Proteine adsorbiert. In Fig. 6b wird die Gesamtadsorption von Proteinen für eine Metallprobe im ersten Zustand (linker Balken) und für die Metallprobe (rechter Balken) gezeigt. Im ersten Zustand werden zwischen 36 und 40 willkürliche Einheiten Proteine auf der Oberfläche gemessen. Im zweiten Zustand mit der Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation werden dagegen zwischen 30 bis 34 willkürliche Einheiten Proteine gemessen.

## Bezugszeichenliste

**[0052]**

1, 1' Implantat, Stent                      11 hydrophile Region

2	Neutrophilinhibitoren	12	hydrophobe Region
3	Neutrophilpromotoren	13	positiv geladene Region
4	Thrombozyten	14	negativ geladene Region
5	Neutrophile	15	stark negative Oberfläche
6	Cathelicidin	16	gering negative Oberfläche
10	$\alpha$ -helix / $\beta$ -sheet Struktur		

### Patentansprüche

1. Implantat zur Implantation in einen Körper mit einer Oberfläche, die in implantiertem Zustand für einen Kontakt mit dem Körper oder einem Körperfluid vorgesehen ist, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche eine Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation aufweist.
2. Implantat nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche eine Lage von Proteinen in einer zumindest nahezu natürlichen Konformation Fibrinogen umfasst.
3. Implantat nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche eine blanke Metalloberfläche des Implantats ist.
4. Implantat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche mit oder ohne der Proteinlage hydrophil ist.
5. Implantat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche eine negative Oberflächenladung aufweist.
6. Implantat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Oberfläche bei einem pH-Wert von ca. 7.4 einen Zeta-Potential Wert von weniger als - 60 mV, insbesondere weniger als - 70 mV, aufweist.
7. Implantat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass bei der Oberfläche ein isoelektrischer Punkt unter 5.0 gegeben ist.
8. Implantat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Implantat aus Metall oder einer Metalllegierung, insbesondere aus einer chromhaltigen Legierung oder aus Nitinol, mit einer blanken Oberfläche besteht.
9. Implantat nach dem vorhergehenden Anspruch, dadurch gekennzeichnet, dass eine Oxidschicht der Oberfläche wenigstens 30% Chromoxid aufweist.
10. Implantat nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass bei der Oberfläche eine definierte Oberflächenladung und/oder eine definierte vorbestimmte Zusammensetzung der Oxidschicht vorgesehen ist.

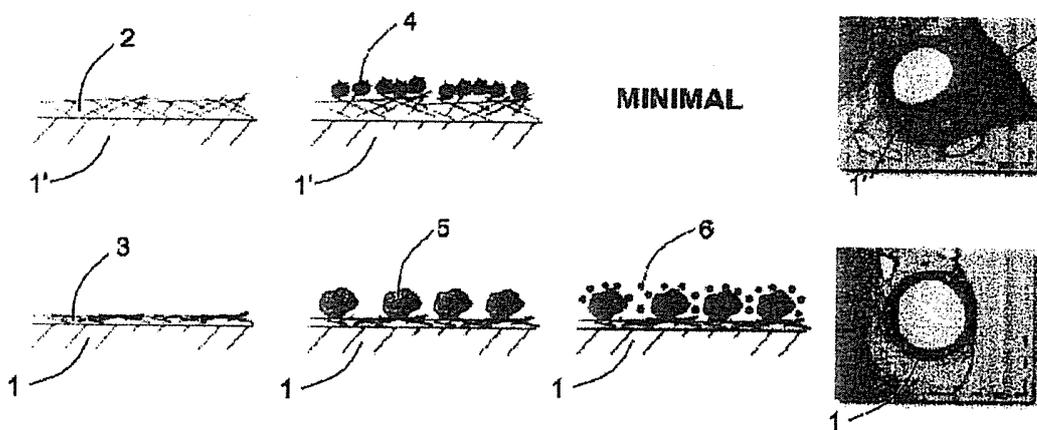


Fig. 1a

Fig. 1b

Fig. 1c

Fig. 1d

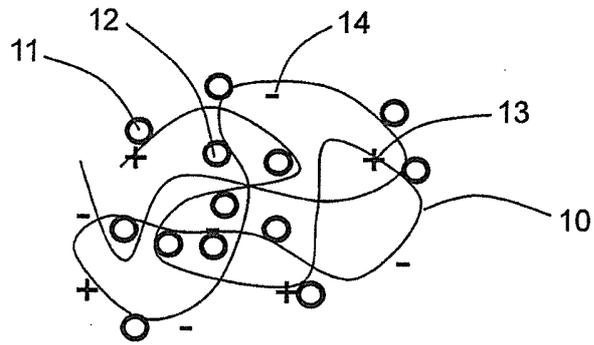


Fig. 2a

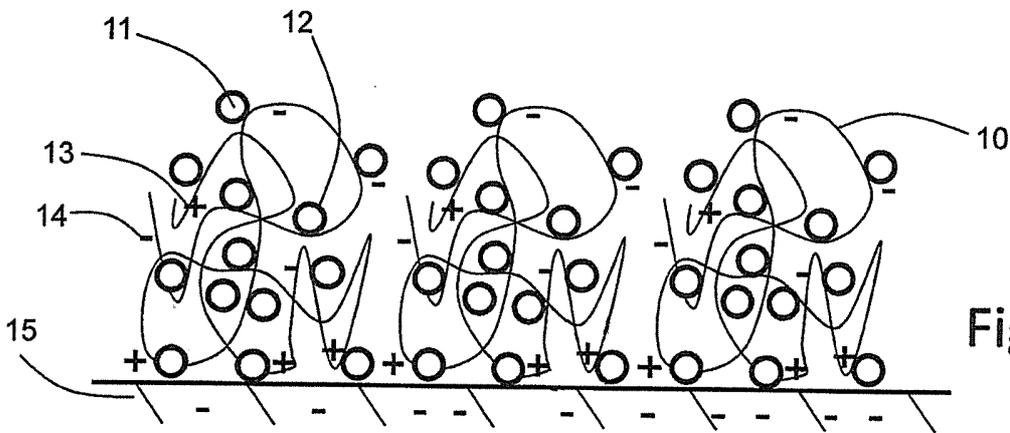


Fig. 2b

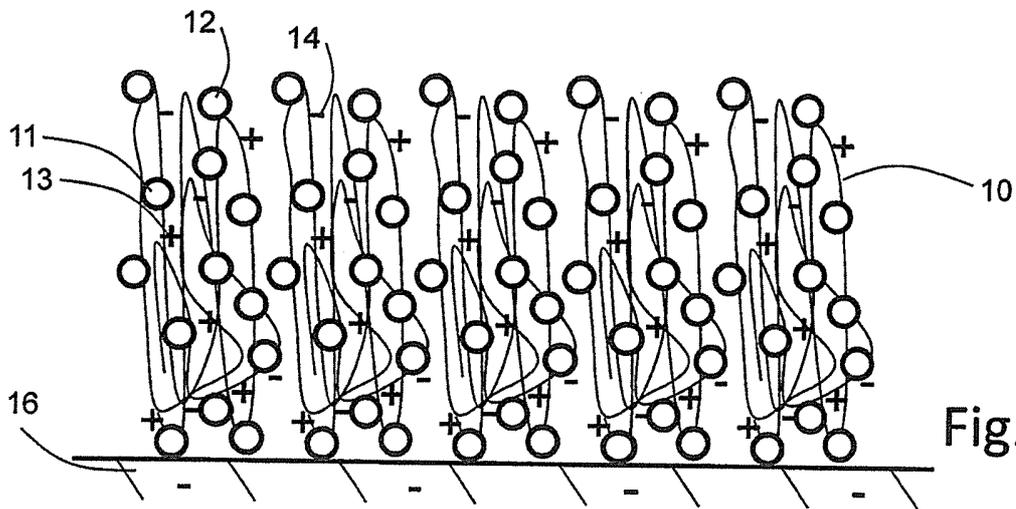


Fig. 2c

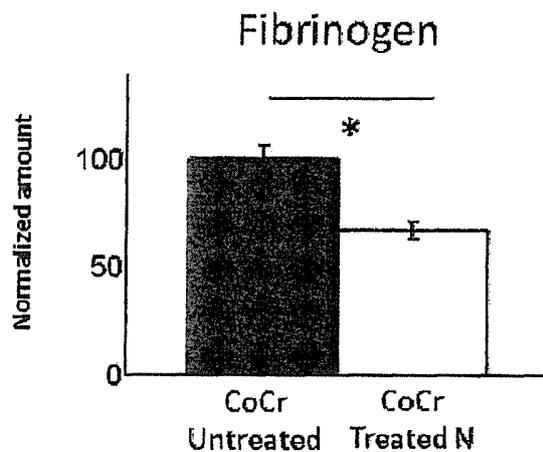


Fig. 3

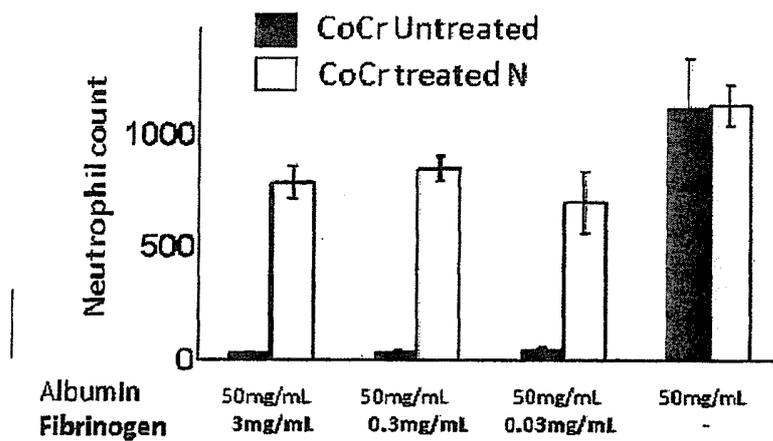


Fig. 4

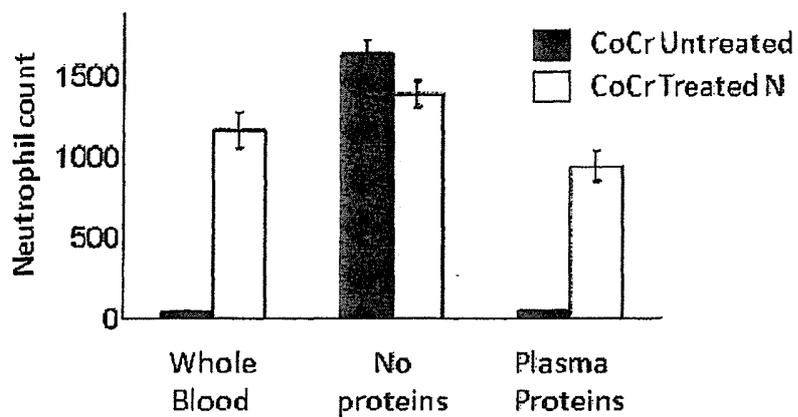


Fig. 5

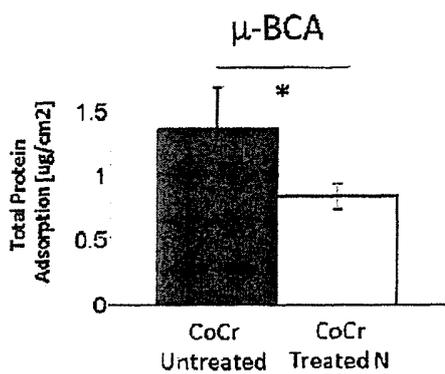


Fig. 6a

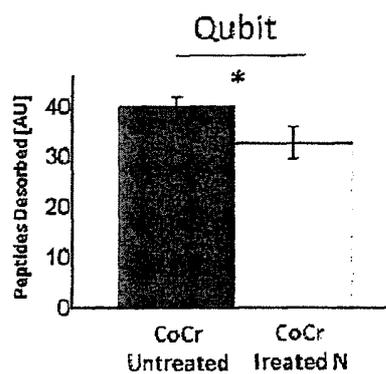


Fig. 6b

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

**BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART**

KENNZEICHNUNG DER NATIONALEN ANMELDUNG		AKTENZEICHEN DES ANMELDERS ODER ANWALTS	
		<b>163729.1/KW/sg</b>	
Nationales Aktenzeichen		Anmelderdatum	
<b>1905/2013</b>		<b>14-11-2013</b>	
Anmeldeland		Beanspruchtes Prioritätsdatum	
<b>CH</b>			
Anmelder (Name)			
<b>Qvanteq AG</b>			
Datum des Antrags auf eine Recherche internationaler Art		Nummer, die die internationale Recherchenbehörde dem Antrag auf eine Recherche internationaler Art zugeteilt hat	
<b>03-12-2013</b>		<b>SN 61122</b>	
<b>I. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDS</b> <small>(treffen mehrere Klassifikationsymbole zu, so sind alle anzugeben)</small>			
<small>Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder sowohl nach der nationalen Klassifikation als auch nach der IPC</small>			
<b>A61L31/02</b>	<b>A61L31/04</b>	<b>A61L31/10</b>	
<b>II. RESEARCHIERTE SACHGEBIETE</b>			
<small>Researchierter Mindestprüfstoff</small>			
Klassifikationssystem		Klassifikationsymbole	
<b>IPC. 8</b>		<b>A61L</b>	
<small>Researchierte, nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die researchierten Sachgebiete fallen</small>			
<b>III. <input type="checkbox"/> EINIGE ANSPRÜCHE HABEN SICH ALS NICHT RESEARCHIERBAR ERWIESEN</b> <small>(Bemerkungen auf Ergänzungsbogen)</small>			
<b>IV. <input type="checkbox"/> MANGELNDE EINHEITLICHKEIT DER ERFINDUNG</b> <small>(Bemerkungen auf Ergänzungsbogen)</small>			

Formblatt PCT/ISA 2013 (11/2009)

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Nr. des Antrags auf Recherche

CH 19052013

<p>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES                  INV. A61L31/02 A61L31/04 A61L31/10                  ADD.</p>		
<p>Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK</p>		
<p>B. RESEARCHIERTE SACHGEBIETE                  Recherchierte Mindestpräzise (Klassifikationssystem und Klassifikationsmerkmale)                  A61L</p>		
<p>Recherchierte, aber nicht zum Mindestpräzise gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen</p>		
<p>Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchzeile)                  EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data</p>		
<p>C. ALS WESENTLICH ANGEBEHÖRIGE VERÖFFENTLICHUNGEN</p>		
Kategorie*	Bedeutung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Bez. Anspruch Nr.
X	<p>WD 2004/037310 A2 (ALLVIVO INC [US]; NILSSON BO [SE]; ANDERSSON JONAS [SE]; CALDWELL KARI) 6. Mai 2004 (2004-05-06)                  * Beispiel 1 *                  * Seite 7, Zeile 5 - Zeile 13 *                  * Seite 9, Zeile 29 - Seite 10, Zeile 17 *                  * Seite 11, Zeile 22 - Seite 13, Zeile 21 *</p>	1-10
X	<p>WD 2009/015420 A1 (UNIV SYDNEY [AU]; BILEK MARCELA [AU]; MCKENZIE DAVID [AU]; YIN YONGBAI) 5. Februar 2009 (2009-02-05)                  * Seite 3, Zeile 22 - Seite 6, Zeile 28 *                  * Seite 15, Zeile 11 - Seite 16, Zeile 20 *                  * Seite 18, Zeile 23 - Seite 19, Zeile 18 *</p>	1-10
<p>-----                  -/--</p>		
<p><input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen</p>		
<p><input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie</p>		
<p>* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:</p>		
<p>*X* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besondere Bedeutung anzusehen ist</p>		
<p>*E* Erster Dokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist</p>		
<p>*L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die die Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbereich genannten Veröffentlichung belegt werden soll, oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie zugeführt)</p>		
<p>*O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht</p>		
<p>*N* Veröffentlichung, die vor dem Anmeldedatum, aber nach dem beantragten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist</p>		
<p>*T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht korrespondiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist</p>		
<p>*X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung lässt allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder aus erfindungsfähiger Tätigkeit benützt (schwach) werden</p>		
<p>*Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsfähiger Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann nachvollziehbar ist</p>		
<p>*Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist</p>		
<p>Datum des internationalen Konsultations der Recherche internationaler Art</p>		<p>Abgeschlossen des Berichts über die Recherche internationaler Art</p>
<p>22. April 2014</p>		<p>26-04-2014</p>
<p>Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde                  Europäisches Patentamt, P. O. Box 16 Patentstrasse 2                  NL - 2280 HV Rijswijk                  Tel. (+31-70) 340-2040                  Fax: (+31-70) 340-2016</p>		<p>Bevollmächtigter Beauftragter                  Fort. Marianne</p>

2

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Nr. des Antrags auf Priorität

CN 19052913

0. (Fortsetzung). ALB WESSENTLICH ANGESEHENE VERÖFFENTLICHUNGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Zeit. Anspruch Nr.
X	ROACH ET AL.: "Intrepretation of protein adsorption: Surface-induced conformation changes", J. AM. CHEM. SOC., Bd. 127, 2005, Seiten 8168-8173, XP002723454, * Seite 8169 - Seite 8173 * *****	1-10

2

BERICHT ÜBER DIE RECHERCHE INTERNATIONALER ART

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

für die Anfrage auf Recherche

CH 19052013

Im Forschungsbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 2004037310	A2	06-05-2004	AU 2003284304 A1 13-05-2004
			CA 2503490 A1 06-05-2004
			EP 1553993 A2 20-07-2005
			JP 5930383 B2 19-09-2012
			JP 2006510396 A 30-03-2006
			US 2004142011 A1 22-07-2004
			WO 2004037310 A2 06-05-2004
WO 2009015420	A1	05-02-2009	US 2010227372 A1 09-09-2010
			WO 2009015420 A1 05-02-2009

Formblatt PD-788A/2011 (Anhang Patentfamilie) (Januar 2014)