

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten

Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der

Zahnheilkunde

Lehrstuhlinhaber: Prof. Dr. Jürgen Groll

**Elektrochemisch gestützte Abscheidung kupfer- und  
zinkdotierter Magnesiumphosphatschichten auf Titan**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der

Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Alexander Sadek

aus

Pruchten

Würzburg, Juni 2020



Referent: Prof. Dr. Uwe Gbureck  
Korreferent: Prof. Dr. Torsten Blunk  
Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 30.06.2020

Der Promovend ist Zahnarzt.

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung .....	1
2	Kenntnisstand .....	6
2.1	Oberflächenmodifikation durch Sandstrahlen.....	6
2.2	Hochtemperaturverfahren.....	8
2.2.1	Plasmaspritzverfahren .....	8
2.2.2	Plasmaelektrolytische Oxidation .....	9
2.2.3	Laserbasierte Verfahren .....	10
2.3	Vakuum-Verfahren .....	10
2.3.1	Chemical vapor.deposition (CVD).....	10
2.3.2	Physical-vapor-deposition (PVD).....	11
2.4	Elektrochemisch gestützte Oberflächenmodifikationen .....	12
2.4.1	Anodische Oxidation der Titanoberfläche .....	12
2.4.2	Elektrochemisch gestützte Abscheidung .....	13
2.4.3	Elektrophoretische Abscheidung von Schichten .....	13
2.4.4	Zink dotierte Oberflächenbeschichtung .....	14
2.4.5	Oberflächenbeschichtung mit Struvit und Magnesium.....	14
2.5	Antibakterielle Wirkung.....	15
2.5.1	Biokompatibilität.....	15
2.5.2	Antimikrobielle Beschichtungen.....	16
2.6	Titan als Biomaterial.....	16
2.6.1	Werkstoff Titan.....	16
2.6.2	Titan-Legierungen.....	17
2.6.3	Dentale Legierungen .....	18
3	Material und Methoden.....	20
3.1	Probenkörper aus Titan .....	20
3.2	Elektrolyte.....	20
3.2.1	Kupfer-(II)-nitrat-Trihydrat- und Zinknitrat-Hexahydrat-Lösung.....	20
3.2.2	Basiselektrolyt.....	20
3.2.3	Kupfer(II)-nitrat-Trihydrat- und Zinknitrat-Hexahydrat-Elektrolyt ...	21

# Einleitung

3.2.4	pH-Messung .....	21
3.3	Versuchsaufbau .....	21
3.3.1	Potentiostat.....	21
3.3.2	Kathode .....	22
3.3.3	Anode .....	22
3.3.4	Temperierbecher mit Heizelement.....	22
3.4	Beschichtung der Titanplättchen .....	23
3.5	Verwendete Geräte zur Probenanalyse .....	24
3.5.1	Röntgendiffraktometer .....	24
3.5.2	Rasterelektronenmikroskopie und energiedispersive Röntgenspektroskopie.....	25
3.5.3	Massenspektroskopie .....	26
3.6	Einlagerung der Proben in verschiedenen Nährmedien .....	26
3.6.1	Auswahl der Proben für die Einlagerungsstudien .....	27
3.6.2	Simulated body fluid (SBF) .....	27
3.6.3	Fetales Kälberserum (FCS) .....	28
3.6.4	Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM).....	28
4	Ergebnisse .....	29
4.1	Einlagerung struvitbeschichteter Proben in SBF .....	29
4.1.1	Charakterisierung durch XRD.....	30
4.2	Einlagerung zink- und kupferdotierter Proben in SBF und FCS .....	32
4.2.1	Charakterisierung durch XRD.....	34
4.2.2	Charakterisierung durch ICP-MS .....	36
4.3	Einlagerung zink- und kupferdotierter Proben in DMEM .....	40
4.4	Charakterisierung durch REM und EDX.....	44
5	Diskussion.....	53
5.1	Beschichtungsdicke.....	53
5.2	Dotierung mit Kupfer .....	54
5.3	Dotierung mit Zink .....	55
5.4	Dotierung mit Kupfer und Zink.....	57
5.5	Klinische Relevanz und Zukunft der Implantatoberflächenmodifikation durch elektrochemische Beschichtung.....	58

## Einleitung

6	Zusammenfassung.....	60
7	Literaturverzeichnis .....	62

## Abkürzungsverzeichnis

CaMgCuZn/P	Calcium-Magnesium-Kupfer-Zink zu Phosphor-Verhältnis
Ca-Stammlösung	Calcium-Stammlösung
cp-Ti	commercially pure Titanium, Reintitan
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
FCS	Fetal Calf Serum, fötales Kälberserum
FMZ	Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde Würzburg
HA	Hydroxylapatit
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma
P-Stammlösung	Phosphat-Stammlösung
REM	Rasterelektronenmikroskop
St	Struvit
SBF	Simulated body fluid, simulierte Körperflüssigkeit
XRD	Röntgendiffraktometrie

### 1 Einleitung

Zahnverlust hat sowohl ästhetische als auch funktionelle Einschränkungen zur Folge. Gerade im sichtbaren Frontzahnbereich stellt eine Lücke für den Patienten eine gravierende Einschränkung hinsichtlich der Wirkung in der Öffentlichkeit dar [1, 2]. Aus medizinischer Sicht können jedoch auch andere Bereiche im Gebiss diverse Probleme implizieren. Fehlt beispielsweise ein Zahn im Bereich der Molaren, ist unter Umständen keine ausreichende Abstützung des Gegenkiefers mehr gewährleistet. Des Weiteren können distal gelegene Zähne eine Kippung in die Lücke vollziehen und somit auch zu einer Zahnfehlstellung führen [3]. Nicht zu unterschätzen ist auch die Tatsache, dass der zahnlose Kieferkamm einer fortschreitenden Atrophie des Knochens unterworfen ist. Diese Tatsache mag aus Sicht des Patienten keinerlei Beachtung finden. Eine Totalprothese findet jedoch nur auf dem Kieferkamm ihren Halt. Sollte dieser, speziell im Unterkiefer, aufgrund des fortschreitenden Knochenabbaus nicht oder nur noch geringfügig vorhanden sein, gibt es keine Möglichkeit mehr, den Tragekomfort für den Patienten zu verbessern [4].

Die klassische Versorgung von einem Lückengebiss stellt die Verwendung einer Brücke dar. Funktionelle und ästhetische Problematiken lassen sich somit unter bestimmten Voraussetzungen lösen. Hierfür bedarf es jedoch eigener Zähne vor und hinter der Lücke, welche als Brückenpfeiler fungieren können. Bei nicht ausreichend vorhanden Pfeilerzähnen, oder wenn diese vollkommen füllungs- und kariesfrei sind, ist die Verwendung von Implantaten nötig. Man kann auch vollkommen gesunde Zähne für eine Brückenkonstruktion präparieren, dies geht jedoch mit einem Substanzverlust des koronalen Anteils von teilweise über 70 % [5] einher. Implantate dienen als enossaler Anker, stellen die Verbindung zur intraoralen prothetischen Versorgung dar und wirken der Atrophie des Kieferknochens entgegen. Dabei können sie einzelne fehlende Zähne ersetzen, als Brückenpfeiler dienen oder dafür sorgen, dass Totalprothesen knöchern verankert sind und nicht durch Schleimhaut getragen werden müssen.

Vor dem Hintergrund dieser Gegebenheiten – besonders der prothetischen Versorgung – spielt in diesem Zusammenhang die Bedeutung von Titan oder/und

## Einleitung

dessen Beschichtung eine überaus große Rolle in der Medizin bzw. Zahnmedizin. Titan ist ein metallisches Element, welches als Reintitan bzw. als Legierung ein breites Anwendungsspektrum aufweist. Vor allem in der Medizin findet es aufgrund seiner exzellenten Biokompatibilität in Form von Implantaten Anwendung. Voraussetzung für eine erfolgreiche Einheilung stellt immer eine positive Reaktion des umliegenden Gewebes auf das eingebrachte Implantat dar [6]. Gelangt Titan in Kontakt mit Sauerstoff oder Körperflüssigkeit, bildet sich eine Oxidschicht aus, welche zur Korrosionsbeständigkeit beiträgt [7-9]. Gegenstand aktueller Forschungen besteht im Wesentlichen darin, sowohl die Einheilzeit [10] zu beschleunigen als auch das Risiko einer Periimplantitis herabzusetzen. Titan stellt eine gute Basis hinsichtlich der gewünschten Stabilität dar.

Die Struktur und Zusammensetzung der Implantatoberfläche [11-13] beeinflusst dabei die Interaktion mit dem umliegenden Hart- und Weichgewebe. Eine Oberflächenvergrößerung kann zum Beispiel durch Anrauen oder Anätzen [10, 14, 15] erreicht werden. So gelingt es, eine größere Fläche für den Implantat-Knochen-Kontakt zu generieren und somit die mechanische Verzahnung [16, 17] bei gleichbleibender Implantatlänge zu verbessern.

Während der Osseointegration von unbeschichteten Titanimplantaten kommt es dabei allerdings häufig zur Ausbildung einer nicht mineralisierten, dünnen bindegewebsartigen Schicht zwischen Implantatoberfläche und dem umliegenden Knochengewebe [18, 19], was in einer unvollständigen und unterbrochenen Kontaktfläche resultiert. Da der Halt des Implantats im Knochenlager zum größten Teil auf Haftreibung, resultierend aus der Oberflächenrauigkeit des Implantates, beruht, spiegelt sich eine solche bindegewebige Einkapselung auch in geringen Werten beim Ausdrehmoment wider.

Ein Ansatz zur Verbesserung besteht darin, die Implantate zu beschichten, um die mechanischen Eigenschaften von Titan mit den positiven Eigenschaften der aufgetragenen Schicht zu kombinieren. Zu den Anforderungen zählen Biokompatibilität [20], Förderung der Osseointegration [21, 22], keine oder geringe Ionenabgabe und Reduzierung von entzündlichen Prozessen [23] nach



## Einleitung

Einbringung eines Fremdkörpers in Form von Implantaten. Speziell soll dabei das Anwachsen von knochenbildenden Osteoblasten gegenüber fibroblastären Zellen begünstigt werden. Hierfür haben sich in vielen Untersuchungen Calciumphosphate und im Speziellen das Knochenmineral Hydroxylapatit aufgrund seiner osseokonduktiven Eigenschaft bewährt [24]. Eine solche bioaktive Beschichtung verbessert die knöcherne Verbindung zwischen Implantat und dem umgebenden Hartgewebe. Dies ist vor allem bei Implantation in porösen Knochenstrukturen, wie beispielsweise im Oberkiefer, von Vorteil. Rein mechanische Verankerung allein würde aufgrund der geringen Implantat-Knochen-Kontaktfläche dabei zu keiner ausreichend zufriedenstellenden Festigkeit führen. Eine bereits kommerziell genutzte Möglichkeit der Oberflächenbeschichtung stellt das Plasmaspritzverfahren dar. In einem Plasmabrenner wird dabei ionisiertes Gas mit einer Temperatur von bis zu 20.000 K erzeugt und das pulverförmige Schichtmaterial in den heißen Plasmastrahl eingeleitet. Die Partikel werden dabei oberflächlich aufgeschmolzen und erstarren auf der Implantatoberfläche in Form einer weitestgehend dichten Schicht mit einer Stärke von  $> 100 \mu\text{m}$ . Die hohe Aufprallgeschwindigkeit der Teilchen auf das zu beschichtende Objekt sorgt für einen relativ festen Verbund beider Materialien [25]. Dieses Verfahren ist ideal für eine homogene Beschichtung von glatten Oberflächen, da hinterschnittene Geometrien (etwa das Gewinde von Dentalimplantaten) nur bedingt beschichtet werden können, was eine verminderte Osseoinduktivität zur Folge haben kann [26]. Die Qualität der Beschichtung hängt von vielen Parametern ab, wie zum Beispiel dem Sprayabstand, der Gasflussrate und auch der Menge an zugeführtem Hydroxylapatitpulver pro Zeiteinheit [27]. Insgesamt gibt es um die 50 verschiedene Parameter [26], welche Einfluss auf die Beschichtung haben und somit die Einhaltung eines gleichbleibenden Standards erschweren. Weitere Nachteile ergeben sich durch eine partielle thermische Zersetzung des Hydroxylapatits während der Beschichtung, wobei die thermodynamisch stabileren Phasen Tetracalciumphosphat,  $\alpha$ -Tricalciumphosphat oder Calciumoxid gebildet werden. Diese sind aber in vivo löslicher als HA und können deshalb mit der Zeit zu einer partiellen, ungewollten Auflösung und Delamination

## Einleitung

der Schicht führen [28]. Zudem ist das Verfahren des Plasmasprühens auf hochtemperaturstabile Schichtwerkstoffe begrenzt und kann auf aktuell sich im Fokus der Entwicklung befindlichen hydratisierten Mineralphasen (z. B. Brushit,  $\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) nicht angewandt werden [29, 30].

Implantate lassen sich auch mit elektrochemischen Verfahren beschichten, wobei durch die geringe Beschichtungstemperatur ( $< 50\text{ °C}$ ) auch hydratisierte Kristallphasen abgeschieden werden können. Das Substrat wird hierzu als Kathode in den Elektrolyten eingebracht. Dieser ist sauer eingestellt und enthält Kationen wie Calcium oder Magnesium sowie Phosphate (3.2.2). Beim Anlegen einer Spannung kommt es an der Kathode zur Entladung von Wasserstoff und damit verbunden zu einem lokalen Anstieg des pH-Werts. Dies führt wiederum dazu, dass das Löslichkeitsprodukt verschiedener Calcium- oder Magnesiumphosphatphasen überschritten wird und diese sich an der Kathode abscheiden. Sind weitere Ionen im Elektrolyten enthalten, können diese ebenso in das sich bildende Schichtsystem einlagern. Im Gegensatz zum Plasmasprayen gibt es bei dieser Methode nur einige Parameter, welche verändert werden können. Es können sowohl die Konzentrationen der einzelnen Stoffe als auch deren Zusammensetzung in den Elektrolyten beeinflusst werden. Die Dicke und die Homogenität der generierten Schicht auf der Oberfläche kann hingegen durch die Temperatur des Elektrolyten, die Beschichtungszeit und der Stromstärke variieren [31, 32]. Wünschenswert ist das Erreichen einer dünnen und homogenen Schicht auf der Titanoberfläche. Mit Hilfe dieses Verfahren ist es möglich, auch sehr komplexe geometrische Oberflächen zu beschichten und kann damit die gestellten Anforderungen auch für Implantate mit Schraubengewinde erfüllen [33].

In den Knochen eingebrachte Implantate beinhalten ein gewisses Risiko, während der Einheilungsphase mit Bakterien besiedelt zu werden und in Folge der sich einstellenden Entzündung wieder explantiert werden zu müssen [21, 34, 35]. Eine Vielzahl von Strategien ist deshalb auf den Erhalt antimikrobieller Schichten gerichtet, etwa durch Immobilisierung von Antibiotika [23, 36, 37], elementarem Silber [21, 38] oder die Einlagerung von Kupferionen [39, 40] in das Kristallgitter der Mineralphasen. Gegenstand dieser Arbeit war dabei ein kürzlich

## Einleitung

entwickeltes Schichtsystem aus dem Magnesiumphosphat-Mineral Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) [41], welches mit Kupfer und Zink [40] modifiziert werden sollte. Beiden Elementen werden antimikrobielle Eigenschaften zugeschrieben, sodass sie einer potentiellen Biofilmbildung auf Implantaten entgegenwirken sollen. Struvit zeichnet sich durch eine gute Bioverträglichkeit und hohe Resorptionsrate in vivo aus [42-44]. Da es sich bei der Struvit-Matrix um ein relativ gut lösliches Mineral handelt [45], wurde die Hypothese aufgestellt, dass hierdurch die Freisetzung beider Ionen in nennenswerter Menge und Zeit stattfindet. Wünschenswert wäre eine kontinuierliche Freisetzung an Kupfer- und Zinkionen, damit diese möglichst lange die entzündungsfreie Osseointegration unterstützen können.

Im ersten Teil der Arbeit werden die idealen Parameter für Stoffmengenkonzentrationen (Kupfer, Zink und Struvit), Elektrolyttemperatur, Stromstärke und Dauer der Beschichtung ermittelt, um eine reproduzierbare homogene, mit Zink und Kupfer dotierte Struvitschicht auf der Oberfläche der Titanplättchen abzuscheiden. Der zweite Teil der Arbeit befasst sich mit dem Freisetzungsverhalten der beschichteten Probenkörper in physiologischen Nährmedien, wie etwa simulierter Körperflüssigkeit (SBF), durch fetales Kälberserum (FCS) modifiziertes Zellkulturmedium oder Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM). Die dabei in Lösung gegangenen Mengen an Kupfer- und Zinkionen wurden mit induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektroskopie (ICP-MS) ermittelt. Die Oberflächenmorphologie wurde raster-elektronenmikroskopisch untersucht, während die Phasenzusammensetzung durch Röntgendiffraktometrie (XRD) und die Elementzusammensetzung durch energiedispersive Röntgenanalyse (EDX) zugänglich war.

## 2 Kennntnisstand

Implantate im Knochenbereich sollten in erster Linie biokompatibel sein und als eine Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche Behandlung knöchern integriert werden. Darüber hinaus gibt es diverse Möglichkeiten, den Einheilungsprozess zu beschleunigen, bzw. zu verbessern. Vielversprechende Ansätze bestehen darin, die chemische sowie physikalische Oberflächentopographie zu verändern [6]. Eine höhere Stabilität kann durch Vergrößerung der Implantatoberfläche erreicht werden. Eine Rolle spielt es auch, ob Implantate beschichtet oder unbeschichtet verwendet werden. Im Vergleich zu den mit Hydroxylapatit beschichteten Probekörpern war in den ersten vier Tagen zum Beispiel eine höhere Anlagerungsrate der Osteoblasten an Edelstahl festzustellen [46].

### 2.1 Oberflächenmodifikation durch Sandstrahlen

Das Sandstrahlen dient der strukturellen Veränderung von Materialien (Oberflächenvergrößerung), der Reinigung oder der Aktivierung von Oberflächen unter Verwendung von Strahlmitteln. Diese können sowohl mineralische, synthetische als auch metallische Körner mit einer vieleckigen Form und scharfen Kanten sein. Häufig werden Aluminiumoxid-, Titanoxid- oder auch Calciumphosphatpartikel verwendet. Je nach verwendetem Material entstehen unterschiedliche Rauheitsgrade. Die Partikel werden mit Hilfe von Pressluft stark beschleunigt und treten durch eine feine Düse aus. Durch den Aufprall auf das Werkstück kommt es zu einer Umwandlung von kinetischer in thermischer Energie sowie zur Ausbildung einer mikroskopischen Schmelzzone und einer Störung im umgebenden Metallgefüge. Die Ausdehnung ist abhängig von dem bestrahlten Material, dem Strahlmittel und der Aufprallgeschwindigkeit. Unter Verwendung von  $\text{Al}_2\text{O}_3$  ( $v=200$  m/s,  $d=250$   $\mu\text{m}$ ) als Strahlmittel konnte rechnerisch eine freiwerdende Temperatur im Aufschlagsbereich von ca. 2000 K ermittelt werden [47]. Trotz intensiver Reinigung der Implantate im Anschluss an das Sandstrahlen, bleiben Anhaftungen oder sogar Einschlüsse der verwendeten Partikel zurück. Die Gefahr einer Freisetzung an die Umgebung ist hier gegeben.

Wennerberg et al. fand in einer histomorphologischen Untersuchung heraus, dass schraubenförmige Implantate, welche mit Aluminiumoxidpartikeln bestrahlt wurden, einen größeren Implantat-Kontakt zu Knochen aufwiesen [13, 48], als maschinell gedrehte. Die Gefahr beim Kugelstrahlen der Oberflächen mit beispielsweise Aluminiumoxid besteht allerdings darin, dass Partikel anhaften bleiben und dadurch eine veränderte chemische Struktur hervorgerufen wird [8, 49]. Eine qualitative Veränderung hinsichtlich der Korrosionsbeständigkeit konnte nicht ermittelt werden. Neben Aluminiumoxid kommt Titandioxid als Strahlmittel zum Einsatz. Im Vergleich zur maschinell bearbeiteten Oberfläche konnte bei sandgestrahlten Implantaten ebenfalls gezeigt werden, dass der Implantat-Knochen-Kontakt nach achtwöchiger Einheilung signifikant erhöht war [50]. Die besten Ergebnisse wurden mit einer Partikelgröße von 75 µm erzielt. Der Grad der Rauigkeit spielt eine entscheidende Rolle bei der Reaktion der Osteoblasten auf das eingebrachte Implantat. Je größer der Grad der Rauigkeit, desto besser die mechanische Fixation im Knochen sowie eine verbesserte Osseointegration [10, 51]. 1 - 2 µm Schichtdicke erscheinen hierbei als sinnvolle Größe, da mit zunehmender Oberflächenvergrößerung auch das Risiko einer Periimplantitis sowie einer erhöhten Ionenfreisetzung steigt. Wurde die Oberfläche mit Säure behandelt, so zeigten sich im Vergleich zu sandgestrahlten Implantaten keinerlei Unterschiede bezüglich der Einheilung im Knochen in den ersten 15 Monaten. Histologisch betrachtet ergab sich lediglich eine etwas größere Knochenanlagerung als bei den TPS-Implantaten (Titan-Plasma-Spray) [52, 53]. Beide Oberflächenbehandlungen erwiesen sich klinisch betrachtet als erfolgreich. Ein anschaulicher Parameter für die Stabilität des Implantates stellt das Drehmoment dar, welches nötig ist, ein bereits gesetztes Implantat nach einer bestimmten Zeit wieder zu entfernen. Buser et al. zeigten in ihrem Versuch, das nach 12 Wochen für maschinell bearbeitete glatte Oberflächen nur 0,15 bis 0,25 Nm nötig waren. Bei TPS- und den SLA-Implantaten (Sandblasting with large grit followed by acid etching) waren es hingegen 1.14 bis 1.54 Nm [17].

## 2.2 Hochtemperaturverfahren

### 2.2.1 Plasmaspritzverfahren

Eine andere weit verbreitete Möglichkeit, metallische Oberflächen zu beschichten, besteht in der Plasmaspritztechnik. Bei diesem Verfahren werden in einem Plasmabrenner sehr kleine keramische Partikel zum Schmelzen auf der Titanoberfläche gebracht und bilden somit eine ca. 30 µm dünne homogene Schicht mit einer Rauigkeit von durchschnittlich 7 µm auf der Oberfläche aus. Die Temperaturen, welche nötig sind, liegen in einem Bereich von 20.000 bis 30.000 °C. Die sogenannten TPS-Implantate weisen eine schnelle Osseointegration auf [10]. Ein Problem stellt jedoch die Ionenfreisetzung dar. So wurden metallische Bestandteile beispielsweise in Organen wie der Leber oder den Lymphknoten gefunden. Mit Hilfe dieses Verfahrens konnte die Verbundfestigkeit zwischen Knochen und Implantatoberfläche, aufgrund eines erhöhten Anteils an direktem Knochen-Implantat-Kontaktes, gesteigert werden [10, 54]. In Folge dessen war auch eine größere Extraktionskraft bei Explantationsversuchen nötig [17].

Insbesondere die für Implantateinheilung hervorragend geeignete Beschichtung mit Hydroxylapatit [55] ist damit möglich. Aufgrund der Hitzeeinwirkung während des Prozesses kommt es u. a. zu strukturellen Veränderungen des Hydroxylapatits. Dem kann durch Erwärmung der Implantate vor der eigentlichen Beschichtung entgegen gewirkt [56] und somit die teilweise Wiederherstellung der Mikrostruktur von Hydroxylapatit erzielt werden. Shujuan Dong et al. wählten in ihrer Untersuchung einen anderen Ansatz. Sie fügten dem Beschichtungsprozess Trockeneis hinzu und konnten somit ebenfalls eine höhere Kristallinität sowie Standfestigkeit erzielen [57]. Eine weitere wichtige Rolle hinsichtlich der Langzeitstabilität des Verbundes zwischen Titanoberfläche und dem Hydroxylapatit stellt die Oberflächentextur und damit die Porengröße dar. Die Stärke der Anheftung wird mit steigendem Porendurchmesser / Porenabstand – Verhältnis größer [58]. Die Einheilung von plasmabeschichteten Implantaten kann ebenfalls verbessert werden, indem man antimikrobiell wirkende Bestandteile wie Silberionen verwendet und so ein zytotoxisches

Umfeld nach Implantation generiert und das Risiko eines entzündungsbedingten Verlustes des Implantates minimiert [59].

### **2.2.2 Plasmaelektrolytische Oxidation**

Bei der plasmaelektrolytischen Oxidation (PEO) von metallischen Oberflächen handelt es sich um eine Kombination aus Elektrochemie und Plasmatechnik und dient der keramischen Beschichtung des Substrats. In einem Elektrolyten stellt das zu beschichtende Material die Anode dar. Wird nun Strom zwischen der Anode und der ebenfalls im Elektrolyten befindlichen Kathode angelegt, so findet eine chemisch induzierte Passivierung der Oberfläche des Metalls statt. Das elektrische Potential wird nun kontinuierlich erhöht. Wird die Durchschlagsspannung erreicht, kommt es an Stellen mit dem geringsten elektrischen Widerstand zu einem zeitlich begrenzten Plasmazustand, welcher als Funkenbildung wahrgenommen wird. Zwischen der Metalloberfläche und der Beschichtung entsteht ein keramischer Verbund.

Der Vorteil gegenüber der rein elektrochemischen Beschichtung besteht im Wesentlichen in der homogenen Beschichtung, ohne die Ausbildung von Rissen in der Schicht oder aber auch den Ausfransungen an den Rändern des Werkstückes [60]. Auch findet im Vergleich zum Plasmaspritzverfahren eine kontinuierliche Kühlung statt, da sich das zu beschichtende Material in einer wässrigen Lösung befindet. Des Weiteren ist es möglich, zusätzliche Stoffe, in Abhängigkeit von der Zusammensetzung des Elektrolyten, in die Schicht zu inkorporieren, wie beispielsweise Kupferionen. Eine dreiwöchige Einlagerung von PEO-beschichtetem cp-Ti Proben zeigte eine hervorragende Bildung an biomimetischen Apatit [61] Wheeler et al. untersuchten das mikromechanische Verhalten von Ti-6Al-4V-Implantaten, welche mit Hilfe von verschiedenen Elektrolyten und der PEO-Technik beschichtet worden waren. Es zeigte sich, dass der Widerstand gegen mechanische Einflüsse mit dieser Methode signifikant erhöht werden konnte [62].

### **2.2.3 Laserbasierte Verfahren**

Implantate besitzen bauartbedingt oftmals sehr dünne Wände. Findet nun das in 2.5 beschriebene Verfahren Anwendung, so besteht aufgrund der enormen Hitzeeinwirkung die Gefahr, dass neben der unerwünschten Phasenänderung von Hydroxylapatit auch das Metall einer plastischen Verformung unterzogen wird. Der Laser ist in der Lage, die benötigte Energie für den Aufschmelzprozess punktgenau abzugeben. Die auf das Implantat treffende Energie dringt somit nur in einem sehr geringen Maß in den Werkstoff ein. Die Keramik wird dabei in einer Vakuumkammer unter einem Argon-Fluorid-Schutzmantel aufgetragen. Im Vergleich zum Plasmaspritzverfahren entsteht ein stabilerer, länger anhaltender Verbund beider Materialien und damit eine höhere Korrosionsbeständigkeit [63, 64]. Betrachtet man die kommerzielle Nutzung von Beschichtungstechniken, so spielt die Zeit eine wesentliche Rolle, auch hinsichtlich der Produktionskosten. Mit einem Nd:YAG-Laser (532 nm, 30 J/cm<sup>2</sup>, 10<sup>-4</sup> Pa Vakuum) ist es möglich, innerhalb von 5 Minuten beispielsweise kleine Silikonsubstrate flächendeckend zu beschichten [65]. Die kristalline Phase des Hydroxylapatit blieb erhalten.

### **2.3 Vakuum-Verfahren**

#### **2.3.1 Chemical vapor deposition (CVD)**

Bei der chemischen Gasphasenabscheidung wird unter Verwendung eines Gases eine Oberflächenreaktion am zu beschichteten Material hervorgerufen. Der Ablauf wird in folgende Schritte unterteilt. Zunächst wird das gasförmige Material durch Konvektion zum Substrat transportiert und durch chemische Reaktionen an dessen Oberfläche aufgelagert. Anschließend diffundiert ein Produktteil in gasförmiger Form in die Umgebung, während der andere Teil in fester Form für das Schichtwachstum verantwortlich ist. Meistens finden mehrere Gase gemeinsam Anwendung, wodurch diese ebenfalls miteinander reagieren können. Je nach verwendetem Gas, ist auch eine unterschiedliche Temperatur und damit spezifischer Gasdruck für die Beschichtung nötig. Dem zu Folge kann man die CVD in verschiedene Arten gliedern: das LPCVD (low pressure), das APCVD (atmospheric pressure), das thermische CVD, das PACVD (photo assisted oder plasma activated/assisted), das PECVD (plasma enhanced), das



MOCVD (metal organic) sowie das Laser-, Elektronen- und Ionenstrahl-CVD. PECVD eignet sich beispielsweise für die Beschichtung von  $\text{Al}_2\text{O}_3$ -Implantaten mit  $\text{SiO}_2$ , welche ohne diese Schicht nicht für einen direkten Knochenkontakt geeignet wären [66, 67]. In einer anderen Studie wurden durch das CVD-Verfahren Titanimplantate mit Glykol-Methacrylat (GMA) beschichtet. Es konnte im Vergleich zur Kontrollgruppe eine höhere Proteinanlagerung, höhere Aktivität der Alkalischen Phosphatase sowie eine höhere Abscheidung an Calcium auf die Implantatoberfläche nachgewiesen werden [68].

### **2.3.2 Physical-vapor-deposition (PVD)**

Das Beschichtungsmaterial liegt bei diesem Verfahren in fester oder flüssiger Form in einer Vakuumkammer vor und wird dort in den gasförmigen Zustand überführt. Die Teilchen, welche sich in der Gasphase befinden, werden beschleunigt und scheiden sich auf der Substratoberfläche ab. Die physikalische Gasphasenabscheidung (PVD) kann in zwei Arten unterteilt werden: Beim Aufdampfen wird das Beschichtungsmaterial geschmolzen und der so entstandene Dampf schlägt sich auf der Oberfläche nieder. Dem gegenüber steht das Aufstäuben, auch Sputtern genannt. Das Beschichtungsmaterial liegt hier in fester Form vor und wird durch den Aufprall beschleunigter Gasteilchen zerstäubt. Die so herausgelösten Teilchen bilden eine Schicht auf der Substratoberfläche aus. Rahmati et al. haben durch physical vapor deposition magnetron sputtering (PVDMS) Ti-6Al-4V-Implantate mit  $\text{TaO}_2$  beschichtet und das Korrosionsverhalten in FCS untersucht. Im Vergleich zur unbeschichteten Kontrollgruppe konnte ein signifikant höherer Widerstand gegen Korrosion nachgewiesen werden [69].

## 2.4 Elektrochemisch gestützte Oberflächenmodifikationen

### 2.4.1 Anodische Oxidation der Titanoberfläche

Die anodische Oxidation beschreibt ein elektrochemisches additives Verfahren zur Herstellung von oxidischen Schichten auf passiven Metallen. Die Oxidschicht dient vorrangig dem Korrosionsschutz. Es besteht auch die Möglichkeit, Oberflächeneigenschaften wie beispielsweise die Kristallinität, die Porosität oder auch die chemische Zusammensetzung der Oxidschicht mit dieser Technik zu beeinflussen. Geeignete Lösungen werden durch Anlegen von Strom in ihre Bestandteile zersetzt, lagern sich als dünne Schicht auf der Anode ab und bilden eine Oxidschicht aus. Die Schichtdicke kann durch Höhe der angelegten Spannung, der Zusammensetzung des Elektrolyten, die Temperatur, als auch die Dauer der Beschichtung, gesteuert werden. Die anodische Oxidation von Titanimplantaten in starken Säuren ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{HNO}_3$  oder  $\text{H}_3\text{PO}_4$ ) dient der Ausbildung von Mikro-0 oder Nanostrukturen an der Oberfläche mit einer Schichtdicke von bis zu 1000 nm und einem Porendurchmesser von  $\leq 8 \mu\text{m}$  [70]. Die Osseokonduktivität wird drastisch erhöht und der Knochen-Implantat-Kontakt ist sogar größer als bei TPS-Implantaten [87]. In einer Studie konnte gezeigt werden, dass die Wahl der Elektrolyte eine wesentliche Rolle hinsichtlich der Bioaktivität der beschichteten Implantate spielt. Nach der anodischen Oxidation mit  $\text{H}_2\text{SO}_4$  und  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  und Einlagerung in SBF kam es zur Apatitformation an der Metalloberfläche. Bei der Verwendung von  $\text{CH}_3\text{COOH}$  oder  $\text{H}_3\text{PO}_4$  hingegen blieb dieser Vorgang aus [71]. Histologische Untersuchungen zeigten nach Insertion im Knochen einen prozentual größeren Knochen-Implantat-Kontakt bei anodisch oxidierten Implantaten als bei rein maschinell bearbeiteten [72].

#### **2.4.2 Elektrochemisch gestützte Abscheidung**

Die homogene Beschichtung komplexer Oberflächen von Titanimplantaten mit ihrem Gewinde, makro- und mikroskopischen Strukturen, - hinsichtlich der Verteilung und der Dicke der aufzubringenden Stoffe – stellt sich als kompliziert dar.

Ein etabliertes Verfahren besteht hierbei in der elektrochemischen Beschichtungstechnik. Dabei befinden sich in einem Elektrolyten der zu beschichtende Gegenstand, der mit Hilfe von Strom beschichtet wird. Aufgrund der relativ geringen Temperatur können Bestandteile, welche die Knochenneubildung fördern, eingebracht werden, ohne dass diese, im Vergleich zu einem hitzeintensiven Verfahren, ihre Zusammensetzung und chemische Struktur verändern und damit einhergehend eventuell ihre Wirksamkeit verlieren würden. Implantate, welche bei Raumtemperatur mit Hydroxylapatit durch dieses Verfahren beschichtet wurden, wiesen sogar eine höhere Abriebfestigkeit der Beschichtung auf, als jene, welche mit höherer Temperatur behandelt worden waren [73]. Des Weiteren konnte in der Untersuchung von Kuo et al. eine dichte innere Schicht mit rauer Oberflächenbeschaffenheit nachgewiesen werden.

#### **2.4.3 Elektrophoretische Abscheidung von Schichten**

Dieses Verfahren ermöglicht die Beschichtung von Oberflächen mit Hilfe von geladenen Partikeln, welche sich in einem elektrischen Feld in einer Flüssigkeit in Richtung der Kathode bewegen und dort eine homogene Schicht ausbilden. Analog zur elektrochemisch gestützten Abscheidung handelt es sich hierbei um die gleichen Mechanismen, jedoch gehen die Partikel hier nicht in Lösung. Zur Anwendung kommen gewöhnlich Puder mit einer Korngröße kleiner als 30 µm [74]. Ein wesentlicher Vorteil ist die Möglichkeit, verschiedene Werkstoffe zu verwenden und auch miteinander zu kombinieren. Dabei ist die benötigte Infrastruktur kosteneffektiv. Es können Produkte in einem Bereich von wenigen Mikrometern bis hin zu Metern beschichtet werden [75]. Elektrophoretische Abscheidung findet in vielen Bereichen der Naturwissenschaften ihre Anwendung, u. a. in der Materialforschung, Biologie oder auch Biochemie.

#### **2.4.4 Zink dotierte Oberflächenbeschichtung**

Zink stellt ein wichtiges Spurenelement im menschlichen Körper dar. Beschichtete Implantate sind biokompatibel, jedoch nicht in der Lage, die Knochenneubildung sowie Knochenresorption zu unterstützen bzw. zu unterbinden. In einer Studie wurden mit Zink dotierte beschichtete Implantate in einem Tierversuch verwendet. Bei einer Konzentration an Zink von 0,316 Gew.% zeigte sich ein Anstieg an Knochenneubildung im Vergleich zur Kontrollgruppe [76]. Eine auf dieser Erkenntnis basierende Langzeitstudie über 60 Wochen kam jedoch zu dem Ergebnis, dass auch eine Knochenresorption stattfindet. Es wurde empfohlen, die Zinkkonzentration zu senken, oder darauf zu achten, dass das Implantat keinen ausgedehnten Kontakt zum Knochenmark aufweist [77]. Bei einem mit Zink dotierten Calciumsulfatzement war unter Verwendung von 0.74 Gew.% ein Anstieg der Zellaktivität zu erkennen [78]. Es findet eine Erhöhung der Alkalischen Phosphatase im Zusammenhang mit der DNA-Synthese statt, wodurch die Knochenneubildung angeregt wird [79, 80]. Eine Formierung von Osteoklasten wird mit Hilfe von Zink unterbunden und verhindert damit den Knochenabbau [81, 82].

#### **2.4.5 Oberflächenbeschichtung mit Struvit und Magnesium**

In dieser Studie wurden alle Implantate mit Struvit (Ammoniummagnesiumphosphat) beschichtet. Diese Beschichtung dient als Ausgangspunkt und Platzhalter für die Knochenneubildung an der Grenzschicht zum Implantat.

Es kommt zu einer verstärkten Anlagerung der Osteoblasten im Vergleich zu unbeschichteten Implantaten [83]. Eine optimale Osseointegration ist damit gewährleistet. Magnesium, als Bestandteil von Struvit, stellt eine weitere wichtige Komponente dar. Die Konzentration im neu gebildeten Dentin beträgt 0,1 - 5 % [84]. Es dient als Cofaktor für die Enzymaktivierung, z. B. der Alkalischen Phosphatase. Unklar bleibt jedoch, inwieweit Magnesium eine aktive Rolle während der einzelnen Phasen, von der Kristallisation bis zur Knochenneubildung spielt [84]. Vergleicht man den Anteil an Magnesium im Knochen über die gesamte Lebenszeit, so ist festzustellen, dass dieser sich nicht wesentlich verändert [85]. Ein Mangel an Magnesium führt zu einer

Volumenabnahme an Knochen trabekel und einer verminderten Mineralisation in der Metaphyse [86]. Außerdem nahm die Bruchfestigkeit ab.

### **2.5 Antibakterielle Wirkung**

#### **2.5.1 Biokompatibilität**

Nach D. F. Williams [87] lautet die offizielle Definition in Abhängigkeit von der Implantatanwendung, speziell für Langzeitimplantate, wie folgt:

„Die Biokompatibilität eines Medizinproduktes für die Langzeitanwendung bezieht sich auf die Fähigkeit des Produktes die vorgesehene Funktion mit dem erwünschten Grad der Integration in den Organismus auszuführen, ohne in diesem jegliche unerwünschten lokalen oder systemischen Effekte auszulösen.“

Dies bedeutet, dass ein bestimmtes Material für ein bestimmtes Anwendungsgebiet biokompatibel sein kann, auch in Hinblick auf das dem Werkstoff umgebenden Gewebe, aber an anderer Stelle hingegen nicht mehr biokompatibel sein kann. Labortechnische einheitliche objektive Beurteilungen sind nicht vorhanden, es kann lediglich die Zytotoxizität sowie die Proliferation der zu untersuchenden Zelllinien beurteilt werden. In der DIN EN ISO 10993 (2006-2010) ist festgelegt, welche Untersuchungen durchgeführt werden müssen, um die Biokompatibilität eines Medizinproduktes zu testen.

Eine weitere Unterteilung in biotolerant, bioinert und bioaktiv findet man bei Implantaten, welche in direkten Knochenkontakt stehen. Unter Biotoleranz versteht man die Einheilung eines Implantates ohne direkten Knochenkontakt. Hier findet eine Abkapselung durch Weichgewebe statt, es handelt sich um eine Distanzosteogenese. Wird das Implantat durch den Körper als nicht mehr körperfremd eingestuft und es finden sich punktförmige Kontaktflächen, so handelt es sich um einen bioinerten Werkstoff und einer Kontaktosteogenese [88].

### **2.5.2 Antimikrobielle Beschichtungen**

Die Implantation sowie der Heilungsverlauf erfordern eine keimarme Umgebung, damit es nicht zu Entzündungen kommt. Dies hätte zur Folge, dass das Implantat wieder entfernt werden müsste. Ein wesentlicher Ansatz besteht nun darin, durch eine antibakterielle Beschichtung dieses zu verhindern.

Silberionen erwiesen sich als bakterizid gegen *S. epidermidis* sowie *S. aureus* und ließen dennoch ein uneingeschränktes Wachstum der Osteoblasten zu [89]. Dies fördert eine bessere Einheilung im Knochen. Ein weiterer interessanter Ansatz besteht darin, antibiotische wirkende Stoffe schon während des Beschichtungsvorgangs hinzuzufügen. Durch den Einschluss in eine Calciumhydroxidschicht besteht die Möglichkeit einer kontinuierlichen Abgabe des Medikamentes in der Einheilungsphase. Dabei zeigte sich im Tierversuch eine zwanzigprozentig höhere Konzentration nach drei Wochen, als klinisch notwendig gewesen wäre. Allerdings sollte die maximale Konzentration an Antibiotika fünf Prozent nicht überschreiten, da sonst die Osseointegration gehemmt werden könnte [90]. In der Endodontie wird ebenfalls Calciumhydroxid als medikamentöse Einlage im Wurzelkanal verwendet. Der damit einhergehende hohe pH-Wert sorgt für eine antiinflammatorische Umgebung u. a. gegen *E. faecalis* [32, 91]. In dieser Arbeit wurden Zink und Kupfer-Ionen verwendet. Eine Freisetzung dieser Stoffe führt zu einer signifikanten Reduktion jeglicher Mikroorganismen. Hervorzuheben ist auch hier die antibakterielle Wirkung gegen pathogene Keime, wie z. B. *E. coli*, *S. mutans* und *C. albicans* [92, 93].

## **2.6 Titan als Biomaterial**

### **2.6.1 Werkstoff Titan**

1791 entdeckte der Engländer William Gregor Titan im Ilmenit (Titaneisenerz). Vier Jahre später gab der deutsche Chemiker Heinrich Klaproth dem Element den bis heute gültigen Namen Titan [94]. In der Elementhäufigkeit, bezüglich des Vorkommens auf der Erde, nimmt Titan Platz 10 ein. Überwiegend ist es jedoch nur in geringer Konzentration zu finden und dann auch nur als Oxid in Verbindung

mit Sauerstoff. Die Herstellung von reinem Titan beinhaltet einen aufwendigen Prozess und führt somit zu einem relativ hohen Marktpreis für diesen Werkstoff. Dabei wird zunächst mit Titandioxid angereicherter Ilmenit oder Rutil mit Hilfe von Chlor zu Titan-tetrachlorid unter Hitzeeinwirkung umgewandelt. Die anschließende Zugabe von flüssigem Magnesium führt in einem Reduktionsprozess zu reinem Titan. Werden jedoch Titanlegierungen benötigt, wie sie auch in der Zahnmedizin zum Einsatz kommen, muss Titan in einem Vakuum-Lichtbogenofen eingeschmolzen werden.

Titan besitzt unterhalb von 882 °C ein hexagonales Gitter (Alpha-Titan), darüber hinaus liegt es als Beta-Titan vor und beinhaltet eine kubisch raumzentrierte Anordnung. Die Schmelztemperatur liegt bei 1675 °C und ist damit höher als die von Stahl. Auch sein spezifisches Gewicht von 4,51g/cm<sup>3</sup> beträgt annähernd die Hälfte von Stahl. Die Zugfestigkeit hängt von der Legierung ab und liegt im Bereich von 300 bis 1150 N/mm<sup>2</sup> [94, 95]. Des Weiteren besitzt Titan eine ausgezeichnete Widerstandsfähigkeit gegenüber Korrosion durch Seewasser oder organischen Säuren und ist im Gegensatz zu anderen Metallen nicht magnetisch. Diese herausragenden Eigenschaften sind sowohl in großen industriell gefertigten Produkten, wie beispielsweise Flugzeugen, als auch bei kleineren, wie dentalen Implantaten, von großem Nutzen. Das 1966 in Dienst gestellte Aufklärungsflugzeug SR-71 Blackbird der USA flog mit Mach 3 in über 25 Kilometer Höhe. Dabei kam es zu einer extremen Hitzeeinwirkung auf die Flugzeugzelle. Titan besitzt einen eher geringen Ausdehnungskoeffizienten von  $9 \times 10^{-6}/K$ . Aus diesem Grund bestand die SR-71 zu über 90 % aus Titan [96].

### **2.6.2 Titan-Legierungen**

Eine Legierung ist ein Gemenge, bestehend aus zwei oder mehreren chemischen Elementen, wobei eines davon ein Metall sein muss. Das mengenmäßig den größten Anteil beitragende Element wird als Basismetall bezeichnet. Die restlichen Bestandteile stellen die Legierungselemente dar. Bei Titan sind diese im Wesentlichen Aluminium, Vanadium, Zinn, Molybdän, Zirkonium und Eisen. Legierungen mit Aluminium und Vanadium, wie sie auch in der Medizintechnik zu finden sind, erreichen eine ähnliche Festigkeit wie

vergütete Stähle. Im Flugzeugbau werden Eigenschaften wie beispielsweise geringe Dichte sowie eine hohe Temperaturbeständigkeit gefordert. Dies lässt sich durch hochlegierte Titanlegierungen mit Aluminium erreichen. Ein Hinzufügen von circa 0,2 % Edelmetallen (Platin, Palladium, Rhodium, Ruthenium) sowie Nickel, Molybdän, Zirconium oder Tantal erhöht die Korrosionsbeständigkeit von Titan [97].

### **2.6.3 Dentale Legierungen**

Reines Titan, auch als cp-Ti (commercially pure) kann je nach Verunreinigung mit Kohlenstoff, Eisen oder Sauerstoff in Titangrade 1 - 4 eingeteilt werden, wobei Grad 1 die reinste Form darstellt [88]. Dabei liegt der Elastizitätsmodul bei 90 - 100 GPa und die 0,2 % Dehngrenze bei 420 - 440 MPa, je nach Reinheitsgrad. Weit verbreitet ist die Verwendung von Ti-6Al-4V. Die Zusammensetzung in Gew.% stellt sich wie folgt dar: Ti (89,15 - 90,40); Al (5,5 - 6,75); V (3,5 - 4,5); C (0,08); N (0,05); O (0,20); Fe (0,25); H (0,0125) [98].

Der industriell gefertigte Marktanteil liegt hier bei über 50 % aller hergestellten Legierungen, welche im medizinischen Bereich ihre Anwendung finden. Ti-6Al-4V besitzt eine 0,2 % Dehngrenze von 840 MPa und der E-Modul liegt bei 110 GPa [94]. Im Vergleich zu cp-Ti ermöglicht die fast doppelt so hohe Dehngrenze die Herstellung grazilerer Werkstoffe, sei es in Form von Implantaten oder als Klammern bei Teilprothesen. Kritisch hingegen ist das Vanadium zu betrachten. Es steht im Verdacht, sich zytotoxisch auf Zellen auszuwirken. Cortizo et al. [99] konnten in ihrem Experiment zeigen, dass Vanadium in Osteoblasten- sowie Osteosarkomzelllinien zur Produktion von freien Radikalen und Zytotoxizität führt. Eine Alternative zu dieser potentiell toxischen Legierung findet sich in Ti-6Al-7Nb. Hier wurde Vanadium durch das Element Niob ausgetauscht. Dieses besitzt ebenfalls sehr gute mechanische Eigenschaften, ohne dabei negativ auf Osteoblasten zu wirken. Der E-Modul liegt hier bei 112 GPa und die 0,2 % Dehngrenze bei 880 MPa [94]. Die Werte sind sogar noch etwas größer als bei Ti-6Al-4V. Auch das Korrosionspotenzial ist gegenüber der zuerst genannten Legierung geringer. Aufwändiger ist jedoch die maschinelle Bearbeitung dieses Werkstoffes, was sich in einem höheren Preis niederschlägt [88]. Viele auf dem



## Kenntnisstand

Markt erhältliche Implantate sind Titanlegierung und beinhalten potentiell gefährliche Stoffe wie Aluminium oder Vanadium. Am Korea Institute of Science wurde im Labor eine neue Verbindung entwickelt, welche frei von den o. g. Elementen ist. Ti-In-Nb-Ta wies eine verbesserte Korrosionsbeständigkeit, Biokompatibilität und bessere mechanische Stabilität auf als CpTi oder die Titanlegierung Ti-6Al-4V [100]. In SBF ausgelagerte Proben führten zur Bildung von Hydroxylapatit an der Oberfläche. Dies beweist die Bioaktivität dieser Legierung.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Probenkörper aus Titan

Für die Versuchsreihen wurden kreisförmige Plättchen aus Titan verwendet. Diese stellte die Firma KLS Martin GmbH & Co KG her. Nach dem Ausstanzen fand ein Gleitschleifen für 30 Minuten in einer Fliehkraftanlage statt. Anschließend wurde die Oberfläche mit  $\text{Al}_2\text{O}_3$  für 9 Minuten und 3 bar Strahldruck bearbeitet. Der Radius betrug im Mittel 0,5 cm. Somit ergab sich eine zu beschichtende Fläche von  $0,78 \text{ cm}^2$ . Die Massen der einzelnen Titanplättchen variierten zwischen 678,9 mg und 695,1 mg im unbeschichteten Zustand. Die für den Versuchstag jeweils benötigten Titanplättchen wurden in einem Becherglas zusammen mit einer 5%igen Lösung Extran® (Merck Millipore Corp.) gegeben und für 10 Minuten im Ultraschallbad behandelt. Dieses wurde im Anschluss zweimal mit Reinstwasser wiederholt.

#### 3.2 Elektrolyte

##### 3.2.1 Kupfer-(II)-nitrat-Trihydrat- und Zinknitrat-Hexahydrat-Lösung

Die verwendeten Massen sowohl von Kupfer als auch von Zink waren so gering, dass es nicht möglich war, diese genauestens abzumessen. Somit wurde jeweils eine Stammlösung hergestellt, aus der dann die entsprechenden Mengen in den Basiselektrolyten pipettiert wurden. Bei Kupfer wurden 2,42 Gramm in einem Erlenmeyerkolben gegeben, mit Reinstwasser auf ein Liter aufgefüllt und für eine Stunde gerührt. Die Masse an Zink betrug 2,975 Gramm.

##### 3.2.2 Basiselektrolyt

In den ersten 71 Versuchsreihen wurden die Titanplättchen mit Struvit beschichtet. Es wurde nach optimalen Parametern gesucht, um eine möglichst homogene und dünne Beschichtung zu erreichen. Für die Herstellung des dafür benötigten Elektrolyten wurde ein Erlenmeyerkolben mit einem Volumen von 1 Liter verwendet. Der Basiselektrolyt setzte sich wie folgt zusammen:

Tab. 1: Verwendete Bestandteile zur Herstellung des Basiselektrolyten

Chemisches Produkt	Chemische Formel	Konzentration
Ammoniumdihydrogenphosphat (Merck)	$(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$	33 mmol/l (3,827 g/l)
Salpetersäure (Merck)	$\text{HNO}_3$	95 mmol/l (6,6 ml/l)
Magnesiumoxid (Merck)	$\text{MgO}$	50 mmol/l (2,015 g/l)

### 3.2.3 Kupfer(II)-nitrat-Trihydrat- und Zinknitrat-Hexahydrat-Elektrolyt

In den Versuchsreihen wurden Kupfer(II)-nitrat-Trihydrat (Sigma-Aldrich) und/oder Zinknitrat-Hexahydrat (Fluka) in unterschiedlichen Konzentrationen hinzugefügt, welche aus den zuvor hergestellten Lösungen mit Hilfe einer Pipette entnommen wurden. Die Volumina betragen je nach Versuch zwischen 0,1 und 100 Milliliter. Anschließend wurde mit Reinstwasser aufgefüllt. Mit Hilfe eines Magnetrührers wurden alle Bestandteile für die Dauer von einer Stunde miteinander vermischt.

### 3.2.4 pH-Messung

Standardmäßig wurden alle Elektrolyte nach ihrer Herstellung auf ihren pH-Wert hin überprüft. Das Messgerät (WTW inoLab Level 1) wurde vor jeder Messung mit Hilfe von Eichlösungen (pH 4 und pH 7) geeicht. Bei allen Versuchsreihen lagen die gemessenen Werte zwischen pH 2,79 und pH 3,407.

## 3.3 Versuchsaufbau

### 3.3.1 Potentiostat

Am Potentiostat (Bank-IC LPG03) wurde die gewünschte Stromstärke und Spannung eingestellt. Diese Parameter konnten durch das Gerät über den gesamten Zeitraum der Beschichtung konstant gehalten werden, obwohl sich mit zunehmender Schichtdicke auf der Oberfläche der Titanplättchen auch der Widerstand in der galvanischen Zelle änderte. Der Stromfluss konnte durch den Pulsgenerator (Arduino) in frei wählbaren Intervallen für eine vorgegebene Zeit unterbrochen werden. Es wurden verschiedenen Stromstärken eingestellt, um die

optimalen Werte zu ermitteln, welche eine gleichmäßige Beschichtungsoberfläche ergaben.

### **3.3.2 Kathode**

Die Kathode diente als Probenhalter, welcher insgesamt 4 Titanplättchen aufnehmen konnte. Der Halter wurde in der FMZ Würzburg hergestellt. Er besteht aus einem Metallstab, an dessen Ende sich ein Block aus Silikon befand, in welchem vier Gewinde eingelassen waren. Dort konnten die Titanplättchen, welche sich in einem Halter aus Kunststoff befanden, aufgeschraubt werden. Somit war eine Beschichtung von 4 Proben gleichzeitig möglich. Alle vier Titanplättchen besaßen im Durchschnitt eine Gesamtoberfläche von  $3,14 \text{ cm}^2$ , welche für die Beschichtung genutzt werden konnte.

### **3.3.3 Anode**

Als Anode wurde ein Platinnetz benutzt. Dieses war kreisförmig um den zentral gelegenen Probenhalter angeordnet. Somit bestand zwischen jeder der vier Proben und dem Platinnetz der gleiche Abstand.

### **3.3.4 Temperierbecher mit Heizelement**

Der Temperierbecher hatte einen doppelwandigen Aufbau. Zwischen der inneren und äußeren Wand wurde erhitztes Wasser entlangeleitet und damit auch der Elektrolyt erhitzt. Der Wasserkreislauf war über Schläuche mit einem Heizelement (Thermo Haake) verbunden. Nach Erreichen der gewünschten Temperatur wurde der Probenhalter mit den Titanplättchen in den Elektrolyten hineingelassen. Des Weiteren war während der Beschichtung ein Magnetrührgerät (Janke & Kunkel IKA-Combimag RCO) eingeschaltet. Somit wurde eine gleichmäßige Durchmischung des Elektrolyten während der Beschichtung gewährleistet.

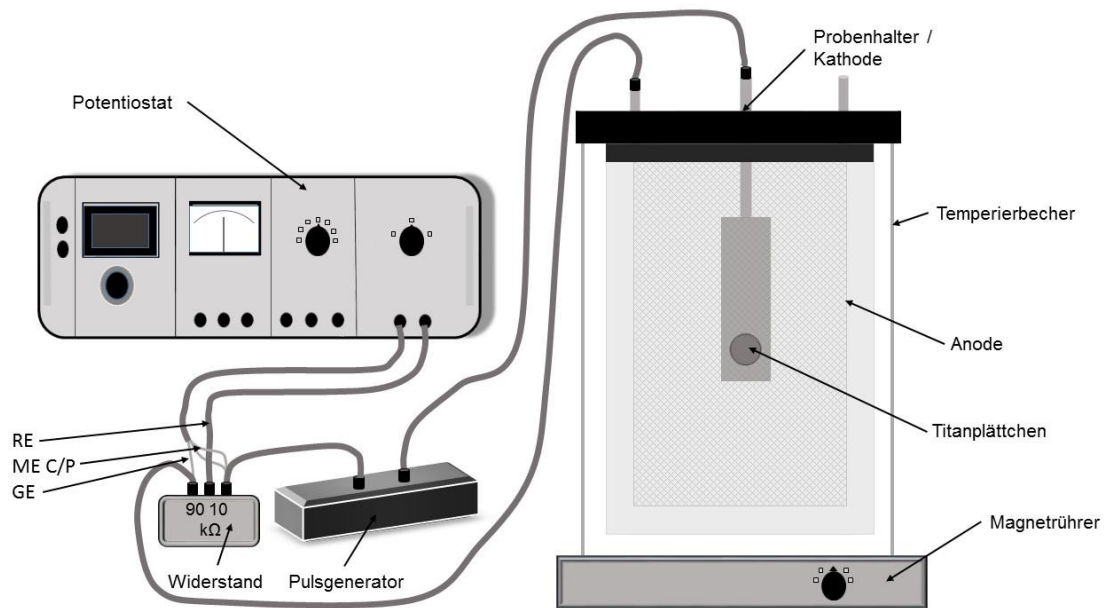


Abb. 1: Technischer Aufbau zur Beschichtung von bis zu vier Titanplättchen gleichzeitig mit Hilfe eines Potentiostaten, eines Pulsgenerators, eines Magnetrührers sowie eines Temperierbechers mit Probenhalter und darin befindlichen Elektrolyten.  
(RE: Referenzelektrode, ME: Messelektrode, GE: Gegenelektrode)

### 3.4 Beschichtung der Titanplättchen

Die Titanplättchen wurden nach der Reinigung und der Trocknung gewogen. Jeweils 4 Plättchen wurden am Probenhalter befestigt. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Probenkörper ausschließlich mit Hilfe einer Pinzette gefasst wurden, um Verunreinigungen nach Möglichkeit so gering wie möglich zu halten. Im Temperierbecher wurden 400 ml des Elektrolyten eingefüllt. Neben den unterschiedlichen Konzentrationen an Zink und Kupfer im jeweiligen Elektrolyten wurden auch folgende Parameter variiert:

- Stromstärke
- Temperatur des Elektrolyten
- Pulsfrequenz
- Beschichtungsdauer

Nach dem Beschichtungsvorgang wurden die Proben aus dem Elektrolyten entfernt. Da sich noch Reste von Flüssigkeit auf den Proben befanden, wurden diese mit destilliertem Wasser abgespült, damit sich die Beschichtungen nicht von den Titanplättchen wieder lösen konnten. Anschließend wurden die Proben getrocknet und erneut gewogen, um die Masse der Schicht zu ermitteln.

### **3.5 Verwendete Geräte zur Probenanalyse**

#### **3.5.1 Röntgendiffraktometer**

Das Röntgendiffraktometer (XRD) D5005 (Siemens) ist in der Lage, mit Hilfe von Röntgenstrahlen an Pulvern und polykristallinen Schichten eine Strukturanalyse dünn beschichteter Oberflächen sowie eine qualitative und quantitative Phasenanalyse durchzuführen. Zwischen der Glühkathode und der Anode werden die Elektronen mit Hilfe von angelegter Hochspannung beschleunigt. Beim Auftreffen auf die Kathode wird Röntgenstrahlung erzeugt, die nach dem Durchtritt durch die Blende auf die Oberfläche der Probe trifft. Die Anode besteht aus Kupfer. Des Weiteren ist dem Detektor ein Filter aus Nickel vorgeschaltet. Bei den Messungen wurde eine Spannung von 40 kV sowie eine Stromstärke von 50 mA verwendet. Die einfallenden Strahlen werden an den Atomen im Gitternetz des zu untersuchenden Stoffes unterschiedlich gebeugt. Die Reflexionen der Strahlen ergeben ein materialspezifisches Muster. Das Verfahren erlaubt somit eine exakte Bestimmung der in der Probe enthaltenen kristallinen Stoffe. Mit Hilfe einer Auswertungssoftware konnten die Peaks graphisch dargestellt werden. Die Röntgenröhre führt keine Bewegung aus. Der Probenhalter dreht sich entgegengesetzt dem Uhrzeigersinn, ebenso der Detektor, jedoch mit doppelter Geschwindigkeit. Somit ist gewährleistet, dass die reflektierten Röntgenstrahlen erfasst werden (Einfallswinkel = Ausfallswinkel). Die Probe wurde mit Hilfe von Knetmasse auf dem Halter aus Kunststoff in einer Vertiefung in der Mitte fixiert. Gemessen wurde von 10° bis 50°, in 0,02° Schritten und mit 1,5 Sekunden je Schritt. Eine komplette Messung dauerte 50 Minuten. Bei der Auswertung der gewonnenen Daten wurde nach synthetischem Struvit (PDF-Nr.: 00-015-0762), Struvit (PDF-Nr.: 00-003-0240) und Titan (PDF-Nr.: 00-001-1197) gesucht. Aufgrund des geringen Gehalts an Zink- und Calcium-Ionen,

waren hier keine eigenständigen Kristallphasen zu erwarten, allenfalls hätten sich bei deren Einlagerung in das Kristallgitter von Struvit dessen Gitterparameter ändern können.

### **3.5.2 Rasterelektronenmikroskopie und energiedispersive Röntgenspektroskopie**

Zur weiteren Analyse wurde ein Crossbeam 340 der Firma Zeiss verwendet. Bei der Rasterelektronenmikroskopie wird mittels einer Wolfram-Glühkathode ein gebündelter Primärelektronenstrahl erzeugt, welcher die Oberfläche der Probe abtastet. Eine bis zu 100.000fache Vergrößerung des zu untersuchenden Objektes ist dabei möglich. Die Elektronen werden zur Anode hin beschleunigt. Ein XY-Ablensystem erzeugt dabei ein sogenanntes Zeilenraster. Die durch diesen Elektronenbeschuss aus der Probe herausgeschleuderten, energiearmen Sekundärelektronen werden durch den Sekundärelektronendetektor registriert. Die so generierten Impulse erzeugen nach Passage eines Verstärkersystems (Szintillator und Photomultiplier) ein Zeilenbild des ursprünglichen Objekts auf einem Monitor. Die Strahlspannung des Primärstrahls wird relativ niedrig gewählt. Dadurch kann die Eindringtiefe des Primärstrahls begrenzt werden und ermöglicht so die Gewinnung von Oberflächenelektronen. Eine elektrostatische Aufladung der Objekte kann durch bedampfen mit einer leitenden Metallschicht verhindert werden. Die einzelnen Objektpunkte und deren Anzahl sind maßgebend für den Bildkontrast. Dieser wird durch die Anzahl der Sekundärelektronen, welche den Detektor erreichen, bestimmt. Dabei ist die Neigung der Objektoberfläche zum Detektor ausschlaggebend (Neigungskontrast) [101, 102].

Bei der energiedispersiven Röntgenspektroskopie werden Elektronen auf die Probe geschossen. Dabei wird ein Elektron aus einer der inneren Schalen herausgeschlagen (Tiefenionisation). Da dieser Zustand instabil ist, wird die entstandene Lücke sofort durch ein neues energiereiches Elektron aus einem höheren Orbital aufgefüllt. Die Energiedifferenz wird in Form eines Röntgenquants frei. Es entsteht eine charakteristische Röntgenstrahlung, welche elementspezifisch ist und mittels Halbleiterdetektor energiedispersiv (EDX)

analysiert wird [103]. Die Höhe der Konzentration des jeweiligen Elements spiegelt sich in der Höhe der Peaks wider. Die einzelnen Bestandteile der Beschichtung sowie deren gewichtsprozentualer Anteil an der Gesamtmasse konnten ermittelt werden. Die Software des Gerätes war ebenfalls in der Lage, eine Verteilung der Elemente zu zeigen und diese farblich voneinander abzugrenzen.

### **3.5.3 Massenspektroskopie**

Bei dem ICP-MS (inductively coupled plasma mass spectrometry) handelt es sich um ein Verfahren zur elementaren Analyse von Flüssigkeiten. Während der Einlagerungsstudie fand ein täglicher Mediumwechsel statt. Die Flüssigkeiten wurden anschließend im ICP-MS chemisch analysiert. Dabei wurde nach Magnesium, Phosphat, Kupfer und Zink gesucht. Die Beschichtung wurde mit  $\text{HNO}_3$  (65 %, Suprapur, Merck) von den Titanplättchen abgelöst und anschließend mit Blank (5 %ige  $\text{HNO}_3$  Lösung) verdünnt. Eine Rollenpumpe beförderte die zu untersuchende Flüssigkeit über einen Schlauch in das Gerät. Dort wurde Argon ionisiert und zusammen mit der fein zerstäubten und ebenfalls ionisierten Probe durch ein elektrisches Feld auf den Detektor beschleunigt. Die Ionen wurden gezählt und man erhielt die Konzentrationen der einzelnen Elemente in Form von ppb (parts per billion) über den Vergleich mit einer definiert konzentrierten Standardlösung. Diese Analysemethode wurde zu Beginn, bei jedem Mediumwechsel und am Ende der Einlagerungsversuche angewendet. Es wurden die Konzentrationen von Magnesium, Phosphat, Kupfer und Zink ausgewertet.

### **3.6 Einlagerung der Proben in verschiedenen Nährmedien**

Die Oberfläche von eingesetzten Implantaten im menschlichen Knochen ist einer stetigen Veränderung unterworfen. Es finden Lösungs- und Auflagerungsprozesse statt. Ziel der Versuchsreihen war es, festzustellen, wie sich die beschichtete Oberfläche der Titanplättchen verhalten würde. Dazu dienten *in vitro* Studien in drei verschiedenen Nährmedien.



### 3.6.1 Auswahl der Proben für die Einlagerungsstudien

Als erstes wurden alle Titanplättchen gleichmäßig und dünn beschichtet. Es gab drei unterschiedlich beschichtete Proben: Kupfer- und Zink-Ionen, nur Kupfer-Ionen sowie nur Zink-Ionen. Im Anschluss wurden die Plättchen im EDX hinsichtlich ihres prozentualen Anteiles an Magnesium-, Kupfer- und Zink-Ionen untersucht. Folgende Werte konnten ermittelt werden:

Tab 2: Ermittelte Werte (Gew %) für Mg, Ti, Cu und Zn in den Probenkörpern vor der Auslagerung in DMEM

Ion	Mit Cu versetzt [Gew %]	Mit Zn versetzt [Gew %]	Mit Cu/Zn versetzt [Gew %]
Mg	11,2	10,1	12,8
Ti	26,7	25,0	18,6
Cu	0,8	-	0,4
Zn	-	0,8	0,5

### 3.6.2 Simulated body fluid (SBF)

Eine Möglichkeit zu simulieren, wie sich die Beschichtung im menschlichen Körper verhalten könnte, erfolgt durch die simulierte Körperflüssigkeit (SBF). Diese dem menschlichen Blutplasma ähnliche Lösung besteht aus zwei voneinander getrennt hergestellten Bestandteilen. Dabei wurde die Zusammensetzung nach Kokubo [104] gewählt und anschließend im Kühlschrank gelagert. Eine Ca-Stammlösung und eine P-Stammlösung wurden hergestellt, die sich wie folgt zusammensetzten:

Tab. 3: Bestandteile der Ca-Stammlösung und P-Stammlösung im Vergleich zum menschlichen Blutplasma

Ion	Ca-Stammlösung [mmol]	Blutplasma [mmol]	P-Stammlösung [mmol]
Na <sup>+</sup>	142,0	142,0	-
K <sup>+</sup>	5,0	5,0	-
Mg <sup>2+</sup>	1,5	1,5	-
Ca <sup>+</sup>	2,5	2,5	-
Cl <sup>-</sup>	-	103,0	174,8
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-	27,0	4,2
HPO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-	1,0	1,0
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-	0,5	0,5

Jede Probe war mit insgesamt 10 ml SBF umgeben. Demzufolge wurden täglich je 50 ml von der Ca-Stammlösung und der P-Stammlösung unter stetigem Rühren miteinander vermischt. Anschließend wurde der pH-Wert kontrolliert und ggfs. mit Hilfe von Natriumhydroxid und Salzsäure auf einen pH-Wert von 7,4 eingestellt. Die beschichteten Titanplättchen wurden in WellPlates gelegt und 10 ml von der Lösung hinzugegeben. Die Proben wurden danach im Trockenschrank bei 37 °C aufbewahrt. Ein täglicher Mediumwechsel fand für die Dauer von zwölf Tagen statt.

### 3.6.3 Fetales Kälberserum (FCS)

FCS wird aus dem Blut von Kälberfeten zwischen dem 3. und 7. Trächtigkeitsmonat gewonnen. Es enthält diverse Bestandteile, u. a. Proteine, Fette und Wachstumsfaktoren. Das von der Industrie gelieferte Nährmedium wurde im Kühlschrank aufbewahrt. Analog zu der Versuchsreihe mit SBF fand ein täglicher Wechsel des Mediums über einen Zeitraum von acht Tagen statt.

### 3.6.4 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)

Die dritte Einlagerungsstudie fand im DMEM statt. Dieses Zellmedium beinhaltet anorganische Salze, D-Glucose, Phenolrot, Natriumpyrovat, Aminosäuren und Vitamine. Wie auch bei den oben erwähnten Einlagerungsstudien fand ebenfalls ein täglicher Mediumwechsel statt, allerdings betrug der Zeitraum hier eine Woche.

### 4 Ergebnisse

Im ersten Teil dieser Arbeit wurde nach den optimalen Parametern (Elektrolytzusammensetzung, Stromstärke, Beschichtungszeit, Temperatur) gesucht, um eine homogene Beschichtung auf den Titanplättchen zu generieren. Anschließend wurde untersucht, welche Mengen der einzelnen Bestandteile in physiologischen Nährmedien über einen definierten Zeitraum in Lösung gingen. Für die Beschichtung mit Struvit wurde der Basiselektrolyt verwendet. Bei der Dotierung mit Kupfer und/oder Zink wurden für die Auslagerungsstudie immer 15 ml aus der jeweiligen Zink- oder Kupferlösung pepitiert, um eine Vergleichbarkeit gewährleisten zu können. Die Kupferlösung wurde mit 2,42 g auf 1 l Reinstwasser angesetzt, bei der Zinklösung waren es 2,975 g. Somit ergab sich rechnerisch bei 15 ml eine Beimengung zum Basiselektrolyten von 36,3 mg Kupfer und 44,6 mg Zink.

#### 4.1 Einlagerung struvitbeschichteter Proben in SBF

Bei der Einlagerung struvitbeschichteter Proben in SBF wurde der Basiselektrolyt (Tab. 1) verwendet. In Folge der Elektrolyse bildete sich Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) aus den Ionen Magnesium ( $\text{Mg}^{2+}$ ), Ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ) und Phosphat ( $\text{PO}_4^{3-}$ ). Es zeigte sich, dass bei normaler Raumtemperatur von 20 °C bis 23 °C kein zufriedenstellendes Ergebnis zu erreichen war. Somit wurde die Temperatur auf 30 °C und die Beschichtungszeit auf 15 min festgesetzt. Des Weiteren wurde der Strom mit Hilfe des Arduino Pulsgenerators alle 5 s für 1 s unterbrochen. Die unterschiedlichen Stromstärken bei den folgenden Versuchen zeichneten sich durch die Homogenität der Schicht aus und unterschieden sich lediglich in der Schichtdicke.

## Ergebnisse

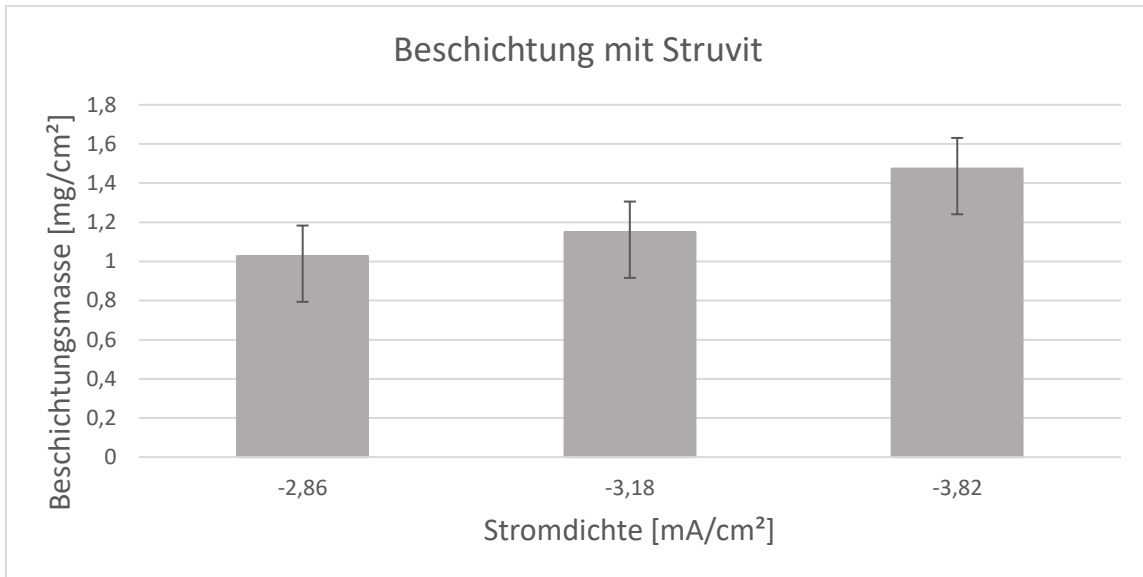


Abb. 2: Vergleich Schichtmassen an Struvit in Abhängigkeit von der Stromdichte nach 15 Minuten bei 30 °C und gepulster Beschichtung (5 s On / 1 s Off) im Basiselektrolyten. Drei Beschichtungsdurchgänge mit -2,86 mA/cm<sup>2</sup> (-9mA), -3,18 mA/cm<sup>2</sup> (-10 mA) und -3,82 mA/cm<sup>2</sup> (-12 mA). Durchschnittswerte aus jeweils 4 Proben, welche gleichzeitig beschichtet worden sind.

Die Verwendung von -9 mA (Stromdichte: -2.86 mA/cm<sup>2</sup>) ergab zwar eine gleichmäßige Beschichtung, jedoch war diese so gering und demzufolge kaum sichtbar. Dies zeigte sich auch in der geringen Masse. Bei den anderen beiden Versuchen von -10 mA (Stromdichte: -3,18 mA/cm<sup>2</sup>) und -12 mA (Stromdichte: -3,82 mA/cm<sup>2</sup>) waren ausreichende Schichtdicken erzielt worden. Die Massen waren annähernd gleich (Abb. 2).

### 4.1.1 Charakterisierung durch XRD

Die Stoffzusammensetzung der beschichteten Titanoberfläche wurde mit einem Röntgendiffraktometer durchgeführt. Untersucht wurde eine Probe (Abb. 3), beschichtet mit -9 mA (-2.86 mA/cm<sup>2</sup>). Mit Hilfe der Auswertungssoftware wurde sowohl nach Titan (PDF-Nr.: 00-001-1197), als auch nach Struvit (MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub> 6H<sub>2</sub>O) in der natürlich (PDF-Nr.: 00-003-0240) vorkommenden und in der synthetischen Form (PDF-Nr.: 00-015-0762) gesucht. Es sind die typischen Peaks für Struvit (St) sowie der darunterliegenden Titanoberfläche (Ti) zu sehen. Diese bewiesen die stattgefundenene Abscheidung von Struvit auf der Titanoberfläche.

## Ergebnisse

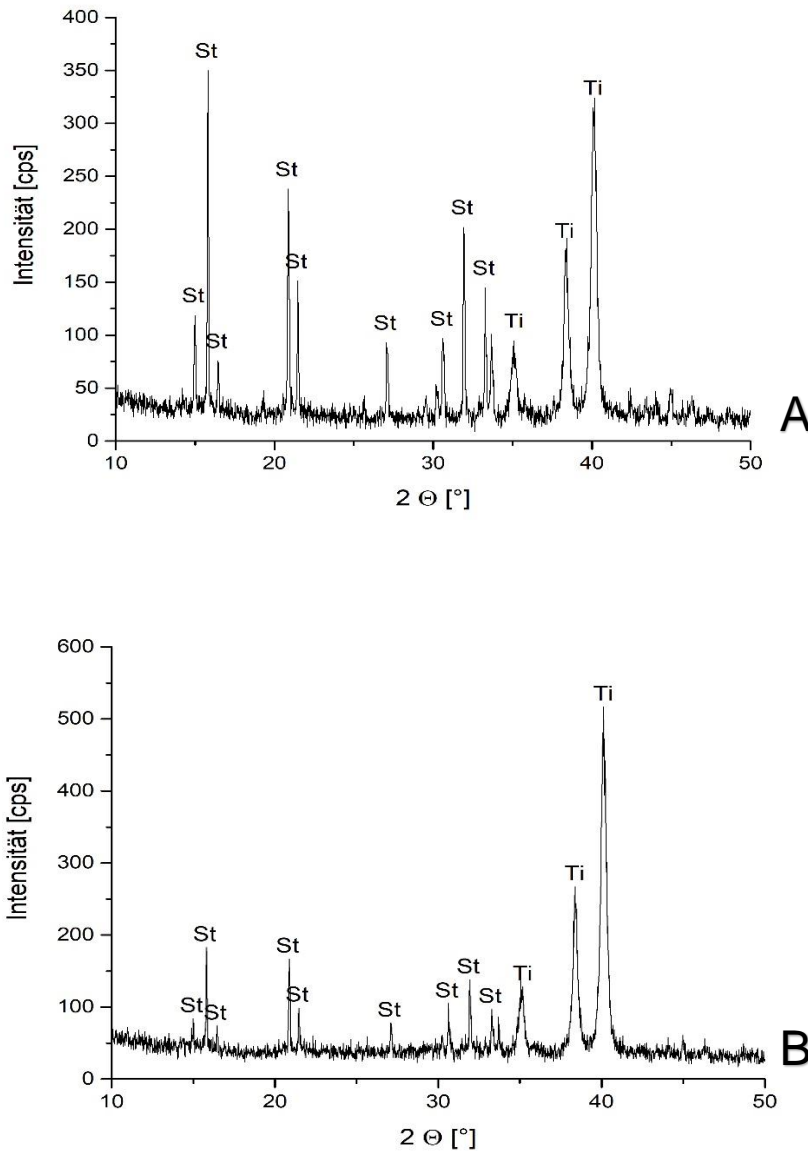


Abb. 3: Röntgendiffraktrogramme vor (A) und nach 5 Tagen (B) Einlagerung in SBF unter Verwendung des Basiselektrolyten. Beschichtung mit reinem Struvit. Mit einer Stromdichte von - 9 mA (2,86 mA/cm<sup>2</sup>), einer Beschichtungsdauer von 15 min, einer Temperatur des Elektrolyten von 30 °C und einer gepulsten Beschichtung (5 s On / 1 s Off). Struvit (S), Titan (Ti)

Durch die Einlagerung der beschichteten Plättchen für die Dauer von fünf Tagen sollte herausgefunden werden, inwieweit sich die Stoffzusammensetzung ändert. Dabei wurde SBF verwendet, wie in Tab. 3 beschrieben, hergestellt. Am Versuchsende zeigte sich nach Trocknung der Probe und Auswertung der Daten des XRD eine signifikante Veränderung der Peaks hinsichtlich ihrer Amplitude.

## Ergebnisse

Es konnten sowohl Struvit als auch Titan erneut nachgewiesen werden. Jedoch stiegen die Peaks bei Titan an. Dies lässt Rückschlüsse auf eine nun dünnere Schicht und damit eine durchscheinendere Titanoberfläche zu. Bei Struvit nahm die Intensität ab.

### 4.2 Einlagerung zink- und kupferdotierter Proben in SBF und FCS

Bei der Herstellung der beschichteten Plättchen wurden die gleichen Parameter angewandt wie in 4.1 beschrieben. Die Oberflächenqualität stellte sich, wie in Abb. 4A deutlich zu sehen ist, durchgehend als nicht zufriedenstellend dar. Eine Anpassung der Stromstärke führte ebenfalls zu keinem positiven Ergebnis.

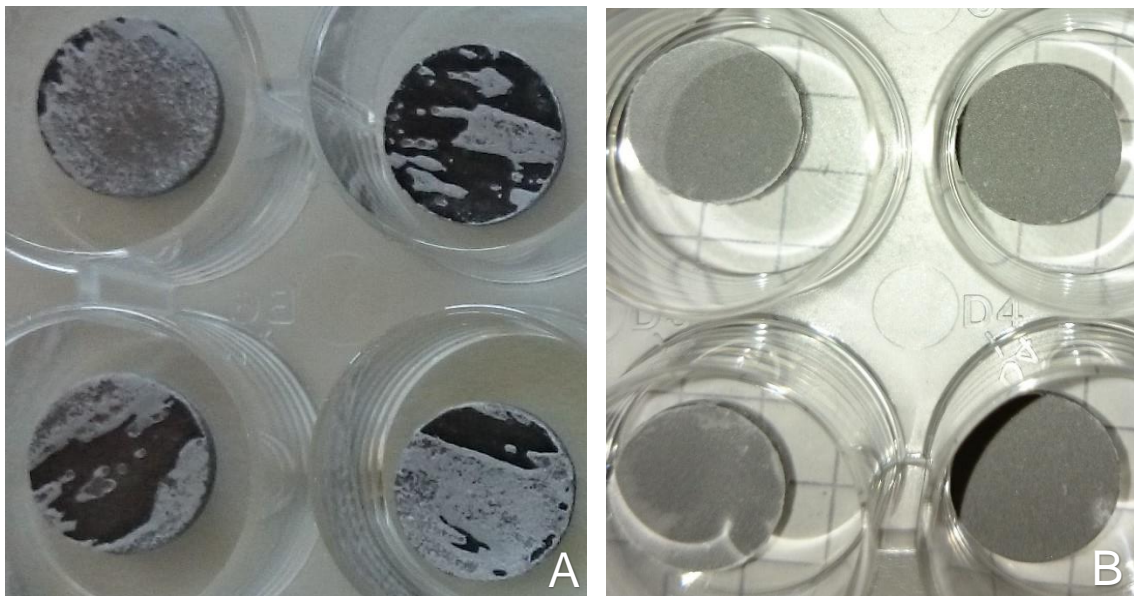


Abb. 4A und 4B: Mit Kupfer und Zink dotierter Basiselektrolyt und die daraus resultierenden beschichteten Oberflächen der Titanplättchen.  
A: -12 mA, 15 min, 30 °C, gepulste Beschichtung 5 s on / 1 s off;  
B: -15 mA, 15 min, 50 °C, gepulste Beschichtung 5 s on / 1 s off

Erst eine Steigerung der Temperatur des Elektrolyten zusammen mit einer Erhöhung der Stromstärke erzielte, hinsichtlich Schichtdicke und Homogenität, ein sehr gutes Ergebnis (Abb. 4B). Somit ergaben sich folgende Parameter beim Beschichten der Titanplättchen. Die Temperatur wurde auf 50 °C erhöht, wobei die Stromstärke jeweils -15 mA, -18 mA und -21 mA betrug. Die Probenkörper der Auslagerungsstudien wurden mit -15 mA beschichtet. Die Homogenität und Schichtdicke waren bei dieser Stromstärke ausreichend, eine Erhöhung führte

## Ergebnisse

nur zu einer größeren Materialauflagerung auf der Oberfläche der Titanplättchen. Ferner wurde die Stromzufuhr alle 5 Sekunden für die Dauer von 1 Sekunde unterbrochen. Die Beschichtung erfolgte für die Dauer von 15 min (Abb. 5). Bei den Versuchsreihen wurde dem Basiselektrolyten (Tab. 1) sowohl 34,3 mg Kupfer-(II)-nitrat-3-hydrat als auch 44,6 mg Zinknitrat-6-hydrat hinzugefügt.

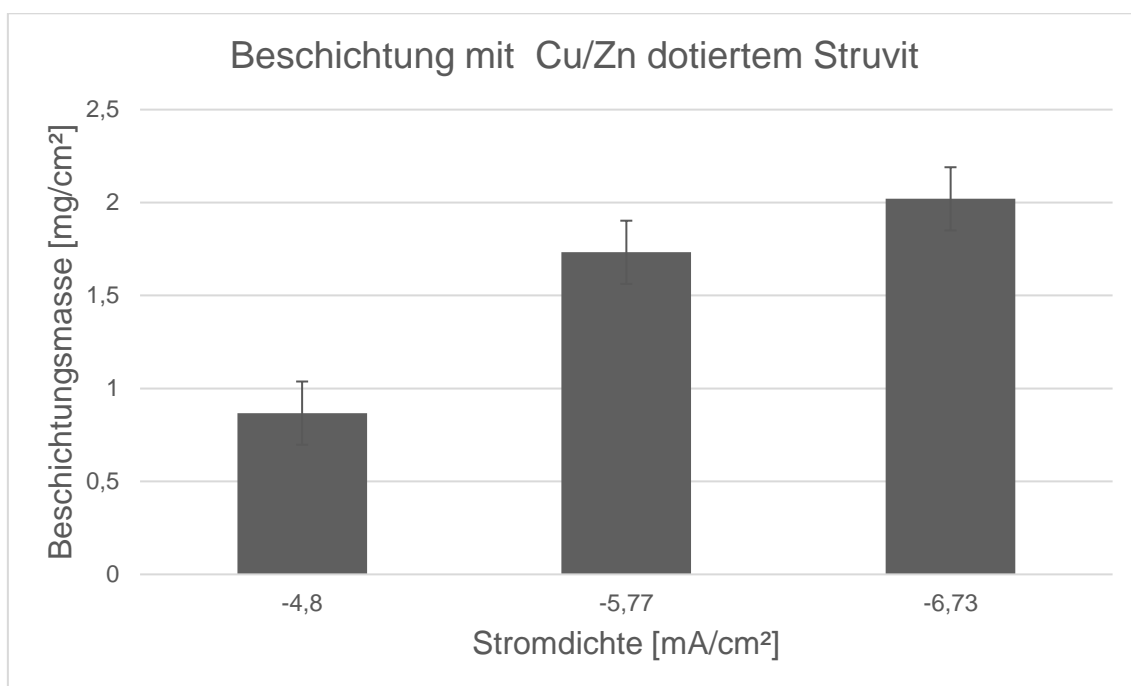


Abb. 5: Vergleich der Schichtmassen an mit Kupfer und Zink dotiertem Struvit, in Abhängigkeit von der Stromdichte, nach 15 Minuten, bei 50 °C und gepulster Beschichtung (5 s On / 1 s Off) im Basiselektrolyten, versetzt mit 34,3 mg Kupfer-(II)-nitrat-3-hydrat und 44,6 mg Zinknitrat-6-hydrat. Drei Beschichtungsdurchgänge mit -4,8 mA/cm<sup>2</sup> (-15 mA), -5,77 mA/cm<sup>2</sup> (-18 mA) und -6,73 mA/cm<sup>2</sup> (-21 mA). Durchschnittswerte aus jeweils 4 Proben, welche gleichzeitig beschichtet worden sind.

Für die Auslagerung in SBF und FCS (siehe nachfolgende Tab. 4) wurden Titanplättchen mit Struvit beschichtet. Dabei kamen drei verschiedene Elektrolyte zum Einsatz. Elektrolyt Nr. 1: Basiselektrolyt (Tab. 1) versetzt mit 34,3 mg Kupfer-(II)-nitrat-3-hydrat und 44,6 mg Zinknitrat-6-hydrat. Elektrolyt Nr. 2: Basiselektrolyt (Tab. 1) versetzt mit 34,3 mg Kupfer-(II)-nitrat-3-hydrat. Elektrolyt Nr. 3: Basiselektrolyt (Tab. 1) versetzt mit 44,6 mg Zinknitrat-6-hydrat. Je Beschichtungsvorgang befanden sich immer 4 Titanplättchen im Elektrolyten.

## Ergebnisse

Tab. 4: Mit Struvit (Zink und/oder Kupfer dotiert) beschichtete Probenkörper für die 12-tägige Auslagerung in SBF und für die 6-tägige Auslagerung in FCS. Gemessene Werte für die Schichtmassen in mg/cm<sup>2</sup>. Elektrolyt 1: mit Cu/Zn; Elektrolyt 2: mit Cu; Elektrolyt 3: mit Zn.

Elektrolyt/Probe SBF	Elektrolyt/Probe FCS	Schichtmasse [mg/cm <sup>2</sup> ] SBF	Schichtmasse [mg/cm <sup>2</sup> ] FCS	Cu	Zn
1/1	1/5	1,03	0,77	X	X
1/2	1/6	0,77	0,77	X	X
1/3	1/7	0,77	1,03	X	X
1/4	1/8	1,03	1,03	X	X
2/9	2/13	0,77	0,77	X	
2/10	2/14	0,77	0,77	X	
2/11	2/15	0,78	1,03	X	
2/12	2/16	1,03	1,03	X	
3/17	3/21	0,77	1,15		X
3/18	3/22	0,77	1,03		X
3/19	3/23	0,77	1,03		X
3/20	3/24	0,77	0,77		X

### 4.2.1 Charakterisierung durch XRD

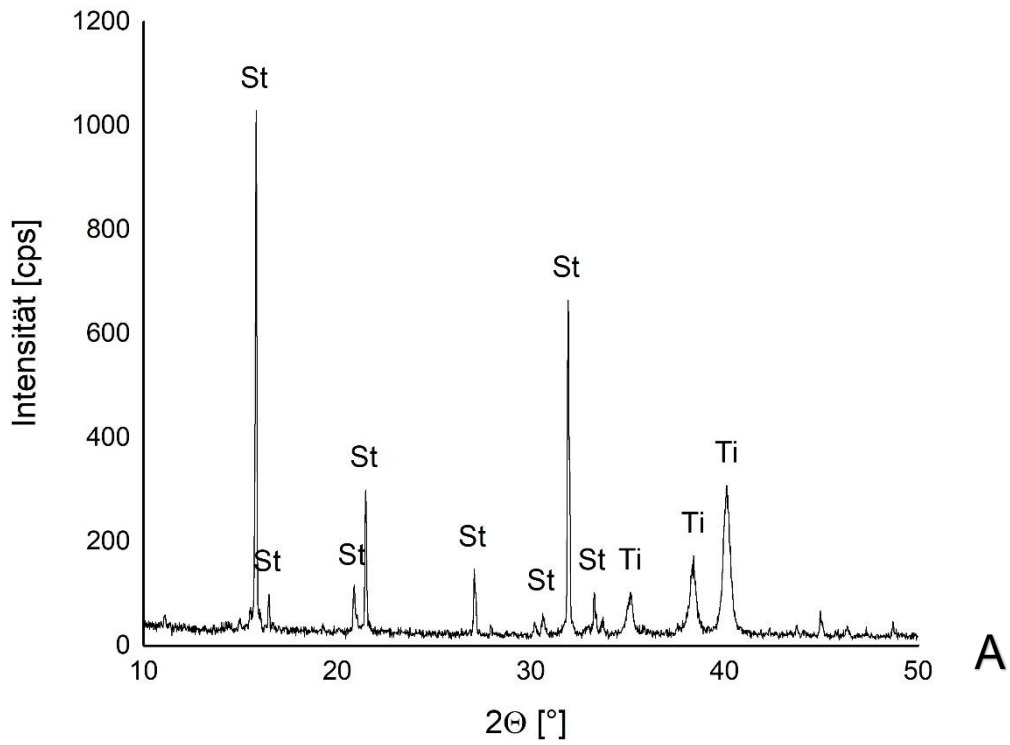
Vor und nach der Einlagerung wurden von den mit Zink und Kupfer dotierten Proben Diffraktrogramme angefertigt, um die kristalline Beschaffenheit der beschichteten Titanplättchen einzuordnen. Die Auswertung der gesammelten Daten wurde mit Hilfe der Software „DIFFRAC-plus-Auswertungsprogramm“ von Siemens durchgeführt. In diesem Programm waren diverse Diffraktrogramme hinterlegt und konnten somit für die gesuchten Bestandteile als Referenz hinzugezogen werden.

Zu Beginn wurde Struvit und Titan nachgewiesen (siehe nachfolgende Abb. 6A). Die charakteristischen Peaks für Struvit sind eindeutig erkennbar. Da es sich um eine dünne Beschichtung handelt, zeichnete sich auch die Titanoberfläche ab. Aufgrund der sehr geringen Anteile ist das XRD nicht in der Lage, das Vorhandensein von Kupfer- und Zink-Ionen nachzuweisen. Nach der zwölf-tägigen Einlagerung gingen die Peaks für Struvit zurück. Genauer gesagt waren sie nun nicht mehr eindeutig nachweisbar (Abb. 6B). Ohne die Beimengung von Kupfer und/oder Zink war Struvit jedoch noch im XRD



## Ergebnisse

nachweisbar. Es kann angenommen werden, dass sich Struvit während der Auslagerung entweder einer Umwandlung unterzogen hat oder in Lösung gegangen ist. Makroskopisch betrachtet, zeigte sich kein Unterschied. Sowohl vor als auch nach der Auslagerung waren die Probenkörper mit einer dünnen homogenen weißen Schicht überzogen.



## Ergebnisse

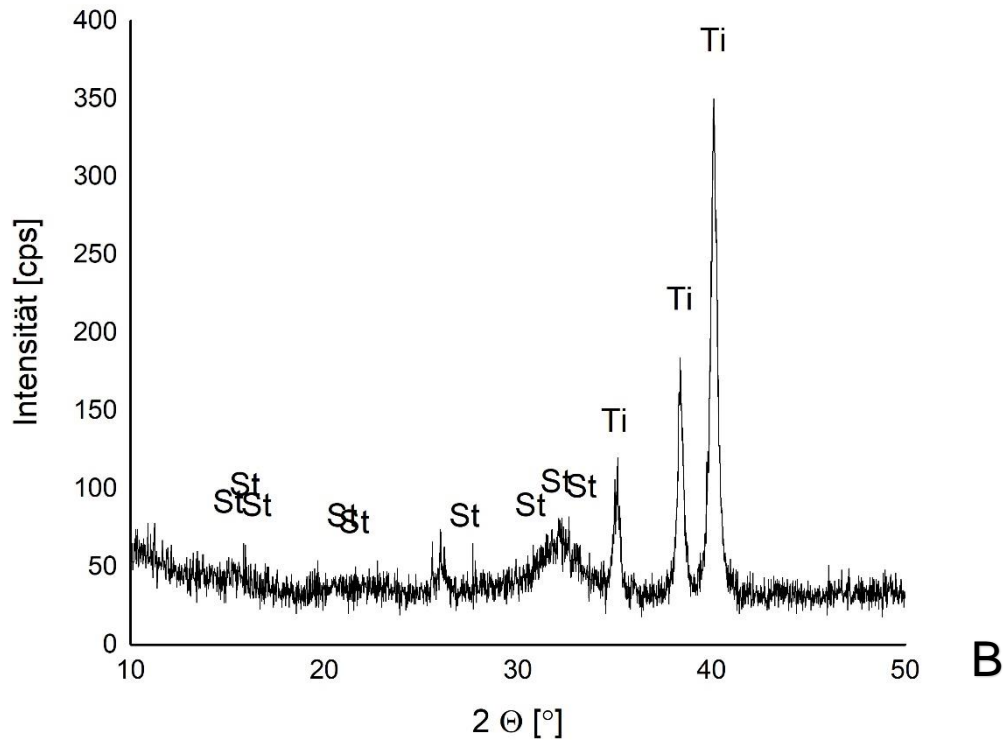


Abb. 6A und 6B: Röntgendiffraktogramme vor (A) und nach 12 Tagen (B) Einlagerung in SBF unter Verwendung des Basiselektrolyten, dotiert mit Kupfer und Zink (Probennummer 1/1). Mit einer Stromdichte von  $-15 \text{ mA}$  ( $-4,8 \text{ mA/cm}^2$ ), einer Beschichtungsdauer von 15 min, einer Temperatur des Elektrolyten von  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  und einer gepulsten Beschichtung (5 s On / 1 s Off). Struvit (St), Titan (Ti).

### 4.2.2 Charakterisierung durch ICP-MS

Die verwendeten Medien, SBF und FCS, erwiesen sich, wie in den nachfolgenden Abb. 7-9 zu sehen, als nicht geeignet. Sie enthielten selbst eine hohe Anzahl an Kupfer- und Zink-Ionen. Somit war eine exakte Bestimmung nicht möglich, da die Konzentrationen in den Proben sehr gering waren. Ein beschichtetes Titanplättchen, jeweils CuZn / Cu / Zn, wurde vor der Einlagerung in Salzsäure gelegt, um die in der Schichten inkorporierten Stoffmengen festzustellen, die restlichen im Anschluss der Einlagerungsstudie nach 12 Tagen. Die aufgelöste Schicht wurde mit Blank im Verhältnis 1:10 verdünnt und dem Gerät zur Analyse zugeführt.

## Ergebnisse

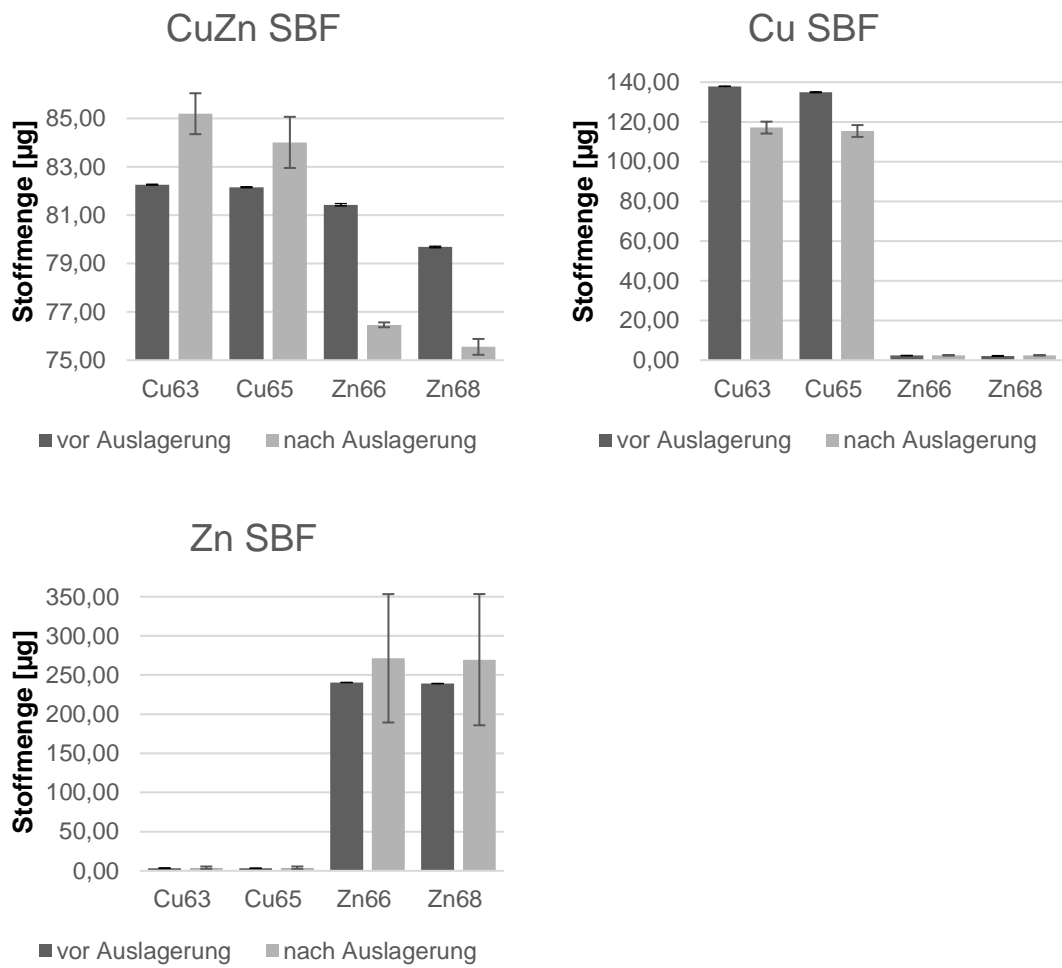
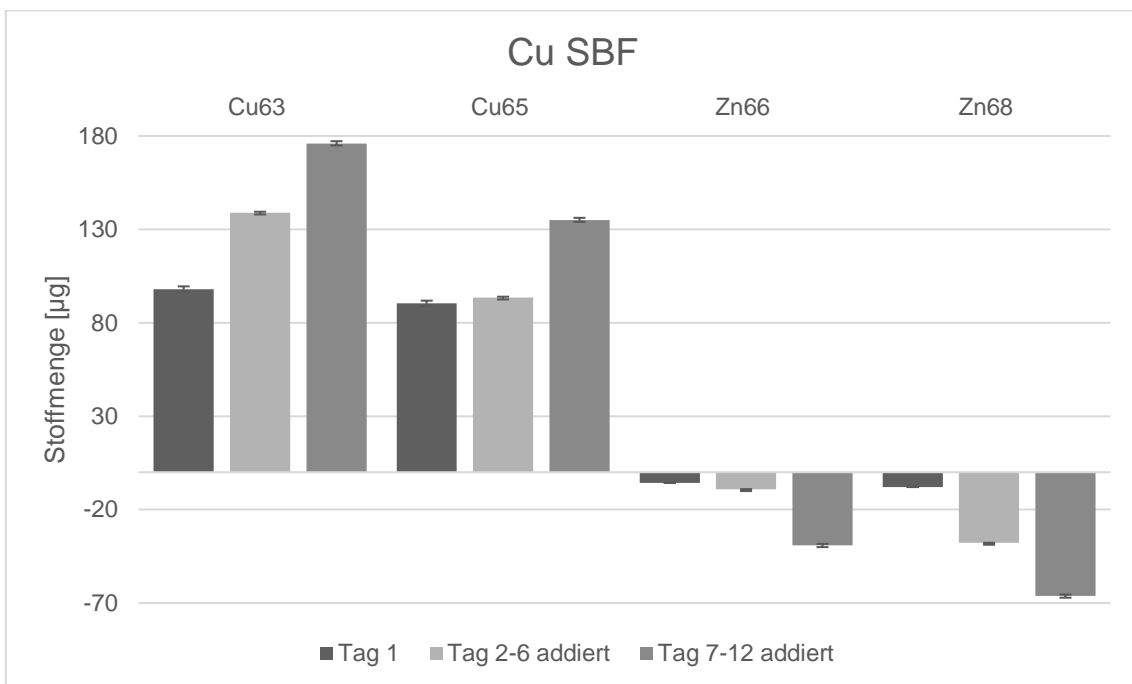
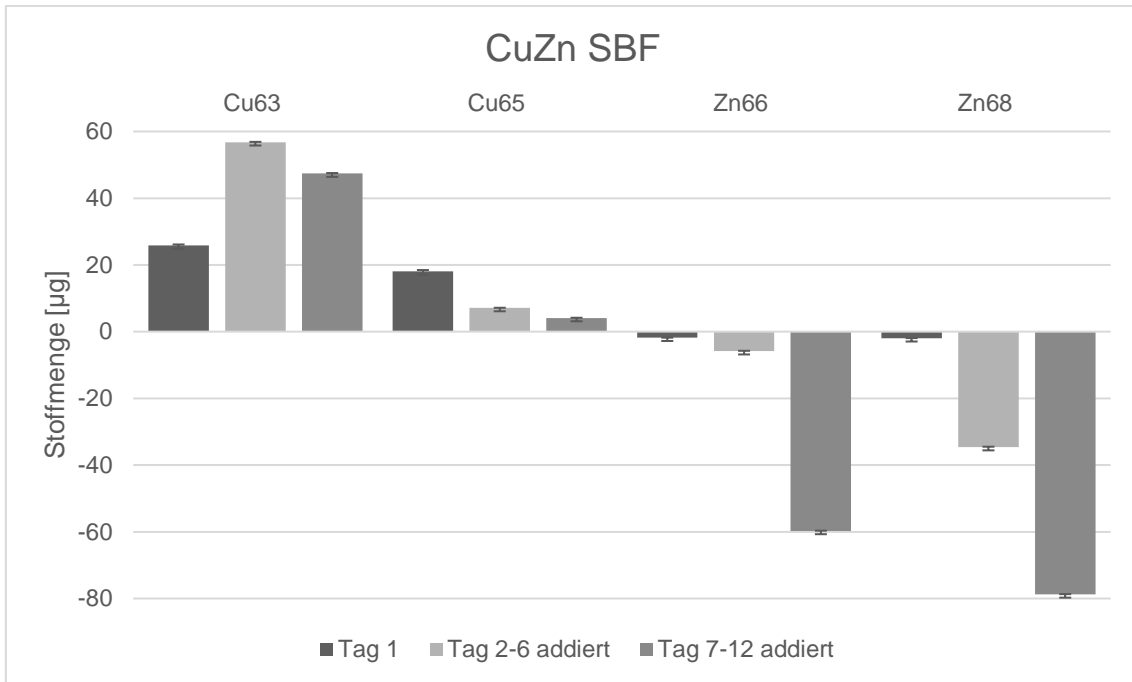


Abb. 7: Vergleich der Massen an Kupfer und Zink vor und nach der 12-tägigen Auslagerung in SBF. In Salzsäure aufgelöste Schichten.

## Ergebnisse



## Ergebnisse

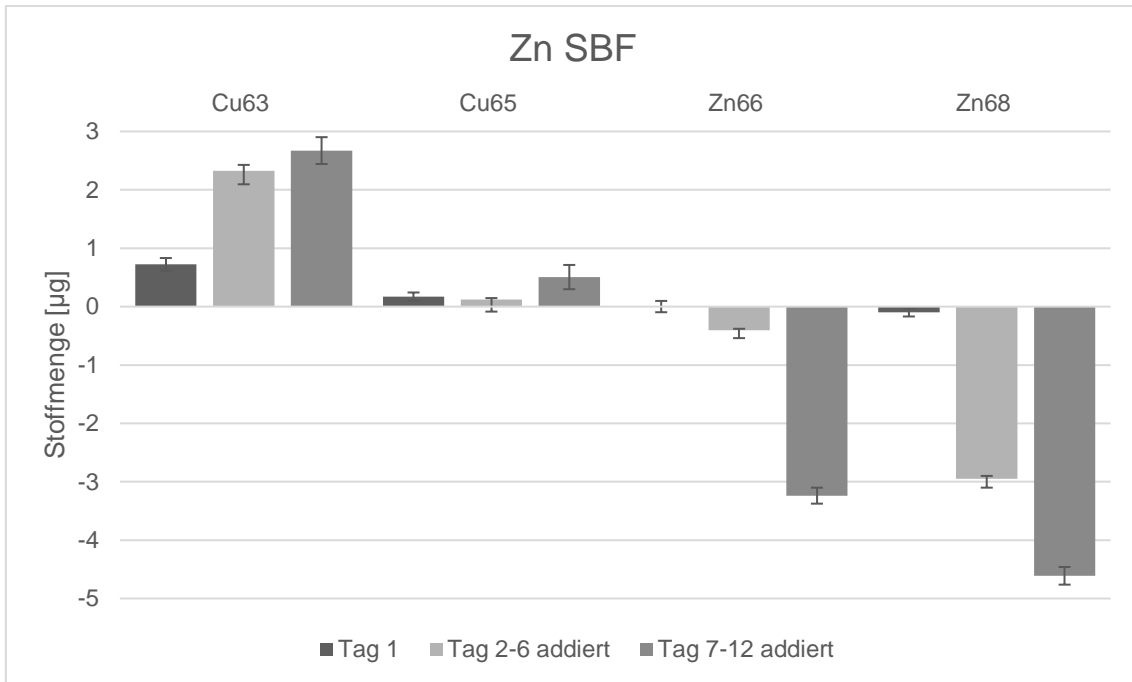
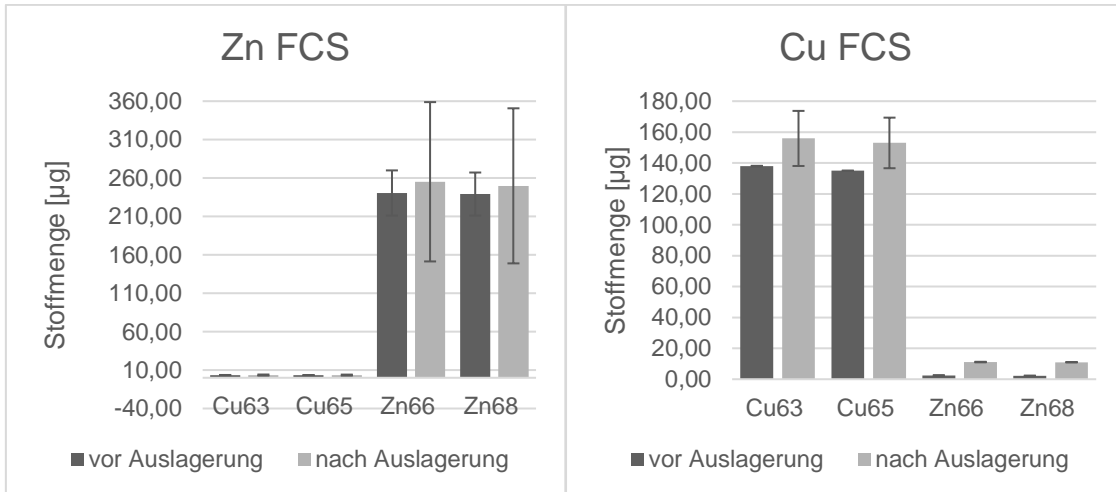


Abb. 8: Freisetzung / Aufnahme von Cu und / oder Zn im täglich gewechselten SBF Zellmedium während der 12-tägigen Auslagerung



## Ergebnisse

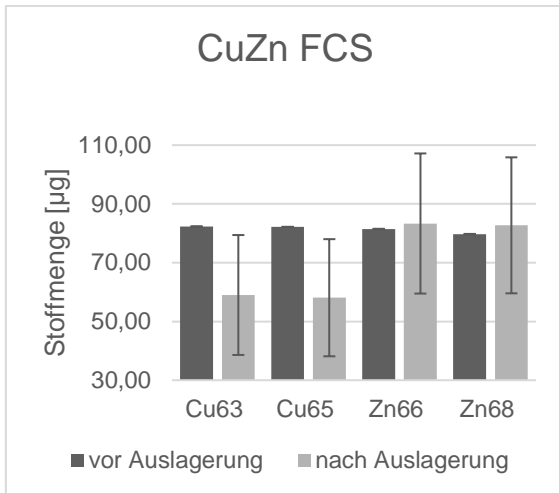


Abb. 9: Vergleich der Massen an Kupfer und Zink vor und nach der 8-tägigen Auslagerung in FCS (In Salzsäure aufgelöste Schichten).

Dem Ergebnis in Abb. 7 zu Folge hätten die Proben mit Kupfer/Zink-Ionen und die Proben mit Zink-Ionen sogar weitere Ionen über die Zeit aufgenommen. Diese Problematik zeigte sich auch bei den Proben, welche in FCS eingelagert wurden (Abb. 9). Es wurde beschlossen, die Einlagerungsstudie in SBF nach 12 Tagen und die in FCS nach 8 Tagen zu beenden.

### 4.3 Einlagerung zink- und kupferdotierter Proben in DMEM

Die geringe Konzentration der in der Schicht vorhandenen Ionen führte bei der Analyse zu nicht verwertbaren Daten. Des Weiteren erschien die Wahl der Nährmedien nicht vorteilhaft.

Da die Oberflächenbeschaffenheit bei den zuvor gewählten Parametern zufriedenstellend war, wurde lediglich die Stromstärke auf - 40 mA [- 12,82 mA/cm<sup>2</sup>] erhöht. So konnte eine dickere Schicht auf den Plättchen generiert werden und damit auch eine höhere Konzentration an Kupfer- und Zink-Ionen. Die Beschichtungszeit betrug 15 min, bei einer Elektrolyttemperatur von 50 °C. Es fand eine gepulste Beschichtung (5 s on / 1 s off) statt. Die Auslagerungsstudie wurde auf eine Woche festgesetzt. Die für die Auslagerungsstudie in DMEM verwendeten Proben sind in Tabelle 5 dargestellt. Dabei wurden alle vier Proben gleichzeitig im selben Elektrolyten hergestellt. Es

## Ergebnisse

wurde der Basiselektrolyt verwendet und mit 36,3 mg Kupfer-(II)-nitrat-3-hydrat sowie mit 44,6 mg Zinknitrat-6-hydrat versetzt (wie in 4 beschrieben).

Tab. 5: 4 Probenkörper, mit Struvit beschichtet, mit Kupfer und Zink dotiert, für die 7-tägige Auslagerung in DMEM. Die Stromstärke betrug – 40 mA, Beschichtungsdauer 15 min, bei einer Temperatur von 50 °C und einer gepulsten Beschichtung (5 s on / 1 s off). Die Standardabweichung der 4 Proben beträgt 0,44 mg

Probennummer	Schichtmasse [mg/cm <sup>2</sup> ]
CuZnDMEM 1	2,87
CuZnDMEM 2	3,59
CuZnDMEM 3	2,87
CuZnDMEM 4	3,67

## Ergebnisse

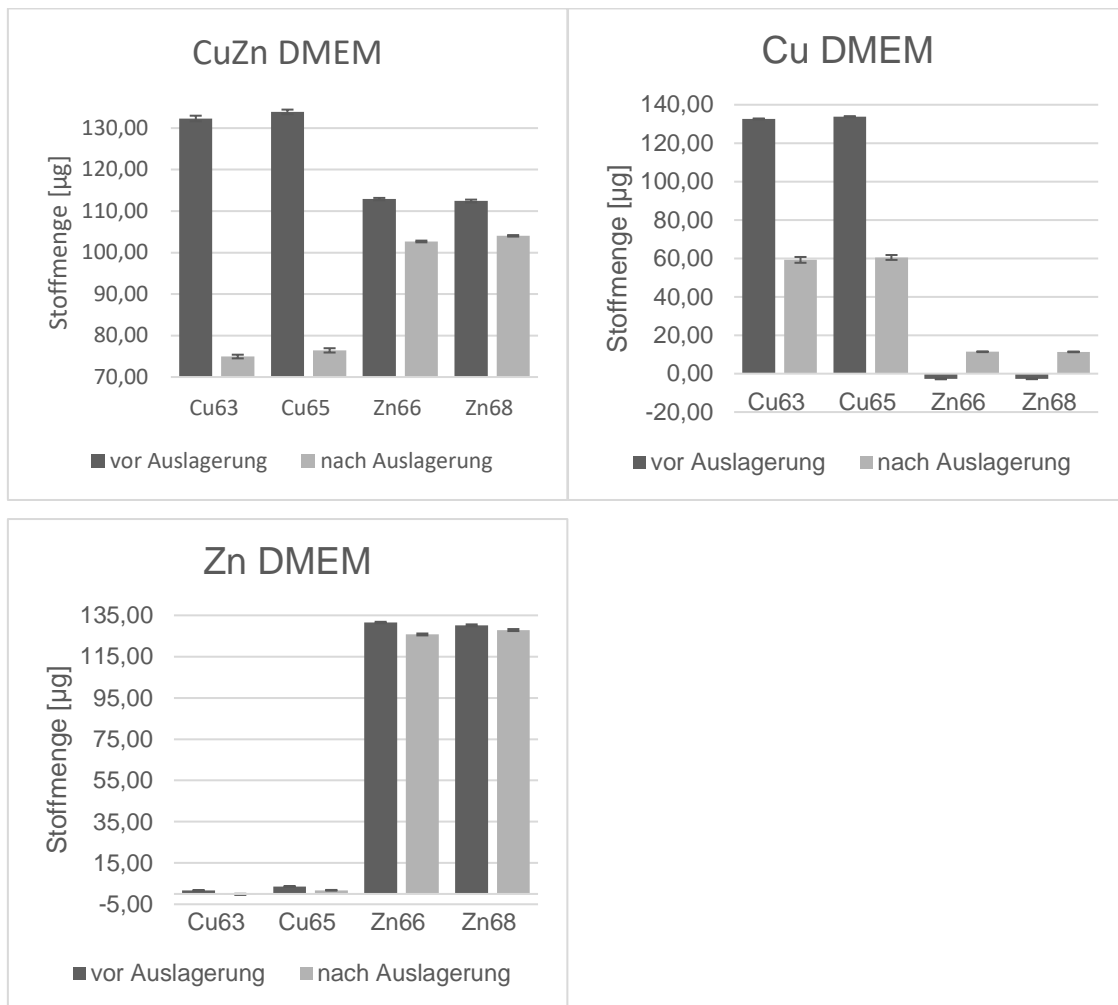
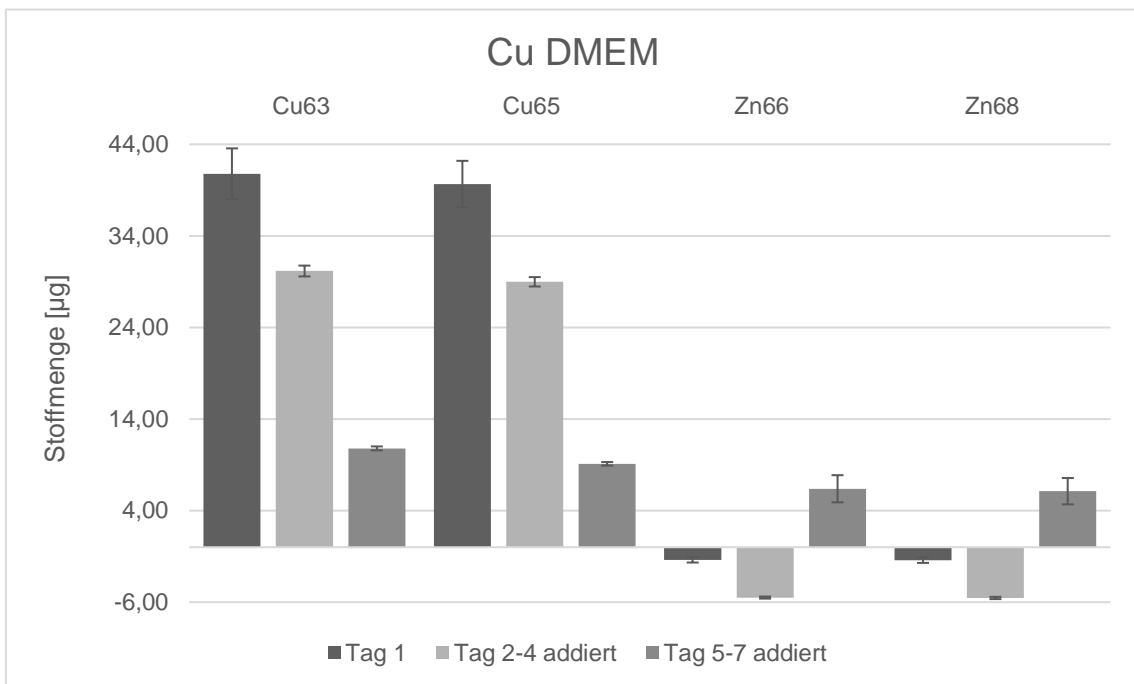
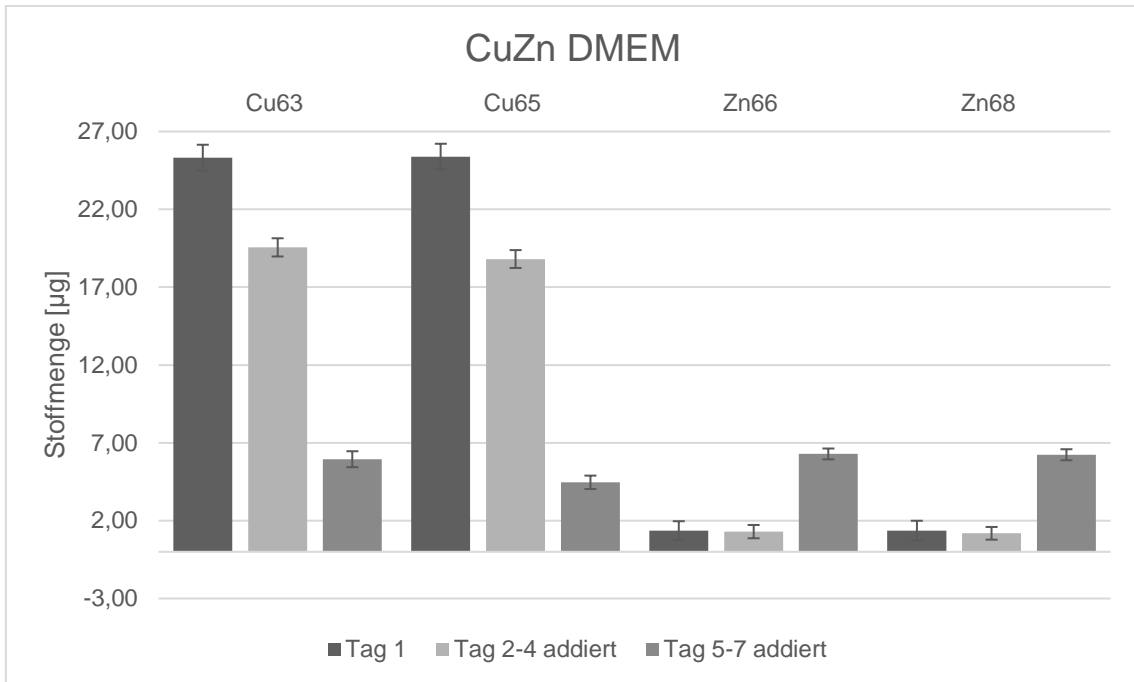


Abb. 10: Vergleich der Massen an Kupfer und Zink vor und nach der 7-tägigen Auslagerung in DMEM. In Salzsäure aufgelöste Schichten.



# Ergebnisse



## Ergebnisse

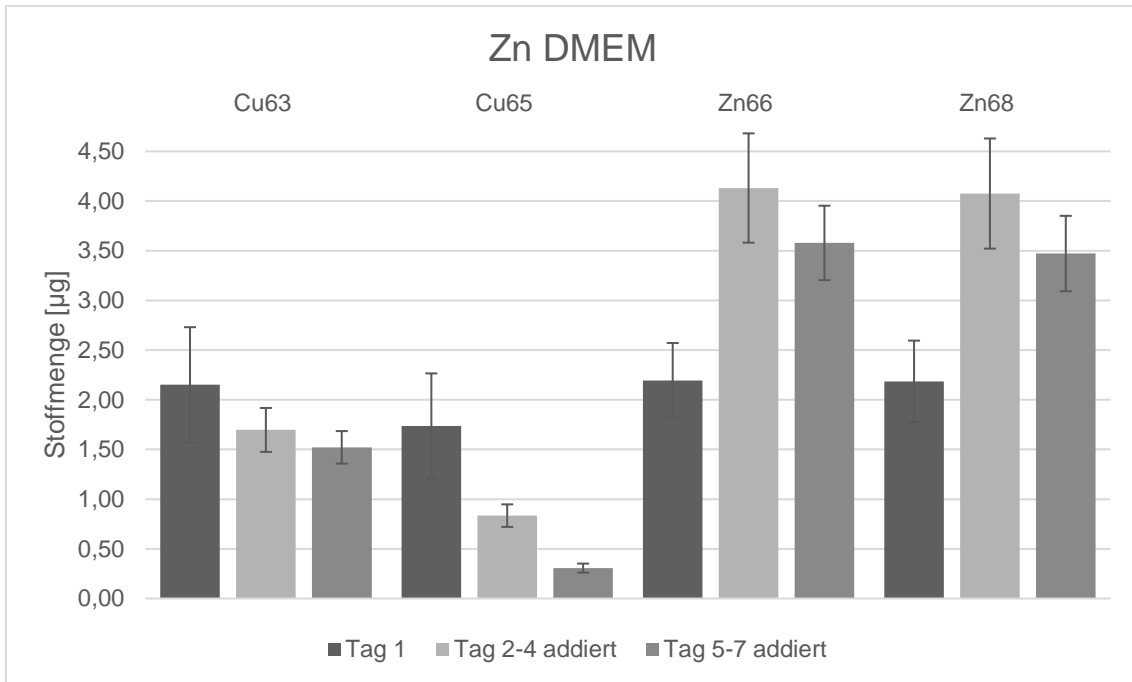


Abb. 11: Freisetzung / Aufnahme von Cu und / oder Zn im täglich gewechselten DMEM-Zellmedium während der 7-tägigen Auslagerung.

### 4.4 Charakterisierung durch REM und EDX

Die Aufnahmen durch das REM dienen der Erfassung der Oberflächenmorphologie der beschichteten Titanplättchen. Die Proben wurden im REM nach dem Beschichtungsvorgang und dann noch einmal nach der Auslagerung untersucht.

Die erste Probe wurde mit Kupfer und Zink gemeinsam dotiert, die anderen beiden enthielten jeweils nur Kupfer oder Zink. Die Beschichtungsparameter waren bei allen drei Titanplättchen gleich. Die gepulste Stromstärke betrug -15mA (5s on / 1s off), die Temperatur des Elektrolyten lag bei 50 °C und die Beschichtungsdauer betrug 15 min. Eine mit Kupfer/Zink dotierte Probe wurde zunächst mit unterschiedlichen Vergrößerungen analysiert (Abb. 12A-D). Von derselben Probe wurde anschließend sowohl vor als auch nach der Auslagerung in DMEM ein Bild bei 2000x Vergrößerung angefertigt (Abb. 12E/F). Bei allen Aufnahmen betrug die Beschleunigungsspannung 1 kV.

## Ergebnisse

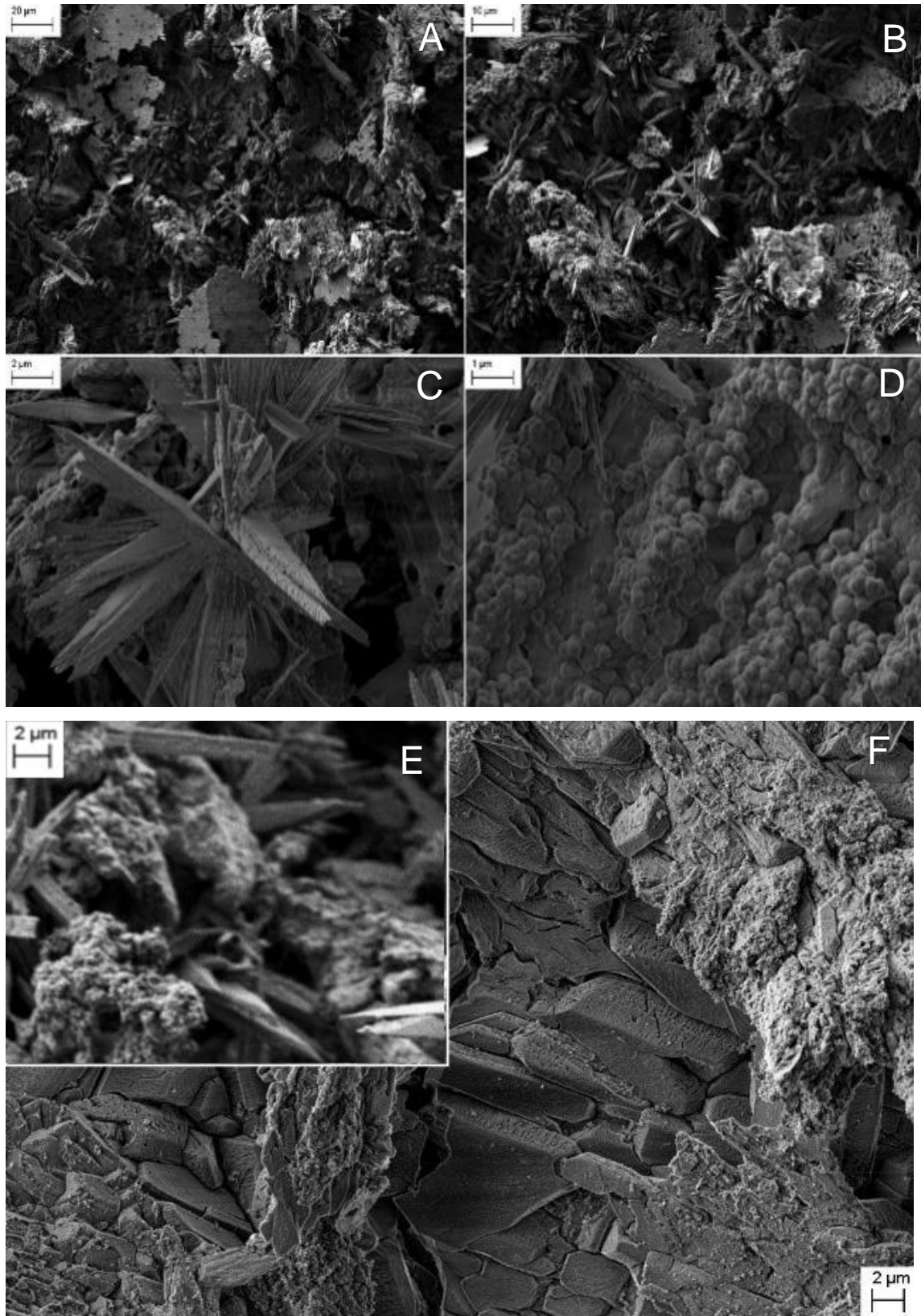


Abb. 12A-D: Vergrößerungsreihe einer mit Kupfer und Zink dotierten Probe (A-D) vor der Auslagerung in DMEM. Derselbe Probenkörper, einmal vor (E) und nach (F) der Auslagerung in DMEM.

## Ergebnisse

Dabei zeigte sich eine zerklüftete Oberfläche mit kleinen, plattenartigen Bereichen. Bei 1.000facher Vergrößerung (Abb. 12B) sind kristalline Strukturen zu erkennen, welche auf eine beginnende Umwandlung zu Hydroxylapatit hindeuten. Bei 10.000facher Vergrößerung (Abb. 12D) sind kugelige Gebilde zu erkennen. Ein Durchscheinen der Oberfläche ist nicht sichtbar. Die Aufnahme der mit Kupfer und Zink dotierten Probe (Abb. 12F) zeigt nach der Beschichtung eine ähnliche Oberflächenmorphologie wie die Probe, welche nur mit Struvit beschichtet wurde. Die inhomogene Schicht beinhaltet eine ähnliche Höhe und ist aus vielen unterschiedlich großen schieferplattenartigen Strukturen zusammengesetzt. Die Gebilde lassen sich klar voneinander abgrenzen. In einigen Bereichen sind die Platten mit vielen kleinen Körnern überzogen. Der auffälligste Unterschied zwischen den Aufnahmen vor und nach der Auslagerung (Abb. 12E/F) besteht im Wesentlichen darin, dass die hervorstechenden kristallinen Bestandteile über den gesamten Bereich fehlen. Auch die körnigen Areale nahmen an Intensität zu. Bei beiden Aufnahmen ist die Trägerschicht nicht zu erkennen, womit eine makroskopisch homogene Beschichtung auch beim Betrachten der Röntgendiffraktogrammbilder unterstrichen wird.

Im Folgenden wurden die mit Kupfer (Abb. 13A/B) oder Zink (Abb. 13C/D) dotierten Proben ebenfalls vor und nach der Einlagerung untersucht. Die Beschleunigungsspannung betrug bei allen Aufnahmen 1 kV.

## Ergebnisse

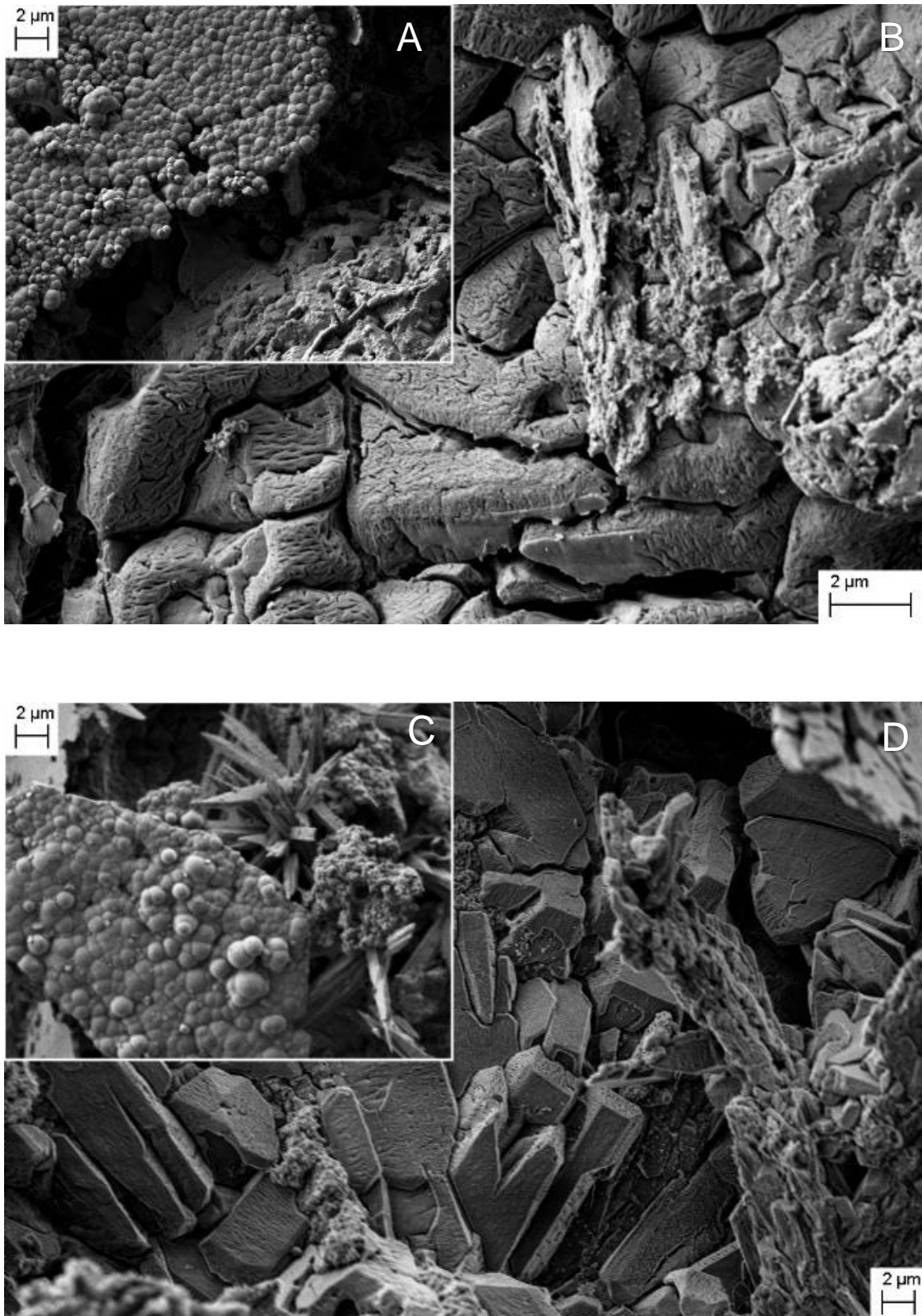


Abb. 13A-D Probenkörper mit Kupfer (A/B) und mit Zink (C/D) dotiert, 2.000fache Vergrößerung, einmal vor (A/C) und nach (B/D) der Auslagerung in DMEM.

## Ergebnisse

Im Vergleich zu der Beschichtung mit undotiertem Struvit ist ein klarer Unterschied hinsichtlich der Oberflächenmorphologie erkennbar. Die mit Kupfer und Zink dotierten Proben weisen in beiden Fällen eine zusammenhängende flächenartige Auflagerung an kugelförmigen Gebilden auf. Während bei der Probe mit Zink die vielen einzelnen Kugeln noch klar voneinander abgrenzbar sind, erscheinen die Grenzen bei der zinkhaltigen Probe teilweise miteinander zu verschwimmen. Ferner weisen die Kugeln zusätzlich unterschiedliche Größen auf. Generell ist erkennbar, dass die kristallinen Formationen, welche bei reinem Struvit den Hauptbestandteil der Oberfläche ausmachten sowohl bei Kupfer, als auch bei Zink in den Hintergrund treten und nur noch vereinzelt erkennbar sind. Nach der Auslagerung sind bei Kupfer und Zink die kugelförmigen Auflagerungen verschwunden. In der Probe, welche Kupfer beinhaltet, ist keine klare Formgebung mehr zu erkennen. Die Abgrenzungen zwischen den Gebilden stellen sich durch tiefe Furchen dar. Im Gegensatz dazu sind bei Zink in einzelnen Bereichen wieder mehrere quaderförmige Formationen zu erkennen.

Des Weiteren wurden die beschichteten Probenkörper mit Hilfe des EDX (Energiedispersive Röntgenanalyse) jeweils vor (Abb. 14) und nach (Abb. 15) der Auslagerung untersucht. Exemplarisch wird hier die Analyse des mit Kupfer und Zink beschichteten Plättchens gezeigt. Somit konnten die Elemente dargestellt werden, welche sich in der Schicht befanden.

## Ergebnisse

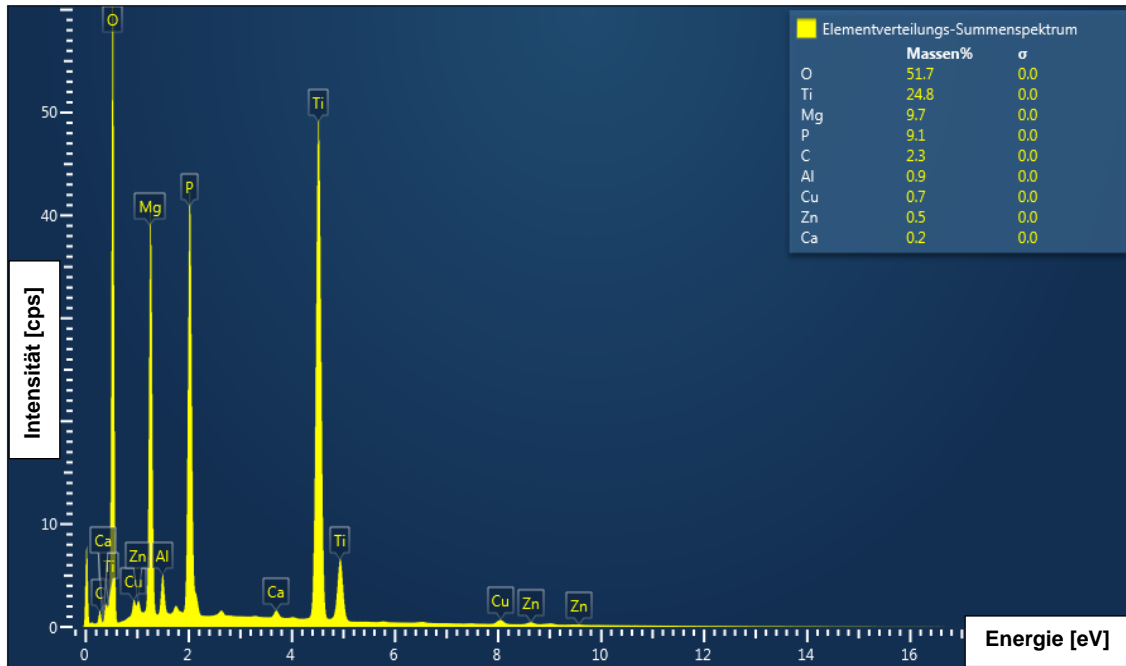


Abb. 14: Probenkörper mit Kupfer und Zink beschichtet vor der Auslagerung in DMEM. Beschichtungsparameter: -40 mA (-12,82 mA/cm<sup>2</sup>); 15 min; 50 °C; gepulst (5 s on / 1 s off). EDX-Analyse

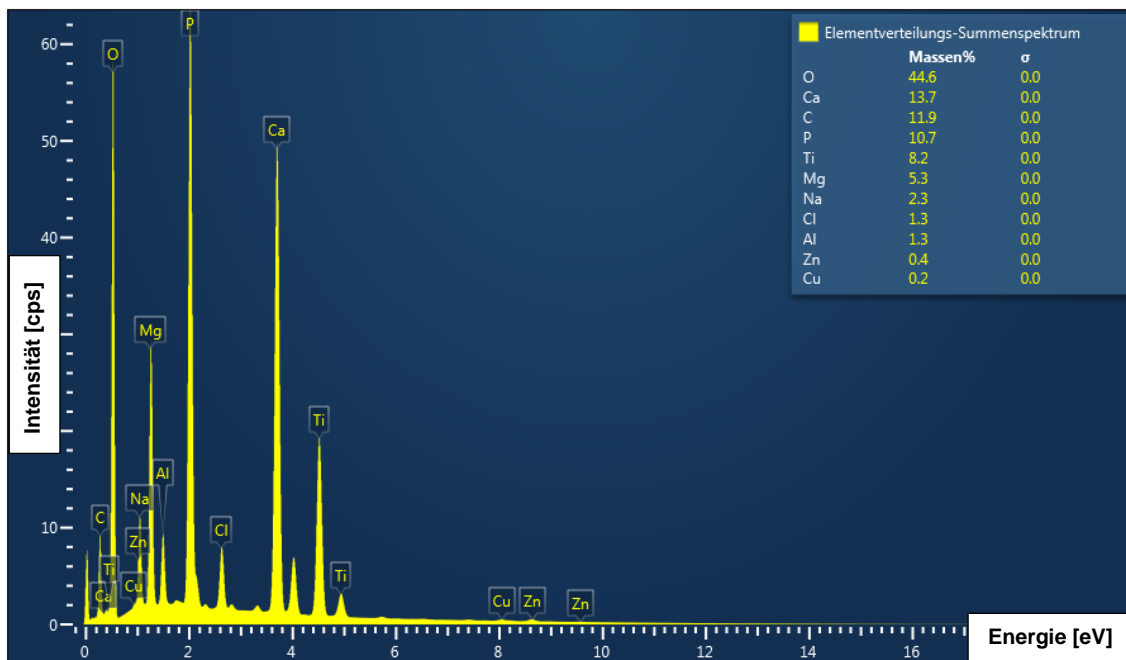


Abb. 15: Probenkörper mit Kupfer und Zink beschichtet nach der Auslagerung in DMEM. EDX-Analyse

Hervorzuheben sind die sehr geringen Anteile an Cu und Zink schon vor Beginn der Auslagerung in DMEM. Somit zeigen sich auch in den Messungen nach der

## Ergebnisse

Auslagerung keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der prozentualen Massenanteile der Elemente. Der Magnesiumgehalt, hat sich nach einer Woche annähernd halbiert, von 9,7 Massen% auf 5,3 Massen%. Die deutlichste Veränderung zeigte sich beim Calciumgehalt. Dieser hat einen Anstieg von 0,2 Massen% auf 13,7 Massen% zu verzeichnen. Erwartungsgemäß ging die Beschichtung teilweise in Lösung. Dies führte dazu, dass die ohnehin dünne Schicht an Dicke verlor und somit auch die Trägerschicht in Form von Ti zum Tragen kam.

Tab. 6: In der EDX-Analyse bestimmte Schichtzusammensetzung vor und nach der Auslagerung in DMEM. Probenkörper mit Kupfer und Zink beschichtet. Beschichtungsparameter: -40 mA (-12,82 mA/cm<sup>2</sup>); 15 min; 50 °C; gepulst (5 s on / 1 s off)

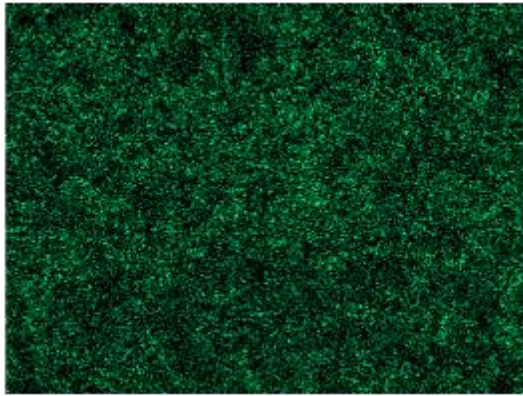
Probe	Massen% vor Auslagerung	Massen% Differenz	Massen% nach Auslagerung
Cu/Zn	0,2/0,5	0/-0,1	0,2/0,4
Cu	1,0	-0,1	0,9
Zn	1,4	-0,3	1,1
Ca	0,2	+13,5	13,7
Mg	9,7	-4,4	5,3
P	9,1	+1,6	10,7

Die Aufnahmen in folgender Abb. 16 zeigen die jeweilige Verteilung der einzelnen Elemente. Dabei ist zu erkennen, dass sich lediglich bei Al eine punktuelle Ansammlung ergibt, was aber auf Überreste des Reinigungsprozesses der Titanplättchen mit Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> zurückzuführen ist. Eine ebenfalls gleichmäßige Verteilung des Elements Ti ist zu erkennen. Dies ist ein Beleg dafür, dass hier die Oberfläche des Probenkörpers nicht oder wahrscheinlich nur sehr gering mit einer Struvitschicht bedeckt war.



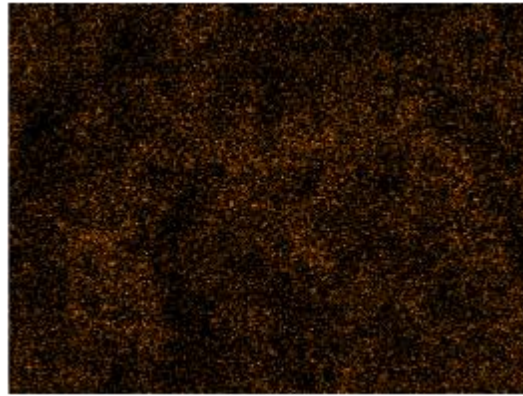
# Ergebnisse

Cu K $\alpha$ 1



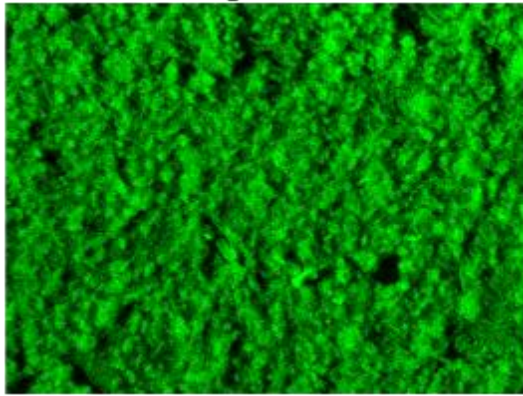
100  $\mu$ m

Zn K $\alpha$ 1



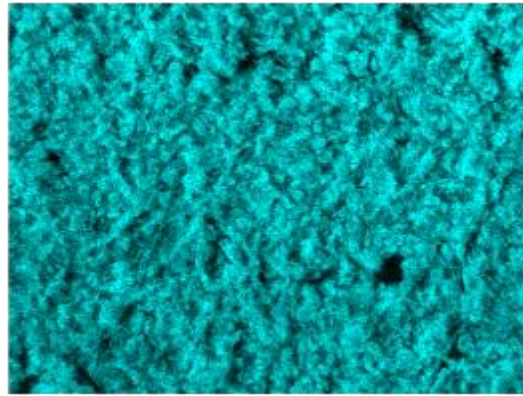
50  $\mu$ m

Mg K $\alpha$ 1\_2



100  $\mu$ m

P K $\alpha$ 1



100  $\mu$ m

## Ergebnisse

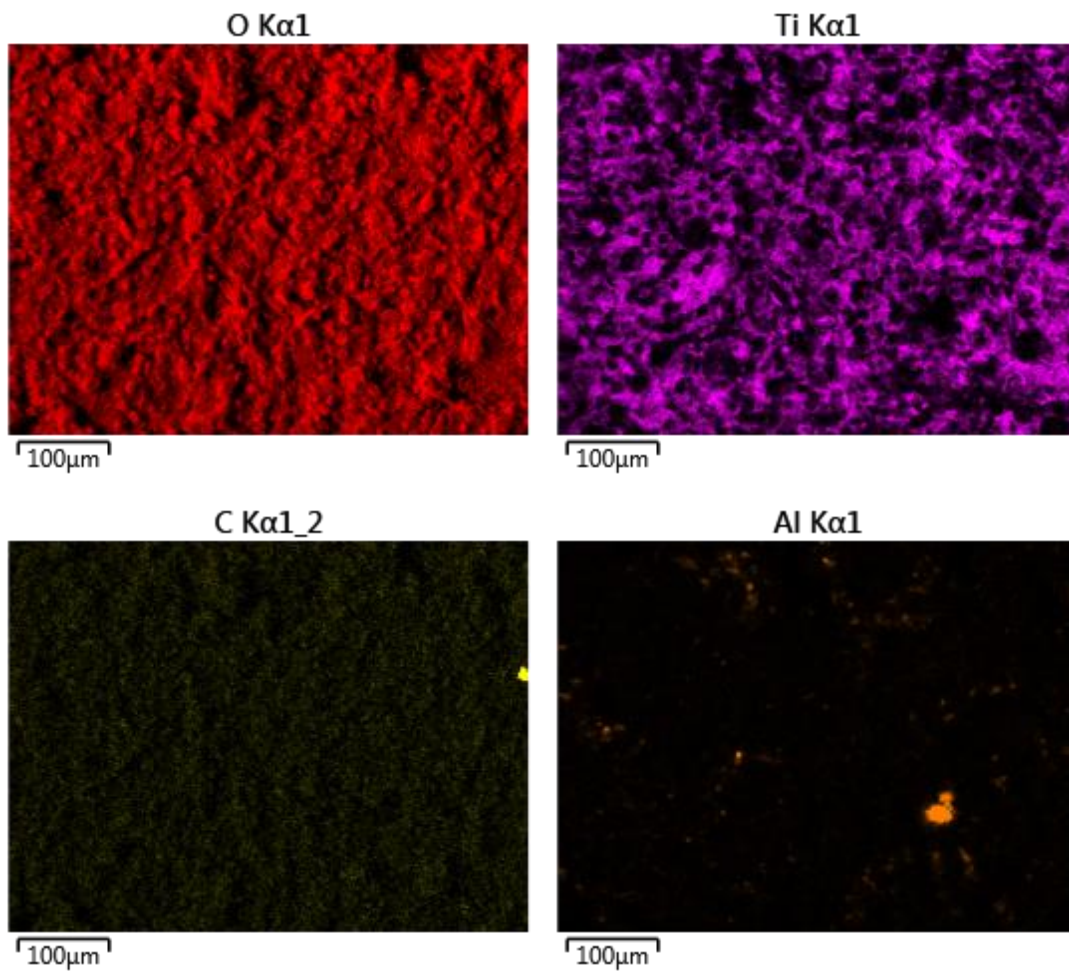


Abb 16: Durch EDX-Analyse bestimmte Elementenverteilung der Zink und Kupfer dotierten Proben nach der Auslagerung in DMEM für 7 Tage. Beschichtungsparameter: -40 mA (-12,82 mA/cm<sup>2</sup>); 15 min; 50 °C; gepulst (5 s on / 1 s off).

### 5 Diskussion

Die Zielsetzung dieser Arbeit bestand darin, eine mit Struvit beschichtete Titanoberfläche herzustellen, in welche Kupfer- und Zinkionen eingelagert wurden. Außerdem wurde die Freisetzung dieser Ionen in physiologischen Nährmedien wie SBF, FCS und DMEM über einen gewissen Zeitraum beobachtet. Mit dieser veränderten Oberfläche sollen nach Implantation beispielsweise die Einheilzeit verkürzt, entzündlichen Reaktionen entgegengewirkt, aber auch eine höhere Stabilität im Knochen erreicht werden. Hierbei erwies sich die elektrochemische Oberflächenbeschichtung mit Struvit als ein geeignetes Verfahren. Bei Temperaturen bis zu 50 °C konnten auch hydratisierte Kristallphasen abgeschieden werden.

#### 5.1 Beschichtungsdicke

Die Probenkörper aus Titan wurden in den ersten Versuchsreihen mit Struvit beschichtet. Wichtig hierbei war, eine dünne, homogene Schicht zu erzeugen. Dabei nahmen die Stromstärke (gepulst/ungepulst), die Temperatur und die Zeit der Beschichtung Einfluss auf das Ergebnis. Würden Implantate eine zu dicke Beschichtung aufweisen, so würde diese sich spätestens bei der Insertion in den Knochen ablösen und die erhoffte biologische Wirkung könnte nicht mehr zum Tragen kommen. Dies war der Fall, wenn bei Raumtemperatur beschichtet wurde. Die Temperatur des Elektrolyten wurde demzufolge kontinuierlich gesteigert. Bei 30 °C konnte eine reproduzierbare, dünne und homogene Beschichtung mit einer Schichtmasse von durchschnittlich 1400  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  erreicht werden. Eine weitere Steigerung führte lediglich zu einer Reduktion der abgeschiedenen Masse, die Homogenität blieb erhalten. Der Grund dafür besteht in der Löslichkeit von Struvit. Ariyanto [33] gab in seiner Arbeit einen optimalen Temperaturbereich von 25-35 °C für die Ausfällung von Struvit an. Bavić-Ivančić et al [105] ermittelten einen Bereich von 25-37 °C. Die eingestellten Stromdichten lagen bei -2,86  $\text{mA}/\text{cm}^2$  -3,18  $\text{mA}/\text{cm}^2$  und -3,82  $\text{mA}/\text{cm}^2$ . Erkennbar war, dass die Erhöhung der Stromdichte zu einer Zunahme der Beschichtungsdicke führte. Bei -2,86  $\text{mA}/\text{cm}^2$  fand so gut wie keine erkennbare Abscheidung an der Metalloberfläche statt. Die Stromstärke gibt an, wie viel elektrische Ladung (Q)

den Leiterquerschnitt in einem Zeitraum (t) passiert [106]. Erhöht man die Stromstärke, finden auch verstärkte Redoxreaktionen statt und damit eine stärkere Bildung von Wasserstoff und höhere Abscheidung an Struvit. Testweise wurden in dieser Arbeit auch höhere Werte für die Stromdichte verwendet, jedoch zeigte sich, dass ab 4,81 mA/cm<sup>2</sup> und höher die homogene weiße Schicht durch schwarze Bereiche ersetzt wurde. Mit zunehmender Stromstärke war auch eine vermehrte Bläschenbildung in der Umgebung der Probenkörper erkennbar. Dies störte vermutlich die homogene Beschichtung.

### 5.2 Dotierung mit Kupfer

Neben Zink ist auch Kupfer ein vielversprechender Ansatz hinsichtlich eines besseren Heilungsverlaufes und einer antibakteriellen Wirkung [107] nach einer Implantation. Bergemann et al. [40] beschichteten Implantate mit einer dünnen Schicht aus Titan-Kupfer-Nitrid, die mit Hilfe der Plasmaspritztechnik beschichtet wurden. Zusätzlich wurde noch BONIT<sup>®</sup> [108] elektrochemisch aufgebracht. Dabei handelt es sich um eine aus ca. 70 % Brushit und 30 % Hydroxylapatit bestehende Calciumphosphatschicht. Es zeigte sich zwar eine reduzierte Freisetzung an Kupfer aufgrund der BONIT<sup>®</sup>-Schicht, jedoch war dies ausreichend, um die initiale Anheftung der Osteoblasten positiv zu beeinflussen. Des Weiteren konnte auch eine wachstumshemmende Wirkung gegen *S. epidermidis* nachgewiesen werden. Ähnliche Effekte erhält man auch für Dentinadhäsive, die in der konservativen Zahnmedizin den Klebeverbund zwischen menschlichen Zahnhartgewebe und Kompositen herstellen. Versetzt man Dentinadhäsive mit 0,0075 - 1 Gew.% an Kupfer, so wird ebenfalls eine antimikrobielle Wirkung erzielt [109]. In dieser Arbeit wurden 0,2 Gew.% an Kupfer bei gleichzeitiger Beschichtung mit Zink und bei ausschließlicher Verwendung von Kupfer 1 Gew.% realisiert. Somit liegen die ermittelten Werte in diesem Bereich in den vorab genannten Studien. Im Röntgendiffraktogramm konnte vor der Auslagerungsstudie nicht nachgewiesen werden, dass sich Kupfer elementar oder als Ion in der beschichteten Titanoberfläche befindet. Wie es zu erwarten war, befand sich jedoch Struvit in der Schicht. Da diese jedoch sehr dünn war, konnten ebenfalls die charakteristischen Peaks für Titan

nachgewiesen werden. Im EDX ließ sich ebenfalls kein Unterschied zwischen einer Probe, die nur mit Struvit beschichtet wurde und einer mit Kupfer dotierten feststellen. Beide Analyseverfahren zeigen, wie gering der prozentuale Anteil an Kupfer in der beschichteten Oberfläche ist.

### 5.3 Dotierung mit Zink

Zink trägt zur Stimulation der Osteoblasten als knochenbildende Zellen bei. Ein weiterer positiver Effekt stellt die Hemmung der Osteoklasten sowie die Inhibition auf die Expression entzündungsfördernder Zytokinen dar [110], welche für Knochenresorption verantwortlich sind. Quan-ming Zhao et al. konnten eine bessere Anhaftung von Osteoblasten an die mit Calciumhydroxid beschichtete und mit Zink dotierte Oberfläche nachweisen [36]. Ferner konnte aufgrund der Wachstumshemmung von *Staphylococcus aureus* und *Escherichia coli* [63, 111] die antiinflammatorische Eigenschaft aufgezeigt werden. Jiangming Yu et al. gaben in ihrer Studie ein optimales Verhältnis an Zink zu Calcium von 0,3 bei der Beschichtung von Implantaten an [112]. Bei diesem Wert sollte sowohl die fördernde Wirkung auf Osteoblasten als auch die hemmende Wirkung auf Osteoklasten am wirkungsvollsten sein. In dieser Arbeit lag das im EDX ermittelte Verhältnis allerdings bei 2,5. Die zellulären Auswirkungen waren hingegen nicht Gegenstand der Untersuchung. Außerdem enthielt die Probe neben Zink, ebenfalls Kupfer, mit einem Verhältnis zu Calcium von 3,5. Hydroxylapatit ist gemeinhin für seine hervorragende osseoinduktive Eigenschaft bekannt. Tierversuche zeigten 4 Wochen nach einer herbeigeführten Fraktur, bei Anwendung von Zinkchlorid, höhere mechanische Festigkeit und histologisch betrachtet eine verstärkte Chondrogenese bereits nach 2 Wochen [113]. Vergleicht man nun die Proben, bei denen nur mit reinem Hydroxylapatit beschichtet wurde, mit jenen, bei denen zusätzlich Zink mit eingebracht wurde, so zeigt sich, dass die metabolische Aktivität von den Osteoblasten nochmals gesteigert werden konnte [114]. Dies hatte laut der Studie einen noch größeren Einfluss, als die Rauigkeit der Oberfläche hinsichtlich der Anhaftung der Osteoblasten. Zink weist somit einige positive Eigenschaften für eine verbesserte Implantateinheilung auf. In dieser Arbeit wurden verschiedene Nährmedien

## Diskussion

genutzt, um herauszufinden, wie groß die Menge der in Lösung gegangenen Stoffe ist. In SBF zeigte sich bei den zinkdotierten Proben in dem täglich gewechselten Nährmedium eine nicht nachzuweisende Konzentration. Zu Beginn konnte in der komplett gelösten Schicht  $245,18 \pm 0,71 \mu\text{g}$  ( $314,33 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) an Zink mit Hilfe der ICP-MS nachgewiesen werden. Am Ende der zwölf-tägigen Auslagerungsstudie waren es  $276,69 \pm 0,76 \mu\text{g}$  ( $354,73 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Dieses Ergebnis lässt zwei verschiedene Schlüsse zu. Erstens besteht die Möglichkeit, dass während dieser Zeit so gut wie kein Zink in Lösung gegangen ist. Zweitens könnte sich aber auch ein geringer Anteil an Zinkionen aus dem Nährmedium in die beschichtete Oberfläche eingelagert haben. Die Auslagerung in FCS über einen Zeitraum von 8 Tagen führte zu einem ähnlichen Ergebnis. Die dritte Auslagerungsstudie fand in DMEM statt. Am ersten Tag ergab die Konzentration der in Lösung gegangenen Zinkionen  $2,29 \pm 0,71 \mu\text{g}$  ( $2,94 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ), am zweiten Tag waren es  $2,45 \pm 0,74 \mu\text{g}$  ( $3,14 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) und am dritten  $1,53 \pm 0,88 \mu\text{g}$  ( $1,96 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ). Die verbliebenen vier Messungen ergaben eine nicht nachzuweisende Menge an Zink. Diese Ergebnisse korrelieren mit der Konzentration, welche ohne Mediumwechsel gemessen wurde. Sie lag bei  $5,97 \mu\text{g}$  ( $7,65 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).  $134,14 \mu\text{g}$  ( $171,97 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) befanden sich insgesamt in der beschichteten Oberfläche. Dies verdeutlicht, welche geringe Menge über den einwöchigen Zeitraum in Lösung gegangen ist. Hierbei stellt sich die Frage, inwieweit und in welchen Konzentrationen die Abgabe der Ionen an die Umgebung über einen längeren Zeitraum sich darstellen würde. Eine Toxizität für den menschlichen Organismus ist dabei unwahrscheinlich. Betrachtet man die Konzentration an Zink im Blutplasma, welche bei  $0,73 - 1,27 \text{ mg}/\text{L}$  (Männer) sowie bei  $0,7 - 1,14 \text{ mg}/\text{L}$  (Frauen) [115] liegt und vergleicht diese mit der Konzentration an Zink in  $0,01 \text{ L}$  Flüssigkeit vom ersten Tag der Auslagerung, welche  $0,229 \text{ mg}/\text{L}$  betrug, so ist dieser Beitrag zur Erhöhung der Zinkkonzentration im Körper verschwindend gering. Würde es sich bei der beschichteten Probe um ein beschichtetes Implantat im Knochenlager handeln, so beschränkt sich die positive Wirkung von Zink lediglich auf die direkte Umgebung. Kawamura et al. [76] fanden heraus, dass die optimale Konzentration an Zink, welche zur Stimulation der Osteoblasten und somit zur Knochenneubildung beiträgt, bei  $0,316 \text{ Gew.}\%$  der

Calciumphosphatschicht liegt. In dieser Arbeit lag der Anteil an Zink laut der EDX-Messung allerdings bei 1,4 Gew.%. Befanden sich jedoch Zink und Kupfer im Elektrolyten, sank dieser Wert auf 0,5 Gew.% und kommt damit dem optimalen Anteil an Zink der Beschichtung schon ziemlich nahe.

### **5.4 Dotierung mit Kupfer und Zink**

Die Eigenschaften sowohl von Kupfer als auch Zink wurden bereits in den vorangegangenen Abschnitten näher beschrieben und deren jeweiligen Vorteile dargestellt. Besonders die antimikrobielle Wirkung nimmt hierbei einen großen Stellenwert ein, da der postoperative Verlust von Implantaten überwiegend einer entzündlichen Reaktion geschuldet ist. Zielsetzung dieser Arbeit war es, beide Stoffe in einer dünnen, homogenen Schicht aus Struvit zu integrieren, um damit eine Titanoberfläche zu beschichten und somit einer Periimplantitis entgegenzuwirken. Dieser Punkt stellte sich jedoch als die größte Herausforderung dar. Wurden beide Elemente gleichzeitig dem Elektrolyten hinzugefügt und die Parameter für die Beschichtung verwendet, welche zuvor bei reiner Struvitbeschichtung ermittelt worden waren, so zeigte sich keine Homogenität der Oberfläche. Es kam zu größeren Akkumulationen an weißen Strukturen und teilweise zu glatten, schwarzen Bereichen auf dem Titanplättchen. Eine Temperaturerhöhung von 30 °C auf 50 °C führte dann zum gleichen Ergebnis wie eine reine Struvitbeschichtung bei 30 °C.

Kupfer und Zink in Verbindung mit Hydroxylapatit eignen sich nicht nur zur Beschichtung von Implantaten, sondern fanden auch im „bone tissue engineering“ (BTE) Verwendung [116]. Die Herstellung des Knochenersatzmaterials fand ebenfalls bei 50 °C statt. Anschließend wurden Fibroblasten von einer Maus hinzugefügt. In der histologischen Untersuchung zeigte sich eine sehr gute Biokompatibilität, Zelldifferenzierung sowie eine geringe Aktivität der alkalischen Phosphatase, welche als Grad der entzündlichen Aktivität im Gewebe anzusehen ist. Auch die Vaskularisation war gegeben. Es zeigte sich somit, dass Kupfer und Zink einen positiven Effekt auf den Einheilungsverlauf besitzen.

## **5.5 Klinische Relevanz und Zukunft der Implantatoberflächenmodifikation durch elektrochemische Beschichtung**

Idealerweise sollte eine Oberfläche eines in den Knochen eingebrachten Implantats verschiedene Eigenschaften vereinen. Der chirurgische Eingriff führt zwangsläufig zur Anwesenheit von Bakterien im umliegenden Knochengewebe. Antibiotikaresistente Keime werden mitunter nicht effektiv durch eine einmalige systemische Antibiotikagabe bekämpft und somit besteht eine erhebliche Gefahr der Ausbildung einer Osteomyelitis. Deshalb sollte das Material kontinuierlich antibiotisch wirkende bzw. die Osteogenese unterstützende Stoffe über einen längeren Zeitraum hinweg an das umgebende Gewebe abgeben und dabei ein möglichst breites Spektrum an diversen Bakterienformen abdecken. Ein optimales Ergebnis beinhaltet dementsprechend eine Zunahme an lokaler Knochenmasse. Die Auslagerung in DMEM lieferte folgende Erkenntnisse hinsichtlich der kontinuierlichen Abgabe sowohl von Kupfer- als auch von Zinkionen. Befanden sich beide Ionen in der Schicht, so wurden 43 % der zu Beginn vorhandenen Menge an Kupfer (Cu63: 132,33 µg; Cu65: 133,90 µg) und 9 %, bzw. 7 % an Zink (Zn66: 112,90 µg; Zn68: 112,44 µg) freigesetzt. Kupfer wurde dementsprechend innerhalb einer Woche annähernd zur Hälfte verbraucht, während Zink über einen weitaus längeren Zeitraum zur Verfügung stand. Eine langfristige Freisetzung ist zwar gewünscht, nur bleibt zu überprüfen, inwieweit die daraus resultierende geringe Menge, welche täglich zur Verfügung steht, ihre geforderte antibakterielle Wirkung erfüllen kann.

Die elektrochemische Beschichtungstechnik stellt eine kostengünstige Variante dar, um mit relativ geringem apparativen Aufwand, größere Mengen an beschichteten Implantaten herzustellen. Die DOT GmbH nutzt zum Beispiel dieses Verfahren für die Beschichtung orthopädischer und dentaler BONIT®-Implantate. Die Schicht beinhaltet sowohl Brushit als auch feinkristallines Hydroxylapatit [108, 117]. Im Vergleich zu Hochtemperaturverfahren können hier auch temperatursensitive Stoffe eingesetzt werden. Das können sowohl Stoffe sein, welche die Knochenneubildung fördern, wie beispielsweise Struvit, als auch Antibiotika [90, 118], die bei großer Hitze ihre chemische Struktur verändern



## Diskussion

könnten und damit ihre Wirkung verlieren würden. Im Bereich tissue engineering wird an immer neuen Möglichkeiten geforscht. Mit Hilfe von Laser (direct laser writing) oder 3D-Druckverfahren lassen sich so Mikrostrukturen erzeugen, welche eine proteinbindende Oberfläche besitzen bzw. selbst für eine biologische Beschichtung mit Proteinen geeignet sind [119]. Hier wäre es denkbar, diese künstlich hergestellten Mikrostrukturen schon im Vorfeld in eine mit Proteinen oder Zellen versehene Beschichtung von Implantaten zu integrieren, um eine schnellere und komplikationsärmere Einheilung des Implantats zu erreichen.

### 6 Zusammenfassung

Titanimplantate werden schon lange erfolgreich in der Zahnmedizin eingesetzt. Das Einbringen eines Fremdkörpers in den Körper ist immer mit dem Setzen einer Wunde und einer Einheilphase verbunden. Durch Aufbringen einer mit Zink und Kupfer dotierten Struvitschicht auf der Oberfläche des Implantates können entzündliche Prozesse minimiert, oder sogar verhindert werden. Dies führt zu einer kürzeren Einheilzeit im Körper und senkt das Risiko des Verlustes durch Besiedelung mit Bakterien erheblich.

Zielsetzung dieser Arbeit war eine dünne, homogene Beschichtung von Titanprobenkörpern mit Struvit, welche sowohl Kupferionen und/oder Zinkionen enthält. Diese wurde mit Hilfe der elektrochemischen Abscheidung generiert. Dem Basiselektrolyten wurden in den Versuchsreihen unterschiedliche Konzentrationen an Kupfer-(II)-nitrat-3-hydrat- und/oder Zinknitrat-6-hydratlösung hinzugefügt. Je nach gewünschter Schichtdicke wurden gepulste Stromstärken im Bereich von  $-4,8 \text{ mA/cm}^2$  und  $-6,75 \text{ mA/cm}^2$  verwendet. Die Temperatur betrug  $50 \text{ }^\circ\text{C}$  und die Zeit für die Abscheidung wurde auf 15 min festgelegt. Diese Parameter stellten sich hinsichtlich der Masse und der Homogenität der Schichten als optimal dar. Es konnten keinerlei Unterschiede in den Röntgendiffraktogrammen zwischen ausschließlich mit Struvit beschichteten und den mit Kupfer und Zink dotierten Proben festgestellt werden. Die tatsächlich vorhandenen Mengen an Kupfer und Zink waren zu gering, als dass sie durch charakteristische Peaks detektiert werden konnten. Lediglich die für Struvit typischen Peaks waren in allen Proben erkennbar. Aufgrund der Umwandlungsvorgänge während der Auslagerungsstudie gingen die Intensitäten der Struvitpeaks in den Röntgendiffraktogrammen zurück, wobei makroskopisch kein Unterschied zu erkennen war. Alle Proben wiesen zu jedem Zeitpunkt der Auslagerung eine weiße, homogene Schicht auf.

Die beschichteten Titanplättchen wurden sowohl in SBF (12 Tage), als auch in FCS (8 Tage) eingelagert. Dabei fand ein täglicher Nährmediumwechsel statt. Des Weiteren wurde die Schicht jeweils von einer Probe vor und nach der Auslagerung in Salzsäure aufgelöst und der Analyse im ICP-MS zugeführt, um

## Zusammenfassung

die Gesamtmenge der abgeschiedenen Menge an Cu und Zn zu ermitteln. Die gewählten Medien stellten sich bei der sehr geringen Konzentration an Cu und Zn als nicht vorteilhaft dar, teilweise befanden sich durch Adsorptionsprozesse bedingt in der Schicht am Ende mehr Ionen als zu Beginn. Die dritte Auslagerungsstudie fand in DMEM über einen Zeitraum von einer Woche statt. Die Proben beinhalteten jeweils um die 8 µg an Kupfer und 8µg an Zink. Der größte Anteil, der in Lösung gegangenen Ionen, fand in den ersten drei Tagen statt, wobei lediglich Kupfer ein messbares Ergebnis lieferte. Bei den mit Kupfer und Zink dotierten Plättchen waren es 1,69 µg Cu63 (Tag 1), 0,68 µg Cu63 (Tag 2) und 0,33 µg Cu63 (Tag 3). Wurde nur mit Kupfer dotiert, lagen die Werte bei 2,72 µg Cu63 (Tag 1), 1,08 µg Cu63 (Tag 3). Das CaMgCuZn/P-Verhältnis betrug im EDX gemessen 1,22 vor und 1,83 nach der Auslagerung in DMEM.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, wie man Titanoberflächen mit Hilfe der elektrochemischen Abscheidung beschichten kann. Der Fokus lag hierbei auf der Einbringung der antimikrobiell wirksamen Kupfer- und Zinkionen in die Struvitschicht, die Herstellung einer dünnen homogenen Schicht auf den Titanplättchen und das Freisetzungsverhalten in physiologischen Nährmedien. Es bedarf weiterführender *in vivo* Untersuchungen, ob die dargelegten und angenommenen positiven Eigenschaften der Kombination aus Struvit, Kupfer und Zink, sich auch biologisch *in vitro* und *in vivo* nachweisen lassen.

## 7 Literaturverzeichnis

1. N.U. Zitzmann, "Die Folgen der Zahnlosigkeit für das Individuum". Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift, **2004**. 11: p. 617-625.
2. E.B. Øzhayat, S. Åkerman, N. Lundegren, and B. Öwall, "Patients' experience of partial tooth loss and expectations to treatment: a qualitative study in Danish and Swedish patients". Journal of Oral Rehabilitation, **2015**. 43(3): p. 1-8.
3. P. Schopf, "Extraktionsfolgen unter Kontrolle des Panorama-Röntgenbildes". Fortschritte der Kieferorthopädie, **1968**. 29(1): p. 79-88.
4. H. Al-Imam, E.B. Özhayat, A.R. Benetti, A.M.L. Pedersen, and K. Gotfredsen, "Oral health-related quality of life and complications after treatment with partial removable dental prosthesis". Journal of Oral Rehabilitation, **2015**. 43(1): p. 23-30.
5. D. Edelhoff and J.A. Sorensen, "Tooth structure removal associated with various preparation designs for anterior teeth". The Journal of Prosthetic Dentistry, **2002**. 87(5): p. 503-509.
6. B.D. Boyan, T.W. Hummert, D.D. Dean, and Z. Schwartz, "Role of material surfaces in regulating bone and cartilage cell response". Biomaterials, **1996**. 17(2): p. 137-146.
7. S.G. Steinemann, "Titanium - the material of choice?". Periodontol 2000, **1998**. 17: p. 7-21.
8. C. Aparicio, F.J. Gil, C. Fonseca, M. Barbosa, and J.A. Planell, "Corrosion behaviour of commercially pure titanium shot blasted with different materials and sizes of shot particles for dental implant applications". Biomaterials, **2003**. 24(2): p. 263-273.
9. Y.T. Sul, C.B. Johansson, Y. Jeong, K. Roser, A. Wennerberg, and T. Albrektsson, "Oxidized implants and their influence on the bone response". J Mater Sci Mater Med, **2001**. 12(10-12): p. 1025-1031.
10. L. Le Guehennec, A. Soueidan, P. Layrolle, and Y. Amouriq, "Surface treatments of titanium dental implants for rapid osseointegration". Dent Mater, **2007**. 23(7): p. 844-854.
11. G. Mendonca, D.B. Mendonca, F.J. Aragao, and L.F. Cooper, "Advancing dental implant surface technology--from micron- to nanotopography". Biomaterials, **2008**. 29(28): p. 3822-3835.
12. A. Wennerberg and T. Albrektsson, "Effects of titanium surface topography on bone integration: a systematic review". Clinical Oral Implants Research, **2009**. 20(4): p. 172-184.
13. A. Wennerberg, C. Hallgren, C. Johansson, and S. Danelli, "A histomorphometric evaluation of screw-shaped implants each prepared

- with two surface roughnesses*". Clinical Oral Implants Research, **1998**. 9(1): p. 11-19.
14. B.H. Lee, Y. Do Kim, J.H. Shin, and K. Hwan Lee, "*Surface modification by alkali and heat treatments in titanium alloys*". Journal of Biomedical Materials Research, **2002**. 61(3): p. 466-473.
  15. P.R. Klokkevold, R.D. Nishimura, M. Adachi, and A. Caputo, "*Osseointegration enhanced by chemical etching of the titanium surface. A torque removal study in the rabbit*". Clinical Oral Implants Research, **1997**. 8(6): p. 442-447.
  16. A. Wennerberg, T. Albrektsson, B. Andersson, and J.J. Krol, "*A histomorphometric and removal torque study of screw-shaped titanium implants with three different surface topographies*". Clin Oral Implants Res, **1995**. 6(1): p. 24-30.
  17. D. Buser, T. Nydegger, T. Oxland, D.L. Cochran, R.K. Schenk, H.P. Hirt, D. Snetivy, and L.P. Nolte, "*Interface shear strength of titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a biomechanical study in the maxilla of miniature pigs*". J Biomed Mater Res, **1999**. 45(2): p. 75-83.
  18. A. Moroni, V.L. Caja, C. Sabato, E.L. Egger, F. Gottsauner-Wolf, and E.Y.S. Chao, "*Bone ingrowth analysis and interface evaluation of hydroxyapatite coated versus uncoated titanium porous bone implants*". Journal of Materials Science: Materials in Medicine, **1993**. 5(6-7): p. 411-416.
  19. R.K. Schenk and D. Buser, "*Osseointegration: a reality*". Periodontology 2000, **1998**. 17: p. 22-35.
  20. P. Mandracci, F. Mussano, P. Rivolo, and S. Carossa, "*Surface Treatments and Functional Coatings for Biocompatibility Improvement and Bacterial Adhesion Reduction in Dental Implantology*". Coatings, **2016**. 6(1): p. 7-16.
  21. A. Besinis, S.D. Hadia, H.R. Le, C. Tredwin, and R.D. Handy, "*Antibacterial activity and biofilm inhibition by surface modified titanium alloy medical implants following application of silver, titanium dioxide and hydroxyapatite nanocoatings*". Nanotoxicology, **2017**. 11(3): p. 327-338.
  22. Z.-l. Wang, R.-z. He, B. Tu, X. Cao, J.-s. He, H.-s. Xia, C. Liang, M. Zou, S. Wu, Z.-j. Wu, and K. Xiong, "*Enhanced biocompatibility and osseointegration of calcium titanate coating on titanium screws in rabbit femur*". Journal of Huazhong University of Science and Technology [Medical Sciences], **2017**. 37(3): p. 362-370.
  23. J. Raphel, M. Holodniy, S.B. Goodmand, and S.C. Heilshorn, "*Multifunctional coatings to simultaneously promote osseointegration and prevent infection of orthopaedic implants*". Biomaterials, **2016**. 84: p. 301-314.
  24. M.I. Baker, A.W. Eberhardt, D.M. Martin, G. McGwin, and J.E. Lemons, "*Bone properties surrounding hydroxyapatite-coated custom osseous*

- integrated dental implants*". Journal of Biomedical Materials Research **2010**. 95(1): p. 218-224.
25. P. Fauchais, "*Understanding plasma spraying*". Journal of Physics D: Applied Physics, **2004**: p. 86-108.
  26. H. Huang, P.-H. Lan, Y.-Q. Zhang, X.-K. Li, X. Zhang, C.-F. Yuan, X.-B. Zheng, and Z. Guo, "*Surface characterization and in vivo performance of plasma-sprayed hydroxyapatite-coated porous Ti6Al4V implants generated by electron beam melting*". **2015**. 283: p. 80-88.
  27. T.J. Levingstone, M. Ardhaoui, K. Benyounis, L. Looney, and J.T. Stokes, "*Plasma sprayed hydroxyapatite coatings: Understanding process relationships using design of experiment analysis*". **2015**. 283: p. 29-36.
  28. D. Ke, S.F. Robertson, W.S. Dernel, A. Bandyopadhyay, and S. Bose, "*Effects of MgO and SiO<sub>2</sub> on Plasma-Sprayed Hydroxyapatite Coating: An in Vivo Study in Rat Distal Femoral Defects*". ACS Applied Materials & Interfaces, **2017**: p. 25731-2737.
  29. D. Navarro da Rocha, L. Rosa de Oliveira Cruz, D.Q. Mijares, R.L. Santana Blazutti Marçal, J. Brant de Campos, P.G. Coelho, and M.H. Prado da Silva, "*Temperature Influence on the Calcium Phosphate Coatings by Chemical Method*". Key Engineering Materials, **2016**. 720: p. 197-200.
  30. E.S. Chikanova, O.A. Golovanova, T.V. Malikova, and M.V. Kuimova, "*Thermal stability of brushite with chitosan samples*". IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, **2017**: p. 1-7.
  31. J. Redepenning, T. Schlessinger, S. Burnham, L. Lippiello, and J. Miyano, "*Characterization of electrolytically prepared brushite and hydroxyapatite coatings on orthopedic alloys*". J Biomed Mater Res, **1996**. 30(3): p. 287-94.
  32. C. Moseke, W. Braun, and A. Ewald, "*Electrochemically Deposited Ca(OH)<sub>2</sub> Coatings as a Bactericidal and Osteointegrative Modification of Ti Implants*". Engineering Materials, **2009**. 11(3): p. B1-B6.
  33. E. Ariyanto, "*Crystallisation and Dissolution Studies of Struvite in Aqueous Solutions*". **2013**.
  34. H. Antoun, M. Karouni, J. Abitbol, O. Zouiten, and T. Jemt, "*A retrospective study on 1592 consecutively performed operations in one private referral clinic. Part I: Early inflammation and early implant failures*". Clinical Implant Dentistry and Related Research, **2017**. 19(3): p. 404-412.
  35. E.H. Abdulkareem, K. Memarzadeh, R.P. Allaker, J. Huang, J. Pratten, and D. Spratt, "*Anti-biofilm activity of zinc oxide and hydroxyapatite nanoparticles as dental implant coating materials*". Journal of Dentistry, **2015**. 43(12): p. 1462-1469.
  36. Q.-M. Zhao, G.-Z. Li, H.-M. Zhu, and L. Cheng, "*Study on Effects of Titanium Surface Microporous Coatings Containing Zinc on Osteoblast*

- Adhesion and Its Antibacterial Activity*". Applied Bionics and Biomechanics, **2017**. 2017: p. 1-4.
37. L. Zhao, P.K. Chu, Y. Zhang, and Z. Wu, "Review *Antibacterial Coatings on Titanium Implants*". Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, **2009**. 91B(1): p. 470-480.
38. M.A. Surmeneva, A.A. Sharonova, S. Chernousova, O. Prymak, K. Loza, M.S. Tkachev, I.A. Shulepov, M. Epple, and R.A. Surmenev, "Incorporation of silver nanoparticles into magnetron-sputtered calcium phosphate layers on titanium as an antibacterial coating". Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, **2017**. 156: p. 104-113.
39. C. Prinz, M. Elhensheri, J. Rychly, and H.G. Neumann, "Antimicrobial and bone-forming activity of a copper coated implant in a rabbit model". J Biomater Appl, **2017**. 32(2): p. 139-149.
40. C. Bergemann, S. Zaatreh, K. Wegner, K. Arndt, A. Podbielski, R. Bader, C. Prinz, U. Lembke, and J.B. Nebe, "Copper as an alternative antimicrobial coating for implants - An in vitro study". World Journal of Transplantation, **2017**. 7(3): p. 193-202.
41. C.J. McCullough, D. Remedios, G. Tytherleigh-Strong, J. Hua, and P.S. Walker, "The use of hydroxyapatite-coated CAD-CAM femoral components in adolescents and young adults with inflammatory polyarthropathy: ten-year results". J Bone Joint Surg Br, **2006**. 88(7): p. 860-4.
42. G. Mestres and M.-P. Ginebra, "Novel magnesium phosphate cements with high early strength and antibacterial properties". Acta Biomaterialia, **2011**. 7(4): p. 1853-1861.
43. Y. Yu, J. Wang, C. Liu, B. Zhang, H. Chen, H. Guo, G. Zhong, W. Qu, S. Jiang, and H. H., "Evaluation of inherent toxicology and biocompatibility of magnesium phosphate bone cement". Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, **2010**. 76(2): p. 496-504.
44. F.C.M. Driessens, M.G. Boltong, R. Wenz, and J. Meyer, "Calcium Phosphates as Fillers in Struvite Cements ". Key Engineering Materials, **2005**. 284-286: p. 161-164.
45. U. Klammert, A. Ignatius, U. Wolfram, T. Reuther, and U. Gbureck, "In vivo degradation of low temperature calcium and magnesium phosphate ceramics in a heterotopic model". Acta Biomaterialia, **2011**. 7(9): p. 3469-3475.
46. D.A. Puleo, L.A. Holleran, R.H. Doremus, and R. Bizios, "Osteoblast responses to orthopedic implant materials in vitro". Journal of Biomedical Materials Research, **1991**. 25(6): p. 711-723.
47. U. Gbureck and R. Thull, "Tribochemische TiO<sub>2</sub>-Beschichtungen ". BIOMaterialien, **2001**.

48. A. Wennerberg, T. Albrektsson, C. Johansson, and B. Andersson, "*Experimental study of turned and grit-blasted screw-shaped implants with special emphasis on effects of blasting material and surface topography*". *Biomaterials*, **1996**. 17(1): p. 15-22.
49. B.W. Darvell, N. Samman, W.K. Luk, R.K. Clark, and H. Tideman, "*Contamination of titanium castings by aluminium oxide blasting*". *Journal of Dentistry*, **1995**. 23(5): p. 319-322.
50. A. Piattelli, L. Manzon, A. Scarano, M. Paolantonio, and M. Piattelli, "*Histologic and Histomorphometric Analysis of the Bone Response to Machined and Sandblasted Titanium Implants: An Experimental Study in Rabbits*". *Int J Oral Maxillofac Implants* **1998**. 13(6): p. 805-810.
51. D. Buser, R.K. Schenk, S. Steinemann, J.P. Fiorellini, C.H. Fox, and H. Stich, "*Influence of surface characteristics on bone integration of titanium implants. A histomorphometric study in miniature pigs*". *Journal of Biomedical Materials Research*, **1991**. 25(7): p. 889-902.
52. D.L. Cochran, R.K. Schenk, A. Lussi, F.L. Higginbottom, and D. Buser, "*Bone response to unloaded and loaded titanium implants with a sandblasted and acid-etched surface: a histometric study in the canine mandible*". *Journal of Biomedical Materials Research*, **1998**. 40(1): p. 1-11.
53. D. Buser, N. Broggini, M. Wieland, R.K. Schenk, A.J. Denzer, D.L. Cochran, B. Hoffmann, A. Lussi, and S.G. Steinemann, "*Enhanced bone apposition to a chemically modified SLA titanium surface*". *Journal of Dental Research*, **2004**. 83(7): p. 529-533.
54. W.R. Walsh, N. Bertollo, C. Christou, D. Schaffner, and R.J. Mobbs, "*Plasma-sprayed titanium coating to polyetheretherketone improves the bone-implant interface*". *The Spine Journal*, **2015**. 15(5): p. 1041-1049.
55. R.S. Pillai, M. Frasnelli, and V.M. Sglavo, "*HA/ $\beta$ -TCP plasma sprayed coatings on Ti substrate for biomedical applications*". *Ceramics International*, **2018**. 44(2): p. 1328-1333.
56. V.F. Shamray, V.P. Sirotinkin, I.V. Smirnov, V.I. Kalita, A.Y. Fedotov, S.M. Barinov, and V.S. Komlev, "*Structure of the hydroxyapatite plasma-sprayed coatings deposited on pre-heated titanium substrates*". *Ceramics International*, **2017**. 43(12): p. 9105-9109.
57. S. Dong, J. Zeng, L. Li, J. Suna, X. Yang, and H. Liao, "*Significance of in-situ dry-ice blasting on the microstructure, crystallinity and bonding strength of plasma-sprayed hydroxyapatite coatings*". *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, **2017**. 71: p. 136-147.
58. N. Tan, Z.-g. Xing, X.-l. Wang, H.-d. Wang, G. Jin, S.-y. Chen, and B.-s. Xu, "*Deposition mechanism of plasma sprayed droplets on textured surfaces with different diameter-to-distance ratios*". *Materials & Design*, **2017**. 133: p. 19-29.



59. G.A. Fielding, M. Roy, A. Bandyopadhyay, and S. Bose, "*Antibacterial and biological characteristics of silver containing and strontium doped plasma sprayed hydroxyapatite coatings*". *Acta Biomaterialia*, **2012**. 8(8): p. 3144-3152.
60. M. Khorasanian, A. Dehghan, M.H. Shariat, M.E. Bahrololoom, and S. Javadpour, "*Microstructure and wear resistance of oxide coatings on Ti-6Al-4V produced by plasma electrolytic oxidation in an inexpensive electrolyte*". *Surface and Coatings Technology*, **2011**. 206(6): p. 1495-1502.
61. K.R. Shin, Y.G. Ko, and D.H. Shin, "*Effect of electrolyte on surface properties of pure titanium coated by plasma electrolytic oxidation*". *Journal of Alloys and Compounds*, **2011**. 509(1): p. 478-481.
62. J.M. Wheeler, C.A. Collier, J.M. Paillard, and J.A. Curran, "*Evaluation of micromechanical behaviour of plasma electrolytic oxidation (PEO) coatings on Ti-6Al-4V*". *Surface and Coatings Technology*, **2010**. 204(21-22): p. 3399-3409.
63. B.M. Hidalgo-Robatto, M. López-Álvarez, A.S. Azevedo, J. Dorado, J. Serra, N.F. Azevedo, and P. González, "*Pulsed laser deposition of copper and zinc doped hydroxyapatite coatings for biomedical applications*". *Surface and Coatings Technology*, **2018**. 333: p. 168-177.
64. L. Floroian, D. Craciun, G. Socol, G. Dorcioman, M. Socol, M. Badea, and V. Craciun, "*Titanium implants' surface functionalization by pulsed laser deposition of TiN, ZrC and ZrN hard films*". *Applied Surface Science*, **2017**. 417: p. 175-182.
65. G.C. Gomes, F.F. Borghia, R.O. Ospina, E.O. López, F.O. Borges, and A.Mello, "*Nd:YAG (532 nm) pulsed laser deposition produces crystalline hydroxyapatite thin coatings at room temperature*". *Surface and Coatings Technology*, **2017**. 329: p. 174-183.
66. F. Böke, I. Giner, A. Keller, G. Grundmeier, and H. Fischer, "*Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition (PE-CVD) yields better Hydrolytical Stability of Biocompatible SiO<sub>x</sub> Thin Films on Implant Alumina Ceramics compared to Rapid Thermal Evaporation Physical Vapor Deposition (PVD)*". *Applied Materials & Interfaces*, **2016**. 8(28): p. 17805-17816.
67. TU Braunschweig, "*CVD-Verfahren*". **2008**.
68. S.W. Park, D. Lee, H.R. Lee, H.-J. Moon, B.R. Lee, W.-K. Ko, S.-J. Song, S.-J. Lee, K. Shin, W. Jang, J.-K. Yi, S.G. Im, and I.-K. Kwon, "*Generation of functionalized polymer nanolayer on implant surface via initiated chemical vapor deposition (iCVD)*". *Journal of Colloid and Interface Science*, **2015**. 439(3): p. 34-41.
69. B. Rahmati, A.A.D. Sarhan, W.J. Bsiron, and W.A.B.W. Abas, "*Ceramic tantalum oxide thin film coating to enhance the corrosion and wear characteristics of Ti6Al4V alloy*". *Journal of Alloys and Compounds*, **2016**. 676(1): p. 369-376.

70. Y.-T. Sul, C.B. Johansson, S. Petronis, A. Krozerd, Y. Jeong, A. Wennerberg, and T. Albrektsson, "*Characteristics of the surface oxides on turned and electrochemically oxidized pure titanium implants up to dielectric breakdown: the oxide thickness, micropore configurations, surface roughness, crystal structure and chemical composition*". *Biomaterials*, **2002**. 23(2): p. 491-501.
71. X. Cui, H.-M. Kim, M. Kawashita, L. Wang, T. Xiong, T. Kokubo, and T. Nakamura, "*Preparation of bioactive titania films on titanium metal via anodic oxidation*". *Dental Materials*, **2009**. 25(1): p. 80-86.
72. C.-J. Ivanoff, G. Widmark, C. Johansson, and A. Wennerberg, "*Histologic Evaluation of Bone Response to Oxidized and Turned Titanium Microimplants in Human Jawbone*". *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, **2003**. 18(3): p. 341-348.
73. M.C. Kuo and S.K. Yen, "*The process of electrochemical deposited hydroxyapatite coatings on biomedical titanium at room temperature*". *Materials Science and Engineering*, **2002**. 20(1-2): p. 153-160.
74. A. Dehghanghadikolaei and B. Fotovvati, "*Coating Techniques for Functional Enhancement of Metal Implants for Bone Replacement: A Review*". *materials* **2019**. 12(11): p. 1795.
75. A.R. Boccaccini, S. Keim, R. Ma, Y. Li, and I. Zhitomirsky, "*Electrophoretic deposition of biomaterials*". *J. R. Soc. Interface*, **2010**. 7: p. 581-613.
76. H. Kawamura, A. Ito, S. Miyakawa, P. Layrolle, K. Ojima, N. Ichinose, and T. Tateishi, "*Stimulatory effect of zinc-releasing calcium phosphate implant on bone formation in rabbit femora*". *Journal of Biomedical Materials Research*, **2000**. 50(2): p. 184-190.
77. H. Kawamura, A. Ito, T. Muramatsu, S. Miyakawa, N. Ochiai, and T. Tateishi, "*Long-term implantation of zinc-releasing calcium phosphate ceramics in rabbit femora*". *Journal of Biomedical Materials Research*, **2003**. 65(4): p. 468-474.
78. S. Hesaraki, R. Nemati, and H. Nazarian, "*Physico-chemical and in vitro biological study of zincdoped calcium sulfate bone substitute*". *Journal of Biomedical Materials Research* **2009**. 91(1): p. 37-45.
79. M. Yamaguchi and R. Yamaguchi, "*Action of zinc on bone metabolism in rats. Increases in alkaline phosphatase activity and DNA content*". *Biochemical Pharmacology*, **1986**. 35(5): p. 773-777.
80. S.L. Hall, H.P. Dimai, and J.R. Farley, "*Effects of zinc on human skeletal alkaline phosphatase activity in vitro*". *Calcified Tissue International*, **1999**. 64(2): p. 163-172.
81. S. Kishi and M. Yamaguchi, "*Inhibitory effect of zinc compounds on osteoclast-like cell formation in mouse marrow cultures*". *Biochemical Pharmacology*, **1994**. 48(6): p. 1225-1230.

## Literaturverzeichnis

82. B.S. Moonga and D.W. Dempster, "*Zinc is a potent inhibitor of osteoclastic bone resorption in vitro*". Journal of Bone and Mineral Research, **1995**. 10(3): p. 453-457.
83. S. Ibasco, F. Tamimi, R. Meszaros, D.L. Nihouannen, S. Vengallatore, E. Harvey, and J.E. Barralet, "*Magnesium-sputtered titanium for the formation of bioactive coatings*". Acta Biomaterialia, **2009**. 5(6): p. 2338-2347.
84. H.P. Wiesmann, T. Tkotz, U. Joos, K. Zierold, U. Stratmann, T. Szuwart, U. Plate, and H.J. Hohling, "*Magnesium in newly formed dentin mineral of rat incisor*". Journal of Bone and Mineral Research, **1997**. 12(3): p. 380-383.
85. S. Tsuboi, H. Nakagaki, K. Ishiguro, K. Kondo, M. Mukai, C. Robinson, and J.A. Weatherell, "*Magnesium distribution in human bone*". Calcified Tissue International, **1994**. 54(1): p. 34-37.
86. A.L. Boskey, C.M. Rimnac, M. Bansal, M. Federman, J. Lian, and B.D. Boyan, "*Effect of shortterm hypomagnesemia on the chemical and mechanical properties of rat bone*". Journal of Orthopaedic Research, **1992**. 10(6): p. 474-483.
87. D.F. Williams, "*The Williams dictionary of biomaterials, ISBN 0-85323-921-5*". **1999**.
88. W. Dinkelacker, J.S. Hermann, and H. Zipprich, "*Implantatprothetik*". Biomechanische und prothetische Konzepte in der Implantologie, **2014**: p. 16-18.
89. C. Moseke, U. Gbureck, P. Elter, P. Drechsler, A. Zoll, R. Thull, and A. Ewald, "*Hard implant coatings with antimicrobial properties*". Journal of Materials Science **2011**. 22(12): p. 2711-2720.
90. M.P. Ginebra, T. Traykova, and J.A. Planell, "*Calcium phosphate cements as bone drug delivery systems: a review*". Journal of Controlled Release, **2006**. 113(2): p. 102-110.
91. W.L. Chai, H. Hamimah, S.C. Cheng, A.A. Sallam, and M. Abdullah, "*Susceptibility of Enterococcus faecalis biofilm to antibiotics and calcium hydroxide*". Journal of Oral Science, **2007**. 49(2): p. 161-166.
92. S. Belcastro, N. Staffolani, M. Pugliese, and F. D'Alo, "*An in-vitro study of the antimicrobial activity of copper and zinc salts on pure and mixed microbial cultures*". Minerva Stomatol, **1994**. 43(9): p. 393-396.
93. V. Stanića, S. Dimitrijević, J. Antić-Stanković, M. Mitrić, B. Jokić, I.B. Plećaš, and S. Raičević, "*Synthesis, characterization and antimicrobial activity of copper and zinc-doped hydroxyapatite nanopowders*". Applied Surface Science, **2010**. 256(20): p. 6083-6089.
94. J. Geis-Gerstorfer, "*Titan und Titan-Legierungen*". zm online, **2003**. 07/2003.
95. IWT Bremen, "*Werkstoffe des Leichtbaus II*". **2014**.

96. R.R. Boyer, "An overview on the use of titanium in the aerospace industry ". **1996**. 213(1-2): p. 103-114.
97. U. Zwicker, "Titan und Titanlegierungen". **1974**.
98. H.W. Roberts, D.W. Berzins, B.K. Moore, and D.G. Charlton, "Metal-Ceramic Alloys in Dentistry: A Review". Journal of Prosthodontics, **2009**. 18(2): p. 1-7.
99. A.M. Cortizo, L. Bruzzone, S. Molinuevo, and S.B. Etcheverry, "A possible role of oxidative stress in the vanadium-induced cytotoxicity in the MC3T3E1 osteoblast and UMR106 osteosarcoma cell lines". Toxicology, **2000**. 147(2): p. 89-99.
100. B.H. Lee, Y.D. Kim, and K.H. Lee, "XPS study of bioactive graded layer in Ti-In-Nb-Ta alloy prepared by alkali and heat treatments". Biomaterials, **2003**. 24(13): p. 2257-2266.
101. Universität des Saarlandes Centrum für Nanoanalytik, "Das Rasterelektronenmikroskop (REM)". **2019**.
102. Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, "Rasterelektronenmikroskopie B504". Materialanalytik Praktikum, **2011**.
103. A.E.I. Universität Rostock Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät Institut für Physik, "Rasterelektronenmikroskopie und energiedispersive Röntgenanalyse REM/EDX ". **2004**.
104. T. Kokubo and H. Takadama, "How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?". Biomaterials, **2006**. 27(15): p. 2907-15.
105. V. Babić-Ivančić, J. Kontrec, D. Kralj, and L. Brečević, "Precipitation diagrams of struvite and dissolution kinetics of different struvite morphologies". Croatica Chemica Acta, **2002**. 75(1): p. 89-106.
106. www.Phynet.de, "Stromstärke". **2013**.
107. M. Vincent, R.E. Duval, P. Hartemann, and M. Engels-Deutsch, "Contact killing and antimicrobial properties of copper". Journal of Applied Microbiology, **2018**. 124(5): p. 1032-1046.
108. DOT GmbH, "Elektrochemische CaP-Schicht: BONIT®". **2018**.
109. P.M. Mario F. Gutiérrez, Viviane Hass, Thalita P. Matos, Lucas Lourenço, Alessandra Reise, Alessandro D. Loguercio, Paulo Vitor Farago, "The role of copper nanoparticles in an etch-and-rinse adhesive on antimicrobial activity, mechanical properties and the durability of resin-dentine interfaces". Journal of Dentistry, **2017**. 61: p. 12-20.
110. S.S. Karieb, "The Synergistic Effect of Zinc, Coumestrol, Genestein and Daidzein on Proinflammatory Cytokines Production and Receptor Activator of NFκB Ligand Expression that Implicates in Bone Resorption ". **2017**. 29(2): p. 13-22.
111. P. Huang, KenaMaa, X. Caia, D. Huang, X. Yang, J. Ran, F. Wang, and T. Jiang, "Enhanced antibacterial activity and biocompatibility of zinc-incorporated organic-inorganic nanocomposite coatings via

- electrophoretic deposition*". Colloids Surfaces B: Biointerfaces, **2017**. 160: p. 628-638.
112. J. Yu, L. Xu, N. Xie, K. Li, Y. Xi, X. Liu, X. Zheng, X. Chen, X. Ye, and D. Wei, "*Optimal Zn-Modified Ca–Si-Based Ceramic Nanocoating with Zn Ion Release for Osteoblast Promotion and Osteoclast Inhibition in Bone Tissue Engineering*". Journal of Nanomaterials, **2017**. 2017: p. 1-9.
113. E.S. Krell, J.A. Ippolito, N.J. Montemurro, P.H. Lim, R.A. Vincent, J. Hreha, J. Cottrell, S.Y. Sudah, M.F. Munoz, K.P. Pacific, J. Benevenia, J.P. O'Connor, and S.S. Lin, "*Local Zinc Chloride Release From a Calcium Sulfate Carrier Enhances Fracture Healing*". Journal of Orthopaedic Trauma, **2017**. 31(3): p. 168-174.
114. H. Begam, B. Kundu, A. Chanda, and S.K. Nandi, "*MG63 osteoblast cell response on Zn doped hydroxyapatite (HAp) with various surface features*". Ceramics International, **2017**. 43(4): p. 3752-3760.
115. "[https://ilab.med.uni-rostock.de/fileadmin/Institute/ilab/Laborinformationen/2016-09\\_Zink.pdf](https://ilab.med.uni-rostock.de/fileadmin/Institute/ilab/Laborinformationen/2016-09_Zink.pdf)". **2016**.
116. J.C. Forero, E. Roa, J.G. Reyes, C. Acevedo, and N. Osses, "*Development of Useful Biomaterial for Bone Tissue Engineering by Incorporating Nano-Copper-Zinc Alloy (nCuZn) in Chitosan/Gelatin/Nano-Hydroxyapatite (Ch/G/nHAp) Scaffold*". **2017**. 10(10): p. 1177.
117. DOT GmbH, "*Schnelleres Einheilen durch die elektrochemische Calciumphosphat-Beschichtung BONIT®*". **2019**.
118. M. Stigter, J. Bezemer, K. de Groot, and P. Layrolle, "*Incorporation of different antibiotics into carbonated hydroxyapatite coatings on titanium implants, release and antibiotic efficacy*". Journal of Controlled Release, **2004**. 99(1): p. 127-137.
119. B. Richter, V. Hahn, S. Bertels, T.K. Claus, M. Wegener, G. Delaittre, C. Barner-Kowollik, and M. Bastmeyer, "*Guiding Cell Attachment in 3D Microscaffolds Selectively Functionalized with Two Distinct Adhesion Proteins*". Advanced Materials, **2016**. 29(5): p. 1-6.

## Danksagung

Prof. Dr. Uwe Gbureck danke ich für die freundliche Betreuung und Unterstützung bei der Realisierung meiner Dissertation.

Bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. Torsten Blunk für Übernahme des Korreferates.

Ich danke meiner Familie für die Unterstützung bis zum heutigen Tag.

## Lebenslauf

### Ausbildung

- Okt. 2009 - Nov. 2014: Zahnmedizinstudium an der Julius-Maximilians-Universität, Würzburg
- Jan. 2015 - Okt. 2015: Praktischer Teil zur Erlangung der Doktorwürde in der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde am Universitätsklinikum Würzburg

### Beruf

- Nov. 2015 - Okt. 2017: Assistenz Zahnarzt in niedergelassener Praxis, Obersulm
- Okt. 2017 - März 2018: Curriculum Implantologie, DGZI
- Nov. 2017 - April 2019: Weiterbeschäftigung als angestellter Zahnarzt, Obersulm
- seit Mai 2019: angestellter Zahnarzt in Barth

