

**Aus der Klinik für Zahn-, Mund- und Kiefergesundheit
Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnheilkunde
der Universität Würzburg**

Direktor: Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Groll

**Etablierung von Hydroxylapatit-Prüfkörpern zur in-vitro Qualifizierung von
Knochenklebern**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg**

vorgelegt von

**Silvia Mittmann
aus Freiburg im Breisgau**

Würzburg, Juli 2022



Referent: Prof. Dr. Uwe Gbureck
Korreferent: Prof. Dr. Dr. Alexander Kübler
Dekan: Prof. Dr. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 14.12.2022

Die Promovendin ist Zahnärztin

Für meine Familie und meine Freunde

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Kenntnisstand	3
2.1 Knochen im makroskopischen Aufbau	3
2.2 Histologische Einordnung	3
2.3 Bestandteile der Knochengrundsubstanz.....	4
2.4 Calciumorthophosphate in biologischen Systemen	6
2.5 Calciumorthophosphatzement-Systeme (CPC-Systeme).....	7
2.6 Reaktionsmechanismus der CPC-Systeme.....	9
2.7 Einflussfaktoren auf CPC-Systeme	10
2.8 Vergleich mechanischer Eigenschaften von Knochen mit CPC.....	13
2.9 Tetracalciumphosphat- (TTCP) Zementsystem.....	14
2.10 α -Tricalciumphosphat- (α -TCP) Zementsystem.....	15
2.11 Einführung in neuartige Knochenkleber basierend auf Magnesiumphosphatzement-Systemen (MPC-Systeme)	16
2.12 Gewebekleber auf Cyanoacrylat-Basis	18
2.13 In-vitro Testmethoden zur Untersuchung der Klebefestigkeit	19
3. Material und Methoden	19
3.1 Material.....	19
3.1.1 Chemikalien der Prüfkörper aus Zement.....	19
3.1.2 Chemikalien der (Knochen)-Kleber	21
3.1.3 Herstellung der Prüfkörper	22
3.1.4 Klebevorgang.....	25
3.2 Methoden.....	27
3.2.1 Abscherfestigkeit.....	27
3.2.2 Druckfestigkeit	28
3.2.3 Quecksilberporosimetrie	28
3.2.4 Rautiefenmessung.....	28
3.2.5 Röntgendiffraktometrie.....	29
3.2.6 Rasterelektronenmikroskopie (REM) und energiedispersive Rönt- genspektrometrie (EDX).....	29
3.2.7 Statistik	30

4. Ergebnisse	30
4.1 Vergleich der Prüfkörper aus α -TCP vs. TTCP vs. Knochen	30
4.2 Verarbeitbarkeit	31
4.3 XRD- Analyse	32
4.4 Quecksilberporosimetrie	34
4.5 Druckfestigkeit	35
4.6 Rautiefenvergleich	36
4.7 Abscherfestigkeit des MPC-Phytin-Klebers	37
4.8 Abscherfestigkeit des MPC-Phytin-Klebers auf CDHA mit unterschiedlichen Rauheitsprofilen	39
4.9 Optimierungsversuche des α -TCP-Systems	40
4.10 Vergleich der Prüfkörper aus CDHA vs. CDHA mit Monetit vs. Knochen	41
4.11 Druckversuch	41
4.12 XRD- Analyse	42
4.13 REM-Aufnahmen	42
4.14 Rautiefenmessung	43
4.15 Abscherfestigkeiten verschiedener (Knochen)-Kleber	43
4.16 Abscherfestigkeiten auf feuchten bzw. trockenen Prüfkörpern	51
5. Diskussion	54
5.1 Vergleich der Prüfkörper aus α -TCP vs. TTCP vs. Knochen	56
5.2 Vergleich Prüfkörper aus CDHA vs. CDHA mit Monetit vs. Knochen	60
5.3 Fazit und Ausblick	62
6. Zusammenfassung	64
7. Literaturverzeichnis	65
I. Abkürzungsverzeichnis	I
II. Abbildungsverzeichnis	II
III. Tabellenverzeichnis	III
IV. Danksagung	IV

1. Einleitung und Problemstellung

Knochendefekte und komplexe Frakturen stellen orthopädische Chirurgen vor erhebliche Herausforderungen [1, 2]. Gegenwärtige chirurgische Verfahren umfassen die Rekonstruktion und mechanische Stabilisierung komplexer Frakturen unter Verwendung von Metallteilen (d. h. Drähten, Platten, Schrauben und Pins) [2]. Obwohl die Verwendung solcher Apparaturen ein bewährtes Mittel zur Unterstützung der Frakturheilung darstellt, gibt es auch Grenzen und Nachteile. In den Fällen, in denen viele kleine Knochenfragmente aus mehreren Brüchen resultieren, gibt es beispielsweise derzeit kaum eine zufriedenstellende Möglichkeit die kleinen Fragmente zu stabilisieren und Lückenbildungen zu verhindern, sodass eine adäquate Ausheilung beeinträchtigt ist [2]. Hinzu kommt, dass Metalle meist im Rahmen einer Zweitoperation entfernt werden müssen, um Entzündungs- und Abstoßungsreaktionen bzw. anderen Spätkomplikationen entgegenzuwirken [2]. Ein alternativer Ansatz zur Überwindung der genannten Herausforderungen könnte die Verwendung von Klebmaterialien liefern [1-3]. Eine leichtere Applikation durch Injektion, eine bessere Stabilisierung der Frakturteile und eine unnötige Entfernung des Materials durch biologischen Abbau und Ersatz durch körpereigenen Knochen wären die Vorteile eines geeigneten Klebmaterials [1, 2]. Trotz vieler Bemühungen auf dem Gebiet der Knochenkleber sind die derzeitigen Materialien noch nicht ausgereift [1, 2]. Die Entwicklung von geeigneten Knochenklebern sowie deren Einsatzfähigkeit für weite Anwendungsbereiche sind deshalb Gegenstand aktueller Forschungsarbeiten.

Grundsätzlich wird dabei das Konzept verfolgt zunächst in-vitro Versuche zur materiellen und mechanischen Analyse des Klebers vorzunehmen. Anschließend folgen in-vivo Versuche um das biologische Verhalten des Klebers zu analysieren [4]. Allerdings neigen in-vivo Studien dazu, sich nur auf den funktionellen Erfolg eines Eingriffs zu fokussieren und die biologischen Reaktionen zu dokumentieren [4]. Aussagen über die tatsächlich erzielte Haftfestigkeit eines Knochenklebers oder die Haftfestigkeit nach einem gewissen Zeitintervall wurden jedoch nicht getroffen [4, 5]. Letztlich scheint dieser Umstand der Tatsache geschuldet zu sein, dass die Umsetzung einer geeigneten Messung in-vivo technisch kaum möglich ist. Für die Klärung solcher Fragen müsste daher auf in-vitro Versuche zurückgegriffen werden, die zwangsläufig einen Kompromiss zwischen Messbarkeit und Übertragbarkeit auf die in-vivo Situation darstellen [4].

Meist werden für in-vitro Versuche spongiöse oder kortikale Substrate tierischen Ursprungs verwendet, um sie mit dem zu untersuchenden Knochenkleber zu verkleben [4,

6, 7]. Doch auch die in-vitro Durchführung von Langzeitversuchen zur Analyse von Haftfestigkeiten stößt unter Verwendung solcher Substrate an ihre Grenzen. Die zunehmende Zersetzung des unsterilen Knochens bildet unter der Nachstellung von physiologischen Bedingungen einen limitierenden Faktor, der lediglich die Betrachtung eines Zeitraums von ca. sieben Tagen erlaubt. Ein weiteres Problem besteht darin, dass Knochen als zelluläres Material je nach Spezies, Alter der Spezies und Entnahmestelle aufgrund der fortwährenden Umbauprozesse große Unterschiede in seiner Zusammensetzung aufweisen kann [4]. Die Erzielung hoher Varianzen ist daher üblich und erschwert die Vergleichbarkeit und Interpretation der literaturbekannten Daten [4]. Eine erhöhte Probenzahl kann dann dazu verwendet werden um die Aussagekraft der erzielten Messergebnisse zu präzisieren [8]. Allerdings bedarf es eines großen Arbeitsaufwandes um Knochen in die gewünschte Form eines in-vitro Prüfkörpers zu überführen. Dabei ist es kaum möglich qualitative Einbußen durch die mechanische Bearbeitung zu umgehen.

Infolgedessen ließe sich die Hypothese aufstellen, dass durch die Verwendung von Hydroxylapatit-Zementen, die bereits erfolgreich als Knochenersatzmaterialien in-vivo eingesetzt werden [9, 10], Abhilfe geschaffen werden könnte. Aus ihnen könnten Prüfkörper hergestellt werden, die in ihrem abgeordneten Zustand der anorganischen Phase von Knochen und somit dessen Hauptkomponente entsprechen. Sie würden durch eine Zement-Abbindereaktion aus Calciumorthosphosphaten hergestellt werden und könnten ohne Eigenschaftsänderungen auch über längere Zeiträume von mehreren Wochen und unter physiologischen Bedingungen gelagert werden. Sie würden außerdem den Vorteil bieten, schnell und einfach herstellbar zu sein und ermöglichten auf diese Weise einen hohen Durchsatz. Zusätzlich könnten solche Prüfkörper dazu beitragen, Aufschluss über die oftmals ungeklärten Mechanismen von Knochenklebern zu erlangen, da gezielte Einstellungsparameter unter Ausschluss von prüfkörperbedingten Einflussfaktoren möglich wären.

Ziel dieser Arbeit war es deshalb herauszufinden, inwiefern Prüfkörper aus Calciumorthosphosphatzementen (CPC) dafür geeignet sind, um zur Qualifizierung von Knochenklebern zu dienen und worin ihre Limitationen bestehen. Dazu sollten Prüfkörper aus unterschiedlichen hydroxylapatitbildenden Zementen hergestellt und miteinander verglichen werden. Außerdem sollte eine Gegenüberstellung mit Prüfkörpern aus kortikalem bovinem Femur erfolgen. Das Adhäsionsverhalten neuartiger Knochenkleber sollte auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien analysiert und verglichen werden, um mögliche Rückschlüsse über die Eignung als in-vitro Prüfkörpermaterial ziehen zu können.

2. Kenntnisstand

2.1 Knochen im makroskopischen Aufbau

Man unterteilt die Knochen nach der äußeren Form in lange Röhrenknochen, kurze Röhrenknochen, platte Knochen, luftgefüllte Knochen und irreguläre Knochen [11]. Röhrenknochen werden in Diaphyse als Mittelteil, Metaphyse als Wachstumszone und Epiphyse als Endabschnitt differenziert [11]. Makroskopisch ist an jedem Knochen die peripher liegende, dicht strukturierte Kortikalis bzw. Kompakta und die davon abzugrenzende Spongiosa als Netzwerk aus Platten und Trabekeln (Bälkchen) zu unterscheiden [11]. Die Spongiosa liegt im Inneren und enthält das Knochenmark in den Maschen des Trabekelnetzes [11]. Allgemein wird die Knochensubstanz durch bindegewebige Strukturen begrenzt [11]. Nach Außen durch das Periost und nach Innen durch das Endost [11].

2.2 Histologische Einordnung

Knochen besteht im Allgemeinen aus Zellen und Knochengrundsubstanz. Die Grundsubstanz besteht zu 25 Gew. % aus organischer Komponente, zu 65 Gew. % aus anorganischer Komponente und zu 10 Gew. % aus Wasser. Wasser befindet sich in ungebundener Form in Poren und Kanälen innerhalb der Knochenmatrix (5 – 20 % des im Knochen vorhandenen Wassers) [11], sowie in gebundener Form in Kollagenfibrillen und Apatitmineral. Insbesondere gebundenes Wasser trägt zum plastischen Verhalten des Knochens und seiner Fähigkeit Energie aufzunehmen bei, wobei der Wassergehalt altersbedingt abnimmt und daher eine geringere Bruchfestigkeit resultiert [12]. Der organische Anteil wird in ungeformte und geformte Komponente unterschieden, wobei die ungeformte Komponente aus Proteoglykanen und adhäsiven Glykoproteinen besteht [11]. Die geformte Komponente besteht aus Fasern des Kollagen-I [11]. Die anorganische Grundsubstanz besteht aus biologischem Apatit. Knochen kann somit näherungsweise als Verbundwerkstoff aus Apatit und Kollagen gesehen werden. In der Histologie unterscheidet man des Weiteren Geflechtknochen von lamellärem Knochen. Geflechtknochen wird auch als primärer Knochen bezeichnet, da er in der Fetalperiode aus mesenchymalem Bindegewebe und auch während des Knochenwachstums entsteht [11]. Er ist im ausgereiften menschlichen Skelett nur vereinzelt zu finden und bildet ein geflechtartig angeordnetes Knochengrundgerüst unregelmäßigen Baus mit relativ vielen Knochenzellen [11]. Außerdem ist die Grundsubstanz weniger mineralisiert und weist einen höheren Wassergehalt als Lamellenknochen auf [11]. Lamellenknochen besitzt

hingegen hervorragende mechanische Eigenschaften und erzielt hohe Druck-, Zug- und Biegefestigkeiten [11, 13]. Er wird auch als sekundärer Knochen bezeichnet und entsteht nach Abbau des Geflechtknochens, sodass das Knochengüst im voll entwickeltem Zustand hauptsächlich lamellär organisiert ist [11]. Dies betrifft sowohl die Kompakta als auch die Spongiosa. Die hervorragenden mechanischen Eigenschaften beruhen auf einer speziellen Bauweise aus sich regelmäßig wiederholenden Konstrukten, die als Osteone bezeichnet werden [11]. Osteone werden auch „Havers-Systeme“ genannt und bestehen aus zylindrischen Baueinheiten in dessen Zentrum ein Havers-Kanal mit dem Havers-Blutgefäß und begleitenden Nervenfasern liegt [11]. Den Havers-Kanal umgeben 4 bis 20 konzentrisch angeordnete Lamellen, in denen Spiralen parallel gelagerter und mineralisierter Kollagen-I-Fibrillen (ca. 100 nm Durchmesser) mit schrägen Steigungswinkeln verlaufen [11]. Die Osteone in der Kompakta sind so konstruiert, dass der Steigungswinkel der spiralgewundenen Fibrillenbündel von Lamelle zu Lamelle wechselt [11]. Bei Beanspruchung entsteht dabei eine Flächenpressungen, wodurch die Osteone versteifen [11]. Zwischen den Lamellen und auch in den Lamellen liegen die Osteozyten, die über ihre langen Zellfortsätze miteinander in Kontakt stehen [11]. Knochengewebe unterliegt lebenslangen Umbauprozessen, die auch als „Remodelling“ bezeichnet werden [14]. Im gesunden System herrscht ein dynamisches Gleichgewicht, sodass die Netto-Knochenmasse konstant bleibt [14]. Durch die fortwährenden Umbauprozesse besteht der Knochen des erwachsenen Menschen aus einer Vielzahl von kleinen Bereichen unterschiedlichen Alters und aus unterschiedlichen Zusammensetzungen, sodass eine genaue Strukturuntersuchung erschwert ist [13, 15, 16]. Verantwortlich dafür sind spezifische Zellen. Die Osteoblasten sind Zellen des Auf- und Umbaus von Knochengewebe. Wenn sie sich durch die Ausscheidung unreifer, nicht mineralisierter Knochengrundsubstanz (Osteoid) einmauern, werden Osteoblasten zu Osteozyten [17]. Osteozyten dienen der Erhaltung des Knochens, indem sie ebenfalls Knochengrundsubstanz synthetisieren. Der Knochenabbau wird durch Osteoklasten vorgenommen [11]. Die Porosität spielt eine besondere Rolle für den Stoffaustausch und die Zugänglichkeit für Zellen [14].

2.3 Bestandteile der Knochengrundsubstanz

Die Bildung von anorganischen Mineralien durch lebende Organismen wird allgemein als Biomineralisation bezeichnet [15]. Zunächst wird dabei die faserartige Extrazellulärmatrix aus Kollagen-I synthetisiert. Im Anschluss erfolgt die Mineralisation [15]. Als Produkt dieses Prozesses entsteht eine mineralisierte Kollagenfibrille von etwa

100 nm Durchmesser und einigen 10 μm Länge [14]. Genaugenommen besteht sie aus mehreren gestapelten Reihen von Tripelhelices aus Kollagen-I-Molekülen (Tropokollagen), in deren nanoskaligen Räumen plättchenförmige Kristalle aus biologischem Apatit liegen [14]. Dabei wachsen die Kristalle des biologischen Apatits epitaktisch auf [14]. Dies bedeutet, dass die c-Achse im Kristall parallel zur Längsachse der Kollagenfaser verläuft [14]. Die Kristalle sind somit parallel in die Kollagenfibrillen eingebaut [14]. Die Apatitkristalle, die wie oben beschrieben innerhalb der Kollagenfibrillen verbaut sind, werden als intrafibrilläres Mineral bezeichnet. Im Gegensatz dazu kann es allerdings auch außerhalb der Fibrillen aber in deren direkter Umgebung liegen und wird dann als extrafibrilläres Mineral bezeichnet [18]. Da die Kristallisation unter milden physiologischen Bedingungen abläuft, entstehen Nanokristalle [14]. In elektronenmikroskopischen Aufnahmen wird häufig eine plättchenförmige Struktur beschrieben. Diese Nanokristalle können weiter in dickere Stapel von zwei bis vier Plättchen, oder unter Bildung komplexer Formen von bis zu 300 nm organisiert sein [16]. Die Tropokollagenmoleküle besitzen untereinander verschiedene Querverbindungen [15]. Sie können in enzymatische und nicht-enzymatische Verbindungen unterteilt werden, wobei die enzymatischen Verknüpfungen in Zusammenhang mit den mechanischen Eigenschaften des Knochens wie z.B. Steifheit, Zugfestigkeit und Bruchzähigkeit stehen [15]. Die nicht-enzymatischen Quervernetzungen resultieren aus der Akkumulation von Endprodukten der fortgeschrittenen Glykation und können mit einer erhöhten Knochenbrüchigkeit bei Alterung oder Krankheit korrelieren [19]. Kollagenmoleküle spielen somit eine bedeutende funktionelle Rolle für die mechanische Stabilität des Knochens und hier insbesondere für die Zugfestigkeit. Im Gegensatz dazu wird die Druckfestigkeit durch die eingebauten Mineralkristalle erreicht, sodass das Zusammenspiel beider Komponenten häufig mit Stahlbeton verglichen wird [11]. Physiologische Flüssigkeiten tragen zur Erhöhung der Elastizität bei [14]. Die Rolle der nicht-kollagenen-Proteine ist hingegen noch nicht in vollem Umfang verstanden [11]. Die meisten von ihnen scheinen regulativ auf die Biomineralisation zu wirken. So sind beispielweise Knochen-Sialoprotein, Osteopontin, und Osteocalcin dafür bekannt, dass sie wahrscheinlich eine Schlüsselrolle bei der mineralischen Nukleation und der osteogenen Differenzierung spielen [20]. Genaugenommen scheinen phosphorylierte Aminosäurereste wie Phosphoserin, die in solchen Proteinen reichlich vorhanden sind, für die Induktion der Nukleation von Hydroxylapatit verantwortlich zu sein [21]. Einige haben jedoch auch direkte Auswirkungen auf die mechanischen Eigenschaften des Knochens. Osteopontin wird beispielsweise eine Funktion bei der Verhinderung der Rissausbreitung zugeschrieben [22].

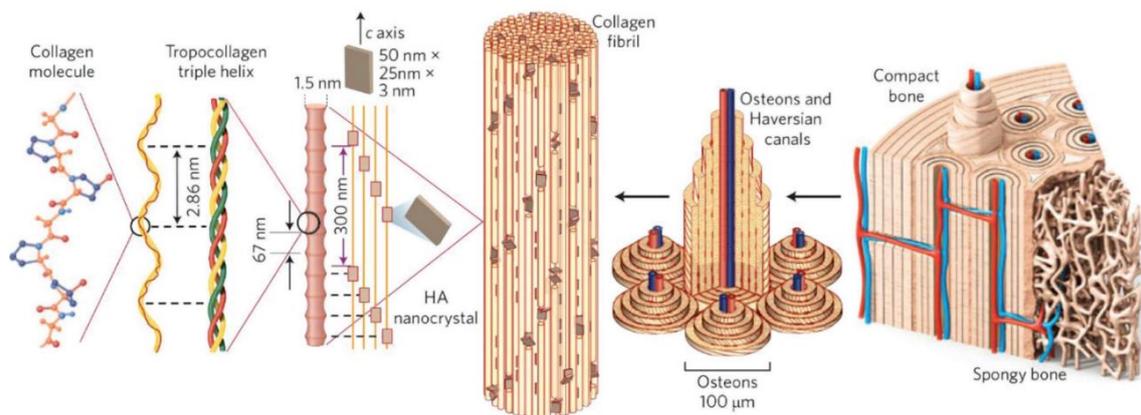


Abbildung 1: Darstellung des hierarchischen Aufbaus von Knochen. Die Abbildung entstammt der Quelle [23]. Dabei handelt es sich um einen Open-Access-Artikel, der unter der Creative Commons Attribution License vertrieben wird, die die uneingeschränkte Nutzung, Verbreitung und Reproduktion in jedem Medium erlaubt.

2.4 Calciumorthophosphate in biologischen Systemen

Calciumphosphate sind weit verbreitete Mineralien der unbelebten Natur und spielen gleichzeitig eine besondere Rolle in biologischen Systemen. Die Kombination von Calcium, Phosphor und Wasser führt zu der Entstehung einer Reihe unterschiedlicher Calciumphosphate [14]. Strukturell kann eine Einteilung in Ortho- (PO_4^{3-}), Pyro- ($\text{P}_2\text{O}_7^{4-}$) und Polyphosphate ($(\text{PO}_3)_n^{n-}$) erfolgen, wobei in biologischen Systemen in erster Linie Orthophosphate vorkommen [14]. Eine weitere Unterscheidung gelingt anhand des molaren Ca/P - Verhältnisses und der damit verbundenen Löslichkeit des Minerals in Wasser [9, 14]. Dabei gilt: Je kleiner das Ca/P - Verhältnis, desto saurer und desto löslicher ist das Calciumorthophosphat in Wasser [9, 14]. Hydroxylapatit stellt dabei das am schlechtesten in Wasser lösliche und somit stabilste Produkt dar. Stöchiometrisch reiner Hydroxylapatit kommt jedoch nicht in biologischen Systemen vor [14]. Vielmehr handelt es sich um „biologischen Apatit“, bzw. „Dahlit“ [14]. Bei dieser Form von Apatit handelt es sich um substituierten nichtstöchiometrischen calciumdefizitären Hydroxylapatit (CDHA), der näherungsweise als Hydroxylapatit mit Gitterstörungen durch Fehlstellen und Fremd-Ionen beschrieben werden kann [14]. Dabei sind stets Fremd-Ionen in unterschiedlichem Ausmaß enthalten: Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Sr^{2+} , anstatt Ca^{2+} ; Carbonat, anstatt Phosphat; Fluorid, Chlorid und Carbonat, anstatt Hydroxid; sowie der Einbau von Kristallwasser [14]. Außerdem können Spuren von weiteren metallischen Elementen nachgewiesen werden [9, 23]. Die genaue Zusammensetzung der Fremd-Ionen scheint je nach Art des Knochens zu variieren. Unsubstituierter CDHA (d. h. nur aus den Ionen Ca^{2+} , PO_4^{3-} , HPO_4^{2-} und OH^- bestehend) kommt in biologischen Systemen nicht vor [14].

Der biologische Apatit bildet die Hauptkomponente physiologischer Hartgewebe von Säugetieren und befindet sich in Knochen, Zähnen und Sehnen [14].

2.5 Calciumorthosphosphatzement-Systeme (CPC-Systeme)

Selbsthärtende Calciumorthosphosphatzement-Systeme (CPC-Systeme) werden im Bereich der Medizintechnik seit 1980 intensiv erforscht und erlangen auch weiterhin zunehmende Bedeutung aufgrund ihrer chemischen Ähnlichkeit zur anorganischen Phase des Knochens. Dabei handelt es sich um Zementsysteme, bestehend aus feinkörnigen Pulvern mit mittleren Korngrößen im μm -Bereich, die durch Zugabe einer wässrigen Phase zu einer festen Masse abbinden [10]. Die Zusammensetzung der resultierenden Produkte imitiert die Struktur, Morphologie und Kristallinität der anorganischen Phase von Knochen, weshalb sie als biomimetische Materialien bezeichnet werden [10, 23]. Sie gelten als biokompatibel, biologisch abbaubar und osteokonduktiv [23], sodass sie in erster Linie als Knochenersatzstoffe zum Einsatz kommen. Wie oben bereits erwähnt unterscheiden sich Calciumorthosphosphate von anderen Calciumphosphaten durch den Einbau der dreibasigen und mittelstarken Orthosphosphorsäure H_3PO_4 , die in Lösung je nach pH zu drei verschiedenen Phosphatanionen dissoziieren kann. Durch deren Kombination mit Calcium und Wasser bildet sich das ternäre System $\text{Ca}(\text{OH})_2\text{-H}_3\text{PO}_4\text{-H}_2\text{O}$. Eine Unterscheidung der verschiedenen Calciumorthosphosphate wird in Tabelle 1 in der Reihenfolge ihres zunehmenden Ca/P-Verhältnisses aufgeführt. Durch den Anstieg des basischen Charakters mit zunehmenden Ca/P-Verhältnis sinkt ihre Löslichkeit in Wasser [14]. Alle aus diesen Calciumorthosphosphaten entwickelten Zementsysteme können dabei abhängig von dem pH-Wert bei dem die Abbindereaktion abläuft, in Bruschnit-bildende Zemente und in Apatit-bildende Zemente unterschieden werden. Dabei bilden die Zementpasten bei einem pH-Wert > 4.2 als Endprodukt Hydroxylapatit (HA) bzw. calciumdefizitären Hydroxylapatit (CDHA), wohingegen bei einem pH-Wert kleiner 4.2 Bruschnit als Reaktionsprodukt resultiert [10]. Grundsätzlich ist darauf hinzuweisen, dass eine Unterscheidung zwischen CDHA und HA erschwert ist, da eine eindeutige Unterscheidung anhand einer Strukturmessung kaum möglich ist [14]. Lediglich das Ca/P-Verhältnis kann Aufschluss darüber geben, um welches Material es sich handelt [14]. CDHA besitzt ein Ca/P-Verhältnis von 1,5 und unterscheidet sich somit von stöchiometrischem HA, der ein Ca/P-Verhältnis von 1,67 besitzt [14].

Tabelle 1: Übersicht der Calciumorthophosphate [24].

Calciumphosphat-Salz	Summenformel	C/P-Verhältnis	-log (Ksp) bei 37 °C
Calcium-bis-dihydrogenphosphat Monohydrat (MCPM)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,5	--
Calcium-bis-dihydrogenphosphat (MCPA)	$\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	0,5	--
Calciumhydrogenphosphat Dihydrat (DCPD, Bruschit)	$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	1,0	6,63
Calciumhydrogenphosphat (DCPA, Monetit)	CaHPO_4	1,0	7,04
Octacalciumphosphat (OCP)	$\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	1,33	95,9
α -Tricalciumphosphat (α -TCP)	$\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	25,5
β -Tricalciumphosphat (β -TCP)	$\beta\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	1,50	29,5
Hydroxyapatit (OHAp)	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$	1,67	58,6
Tetracalciumphosphat (TTCP)	$\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$	2,0	37,4

Der Grund dafür, dass trotz der Vielzahl an unterschiedlichen Zementsystemen immer eines der beiden Reaktionsprodukte Apatit oder Bruschit resultiert ist die Tatsache, dass sie die stabilsten Konstellationen aller Calciumorthophosphate bilden. Derzeit gibt es zahlreiche unterschiedliche Kombinationen der in der Tabelle aufgeführten CPCs, die sich in der Chemie ihrer Abbindereaktionen ähneln [10]. Beispiele für bekannte und ausführlich erforschte CPC-Systeme stellen unter anderem das Tetracalciumphosphat (TTCP) Zementsystem und das α -Tricalciumphosphat- (α -TCP) Zementsystem dar, die im Rahmen dieser Arbeit verwendet wurden. Einige Calciumorthophosphate können bei unterschiedlichen Temperaturen aus wässrigen Lösungen gefällt werden [14]. Die Mehrheit kann allerdings nur im Rahmen einer Festphasenreaktion oberhalb von 800°C gebildet werden [14]. Für solch eine Festphasenreaktion werden zwei oder mehr Pulver, meist bestehend aus Calciumcarbonat (CaCO_3) und Calciumhydrogenphosphat (CaHPO_4 / DCPA/ Monetit) oder Calciumhydrogenphosphat-Dihydrat ($\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ / DCPD/ Bruschit) miteinander vermischt erhitzt [25]. Zur Erzielung eines phasenreinen

Produkts sind das spezifische Ca/P-Verhältnis und die Einstellung eines speziellen Temperaturniveaus entscheidend. Bereits geringste Abweichungen können zu der Entstehung von Nebenphasen führen [26]. Im Bereich des Temperaturmanagements hat sich das „Quenching“, das Abschrecken eines Systems auf Raumtemperatur als bewährte Methode dargestellt [26]. Dabei wird dem entstandenen Produkt nach dem Sinterprozess kein Zeitfenster gelassen, um sich in unerwünschte Phasen umzuwandeln. Allerdings haben auch weitere Faktoren wie beispielsweise das Vorhandensein von Fremd-Ionen oder die Luftfeuchtigkeit großen Einfluss auf den Herstellungsprozess.

Die für die Zementreaktion benötigte flüssige Phase besteht beispielsweise aus destilliertem Wasser oder phosphathaltiger Pufferlösung (PBS). Verwendet werden jedoch auch wässrige Lösungen von Natriumorthophosphaten, Ammoniumorthophosphaten, Zitronensäure, Trinatriumcitrat, Natriumsilicaten, Magnesiumorthophosphaten, Chitosan-lactat etc. [9]. Über die verwendete Wassermenge bzw. das Pulver/Flüssigkeits-Verhältnis (P/L)-Verhältnis kann die Festigkeit der Zementpaste und die Festigkeit der abgebundenen Zementmatrix bestimmt werden [10]. Des Weiteren können Flüssigkeiten als Reaktionsbeschleuniger oder Verzögerer wirken, oder aber die Partikeloberfläche der Zementpulver elektrisch aufladen [10]. Insgesamt lässt sich durch die Wahl einer geeigneten Flüssigkeit vor allem die Viskosität und Abbindegeschwindigkeit der Abbindereaktion bestimmen. Dabei ist stets mit Auswirkungen auf die mechanischen Eigenschaften der abgebundenen Zementmatrix zu rechnen [10].

2.6 Reaktionsmechanismus der CPC-Systeme

Der Reaktionsmechanismus von CPC-Systemen kann durch einen Lösungs-Präzipitationsprozess beschrieben werden [10]. Er ist eher vergleichbar mit dem Reaktionsmechanismus von Calciumsulfat Hemihydrat $\text{CaSO}_4 \times 0.5\text{H}_2\text{O}$ (Gips, „plaster of paris“) als mit dem Hydratations-Quellungsmechanismus Silikat-basierter Portland-Zemente [27]. Zunächst gehen die Calcium- und Phosphat-Ionen der initialen Calciumorthophosphate so lange in Lösung, bis die Lösung übersättigt ist. Anschließend interagieren die sich in Lösung befindenden Ionen auf unterschiedliche chemische Weise miteinander, um in einer neuen und stabileren Konstellation auszufallen [9, 23]. Dabei können zunächst instabile Zwischenprodukte entstehen, die nach kurzer Zeit in eine der beiden stabileren Hauptprodukte Apatit oder Brushit umgewandelt werden. Bei den Zwischenprodukten kann es sich beispielsweise um amorphes Calciumphosphat (ACP), oder um Octacalciumphosphat (OPC) handeln [28]. Die Art und Weise, auf die die in Lösung gegangenen Ionen miteinander interagieren, kann auf zwei

unterschiedlichen Mechanismen beruhen. Einerseits kann es sich um eine Säure-Base-Reaktion handeln, andererseits kann die Reaktion auch auf einem Hydrolyseprozess eines metastabilen Calciumorthosphats beruhen [9]. Im ersten Fall würde ein saures Calciumorthosphat mit einem Basischen reagieren und zu einem relativ neutralen Produkt präzipitieren. Somit würde es sich um ein Mehrkomponenten-Zementsystem handeln, bei dem mindestens zwei verschiedene Calciumorthosphosphate als Edukte beteiligt sind [9]. Im zweiten Fall liegt hingegen nur ein Edukt vor, das im wässrigen Medium zerfällt um anschließend eine neue und stabilere Verbindung zu bilden [9]. Die relative Stabilität und Löslichkeit der verschiedenen Calciumorthosphosphate stellt dabei die Haupttriebkraft der auftretenden Abbindereaktionen dar. Der Grund für die Erstarrung ist die mechanische Verzahnung der sich neu bildenden Kristalle, die als Mikronadeln oder Mikroplättchen auftreten können. Dabei erfolgt die Abbindereaktion isotherm und ohne makroskopische Änderung von Form und Volumen [29].

2.7 Einflussfaktoren auf CPC-Systeme

Es gibt eine ganze Reihe von Einflussfaktoren, die die Eigenschaften eines CPC-Systems in vielerlei Hinsicht bestimmen können. Sie betreffen einerseits den Ablauf der Abbindereaktion, andererseits die physikalischen und biologischen Eigenschaften des resultierenden Produkts. Die gegenseitige Abhängigkeit dieser Faktoren führt zu der Konsequenz, dass die Veränderung eines einzelnen Parameters weitreichende Auswirkungen auf das gesamte System zur Folge haben kann. Aufgrund der großen Menge an Einflussfaktoren ist ein Vergleich der in der Literatur auffindbaren Eigenschaften von CPC-Systemen, selbst bei chemisch identischer Zusammensetzung kaum möglich [10].

Der Lösungs-Präzipitations-Prozess der Calciumorthosphosphate spielt eine Schlüsselrolle in der Abbindefähigkeit und dem Abbindevorgang der CPC-Systeme. Die Reaktionsgeschwindigkeit wird dabei maßgeblich von der kinetischen Löslichkeit (Lösungsrate) der Zementedukte sowie der Kristallwachstumsrate des Reaktionsprodukts beeinflusst [27]. Je größer die spezifische Oberfläche der Zementpulver ist, desto höher ist die Lösungsrate und desto schneller verläuft die Reaktion. Aus diesem Grund erfolgt eine Zerkleinerung der Zementpartikel durch mehrstündige Mahlprozesse, die als eine Art „Aktivierung“ der Zementpulver dienen. Auf diese Weise werden Zement-Systeme erzeugt, die überhaupt erst abbindefähig werden [27]. Gleichzeitig dient die Mahlung dazu, Reaktionsgeschwindigkeiten gezielt einzustellen. Ist der durch Mahlung

erzeugte Energiebetrag hoch genug, kann dies zu einer partiellen Phasenumwandlung des kristallinen Werkstoffs in einen amorphen Zustand führen [27]. Die Löslichkeit und Reaktivität des Pulvers wird dann so sehr gesteigert, dass eine weitere Verkürzung der Abbindezeit erreicht wird [27]. Insgesamt stellt das Mahlen also einen einfachen und sehr effektiven Prozess dar, um Einfluss auf die Abbindefähigkeit und die Abbindedauer des entstehenden Produkts zu nehmen [10, 30]. Allerdings führen Veränderungen der kinetischen und thermodynamischen Löslichkeit der Zementpulver nicht nur zu unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten. Die veränderten Reaktionsgeschwindigkeiten beeinflussen das Kristallwachstum und somit den Vernetzungsgrad der sich bildenden Kristalle [31]. Die Folge sind Einflüsse auf die mechanischen Eigenschaften der abgebundenen Zemente.

Die mechanischen Eigenschaften eines abgebundenen Zements werden durch viele Faktoren beeinflusst. Je homogener und dichter das Gefüge der Zementmatrix ist, desto höher ist die Festigkeit [10]. Dabei können zwei Aspekte unterschieden werden die einerseits auf die Morphologie und Verteilung der gebildeten Apatit-Kristalle, andererseits auf die Porosität der abgebundenen Zementmatrix zurückzuführen sind. Die Größe und Form der entstandenen Kristallite bestimmen den Grad der mechanischen Verzahnung und tragen deshalb zu Unterschieden in der Morphologie der Zementmatrix bei. Unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten führen daher zu unterschiedlichem Kristallwachstum, sodass Auswirkungen auf die entstehende Mikrostruktur der abgebundenen Zementmatrix resultieren [10]. Hinzu kommt das Pulver-Flüssigkeits-Verhältnis (P/L-Verhältnis) der Zementreaktion und die damit einhergehende Porosität der abgebundenen Zementmatrix, da überschüssiges Wasser zur Bildung von Poren führt [10]. Hierbei geht es vor allem um die unterschiedlichen Porengrößen-Fractionen und deren Verteilung, wobei eine Unterscheidung zwischen Mikroporen und Makroporen vorgenommen werden muss. Zurückzuführen ist die Bildung der Poren auf die Tatsache, dass Apatit-bildende Zemente während der Abbindezeit nur wenig Wasser verbrauchen [9]. Da die abgebundene Zementmatrix ein sprödes Material darstellt, steht die Druckfestigkeit über einen exponentiellen Zusammenhang mit der Porosität in Verbindung [25]. Bereits kleine Änderungen des P/L-Verhältnisses haben deshalb einen großen Effekt auf die mechanische Festigkeit der abgebundenen Zementmatrix. Die Mikroporosität von CPCs beträgt üblicherweise zwischen 30 % und 55 % [10]. Die Unterscheidung der Porengrößen ist allerdings wichtiger als die Porosität im Allgemeinen, da große Poren die Festigkeit in viel deutlicherem Ausmaß schwächen als kleine. Sie werden als kritische bzw.

frakturprovozierende Mängel betrachtet [32]. Bezogen auf die Mikroporosität kann eine Verbesserung der Zementfestigkeit durch eine Erhöhung des P/L erreicht werden [25]. Eine zu trockene Paste beeinträchtigt allerdings die Zement-Reaktion. Dabei gibt es entweder die Möglichkeit eine weitere Steigerung des P/L-Verhältnisses durch Verflüssiger wie beispielsweise Citrate zu erreichen, da sie den Wasserbedarf reduzieren [33]. Citrate bewirken eine elektrische Aufladung der Partikeloberflächen, sodass die Partikel besser aneinander vorbeigleiten können und deren Neigung zu agglomerieren verhindert wird [27] [34]. Andererseits kann durch mechanische Komprimierung einer Zementpaste der Auswurf von Flüssigkeit bewirkt werden, sodass eine starke Reduktion der Porosität resultiert [35]. Allgemein kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass kompakte und homogene kleinkristalline Strukturen bessere mechanische Eigenschaften zeigen als weniger kompakte oder weniger homogene Strukturen mit größeren Kristallen [10].

Die Abbindezeit von CPCs kann außerdem durch die Modifikation der Zementpaste mit Additiven variiert werden. Als Abbindebeschleuniger wirken vor allem Alkaliphosphate oder Phosphorsäure, während durch den Einsatz von wasserlöslichen Polymeren, Citraten oder Pyrophosphaten der Abbindevorgang verlangsamt wird [29]. So kann eine Verkürzung der Abbindezeit durch Verwendung einer di-Natriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4)-Lösung anstelle von reinem Wasser bewirkt werden, da aufgrund des Common-Ion-Effekts eine verfrühte Übersättigung der Lösung erreicht wird und somit eine beschleunigte Verfestigung stattfindet [36]. Allerdings führen auch die durch Additive veränderten Reaktionsgeschwindigkeiten zu Auswirkungen auf das Kristallwachstum und somit auf die Mikrostruktur der abgebundenen Zementmatrix. Aus diesem Grund kann durch die Verwendung einer Na_2HPO_4 -Lösung eine geringere finale Druckfestigkeit als unter der Verwendung von reinem Wasser entstehen [36]. Abbindeverzögerer führen hingegen meist zu höheren Festigkeiten der abgebundenen Zementmatrix [37].

Des Weiteren nehmen auch das Ca/P-Verhältnis der teilnehmenden Zementedukte, sowie das Vorhandensein von Fremd-Ionen Einfluss auf das jeweilige CPC-System. Das bedeutet, dass bereits der Herstellungsprozess und die damit verbundene Phasenreinheit des synthetisierten Zementpulvers entscheidende Auswirkungen auf die Abbinde-reaktion des Zements hat. So konnten beispielsweise Zemente, die während der Festphasenreaktion mit Silicium- oder Titandioxid versetzt wurden, eine deutliche Steigerung

der Druckfestigkeit auf Werte von 80 – 100 MPa erreichen [31]. Fremd-Ionen können die Synthese der Zementpulver allerdings auch negativ beeinflussen. Sie können die Festphasenreaktion auf abweichenden Temperaturniveaus stabilisieren, sodass es zur Entstehung von unerwünschten Nebenphasen kommen kann. Silizium hat beispielsweise eine positive Auswirkung auf die Herstellung von phasenreinem α -TCP [26]. Im Gegensatz dazu bewirken Magnesium-, Zink- oder Strontium-Verunreinigungen genau das Gegenteil, indem sie die Bildung von β -TCP fördern [26]. Hinzu kommen noch weitere Faktoren wie beispielsweise das Vorhandensein von Luftfeuchtigkeit, die Probenmenge, oder die Phosphatverdampfung, die alle ebenfalls Einfluss auf den Herstellungsprozess nehmen können. Die Reproduzierbarkeit der Zement-Herstellung stellt dementsprechend eine Herausforderung dar.

2.8 Vergleich mechanischer Eigenschaften von Knochen mit CPC

Grundsätzlich können CPC-Systeme deutlich höhere Druckfestigkeiten im Vergleich zu Zugfestigkeiten erreichen, weil es sich um spröde Materialien handelt. Verantwortlich hierfür ist die zum Versagen führende Rissausbreitung, die unter Zugkräften begünstigt wird [38]. Angegebene Druckfestigkeiten unterschiedlicher CPCs erstrecken sich von 0,2-184 MPa [10] bei Porositäten von 11-84 % [10]. Die meisten Literaturangaben beziehen sich dabei auf Prüfkörper, die im nassen Zustand einer Druckprüfung unterzogen wurden. Dabei ist zu beachten, dass die Testbedingungen (trockene oder nasse Prüfkörper) einen großen Einfluss auf die gemessenen Druckfestigkeitswerte haben.

Trockene Prüfkörper erzielen höhere Druckfestigkeiten als nasse oder feuchte Prüfkörper [39]. Im Vergleich dazu liegen die literarischen Angaben der Druckfestigkeiten von menschlicher Spongiosa im Bereich von ca. 4-12 MPa [40] und von Kortikalis im Bereich von ca. 130-180 MPa [40]. Dabei besitzt die Kortikalis eine sehr geringe Porosität von weniger als 10 Vol. %, wohingegen die Spongiosa eine deutlich erhöhte Porosität von etwa 50-90 Vol.-% aufweist [41].

Die Bruchzähigkeit beschreibt die Fähigkeit eines Materials einer Rissausbreitung Widerstand zu leisten [42]. Sie hängt einerseits von der Art der Nano- bzw. Mikrostruktur ab, andererseits von der Aktivierbarkeit etwaiger Verstärkungsmechanismen die ebenfalls auf mikrostrukturelle Merkmale zurückzuführen sind [43, 44]. Ohne Verstärkungsmechanismen ist die Bruchzähigkeit von CPCs sehr gering bzw. kleiner als

$0,5 \text{ MPa} \cdot \sqrt{\text{m}}$ [10]. Dahingegen weist Spongiosa eine Bruchzähigkeit von ca.

$0,1\text{-}0,8 \text{ MPa} \cdot \sqrt{\text{m}}$ und Kortikalis eine Bruchzähigkeit von ca. $2\text{-}12 \text{ MPa} \cdot \sqrt{\text{m}}$ auf [45].

Aufgrund der Tatsache, dass der Ausgangspunkt für ein mechanisches Versagen der

CPCs Kleinstdefekte bzw. Poren darstellen, kann durch die Verringerung der Porosität eine Verbesserung der mechanischen Eigenschaften erreicht werden. Ein anderer Ansatz beruht darauf CPCs mit Fasern zu verstärken, um Risse zu überbrücken oder abzulenken [10, 43, 44].

Zusammenfassend besteht der größte Unterschied zwischen Knochen und CPC-Systemen darin, dass es sich bei Knochen um ein zusammengesetztes Material handelt. Mögliche Schwächen einer Komponente können durch die anderen Komponenten ausgeglichen werden. Aus diesem Grund handelt es sich um ein Material mit exzellenten mechanischen Eigenschaften. Dahingegen bestehen CPCs lediglich aus mineralischer Substanz, sodass jeder kleinste unkompensierte Defekt zur Verschlechterung der mechanischen Eigenschaften führen kann. Dabei können CPCs zwar Druckfestigkeiten von Knochen erreichen, allerdings stellt ihre Sprödigkeit ihr größter Nachteil dar.

2.9 Tetracalciumphosphat- (TTCP) Zementsystem

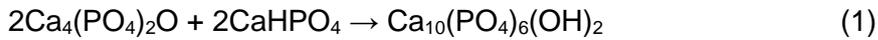
Monoklines Tetracalciumphosphat besitzt die Formel $\text{Ca}_4(\text{PO}_4)_2\text{O}$ und wird auch als Hilgenstockit bezeichnet. Es besitzt mit einem Ca/P-Verhältnis von 2 als einziges Calciumorthophosphat ein höheres Ca/P-Verhältnis als stöchiometrischer Hydroxylapatit mit 1,67. Außerdem ist es das basischste Calciumorthophosphat, wobei seine Löslichkeit in Wasser höher als die des Hydroxylapatits ist [14]. Verwendung findet TTCP vor allem als Knochenersatzstoff in selbsthärtenden Calciumphosphatzementen oder in Biokeramiken. TTCP kann durch eine Festphasenreaktion oberhalb 1300°C hergestellt werden [14, 25]. Die Festphasenreaktion gelingt durch Mischung von Calciumcarbonat (CaCO_3) mit Calciumhydrogenphosphat (CaHPO_4 / DCPA/ Monetit) und anschließender Erhitzung für mehrere Stunden auf $1450\text{--}1500^\circ\text{C}$. Um das entstandene TTCP phasenrein zu erzeugen ist ein schnelles Abschrecken auf Raumtemperatur notwendig.

Andernfalls kann es im Temperaturbereich zwischen $1000\text{--}1200^\circ\text{C}$ zu Umwandlungen in Nebenphasen wie beispielsweise HA, CaO, CaCO_3 und $\beta\text{-TCP}$ kommen [25].

Abbindereaktion des TTCP-Zements

Das TTCP-Zementsystem stellt das erstentdeckte, selbsthärtende Calciumorthophosphat-Zementsystem dar und wurde durch Brown und Chow 1983 entwickelt. Dabei handelte es sich um ein Mehrkomponenten-Zementsystem, das im Rahmen einer Säure-Base-Reaktion abbindet. Es reagiert das relativ basische TTCP mit dem einem relativ sauren Calciumhydrogenphosphat (DCPA/ Monetit) im wässrigen Milieu und bindet

gemäß der Gleichung (1) zu einem nanokristallinen stöchiometrischen Hydroxylapatit (HA) ab [9].



Die Reaktion läuft in zwei Stufen ab: Zunächst wird nicht-stöchiometrischer HA gebildet, da der Verbrauch von Monetit dem Verbrauch von TTCP vorausgeht. In einer zweiten Stufe reagiert dieser calciumarme HA mit Resten des TTCP und wird anschließend in stöchiometrischen Apatit umgewandelt [46]. Monetit und TTCP besitzen nicht die gleiche Lösungsrate. Die langsamere Lösungsrate von Monetit muss durch eine größere spezifische Oberfläche angepasst werden. Verschiedene Partikelgrößen sind also erforderlich, um die unterschiedlichen Löslichkeitsgeschwindigkeiten der Reaktionspartner so einzustellen, dass ein ideales und nahezu konstantes Verhältnis zwischen der Zementflüssigkeit und der Ausfällung von HA während der Reaktion erreicht wird [25]. Andernfalls kann es sein, dass die Zementmasse nicht abbindet. Die besten mechanischen Leistungen eines TTCP-Zementsystems wurden unter Verwendung äquimolarer Mischungen von TTCP und Monetit mit einem Partikelgrößenverhältnis von 10/1 erzielt [25].

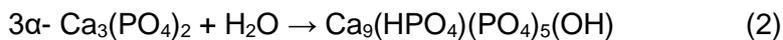
2.10 α -Tricalciumphosphat- (α -TCP) Zementsystem

α -Tricalciumphosphat besitzt die Formel $\alpha\text{-Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ mit einem Ca/P-Verhältnis von 1,5. Es kann in drei polymorphen Formen auftreten. Oberhalb von 1430 °C liegt die α' -Formation vor. Bei geringeren Temperaturen wandelt sich diese Formation aufgrund ihrer Instabilität in die α -Form um, die zwischen 1430 °C und 1125 °C die stabilste Phase bildet und ein monoklines Kristallsystem aufweist. Bei geringeren Temperaturen als 1125 °C bildet sich die β -Formation [26]. Der Strukturunterschied zwischen α -TCP und β -TCP äußert sich auch in verschiedenen Materialeigenschaften wie beispielsweise ihrer Löslichkeit, Reaktivität und Dichte [26]. α -TCP findet als Knochenersatzmaterial in Zementen, als Biokeramiken und anderen Verbundstoffen Verwendung. α -TCP kann durch eine Festphasenreaktion von Monetit und Calciumcarbonat bei Temperaturen oberhalb von 1125°C hergestellt werden [47]. Durch Mischung und Mahlung der beiden Ausgangskomponenten kann ein homogenes Pulver mit geringer Partikelgröße erzeugt werden. Anschließend wird das Pulver bei Temperaturen zwischen 1250°C und 1500°C gesintert. Nach dem Sintern wird das Pulver direkt abgeschreckt, um das bei Raumtemperatur instabile α -TCP an der Umwandlung zu β -TCP zu hindern.

Bei der dabei stattfindenden Reaktion entstehen aus den Edukten Monetit und Calciumcarbonat die Produkte α -TCP, Kohlenstoffdioxid und Wasser, wobei letztere als gasförmige Produkte frei werden [26, 48].

Abbindeaktion des α -TCP-Zementsystems

α -TCP stellt ein Zementsystem dar, das mittels Hydrolyse calciumdefizitären Hydroxylapatit (CDHA) bildet [49]. Über eine Lösungs-Fällungs-Reaktion kann α -TCP mit Wasser zu CDHA reagieren, wie es in Gleichung (2) dargestellt ist [26].



Dabei handelt es sich um ein Ein-Komponenten-Zementsystem, welches im Rahmen eines Hydrolyseprozesses abbindeet. Im ersten Reaktionsschritt löst sich das α -TCP auf wobei sich eine übersättigte Lösung bildet. Ab einer kritischen Ionenkonzentration kommt es zur Präzipitation und somit zur Entstehung neuer Calciumorthosphosphatkristalle. Im weiteren Verlauf der Reaktion wachsen die Kristalle heran und verzahnen sich mechanisch, sodass es zum Erhärten der Paste kommt. Dabei wird diese Reaktion zunächst durch Oberflächenreaktionen und im späteren Reaktionsverlauf durch Diffusionsvorgänge bestimmt [10, 50]. Das Endprodukt bildet ein calciumdefizitärer Hydroxylapatit, [10, 51]. Bei Vorliegen unreagerter Phase könnte es sich um β -TCP handeln, da es zu unreaktiv ist um an der Hydrolysereaktion teilzunehmen und somit nur das vorliegende α -TCP umgesetzt werden würde [30]. Insgesamt gilt für das α -TCP-System, dass die kürzeste Abbindezeit und die höchste Druckfestigkeit erreicht werden kann, wenn ein ideales Ca/P-Verhältnis von 1,5 und keine Verunreinigung durch Fremdphasen vorliegt. Außerdem müssen ideale Reaktionsbedingungen bei einem neutralem pH und 37°C herrschen.

2.11 Einführung in neuartige Knochenkleber basierend auf Magnesiumphosphatzement-Systemen (MPC-Systeme)

Aufgrund ihrer Ähnlichkeit zur anorganischen Phase des Knochens, werden Calciumorthosphosphat-Zemente bereits seit vielen Jahren als Knochenersatzmaterial verwendet. Ihre geringe Biegefestigkeit, geringe Zugfestigkeit und geringe Bruchzähigkeit machen sie allerdings zu sehr spröden Materialien, weshalb sich ihr Hauptanwendungsgebiet auf nicht-lasttragende Bereiche, oder das Auffüllen von begrenzten Knochenhölräumen beschränkt [10, 52]. Außerdem zeigen sie nur eine geringe Haftung am

Knochen, sodass sie als Kleber ungeeignet erscheinen [4]. Ihre schlechten adhäsiven Eigenschaften, beruhen vermutlich auf schwachen elektrostatischen Anziehungskräften und Van-der-Waals-Kräften, oder auf mechanischen Verzahnungen [53].

Magnesiumphosphatzemente (MPC) zählen ebenfalls zu den Knochenersatzstoffen und stellen eine Art Weiterentwicklung der herkömmlichen CPCs dar. Dabei sind sie biokompatibel in-vivo [7] und besitzen bessere Eigenschaften in Bezug auf ihre Festigkeit, ihrer Abbindezeit und ihres Resorptionsverhaltens als herkömmliche CPCs [52]. Hinzu kommt, dass sie eine höhere Affinität zum Knochen zeigen [54]. Eine weitere Steigerung der Affinität zum Knochen wurde durch die Verwendung von 25 % Phytinsäure in einem MPC-System erreicht [7]. Dabei reagiert Farringtonit ($Mg_3(PO_4)_2$) mit Phytinsäure ($C_6H_{18}O_{24}P_6$ / IP6) über einen Chelatmechanismus zu einem stabilen Komplex [7]. Hochreaktives Magnesiumoxid nimmt dabei ebenfalls an der Reaktion teil und dient der Einstellung einer adäquaten Erhärtungszeit, indem es als Reiche Quelle an Mg^{2+} fungiert und somit den reaktionsverzögernden Effekt der Phytinsäure kompensiert [55]. Auf diese Weise konnte mit einem P/L-Verhältnis von 2,0 g/ml eine Abscherfestigkeit von $0,81 \pm 0,12$ MPa auf bovinem, kortikalem Knochen und nach 7-tägiger Lagerung in phosphat-gepufferter Lösung (PBS) erreicht werden [7]. Die genaue Ursache für den Haftmechanismus konnte jedoch nicht vollständig geklärt werden. Denkbar wäre beispielsweise eine durch die Phytinsäure oberflächlich demineralisierte Hydroxylapatit-Schicht, was zur Freilegung der Kollagenfasern führen könnte und somit in einer mikromechanischen Verankerungsmöglichkeit resultieren würde [7]. Ebenso wäre eine Bildung von Ca^{2+} -Phytinsäure-Chelat-Komplexen mit Ionen der Konchensubstanz denkbar [7]. Ein weiterer Ansatz um CPC-Systemen einen deutlich adhäsiven Charakter zu verleihen, stellt die Verwendung von Phosphoserin (O-Phospho-L-Serin/ OPLS) als adhäsionsfördernde Komponente dar [5, 8]. Als Inspirationsquelle diente Forschern der bioadhäsive Mechanismus des „Sandburgenwurms“ (*Phragmatopoma californica*) [1, 5]. Dabei handelt es sich um ein Meereslebewesen, das eine schützende röhrenförmige Hülle um seinen Körper bildet, indem es Sandkörner und Muschelfragmente mit einem proteinhaltigen Klebstoff zusammenklebt [1, 5]. Untersuchungen verschiedener Analoga von Phosphoserin und Phosphothyrosin ergaben, dass das Vorhandensein mehrerer Calciumbindungs-motive mit geeigneten molekularen Anordnungen dafür verantwortlich sein könnte [8]. Diese Komponenten konnten CPC-Systemen ein adhäsionsförderndes Verhalten selbst an unterschiedlichen Oberflächen verleihen [8]. Dabei schienen vor allem die Phosphatgruppen, sowie die Carbonsäuren von größerer Bedeutung zu sein als die

Amino-Gruppen [8]. Allerdings konnte der genaue chemische Mechanismus, der der Adhäsion zugrunde liegt, noch nicht vollständig geklärt werden. Derzeit sind zwei kommerzielle Phosphoserin-modifizierte-CPC-Systeme (Tetranite und OsStic) zur in-vivo Anwendung in fortgeschrittenem Untersuchungsstatus [8]. In Anlehnung an das Produkt Tetranite® (Fa. RevBio, Lowell, MA), das aus dem System TTCP und Phosphoserin besteht [5], wurde im Rahmen dieser Arbeit ein ähnliches jedoch neuartiges Zementsystem verwendet. Dabei wurde anstelle des TTCP wärmebehandeltes Trimagnesiumphosphat-Hydrat ($Mg_3O_8P_2xH_2O$) (TMP) verwendet. Es vereint also die vorteilhaften Eigenschaften eines MPC-Systems mit der adhäsionssteigernden Wirkung von Phosphoserin und scheint somit einen vielversprechenden Ansatz zu bieten.

2.12 Gewebekleber auf Cyanoacrylat-Basis

Gewebekleber auf Cyanoacrylat-Basis werden meist zur äußerlichen Anwendung als Hautkleber verwendet und dienen in erster Linie zum nahtfreien Verschluss kleinerer Schnittwunden. Allerdings ist ihre Verwendung auch in weiten Bereichen der allgemeinen Chirurgie dokumentiert und erforscht. Dabei handelt es sich um flüssige, hochreaktive Monomere, die in die Spalten der Gewebeoberfläche fließen und dort über kovalente Bindungen zwischen den Cyanoacrylat- und funktionellen Gruppen der Gewebeproteine einen starken Verbund erreichen [56]. Wasser dient als Katalysator der Polymerisationsreaktion, sodass bereits kleinste Mengen an Feuchtigkeit den Kleber zur Aushärtung veranlassen. Ihr größter Vorteil stellt dabei ihre hohe initiale Haftfestigkeit unter feuchten Bedingungen dar, wobei ihre zytotoxischen Eigenschaften und der rapide Abfall initialer Haftwerte, ihre größten Nachteile darstellen [5, 56].

Hinzu kommt, dass die Klebefuge nach Aushärtung eine physikalische Barriere bildet, die allenfalls nur langsam abgebaut werden kann und damit eine adäquate Ausheilung behindert [2, 4]. Ihr Anwendungsgebiet ist deshalb stark eingeschränkt. Auch die Verwendung als Knochenkleber wurde bereits erforscht, wobei eine Haftfestigkeit an kortikalem Knochen im Bereich von 3–10 MPa dokumentiert wurde [4]. Als Alkylrest des Monomers sind Methyl-, Ethyl-, Butyl-, Isobutyl- oder Octylgruppen üblich [57], wobei die Länge des Alkylrests die Eigenschaften der polymerisierten Matrix und die Geschwindigkeit der hydrolytischen Degradation bestimmt. Da die Hydrolyse der Matrix zur Freisetzung der toxischen Abbauprodukte Formaldehyd und Alkylcyanoacetat führt, werden Cyanoacrylat-Kleber mit längeren Alkylketten empfohlen. Truglue® ist ein Beispiel für einen kommerziell erhältlichen Gewebekleber auf Cyanoacrylat-Basis und besteht aus

Ethyl-2-Cyanoacrylat, was ebenfalls Hauptbestandteil der meisten haushaltsüblichen Sekundenkleber darstellt [57].

2.13 In-vitro Testmethoden zur Untersuchung der Klebefestigkeit

Bisher erfolgte die in-vitro Qualifizierung von Knochenklebern mittels unterschiedlichster Prüfmethode sowie unter Verwendung unterschiedlichster Prüfkörper [56, 58]. Zu den gängigsten Prüfmethode dienten Abschermethode, Zugversuche, Schälversuche und Spannungsversuche [7, 56, 59]. Dabei dienten die Prüfkörper dazu mit dem jeweiligen Knochenkleber verklebt zu werden, um dessen Adhäsionsverhalten analysieren zu können. Die Verwendung von tierischen kortikalen oder spongiösen Substraten, stellen ein oft verwendetes Prüfkörper-Modell zur Untersuchung der Klebefestigkeit von Knochenklebern dar [6, 7, 59]. Der Einsatz synthetischer Materialien wie beispielsweise Polyetheretherketon (PEEK), Titan oder Polymethylmethacrylat (PMMA), wurde ebenfalls dokumentiert [5]. Ein Vergleich der literaturbekannten in-vitro Daten ist allerdings kaum möglich [4]. Zurückzuführen ist dieser Umstand auf die Tatsache, dass es sich bei einer Klebung um ein hochkomplexes Konstrukt handelt, das einer enormen Menge an Einflussfaktoren unterliegt [60]. Vor allem tierische Prüfkörper können große materielle Unterschiede aufweisen die auf fortwährende Umbauprozesse, die Art der verwendeten Spezies und die Entnahmestelle zurückzuführen sind [11, 13]. Fehlender Konsens über die genaue Vorgehensweise und Durchführung der mechanischen Untersuchungsmethode, sowie die Verwendung unterschiedlicher Prüfkörpermaterialien führten deshalb selbst für gut erforschte Cyanoacrylate zu einer Vielzahl an unterschiedlichen literarischen Messergebnissen [4]. Die Aussagekraft und Reproduzierbarkeit der erzielten Messergebnisse sind dementsprechend so stark eingeschränkt, sodass die Analyse der tatsächlich verantwortlichen Haftmechanismen deutlich erschwert ist.

3. Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Chemikalien der Prüfkörper aus Zement

α -TCP

748,20g CaHPO_4 (Fa. Innotere, Radebeul) wurden mit 255,23 g CaCO_3 (Fa. Merck, Darmstadt) für 1 h im Pflugscharmischer M5R (Fa. Gebrüder Lödige Maschinenbau

GmbH, Paderborn) vermengt. Im Anschluss wurde die Mischung auf vier Alsint-Tiegel (Fa. Porzellanfabrik Hermsdorf GmbH, Hermsdorf) mit einem Fassungsvermögen von 500 ml verteilt. Die Sinterung erfolgte 5 h im Sinterofen (Fa. Oyten Thermotechnic, Oyten) bei 1400 °C. Der abgekühlte Sinterkuchen wurde gemörsert und auf Partikelgrößen < 355 µm gesiebt. Im Anschluss erfolgte eine Mahlung von jeweils 125 g. Hierzu wurde die Planetenkugelmühle PM400 (Fa. Retsch GmbH, Haan) verwendet. Die 4-stündige Mahlung des trockenen Pulvers wurde mit 200 U/min durchgeführt. Dabei folgte die Mahlung dem Konzept von 1-minütigen Intervallen mit Richtungsumkehr. Es wurden 4 Achat-Kugeln mit einem Durchmesser von jeweils 30 mm für die Mahlungen verwendet. Im Rahmen dieser Arbeit wurden vier verschiedene α-TCP-Chargen (4 der hauseigenen Produktion und eine der Fa. Innotere, Radebeul) verwendet. Die Pulver der hauseigenen Produktion wurden nach dem obigen Prinzip hergestellt. Das fertige Pulver der Fa. Innotere wurde lediglich gemörsert, < 335 µm gesiebt und gemahlen. Die Mahlung von jeweils 125 g erfolgte mit vier Achatkugeln nach der obigen Beschreibung.

di-Natriumhydrogenphosphat-Lösung

Es wurden 2,5 g Na₂HPO₄ (Fa. Merck, Darmstadt) in 100 ml reinem Mill-Q-Wasser aufgelöst.

TTCP

Mahlung der Natriumphosphatmischung: Hierzu wurden 20 g Na₂HPO₄ (Fa. Merck, Darmstadt) mit 8,45 g NaH₂PO₄ (Fa. VWR Prolabo, Pennsylvania, USA) vermengt und 1 h mit 200 U/min trocken gemahlen. Die Mahlung erfolgte in der Planetenkugelmühle PM400 (Fa. Retsch GmbH, Haan). Mahlung des Monetits (CaHPO₄): Es wurden 125 g CaHPO₄ (Fa. J.T. Baker, Griesheim) mit 180 ml Ethanol versetzt und einer 24-stündigen Mahlung unterzogen. Dazu wurden 100 Zirkonoxidkugeln mit einem Durchmesser von 10 mm verwendet. Die Mahlung erfolgte bei 200 U/min. Dabei folgte die Mahlung dem Konzept von 1-minütigen Intervallen mit Richtungsumkehr. Herstellung TTCP: 1646,33 g des gemahlten Monetit-Pulvers wurden mit 1151,04 g CaCO₃ (Fa. Merck, Darmstadt) für eine Stunde im Pflugscharmischer M5R (Fa. Gebrüder Lödige Maschinenbau GmbH, Paderborn) trocken vermengt. Im Anschluss wurde die Mischung auf vier Alsint-Tiegel (Fa. Porzellanfabrik Hermsdorf GmbH, Hermsdorf) mit einem Fassungsvermögen von 500 ml verteilt. Die Sinterung erfolgte 5 h im Sinterofen (Fa. Oyten Thermotechnic, Oyten) bei 1500 °C. Der entstandene TTCP-Sinterkuchen wurde gemörsert und auf <125 µm gesiebt. 36,6 g des gesiebten TTCP wurden mit 500 mg der

Natriumphosphatmischung versetzt und für 10 min gemahlen. Die trockene Mahlung erfolgte mit 200 U/min und 2 Richtungswechseln.

Monetit

Monetit (CaHPO_4) (Fa. J.T.Baker, Griesheim) wurde zur Agglomerationsvermeidung mit Ethanol gemahlen. Hierzu wurde die Planetenkugelmühle PM400 (Fa. Retsch GmbH, Haan) verwendet.

di-Natriumhydrogenphosphat / tri-Natriumcitrat-Dihydrat-Lösung

Es wurden 2,5 g di-Natriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) (Fa. Merck, Darmstadt) mit 14,7 g tri-Natriumcitrat-Dihydrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$) (Fa. Merck, Darmstadt) in 100 ml reinem Mill-Q-Wasser aufgelöst.

3.1.2 Chemikalien der (Knochen)-Kleber

MPC-Phytin-Kleber

Farringtonit-Pulver: Für die Herstellung von Farringtonit wurde zunächst Magnesiumhydrogenphosphat (Fa. Sigma-Aldrich, Steinheim) gemörsert und $< 125 \mu\text{m}$ gesiebt. Im Anschluss erfolgte eine trockene Mahlung von jeweils 125 g für 1 h mit 200 U/min. Dazu wurde die Planetenkugelmühle PM400 (Fa. Retsch GmbH, Haan) verwendet. Es folgte eine Vermengung mit Magnesiumphosphat (Fa. VWR Prolabo, Pennsylvania, USA) im Verhältnis 2:1. Die entstandene Mischung wurde 1 h mit 200 U/min in zwei Richtungen gemahlen. Danach wurde das erhaltene Pulver bei $1100 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 h gesintert. Der entstandene Sinterkuchen wurde im Anschluss gemörsert und $< 355 \mu\text{m}$ gesiebt. Abschließend wurde das Pulver 1 h mit Richtungswechsel gemahlen. Magnesiumoxid 2933 Pulver: Das hochreaktive Magnesiumoxid 2933 wurde erworben (Fa. Magnesia GmbH, Lüneburg). Phytinsäure: Die 25% Phytinsäure wurde aus einer 50 % Phytinsäure (Fa. Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim) generiert. Dazu wurde 25 ml der Säure filtriert und in 25 ml reinem Mill-Q-Wasser verdünnt. Bis zur Verwendung wurde die Säure bei $5 \text{ }^\circ\text{C}$ im Kühlschrank Labex-468 (Fa. Phillip Kirsch GmbH, Offenburg) gelagert.

MPC-OPLS-Kleber

Trimagnesiumphosphat-Hydrat (TMP) ($\text{Mg}_3\text{O}_8\text{P}_2\text{xH}_2\text{O}$): Das Pulver (Fa. Acros Organics New Jersey, USA) wurde einer Wärmebehandlung unterzogen. Dazu wurde folgendes Temperaturregime angewendet: Aufheizen auf 100°C in 200 min. Haltezeit der 100°C für 30 min. Erneutes Aufheizen auf 400°C in 200 min. Haltezeit der 400°C für 6 h.

Abkühlung auf Raumtemperatur im Ofen. O-Phospho-L-Serin (OPLS/ Phosphoserin): Das Pulver wurde von der Firma (Fa. Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim) erworben.

Gewebekleber auf Cyanoacrylatbasis „Truglue®“

Verwendet wurde ein handelsüblicher Gewebekleber auf Cyanoacrylat-Basis namens Truglue® Single Dose (Fa. Trusetal Verbandstoffwerk GmbH, Schloß Holte-Stukenbrock). Dabei handelte es sich um einen Gewebekleber, der in einzelnen Applikatoren flüssiges Monomer in Form von Etyhl-2-Cyanoacrylat enthielt. Bis zur Verwendung wurde der Kleber bei 5 °C im Kühlschrank gelagert.

3.1.3 Herstellung der Prüfkörper

Prüfkörper aus Knochen

Für die Herstellung der Prüfkörper aus Knochen wurde Kortikalis vom bovinen Femur verwendet. Dazu wurden bereits portionierte Stücke aus dem Bereich der Diaphyse des Femurs gekauft. (Metzgerei Kirchner, Würzburg). Der frisch gekaufte Knochen wurde innerhalb von 24 h weiterverarbeitet. Die etwa 5 cm langen Stücke des Femurs wurden von Periost, Muskelansätzen und Sehnen befreit. Nach weiterer Zerkleinerung mit Hammer und Meißel, wurde das Knochenmark entfernt. Für den Abscherversuch wurden aus den kortikalen Teilen Zylinder und Plättchen hergestellt. Für die Herstellung der Zylinder wurden die Knochenstücke in die Drehmaschine Robling 800 Stfl. eingespannt und mit 2000 U/min herausgedreht. Die Maße betragen im Durchmesser 5 mm und in der Höhe 5 mm. Die Plättchen wurden an dem Tellerschleifer Metaserv®3000 (Fa. Buehler, Esslingen am Neckar, Deutschland) mit 300 U/min unter Wasserkühlung in Form geschliffen. Dazu wurde SiC-Nassschleifpapier Korn 80 (Fa. Schmitz Metallographie GmbH, Herzogenrath) verwendet. Die Maße betragen 20 mm x 10 mm x 5 mm. Für den Druckversuch wurden die Knochenstücke auf die gleiche Weise hergestellt wie die Plättchen. Die Maße betragen 6 mm x 6 mm x 12 mm. Die entstandenen kortikalen Prüfkörper wurden nach ihrer Herstellung umgehend in PBS-Lösung bei 5 °C gelagert. Kühlschrank Labex-468 (Fa. Phillip Kirsch GmbH, Offenburg, Deutschland).

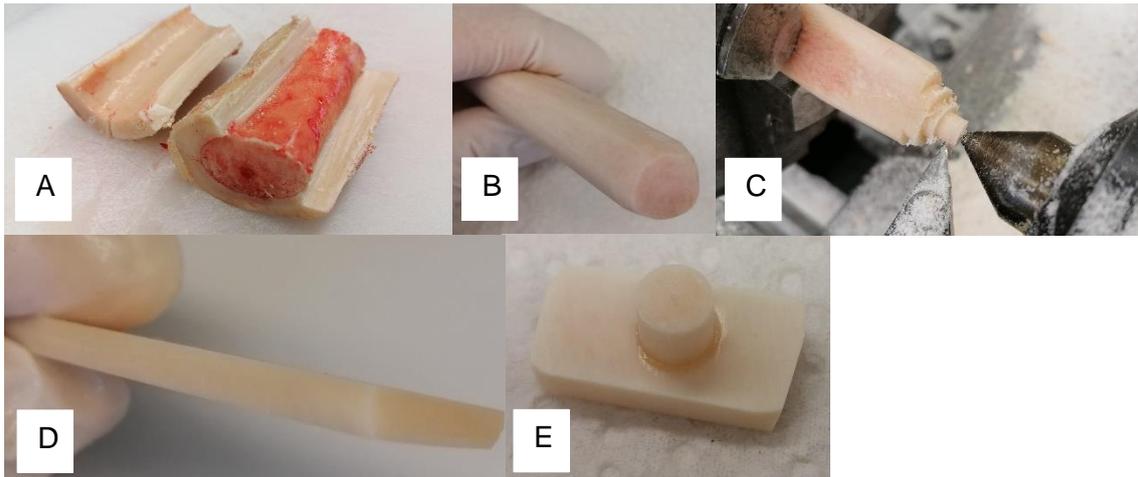


Abbildung 2: Herstellungsschritte der Prüfkörper aus Knochen.
 Von links nach rechts: A: mit Meißel aufgespaltene Beinscheibe vom bovinen Femur. B: Knochenstück vorgeschliffen und bereit zum Einspannen in die Drehmaschine. C: Herstellung des Prüfkörperzylinders an der Drehmaschine. Zylinder-Maße: 5 x 5 mm. D: Geschliffene Knochenplatte die durch Sägen in kleinere Plättchen der Maße 20 x 10 x 5 mm weiterverarbeitet wurde. E: Fertige Prüfkörper, die durch den Gewebekleber Truglue® verklebt wurden.

Negativformen für die Prüfkörper aus Zement

Es wurden Negativformen aus dem Material Polyoxymethylene (POM), mittels präziser CNC-Fertigung (Fa. ima-tec GmbH, Kürnach) hergestellt.

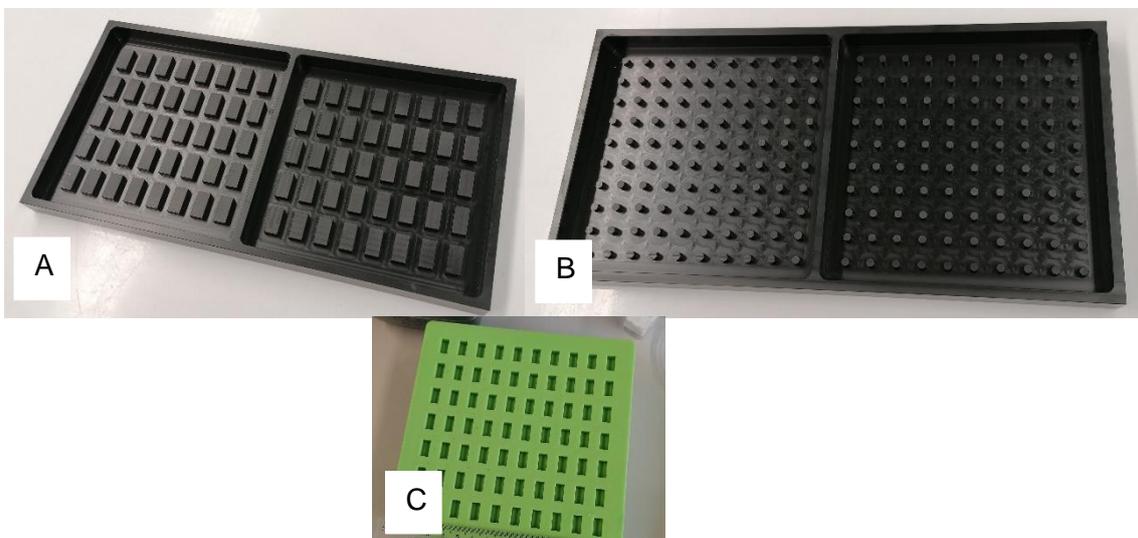


Abbildung 3: Formen für die Herstellung der Prüfkörper aus Zement.
 A: Negativform für die Plättchen der Maße 20 x 10 x 5 mm. B: Negativform für die Zylinder der Maße 5 x 5 mm. C: Beispiel einer Positivform der Außenmaße 160 x 160 mm aus Silikon.

Die hergestellten Negativformen wurden mit einem Silikon ausgegossen. Aus den Negativformen konnten zwei Positivformen gleichzeitig hergestellt werden. Die flexiblen Silikonformen dienen dazu, die Zement-Prüfkörper unbeschädigt entformen zu können. Zur Stabilisierung der flexiblen Silikonformen dienen Plexiglasplatten der gleichen Maße als Unterlage.

Prüfkörper aus α -TCP Zement

α -TCP wurde mit 2,5 % Na_2HPO_4 -Lösung (P/L= 3 g/ml) vermischt und mittels Spatel in einem Becherglas für ca. 30 Sekunden vermischt. Mit einem Spatel wurde die Masse in die Silikonformen überführt. Die gefüllten Formen wurden auf einem Vortex höchster Stufe aufgelegt, um ein optimales Ausfließen zu erzielen. Durch die Vibration sollten Luftblasen an die Oberfläche getrieben werden. Die gefüllten Formen wurden 2-3 h im Wasserbad TW20 (Fa. Julabo, Seelbach) bei 100 % Luftfeuchtigkeit und einer Temperatur von 37,0 °C gelagert. Im Anschluss waren die Prüfkörper ausgehärtet und konnten entformt werden. Abschließend wurden die Prüfkörper in reines Mill-Q-Wasser überführt und bei 37°C für 7 Tage ausgelagert. Die 7-tägige Auslagerung sollte dazu dienen einen möglichst hohen Umsetzungsgrad zu CDHA zu erzielen. Nach den 7 Tagen waren die Prüfkörper fertig hergestellt. Auf dieselbe Weise wurden die Prüfkörper, die einer Druckfestigkeitsprüfung unterzogen wurden, hergestellt. Allerdings betragen ihre Maße 12 x 6 x 6 mm.

Prüfkörper aus TTCP-Zement

TTCP wurde mit reinem Mill-Q-Wasser (P/L= 3 g/ml) vermischt und mittels Spatel in einem Becherglas für ca. 30 Sekunden vermischt. Mit einem Spatel wurde die Masse in die Silikonformen überführt. Die gefüllten Formen wurden auf einem Vortex höchster Stufe aufgelegt, um ein optimales Ausfließen zu erzielen. Durch die Vibration sollten Luftblasen an die Oberfläche getrieben werden. Die gefüllten Formen wurden 2-3 h im Wasserbad TW20 (Fa. Julabo, Seelbach) bei 100 % Luftfeuchtigkeit und einer Temperatur von 37,0 °C gelagert. Im Anschluss waren die Prüfkörper ausgehärtet und konnten entformt werden. Abschließend wurden die Prüfkörper in reines Mill-Q-Wasser überführt und bei 37°C für 7 Tage ausgelagert. Die 7-tägige Auslagerung sollte dazu dienen einen möglichst hohen Umsetzungsgrad zu HA zu erzielen. Nach den 7 Tagen waren die Prüfkörper fertig hergestellt. Die Prüfkörper, die einer Druckfestigkeitsprüfung unterzogen wurden, wurden auf dieselbe Weise hergestellt. Allerdings betragen ihre Maße 12 x 6 x 6 mm.

Gesinterte Prüfkörper aus α -TCP und TTCP

Die zu CDHA bzw. HA umgesetzten Prüfkörperplättchen und Zylinder wurden aus dem Mill-Q-Wasser entnommen und eine Nacht bei 60°C im Wärmeschrank Jouan IG 150 getrocknet. Anschließend wurden sie bei 1300°C (Fa. Arnold Schröder Industrieöfen

GmbH) gesintert. Die Prüfkörper, die einer Druckfestigkeitsprüfung unterzogen wurden, wurden auf dieselbe Weise hergestellt. Allerdings betragen ihre Maße 12 x 6 x 6 mm. Durch die Sinterung erfolgte eine Phasenumwandlung. Die Ergebnisse der XRD-Analyse ist dem Ergebnisteil zu entnehmen. Die abgekühlten Prüfkörper-Plättchen und -Zylinder wurden vor der Verklebung 2 h in PBS gelagert, um genau wie die ungesinterten Prüfkörper in einem feuchten Zustand verklebt zu werden.

Prüfkörper aus α -TCP + Monetit

38,5 g α -TCP (Fa. Innotere, Radebeul) wurden mit 11,5 g Monetit durch Umrühren mit einem Löffel vermengt. Kleine Portionen der Mischung wurden mit einer Kaffeemühle für jeweils 1 min gemahlen. Das fertige Pulver wurde mit 2,5 % di-Natriumhydrogenphosphat / 500 mM tri-Natriumcitrat-Dihydrat-Lösung (P/L= 3,5 g/ml) vermengt und mittels Spatel in einem Becherglas für ca. 30 Sekunden vermischt. Mit einem Spatel wurde die Masse in die Silikonformen überführt. Die gefüllten Formen wurden auf einem Vortex höchster Stufe aufgelegt, um ein optimales Ausfließen zu erzielen. Durch die Vibration sollten Luftblasen an die Oberfläche getrieben werden. Die gefüllten Formen wurden 2-3 h im Wasserbad TW20 (Fa. Julabo, Seelbach) bei 100 % Luft-feuchtigkeit und einer Temperatur von 37,0 °C gelagert. Im Anschluss waren die Prüfkörper ausgehärtet und konnten entformt werden. Abschließend wurden die Prüfkörper in reines Mill-Q-Wasser überführt und bei 37°C für 7 Tage ausgelagert. Die 7-tägige Auslagerung sollte dazu dienen einen möglichst hohen Umsetzungsgrad zu CDHA zu erzielen. Nach den 7 Tagen waren die Prüfkörper fertig hergestellt.

3.1.4 Klebevorgang

Truglue®

Die nassen Prüfkörper bestehend aus Zylindern und Plättchen wurden oberflächlich mit einem Filterpaper trocken getupft. Mit dem Applikator wurde ein Tropfen Kleber mittig auf das Plättchen positioniert. Anschließend wurde mit einer Pinzette der Zylinder auf den Klebetropfen aufgesetzt und mit leichtem Fingerdruck fixiert. Nach 20-minütiger Trocknung an der Luft wurden die verklebten Teile entweder direkt einer Abscherprüfung unterzogen (= Messung der initialen Abscherfestigkeiten nach 20 min), oder in PBS bei 37°C für das jeweilige Zeitintervall gelagert. Im Rahmen von Handversuchen wurde auch ein handelsüblicher Sekundenkleber verwendet. Dabei handelte es sich um den „Sekundenkleber-Das Original“ (Fa. Renfert GmbH, Hilzingen). Der Kleber enthielt Ethyl-2-

Cyanoacrylat. Die Anwendung fand analog zur Vorgehensweise von Knochenkleber[®] statt.

MPC-Phytin-Kleber

Die Komponenten des Klebers wurden vor jeder Klebung neu abgewogen, pipettiert und angemischt. Dazu wurde Farringtonit, hochreaktives Magnesiumoxid 2933 und 25 % Phytinsäure verwendet. Die nassen Prüfkörper, bestehend aus Zylindern und Plättchen, wurden oberflächlich mit einem Filterpapier trocken getupft. Es wurden 990 mg Farringtonit und 80 mg Magnesiumoxid 2933 abgewogen. Zunächst wurde das Farringtonit auf eine Glasplatte gegeben und mit 625 µl der 25 % Phytinsäure beträufelt. Die Masse wurde wenige Sekunden mit einem Spatel verrührt, bis sie homogen erschien. Anschließend wurde das hochreaktive Magnesiumoxid 2933 eingerührt. Die Masse wurde in eine 2 ml Spritze überführt und auf den Zylinder appliziert. Der Zylinder wurde mit leichtem Fingerdruck auf dem Plättchen positioniert. Nach 20-minütiger Trocknung an der Luft wurden die verklebten Teile entweder direkt einer Abscherprüfung unterzogen (= Messung der initialen Abscherfestigkeiten nach 20 min), oder in PBS bei 37°C für das jeweilige Zeitintervall gelagert.

MPC-OPLS-Kleber

Die Komponenten des Klebers wurden vor jeder Klebung neu abgewogen, pipettiert und angemischt. Hierzu wurden 400 mg des wärmebehandelten Trimagnesiumphosphat-Hydrat-Pulvers (TMP) und 150 mg OPLS abgewogen. Die nassen Prüfkörper bestehend aus Zylindern und Plättchen, wurden oberflächlich mit einem Filterpapier trocken getupft. Zunächst wurde das TMP-Pulver auf eine Glasplatte gegeben und mit dem OPLS-Pulver vermengt. Die Pulvermischung wurde dann mit 220 µl reinem Mill-Q-Wasser beträufelt. Die Masse wurde wenige Sekunden mit einem Spatel verrührt, bis sie homogen erschien. Anschließend wurde die Masse in eine 2 ml Spritze überführt und auf den Zylinder appliziert. Der Zylinder wurde mit leichtem Fingerdruck auf dem Plättchen positioniert. Nach 20-minütiger Trocknung an der Luft wurden die verklebten Teile entweder direkt einer Abscherprüfung unterzogen (= Messung der initialen Abscherfestigkeiten nach 20 min), oder in PBS bei 37°C für das jeweilige Zeitintervall gelagert.



Abbildung 4: Applikationsmöglichkeit der zementbasierten Kleber mit Hilfe einer Spritze.
 Beispielhafte Darstellung einer 2 ml Spritze, die entweder mit MPC-Phytin-Kleber oder mit MPC-OPLS-Kleber gefüllt wurde, um den jeweiligen Kleber punktuell auf dem Zylinder zu positionieren zu können. Im Anschluss wurde der Zylinder mit leichtem Fingerdruck auf das Plättchen gedrückt. Maße des Plättchens: 20 x 10 x 5 mm. Maße des Zylinders: 5 x 5 mm.

3.2 Methoden

3.2.1 Abscherfestigkeit

Im Rahmen dieser Arbeit wurde die Universalprüfmaschine UTM Z010 Zwick/Roell (Fa. Zwick GmbH & Co. KG, Ulm) mit der Prüfsoftware testXpert® II verwendet. Es wurde eine 100 kN Messdose mit einer Vorkraft von 0,2 N und einer Prüfgeschwindigkeit von 1 mm/min. verwendet. In der hauseigenen Werkstatt des Instituts wurde eine Prüfvorrichtung zur Bestimmung der Abscherfestigkeit hergestellt. Der Stempel wog 66,23 g.

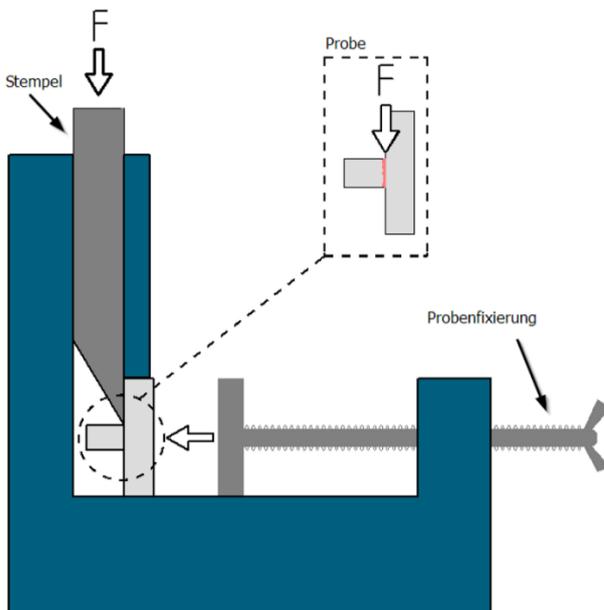


Abbildung 5: Guillotine zur Messung der Abscherfestigkeit der Knochenkleber.
 Die Maße des Prüfkörper-Plättchens betragen 20 x 10 x 5 mm. Die Maße des Prüfkörper-Zylinders betragen 5 x 5 mm.

Die Prüfkörper wurden mit Hilfe der Fixierschraube in der korrekten Position festgestellt. Durch eine Aussparung wurde die Probe so fixiert, dass die Klebefuge mit dem zylindrischen Prüfkörper in die Leitschiene für den Stempel ragte. Der Stempel wurde auf die

Klebefuge aufgesetzt. Zunächst lastete nur das Eigengewicht des Stempels auf der Klebung. Anschließend wurde durch die Prüfmaschine axial Kraft auf den Stempel ausgeübt, wodurch die Klebung eine Schubspannung erfuhr. Gemessen wurde bis zum Zeitpunkt des Versagens der Klebung, was durch einen Kraftabfall registriert wurde.

3.2.2 Druckfestigkeit

Die Druckfestigkeit wurde wie auch bei der Bestimmung der Abscherfestigkeit durch einen Kompressionsversuch an der Universalprüfmaschine Zwick/Roell Z010 bestimmt. Dabei wurde die Probe mit kontinuierlicher Geschwindigkeit komprimiert. Es wurde eine 100 kN Messdose verwendet. Die Vorkraft betrug 1 N. Die Prüfgeschwindigkeit betrug 1 mm/min. Die Maße der Prüfkörper betragen 12 x 6 x 6 mm.

3.2.3 Quecksilberporosimetrie

Durch die Quecksilberporosimetrie wurde die offene Porosität der verwendeten Prüfkörpermaterialien bestimmt. Die Messungen erfolgten mit dem Quecksilberporosimeter PASCAL 140/440 (Porotec GmbH, Hofheim, Deutschland) und der dazugehörigen Auswertungssoftware SOLID. Bevor die Prüfkörpermaterialien gemessen wurden, wurden sie 24 h bei 60°C getrocknet, um eventuell vorhandene Feuchtigkeit weitestgehend aus den Poren zu entfernen. Im Pascal 140 wurde das Dilatometer auf 0,01 kPa evakuiert und mit Quecksilber gefüllt. Während der Messung im Pascal 140 wurde der Druck linear von 0,01 auf 400 kPa erhöht. Anschließend wurde die Probe in das Gerät Pascal 440 überführt, wo der Druck von 0,1 auf 400 MPa erhöht wurde. Über die Washburn-Gleichung konnte durch den angelegten Druck die Porengröße berechnet werden [61]. Die detektierbare Porengröße liegt bei dieser Methode in einem Bereich von ca. 4 nm – 0,4 mm [62].

3.2.4 Rautiefenmessung

Rautiefenmessungen wurden herangezogen, um die Oberflächenbeschaffenheit der verklebten Prüfkörper zu analysieren. Die Messungen wurden mit einem 2D-Profilometer mit Diamantspitze (Fa. SurfTest SV500, Mitutoyo, Japan) durchgeführt. Es wurde der Mittenrauwert Ra ermittelt. Dabei handelt es sich um das arithmetische Mittel aller Abweichungen von einer mathematisch festgelegten Bezugslinie.

3.2.5 Röntgendiffraktometrie

XRD-Messungen wurden herangezogen, um die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Prüfkörper aus Zement zu untersuchen. Hierfür wurde das D8 Advance DA-VINCI Design X-Ray Diffractometer der Firma Bruker AXS GmbH benutzt. Für die XRD-Messungen wurden die Prüfkörper-Plättchen verwendet. Diese wurden nach 7-tägiger Lagerung aus dem reinem Mill-Q-Wasser entnommen und zunächst bei 37°C im Trockenschrank getrocknet. Die Prüfkörper wurden im trockenen Zustand sehr fein gemörsert. Die entstandenen Pulver wurden 2 Tage bei 50°C getrocknet, bevor die XRD-Messungen durchgeführt wurden. Es wurde im Winkelbereich von $2\theta = 7^\circ - 70^\circ$ gemessen. Die Schrittgröße belief sich auf $0,02^\circ$ bei einer Scangeschwindigkeit von 0,05 Sekunden/Schritt. Die Beschleunigungsspannung der $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung betrug 40 kV und der dazugehörige Strom lag bei 40 mA. Die verwendete monochromatische Röntgenstrahlung wurde an den Gitterebenen der Probe gebeugt. Gemäß der Bragg'schen Gleichung ergab sich dabei unter bestimmten Winkeln konstruktive Interferenz, wodurch die Abstände der Gitterebenen und dadurch auch die kristallinen Phasen ermittelt werden konnten [63]. Die Analyse der qualitativen Zusammensetzung der kristallinen Phasen erfolgte über die Software EVA. Die Analyse der quantitativen Zusammensetzung der kristallinen Phasen erfolgte über die Software Diffrac.TOPAS der Firma Bruker AXS GmbH.

3.2.6 Rasterelektronenmikroskopie (REM) und energiedispersive Röntgenspektrometrie (EDX)

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) diente als hochauflösendes bildgebendes Verfahren zur morphologischen und topographischen Analyse der Prüfkörperoberflächen. Dabei werden auf der Prüfkörperoberfläche durch einen fokussierten Elektronenstrahl Sekundärelektronen (SE) und Rückstreuielektronen (BSE) erzeugt. Das von ihnen detektierte Signal gibt Aufschluss über die Oberflächenbeschaffenheit [64]. Die untersuchten Proben wurden 5 Tage bei 60°C getrocknet. Da die Proben nicht leitfähig waren, wurden sie mithilfe des EM ACE600 Sputtercoaters (Fa. Leica, Wetzlar) mit einer ca. 4 nm dicken Platinschicht beschichtet. Anschließend wurden die Proben zur REM-Aufnahme in das Crossbeam 340 (Fa. Zeiss, Oberkochen) eingesetzt. Die Aufnahmen wurden im Hochvakuum bei Beschleunigungsspannungen von 2.00/ 5.00/ 10.00 kV aufgenommen. Es wurden Aufnahmen mit verschiedenen Vergrößerungen erstellt. Die energiedispersive Röntgenspektrometrie (EDX), wurde zur Bestimmung der

Elementzusammensetzung einer Probe verwendet. Dabei wird die charakteristische Röntgenstrahlung detektiert, die durch eine mittels Elektronenstrahl angeregte Probe emittiert wird. Es wurden Prüfkörper aus CDHA mit Truglue®-Kleberesten nach 24-stündiger Lagerung in PBS und darauffolgendem Abscherversuch untersucht. Hierfür wurde das Areal der Klebung betrachtet. Prüfkörperspezifische Materialrückstände (Calcium oder Phosphat) bzw. klebematerialspezifische Materialrückstände (Kohlenstoff oder Stickstoff) wurden herangezogen, um Elementverteilungsbilder anzufertigen.

3.2.7 Statistik

Zur Analyse der metrischen Daten wurde Excel für Microsoft 365 verwendet. Das arithmetische Mittel wurde aus allen erzielten Messwerten der jeweiligen Gruppe bestimmt. Zusätzlich wurde die Standardabweichung aller erzielten Messwerte der jeweiligen Gruppe über die STABWN-Funktion ermittelt. Eine statistische Analyse wurde mit dem Programm SigmaPlot (Systat Software GmbH, Erkrath) durchgeführt. Hierzu wurden die erzielten Messwerte der jeweiligen Gruppe auf Normalverteilung und signifikante Unterschiede überprüft. Zur Ermittlung der Normalverteilung wurde der Shapiro-Wilk-Test verwendet. Zur Evaluierung der Signifikanz wurde je nach Datensatz One-way Anova, Kruskal-Wallis One-Way Analysis of Variance on Ranks oder t-test verwendet.

Eine Korrektur durch paarweise Vergleichsmethoden wurde mittels Holm-Sidak Method, Dunn's Method, oder Tukeytest durchgeführt. Das Signifikanzlevel wurde wie folgt definiert: * $p < 0,5$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$. Dabei wurden stets die die Gruppen innerhalb eines Zeitintervalls einer statistischen Analyse unterzogen.

4. Ergebnisse

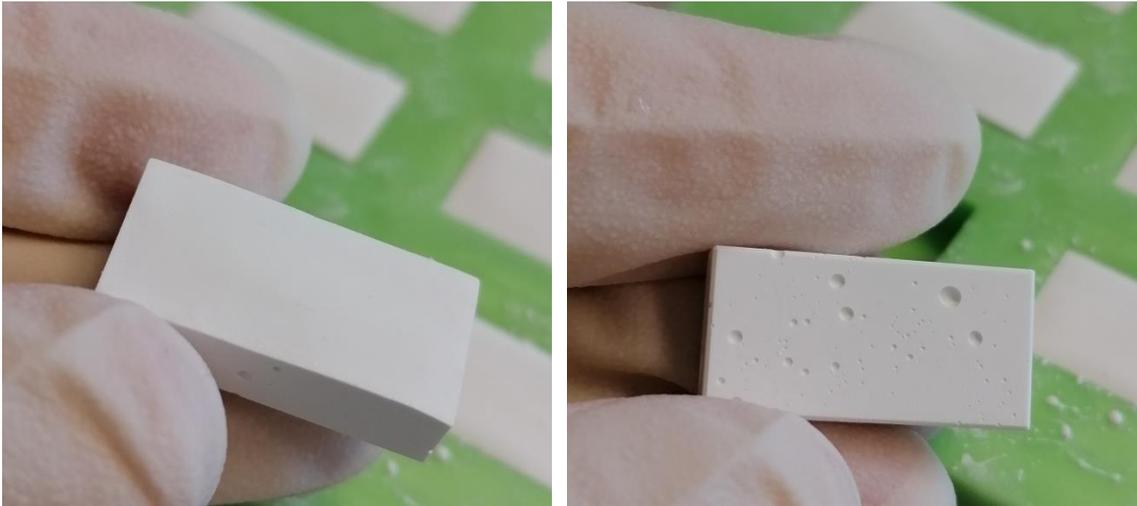
4.1 Vergleich der Prüfkörper aus α -TCP vs. TTCP vs. Knochen

Im ersten Teil dieser Arbeit sollten zwei verschiedene Apatit-bildende Zemente in Bezug auf ihre Eignung als Prüfkörpermaterial zur Qualifizierung von Knochenklebern verglichen werden. Es wurde ein Tricalciumphosphat- (α -TCP) bzw. ein Tetracalciumphosphat-Zementsystem (TTCP) aus der hauseigenen Produktion verwendet. Beide Materialien bilden im Rahmen einer Lösungs-Fällungs-Reaktion calciumdefizitären Hydroxylapatit bzw. stöchiometrischen Hydroxylapatit als Reaktionsprodukt und entsprechen somit näherungsweise der anorganischen Zusammensetzung des natürlichen Knochens. Als zusätzliche Variation wurden die abgebundenen Zement-Prüfkörper, die aus α -TCP

bzw. TTCP hergestellt wurden, bei 1300°C gesintert. Dabei sollte untersucht werden welchen Einfluss die nachträgliche Sinterung auf die abgebundenen Zement-Prüfkörper genommen hatte. Die Materialien wurden bezüglich ihres Handlings, ihrer Röntgendiffraktometrie, ihrer Porosität, ihrer Druckfestigkeit und ihrer Oberflächenbeschaffenheit verglichen. Zusätzlich sollte das Adhäsionsverhalten eines Knochenklebers auf den Prüfkörpern verglichen werden und dem Adhäsionsverhalten auf Knochen gegenübergestellt werden. Hierfür wurde ein neuartiger Knochenkleber aus Farringtonit-Phytinsäure (MPC-Phytin) verwendet.

4.2 Verarbeitbarkeit

Zunächst wurden eine α -TCP-Zementpaste mit einer TTCP-Zementpaste der hauseigenen Produktion bezüglich ihres Handlings verglichen. Bereits beim Anmischen der Zemente wurden deutliche Unterschiede bemerkbar. Während α -TCP eine cremige und sehr gut zu verstreichende Konsistenz aufwies, handelte es sich bei TTCP um eine sehr feste und trockene Paste. Beide Pasten zeigten jedoch thixotropes Verhalten, sodass durch Klopfen der mit Zement gefüllten Förmchen Luftblasen an die Oberfläche getrieben werden konnten. Nach ca. 2 h bei 37°C und 100 % Luftfeuchtigkeit, waren alle Prüfkörper abgebunden, sodass sie entformt und in reines Mill-Q-wasser überführt werden konnten. Nach Entformung der Zementkörper konnten zunächst Unterschiede zwischen den silikonzugewandten und luftzugewandten Seiten festgestellt werden. Dabei zeigten die luftzugewandten Seiten beider Materialien leichte Erhabenheiten und Wellen bei sonst lunkerfreier Oberfläche. Auf den silikonzugewandten Seiten zeigten beide Materialien hingegen deutliche Unterschiede. Die Seite des α -TCP-Materials erschien glatt, homogen und lunkerfrei, wohingegen die von TTCP deutliche Lunker aufwies (siehe Abbildung 6).



A

B

Abbildung 6: Silikonzuwandte Seiten der abgebundenen Prüfkörper aus Zement.
 A: ausgehärtete Zementpaste die aus α -TCP hergestellt wurde. B: ausgehärtete Zementpaste die aus TTCP hergestellt wurde. Maße der Plättchen: 20 x 10 x 5 mm.

Nach Sinterung der abgebundenen α -TCP- und TTCP-Prüfkörper zeigten beide Materialien die gleiche äußerliche Erscheinung wie die ungesinterten Prüfkörper. Allerdings wiesen sie eine Schrumpfung von ca. 20 % auf, wobei die α -TCP-Prüfkörper etwas mehr geschrumpft waren als die TTCP-Prüfkörper.

4.3 XRD- Analyse

Die abgebundenen Zement-Prüfkörper aus α -TCP bzw. TTCP wurden mittels XRD-Analyse mit ihren gesinterten Varianten verglichen. In der unten aufgeführten Tabelle sind die Ergebnisse der Phasenanalyse der verschiedenen Prüfkörper mit Diffrac.TOPAS dargestellt. Dabei konnte festgestellt werden, dass die abgebundenen Zementpasten aus α -TCP bzw. TTCP in ihrer kristallinen Zusammensetzung zu über 80% aus CDHA bzw. HA bestanden. Die abgebundene Zementpaste aus α -TCP wurde durch den Sinterprozess vollständig zu β -TCP umgewandelt. Die abgebundene Zementpaste aus TTCP bestand nach dem Sinterprozess hingegen immer noch zu ca. 45 % aus HA, wobei sich auch α -TCP und β -TCP als Nebenphasen gebildet hatten. Allerdings entstand hierbei zusätzlich noch eine weitere Phase, die $\text{Ca}_{10}\text{Na}(\text{PO}_4)_7$ zugeordnet werden konnte. Eine quantitative Auswertung dieser zusätzlichen Phase konnte jedoch nicht erfolgen.

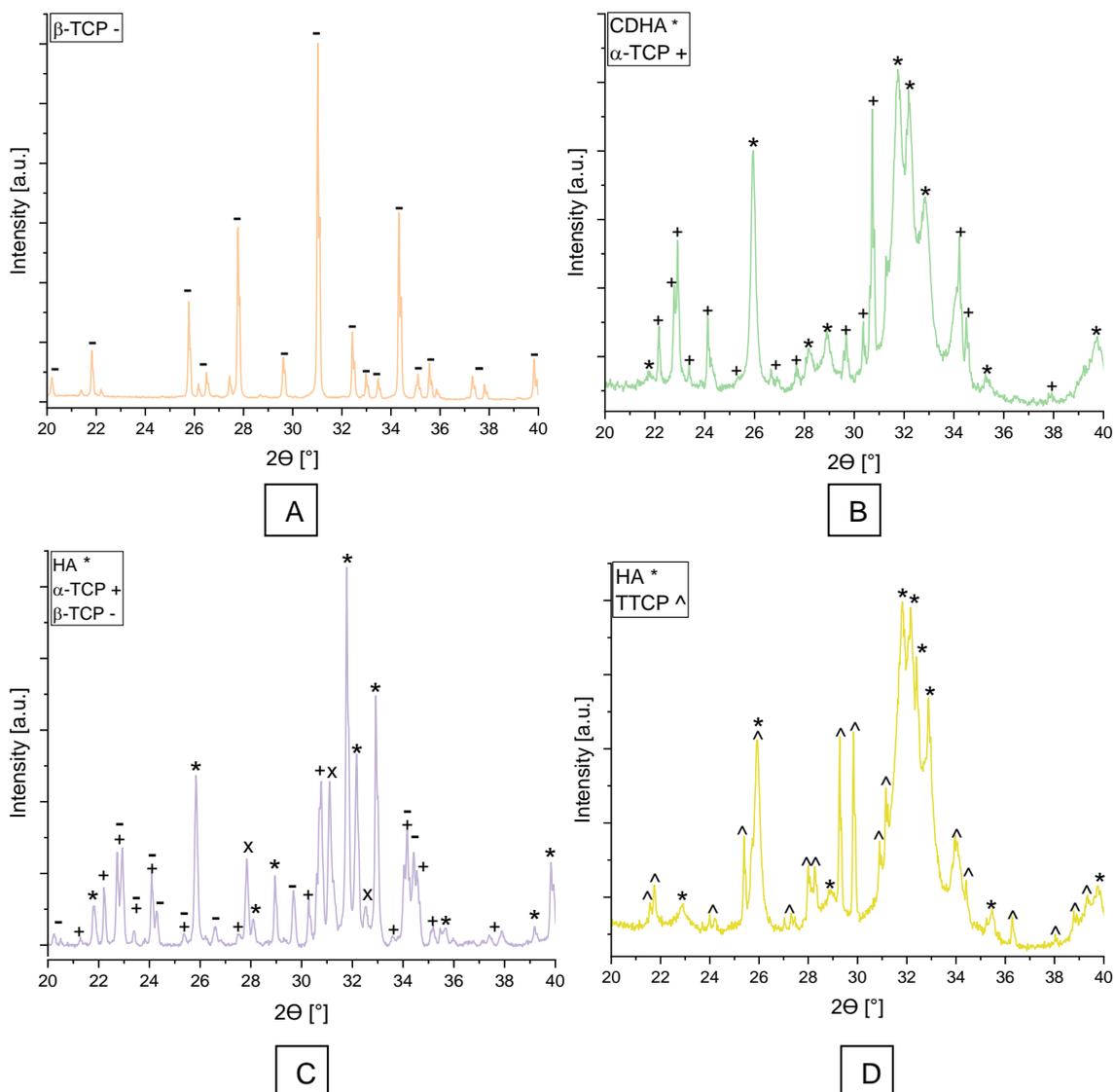


Abbildung 7: Diffraktogramme der Prüfkörpermaterialien.

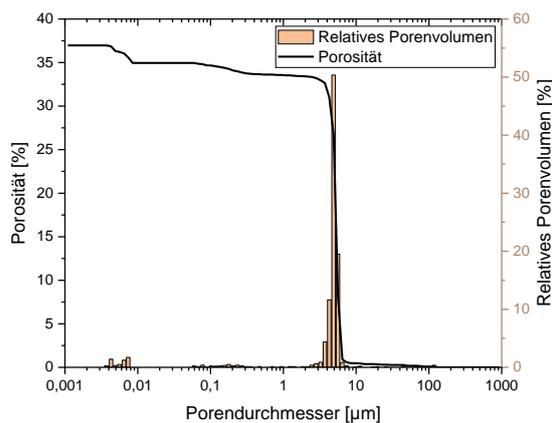
A: Das Prüfkörpermaterial wurde aus α -TCP hergestellt, zu CDHA umgesetzt und anschließend bei 1300°C gesintert. (β -TCP: PDF 09-0169). B: Das Prüfkörpermaterial wurde aus α -TCP hergestellt und zu CDHA umgesetzt. (HA: PDF 09-0432; α -TCP: PDF 09-0348) C: Das Prüfkörpermaterial wurde aus TTCP hergestellt, zu HA umgesetzt und anschließend bei 1300°C gesintert. (HA: PDF 09-0432; α -TCP: PDF 29-0359; β -TCP: PDF 09-0348; Die mit x gekennzeichnete Phase entspricht $\text{Ca}_{10}\text{Na}(\text{PO}_4)_7$: PDF 45-0339) D: Das Prüfkörpermaterial wurde aus TTCP hergestellt und zu HA umgesetzt. (HA: PDF 09-0432; TTCP: PDF 25-1137/ PDF 11-0232). Orange und Grün wurden aus zwei unterschiedlichen Chargen hergestellt. Violett und Gelb entstammen der gleichen Charge.

Tabelle 2: Übersicht der Phasenzusammensetzungen der Prüfkörpermaterialien die aus α -TCP bzw. TTCP hergestellt wurden. $n=3$.

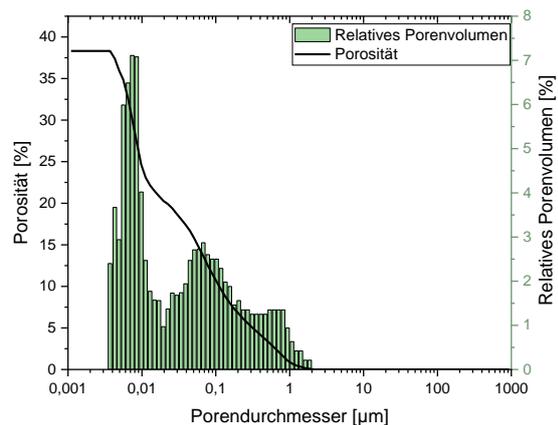
	Verwendetes Ausgangsmaterial	Diffrac. TOPAS-Ergebnis
A	α -TCP zu CDHA umgesetzt. Anschließend bei 1300°C gesintert	100% whitlockit \triangleq β -TCP
B	α -TCP zu CDHA umgesetzt	81,46% CDHA / 18,54% α -TCP
C	TTCP zu HA umgesetzt. Anschließend bei 1300°C gesintert	45,80% HA / 31,98% α -TCP/ 22,22 % β -TCP
D	TTCP zu HA umgesetzt	82,51% HA / 17,49% TTCP

4.4 Quecksilberporosimetrie

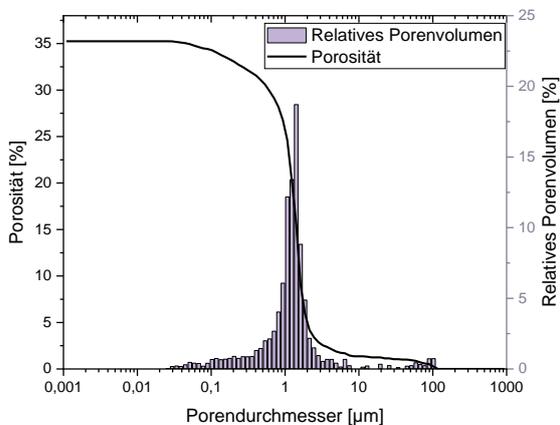
Die Quecksilberporosimetrie ergab, dass trotz des Sinterprozesses und der damit einhergegangenen Volumenschrumpfung von ca. 20 %, keine Reduktion der Gesamtporosität erreicht werden konnte. Lediglich die Porengrößenverteilung entwickelte sich von multimodalen Verteilungen hinzu monomodalen. Die Prüfkörper aus Zement zeigten eine Gesamtporosität von 36-38 %. Die Porosität des Knochen-Prüfkörpers lag mit 6,7 % deutlich unter der Gesamtporosität der Zementkörper. Im Vergleich mit der Knochenprobe ließ sich in Bezug auf die Porengrößenverteilung die größte Übereinstimmung mit dem abgebundenen α -TCP-Prüfkörper feststellen. Sowohl Knochen als auch abgebundener α -TCP besaßen eine trimodale Porengrößenverteilung, wobei sie sich in ihren Hauptmaxima entsprachen (α -TCP abgebunden 7,4 nm; Knochen 4,3 nm). Im Bereich von 0,1 μm konnte ebenfalls eine annähernde Übereinstimmung festgestellt werden. Allerdings zeigte die Knochenprobe in ihrem dritten Maximum deutlich größere Poren als der abgebundene α -TCP-Zementkörper.



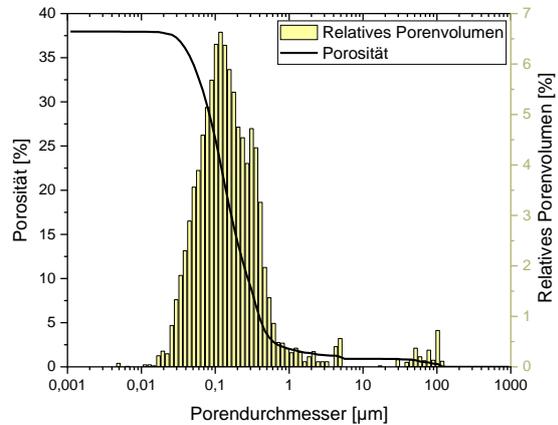
A



B



C



D

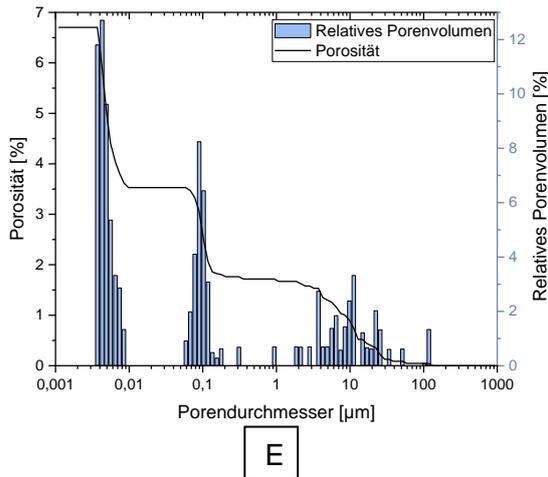


Abbildung 8: Quecksilberporosimetrie der Prüfkörpermaterialien.
 A: Das Prüfkörpermaterial wurde aus α -TCP hergestellt, zu CDHA umgesetzt und anschließend bei 1300°C gesintert. B: Das Prüfkörpermaterial wurde aus α -TCP hergestellt und zu CDHA umgesetzt. C: Das Prüfkörpermaterial wurde aus TTCP hergestellt, zu HA umgesetzt und anschließend bei 1300°C gesintert. D: Das Prüfkörpermaterial wurde aus TTCP hergestellt und zu HA umgesetzt. E: kortikaler Knochen vom bovinen Femur. Orange und Grün wurden aus zwei unterschiedlichen Chargen hergestellt. Violett und Gelb entstammen der gleichen Charge. Pro Material wurde eine Messung durchgeführt.

4.5 Druckfestigkeit

Als mechanische Untersuchung wurde ein Vergleich der Druckfestigkeiten der Zement-Prüfkörper vorgenommen und der Druckfestigkeit von Knochen gegenübergestellt.

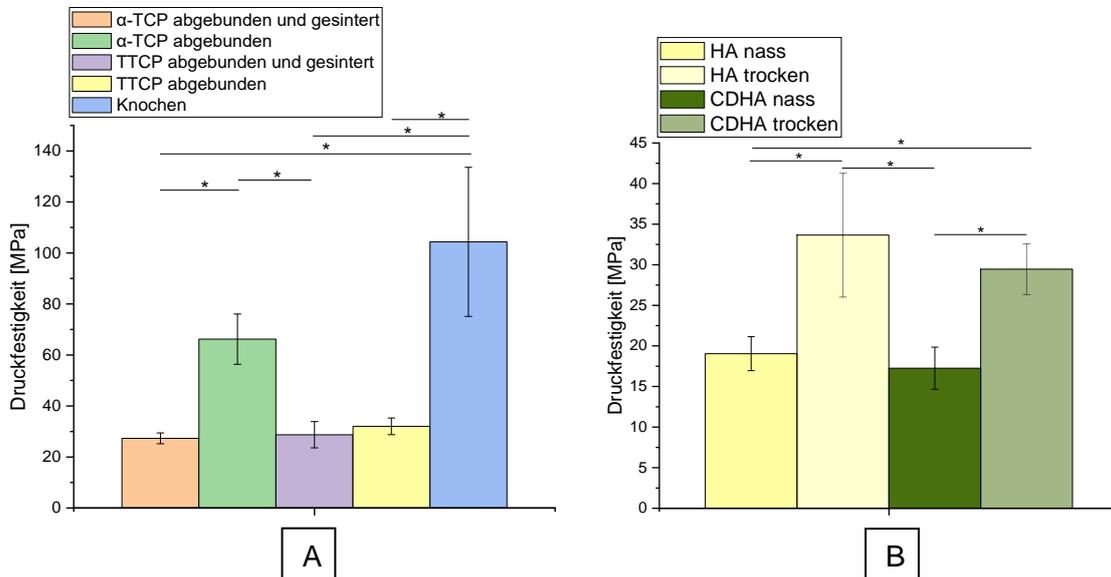


Abbildung 9: Druckfestigkeit der Prüfkörpermaterialien.
 A: Druckfestigkeit der abgebundenen Zementpasten aus α -TCP bzw. TTCP und deren bei 1300°C gesinterte Varianten. Probenanzahl der Zement-Prüfkörper $n = 10$. Orange und Grün wurden aus zwei unterschiedlichen Chargen hergestellt. Violett und Gelb entstammen der gleichen Charge. Alle Zement-Prüfkörper befanden sich in einem getrockneten Zustand (eine Nacht bei 60°C). Die Prüfkörperanzahl von Knochen betrug $n = 18$. Die Druckfestigkeit von Knochen wurde direkt nach seiner Herstellung durchgeführt und fand daher unter feuchten Bedingungen statt. B: Vergleich der Druckfestigkeit von abgebundenen Zementpasten aus α -TCP bzw. TTCP unter feuchten und trockenen Bedingungen. Probenanzahl $n = 10$. Gelb entspricht derselben Charge aus Grafik A. Olivgrün wurde aus einer neuen Charge α -TCP hergestellt. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehreren Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Um den Feuchtigkeitsgehalt als einflussreiche Größe zu umgehen, wurden die Prüfkörper der Grafik (A) im getrockneten Zustand (eine Nacht bei 60°C) getestet.

Die Prüfkörper aus Knochen wurden hingegen direkt nach ihrer Herstellung der Druckprüfung unterzogen und befanden sich zwischenzeitlich in PBS zur Aufbewahrung. Die Druckprüfung des Knochens wurde dementsprechend an feuchten Prüfkörpern durchgeführt. Die Zement-Prüfkörper zeigten Druckfestigkeiten im Bereich von ca. 30 MPa. Lediglich die Prüfkörper aus abgebundenem α -TCP zeigten eine etwa doppelt so hohe Druckfestigkeit mit $66,21 \pm 9,85$ MPa. Die durchschnittliche Druckfestigkeit von Knochen lag bei $104,37 \pm 29,23$ MPa. Der höchste Einzelmesswert von Knochen betrug 155 MPa. Der kleinste Einzelmesswert von Knochen betrug 41 MPa. Um den Einfluss des Feuchtigkeitsgehaltes auf die Druckfestigkeit der Prüfkörpermaterialien zu untersuchen, wurde eine erneute Druckprüfung durchgeführt. Grafik (B) zeigt den Unterschied zwischen feuchten, bzw. getrockneten Zement-Prüfkörpern aus abgebundenem TTCP bzw. α -TCP. Dabei konnte ein großer Einfluss des Feuchtigkeitsgehalts auf die Druckfestigkeit der Zement-Prüfkörper festgestellt werden. Die mittlere Druckfestigkeit der getrockneten Prüfkörper war ca. 14 MPa größer als die der feuchten Prüfkörper. Auffällig dabei war, dass die in Grafik (B) verwendete α -TCP-Charge mit $29,44 \pm 3,13$ MPa im trockenen Zustand deutlich schwächer ausfiel als die in Grafik (A) verwendete Charge mit $66,21 \pm 9,85$ MPa.

4.6 Rautiefenvergleich

Die Klebefestigkeit von Knochenklebern kann durch chemische oder mechanische Phänomene, oder einer Kombination aus beidem beeinflusst werden.

Um den Grad der mechanischen Verankerungsmöglichkeit auf den unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien besser beurteilen zu können, wurden die Rautiefen dieser Materialien untersucht. Die niedrigsten Ra-Werte wurden auf der α -TCP-Gruppe erreicht, die nicht gesintert wurde ($R_a = 0,59 \pm 0,04$ μm). Gleichzeitig war die relative Standardabweichung mit 7,3% geringer als in allen anderen Gruppen. Die TTCP-Gruppen die bereits makroskopisch viele Lunker aufwiesen, zeigten eine erhöhte Oberflächenrauheit ($R_a = 1,74 \pm 0,97$ μm). Die relativen Standardabweichungen der TTCP-Gruppen waren dabei höher als in allen anderen Gruppen. Die höchste Oberflächenrauheit wies jedoch die Knochen-Gruppe auf, die mit P80-Nassschleifpapier bearbeitet worden war ($R_a = 2,59 \pm 0,64$ μm).

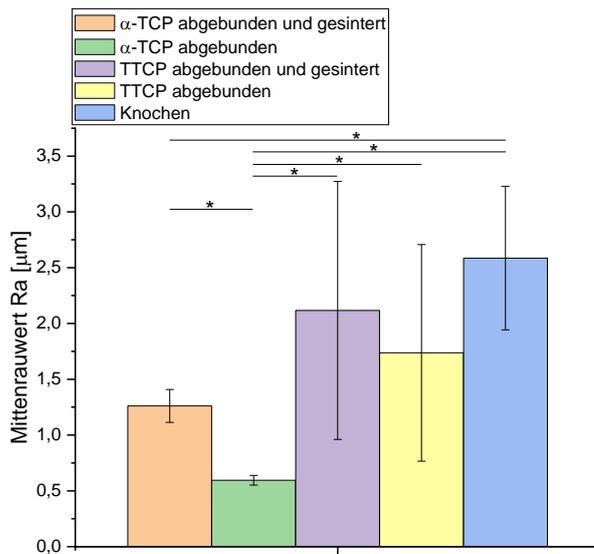


Abbildung 10: Rautiefenvergleich der Prüfkörpermaterialien. Rautiefenvergleich der abgebundenen Zementpasten aus α -TCP bzw. TTCP und deren bei 1300°C gesinterte Varianten im Vergleich mit Knochen. Es wurde der Mittentrauert Ra ermittelt. Anzahl der Messungen $n = 12$. Orange und Grün wurden aus zwei unterschiedlichen Chargen hergestellt. Violett und Gelb entstammen der gleichen Charge. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehrerer Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.7 Abscherfestigkeit des MPC-Phytin-Klebers

Die höchste mittlere Abscherfestigkeit wurde auf der abgebundenen α -TCP-Gruppe erreicht, die nicht gesintert wurde und dementsprechend aus CDHA bestand. Gleichzeitig wurden in dieser Gruppe die geringsten Varianzen erzielt.

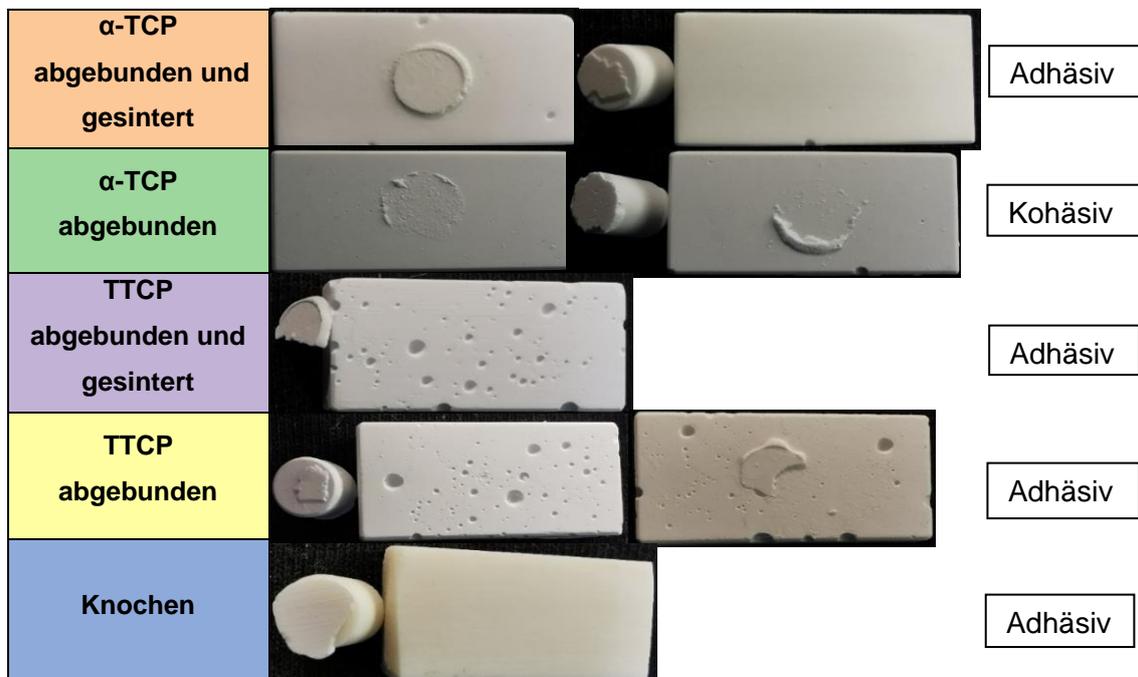


Abbildung 11: Versagensbeispiele des MPC-Phytin-Klebers auf unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien.

Auf den anderen Materialien zeigte der Kleber jedoch ein anderes Verhalten. In einigen Fällen kam es bereits während der Probenpositionierung im Versuchsaufbau zum Versagen einer Klebung. In anderen Fällen löste sich eine Klebung bereits bei Entnahme aus der PBS-Lösung. Insgesamt wurde dies als adhäsives Klebeversagen gewertet. Aufgrund dieser vorzeitigen Versagensfälle konnten nicht immer alle 9 Prüfkörper einer Abschermessung unterzogen werden. Die Klebungen auf Knochen zeigten zwar konstante mittlere Abscherfestigkeiten von ca. $0,25 \pm 0,14$ MPa, allerdings wiesen sie hohe relative Standardabweichungen von bis zu 57 % auf. Am schlechtesten schien der Kleber auf den abgebundenen TTCP-Prüfkörpern zu haften. In dieser Gruppe wurden niedrige Abscherfestigkeiten, hohe Varianzen und die meisten vorzeitigen Klebeversagen beobachtet (siehe Abbildung 12). Grundsätzlich konnten in den meisten Fällen und in fast allen Gruppen adhäsive Versagensmuster beobachtet werden, wobei der Kleberest meist am zylindrischen Prüfkörperteil hängen blieb. Nur in der abgebundenen α -TCP-Gruppe zeigten sich die Klebereste stets sowohl am Zylinder als auch am Plättchen, sodass von einem kohäsiven Versagen ausgegangen werden konnte (siehe Abbildung 11).

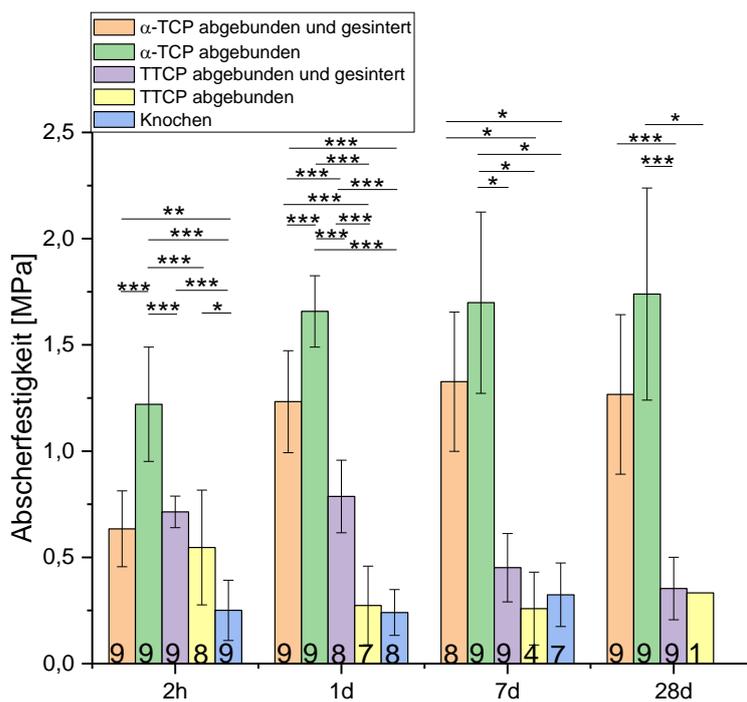


Abbildung 12: Abscherfestigkeit eines MPC-Phytin-Klebers.

Abscherfestigkeit des MPC-Phytin-Klebers auf abgebundenem α -TCP, bzw. TTCP und deren bei 1300°C gesinterten Varianten, sowie auf kortikalem bovinem Femur. Auslagerung der Klebungen für das jeweilige Zeitintervall bei 37°C in PBS. Das Zeitintervall auf Knochen wurde aus Verwesungsgründen auf 7 Tage festgelegt. Die Probenanzahl betrug $n = 9$. Die in den Säulen angegebenen Zahlen beschreiben die Anzahl der erfolgreich abgescherten Klebungen. Bei reduzierter Zahl bedeutet dies, dass sich die verklebten Prüfkörper bereits vorzeitig gelöst hatten und deshalb keiner Abscherprüfung unterzogen werden konnten. Orange und Grün wurden aus zwei unterschiedlichen Chargen hergestellt. Violett und Gelb entstammen der gleichen Charge. Die Mittelwerte und Varianzen wurden anhand der tatsächlich abgescherten Klebungen ermittelt. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehrer Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

4.8 Abscherfestigkeit des MPC-Phytin-Klebers auf CDHA mit unterschiedlichen Rauheitsprofilen

Die vorherigen Versuche haben gezeigt, dass das beste Adhäsionsverhalten des MPC-Phytin-Klebers mit gleichzeitig geringster Varianz auf den abgebundenen α -TCP-Prüfkörpern erzielt wurde. Dabei handelte es sich um das Material mit der glattesten Oberfläche. Daher wurde ein weiterer Abscherversuch auf demselben Material unternommen, um den Einfluss einer potenziell makromechanischen Verankerungsmöglichkeit auf die Abscherfestigkeit des MPC-Phytin-Klebers besser beurteilen zu können.

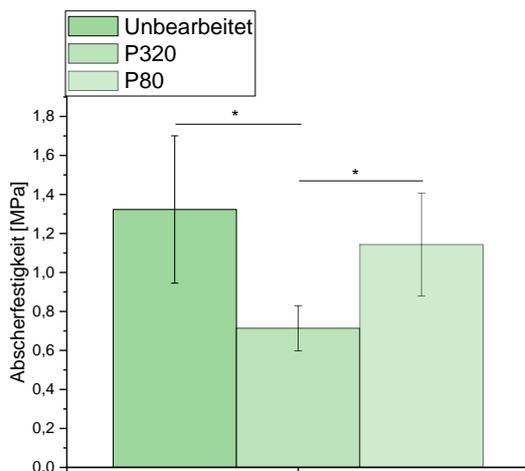


Abbildung 13: Abscherfestigkeit des MPC-Phytin-Klebers auf abgebundenem α -TCP-Prüfkörpern mit unterschiedlichen Rauheitsprofilen.

Die Prüfkörper wurden aus α -TCP hergestellt und zu CDHA umgesetzt. Es folgte eine mechanische Bearbeitung mit Nassschleifpapier unterschiedlicher Körnung, P320; P80. Die Probenanzahl betrug $n=24$. Die Abscherung erfolgte nach 1 d Lagerung in PBS. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehrer Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

Es zeigte sich, dass die höchste mittlere Abscherfestigkeit mit $1,32 \pm 0,38$ MPa erneut auf der glattesten bzw. unbearbeiteten Oberfläche erreicht wurde. Außerdem konnte festgestellt werden, dass die Oberflächenbeschaffenheit bzw. der Grad der Rauheit Einfluss auf die Erzielung unterschiedlicher Klebefestigkeiten zur Folge hatte. Interessanterweise wurde auf der P80-Gruppe mit $1,14 \pm 0,26$ MPa eine höhere mittlere Abscherfestigkeit gemessen als auf der P320-Gruppe mit $0,71 \pm 0,12$ MPa. Des Weiteren konnte festgestellt werden, dass zwischen der unbearbeiteten Oberfläche und der P80-Oberfläche kein signifikanter Unterschied der Abscherfestigkeiten festgestellt werden konnte.

4.9 Optimierungsversuche des α -TCP-Systems

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden verschiedene Handversuche durchgeführt. Es wurden Prüfkörper aus abgebundenem α -TCP mit unterschiedlichen Klebern verklebt, um deren Abscherfestigkeit zu messen.



Abbildung 14: Beispiel eines Prüfkörperversagens in Form eines Ausrisses, der durch Sekundenkleber verursacht wurde.

In manchen Fällen waren die Kleber so stark, dass die Prüfkörper die mit dem jeweiligen Kleber verklebt waren versagten, bevor die tatsächliche Abscherfestigkeit überhaupt gemessen werden konnte. In solchen Fällen kam es zu Ausrissen aus dem Prüfkörpermaterial (siehe Abbildung 14). Die Ausrisse wurden durch verschiedene Kleberezepturen erzielt. Die Abscherfestigkeiten bei denen es zum Versagen der Prüfkörper kam lagen zwischen 2,18 MPa und 3,66 MPa. Aufgrund der erzeugten Ausrisse wurden verschiedene Handversuche zu Verstärkung der Prüfkörper unternommen. Dabei wurde einerseits α -TCP- Pulver mit einer Gelatine-Lösung angemischt. Andererseits wurde α -TCP- Pulver mit 23 Gew. % Monetit versetzt und mit einer 2,5 % di-Natriumhydrogenphosphat / 500 mM tri-Natriumcitrat-Dihydrat-Lösung angemischt. Außerdem wurden verschiedene P/L-Verhältnisse mit beiden Varianten ausprobiert. Die Auswirkungen auf die Materialeigenschaften der abgebundenen Prüfkörper wurden im Anschluss untersucht. Der Gelatine-Handversuch zeigte sich problematisch, da nach 7-tägiger Lagerung der Prüfkörper (37°C im Wasserbad) deutliche Zersetzungsprozesse mit unangenehmer Geruchsbildung zu verzeichnen waren. Die Druckfestigkeit dieser Gelatine-Prüfkörper lag im feuchten Zustand zwischen 7-17 MPa. Fraglich war außerdem wie viel Gelatine nach der 7- tägigen Lagerung überhaupt noch in den Prüfkörpern vorhanden war, da die vermutlich stattgefundenen Lösungsprozesse nicht verifiziert werden konnten. Aus diesen

Gründen wurden keine weiteren Versuche mit Gelatine vorgenommen. Gbureck et al. konnte 2004 eine Steigerung der Druckfestigkeit für unverdichtete α -TCP-Zemente mit der Zugabe von 23 Gew.-% Monetit als Füllpartikel und der Verwendung von 2,5 Gew.-% Na_2HPO_4 / 500 mM tri-Natriumcitrat-Dihydrat-Lösung erreichen [34]. Der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Handversuch konnte ebenfalls eine deutliche Steigerung der Festigkeit durch Zugabe von 23 Gew.-% Monetit und entsprechender Lösung erzielen. Je nach P/L-Verhältnis (zwischen 3,5-5) wurden Druckfestigkeiten zwischen 60-80 MPa im feuchten Zustand gemessen wurden. Die Abscherversuche mit MPC-Phytin-Kleber konnten Abscherfestigkeiten von bis zu 2,36 MPa ohne Prüfkörperversagen erzielen. Mit steigendem P/L-Verhältnis nahm jedoch die Lunkerbildung zu. Allerdings konnte dies durch einen Anmischprozess unter Vakuum vermieden werden. Trotzdem wurde das P/L-Verhältnis von 3,5 als optimal erachtet, da homogene und einheitliche Prüfkörper auch ohne Vakuum erzeugt werden konnten, die gleichzeitig eine hohe Festigkeit besaßen.

4.10 Vergleich der Prüfkörper aus CDHA vs. CDHA mit Monetit vs. Knochen

In der folgenden Untersuchung sollten Prüfkörper aus abgebundenem α -TCP (CDHA) mit einer Monetit-verstärkten Variante (CDHA + Monetit) verglichen werden. Hierfür wurde eine neue Charge α -TCP (Fa. Innotere) verwendet. Unter diesem Aspekt wurden XRD-Analysen, REM-Aufnahmen und die Ermittlung der Oberflächenrauheit sowie die Druckfestigkeit herangezogen, um potenzielle Unterschiede bezüglich ihrer Zusammensetzung und Beschaffenheit zu analysieren. Zusätzlich sollte die Abscherfestigkeit verschiedener (Knochen)-Kleber auf diesen beiden Materialien untersucht und mit dem Adhäsionsverhalten auf kortikalem Femur verglichen werden.

4.11 Druckversuch

Es konnte eine deutliche Steigerung der Druckfestigkeit der Prüfkörper aus CDHA durch Zugabe von 23 Gew. % Monetit erzielt werden. Der hier durchgeführte Druckversuch (unter Verwendung der neuen Charge α -TCP von Innotere, die mit 4 Achatkugeln trocken gemahlen wurde) fiel allerdings sehr gering aus. Dabei lag die mittlere Druckfestigkeit der feuchten Prüfkörper aus CDHA bei $19,01 \pm 3,22$ MPa (n=8). Im Vergleich dazu erzielten die trockenen Prüfkörper 29,14 MPa und 26,47 MPa. Durch Zugabe von 23 Gew. % Monetit als Füllpartikel erreichten die Prüfkörper im feuchten Zustand

16,62 MPa. bzw. 27,41 MPa und 29,5 MPa. Tatsächlich konnte also eine Steigerung der Druckfestigkeit von bis zu 10 MPa erreicht werden.

4.12 XRD- Analyse

Die XRD-Analysen ergaben unterschiedliche Phasenzusammensetzungen der untersuchten Materialien. In der unten aufgeführten Tabelle (Nr. 3) sind die Ergebnisse der Phasenanalyse mit Diffrac.TOPAS dargestellt.

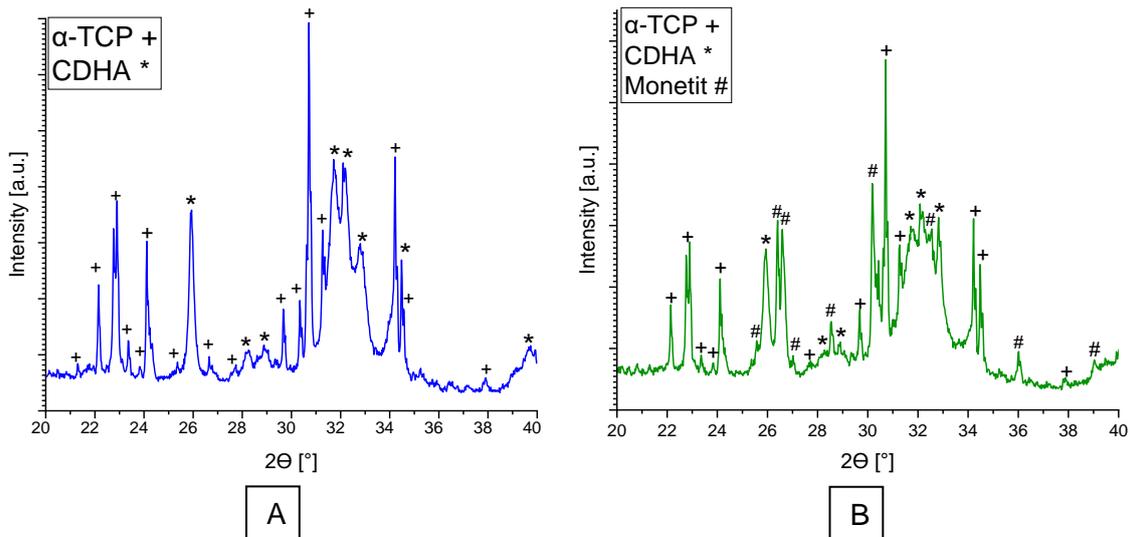


Abbildung 15: Diffraktogramme der unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien.
 A: Diffraktogramm der Prüfkörper aus CDHA, hergestellt aus α -TCP. (α -TCP: PDF 29-0359/ 03-0681; HA: PDF 09-0432/ 24-0033). B: Diffraktogramm der Prüfkörper aus CDHA + Monetit, hergestellt aus α -TCP mit 23 Gew. % Monetit. (α -TCP: PDF 29-0359; HA: 24-0033; Monetit: 09-0080).

Tabelle 3: Übersicht der Phasenzusammensetzungen der Prüfkörpermaterialien aus CDHA bzw. CDHA + Monetit. n=3.

	Verwendetes Ausgangsmaterial	Diffrac.TOPAS-Ergebnis
A	α -TCP zu CDHA umgesetzt	29,2% α -TCP / 70,8% CDHA
B	α -TCP mit 23 Gew. % Monetit zu CDHA umgesetzt	20,58% α -TCP / 57,52% CDHA / 21,90% Monetit

4.13 REM-Aufnahmen

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) diente als hochauflösendes bildgebendes Verfahren zur morphologischen und topographischen Analyse der Prüfkörperoberflächen. Dabei konnten deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Oberflächen festgestellt werden. Die Oberfläche aus CDHA zeigte plättchenförmige Kristalle, während die Oberfläche von CDHA + Monetit eine andere Morphologie besaß (siehe Abbildung 16).

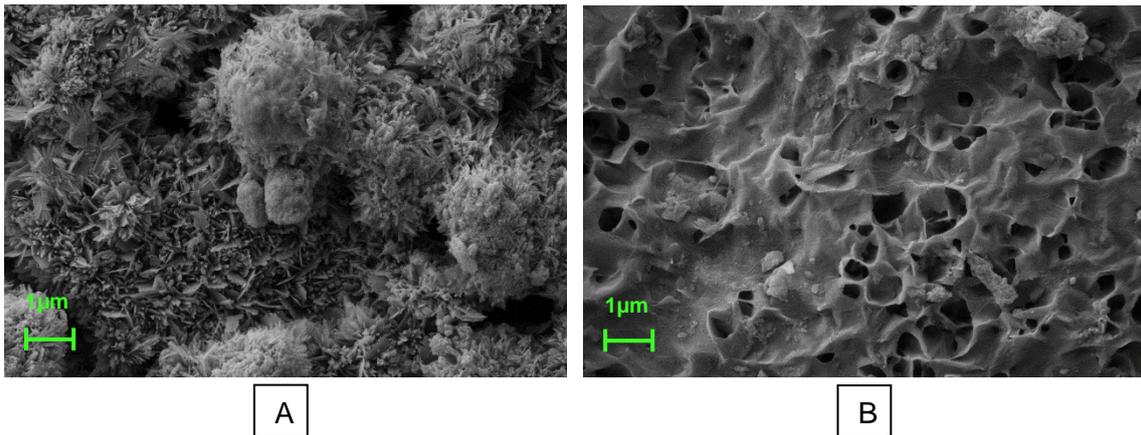


Abbildung 16: REM-Aufnahmen der Prüfkörpermaterialien. Vergrößerung 10.00 K X. A: Prüfkörperoberfläche aus CDHA. B: Prüfkörperoberfläche aus CDHA mit Monetit.

4.14 Rautiefenmessung

Die Ermittlung der Mittenrauwerte diente neben den REM-Aufnahmen dazu, weiteren Aufschluss über die Oberflächenmorphologien der verschiedenen Prüfkörpermaterialien zu erhalten. Obwohl makroskopisch kein Unterschied zwischen den Oberflächen der Materialien festgestellt werden konnte, ergab die Messung der Mittenrauwerte einen signifikanten Unterschied im μm -Bereich. Die Oberfläche von CDHA + Monetit erwies sich als glatter und daher mit einem geringeren Rauheitsprofil als die Oberfläche von CDHA.

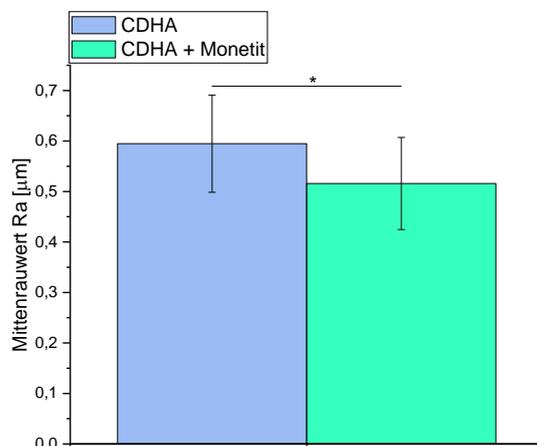


Abbildung 17: Rautiefenvergleich der unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien. $n=19$. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehrer Sterne gekennzeichnet (* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$).

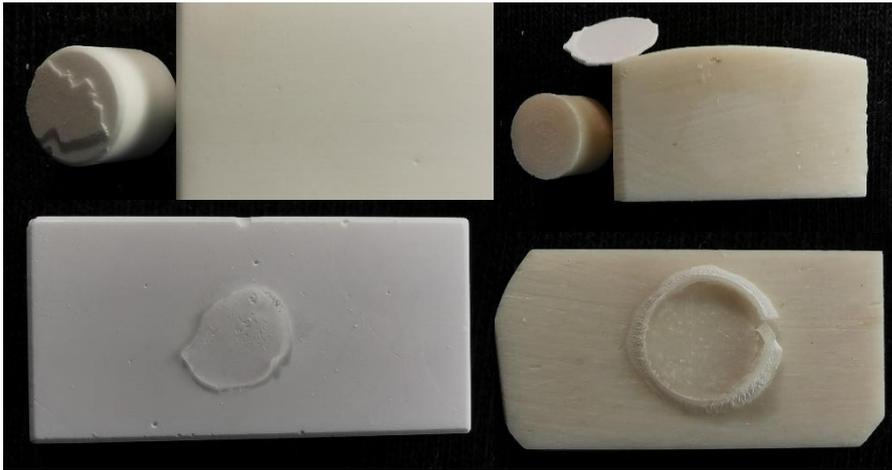
4.15 Abscherfestigkeiten verschiedener (Knochen)-Kleber

In der folgenden Untersuchung wurde das Adhäsionsverhalten verschiedener (Knochen)-Kleber auf den abgebundenen Prüfkörpern aus CDHA bzw. CDHA + Monetit verglichen. Dabei sollte untersucht werden, inwiefern das Prüfkörpermaterial Einfluss auf die Abscherfestigkeit zeigte. Verwendet wurde ein Cyanoacrylat-Kleber (Truglue®), ein

Farringtonit-Phytinsäure-Kleber (MPC-Phytin) und ein TMP-Phosphoserin-Kleber (MPC-OPLS). Dabei konnte grundsätzlich festgestellt werden, dass die Prüfkörpermaterialien Einfluss auf das Adhäsionsverhalten der jeweiligen Kleber besaßen und dementsprechend zu unterschiedlichen Klebefestigkeiten und zu unterschiedlichen Varianzen führten.

Neben der Ermittlung der Abscherfestigkeiten wurde auch zwischen verschiedenen Versagensmustern der Kleber unterschieden (siehe Abbildung 18). Die Bilder zeigen beispielhaft, wie eine Einteilung in adhäsive und kohäsive Versagensmuster vorgenommen wurde. Außerdem wurden Prüfkörperversagen dargestellt, die sowohl die Prüfkörpern aus CDHA als auch die Prüfkörper aus CDHA + Monetit betrafen und unabhängig vom verwendeten Kleber, ab Abscherfestigkeiten von ca. 2 MPa vorkamen. Dies bedeutete allerdings nicht, dass es zwingend dazu kommen musste. Lediglich die Wahrscheinlichkeit stieg deutlich dafür an. Die Prüfkörper aus Knochen hielten jeder Abschermessung stand. Außerdem konnte festgestellt werden, dass alle Kleber auf den Prüfkörpern aus CDHA meist geringere Varianzen erzielten als auf den Prüfkörpern aus CDHA + Monetit oder Knochen.

In einigen Gruppen konnten allerdings nicht immer alle 9 verklebten Prüfkörper abgeschert werden, da sich einige Klebungen bereits vorzeitig von selbst gelöst hatten. So kam es vor, dass die Proben-Einzelteile bereits in der PBS-Lösung getrennt vorlagen. In anderen Fällen trennten sich Klebungen bei der Entnahme aus der PBS-Lösung. Es konnte auch vorkommen, dass die Klebungen dem alleinigen Stempelgewicht der Guillotine nicht standhalten konnten und sich dementsprechend während der Probenpositionierung lösten. Die beschriebenen Fälle wurden als adhäsives Klebeversagen gewertet. Die Anzahl der tatsächlich abgescherten Klebungen ist in Form einer Zahl in den Säulendiagrammen angegeben. Die Probenanzahl betrug $n = 9$. Bei verringerter Anzahl bedeutet dies, dass es zum vorzeitigen Versagen der Klebungen gekommen war.



Adhäsiv



Kohäsiv



Prüfkörper-
versagen

Abbildung 18: Beispielhafte Versagensmuster der Klebungen.

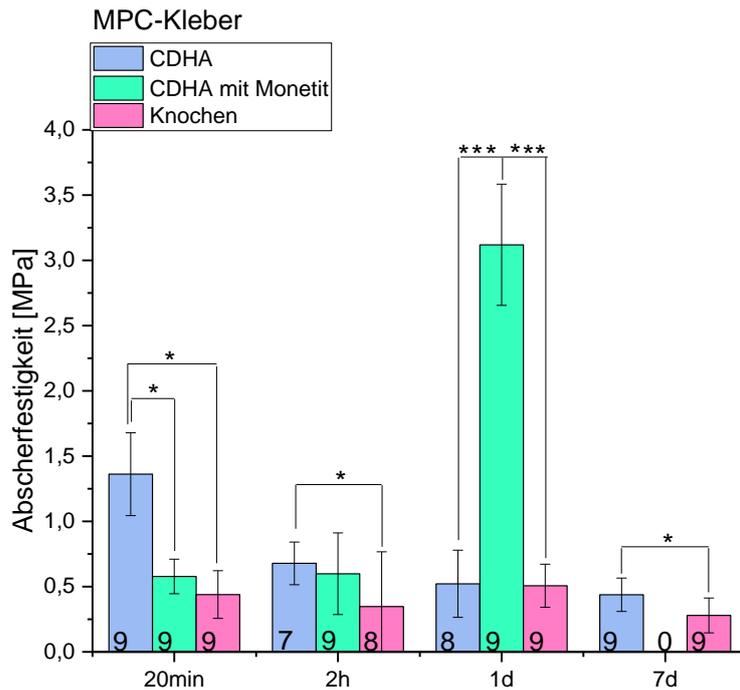


Abbildung 19: Abscherfestigkeit des MPC-Phytin Klebers auf verschiedenen Prüfkörpermaterialien. Die Probenanzahl betrug n=9. Die Zahlen in den Säulen geben die tatsächlich abgescherten Proben an. Für den Fall, dass ein Kleber vorzeitig versagte und deshalb keiner Abscherprüfung unterzogen werden konnte, ist dies an einer reduzierten Probenanzahl in den Säulen zu erkennen. Die Mittelwerte und Varianzen wurden anhand der tatsächlich abgescherten Klebungen ermittelt. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehrer Sterne gekennzeichnet (*p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001).

Tabelle 4: Versagensmuster des Klebers MPC-Phytin auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien. PKV= Prüfkörperversagen. Die angegebenen Werte geben jeweils den geringsten sowie den höchsten Messwert an, bei dem es zum PKV gekommen war.

MPC-Phytin	CDHA	CDHA + Monetit	Knochen
20 min	Adhäsiv	Adhäsiv	Kohäsiv
2 h	Adhäsiv	Adhäsiv	Adhäsiv
1 d	Adhäsiv	5x Kohäsiv 4x PKV (3,28-3,82 MPa)	Adhäsiv
7d	Adhäsiv	Adhäsiv	Adhäsiv

MPC-Phytin

Der Kleber zeigte je nach Prüfkörpermaterial unterschiedliche mittlere Abscherfestigkeiten und unterschiedliche Varianzen. Insgesamt zeigte der Kleber vorzugsweise ein adhäsives Klebeversagen. Außerdem konnte festgestellt werden, dass auf CDHA die geringsten Varianzen im Vergleich zu Knochen oder CDHA + Monetit erreicht wurden. Grundsätzlich schien der Kleber eine höhere Affinität zu CDHA als zu Knochen zu haben, da in den meisten Fällen ein signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Abscherfestigkeiten festgestellt werden konnte. Auf CDHA + Monetit zeigte der Kleber nach

einem Tag deutlich erhöhte Abscherfestigkeiten und erzielte sogar mehrere Prüfkörperversagen. Dabei betrug der höchste Einzelmesswert dieser Gruppe mit Prüfkörperversagen 3,82 MPa. Allerdings konnte in dieser Gruppe auch ein Einzelmesswert von 3,16 MPa ohne Prüfkörperversagen erzielt werden. Nach sieben Tagen konnte allerdings keine Abscherprüfung auf CDHA + Monetit durchgeführt werden, da innerhalb der 7-tägigen Lagerungen in PBS alle Klebungen vorzeitig von selbst gelöst waren.

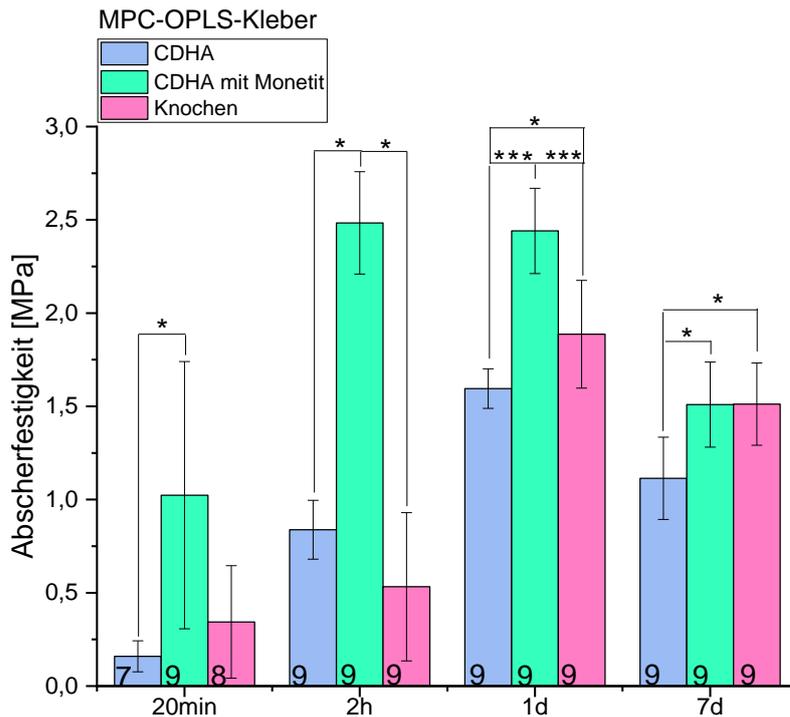


Abbildung 20: Abscherfestigkeit des MPC-OPLS-Klebers auf verschiedenen Prüfkörpermaterialien. Die Probenanzahl betrug n=9. Die Zahlen in den Säulen geben die tatsächlich abgesicherten Proben an. Für den Fall, dass ein Kleber vorzeitig versagte und deshalb keiner Abscherprüfung unterzogen werden konnte, ist dies an einer reduzierten Probenanzahl in den Säulen zu erkennen. Die Mittelwerte und Varianzen wurden anhand der tatsächlich abgesicherten Klebungen ermittelt. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehreren Sterne gekennzeichnet (*p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001).

Tabelle 5: Versagensmuster des Klebers MPC-OPLS auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien. PKV= Prüfkörperversagen. Die angegebenen Werte geben jeweils den geringsten sowie den höchsten Messwert an, bei dem es zum PKV gekommen war.

MPC-OPLS	CDHA	CDHA + Monetit	Knochen
20 min	5x Adhäsiv/ 4x Kohäsiv	8x Kohäsiv 1x PKV (2,21 MPa)	3x Adhäsiv/ 6x Kohäsiv
2 h	6x Adhäsiv/ 3x Kohäsiv	PKV (2,14-2,87 MPa)	Adhäsiv
1 d	Kohäsiv	PKV (1,97-2,709 MPa)	Adhäsiv
7d	4x Adhäsiv/ 5x Kohäsiv	Kohäsiv	4x Adhäsiv/ 5x Kohäsiv

MPC-OPLS

Dieser Kleber zeigte ebenfalls je nach verwendetem Prüfkörpermaterial unterschiedliche mittlere Abscherfestigkeiten und unterschiedliche Varianzen. Sowohl auf CDHA als auch auf Knochen wurden dabei sehr ähnliche Klebeversagensmuster gefunden, wobei der kohäsive Versagenstyp auf CDHA überwog. Lediglich auf CDHA + Monetit kam es zu Ausrissen aus den Prüfkörpern. Allerdings wurden auf diesem Material auch die höchsten mittleren Abscherfestigkeiten erzielt. Außerdem konnte festgestellt werden, dass auf CDHA die geringsten Varianzen im Vergleich zu Knochen oder CDHA + Monetit erreicht wurden. In der 20-min-Gruppe zeigte der Kleber auf allen Materialien sehr hohe Varianzen, die mit zunehmenden Zeitintervall auf unter 15% sanken. In der 20-min-Gruppe wurden außerdem auf allen Materialien vorzeitige Klebeversagen beobachtet. Insgesamt schien der Kleber die höchste Affinität zu dem Material CDHA + Monetit aufzuweisen, da er in den meisten Fällen signifikant höhere mittlere Abscherfestigkeiten erzielen konnte als auf CDHA oder Knochen.

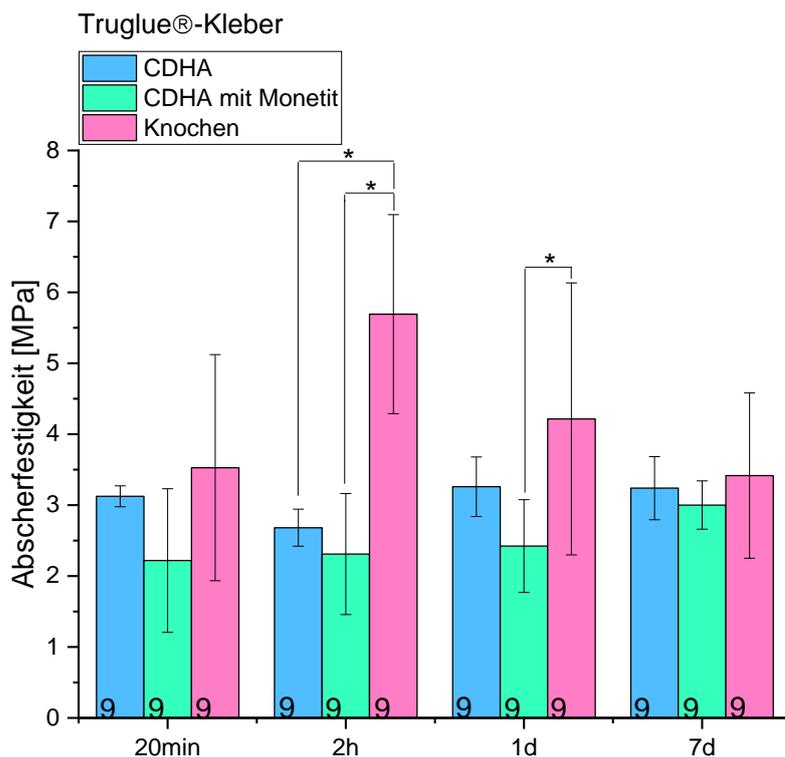


Abbildung 21: Abscherfestigkeit des Klebers Truglue® auf verschiedenen Prüfkörpermaterialien. Die Probenanzahl betrug n=9. Die Zahlen in den Balken geben die tatsächlich abgesicherten Proben an. Für den Fall, dass ein Kleber vorzeitig versagte und deshalb keiner Abscherprüfung unterzogen werden konnte, ist dies an einer reduzierten Probenanzahl in den Balken zu erkennen. Die Mittelwerte und Varianzen wurden anhand der tatsächlich abgesicherten Klebungen ermittelt. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehrer Sterne gekennzeichnet (*p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001).

Tabelle 6: Versagensmuster des Klebers (Truglue®) auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien. PKV= Prüfkörperversagen. Die angegebenen Werte geben jeweils den geringsten sowie den höchsten Messwert an, bei dem es zum PKV gekommen war.

Truglue	CDHA	CDHA + Monetit	Knochen
20 min	4x Adhäsiv 6x PKV (3,15- 3,35 MPa)	5x Adhäsiv 3x PKV (2,6-4,22 MPa)	Adhäsiv
2 h	PKV (2,54-3,13 MPa)	4x Adhäsiv 6x PKV (2,48-3,09 MPa)	Adhäsiv
1 d	PKV (2,84-4,06 MPa)	7x Adhäsiv 3x PKV (2,92-3,34 MPa)	Adhäsiv
7d	PKV (2,55-4,02 MPa)	PKV (2,66-3,70 MPa)	Adhäsiv

Truglue®

Dieser Kleber zeigte vor allem Unterschiede in den Versagensmustern und den erzielten Varianzen. Die geringsten Varianzen traten auf CDHA auf. Auf Knochen wurden höhere Einzelmesswerte erzielt als auf den Zement-Prüfkörpern da die Prüfkörper nicht versagten. Die höchste mittlere Abscherfestigkeit betrug auf Knochen $5,69 \pm 1,40$ MPa und wurde nach 2 h erreicht. Der höchste Einzelmesswert dieser Gruppe betrug 7,34 MPa. Aufgrund der hohen Haftfestigkeit des Klebers versagten die Prüfkörper aus Zement in vielen Fällen, bevor die maximale Abscherfestigkeit des Klebers überhaupt gemessen werden konnte. Auf CDHA wurden bis zu 2,96 MPa ohne, und bis zu 4,06 MPa mit Prüfkörperversagen gemessen. Auf CDHA + Monetit wurden bis zu 2,84 MPa ohne, und bis zu 4,23 MPa mit Prüfkörperversagen gemessen.

Abscherfestigkeiten verschiedener (Knochen)-Kleber sortiert nach Prüfkörpermaterial

In der oben erfolgten Untersuchung erfolgte die Einteilung der Grafiken nach den Abscherfestigkeiten der verwendeten Kleber auf unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien. Um die Kleber jedoch direkt vergleichen zu können, wurden dieselben Ergebnisse in einer zusätzlichen Grafik zusammengefasst. Auch in dieser Form der Darstellung wurden Unterschiede der Abscherfestigkeiten deutlich. Im Vergleich der Grafik (A) mit der Grafik (B) konnte festgestellt werden, dass alle drei Kleber auf beiden Materialien den gleichen Trend zeigten. So schien auf beiden Materialien der MPC-Phytin-Kleber am schwächsten abgeschnitten zu haben. Etwas stärker zeigte sich der MPC-OPLS-Kleber. Die höchste Klebefestigkeit erreichte jedoch Truglue®. Trotz dieser Ähnlichkeit konnten jedoch auch Unterschiede zwischen Knochen und CDHA festgestellt werden. So zeigten alle drei Kleber auf CDHA in den meisten Fällen geringere Varianzen als auf Knochen.

Anders verhielt es sich mit CDHA+ Monetit. Alle drei Kleber zeigten auf diesem Material deutlich veränderte Klebefestigkeiten. Vor allem der Kleber MPC-OPLS schien eine hohe Affinität zu diesem Material zu zeigen.

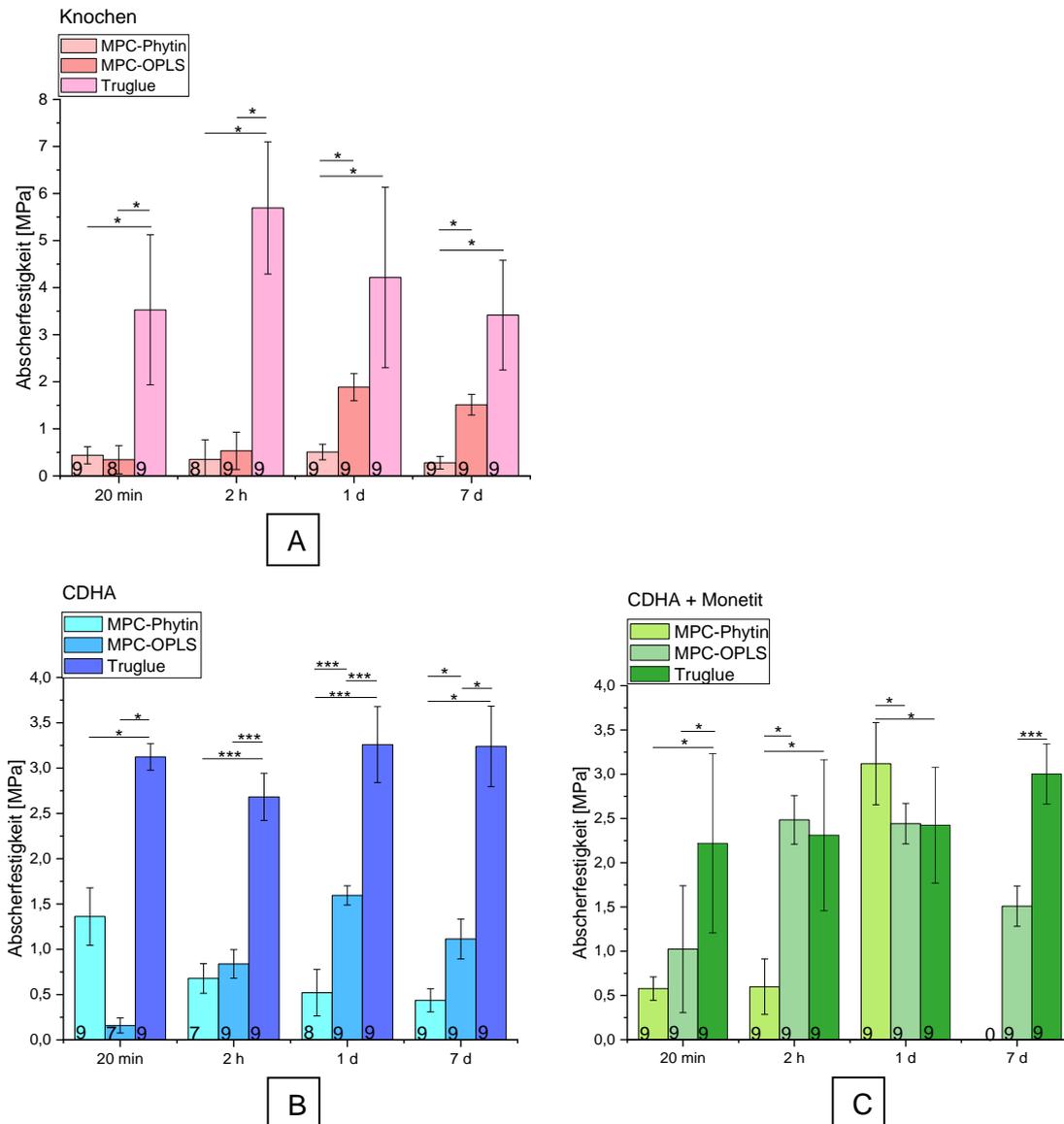


Abbildung 22: Vergleich der Kleber.

Abscherfestigkeiten verschiedener Kleber auf verschiedenen Prüfkörpermaterialien. (A) Abscherfestigkeiten auf kortikalem Femur. (B) Abscherfestigkeiten auf CDHA. (C) Abscherfestigkeiten auf CDHA + Monetit. Probenanzahl n=9. Die Zahlen in den Säulen geben die tatsächlich abgesicherten Proben an. Für den Fall, dass ein Kleber vorzeitig versagte und deshalb keiner Abscherprüfung unterzogen werden konnte, ist dies an einer reduzierten Probenanzahl in den Säulen zu erkennen. Die Mittelwerte und Varianzen wurden anhand der tatsächlich abgesicherten Klebungen ermittelt. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehrer Sterne gekennzeichnet (*p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001).

EDX-Darstellung eines ausgerissenen Prüfkörpers

Die energiedispersiven Röntgenspektroskopien (EDX) eines ausgerissenen Prüfkörpers aus CDHA zeigten den Infiltrationsbereich des Klebers. Der Ausriss wurde während der

Abschermessung des Klebers Truglue® hervorgerufen. Die roten Bereiche zeigen, dass sich der Kleber nicht nur in die Tiefe, sondern auch horizontal ausgebreitet hatte. Die blauen Bereiche repräsentieren das Material des Prüfkörpers aus CDHA.

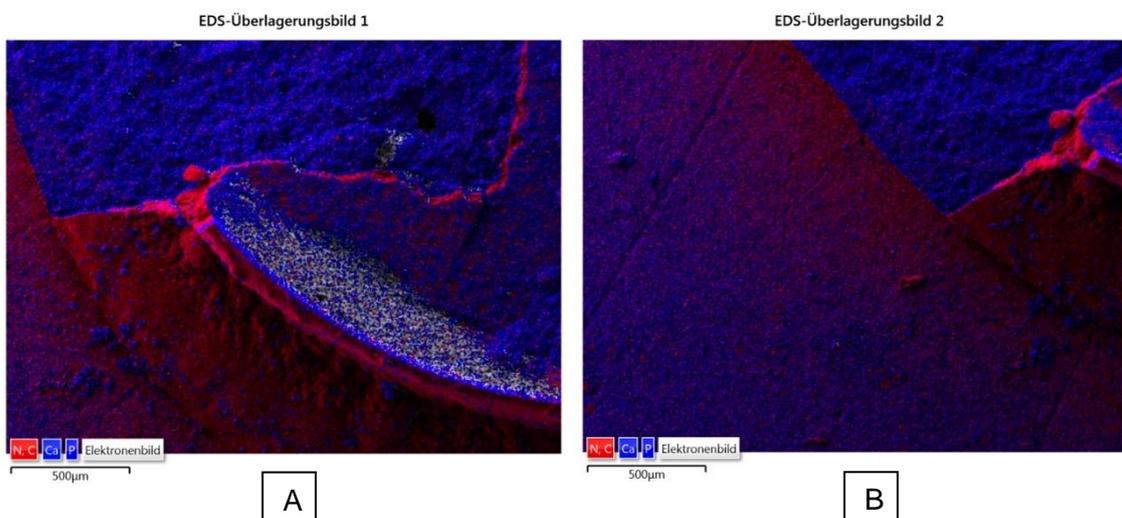


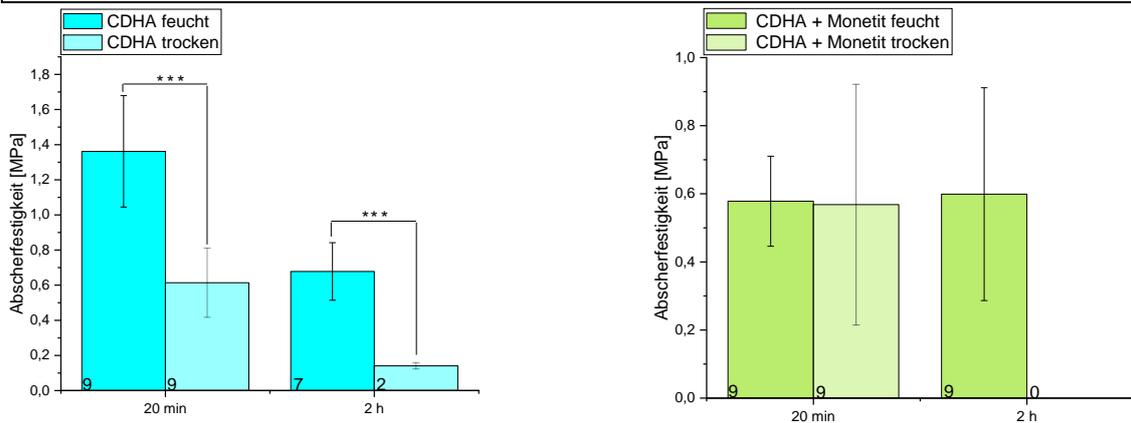
Abbildung 23: EDX-Darstellung eines ausgerissenen Prüfkörpers aus CDHA nach Abschermessung des Klebers Truglue®. Zustand nach 24-stündiger Lagerung in PBS und darauffolgendem Abscherversuch. Blau: Prüfkörperspezifische Elemente (Calcium oder Phosphat). Rot: Materialrückstände von Truglue® (Kohlenstoff oder Stickstoff). A: Abbruchkante. B: Prüfkörperoberfläche und Abbruchkante im Randbereich.

Dabei konnte festgestellt werden, dass sich der Ausriss des Prüfkörpers nicht auf das gesamte vom Kleber infiltrierte Material bezog. Tatsächlich zeigte sich eine scharfe Abbruchkante (siehe Abbildung (A)), in dessen Randbereich Rückstände des Klebers im intakten Prüfkörper beobachtet werden konnten (siehe Abbildung (B)).

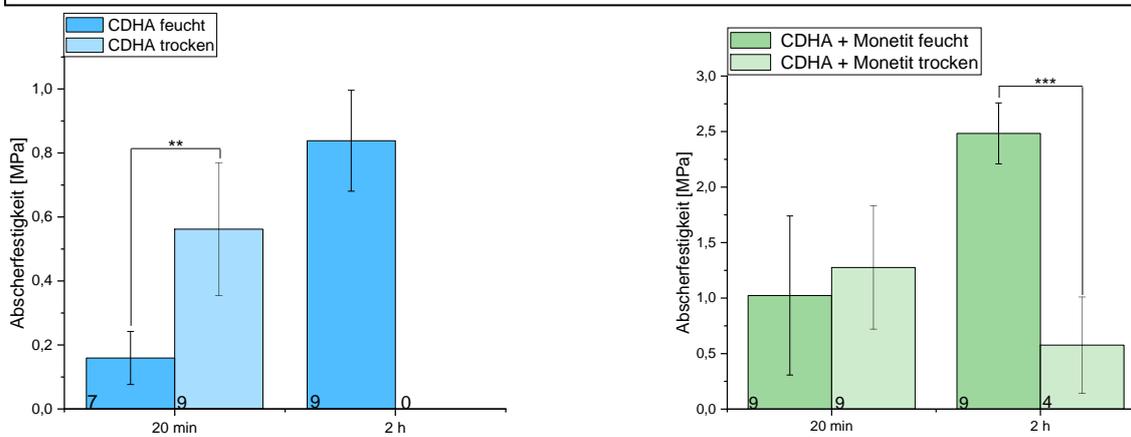
4.16 Abscherfestigkeiten auf feuchten bzw. trockenen Prüfkörpern

Aufgrund der Erkenntnis, dass der Feuchtigkeitsgehalt großen Einfluss auf die Druckfestigkeit des Prüfkörpermaterials hatte, war davon auszugehen, dass das Adhäsionsverhalten der verschiedenen (Knochen)-Kleber ebenfalls Unterschiede aufweisen könnte. Eine Gegenüberstellung zwischen feucht bzw. trocken verklebten Prüfkörpern sollte über das Ausmaß der Unterschiede Aufschluss geben. In der trockenen Versuchsreihe wurden die Prüfkörper im getrockneten Zustand verklebt und trocken für das jeweilige Zeitintervall bei Raumtemperatur ausgelagert. In der feuchten Versuchsreihe waren die Prüfkörper mit PBS vollgesogen und wurden im feuchten Zustand verklebt. Nach 20 min Lufttrocknung wurden die verklebten Teile der feuchten Versuchsreihe für 2 h in PBS bei 37°C ausgelagert. Tatsächlich konnte gezeigt werden, dass die Abscherfestigkeiten sehr stark variierten.

MPC-Phytin



MPC-OPLS



Truglue®

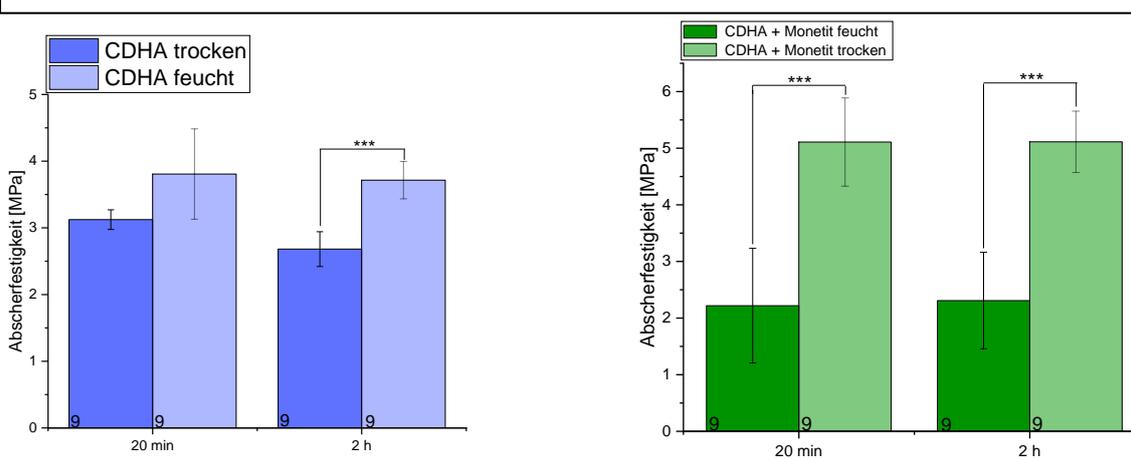


Abbildung 24: Vergleich der Abscherfestigkeiten auf feuchten bzw. trockenen Prüfkörpern. Die blauen Säulen zeigen Zementkörper aus CDHA. Die grünen Säulen zeigen Prüfkörper aus CDHA + Monetit. Die Probenanzahl betrug n=9. Die Zahlen in den Säulen geben die tatsächlich abgesicherten Proben an. Die Mittelwerte und Varianzen wurden anhand der tatsächlich abgesicherten Klebungen ermittelt. Signifikante Unterschiede der Mittelwerte sind mit einem oder mehrerer Sterne gekennzeichnet (*p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001).

Fehlt in einem Diagramm eine Säule, konnte keine Messung durchgeführt werden da alle Klebungen bereits vorzeitig gelöst waren. Insgesamt wiesen die zement-basierten Kleber nach spätestens 2 h keine oder nur geringe Haftung auf den getrockneten Prüfkörpern auf. Der Cyanoacrylat-Kleber Truglue® zeigte durch den mangelnden Feuchtigkeitsgehalt der Prüfkörper keinerlei Einschränkungen.

Tabelle 7: Versagensmuster der verschiedenen Knochenadhäsive auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien.

PKV= Prüfkörperversagen. Die angegebenen Werte geben jeweils den geringsten sowie den höchsten Messwert an, bei dem es zum PKV gekommen war.

	CDHA		CDHA + Monetit	
	Feucht	Trocken	Feucht	Trocken
MPC - Phytin				
20 min	Adhäsiv	Adhäsiv	Adhäsiv	Adhäsiv
2 h	Adhäsiv	Adhäsiv	Adhäsiv	Adhäsiv
MPC - OPLS				
20 min	5x Adhäsiv / 4x Kohäsiv	Adhäsiv	8x Kohäsiv 1x PKV (2,21 MPa)	Adhäsiv
2 h	6 x Adhäsiv / 3x Kohäsiv	Adhäsiv	PKV (2,14-2,87 MPa)	Adhäsiv
Truglue				
20 min	4x Adhäsiv / 6x PKV (3,15-3,35 MPa)	PKV (2,60-4,61 MPa)	5x Adhäsiv / 3xPKV (2,6-4,22 MPa)	PKV (4,09-6,33 MPa)
2 h	PKV (2,54-3,13 MPa)	PKV (3,33-4,15 MPa)	4x Adhäsiv / 6x PKV (2,48-3,09 MPa)	PKV (4,41-5,97 MPa)

MPC-Phytin

Auf CDHA: Es konnten deutlich höhere Abscherfestigkeiten auf feuchten als auf trockenen Prüfkörpern erzielt werden. Auf CDHA + Monetit: Nach 20 min konnte kein Unterschied der Abscherfestigkeiten auf trockenen bzw. feuchten Prüfkörpern festgestellt werden. Allerdings wies die trockene Gruppe eine doppelt so hohe Varianz auf. Nach 2 h waren alle Klebungen der trockenen Prüfkörper vorzeitig gelöst.

MPC-OPLS

Auf CDHA: Interessanterweise zeigte die trockene Gruppe nach 20 min höhere Abscherfestigkeiten als die feuchte. Nach 2 h waren jedoch alle Klebungen der trockenen Gruppe vorzeitig gelöst. Auf CDHA + Monetit: Nach 20 min konnte kein nennenswerter Unterschied zwischen den feuchten bzw. trockenen Prüfkörpern festgestellt werden. Nach 2 h zeigte die feuchte Gruppe jedoch deutlich höhere Abscherfestigkeiten mit einer deutlich geringeren Varianz von 11,06 %.

Truglue®

Auf CDHA: Nach 20 min konnte kein Unterschied zwischen feucht-, bzw. trocken-verklebten Prüfkörpern festgestellt werden. Nach 2 h zeigte sich die trockene Gruppe überlegen. Insgesamt konnten auf CDHA deutlich geringere Varianzen erzielt werden als auf CDHA + Monetit. Auf CDHA + Monetit: Die trocken-verklebten Prüfkörper erzielten deutlich höhere Abscherfestigkeiten, mit gleichzeitig deutlich geringerer Varianz als die feucht-verklebten Prüfkörper.

5. Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit sollte herausgefunden werden, inwiefern Calciumorthosphosphatzemente (CPC) dafür geeignet sind um als Prüfkörper zur Qualifizierung von Knochenklebern zu dienen und worin ihre Limitationen bestehen. Dazu sollte nicht nur ein materieller Vergleich verschiedener hydroxylapatitbildender Zemente mit Knochen erfolgen. Es sollte auch das Adhäsionsverhalten neuartiger Knochenkleber auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien analysiert und verglichen werden, um mögliche Rückschlüsse für die Eignung als standardisierbares in-vitro Prüfkörpermaterial ziehen zu können. Gegenstand der Untersuchung war ein α -Tricalciumphosphat- (α -TCP) System und ein Tetracalciumphosphat- (TTCP) System welche im Rahmen einer Zement-Abbindereaktion calciumdefizitären Hydroxylapatit (CDHA) bzw. stöchiometrischen Hydroxylapatit (HA) bilden. Die Materialien wurden dazu verwendet Prüfkörperteile in Form von Zylindern (5 x 5 mm) und Plättchen (20 x 10 x 5 mm) herzustellen, die dann mit verschiedenen Knochenklebern verklebt werden konnten.

Insgesamt haben die Untersuchungen gezeigt, dass Prüfkörper aus CDHA die meisten Vorteile vereinten und für Klebesysteme mit Abscherfestigkeiten von bis zu 2 MPa geeignet wären. Dabei erzeugten die Kleber auf CDHA zwar abweichende Abscherfestigkeiten als auf Knochen, doch ließ sich ein vergleichbarer Trend bei stets reduzierten Varianzen erkennen. Durch die gute Konsistenz der Zementpaste war die Herstellung

homogener Prüfkörper möglich. Aufgrund der Stabilität von CDHA unter wässrigen Bedingungen konnten Langzeitversuche ohne Einschränkungen vorgenommen werden. Des Weiteren wiesen die Prüfkörper aus CDHA ähnliche Porengrößen auf wie die Prüfkörper aus kortikalem Knochen. Limitationen der Prüfkörper bestanden allerdings darin, dass sie nicht für Abscherversuche von stärkeren Klebern geeignet waren. Unabhängig vom verwendeten Knochenkleber kam es ab einer Abscherfestigkeit von ca. 2 MPa zum Versagen des verklebten Prüfkörpermaterials, das sich in Form von Ausrissen aus den Prüfkörpern darstellte. In solchen Fällen konnte deshalb die maximale Abscherfestigkeit des jeweiligen Klebers nicht gemessen werden. Unter feuchten Bedingungen konnten auf Prüfkörpern aus CDHA Abscherfestigkeiten von bis zu 2,96 MPa ohne Ausrisse, und bis zu 4,06 MPa mit Ausrissen gemessen werden. Außerdem wurde festgestellt, dass die Verwendung unterschiedlicher α -TCP-Chargen zu deutlich veränderten Produkteigenschaften geführt hatte. Die Konsequenz daraus spiegelte sich in veränderten Adhäsionsverhalten der verschiedenen Knochenkleber wider. Eine Modifizierung der Prüfkörper aus CDHA mit Monetit-Füllpartikeln konnte zwar die Druckfestigkeit erhöhen, brachte bezüglich der Prüfkörperversagens-Problematik aber keine Vorteile. Die Modifizierung mit Monetit führte jedoch zu veränderten Adhäsionsverhalten der Knochenkleber.

Die Prüfkörper aus Knochen hielten jeder Messung stand. Der stärkste der drei verwendeten Kleber (Truglue®) erzielte mittlere Abscherfestigkeiten zwischen 3,4 - 5,7 MPa auf Knochen. Der höchste Einzelmesswert betrug dabei 7,32 MPa. Die Herstellung einer lediglich geringen Menge geeigneter Prüfkörper war allerdings durch die Notwendigkeit der mechanischen Bearbeitung sehr aufwendig, wobei eine Beeinträchtigung der Qualität nicht ausgeschlossen werden konnte. Langzeitversuche waren aus Verwesungsgründen auf maximal sieben Tage beschränkt.

Der Feuchtigkeitsgehalt der Prüfkörper zeichnete sich insgesamt als einflussreiche Größe ab. Die Druckfestigkeit der Prüfkörper aus Zement war im getrockneten Zustand mehr als 10 MPa höher als im feuchten Zustand. Die neuartigen MPC-basierten Klebersysteme hafteten allerdings kaum auf den getrockneten Prüfkörpern und lösten sich in den meisten Fällen mit der Zeit von selbst.

Das TTCP-System erwies sich in Bezug auf die Eignung als standardisierbares Prüfkörpermaterial als ungeeignet. Die Zementpaste hatte eine kaum zu verstreichende Konsistenz, sodass keine homogenen Prüfkörper erzeugt werden konnten. Die Druckfestigkeit und die Porengrößen zeigten keine Vergleichbarkeit mit Prüfkörpern aus Knochen.

5.1 Vergleich der Prüfkörper aus α -TCP vs. TTCP vs. Knochen

Bereits bei der Handhabung der verschiedenen Zementpasten konnten trotz gleichen P/L-Verhältnisses deutliche Unterschiede festgestellt werden. Während die α -TCP-Zementpaste eine cremige und gut zu verstreichende Konsistenz aufwies, war die TTCP-Zementpaste sehr trocken und fest. Hintergrund hierfür konnte sein, dass durch das im TTCP-Pulver bereits vorhandene Natriumphosphat eine beschleunigte Abbindereaktion herbeigeführt wurde. Vermutlich war dies auch der Grund dafür, dass die silikonzugewandten Seiten der abgebundenen TTCP-Prüfkörper deutliche Lunker aufwiesen, da Luftblasen aufgrund der hohen Viskosität nicht an die Oberfläche getrieben werden konnten. In Bezug auf die Eignung als standardisiertes Prüfkörpermaterial wurden die Lunker der TTCP-Prüfkörper als nachteilig erachtet. Sie konnten in Form von Makroretentionen als mechanische Verankerungsmöglichkeit dienen und somit Messergebnisse von Knochenklebern unkontrolliert beeinflussen. Insgesamt schienen unabhängig vom verwendeten Zementssystem die silikonzugewandten Seiten der Zement-Prüfkörper besser zur Verklebung geeignet zu sein, da Unebenheiten und Verunreinigungen vermieden werden konnten. Die bei 1300°C gesinterten Varianten der abgebundenen Prüfkörper zeigten eine deutliche Schrumpfung, die vermutlich auf Phasenumwandlungsprozesse zurückzuführen war.

Grundsätzlich stellte die Oberflächenbeschaffenheit eine einflussreiche Größe dar, die deutliche Auswirkungen auf die Erzielung unterschiedlicher Abscherfestigkeiten von Knochenklebern bewirken konnte [60]. Die großen Rautiefen und hohen Varianzen der Prüfkörper die aus TTCP hergestellt wurden, waren auf die Lunkerbildung beim Herstellungsprozess zurückzuführen. Die abgebundenen und gesinterten TTCP-Prüfkörper zeigten ein ähnliches Ergebnis, da die oberflächlichen Lunker durch den Sintervorgang nicht verschwanden. Die Mittenrauwerte der abgebundenen α -TCP-Prüfkörper unterschieden sich jedoch von ihren gesinterten Varianten. Eine Erklärung hierfür konnte darin begründet sein, dass zwei unterschiedliche Chargen verwendet wurden die möglicherweise Unterschiede in ihrer Mikrostruktur aufwiesen.

Der Abscherversuch des MPC-Phytin-Klebers auf abgebundenen Prüfkörpern aus α -TCP mit manuell bearbeiteter Oberfläche (P80 bzw. P320 Nassschleifpapier) bestätigte die große Auswirkung der Oberflächenbeschaffenheit auf die Erzielung unterschiedlicher Abscherfestigkeiten. Es zeigte sich, dass die höchste Abscherfestigkeit auf der glatten bzw. unbearbeiteten Oberfläche erreicht wurde. Interessanterweise wurde in der P80-Gruppe eine höhere mittlere Abscherfestigkeit erreicht als in der P320-Gruppe. Die Erklärung hierfür konnte in einer Kombination aus Oberflächenbeschaffenheit des

Prüfkörpers und deren Benetzungsmöglichkeit durch den Kleber gefunden werden, da aus diesen beiden Hauptfaktoren die aktiv an einem Verbund teilhabende Oberfläche resultierte [60]. Es war davon auszugehen, dass die P320-Oberfläche durch die hohe Viskosität des Klebers nur unzureichend benetzt werden konnte, weshalb die durch mechanische Bearbeitung geometrisch vergrößerte Oberfläche nicht zum Tragen kommen konnte. Auf der P80-Oberfläche wurden hingegen makromechanische Verankerungsmöglichkeiten geschaffen. Dennoch schien die größte aktiv an der Klebung beteiligte Oberfläche auf den unbehandelten Prüfkörpern erreicht worden zu sein.

XRD-Messungen wurden herangezogen, um die qualitative und quantitative Zusammensetzung der kristallinen Phasen der Prüfkörpermaterialien zu untersuchen. Insgesamt konnte dabei festgestellt werden, dass sich die verwendeten Prüfkörpermaterialien in der Struktur ihrer Kristalle unterschieden. Die kristallinen Anteile der abgebundenen Zementpasten aus α -TCP und TTCP bestanden zu über 80 % aus CDHA bzw. HA und entsprachen somit den Werten der Literatur. Durch den Sinterprozess und die Abkühlgeschwindigkeit wurde eine Phasenumwandlung ausgelöst [26]. Im Hinblick auf die Eignung als Prüfkörpermaterial schien die kristalline Struktur der abgebundenen α -TCP-Prüfkörper der kristallinen Struktur von Knochen am nächsten zu kommen. Knochen besteht aus calciumdefizitärem Hydroxylapatit, der näherungsweise als Hydroxylapatit mit Gitterstörungen durch Fehlstellen und Fremd-Ionen beschrieben werden kann [65]. Stöchiometrisch reiner Hydroxylapatit kommt jedoch nicht in biologischen Systemen vor [14]. Inwiefern sich jedoch die Kristallstruktur eines Prüfkörpers auf die Klebefestigkeit verschiedener Knochenkleber ausgewirkt hatte, oder ob schlicht ein Calciumorthophosphat-Motiv genügte, wurde nicht geklärt.

Die Quecksilberporosimetrie ergab, dass trotz des Sinterprozesses und der damit einhergegangenen Volumenschrumpfung von ca. 20 %, keine Reduktion der Gesamtporosität erreicht wurde. Lediglich die Porengrößenverteilung entwickelte sich von multimodalen Verteilungen hinzu Monomodalen. Die Begründung hierfür konnte wiederum auf Phasenumwandlungsprozesse zurückzuführen sein. Die Gesamtporosität sowohl der ungesinterten als auch der gesinterten Prüfkörper entsprach der in der Literatur bekannten Mikroporosität mit üblichen Werten zwischen 30 % und 55 % [10]. Auch die Porosimetrie der kortikalen Knochenprobe entsprach der in der Literatur bekannten Porosität von weniger als 10 Vol.% [41]. Im Rahmen dieser Arbeit wurde festgestellt, dass der MPC-Phytin-Kleber in den meisten Fällen höhere Abscherfestigkeiten auf den Zement-Prüfkörpern als auf Knochen erzielte. Die genaue Ursache hierfür konnte allerdings nicht geklärt werden. Vorstellbar war allerdings, dass die erhöhten Porositäten zu erhöhten

Haftwerten der Knochenkleber führen konnten, da die Kleber möglicherweise tiefer in die Prüfkörper eindringen und sich dort verankern konnten.

Aufgrund der Tatsache, dass Zemente spröde Materialien sind, stand die Druckfestigkeit über einen exponentiellen Zusammenhang mit der Porosität in Verbindung [25]. Mit zunehmender Porosität nahm die Druckfestigkeit ab. Entsprechend ihrer übereinstimmenden Gesamtporosität (36 - 38 %) zeigten alle Zement-Prüfkörper mit ca. 30 MPa eine Übereinstimmung bei der Durchführung der trockenen Druckprüfung. Lediglich die Prüfkörper aus abgebundenem α -TCP zeigten eine deutlich erhöhte Druckfestigkeit von ca. 66 MPa. Die Erklärung hierfür konnte auf eine veränderte Mikrostruktur zurückzuführen sein. Die Mikrostruktur bildete neben der Porosität einen weiteren Hauptfaktor, der für die mechanischen Eigenschaften einer abgebundenen Zementmatrix verantwortlich war [10]. Deshalb führten unterschiedliche Fertigungswege bzw. Verarbeitungsparameter zu einer Vielzahl von mikrostrukturellen Merkmalen, die die mechanischen Eigenschaften bestimmten [10, 30]. So kam es, dass die mechanischen Eigenschaften eines Zementsystems selbst bei chemisch identischer Zusammensetzung, große Unterschiede aufweisen konnten. Es wurden verschiedene Chargen α -TCP verwendet, die deutliche Unterschiede in ihren Druckfestigkeiten und in ihrem Umsetzungsgrad aufwiesen. So zeigte der MPC-Phytin-Kleber je nach verwendeter α -TCP-Charge unterschiedliche Abscherfestigkeiten, die vermutlich auf die unterschiedlichen Produkteigenschaften der Prüfkörper zurückzuführen waren. Die allgemein bekannte Herausforderung, Zementssysteme mit gleichbleibenden Eigenschaften herzustellen, war in Bezug auf die Eignung als standardisierbares Prüfkörpermaterial kritisch zu bewerten.

Der Abscherversuch des MPC-Phytin-Klebers auf unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien, die aus α -TCP bzw. TTCP bzw. Knochen hergestellt wurden, führte ebenfalls zu verschiedenen Abscherfestigkeiten. Dabei konnten wiederum die unterschiedlichen Materialeigenschaften der Prüfkörper (Zusammensetzung; Umsetzungsgrad; Porosität; Oberflächenmorphologie; Feuchtigkeitsgehalt) ursächlich gewesen sein. Auffällig dabei war, dass auf den Prüfkörpern aus abgebundenem TTCP viele vorzeitige Klebeversagen beobachtet werden konnten. Die Ursache hierfür konnte an einer organischen Verunreinigung des Pulvers gelegen haben, da sich während der 7-tägigen Umsetzungsphase zu HA, fettige Rückstände auf der Lösungsoberfläche gebildet hatten. Nach der Sinterung der abgebundenen Prüfkörper traten die vorzeitigen Lösungen nicht mehr auf, sodass davon auszugehen war, dass die organischen Rückstände verbrannt waren. Auf Knochen lagen die mittleren Abscherfestigkeiten im Bereich von ca. 0,25 MPa, wobei die erhöhten Varianzen ein für Knochen typisches Phänomen darstellen [8]. In der Literatur

erreichte der Kleber initial $1,22 \pm 0,41$ MPa und nach 7-tägiger Lagerung in PBS noch $0,81 \pm 0,12$ MPa [7]. Im Rahmen dieser Arbeit konnten die Werte auf den Prüfkörpern aus Knochen allerdings nicht reproduziert werden. Die Gründe hierfür konnten vielfältig sein und waren wahrscheinlich auf unterschiedliche Verarbeitungsprozesse oder prüfkörperbedingte Einflussfaktoren zurückzuführen. Dabei handelt es sich bei dem Problem der erschwerten Reproduzierbarkeit von (Knochen)-Adhäsiven um ein allgemein bekanntes Phänomen, das selbst für gut erforschte Cyanoacrylate dokumentiert wurde [4]. Ein weiterer wichtiger Faktor, der bei der Eigenfestigkeit von Zementen eine große Rolle spielte, war der Feuchtigkeitsgehalt. Die Tatsache, dass nasse Zementkörper im Allgemeinen geringere Druckfestigkeiten als trockene Prüfkörper aufwiesen, wurde in der Literatur bestätigt [39, 66]. Die genaue Ursache hierfür war jedoch unklar da selten darüber berichtet wurde [10]. Grundsätzlich schien es jedoch sinnvoll, die Qualifizierung von Knochenklebern unter feuchten Bedingungen durchzuführen, um einer klinischen Situation möglichst nahe zu kommen.

In einer weiteren Versuchsreihe wurden erstmals unterschiedliche Kleber auf nur einem einzigen Prüfkörpermaterial verglichen. Dabei handelte es sich um Prüfkörper aus abgebundenem α -TCP aufgrund der positiven Eigenschaften, die das Material in den vorherigen Versuchen gezeigt hatte. Allerdings handelte es sich wiederum um eine neue Charge. Die verwendeten Knochenkleber waren allerdings so stark, dass die verklebten Prüfkörper in einigen Fällen unter den Abscherprüfungen versagten. Das Versagen der Prüfkörper stellte sich in Form von Ausrissen aus dem Prüfkörpermaterial dar. Die genaue Ursache hierfür konnte nicht geklärt werden. Denkbar wäre beispielsweise, dass die Ausrisse durch das Eindringen und Aushärten der Kleber in die porösen Prüfkörper provoziert werden konnten. Andererseits konnte auch die geringe Zugfestigkeit der CPC-Systeme für das vorzeitige Versagen verantwortlich gewesen sein. Aufgrund des Prüfkörperversagens wurden verschiedene Handversuche unternommen, um die Eigenfestigkeit der Prüfkörper zu erhöhen. Gbureck et al. konnte 2004 eine Steigerung der Druckfestigkeit für unverdichtete α -TCP-Zemente mit der Zugabe von 23 Gew.-% Monetit als Füllpartikel und der Verwendung 2,5 % di-Natriumhydrogenphosphat (Na_2HPO_4) / 500 mM tri-Natriumcitrat-Dihydrat- Lösung erreichen [34]. Das Prinzip beruhte darauf, durch bimodale Partikelgrößenverteilung und gleichzeitiger Verhinderung von Partikelagglomeraten, eine höhere Packungsdichte und somit eine höhere Festigkeit des abgebundenen Zements zu erzeugen [34]. Die α -TCP-Partikel besaßen dabei eine Partikelgröße von ca. 10 μm , wohingegen die feinkörnigen Monetit-Partikel eine Partikelgröße von etwa 1 μm besaßen [34]. Die Zitrat-Lösung sollte dazu dienen, das Zeta-Potenzial der

Partikeloberflächen zu erhöhen und somit Partikelagglomerate effektiv zu dispergieren [34].

5.2 Vergleich Prüfkörper aus CDHA vs. CDHA mit Monetit vs. Knochen

In einer weiteren Untersuchung wurde das Adhäsionsverhalten verschiedener (Knochen)-Kleber auf den Prüfkörpermaterialien aus abgebundenem α -TCP (CDHA) und abgebundenem α -TCP mit 23 Gew. % Monetit (CDHA + Monetit) verglichen.

Die Modifizierung des α -TCP-Zements mit Monetit führte zu veränderten mikrostrukturellen Eigenschaften die sich nicht nur in einer gesteigerten Druckfestigkeit, sondern auch in einer veränderten Oberflächenmorphologie äußerten. Aus diesem Grund zeigten die REM-Aufnahmen der beiden Prüfkörper deutliche Unterschiede in ihren Oberflächenbeschaffenheiten, die durch die Ermittlung der Mittenrauwerte bestätigt werden konnten. Während der Prüfkörper aus CDHA die literaturbekannten Kristallplättchen zeigte [9], wich der mit Monetit versetzte Prüfkörper deutlich davon ab. Als Konsequenz daraus konnten unterschiedliche mikromechanische Verankerungsmöglichkeiten geschaffen werden, die in unterschiedlichen Adhäsionsverhalten der Kleber resultierten. Andererseits war es auch vorstellbar, dass durch den Monetit-Anteil oder restliche Zitraten chemische Wechselwirkungen mit den jeweiligen Klebern hervorgerufen werden konnten. Interessanter Weise zeigte vor allem der MPC-OPLS-Kleber eine besonders hohe Affinität zu Prüfkörpern aus CDHA + Monetit wobei es fraglich war, ob allein eine veränderte mikromechanische Verzahnungsmöglichkeit hierfür verantwortlich gewesen sein konnte. Besonders in Anbetracht der Tatsache, dass eine enge Verwandtschaft der Mineralplättchen von Knochen mit dem Zitrat-Anion vermutet wurde, das in hoher Konzentration im Knochen vorhanden ist [67], sollten diesbezüglich weitere Untersuchungen vorgenommen werden. Außerdem konnte festgestellt werden, dass der MPC-OPLS-Kleber auf allen feuchten Prüfkörpermaterialien initial deutlich erhöhte Varianzen aufwies. Der Kleber schien zu diesem Zeitpunkt seine vollständige Abbindung noch nicht erreicht zu haben. Nach 2 Stunden sanken die Varianzen auf allen Materialien und bestätigten somit den Verdacht.

Die Ausriss-Problematik, die bei der Abscherung der Knochenkleber auftrat, konnte durch die Modifizierung mit Monetit jedoch nicht vermieden werden. Dementsprechend wurden ab Abscherfestigkeiten von ca. 2 MPa sowohl auf den Prüfkörpern aus CDHA als auch auf den Prüfkörpern aus CDHA + Monetit Ausrisse festgestellt. Die Modifizierung der Zementpaste mit Monetit führte zwar zu einer gesteigerten Druckfestigkeit (ca. 29 MPa). Aufgrund der geringen Druckfestigkeit des Ausgangsmaterials (ca. 19 MPa) fiel

der Effekt jedoch eher gering aus. Das Ausgangsmaterial bestand aus einer neuen Charge α -TCP (Fa. Innotere), das einer 4-stündigen Mahlung mit 4 Achatkugeln unterzogen wurde. Eine Verunreinigung des Pulvers oder eine zu geringe mechanische Aktivierung konnten möglicherweise ursächlich für die geringe Druckfestigkeit der abgebundenen Zementmatrix gewesen sein. Insgesamt stellte sich dabei die Frage, inwiefern die Druckfestigkeit überhaupt mit der Abscherfestigkeit eines Knochenklebers korrelierte, oder ob nicht sogar die Zugfestigkeit einen besseren Aufschluss über die mechanische Eignung als Prüfkörpermaterial hätte liefern können. EDX-Aufnahmen eines durch Truglue® verursachten Ausrisses aus einem Prüfkörper aus CDHA zeigten, dass sich der Ausriss nicht auf das gesamte vom Kleber infiltrierte Aerial bezog. Die Bruchmechanik des Prüfkörpers schien daher durch mechanische Ereignisse, bzw. die den Kleber verursachten Spannungsspitzen und Hebelwirkungen verursacht worden zu sein.

Aufgrund der Feststellung, dass der Feuchtigkeitsgehalt großen Einfluss auf die Druckfestigkeit der Zement-Prüfkörper gezeigt hatte, war davon auszugehen, dass das Adhäsionsverhalten der verschiedenen Knochenkleber ebenfalls Veränderungen unterlegen hatte. Tatsächlich zeigten beide zementbasierten Kleber auf den getrockneten Prüfkörpern einen deutlichen Abfall bzw. vollständigen Verlust der Klebefähigkeit. Möglicherweise entzogen die getrockneten Prüfkörper den Klebern die für die Zementreaktion benötigte flüssige Phase, sodass die Abbindereaktion im Kontaktbereich zwischen Kleber und Prüfkörper Einschränkungen unterlag. Aus demselben Grund hätten die Abscherfestigkeiten von Truglue® ebenfalls beeinträchtigt sein müssen, da Wasser als Katalysator der Polymerisationsreaktion von Cyanoacrylaten diente [60]. Die Beeinträchtigung fiel allerdings geringer aus, da bereits kleinste Mengen an Wasser der Luftfeuchtigkeit den Kleber zur Abbindereaktion veranlassen konnten [60]. Truglue® erzielte auf den trockenen Prüfkörpern sogar höhere Abscherfestigkeiten als auf den Feuchten. Zurückzuführen war dieser Umstand möglicherweise auf die gesteigerte Festigkeit der getrockneten Prüfkörper. Die gesteigerte Festigkeit der Prüfkörper ermöglichte vermutlich die Messung höherer Abscherfestigkeiten weil die Prüfkörper den auftretenden Kräften länger standhalten konnten. Dieser Effekt konnte allerdings nicht in Bezug auf die zementbasierten Kleber zum Tragen kommen, da sie schlicht kein adhäsives Verhalten auf den trockenen Oberflächen aufwiesen.

Die Methodik der Abscherprüfung zur Analyse der Adhäsionsstärke von Knochenklebern schien ein geeignetes Modell darzustellen. Die Klebefuge wurde dabei dem Angriff mehrerer Kraftvektoren ausgesetzt und entsprach somit näherungsweise dem Kraftmodell, dem ein Kleber unter klinischen Bedingungen ausgesetzt wäre.

Reine Zug bzw. Druckversuche würden lediglich zur mechanischen Analyse dienen. Allerdings brachte die Methodik wie die Prüfkörperteile (Plättchen bzw. Zylinder) miteinander verklebt wurden einige Nachteile. Da weder eine definierte Klebefugenbreite noch ein klar definierter Anpressdruck verwendet wurden, provozierte man erhöhte Varianzen. Trotz dieser Umstände konnten allerdings auch sehr geringe Varianzen beobachtet werden, die vor allem auf dem Prüfkörpermaterial aus CDHA verzeichnet wurden und teilweise sogar weniger als 10 % von den mittleren Abscherfestigkeiten abwichen. Da alle Klebungen auf dieselbe Weise und vom selben Anwender durchgeführt wurden, fiel das Ausmaß der potenziell provozierten Varianzen gering aus.

5.3 Fazit und Ausblick

Die in-vitro Qualifizierung von Knochenklebern stellt eine große Herausforderung dar. Durch die enorme Menge an beeinflussbaren Prozessparametern ist die Aussagekraft ermittelter Messergebnisse kritisch zu bewerten. In den meisten Fällen ist die Reproduzierbarkeit entweder überhaupt nicht, oder wenn überhaupt nur eingeschränkt möglich, sodass selbst für gut erforschte Cyanoacrylat-Kleber eine Vielzahl an unterschiedlichen Haftfestigkeiten dokumentiert ist [4].

Die anfänglich gestellte Hypothese, dass durch die Verwendung von hydroxylapatitbildenden Zementen Prüfkörper zur in-vitro Qualifizierung von Knochenklebern hergestellt werden könnten, wurde im Rahmen dieser Arbeit bestätigt. Das α -TCP-System erwies sich als vielversprechendes Material, das in Form einer Zement-Abbindereaktion calciumdefizitären Hydroxylapatit (CDHA) bildet und somit der anorganischen Phase des Knochens entspricht. Dabei erzeugten die Knochenkleber auf CDHA zwar abweichende Abscherfestigkeiten als auf Knochen, doch ließ sich ein vergleichbarer Trend bei stets reduzierten Varianzen erkennen. Allerdings konnte die allgemein bekannte Prozessanfälligkeit der Zementsysteme auch im Rahmen dieser Arbeit beobachtet werden, da durch unterschiedliche α -TCP-Chargen deutlich veränderte Produkteigenschaften hervorgerufen wurden. Künftig sollte daher ein klar definiertes Herstellungsprotokoll entwickelt werden, sodass ein Prüfkörpermaterial mit gleichbleibender Produktqualität entsteht. Qualifizierungsprozesse wären dann durch eine Art Umrechnungsfaktor übertragbar.

Außerdem ließ sich feststellen, dass nicht nur das Rauheitsprofil eines Prüfkörpers, sondern auch dessen Benetzungsmöglichkeit durch den jeweiligen Kleber entscheidend für die Erzielung unterschiedlicher Haftwerte ist. In Bezug auf die Entwicklung eines standardisierbaren Prüfkörpers zur in-vitro Qualifizierung von Knochenklebern sollte daher

die Oberflächenbeschaffen klar definiert sein. Weil bei der Entwicklung von Knochenklebern das Hauptaugenmerk auf der Findung chemischer Bindungsmotive gelegt wird, sollte eine möglichst glatte und homogene Oberfläche bevorzugt werden. Auf diese Weise ließen sich makromechanische Einflüsse vermeiden, sodass die Aussagekraft über die tatsächliche Haftfestigkeit des Klebers präzisiert werden könnte.

Aufgrund von Prüfkörperversagen, die unabhängig vom verwendeten Knochenkleber ab einer Abscherfestigkeit von ca. 2 MPa auftreten konnten, erwiesen sich die Prüfkörper zur Messung stärkerer Kleber als ungeeignet. Die Prüfkörper aus Knochen hielten hingegen jeder Messung stand. Zukünftig sollten daher neben der Entwicklung eines definierten Herstellungsprotokolls weiterführende Verstärkungsversuche unternommen werden, um die Prüfkörper auch für stärkere Knochenkleber einsetzen zu können. Dabei sollte das Hauptaugenmerk nicht nur auf die Druckfestigkeit, sondern auch auf die Erhöhung der Zugfestigkeit solcher Materialien gelegt werden. Der stärkste im Rahmen dieser Arbeit verwendete Kleber (Truglue®), erzielte auf Knochen mittlere Abscherfestigkeiten zwischen 3,4 – 5,7 MPa. Daher sollten Prüfkörper aus Zement diesen Kräften ebenfalls standhalten können. Besser wären jedoch 10 MPa, um auch hohe Einzelmesswerte abdecken zu können, die auf Knochen durch Truglue® bis zu 7,3 MPa betragen.

Die Erforschung neuartiger zementbasierter Knochenkleber steht noch an ihren Anfängen und bietet großes Weiterentwicklungspotenzial [1]. Ein standardisierter Prüfkörper wäre daher wünschenswert, der den Prozessablauf unkompliziert und schnell unterstützen könnte. Die größten Vorteile bestünden einerseits darin, Aufschluss über das Adhäsionsverhalten neuartiger Knochenkleber zu erlangen, da gezielte Einstellungsparameter unter Ausschluss von Fremdeinflüssen möglich wären. Andererseits durch die Ermöglichung von in-vitro Langzeitversuchen, die mit Knochensubstraten aufgrund von Verwesungsgründen unmöglich sind. Außerdem wäre die Herstellung im Vergleich zu Knochensubstraten deutlich einfacher und könnte einen hohen Durchsatz ermöglichen.

6. Zusammenfassung

Im Rahmen dieser Arbeit sollte herausgefunden werden, inwiefern Calciumorthophosphatzemente (CPC) dafür geeignet sind, um als Prüfkörper zur Qualifizierung von Knochenklebern zu dienen, und worin ihre Limitationen bestehen. Dazu sollte nicht nur ein materieller Vergleich verschiedener hydroxylapatitbildender Zemente mit Knochen erfolgen. Es sollte auch das Adhäsionsverhalten neuartiger Knochenkleber auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien verglichen werden, um mögliche Rückschlüsse für die Eignung als standardisierbares in-vitro Prüfkörpermaterial ziehen zu können.

Gegenstand der Untersuchung war ein α -Tricalciumphosphat (α -TCP)-System und ein Tetracalciumphosphat (TTCP)-System welche im Rahmen einer Zement-Abbindereaktion calciumdefizitären Hydroxylapatit (CDHA) bzw. stöchiometrischen Hydroxylapatit (HA) bilden. Die Materialien wurden dazu verwendet Prüfkörperteile in Form von Zylindern (5 x 5 mm) und Plättchen (20 x 10 x 5 mm) herzustellen, die dann mit verschiedenen Knochenklebern verklebt werden konnten. Der stärkste der verwendeten Kleber war ein Cyanoacrylat-Kleber (Truglue®). Er erzielte auf Prüfkörpern aus Knochen nach 24-stündiger Lagerung in PBS mittlere Abscherfestigkeiten von ca. $4,22 \pm 1,92$ MPa. Als zweitstärkster Kleber erwies sich ein neuartiger zementbasierter Kleber, der aus wärmebehandeltem Trimagnesiumphosphat-Hydrat und Phosphoserin bestand. Dieser Kleber erzielte unter den gleichen Umständen mittlere Abscherfestigkeiten von ca. $1,89 \pm 0,29$ MPa. Etwas schwächer schnitt ein ebenfalls neuartiger zementbasierter Kleber ab, der aus dem Magnesiumphosphat Farringtonit, sowie aus Magnesiumoxid und 25 % Phytinsäure bestand. Dieser Kleber erzielte mittlere Abscherfestigkeiten von ca. $0,51 \pm 0,16$ MPa. Insgesamt haben die Untersuchungen gezeigt, dass die in-vitro Qualifizierung von Knochenklebern unter Verwendung von Prüfkörpern aus Zement möglich wäre. Die Prüfkörper aus CDHA vereinten die meisten Vorteile und wären für Klebesysteme mit Abscherfestigkeiten von bis zu 2 MPa geeignet. Dabei erzeugten die Knochenkleber auf CDHA zwar abweichende Abscherfestigkeiten als auf Knochen, doch ließ sich ein vergleichbarer Trend bei stets reduzierten Varianzen erkennen. Durch die gute Konsistenz der Zementpaste war die Herstellung homogener Prüfkörper möglich. Aufgrund der Stabilität von CDHA unter wässrigen Bedingungen konnten Langzeitversuche ohne Einschränkungen vorgenommen werden. Die Limitationen der Prüfkörper aus CDHA bestanden allerdings darin, dass sie nicht für Abscherversuche von stärkeren Klebern geeignet waren. In solchen Fällen versagten die Prüfkörper noch bevor die maximale Abscherfestigkeit des jeweiligen Klebers gemessen werden konnte.

7. Literaturverzeichnis

- [1] M. Shokri, F. Dalili, M. Kharaziha, M. Baghaban Eslaminejad, H. Ahmadi Tafti, Strong and bioactive bioinspired biomaterials, next generation of bone adhesives, *Adv. Colloid Interface Sci.* 305 (2022) 102706.
- [2] A. Tzagiollari, H.O. McCarthy, T.J. Levingstone, N.J. Dunne, Biodegradable and Biocompatible Adhesives for the Effective Stabilisation, Repair and Regeneration of Bone, *Bioengineering (Basel)* 9(6) (2022).
- [3] K.O. Böker, K. Richter, K. Jäckle, S. Taheri, I. Grunwald, K. Borcharding, J. von Byern, A. Hartwig, B. Wildemann, A.F. Schilling, W. Lehmann, Current State of Bone Adhesives-Necessities and Hurdles, *Materials (Basel)* 12(23) (2019).
- [4] D.F. Farrar, Bone adhesives for trauma surgery: A review of challenges and developments, *International journal of adhesion and adhesives* 33 (2012) 89-97.
- [5] A. Kirillova, C. Kelly, N. von Windheim, K. Gall, Bioinspired mineral–organic Bioresorbable bone adhesive, *Advanced healthcare materials* 7(17) (2018) 1800467.
- [6] P. Procter, M. Pujari-Palmer, G. Hulsart-Billström, D. Wenner, G. Insley, S. Larsson, H. Engqvist, A biomechanical test model for evaluating osseous and osteochondral tissue adhesives, *BMC Biomedical Engineering* 1(1) (2019) 1-9.
- [7] T. Brückner, M. Meininger, J. Groll, A.C. Kübler, U. Gbureck, Magnesium phosphate cement as mineral bone adhesive, *Materials* 12(23) (2019) 3819.
- [8] C.D. Spicer, M. Pujari-Palmer, H. Autefage, G. Insley, P. Procter, H. Engqvist, M.M. Stevens, Synthesis of Phospho-Amino Acid Analogues as Tissue Adhesive Cement Additives, *ACS central science* 6(2) (2020) 226-231.
- [9] S.V. Dorozhkin, Self-setting calcium orthophosphate formulations, *J Funct Biomater* 4(4) (2013) 209-311.
- [10] J. Zhang, W. Liu, V. Schnitzler, F. Tancret, J.-M. Bouler, Calcium phosphate cements for bone substitution: chemistry, handling and mechanical properties, *Acta Biomater.* 10(3) (2014) 1035-1049.
- [11] G. Aumüller, G. Aust, A. Conrad, J. Engele, J. Kirsch, G. Maio, A. Mayerhofer, S. Mense, e. al., *Duale Reihe Anatomie, 5., korrigierte Auflage ed.*, Georg Thieme Verlag 2020.
- [12] M. Granke, M.D. Does, J.S. Nyman, The role of water compartments in the material properties of cortical bone, *Calcif. Tissue Int.* 97(3) (2015) 292-307.
- [13] M. Unal, A. Creecy, J.S. Nyman, The role of matrix composition in the mechanical behavior of bone, *Current osteoporosis reports* 16(3) (2018) 205-215.

- [14] S.V. Dorozhkin, M. Epple, Die biologische und medizinische Bedeutung von Calciumphosphaten, *Angewandte Chemie* 114(17) (2002) 3260-3277.
- [15] D. de Melo Pereira, P. Habibovic, Biomineralization-Inspired Material Design for Bone Regeneration, *Advanced Healthcare Materials* 7(22) (2018).
- [16] N. Reznikov, M. Bilton, L. Lari, M. Stevens, R. Kröger, Fractal-like hierarchical organization of bone begins at the nanoscale. *Science* 360, eaao2189, 2018.
- [17] R. Lüllmann-Rauch, E. Asan, Taschenlehrbuch Histologie, 6., vollständig überarbeitete Auflage ed., Georg Thieme Verlag 2019.
- [18] E.A. McNally, H.P. Schwarcz, G.A. Botton, A.L. Arsenault, A model for the ultrastructure of bone based on electron microscopy of ion-milled sections, *PLoS One* 7(1) (2012) e29258.
- [19] M. Saito, K. Marumo, Effects of collagen crosslinking on bone material properties in health and disease, *Calcif. Tissue Int.* 97(3) (2015) 242-261.
- [20] S. Kim, Z.-K. Cui, J. Fan, A. Fartash, T.L. Aghaloo, M. Lee, Photocrosslinkable chitosan hydrogels functionalized with the RGD peptide and phosphoserine to enhance osteogenesis, *Journal of Materials Chemistry B* 4(31) (2016) 5289-5298.
- [21] X. Ying, X. Chen, S. Cheng, X. Guo, H. Chen, H.Z. Xu, Phosphoserine promotes osteogenic differentiation of human adipose stromal cells through bone morphogenetic protein signalling, *Cell Biol. Int.* 38(3) (2014) 309-317.
- [22] P.J. Thurner, C.G. Chen, S. Ionova-Martin, L. Sun, A. Harman, A. Porter, J.W. Ager III, R.O. Ritchie, T. Alliston, Osteopontin deficiency increases bone fragility but preserves bone mass, *Bone* 46(6) (2010) 1564-1573.
- [23] N. Eliaz, N. Metoki, Calcium phosphate bioceramics: a review of their history, structure, properties, coating technologies and biomedical applications, *Materials* 10(4) (2017) 334.
- [24] S.V. Dorozhkin, Self-setting calcium orthophosphate formulations: cements, concretes, pastes and putties, *International Journal of Materials and Chemistry* 1(1) (2011) 1-48.
- [25] C. Moseke, U. Gbureck, Tetracalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications, *Acta Biomater.* 6(10) (2010) 3815-3823.
- [26] R.G. Carrodeguas, S. De Aza, α -Tricalcium phosphate: Synthesis, properties and biomedical applications, *Acta Biomater.* 7(10) (2011) 3536-3546.
- [27] U. Gbureck, R. Thull, Mechanische und rheologische Eigenschaften mineralischer Knochenzemente, *BioNanoMaterials* 6(4) (2005) 287-296.

- [28] S.-Y. Chen, S.-F. Ou, N.-C. Teng, C.-M. Kung, H.-L. Tsai, K.-T. Chu, K.-L. Ou, Phase transformation on bone cement: Monocalcium phosphate monohydrate into calcium-deficient hydroxyapatite during setting, *Ceramics International* 39(3) (2013) 2451-2455.
- [29] U. Gbureck, J. Barralet, L. Grover, M. Hofmann, R. Thull, Mechanische Festigkeit und Porosität von Calciumphosphat-Zementen, *BioNanoMaterials* 4(4) (2003) 258-263.
- [30] U. Gbureck, J.E. Barralet, L. Radu, H.G. Klinger, R. Thull, Amorphous α -tricalcium phosphate: preparation and aqueous setting reaction, *J. Am. Ceram. Soc.* 87(6) (2004) 1126-1132.
- [31] U. Gbureck, K. Spatz, R. Thull, Improvement of mechanical properties of self setting calcium phosphate bone cements mixed with different metal oxides, *Materialwissenschaft und Werkstofftechnik: Entwicklung, Fertigung, Prüfung, Eigenschaften und Anwendungen technischer Werkstoffe* 34(12) (2003) 1036-1040.
- [32] F. Pecqueux, F. Tancret, N. Payraudeau, J. Bouler, Influence of microporosity and macroporosity on the mechanical properties of biphasic calcium phosphate bioceramics: Modelling and experiment, *Journal of the European Ceramic Society* 30(4) (2010) 819-829.
- [33] J.E. Barralet, M. Tremayne, K.J. Lilley, U. Gbureck, Modification of calcium phosphate cement with α -hydroxy acids and their salts, *Chem. Mater.* 17(6) (2005) 1313-1319.
- [34] U. Gbureck, K. Spatz, R. Thull, J.E. Barralet, Rheological enhancement of mechanically activated alpha-tricalcium phosphate cements, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 73(1) (2005) 1-6.
- [35] J.E. Barralet, M. Hofmann, L.M. Grover, U. Gbureck, High-strength apatitic cement by modification with α -hydroxy acid salts, *Advanced Materials* 15(24) (2003) 2091-2094.
- [36] E. Fernández, M. Boltong, M. Ginebra, O. Bermudez, F. Driessens, J. Planell, Common ion effect on some calcium phosphate cements, *Clin. Mater.* 16(2) (1994) 99-103.
- [37] M. Bohner, H. Merkle, P.V. Landuyt, G. Trophardy, J. Lemaitre, Effect of several additives and their admixtures on the physico-chemical properties of a calcium phosphate cement, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 11(2) (2000) 111-116.
- [38] D.R. Jones, M.F. Ashby, *Engineering materials 1: An introduction to properties, applications and design*, Butterworth-Heinemann 2018.
- [39] J.E. Barralet, M. Hofmann, L.M. Grover, U. Gbureck, High-Strength Apatitic Cement by Modification with α -Hydroxy Acid Salts, *Advanced Materials* 15(24) (2003) 2091-2094.

- [40] A.J.W. Johnson, B.A. Herschler, A review of the mechanical behavior of CaP and CaP/polymer composites for applications in bone replacement and repair, *Acta Biomater.* 7(1) (2011) 16-30.
- [41] S. Bose, S. Vahabzadeh, A. Bandyopadhyay, Bone tissue engineering using 3D printing, *Materials today* 16(12) (2013) 496-504.
- [42] D. Munz, T. Fett, *Ceramics: mechanical properties, failure behaviour, materials selection*, Springer Science & Business Media 1999.
- [43] R.O. Ritchie, The conflicts between strength and toughness, *Nature materials* 10(11) (2011) 817-822.
- [44] M.E. Launey, R.O. Ritchie, On the fracture toughness of advanced materials, *Advanced Materials* 21(20) (2009) 2103-2110.
- [45] Q. Fu, E. Saiz, M.N. Rahaman, A.P. Tomsia, Bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering: state of the art and future perspectives, *Materials Science and Engineering: C* 31(7) (2011) 1245-1256.
- [46] Y.E. Greish, P.W. Brown, Phase evolution during the formation of stoichiometric hydroxyapatite at 37.4° C, *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 67(1) (2003) 632-637.
- [47] N. Jinlong, Z. Zhenxi, J. Dazong, Investigation of phase evolution during the thermochemical synthesis of tricalcium phosphate, *Journal of Materials synthesis and Processing* 9(5) (2001) 235-240.
- [48] J. Duncan, J.F. MacDonald, J.V. Hanna, Y. Shirosaki, S. Hayakawa, A. Osaka, J.M. Skakle, I.R. Gibson, The role of the chemical composition of monetite on the synthesis and properties of α -tricalcium phosphate, *Materials Science and Engineering: C* 34 (2014) 123-129.
- [49] M. Vlad, S. Gómez, M. Barracó, J. López, E. Fernández, Effect of the calcium to phosphorus ratio on the setting properties of calcium phosphate bone cements, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 23(9) (2012) 2081-2090.
- [50] M.P. Ginebra, E. Fernández, F.C. Driessens, J.A. Planell, Modeling of the Hydrolysis of α -Tricalcium Phosphate, *J. Am. Ceram. Soc.* 82(10) (1999) 2808-2812.
- [51] A.J. Ambard, L. Mueninghoff, Calcium phosphate cement: review of mechanical and biological properties, *J. Prosthodont.* 15(5) (2006) 321-328.
- [52] N. Ostrowski, A. Roy, P.N. Kumta, Magnesium phosphate cement systems for hard tissue applications: a review, *ACS Biomaterials Science & Engineering* 2(7) (2016) 1067-1083.

- [53] L.M. Grover, U. Gbureck, D. Farrar, J. Barralet, Adhesion of a novel calcium phosphate cement to cortical bone and several common biomaterials, *Key Engineering Materials*, Trans Tech Publ, 2006, pp. 849-852.
- [54] M. Waselau, V.F. Samii, S.E. Weisbrode, A.S. Litsky, A.L. Bertone, Effects of a magnesium adhesive cement on bone stability and healing following a metatarsal osteotomy in horses, *Am. J. Vet. Res.* 68(4) (2007) 370-378.
- [55] T. Christel, S. Christ, J.E. Barralet, J. Groll, U. Gbureck, Chelate bonding mechanism in a novel magnesium phosphate bone cement, *J. Am. Ceram. Soc.* 98(3) (2015) 694-697.
- [56] L. Ge, S. Chen, Recent advances in tissue adhesives for clinical medicine, *Polymers* 12(4) (2020) 939.
- [57] A.J. Singer, H.C. Thode Jr, A review of the literature on octylcyanoacrylate tissue adhesive, *The American journal of surgery* 187(2) (2004) 238-248.
- [58] T. Renner, In vitro Testverfahren zur Qualifizierung von Knochenklebstoffen, Universität Würzburg, 2018.
- [59] L. Wistlich, A. Rücker, M. Schamel, A.C. Kübler, U. Gbureck, J. Groll, A bone glue with sustained adhesion under wet conditions, *Advanced healthcare materials* 6(3) (2017) 1600902.
- [60] G. Habenicht, Kleben: Grundlagen, Technologie, Anwendungen, Springer 1986.
- [61] E.W. Washburn, Note on a Method of Determining the Distribution of Pore Sizes in a Porous Material, *Proc Natl Acad Sci U S A* 7(4) (1921) 115-6.
- [62] H. Giesche, Mercury Porosimetry: A General (Practical) Overview, *Particle & Particle Systems Characterization* 23(1) (2006) 9-19.
- [63] R. Petschick, Röntgendiffraktometrie in der Sedimentologie (K5), *Sediment Schriftenr Dtsch Geol Ges* 18 (2002) 99-118.
- [64] J. Bauch, R. Rosenkranz, *Physikalische Werkstoffdiagnostik: Ein Kompendium wichtiger Analytikmethoden für Ingenieure und Physiker*, Springer-Verlag 2017.
- [65] P.W. Brown, R.I. Martin, An analysis of hydroxyapatite surface layer formation, *The journal of physical chemistry B* 103(10) (1999) 1671-1675.
- [66] C. Pittet, J. Lemaitre, Mechanical characterization of brushite cements: A Mohr circles' approach, *J. Biomed. Mater. Res.* 53(6) (2000) 769-780.

[67] L.C. Costello, M. Chellaiah, J. Zou, R.B. Franklin, M.A. Reynolds, The status of citrate in the hydroxyapatite/collagen complex of bone; and Its role in bone formation, *Journal of regenerative medicine & tissue engineering* 3 (2014) 4.

I. Abkürzungsverzeichnis

α -TCP	alpha-Tricalciumphosphat
β -TCP	beta-Tricalciumphosphat (Whitlockit)
CPC	Calciumorthophosphatzement
CDHA	Calciumdefizitärer Hydroxylapatit
CDHA + Monetit	Calciumdefizitärer Hydroxylapatit der aus α -TCP mit 23 Gew. % Monetit-Füllpartikeln hergestellt wurde
EDX	Energiedispersive Röntgenspektroskopie
Farringtonit	$Mg_3(PO_4)_2$
Gew. %	Gewichtsprozent
H ₂ O dest.	destilliertes Wasser/ Mill-Q-Wasser
HA	Hydroxylapatit
Ksp	Löslichkeitsproduktkonstante
Monetit	CaHPO ₄ / Calciumhydrogenphosphat/ DCPA
MPa	Megapascal (N/mm ²)
MPC-OPLS	Kleber aus wärmebehandeltem Trimagnesiumphosphat-Hydrat und Phosphoserin
MgO	Magnesiumoxid/ Magnesia
MPC	Magnesiumphosphatzement
MPC-Phytin	Kleber aus Farringtonit und 25% Phytinsäure
Na ₂ HPO ₄	Dinatriumhydrogenphosphat
NaH ₂ PO ₄	Natriumdihydrogenphosphat
OPLS	O-Phospho-L-Serin / Phosphoserin
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
P/L	Pulver/Flüssigkeits-Verhältnis (engl. powder-liquid ratio/ PLR)
pH	negativ-dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
REM	Rasterelektronenmikroskopie
TTCP	Tetracalciumphosphat (Hilgenstockit)
TMP	Mg ₃ O ₈ P ₂ xH ₂ O /wärmebehandeltes Trimagnesiumphosphat-Hydrat
XRD	Röntgendiffraktometrie

II. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Darstellung des hierarchischen Aufbaus von Knochen.</i>	6
<i>Abbildung 2: Herstellungsschritte der Prüfkörper aus Knochen.</i>	23
<i>Abbildung 3: Formen für die Herstellung der Prüfkörper aus Zement.</i>	23
<i>Abbildung 4: Applikationsmöglichkeit der zementbasierten Kleber mit Hilfe einer Spritze.</i>	27
<i>Abbildung 5: Guillotine zur Messung der Abscherfestigkeit der Knochenkleber.</i>	27
<i>Abbildung 6: Silikonzuwandte Seiten der abgebundenen Prüfkörper aus Zement.</i>	32
<i>Abbildung 7: Diffraktogramme der Prüfkörpermaterialien.</i>	33
<i>Abbildung 8: Quecksilberporosimetrie der Prüfkörpermaterialien.</i>	35
<i>Abbildung 9: Druckfestigkeit der Prüfkörpermaterialien.</i>	35
<i>Abbildung 10: Rautiefenvergleich der Prüfkörpermaterialien.</i>	37
<i>Abbildung 11: Versagensbeispiele des MPC-Phytin-Klebers auf unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien.</i>	37
<i>Abbildung 12: Abscherfestigkeit eines MPC-Phytin-Klebers.</i>	38
<i>Abbildung 13: Abscherfestigkeit des MPC-Phytin-Klebers auf abgebundenem α-TCP-Prüfkörpern mit unterschiedlichen Rauheitsprofilen.</i>	39
<i>Abbildung 14: Beispiel eines Prüfkörper-versagens in Form eines Ausrisses, der durch Sekundenkleber verursacht wurde.</i>	40
<i>Abbildung 15: Diffraktogramme der unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien.</i>	42
<i>Abbildung 16: REM-Aufnahmen der Prüfkörpermaterialien.</i>	43
<i>Abbildung 17: Rautiefenvergleich der unterschiedlichen Prüfkörpermaterialien. n=19.</i>	43
<i>Abbildung 18: Beispielhafte Versagemuster der Klebungen.</i>	45
<i>Abbildung 19: Abscherfestigkeit des MPC-Phytin Klebers auf verschiedenen Prüfkörpermaterialien.</i>	46
<i>Abbildung 20: Abscherfestigkeit des MPC-OPLS-Klebers auf verschiedenen Prüfkörpermaterialien.</i>	47
<i>Abbildung 21: Abscherfestigkeit des Klebers Truglue® auf verschiedenen Prüfkörpermaterialien.</i>	48
<i>Abbildung 22: Vergleich der Kleber.</i>	50
<i>Abbildung 23: EDX-Darstellung eines ausgerissenen Prüfkörpers aus CDHA nach Abscherung des Klebers Truglue®.</i>	51
<i>Abbildung 24: Vergleich der Abscherfestigkeiten auf feuchten bzw. trockenen Prüfkörpern.</i>	52

III. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Übersicht der Calciumorthophosphate [24].</i>	8
<i>Tabelle 2: Übersicht der Phasenzusammensetzungen der Prüfkörpermaterialien die aus α-TCP bzw. TTCP hergestellt wurden. n=3.</i>	33
<i>Tabelle 3: Übersicht der Phasenzusammensetzungen der Prüfkörpermaterialien aus CDHA bzw. CDHA + Monetit. n=3.</i>	42
<i>Tabelle 4: Versagensmuster des Klebers MPC-Phytin auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien.</i>	46
<i>Tabelle 5: Versagensmuster des Klebers MPC-OPLS auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien.</i>	47
<i>Tabelle 6: Versagensmuster des Klebers (Truglue®) auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien.</i>	49
<i>Tabelle 7: Versagensmuster der verschiedenen Knochenadhäsive auf den verschiedenen Prüfkörpermaterialien.</i>	53

IV. Danksagung

Mein Besonderer Dank gilt Prof. Dr. U. Gbureck für die Überlassung des Promotionsthemas und die herzliche Betreuung.

Besonderer Dank gilt auch den Mitarbeitern des FMZ, die mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen. Anton Hofmann für die Unterstützung in der Werkstatt. Isabell Biermann für die Pulver-Bereitstellung und die Hilfe im Labor. Jan Weichhold für die Einführung in die Porosimetrie und die Röntgendiffraktometrie. Philipp Stahlhut für die REM und EDX-Aufnahmen. Friederike Kaiser für die statistische Beratung. Paul Otto für die Austauschmöglichkeit, die Ideen und Hilfestellung während des gesamten Arbeitsprozesses. Tobias Renner für die Ideen und die Überlassung der Rezeptur des MPC-OPLS-Klebers. Insgesamt möchte ich mich für die schöne Zeit, die großartige Arbeitsatmosphäre und die Herzlichkeit bedanken, die ich am FMZ erfahren habe.

Besonderer Dank gilt auch meinem Partner Ludwig Kraemer, der mir in jeder Lage zur Seite stand und mir besonders bei Formatierungs-Fragen und Programmeinstellungen geholfen hat. Außerdem bedanke ich mich herzlichst für die Konstruktion und Anfertigung der CNC-gefrästen Formen.

Besonderer Dank gilt auch meiner Familie und meinen Freunden für die Motivation und Hilfe bei der Korrektur.