

**Aus der Klinik und Polikliniken für Zahn-, Mund- und
Kieferkrankheiten**

der Universität Würzburg

Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der
Zahnheilkunde

Vorstand: Prof. Dr. J. Groll

**Modifikation elektrochemisch auf Titan aufgebracht
Calciumhydroxidschichten durch
Fremdmetallionendotierung**

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der

Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Matthias Hipp

aus Friedrichshafen am Bodensee

Würzburg, November 2010

Referent: Priv.- Doz. Dr. Uwe Gbureck

Koreferent: Prof. Dr. Dr. Kübler

Dekan: Prof. Dr. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 21. Februar 2011

Der Promovend ist Zahnarzt

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung und Problemstellung	1
2.	Kenntnisstand und Problemstellung	5
2.1.	Notwendigkeit und Verfügbarkeit antibakterieller Beschichtungen	5
2.2.	Calciumhydroxid als bakterizider Werkstoff	7
2.3.	Antibakterielle Eigenschaften von Silber	7
2.4.	Weitere aktuelle Ansätze der Beschichtung	8
2.4.1.	Verwendung von Strontium in der Medizin	9
2.4.2.	Physiologische Wirkungen von Magnesium	10
2.4.3.	Verwendung von Zink in der Medizin	10
3.	Material und Methode	12
3.1.	Vorbereitende Schritte	12
3.1.1.	Geräte und Hilfsmittel	12
3.1.2.	Vorbereitung der Titanplättchen	12
3.2.	Herstellen des Elektrolyten	13
3.2.1.	Erläuterung des Elektrolyten	13
3.2.2.	Elektrolyt und Dotierung	13
3.3.	Elektrochemische Abscheidung	15
3.3.1.	Prinzip der galvanostatischen Beschichtung	15
3.3.2.	Geräte und Hilfsmittel	15
3.3.3.	Verwendung des Potentiostaten	16
3.3.4.	Galvanostatische Beschichtung	16
3.3.5.	Bestimmung der abgeschiedenen Massen	17
3.4.	Einlagerung in simulierte Körperflüssigkeit	17
3.4.1.	Herstellung des SBF	18
3.5.	Charakterisierung	19
3.5.1.	Röntgendiffraktometrie (XRD)	19
3.5.2.	Massenspektrometrie (ICP-MS)	20
3.5.3.	Rasterelektronenmikroskop	21
3.5.4.	Einlagerung der Plättchen in SBF	21
4.	Ergebnisse	23
4.1.	Bestimmung der Strom-Spannungs-Kennlinie	23
4.1.1.	Einflüsse der Dotierungen auf die Massenabscheidung	24

4.1.2.	Massenverluste während der Einlagerung in SBF.....	25
4.2.	Chemische Charakterisierung der aufgetragenen Schichten.....	27
4.2.1.	Umwandlungsdynamik von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ zu HA in SBF.....	27
4.2.2.	Charakterisierung der Standardbeschichtung ohne Dotierung.....	28
4.2.3.	Charakterisierung der Beschichtung nach Silberdotierung des Elektrolyten.....	29
4.2.4.	Charakterisierung der Beschichtung nach Strontiumdotierung des Elektrolyten.....	30
4.2.5.	Charakterisierung der Beschichtung nach Magnesiumdotierung des Elektrolyten.....	31
4.2.6.	Charakterisierung der Beschichtung nach Zinkdotierung des Elektrolyten.....	32
4.2.7.	Charakterisierung der Beschichtung nach Kalium- und Natriumdotierung des Elektrolyten.....	33
4.3.	Rasterelektronenmikroskopische Analyse.....	34
4.3.1.	Beschichtung mit dem Basiselektrolyten.....	34
4.3.2.	Beschichtung nach Silberdotierung des Elektrolyten.....	35
4.3.3.	Beschichtung nach Strontiumdotierung des Elektrolyten.....	37
4.3.4.	Beschichtung nach Magnesiumdotierung des Elektrolyten.....	38
4.3.5.	Beschichtung nach Zinkdotierung des Elektrolyten.....	40
4.4.	Quantitative Analyse (ICP-MS).....	42
4.4.1.	Quantitative Analyse der Beschichtungen.....	42
4.4.2.	Auslagerungsdynamik der Schichten in SBF ohne täglichen Medienwechsel.....	44
4.4.3.	Kumulative Ionenauslagerung in SBF bei täglichem Medienwechsel.....	47
5.	Diskussion.....	50
5.1.	Die Dotierung mit Silber.....	50
5.2.	Die Einbringung von Strontium.....	53
5.3.	Die Dotierung mit Magnesium.....	56
5.4.	Die Einbringung von Zink.....	58
5.5.	Die Dotierung mit Natrium und Kalium.....	60
6.	Zusammenfassung.....	61
7.	Literaturverzeichnis.....	63

Abkürzungsverzeichnis

XRD	X-Ray-Diffraction
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma–Mass Spectrometry
FMZ	Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde
SBF	Simulated Body Fluid
HA	Hydroxylapatit
DCPD	Bruskit (di-calcium phosphate dihydrate)
Ti	Titan
Sr	Strontium
Ag	Silber
Zn	Zink
Mg	Magnesium
K	Kalium
Na	Natrium
β-TCP	beta-Tricalciumphosphat

1. Einleitung und Problemstellung

Die Verwendung von im Knochen befestigten dentalen Implantaten und Endoprothesen sowie Osteosyntheseverfahren mittels Plattenapplikation stellen häufige Routineeingriffe in der Medizin dar. Das Einbringen eines Fremdkörpers in Form von Metall in den menschlichen Körper und speziell in den Knochen warf dabei von Anbeginn die Frage nach der Reaktion zwischen der Oberfläche des Implantates und dem umgebenden Knochen auf. Diese Interaktion ist bis auf den heutigen Tag Gegenstand intensiver Forschung und Diskussion.

Der im Implantatkontakt stehende menschliche Knochen enthält zum Hauptteil anorganische Substanz. Etwa 70 % des Trockengewichtes ist mineralischer Anteil, 22-33 % ist organisches Material. Der anorganische, mineralische Anteil besteht zu 60 % aus Hydroxylapatit, einen Anteil von 40 % macht amorphes Calciumphosphat aus [1]. Wichtige Calciumphosphate sind Brushit, Monetit, Octacalciumphosphat, Calcium-Pyrophosphat und Apatit. Apatit bildet dabei den größten Teil [2]. Daneben kommen noch viele weitere anorganische Verbindungen von Spurenelementen im Knochen vor.

Über das nach aktuellem Forschungsstand am besten mit menschlichem Knochen verträgliche Implantatmetall besteht weitgehender Konsens: Es ist das Titan. Reintitan ist daher der gängige Werkstoff für Implantate in der Zahnmedizin, in der Kieferchirurgie und in der Wirbelsäulenchirurgie. In der Orthopädie sind dagegen hauptsächlich Titanlegierungen, Edeltähle oder Legierungen auf Chrom- oder Kobalt-Basis im Einsatz [3-5]. Reintitan und Titanlegierungen sind als biokompatible Materialien beschrieben worden [4]. Die Biokompatibilität beruht in erster Linie auf der Passivierung der Oberfläche durch die Reaktion von Sauerstoff mit Titan. Die entstandene Oxidschicht schützt dabei das Titan vor Korrosion. Die Oberfläche der verwendeten Titanimplantate wird standardmäßig auf mehreren Wegen zum Erreichen einer besseren Mikroretention im Knochen modifiziert. So sind glatte, geätzte, titanplasmabeschichtete und sandgestrahlte Oberflächen im routinemäßigen Einsatz [5].

Weiterhin werden Titanoberflächen mit langsam biodegradierbaren Calciumphosphaten wie Hydroxylapatit [$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, HA] und schneller biodegradierbaren Calciumphosphaten wie Brushit [$\text{CaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, DCPD] beschichtet [6-8]. Andere

Einleitung und Problemstellung

Ansätze berichten von Beschichtungen mit Monetit [CaHPO_4] [9]. Verfügbar ist Hydroxylapatit als das kommerziell meistverwendete Material für die Beschichtung auf Basis der Plasmaspritztechnik [10] oder (experimentell) auf Basis einer umgewandelten elektrochemischen Abscheidung von Brushit oder Monetit [7]. Die Beschichtungen werden in diesem Verfahren physiologischer Lösung ausgesetzt und wandeln sich zu Hydroxylapatit um. Hydroxylapatit ist in physiologischem Milieu (pH 7) sehr stabil. Thermodynamisch instabilere Calciumphosphate wie das erwähnte Brushit oder Monetit erfahren daher in physiologischen Lösungen eine Degradation oder Transformation zu Hydroxylapatit [9, 11]. Die genannten Beschichtungen sollten so dünn sein, dass eine gute Resorbierbarkeit, Biokompatibilität und Haftfestigkeit am Trägersubstrat gewährleistet ist.

Hydroxylapatit ermöglicht als Oberflächenbeschichtung einen schnelleren und verbesserten Knochen-Implantat-Verbund (Osseointegration). Nachgewiesen ist, dass aus Calciumphosphaten in vivo gebildetes Hydroxylapatit nicht nur biokompatibel ist, sondern ihm auch zumindest potenziell osteokonduktive Eigenschaften zugeschrieben werden können [12, 13]. Eine solche Eigenschaft bedeutet in der Klinik eine schnellere Osseointegration und damit eine frühere Sekundärstabilität und Belastbarkeit eines eingebrachten Implantates im Vergleich zu unbeschichteten Titanoberflächen [3, 12, 14, 15]. Dies ist wichtig, um bewegungsassoziierte Gewebeschäden zu verhindern und den Langzeiterfolg eines Implantates zu sichern [16]. Ein wesentlicher Grund für die verbesserte Osseointegration ist die mögliche chemische Verbindung zwischen Knochen und Hydroxylapatit, was einen festeren Knochen-Implantat-Verbund ermöglicht [5].

Die heute gebräuchliche Plasmaspritztechnik zum Auftragen der HA-Beschichtungen weist eine Reihe von Nachteilen auf. So führt sie zur Bildung einer sehr kompakten, dem Knochen kaum ähnlichen Oberfläche aus HA [15]. Die hohe Prozesstemperatur führt zu anderen kristallinen Phasen als HA und es fehlt die chemische Bindung zwischen Substrat und Beschichtung. Dies bedeutet eine schlechte Schichthaftung [17, 18]. Ein anderes Problem stellen die teils dick aufgetragenen Schichten dar [9, 18]. Auch bei komplizierten dreidimensionalen Geometrien ist in bestimmten Bereichen eine

Einleitung und Problemstellung

Beschichtung schwierig. Diese Nachteile führten in der Vergangenheit zu einer umfassenden Suche nach alternativen Beschichtungsmethoden.

Der Vorteil einer elektrochemischen Abscheidung liegt darin, auch sehr komplexe Geometrien mit einer gleichmäßigen Schicht zu überziehen. Es bietet sich die Möglichkeit an, Morphologie und Mikrostruktur der Schicht über die Parameter Zusammensetzung des Elektrolyten, Temperatur, Stromstärke und Beschichtungszeit zu steuern [19]. Nachteil der elektrochemischen Abscheidung ist jedoch auch hier das bisher ungelöste Problem der geringen Haftung zwischen dem Substrat Titan und aufgetragenen Abscheidungen. Besonders während der Implantation ist das Einbringen in der Regel mit hohen Scherkräften verbunden, die eine Oberflächenbeschichtung abplatzen lassen können.

In einer dieser Arbeit vorausgegangenen Studie der FMZ Würzburg wurde der Nachweis geführt, dass eine bakterizide Beschichtung von Titan mit Calciumhydroxid auf elektrochemischem Wege möglich ist [20]. Weiterhin wurde in der genannten Arbeit die antibakterielle Wirkung der Oberflächenbeschichtung auf Osteoblasten und die Keime *Staphylococcus epidermidis* und *Klebsiella pneumoniae* beschrieben. Festgestellt wurde eine ausgeprägte Wachstumshemmung auf die letztgenannten Keime, jedoch keine nachhaltige negative Auswirkung auf das Wachstum von eukaryonten Zellen [21]. Sowohl die elektrochemische Darstellung, als auch die biologische Wirkung der Calciumhydroxidbeschichtung erwiesen sich in diesem Zusammenhang als erfolgsversprechende Beschichtung für Titanoberflächen, deren Eigenschaften weiter unten ausführlich erläutert werden.

Die Ziele dieser Arbeit bestanden in dem Versuch, die entwickelten Calciumhydroxidbeschichtungen durch Dotierung mit Fremdmetallionen zu verändern. Verwendet wurden in erster Linie die später beschriebenen Elemente Magnesium, Strontium, Silber und Zink, welche zum einen eine wichtige Rolle im Knochenstoffwechsel (Zink, Magnesium) spielen. Zum anderen wurden Elemente verwendet, von denen angenommen wird, dass sie als Dotierungen eine Verbesserung der biologischen (Strontium, Zink) oder antibakteriellen Eigenschaften (Silber) der Beschichtung mit sich bringen würden.

Einleitung und Problemstellung

Die Beschichtung erfolgte elektrochemisch durch die Abscheidung von Calciumhydroxid aus einem Elektrolyten. Deshalb sollten die Dotierungen mit Magnesium, Strontium, Silber und Zink durch die Zugabe entsprechender Salze in den Elektrolyten erfolgen.

Es ergab sich für die Auftragung der Schichten die Fragestellung, ob es überhaupt möglich ist, diese Elemente in die Schicht einzulagern. Dies sollte durch Messungen der eingebrachten Anteile an Fremdmetallionen in die erzeugten Schichten (Verhältnis von Calcium zur Dotierung) geschehen. Weiterhin sollte untersucht werden, ob die Dotierungen eine chemische oder eine Abscheidungsmassenveränderung (Einfluss auf die abgeschiedene Masse der Schicht) der Beschichtung mit sich bringen würden und ob andere Verbindungen als Calciumhydroxid entstehen würden. Auch die Art des Einbaus der Dotierungsionen in die Beschichtung (Adsorption an Kristallite, Substitution von Calciumionen) sollte geklärt werden, sofern dies im Rahmen der Methode möglich sein würde. Ein weiteres Augenmerk lag auf den neu geschaffenen Mikrooberflächenstrukturen, da diese ebenfalls Relevanz für das Anwachsen des Knochens haben können.

Neben den Eigenschaften der neu aufgetragenen Schichten war auch deren Verhalten in physiologischer Lösung von Interesse. Dies sollte das Einbringen der Schichten in den menschlichen Körper simulieren. Als Fragestellung ergab sich hierbei zum einen, ob die dotierten Schichten sich in gleicher Weise wie die Calciumhydroxidbeschichtung in Hydroxylapatit umwandeln würden. Zum anderen waren die Abgabekinetiken und absoluten Konzentrationen der dotierten Ionen aus der Schicht in die physiologische Lösung hinein von Bedeutung. Die Menge der abgegebenen Ionen lässt den Rückschluss auf die Wirksamkeit und klinische Relevanz im Umgebungsmilieu zu, da z. B. für Silber die minimale Hemmkonzentration für Bakterien und die zytotoxische Konzentration für humane Zellen aus der Literatur bekannt sind. Eine optimierte Silberabgabe sollte sich in diesem Rahmen zwischen minimaler Hemmkonzentration und toxischer Konzentration bewegen.

2. Kenntnisstand und Problemstellung

Bei der operativen Einbringung von Titan in den Körper als Implantat, Osteosyntheseplatte oder Gelenkendoprothese etc. ist eine bakterielle Kontamination der Wunde und des eingebrachten Fremdkörpers nicht mit Sicherheit auszuschließen. Da die überwiegende Zahl der Entzündungen des Knochens durch Bakterien hervorgerufen wird, ist nachdrücklich auf eine gute Wundhygiene und antiseptische Behandlung zu achten, insbesondere bei Vorliegen von Prädispositionsfaktoren für schlecht behandelbare Osteomyelitiden, wie vorangegangene Radiatio, Bisphosphonattherapie oder Immunsuppression [3]. Auch bei der Anwendung von dentalen Implantaten wird eine möglichst große Keimarmut im Operationsgebiet angestrebt, was aber gerade bei Operationen in der Mundhöhle aufgrund der hohen Bakteriendichte im Speichel nur eingeschränkt möglich ist.

2.1. Notwendigkeit und Verfügbarkeit antibakterieller Beschichtungen

Die Infektion einer Endoprothese oder Osteosyntheseplatte mit Biofilmbildung bedeutet eine schwerwiegende Komplikation in der Chirurgie. Die Infektion kann durch eine bakterielle Kontamination während der Operation oder durch eine nachträgliche Infektion auf hämatogenem Wege erfolgen. Ursachen einer Bakteriämie mit nachfolgender hämatogener Besiedlung können Verletzungen der epithelialen Integrität, wie z.B. Zahnextraktionen sein [22]. Die Infektionserreger können sich auf dem eingebrachten Fremdmaterial als Biofilm organisieren [23]. Die Keime im Biofilm am Infektionsort sind für Antibiotika durch ihren geschützten Rückzugsort nur schwer erreichbar. Der Biofilm stellt zudem ein zusätzliches Diffusionshindernis für Antibiotika dar, sodass erheblich erhöhte, klinisch unter Umständen nicht zu erreichende systemische Dosen notwendig wären, um die Erreger vor Ort zu bekämpfen [23-25]. Eine Protheseninfektion kommt bei der Implantation von Hüfttotalendoprothesen in ein bis zwei Prozent der Fälle vor [4].

In Folge einer Infektion ist es oftmals notwendig, die Prothese oder Osteosyntheseplatte unter antibiotischer Abschirmung zu revidieren. Dabei wird im Falle der Prothese meist eine lokale Antibiose durch antibiotikabeladene PMMA-Ketten (Polymethylmethacrylat) oder sogenannte Zementspacer durchgeführt [22]. Nachteil dieser Behandlung ist die Möglichkeit der Selektion resistenter Keime, welche sich nur

Kenntnisstand und Problemstellung

schlecht therapieren lassen. Erhebliche Belastungen für die betroffenen Patienten und vermehrte Kosten für das Gesundheitssystem sind die Folge einer Protheseninfektion. Deshalb gilt in all diesen Fällen der Satz: „Prophylaxe ist die beste Behandlung“.

Die entzündliche Komplikation könnte durch eine anfangs bakterizid wirkende Oberflächenbehandlung von Implantaten, die eine Biofilmbildung verhindert, umgangen werden. Bis auf den heutigen Tag sind kommerziell antibakteriell beschichtete Titanimplantate auf dem Markt jedoch noch nicht erhältlich. Gleichzeitig spielen antiseptische Wirkstoffe bei lokalisierten Wundinfektionen eine immer größere Rolle, da sie durch ihre unspezifischeren Wirkmechanismen eine geringere Gefahr der Resistenzbildung durch Keime als die meist spezifisch angreifenden Antibiotika mit sich bringen [26].

In der vorklinischen Erprobung und klinischen Anwendung befinden sich konsequenterweise zahlreiche antibakterielle Beschichtungen, die auf den drei Prinzipien der Antisepsis (z.B. Chlorhexidin, quartäre Ammoniumverbindungen [27], Iod [28]), der lokalen Antibiose (in Oberflächen eingebrachte Antibiotika wie Gentamicin) und der oberflächlichen Verwendung antibakterieller Metalle (Zink, Silber, Kupfer) basieren [4].

Antibakterielle Materialien sollten im Allgemeinen eine Reihe von Bedingungen erfüllen. Dazu gehört erstens ein breites antimikrobielles Spektrum (bakteriostatisch oder bakterizid), das multiresistente und nosokomiale Keime sowie Pilze einschließt. Im Speziellen sollten die Anheftung von Mikroorganismen und die Biofilmbildung verhindert werden. Zweitens sollte möglichst eine längerfristige antiseptische Wirkung bestehen. Zuletzt wird gefordert, dass die physikalischen Eigenschaften der Trägersubstanz möglichst nicht verändert werden sollten [29].

Bis auf den heutigen Tag hat sich die Vereinbarkeit der infektionsprophylaktischen Eigenschaften von Oberflächenbeschichtungen mit gleichzeitig guter Biokompatibilität als schwierig erwiesen. Zum einen besteht das Problem darin, dass eine Oberflächenbeschichtung, die das Wachstum von Osteoblasten stimuliert oft gleichzeitig auch ein verbessertes mikrobiologisches Milieu darstellt, zum anderen kann

eine bakterizide Oberfläche prinzipiell auch zytotoxisch wirken und deshalb körpereigenes Gewebe schädigen.

2.2. Calciumhydroxid als bakterizider Werkstoff

Ein von Braun [20] in der Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnmedizin (FMZ) der Universität Würzburg entwickelter Ansatz für eine bakterizide Oberfläche auf Titan besteht in der Anwendung von Calciumhydroxid. Die bakterizide Wirkung des Calciumhydroxids (gelöschter Kalk) beruht auf der Freisetzung von Hydroxylionen (OH^-), die in der Umgebung einen stark alkalischen pH-Wert zur Folge haben. In der Zahnmedizin wird Calciumhydroxid daher seit geraumer Zeit in Form einer wässrigen Paste als temporäre bakterizide Wurzelkanalfüllung und zur Apexifikation von nicht vollständig ausgebildeten Zähnen verwendet. Die Eigenschaften werden als antibakteriell und biokompatibel beschrieben [30]. Im Rahmen der Apexifikation ist für den Kontakt zwischen Knochengewebe und Calciumhydroxid zudem die Induktion einer Hartgewebekonstruktion nachgewiesen [30]. In diesem Zusammenhang wurde beobachtet, dass Calciumhydroxid nach einiger Zeit seine antibakteriellen Eigenschaften durch den Übergang in chemisch stabilere Calciumverbindungen verliert.

Braun konnte nachweisen, dass Calciumhydroxid *in vitro* in Kontakt mit Gewebsflüssigkeit (Kälberserum) zum gewebefreundlichen Hydroxylapatit reagiert [20]. Sowohl Calciumhydroxid als auch Brushit und Monetit könnten in diesem Zusammenhang entweder als Oberflächenmodifikation mit *in vivo*-Umwandlung zu HA oder auch als direkte HA-Beschichtung nach *in vitro*-Transformation zu HA implantiert werden [7]. Eine dem Knochen ähnliche Struktur der HA-Beschichtung sollte für ein gutes Anwachsen angestrebt werden. Der Transformationsprozess von Calciumhydroxid zu Hydroxylapatit geschieht in einer physiologischen Umgebung. Man erhofft sich davon, dass eine solche knochenähnliche Struktur entsteht.

2.3. Antibakterielle Eigenschaften von Silber

Ein anderer Ansatz zur Aufbringung antibakterieller Oberflächen ist die Verwendung von Silber, Cadmium oder Yttrium, denen eine prophylaktische Wirkung gegen

Kenntnisstand und Problemstellung

bakterielle Entzündungen zugeschrieben wird [16]. Silber stellt einen interessanten Wirkstoff dar, da es eine ausgeprägte und breite antiseptische Wirkung besitzt, gegen die nur wenige Keime eine Resistenz zeigen, die auf plasmidcodierte Efflux-Systeme zurückzuführen sind [26, 29, 31]. In der Literatur werden Wirkdosen gegen Bakterien, Pilze und Viren in Konzentrationen von 10^{-9} bis 10^{-6} mol/l angegeben [26, 29].

Die Ionen des Silbers besitzen die Eigenschaft, in Mikroorganismen Thiol-Enzyme irreversibel zu blockieren [32]. Auch die Atmungskette und der Elektrolyttransport von Mikroorganismen werden durch Silber unterbrochen [26, 29]. Eine andere vorgeschlagene Wirkung besteht in der Bindung des Silbers an bakterielle DNA. Die Folge ist die Unterbindung der bakteriellen Replikation [18]. Silberionen wirken aus den angeführten Gründen in geringen Konzentrationen stark bakterizid und fungizid. Dagegen ist Silber für eukaryote Zellen in der richtigen Dosis nicht toxisch [33].

Aufgrund seiner antimikrobiellen Eigenschaften wird Silber bereits seit langem routinemäßig als Komponente von Medizinprodukten, z.B. bei der Behandlung von Verbrennungen eingesetzt. So sind Salben, Wundverbände oder mit Silber beschichtete Katheter erhältlich [26, 32]. Auch Trinkwasser kann durch den Zusatz kolloidalen Silbers desinfiziert werden (z.B. Micropur[®]).

Konsequenterweise gab es auch bereits Ansätze, Silber durch verschiedene Prozesse als Bestandteil von Oberflächenbeschichtungen (v.a. Hydroxylapatit) auf Titan zu verwenden, um einer bakteriellen Besiedlung und Biofilmbildung vorzubeugen [18, 23]. Es konnte nachgewiesen werden, dass eine Beteiligung von Silber an der Beschichtung in vitro die bakterielle Adhäsion im Vergleich zu reinen HA-Beschichtungen signifikant verringerte [23]. Die Wirkung von Silber in Hydroxylapatitschichten auch gegen den Problemkeim MRSA (Methicillin-resistenter *Staphylococcus aureus*) konnte in vivo gezeigt werden [34].

2.4. Weitere aktuelle Ansätze der Beschichtung

Ein anderer aktueller Ansatz der Weiterentwicklung der Implantatbeschichtungen weg vom traditionellen Verfahren der Anwendung alleiniger Hydroxylapatitoberflächen ist die Beimischung von kleinen Mengen anderer Elemente wie Strontium, Magnesium und Zink, die für gewöhnlich in geringen Mengen auch im natürlichen Knochen vorkommen

[16, 35]. Diese Beimengungen sollen zum einen positiven Einfluss auf die physikalischen Charaktereigenschaften wie Löslichkeit und mechanische Eigenschaften haben [36]. Alternativ könnten sie auch direkt einen positiven Einfluss (z.B. Knochenwachstum) auf das umgebende Gewebe ausüben [37, 38].

2.4.1. Verwendung von Strontium in der Medizin

Strontium ist ein Spurenelement, das vorwiegend in Kalkgestein und Meerwasser vorkommt. Es lagert sich in Knochen und Zähne ein [32] und macht einen Gewichtsanteil von 0,035 % bezogen auf den Gewichtsanteil des Calciums aus [39, 40]. In chemisch gebundener Form ist es ungiftig [32]. Medizinisch wurde es in der Vergangenheit nur in Form radioaktiver Isotope als Tracer für Calciumstoffwechselforgänge genutzt, da seine Eigenschaften im Körper denen des Calciums sehr ähnlich sind [40].

In den Mittelpunkt des medizinischen Interesses geriet Strontium (Strontiumranelat, Protelos[®]) zuletzt als neue, zusätzliche Vorbeuge- und Behandlungsoption in der Osteoporosetherapie [41-45]. Die Leitlinie des Dachverbandes Osteologie (DVO) nennt Strontiumranelat neben Bisphosphonaten hierbei als Möglichkeit der First-Line Therapie [46]. Eine Strontium-Substitution soll den Knochen turnover in Richtung Knochendichtegewinn fördern [47] und dem meist durch Östrogenmangel verursachten osteoporotischen Knochenschwund entgegenwirken [39, 48]. Die Inzidenz vertebraler und nicht-vertebraler osteoporoseassoziiierter Frakturen wurde in Studien reduziert [41, 47, 49, 50]. Osteoporose kann durch die geringere Knochendichte eine verminderte Implantatstabilität nach sich ziehen [51].

Diese Eigenschaften machen Strontium auch für eine lokale Anwendung in Oberflächenbeschichtungen interessant. Tatsächlich gibt es diese Ansätze bereits. Es wurden sowohl lokal Strontium abgebende und prinzipiell Strontium dotierte Hydroxylapatitoberflächen, als auch im Tierversuch vorgenommene Implantationen mit gleichzeitiger systemischer Strontiumgabe beschrieben [16, 35, 52, 53]. Eine verbesserte Implantateinheilung könnte aus einer mit Strontium dotierten Oberfläche folgen. In der Literatur sind noch keine Ansätze zur Dotierung elektrochemischer Beschichtungen mit Calciumhydroxid erwähnt worden.

2.4.2. Physiologische Wirkungen von Magnesium

Neben Strontium steht auch das Magnesium im Interesse der Forschung. Im menschlichen Körper sind etwa 20-25 g Magnesium enthalten. Die Hälfte davon entfällt auf Knochen und Zähne [32]. Die Magnesiumkonzentration in den Hartgeweben Knochen und Dentin beträgt etwa ein Massenprozent [1, 54]. Andere Quellen geben etwa 0,5 % des Mineralgewichtes an [55].

Magnesium wird stets mit einer Einflussnahme auf biologische Mineralisierungsprozesse in Zusammenhang gebracht, insbesondere soll es inhibitorisch auf das während der Biomineralisation ablaufende Apatit-Kristallwachstum bzw. auf die resultierenden Apatit-Kristallitgrößen wirken [54, 56-59]. Es soll ebenfalls auf die Calciumphosphatpräzipitation in biologischen Fluiden eine inhibitorische Wirkung haben [60]. Andererseits führt eine Hypomagnesiämie zur Osteopenie, einer Vorstufe der Osteoporose mit verminderter Knochendichte [61]. Es konnte gezeigt werden, dass Magnesium die alkalische Phosphatase aktivieren kann [54]. Insgesamt ist die Bedeutung des Magnesiums im Knochenstoffwechsel jedoch noch nicht gut verstanden [54, 60]. Ist es in die mineralische Phase integriert, so wird Magnesium eine verminderte Wirkung auf die Löslichkeit des Minerals zugeschrieben [56, 58].

Besonders der Effekt der erniedrigten Löslichkeit ist von Interesse. Für HA-Beschichtungen wurde bereits beschrieben, dass sie bioresorbierbar sind. Es stellt sich jedoch die Frage, ob eine zu schnelle Resorption nicht die Verbindung zwischen Implantat und Knochen schwächen kann [36]. Eine Lösung für dieses Problem wäre möglicherweise eine dotierte Beschichtung mit erniedrigter in-vivo-Löslichkeit bzw. verlangsamter Degradation.

2.4.3. Verwendung von Zink in der Medizin

Es wurde in der Vergangenheit auch versucht, Oberflächen mit dem Element Zink zu dotieren. Zink kommt als essentielles Spurenelement in einer Menge von 2-4 g im menschlichen Körper vor. Im Blut erreicht es Konzentrationen von 6-12 mg/dl, im Plasma von 80-110 µg/dl [32, 37]. Zink ist ein wichtiger Cofaktor für etwa 200 Enzyme im Menschen, darunter das im Zusammenhang mit dieser Arbeit stehende typische Zink-Metalloenzym alkalische Phosphatase als bedeutendes Enzym des Knochenstoffwechsels. Zink hat über die Stimulierung dieses Osteoblastenzyms und

Kenntnisstand und Problemstellung

über eine Steigerung des DNA-Gehaltes in Knochenzellen einen direkten positiven Einfluss auf die Knochenneubildung [37, 62, 63]. Weiterhin wird Zink eine spezifisch inhibitorische Wirkung auf Osteoklasten zugeschrieben [64, 65]. Eine wichtige Rolle spielt Zink auch beim Wundheilungsvorgang. Vitamin A als wichtiger Faktor der Wundheilung kann nur in dessen Gegenwart verwertet werden [32].

Eine Zinkabgabe im Bereich eines eingebrachten Implantates könnte aus diesen Gründen eine verstärkte Knochenapposition und verbesserte postoperative Heilung im periimplantären Gewebe nach sich ziehen [66]. In der Literatur wird folglich ausführlich über verschiedene Ansätze der Modifizierung von Knochenzementen und Keramiken mit Zink zur Nutzung der positiven Effekte berichtet [37, 38, 66, 67].

Die klinische Anwendung von Zinkpräparaten ist routinemäßig in der Dermatologie und Zahnmedizin verbreitet. Zinkoxid wird in der Dermatologie als Basisbestandteil von Pasten und Salben (Zinkpaste, Zinkschüttelmixtur), in der Zahnmedizin als Bestandteil von Wurzelfüllungsmaterialien (z. B. Guttapercha) und Zinkoxid-Zementen eingesetzt [30, 68].

3. Material und Methode

3.1. Vorbereitende Schritte

3.1.1. Geräte und Hilfsmittel

Strahlsand: Korund (Al_2O_3), Korox 50 μm , Fa. BEGO, Bremen

Sandstrahlgerät Basic Quatro, Fa. Renfert GmbH, Hilzingen

Reinstwasseranlage, Fa. USF Pure Lab Plus GmbH, Ramsbach-Baumbach

Extran MA 03 phosphatfrei, Fa. Merck KG AG, Darmstadt

Ultraschallbad, Fa. Bandelin Electronic GmbH & Co KG, Berlin

3.1.2. Vorbereitung der Titanplättchen

a) Reinigung

Die als Elektroden verwendeten runden Titanplättchen wiesen einen Durchmesser von 15,5 mm und eine Dicke von 1 mm auf. Herausgetrennt wurden sie zuvor aus einem entsprechenden Titanblech. Als Vorbehandlung für die elektrochemische Beschichtung wurden sie durch das folgende Verfahren im Becherglas gereinigt:

- 10 min Ultraschallbad in Aceton (Entfernung der Schleiföle)
- 10 min Ultraschallbad in 5 % Extranlösung
- 10 min Ultraschallbad in aqua dest.
- 10 min Ultraschallbad in erneuertem aqua dest.
- Aufbewahrung in gereinigtem Glasgefäß

b) Strahlen mit Korox

Nach dem Reinigen wurden die Proben im Sandstrahlgerät mit Korox 50 für jeweils 10 s bei 3 bar Luftdruck und 2 cm Strahlabstand gleichmäßig gestrahlt. Mit der Sandstrahlung sollte die Oberfläche der Titanplättchen im Sinne einer Oberflächenvergrößerung und Oberflächenaufräuhung zur besseren Schichtabscheidung und Schichthaftung am Titan modifiziert werden. Ein möglicher unerwünschter Nebeneffekt dieser Behandlung ist allerdings darin zu sehen, dass die Sandstrahlung einen Energieeintrag mit sich bringt, der die passivierte Titanoberfläche mit Al_2O_2 kontaminiert.

c) Reinigung

Nach erfolgter Sandstrahlung wurde nochmals nach folgendem Schema gereinigt:

- 10 min Ultraschallbad in 5 % Extranlösung
- 10 min Ultraschallbad in aqua dest.
- 10 min Ultraschallbad in erneuertem aqua dest.
- Aufbewahrung in gereinigtem Glasgefäß

Der Grund für die nochmalige Nachreinigung war die Verunreinigung der Plättchen durch Strahlsand und Abrieb von Sand und Titan. Auch eine mögliche Verunreinigung der Oberfläche durch manuelle Kontamination (Handschuhpuder, Hautfett) wurde durch die nochmalige Reinigung wieder entfernt.

3.2. Herstellen des Elektrolyten

3.2.1. Erläuterung des Elektrolyten

Die Beschichtung in dieser Arbeit erfolgte auf elektrochemischem Wege.

Ein Elektrolyt ist eine Lösung, die beim Anlegen einer Spannung Strom leitet. Der Strom wird hierbei durch den Transport von in der Lösung vorhandenen Ionen als Ladungsträgern gestellt. An den Elektroden im Elektrolyten laufen gleichzeitig chemische Prozesse ab. An der Kathode werden hierbei Ladungsträger reduziert, an der Anode werden Ladungsträger oxidiert. Der unten beschriebene Elektrolyt wurde zur Abscheidung einer Calciumhydroxidschicht auf den vorbereiteten Titanplättchen benutzt.

3.2.2. Elektrolyt und Dotierung

Herstellung der Elektrolytlösung

Als Basiselektrolyt wurde die weiter unten beschriebene, von Braun [20] in der FMZ Würzburg entwickelte Elektrolytlösung verwendet. Ein bis auf die Zitronensäure ähnlicher Elektrolyt wurde auch von Kuo et al. zur Abscheidung von HA auf Titan beschrieben [17]. Bestandteile des Basiselektrolyten zur optimalen Abscheidung von Calciumhydroxid auf Titan sind (nach Braun):

Material und Methode

Calciumnitrat-Tetrahydrat	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$:	0,084 mol/l (19,84g/l)
Diammoniumhydrogenphosphat	$(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$	0,025 mol/l (3,3g/l)
Citronensäure	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$	0,050 mol/l (9,6g/l)

Dem Elektrolyten wurden nacheinander Calciumnitrat, Citronensäure und Diammoniumhydrogenphosphat hinzugegeben. Die Reihenfolge musste streng eingehalten werden, um ein Ausflocken der Lösung zu verhindern.

Die unten aufgelisteten Salze wurden nun als Dotierung in aufsteigender Konzentration von 1 % über 3 % (nur für Zink), 5 % bis zu 10 % der molaren Calciumkonzentration dem Ausgangselektrolyten hinzugefügt. Ammoniumsalze wurden bevorzugt, da sie zum einen gut wasserlöslich sind und zum anderen keine neuen Anionen in den Elektrolyten einbringen. Die in der Lösung vorhandene NH_4^+ -Konzentration wurde dabei nur minimal verändert.

Als Metallsalze verwendet wurden:

Strontiumnitrat	$\text{Sr}(\text{NO}_3)_2$	Merck KgaA, Darmstadt
Magnesiumnitrat-Hexahydrat	$\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	Merck KgaA, Darmstadt
Zinknitrat-Hexahydrat	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$	Sigmar-Aldrich-Chemie GmbH, Buchs
Dinatriumhydrogenphosphat	Na_2HPO_4	Merck KgaA, Darmstadt
Kaliumdihydrogenphosphat	KH_2PO_4	Merck KgaA, Darmstadt
Silbernitrat	AgNO_3	Merck KgaA, Darmstadt
Mangan(II)-sulfat-Monohydrat	$\text{MnSO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$	Merck KgaA, Darmstadt
Kupfer(II)sulfat-5-hydrat	$\text{Cu}(\text{SO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O})$	Merck KgaA, Darmstadt

Aufsteigende molare Konzentrationen (100 % = 0,084 mol/l = Calciumanteil):

1 %	0,00084 mol/l
3 %	0,00252 mol/l
5 %	0,00420 mol/l
10 %	0,00840 mol/l

3.3. Elektrochemische Abscheidung

3.3.1. Prinzip der galvanostatischen Beschichtung

Zur Beschichtung der Titanplättchen mit dotierten Calciumhydroxiden wurde das von Braun 2005 in der FMZ Würzburg entwickelte, galvanostatische Abscheidungsverfahren gewählt [20]. Dieses ermöglicht eine einfache Prozessführung und ist vergleichsweise günstig [7]. Die Abscheidung erfolgt bei konstanter Stromstärke aus dem Elektrolyten.

Bei der in der vorliegenden Arbeit verwendeten Beschichtung handelt es sich um eine galvanostatische, kathodische Beschichtung. Der vorliegende Elektrolyt stellt ein metastabiles System dar. Mit dem Zusatz der Zitronensäure wird ein Ausfällen von Calciumphosphatverbindungen durch den niedrigen pH-Wert inhibiert. Der pH sinkt dabei nach Zugabe der Zitronensäure von 4,1 auf 2,3. Das Ausfällen von Ca(OH)_2 wird durch einen lokal an der reduzierenden Elektrode erhöhten, basischen pH im Rahmen folgender Reaktion eingeleitet:



Die Abscheidungsreaktion kann in diesem Zusammenhang jedoch nicht alleine durch die pH-Änderung an der Elektrode erklärt werden. Eine weitere Rolle spielt der bekannte Effekt des Citrates, das Calciumphosphatausfällungen inhibiert [69]. Durch beide Effekte (pH-Wert Erhöhung und Citratanioneneinfluss) wird an der Kathode Calciumhydroxid abgeschieden.

In der vorliegenden Arbeit wurde nun der Elektrolyt durch verschiedene Metallsalze modifiziert. Sekundär kann daraus eine Dotierung der auf Titan abgeschiedenen Beschichtung erfolgen, die nachfolgend charakterisiert und quantifiziert wird.

3.3.2. Geräte und Hilfsmittel

High Power Potentiostat HP96, Fa. Bank Electronic GmbH, Claustal-Zellerfeld

Messwiderstand, Fa. EKF, Hamm

Thermostat Typ A100, Fa. Dr. R. Wobser GmbH & Co KG, Lauda

Temperaturgeregelter, doppelwandiger elektrochemischer Zelle, Fa. Schott AG, Mainz

Titanplättchen ($d = 15,5 \text{ mm}$, $h = 1 \text{ mm}$), Herstellung in der technischen Werkstatt der ZMK-Klinik Würzburg

4-fach-Probenhalter für Titanplättchen als Arbeitselektrode

Zylindrisches Platinnetz als Gegenelektrode

3.3.3. Verwendung des Potentiostaten

Zur Beschichtung wurde als Spannungsquelle ein Potentiostat benutzt. Mit dem Potentiostaten ist es möglich, sowohl konstante Spannungen einzustellen, als auch konstante Stromstärken bei sich veränderndem Widerstand der elektrochemischen Zelle abzugeben. Außerdem sind so genannte Spannungsrampen fahrbar, bei denen die angelegte Spannung gleichmäßig über eine einstellbare Zeit hoch- oder heruntergefahren werden kann.

Mit dem Potentiostaten wurden in einer ersten Messreihe die für die optimale galvanostatische Beschichtung erforderliche Stromstärke durch das Durchlaufen einer Spannungsrampe für jeden Elektrolyten bestimmt. Ein in der Strom-Spannungskurve des Elektrolyten erkennbares Stromplateau wurde als Indikator für eine optimale Stromdichte bzw. absolute Stromstärke für die Schichtabscheidung herangezogen. Die Beschichtung der Titanplättchen erfolgte danach mit der bestimmten optimalen Stromstärke. Der Potentiostat diente in diesem Fall als Gleichstromquelle konstant bleibender Stromstärke. Die für die Konstanthaltung der Stromstärke im Stromkreis notwendige Spannung stieg während des Beschichtungsprozesses laufend an, da gleichzeitig mit dem Auftragen der Beschichtung auf die Titan-Elektrode der Oberflächenwiderstand durch die isolierende Ca(OH)_2 -Apposition zunahm. In einem Plateaubereich erhöhte sich offensichtlich der Oberflächenwiderstand der Elektrode bei gleichbleibendem Stromfluss (vgl. Kapitel 4.1). Es wird postuliert, [70] dass dies durch das Auftragen der Beschichtung geschieht, welche an der Oberfläche als Isolator wirkt.

3.3.4. Galvanostatische Beschichtung

Calciumhydroxid wurde kathodisch an jeweils gleichzeitig vier gestrahlten Titanplättchen abgeschieden, was die Bereitstellung einer großen Menge von Proben erst möglich machte. Die Abscheidung erfolgt hierbei im basischen Milieu an der Kathode. Als Anode diente im Versuch ein zylinderförmiges Platinnetz ($d = 8 \text{ cm}$, $h = 6 \text{ cm}$). Die Ca(OH)_2 -Beschichtungen wurden im Anschluss an den

Beschichtungsprozess sofort mit destilliertem Wasser gespült, um ein Wiederauflösen der Schicht im sauren Milieu zu verhindern.

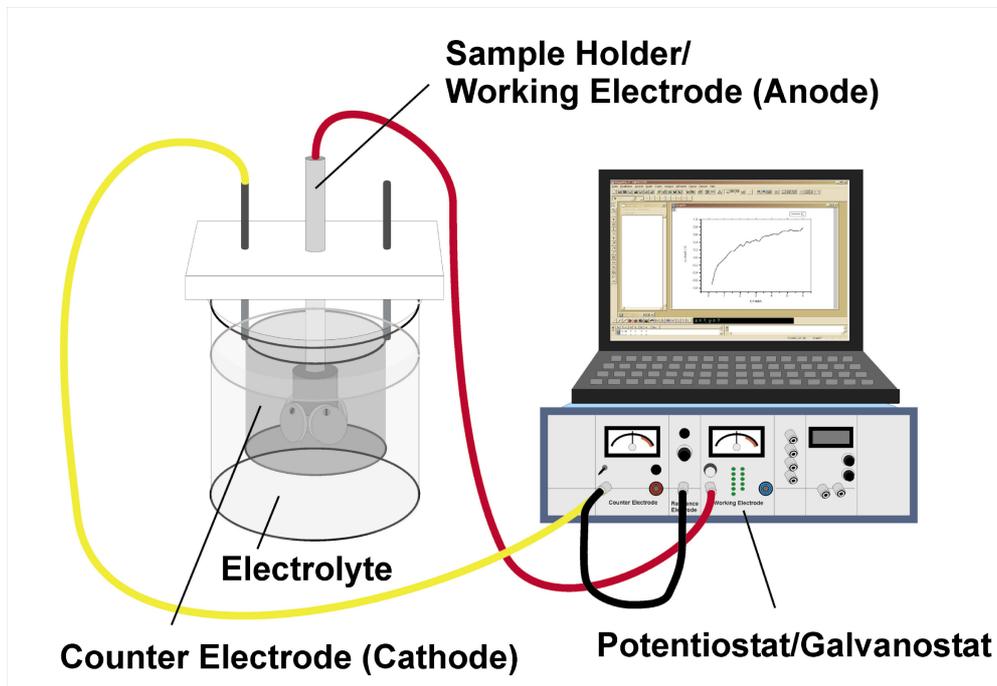


Abbildung 1: Aufbau der Beschichtungsvorrichtung mit Potentiostat und elektrochemischer Zelle.

Die Temperatur während des Abscheidungsprozesses wurde mit einem Thermostaten des Typs A100 in einer temperaturgeregelten, doppelwandigen elektrochemischen Zelle konstant bei 50 °C gehalten. Der pH wurde durch die dem Elektrolyten hinzugefügte Zitronensäure auf niedrigem Niveau (pH 2,3) gehalten. Eine Dauer der elektrolytischen Abscheidung von 15 Minuten wurde für alle Beschichtungen gewählt.

3.3.5. Bestimmung der abgeschiedenen Massen

Die Masse der abgeschiedenen Beschichtung wurde im getrockneten Zustand durch die Massendifferenz der jeweiligen Titanelektroden vor und nach Beschichtung erfasst.

3.4. Einlagerung in simulierte Körperflüssigkeit

Die Insertion eines Implantates in den menschlichen Körper verursacht eine molekulare Reaktion zwischen der Oberfläche des Implantats und der umgebenden Körperflüssigkeit. Lösungs-, Repräzipitations-, Desorptions- und Adsorptionsprozesse

können an der Implantatoberfläche stattfinden. Umwandlungen in thermodynamisch stabilere Verbindungen sind möglich. Notwendig ist daher für Beschichtungen die Beobachtung dieser Reaktionen in in-vitro-Studien.

Simulated Body Fluid (SBF nach Kokubo [72]) ist ein in der Literatur häufig benutztes anorganisches Medium, mit welchem Extrazellulärflüssigkeit für in-vitro-Studien simuliert wird. Es entspricht in der anorganischen Zusammensetzung näherungsweise menschlichem Blutplasma (vgl. Tabelle 1) [73].

Tabelle 1: Ionenkonzentrationen in SBF und humanem Blutplasma [7171]		
Ion	Konzentration [mmol/ dm³]	
	Simulated Body Fluid (SBF)	Humanes Blutplasma
Na⁺	142.0	142.0
K⁺	5.0	5.0
Mg²⁺	1.5	1.5
Ca²⁺	2.5	2.5
Cl⁻	147.8	103.0
HCO₃⁻	4.2	27.0
HPO₄²⁻	1.0	1.0
SO₄²⁻	0.5	0.5

Nach Vorversuchen wurde auf die von Braun verwendete Einlagerung auch in DMEM/Zellkulturmedium (Dulbecco’s Modified Eagle Medium) verzichtet, da auch nach 14-tägigem Verlauf keine qualitativen Unterschiede im Verhalten der Beschichtung im Vergleich mit SBF im Röntgendiffraktometer beobachtet werden konnten.

3.4.1. Herstellung des SBF

Das SBF-Einlagerungsmedium wurde anhand der Anleitung von Kokubo et al. hergestellt. Dabei wurden in 750 ml aqua dest. bei 37 °C die in Tabelle 2 verzeichneten Lösungsbestandteile jeweils nacheinander bis zur restlosen Auflösung hinzugegeben. Nach erfolgter Lösungsherstellung wurde der pH-Wert mit wenig HCl (1 mol/l) von pH 7,35 auf pH 7,25 titriert.

Tabelle 2: Chemikalien zur Herstellung von SBF (pH 7.25, 1 L).		
Reihenfolge	Chemikalie	Menge [g/l]
1.	NaCl	7.996
2.	NaHCO ₃	0.350
3.	KCl	0.224
4.	K ₂ HPO ₄ x 3H ₂ O	0.228
5.	MgCl ₂ x 6H ₂ O	0.305
6.	1 mol/l HCl	40 cm ³
7.	CaCl ₂	0.278
8.	Na ₂ SO ₄	0.071
9.	(CH ₂ OH) ₃ CNH ₂	6.057
10.	1 mol/l HCl	Menge für genaue pH-Einstellung

3.5. Charakterisierung

Das Verhalten der aufgetragenen, dotierten Ca(OH)₂-Schichten wurde mittels Röntgendiffraktometrie und Massenspektrometrie (ICP-MS) analysiert. Die Oberflächenbeschaffenheit wurde mit dem Rasterelektronenmikroskop betrachtet.

3.5.1. Röntgendiffraktometrie (XRD)

Die chemische Zusammensetzung der aufgetragenen Schichten wurde durch die Röntgendiffraktometrie im XRD (X-Ray-Diffraction) bestimmt. Die chemische Analyse erfolgt hierbei über die Beugung von monochromatischen Röntgenstrahlen am bestrahlten Material. Die Beugung der Röntgenstrahlen erfolgt an den im untersuchten Stoff vorhandenen regelmäßig angeordneten Netzebenen, deren Abstand in Festkörpern kleiner als 1 nm und materialspezifisch ist [74]. Es ergeben sich für Reflexionen an verschiedenen Netzebenen unterschiedlich lange Laufwege (materialspezifisch). Dies führt zu einer relativen Phasenverschiebung der Röntgenstrahlen gegeneinander. Unter bestimmten Einstrahlungswinkeln treten folglich konstruktive Interferenzen (Maxima)

der reflektierten Strahlung am Detektor auf, die detektiert und als materialspezifische, winkelabhängige Peaks im Diagramm aufgetragen werden können [74]. Rückschlüsse auf die chemische Beschaffenheit des bestrahlten (kristallinen) Materials sind daher über den Netzebenenabstand, bzw. primär über die Verteilung der Glanzwinkel möglich [74].

Das verwendete Röntgendiffraktometer (Siemens 5005, Fa. Siemens, Karlsruhe) war ausgestattet mit einer Cu-Anode, einem Ni-Filter zum Herausfiltern der unerwünschten $K\alpha$ -Strahlung und einem Szintillationszähler. Gemessen wurden in der vorliegenden Arbeit charakteristische Beugungsreflexe für die aufgetragenen Beschichtungen zwischen 10 und 70 Grad (2Θ) bei einer Schrittgeschwindigkeit von 1,2 Grad/min und einer Schrittweite von 0,02 Grad. Die Kathodenspannung der Röntgenröhre betrug 40 kV bei einem Strom von 50 mA.

3.5.2. Massenspektrometrie (ICP-MS)

Das ICP-MS (**I**nductively **C**oupled **P**lasma – **M**ass **S**pectrometry) ist ein quantitatives Messverfahren für die Elementanalyse. Eine in Lösung gegangene Probe wird über eine Pumpe angesaugt, zerstäubt und in einem Argonplasma ionisiert.

Ein Ionenstrahl aus dem Plasma wird beschleunigt und fokussiert, in einem Quadrupol nach Masse-Ladungs-Verhältnissen separiert und auf einen Detektor gerichtet. Dieser misst die Anzahl der Ionen pro Masse-Ladungsverhältnis. Aus der Zählrate ist der spezifische Rückschluss auf die Konzentrationen der gemessenen Ionen in der Lösung möglich.

Analysiert wurden mit dem ICP jeweils drei Proben der aufgetragenen, dotierten Beschichtungen. Dazu wurden die Schichten in 1ml Suprapur (hochreine Salpetersäure) aufgelöst und mit Reinstwasser verdünnt. Die aufgelösten Beschichtungen konnten in Folge im ICP-MS auf ihr elementares Verhältnis von Calcium zu Fremdmetallionen analysiert werden.

3.5.3. Rasterelektronenmikroskop

Die galvanostatisch aufgetragene Oberflächenbeschichtung wurde mit dem Rasterelektronen-Mikroskop DSM 949 (Carl Zeiss AG, Oberkochen) auf ihre Oberflächenstruktur und Morphologie hin untersucht. Dies geschah für jede Dotierung jeweils vor und nach 7 Tagen Einlagerung in SBF.

Um eine leitfähige Oberfläche zu erhalten, wurden die Proben zuvor unter Zuhilfenahme eines Sputter Coater K550 (Fa. Emitech) mit Gold bedampft. Die Beschleunigungsspannung betrug 10 kV. Die Vergrößerung variierte je nach Oberflächenbeschaffenheit.

3.5.4. Einlagerung der Plättchen in SBF

Ein Hauptziel der vorliegenden Arbeit bestand darin, die durch die Dotierung der Ausgangslösung veränderte Zusammensetzung der Calciumhydroxidschicht hinsichtlich ihres Auslaugungsverhaltens, bzw. in ihrer Ionenabgabe in Simulated Body Fluid zu charakterisieren. Dies sollte die physiologischen Verhältnisse in der periimplantären Region nach einer Implantation simulieren. Dies wurde als Versuchsreihe sowohl mit, als auch ohne täglichen SBF-Austausch durchgeführt. Der tägliche Austausch des Mediums sollte die sich ebenfalls austauschende Extrazellulärflüssigkeit in der Nähe des in den Körper eingebrachten Titanimplantates simulieren. Wurde die Flüssigkeit nicht ausgetauscht, so war es möglich, das sich einstellende Lösungsgleichgewicht der Dotierung zwischen Schicht und Lösungsmedium zu bestimmen. Folglich wurden die Konzentrationen der Fremdionen im SBF nach der Einlagerung qualitativ und quantitativ durch ICP-Messungen bestimmt. Es wurde auf die Einlagerung der Dotierungen mit Magnesium, Kalium und Natrium verzichtet. Grund dafür war die Tatsache, dass diese Ionen auch in SBF vorhanden sind (vgl. S. 18, Tabelle 1). Eine Auswertung mit der Massenspektrometrie wäre in diesem Falle durch die gegenseitige Überlagerung der im Simulated Body Fluid vorhandenen Ionen und der abgegebenen Ionen aus der Schicht nicht möglich gewesen.

Material und Methode

Die beschichteten Plättchen wurden in jeweils 10 ml SBF bei 37 ° C eingelagert. Als Einlagerungszeiten wurden einer, drei und sieben Tage gewählt. Nach diesen Zeiten wurden die Plättchen entnommen, mit Reinstwasser gespült und getrocknet. Jeweils 3 Proben des SBF wurden für jede Dotierung und jeden Tag herangezogen. Für ein- und fünfprozentige Dotierungen wurde auf die Einlagerung verzichtet.

4. Ergebnisse

4.1. Bestimmung der Strom-Spannungs-Kennlinie

Die für eine gute Abscheidung optimale Stromstärke, bzw. Stromdichte wurden aus einer zuvor aufgenommenen Strom-Spannungs-Kennlinie des entsprechenden Elektrolyten bestimmt, sofern diese eine Aussage zuließ. In der Strom-Spannungs-Kurve wurde jeweils ein sich abzeichnendes Stromplateau bei steigender Spannung als optimaler Abscheidungsbereich angenommen. Da die Stromstärke hier bei steigender Spannung unverändert blieb, erhöhte sich in diesem Bereich offensichtlich der Oberflächenwiderstand der Elektrode. Deshalb wird postuliert [70], dass dies durch das Auftragen der Beschichtung geschah, welche an der Oberfläche als Isolator wirkte. Es war jedoch nicht mit jeder Dotierung ein erkennbares Stromplateau erzielbar. In diesem Falle wurde dieselbe Spannung wie beim Basiselektrolyten verwendet.

Abbildung 2 und Abbildung 3 zeigen jeweils eine Strom-Spannungs-Kennlinie mit, bzw. ohne erkennbares Stromplateau. In Tabelle 3 werden die für den Beschichtungsvorgang verwendeten Stromstärken dargestellt.

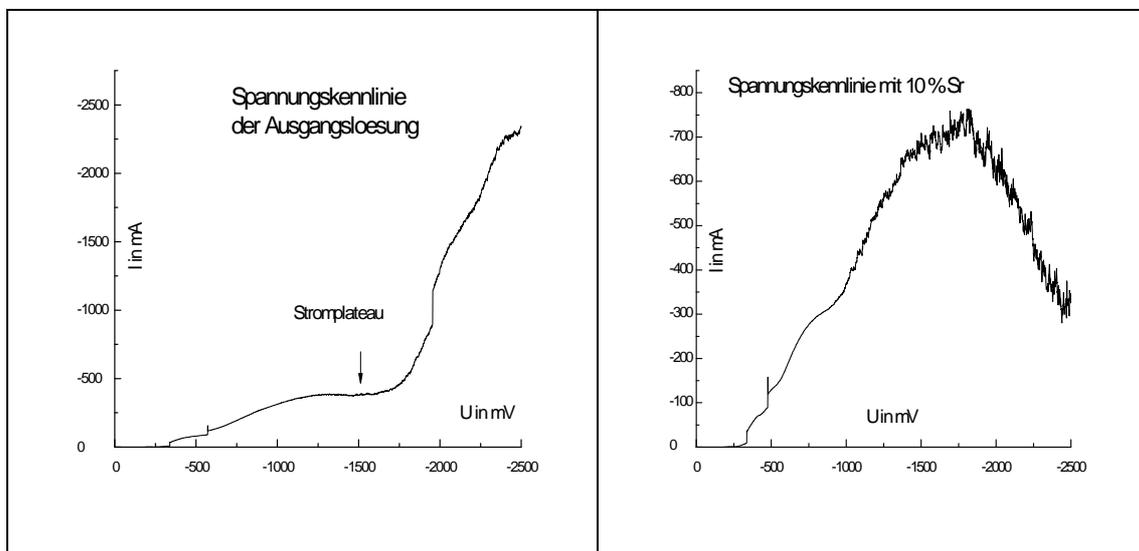


Abbildung 2 (li.): Strom-Spannungs-Kennlinie des undotierten Ausgangs-elektrolyten mit Stromplateau.

Abbildung 3 (re.): Strom-Spannungs-Kennlinie mit 10 % Sr-Dotierung ohne Plateau.

Elektrolyt	I in mA/cm ²	Elektrolyt	I in mA/cm ²
Standard	82,15	Mg 10 %	100,7
Sr 1 %	82,15	Ag 1 %	82,15
Sr 5 %	82,15	Zn 3 %	79,5
Sr 10 %	82,15	K 5 %	84,8
Mg 1 %	86,12	Na 5 %	90,1
Mg 5 %	86,12	--	--

Tabelle 3: Für verschiedene Elektrolytdotierungen bestimmte Stromstärken.

4.1.1. Einflüsse der Dotierungen auf die Massenabscheidung

Die Beschichtung wurde wie im Kapitel Material und Methoden dargestellt durchgeführt. Für alle Dotierungen mit Strontium, Silber, Zink und Magnesium ergaben sich jeweils Abscheidungen auf den Titanplättchen. Für Silber ergaben sich jedoch nur für die einprozentige, für Zink nur für die dreiprozentige Dotierung brauchbare Beschichtungen. Versuche mit Mangan- und Kupfersalzen scheiterten daran, dass es entweder zu überhaupt keiner Abscheidung kam (Mangan), oder diese nicht in gleicher Weise zu reproduzieren waren (Kupfer).

Die beiden Versuchsreihen mit Kalium- und Natriumdotierungen wurden aufgegeben, da auch im Auslagerungsmedium SBF, bzw. in extrazellulärer Flüssigkeit große Na⁺- und K⁺-Konzentrationen vorhanden sind und damit die dotierungsbedingte Ionenauslagerung in Messungen überlagert würde.

Durch die Dotierung des herkömmlichen Elektrolyten ergaben sich beim Abscheiden der Schicht auf den Titan-Probekörpern deutliche Unterschiede, was die aufgetragenen Massen der Beschichtungen anging (siehe Abbildung 4). Während die Basis-Abscheidung ohne Dotierung eine mittlere Massenabscheidung von 4,35 mg pro cm² vorwies, war diese bei der Dotierung mit 1 % Silber schon um das Doppelte auf 8,89 mg/cm² gesteigert. Die Dotierung mit 3 % Zink wies einen mittleren Massenzuwachs um 19,25 mg/cm² auf. Natrium - und Kaliumdotierungen (8,5 mg/cm² und 6 mg/cm²) erzeugten deutlich dickere Beschichtungen als die Beschichtung mit dem Basiselektrolyten (4,35 mg/cm²).

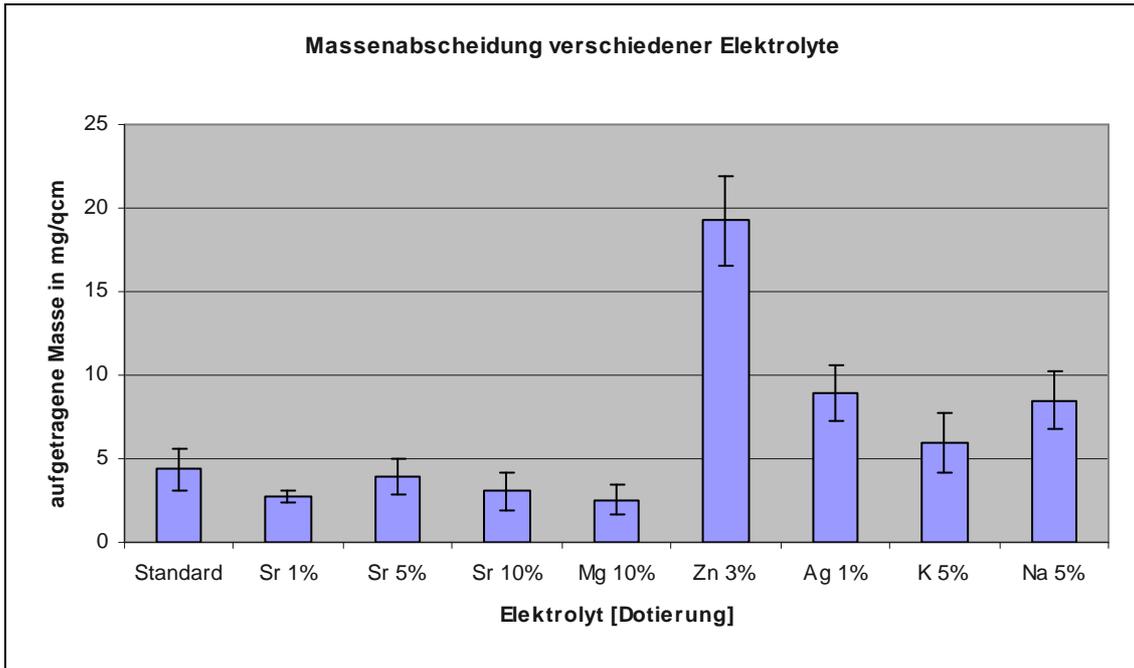


Abbildung 4: Massenabscheidung aus verschiedenen Elektrolyten pro cm^2 .

Mit den in den Versuchsreihen ebenfalls genutzten Dotierungen von 10 % Strontium und 10 % Magnesium ergaben sich im Verhältnis zur Standardabscheidung geringere Schichtmassen ($3,95$ und $2,35 \text{ mg/cm}^2$).

Keine großen Abweichungen der Massenabscheidung ließen sich hingegen für die aufsteigenden Konzentrationen von Strontium nachweisen (siehe Abbildung 4).

4.1.2. Massenverluste während der Einlagerung in SBF

Während der Einlagerung der beschichteten Proben kam es im Kontakt mit Simulated Body Fluid (SBF) zu Lösungs- und Umbauvorgängen an den Plättchenbeschichtungen. Schon Braun konnte nachweisen, dass die von ihm verwendete Beschichtung mit Calciumhydroxid sich sowohl im Zellkulturmedium DMEM, als auch in SBF nach wenigen Tagen zu Hydroxylapatit umwandelte [20]. Bisher nicht quantifiziert und beobachtet wurden die Massendifferenzen, welche die Beschichtungen bei Einlagerung in SBF zeigen.

Die in Abbildung 5 gezeigten Proben wurden für diesen Versuch nach dem ersten, dritten und siebten Tag aus dem Medium entfernt. Ein Medienwechsel fand während dieser Zeit nicht statt.

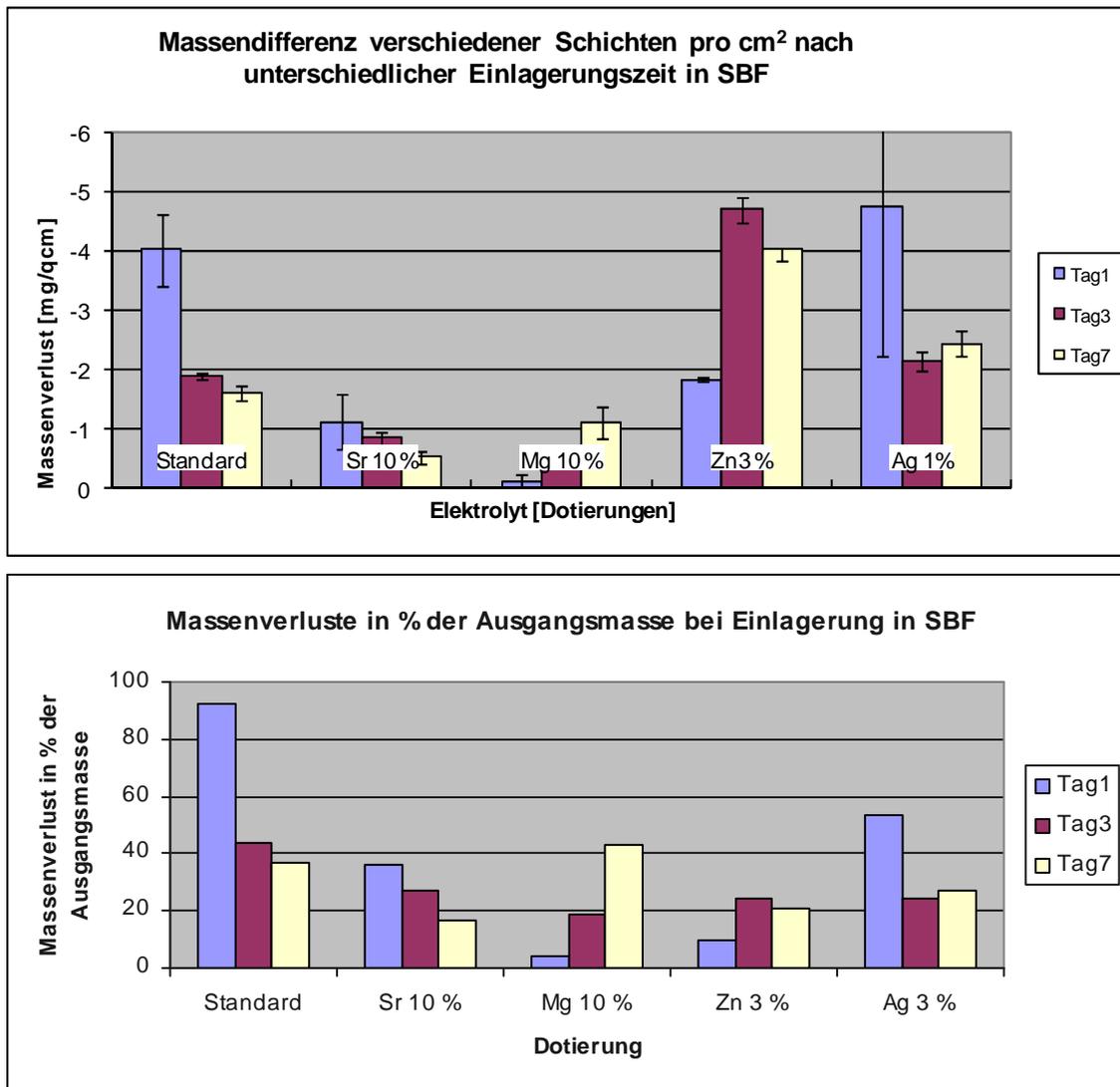


Abbildung 5: absolute (oberes Diagramm) und prozentuale (unteres Diagramm) Massendifferenz verschiedener Schichten nach unterschiedlichen Einlagerungszeiten in SBF.

In der hier durchgeführten Beobachtung zeigte sich, dass der Massenverlust der Beschichtung ohne Dotierung [Ca(OH)₂], der Dotierung mit 10 % Strontium und 1 % Silber am ersten Tag am größten war. Für die Dotierung mit 10 % Magnesium erreichte er am siebten Tag und für die Dotierung mit 3 % Zink am dritten Tag ein Maximum.

In Abbildung 6 sind die mittleren Massendifferenzen nach Einlagerung in SBF *mit* und *ohne* täglichen Medienwechsel dargestellt. Im Gegensatz zu den in Abbildung 2 dargestellten Verlusten kommt es beim täglichen Medienwechsel zu einer Massenzunahme für die Beschichtung mit 1 % Silber- und 10 % Strontiumdotierung. Für die Dotierung mit 3 % Zink kommt es hingegen zu einem Massenverlust.

Ergebnisse

Andere Dotierungen konnten nicht gemessen werden, da diese Messreihe mit den Messreihen in Kapitel 4.4 verknüpft war. Für andere Dotierungen als die in Abbildung 6 aufgeführten waren die vorgenommenen Messungen nicht sinnvoll, da es zu Überlagerungen von Dotierung und SBF-Bestandteilen (Mg, K, Na) gekommen wäre.

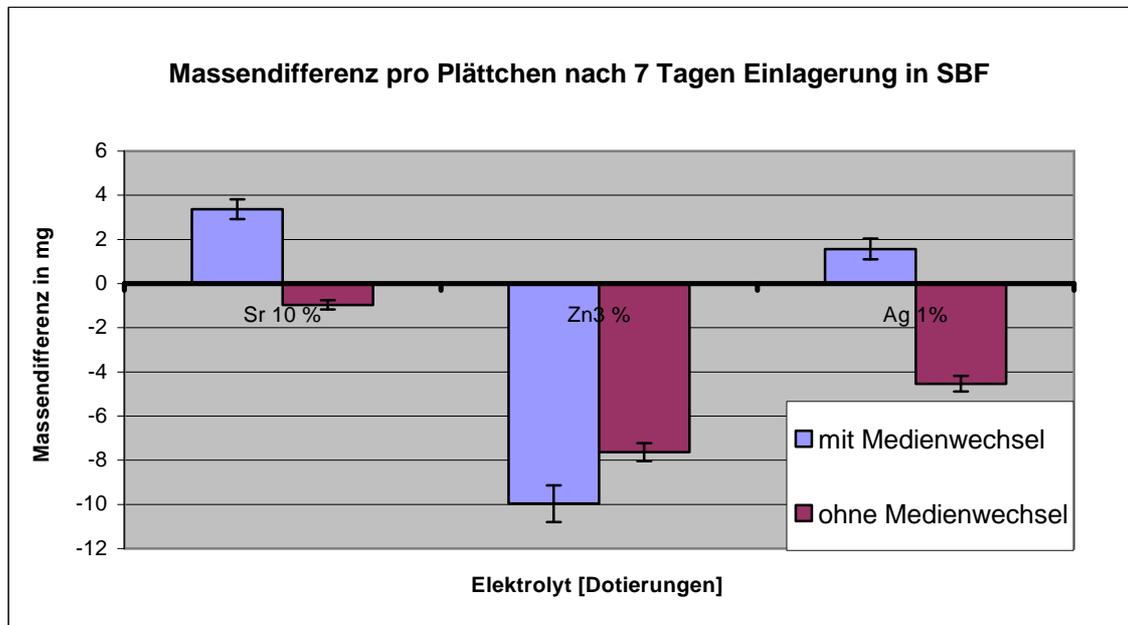


Abbildung 6: Mittlere Massendifferenzen der Beschichtungen nach Einlagerung in SBF mit und ohne täglichen Medienwechsel.

4.2. Chemische Charakterisierung der aufgetragten Schichten

Die chemische Charakterisierung der elektrochemisch aufgetragten Schichten erfolgte durch die Röntgendiffraktomie (siehe Kapitel 3.5).

4.2.1. Umwandlungsdynamik von $\text{Ca}(\text{OH})_2$ zu HA in SBF

Durch die Einlagerung der dotierten Schichten in SBF sollte es in vitro zu einer Umwandlung des Calciumhydroxides in HA kommen. Braun konnte in der vorausgegangenen Arbeit zeigen, dass die Umwandlung dafür in DMEM drei Tage brauchte. Da in dieser Arbeit SBF als Medium benutzt wurde und Braun zeigen konnte, dass sich in vitro keine weiteren Umwandlungen mehr nach längerer Zeit zeigten, wurde der Endpunkte der Einlagerung in dieser Arbeit bei sieben Tagen festgelegt. Damit sollte sichergestellt werden, dass die Umwandlung sicher abgeschlossen war. Als Referenz zu den dotierten Proben wurden Proben der Ausgangsbeschichtung ohne

Dotierung herangezogen. Für die Charakterisierung im Röntgendiffraktometer wurde jeweils eine Probe vor und nach der Einlagerung verwendet.

4.2.2. Charakterisierung der Standardbeschichtung ohne Dotierung

Abbildung 7 zeigt als Vergleichsreferenz für die nachfolgenden Dotierungen die Röntgendiffraktogramme der Beschichtung nach Braun vor und nach Einlagerung in SBF. Es war festzustellen, dass vor der Einlagerung die für Calciumhydroxid typischen Glanzwinkel und die des unter der Beschichtung liegenden Titans vorhanden waren.

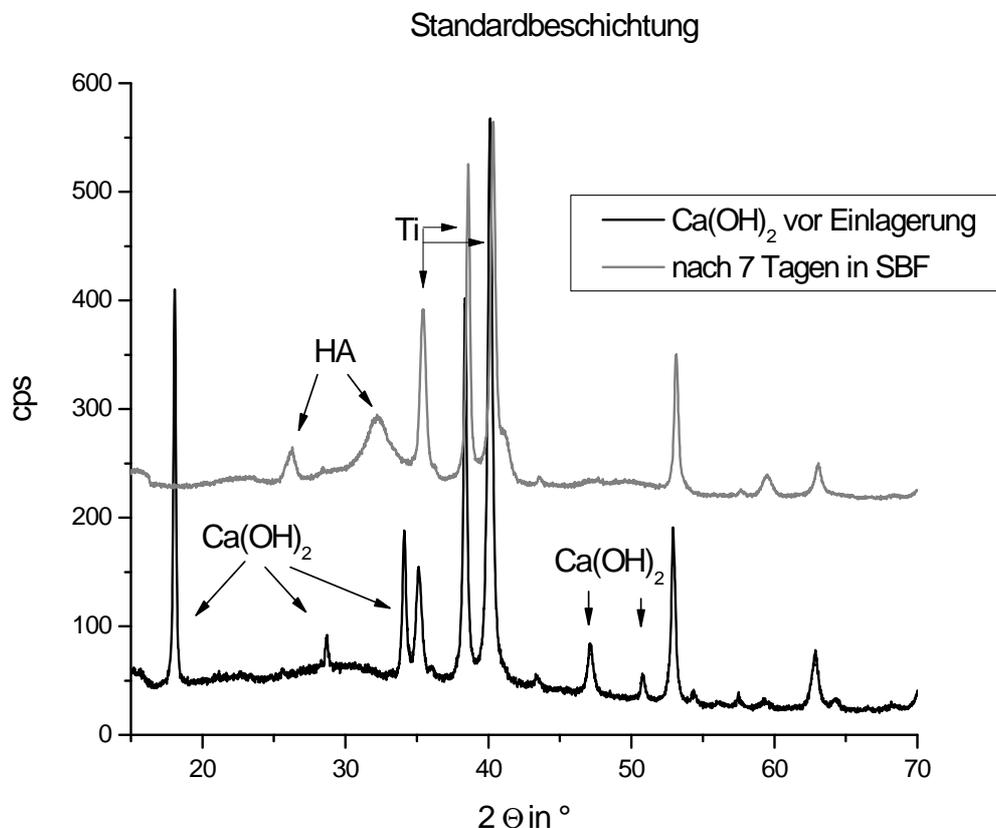


Abbildung 7: Röntgendiffraktogramm der elektrochemischen Calciumhydroxid-Beschichtung ohne Dotierung im Ausgangszustand und nach 7 Tagen in SBF.

Die graue Kurve zeigt dieselbe Beschichtung nach sieben Tagen Einlagerung in Simulated Body Fluid. Es bildeten sich die für Hydroxylapatit typischen Maxima aus. Dies stellte eine schnellere Umwandlung dar, als sie für andere Umwandlungen in der Literatur beschrieben wurde [6, 11].

4.2.3. Charakterisierung der Beschichtung nach Silberdotierung des Elektrolyten

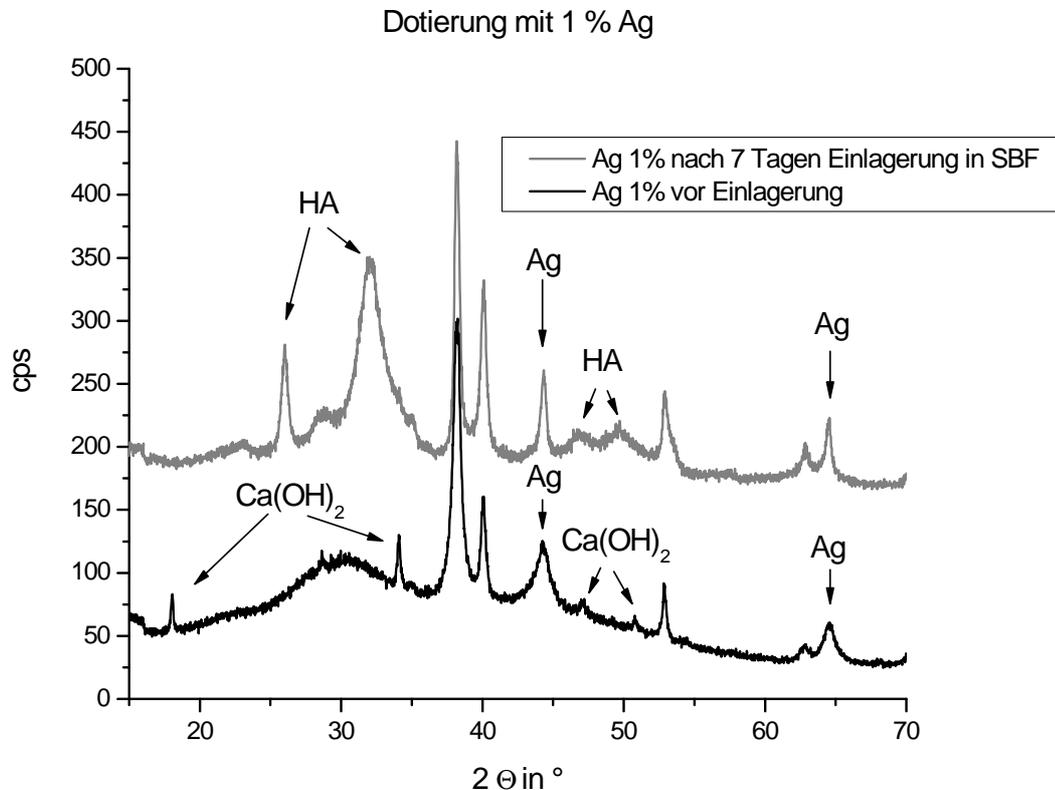


Abbildung 8: Röntgendiffraktogramm der Beschichtung nach Dotierung des Ausgangselektrolyten mit 1 % Ag im Ausgangszustand und nach 7 Tagen in SBF.

Die Dotierung mit Silber führte zu zwei Ergebnissen. Sehr deutlich zu sehen war wieder die Umwandlung von Calciumhydroxid (schwarze Kurve) zu Hydroxylapatit (graue Kurve) nach sieben Tagen Einlagerung in SBF. Auffällig war eine niedrige Intensität der Ca(OH)_2 -Peaks vor Einlagerung trotz makroskopisch erheblich dicker aufgetragener Beschichtungen als der des Basiselektrolyten (S. 24, Abbildung 4). Gleichzeitig traten nach sieben Tagen in SBF aber im Vergleich zu den vorigen Beschichtungen erheblich größere Intensitäten für HA auf. Zusätzlich waren auch Maxima für die Glanzwinkel elementaren Silbers nachweisbar. Eine Abscheidung von elementarem Silber in die Basisbeschichtung hinein war hier folglich direkt nachzuweisen. Die Peaks für Silber nahmen nach der Einlagerung an Intensität zu.

4.2.4. Charakterisierung der Beschichtung nach Strontiumdotierung des Elektrolyten

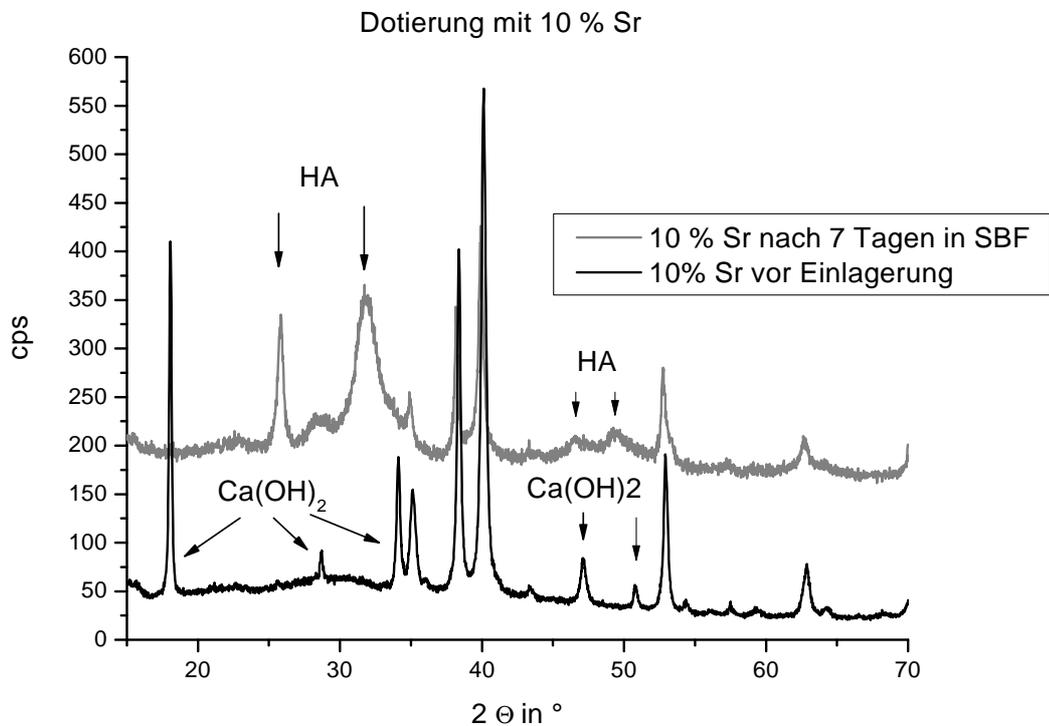


Abbildung 9: Röntgendiffraktogramm der elektrochemischen Beschichtung mit 10 % Strontiumdotierung des Ausgangselektrolyten im Ausgangszustand und nach 7 Tagen Einlagerung in SBF.

Die Röntgendiffraktogramme in Abbildung 9 nach Strontiumdotierung zeigten ein ähnliches Bild wie das der Beschichtung ohne Dotierung. Der Ausgangszustand wies die typischen Glanzwinkel für Calciumhydroxid auf. Die Kurve nach sieben Tagen Einlagerung zeigte die Peaks für Hydroxylapatit. Die Umwandlung in SBF ist somit abgeschlossen.

Da Strontium ähnliche Eigenschaften wie Calcium aufweist, könnte dies bei dessen Einbau ins Kristallgitter zu Peakverschiebungen führen. Eine Veränderung der Glanzwinkel durch die Beteiligung von Strontium an der Schicht war im Diffraktogramm jedoch nicht nachzuweisen. Die Erhöhung der Intensität der HA-Peaks im Vergleich zur Standardbeschichtung war zu beobachten.

4.2.5. Charakterisierung der Beschichtung nach Magnesiumdotierung des Elektrolyten

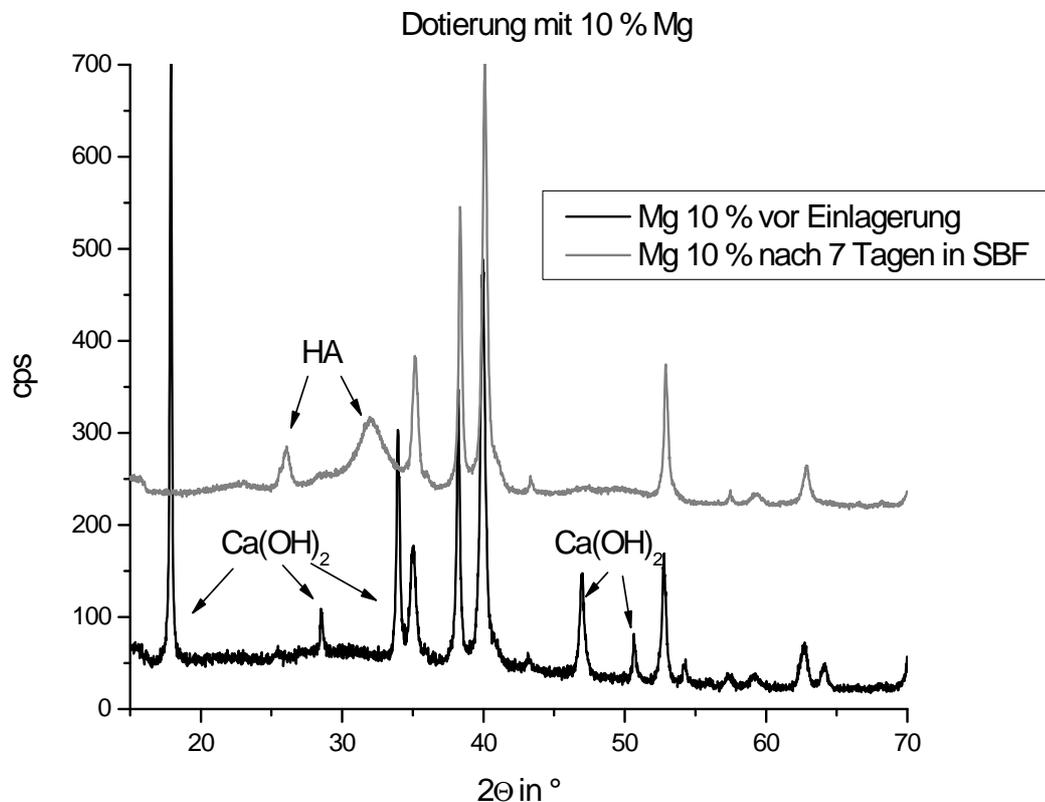


Abbildung 10: Röntgendiffraktogramm der Beschichtung nach Dotierung des Ausgangselektrolyten mit 10 % Magnesium im Ausgangszustand und nach 7 Tagen Einlagerung in SBF.

Die schwarze Kurve stellt ebenfalls die Glanzwinkel des Calciumhydroxids, die graue Kurve die des Hydroxylapatites dar. Die Kurven zeigten damit auch mit dieser Dotierung die typische Umwandlung von Calciumhydroxid zu Hydroxylapatit nach sieben Tagen Einlagerung in SBF. Eine zusätzliche Veränderung durch die Beteiligung von Magnesium war im Diffraktogramm nicht nachweisbar. Die Intensität der HA-Peaks entsprach in etwa jener der Basisbeschichtung ohne Dotierung.

4.2.6. Charakterisierung der Beschichtung nach Zinkdotierung des Elektrolyten

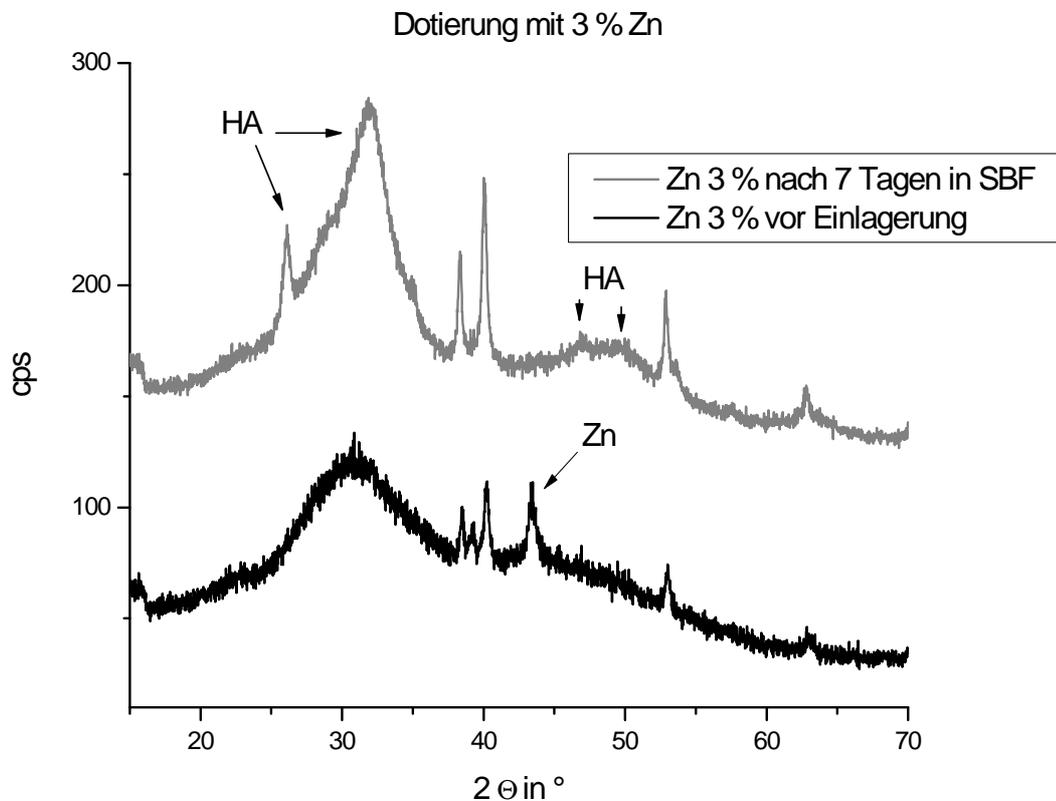


Abbildung 11: Röntgendiffraktogramm der Beschichtung nach Dotierung des Ausgangselektrolyten mit 3 % Zn im Ausgangszustand und nach 7 Tagen Einlagerung in SBF.

Die Beschichtung mit der Zinkdotierung erzeugte ein deutliches Rauschen im Diffraktogramm. Die schwarze Kurve des Ausgangszustandes ließ im Gegensatz zu allen vorausgegangenen Dotierungen den Nachweis der typischen Glanzwinkel für Calciumhydroxid nicht zu. Es zeigte sich im Ausgangsdiffraktogramm jedoch an einem Peak die Anwesenheit von elementarem Zink. Nach sieben Tagen Einlagerung in SBF war die Bildung von Hydroxylapatit nachweisbar. Der Glanzwinkel des Zinks war hingegen nicht mehr zu sehen.

4.2.7. Charakterisierung der Beschichtung nach Kalium- und Natriumdotierung des Elektrolyten

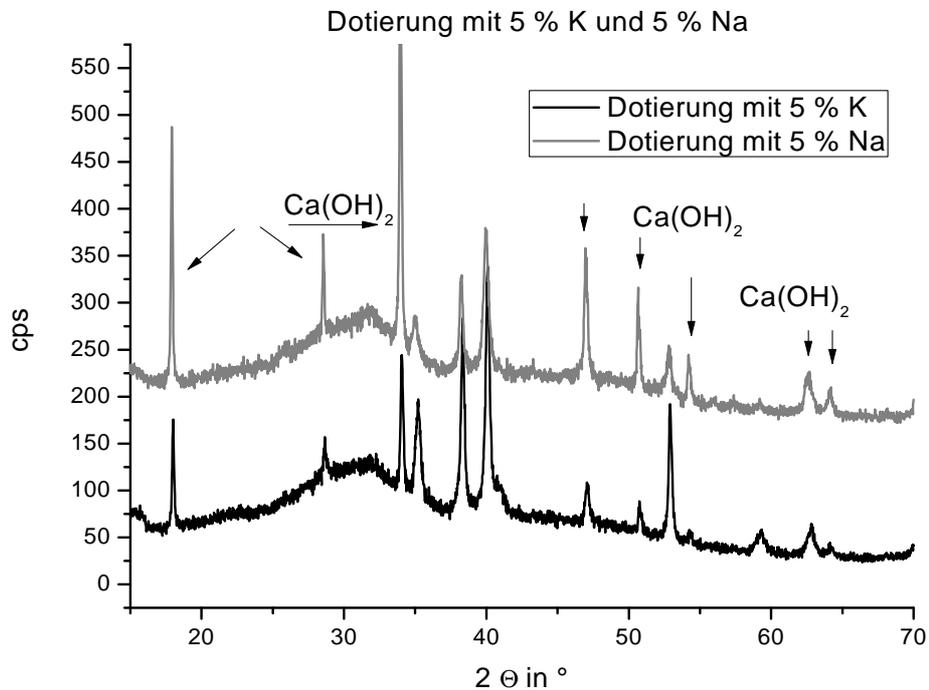


Abbildung 12: Röntgendiffraktogramm der Beschichtung nach Dotierung des Ausgangselektrolyten mit 5 % Kalium und 5 % Natrium im Ausgangszustand und nach 7 Tagen Einlagerung in SBF.

Auf Einlagerungsversuche der mit Na und K dotierten Schichten wurde aus den in Kapitel 3.5.3 aufgeführten Gründen verzichtet, weswegen auch der Umwandlungsvorgang nicht beobachtet werden konnte.

Sehr deutlich zu erkennen war in Abbildung 12 die Oberflächenbeschichtung mit Calciumhydroxid. Beide Dotierungen mit Kalium und Natrium hatten jeweils eine deutlich erhöhte Massenabscheidung im Vergleich mit der undotierten Schicht zur Folge ($\text{Na} > \text{K} > \text{Standard}$), was sich in den Kurven durch stark ausgeprägte Maxima für Ca(OH)_2 , bzw. niedrige Titanpeaks ausdrückte. Eine Beeinflussung der chemischen Zusammensetzung der Beschichtung durch die Dotierungen war im XRD aufgrund des Fehlens zusätzlicher Maxima nicht nachweisbar.

4.3. Rasterelektronenmikroskopische Analyse

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen wurden mit den im Kapitel 3 beschriebenen Einstellungen gemacht. Die Rasterelektronenmikroskopie dient in dieser Arbeit der Charakterisierung der Oberflächenmorphologie. Bilder wurden jeweils im Ausgangszustand und nach einer Woche Einlagerung in SBF angefertigt. Es wurde der Versuch unternommen, für alle Beschichtungen gleiche Vergrößerungseinstellungen zu verwenden. Dies gelang jedoch nicht immer. Der Grund hierfür war die teilweise instabile Oberfläche, die bei weiteren Vergrößerungen zu unscharfen Bildern führte.

4.3.1. Beschichtung mit dem Basiselektrolyten

Die Ca(OH)_2 -Beschichtung mit dem Basiselektrolyten vor Einlagerung (Abbildung 13 A und B) zeigte schon in geringer Vergrößerung eine durch ca. 2-3 μm breite Spalten und Risse zerklüftete Oberflächenmorphologie, die vermutlich durch den Trocknungsprozess entstand. Bei weiterer Vergrößerung zeigten sich zudem detailliert kugel- und kraterartige Strukturen von bis zu 5 μm Durchmesser. Vermutlich stellten diese Appositionsrelikte der Wasserstoffblasenbildung an der Kathode dar. Ein Wachstum der Calciumhydroxidschicht an den Blasenrändern würde die Erklärung für diese Strukturen liefern. Die Blasen selbst sind als Gas nicht leitend, was eine größere Stromdichte und Apposition von Calciumhydroxid an den Rändern zur Folge haben könnte. Beim Abperlen der Blasen könnten damit die abgebildeten Strukturen entstanden sein.

Die Betrachtung derselben Schichten nach sieben Tagen Lagerung in SBF (Abbildung 13 C und D) zeigte eine klar veränderte Struktur. Die Risse waren im Gegensatz zum Ausgangszustand nicht mehr vorhanden und es zeigten sich zahlreiche kugelförmige Konglomerate von Hydroxylapatit (Nachweis in Kapitel 4.2.2) mit einem Durchmesser von ca. 0,5 μm an der Oberfläche. Bei weiterer Vergrößerung ist deren netzartige, perlschnurartig wirkende Verknüpfung erkennbar. Unter diesen Konglomeraten ist aus der Darstellung eine kompaktere Schicht zu vermuten.

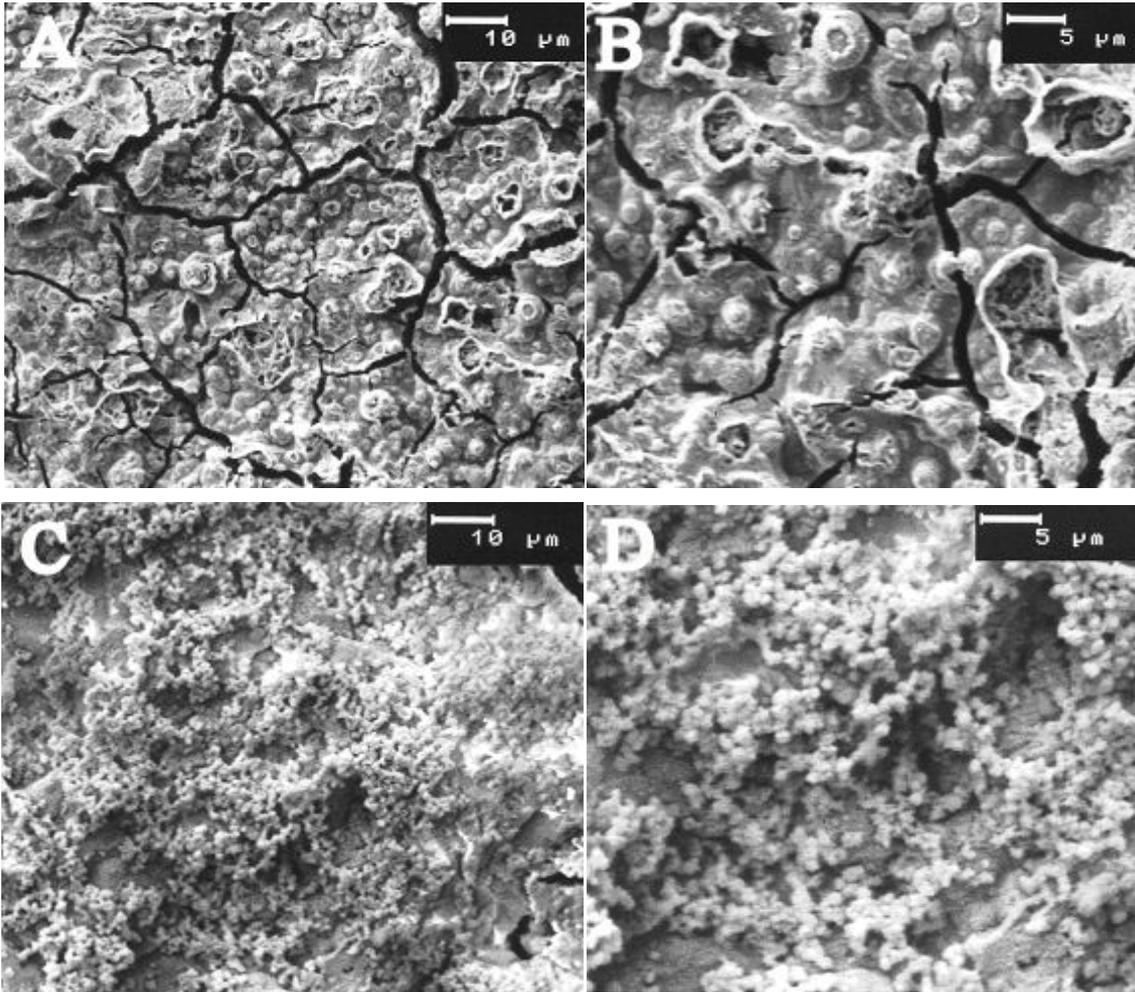


Abbildung 13:

- A) Ca(OH)₂-Beschichtung ohne Dotierung, 10 kV, 15 mm, 1000x
- B) Ca(OH)₂-Beschichtung ohne Dotierung, 10 kV, 15 mm, 2000x
- C) Ca(OH)₂-Beschichtung ohne Dotierung nach Einlagerung, 10 kV, 17 mm, 1000x
- D) Ca(OH)₂-Beschichtung ohne Dotierung nach Einlagerung, 10 kV, 17 mm, 2000x

4.3.2. Beschichtung nach Silberdotierung des Elektrolyten

Die Beschichtung, die sich in Abbildung 14 A) und B) nach der einprozentigen Dotierung des Elektrolyten mit Silber ergab, wies vor der Einlagerung eine im Gegensatz zum Basiselektrolyten und der Schicht mit Strontiumdotierung stehende Gestalt auf. Es war eine zerklüftete Struktur mit zahlreichen Mikroporositäten von etwa 1 μm Größe zu sehen, die sich klar von anderen, geschlossen wirkenden Bereichen abgrenzten. Bei weiterer Vergrößerung wurde die Struktur noch besser ersichtlich.

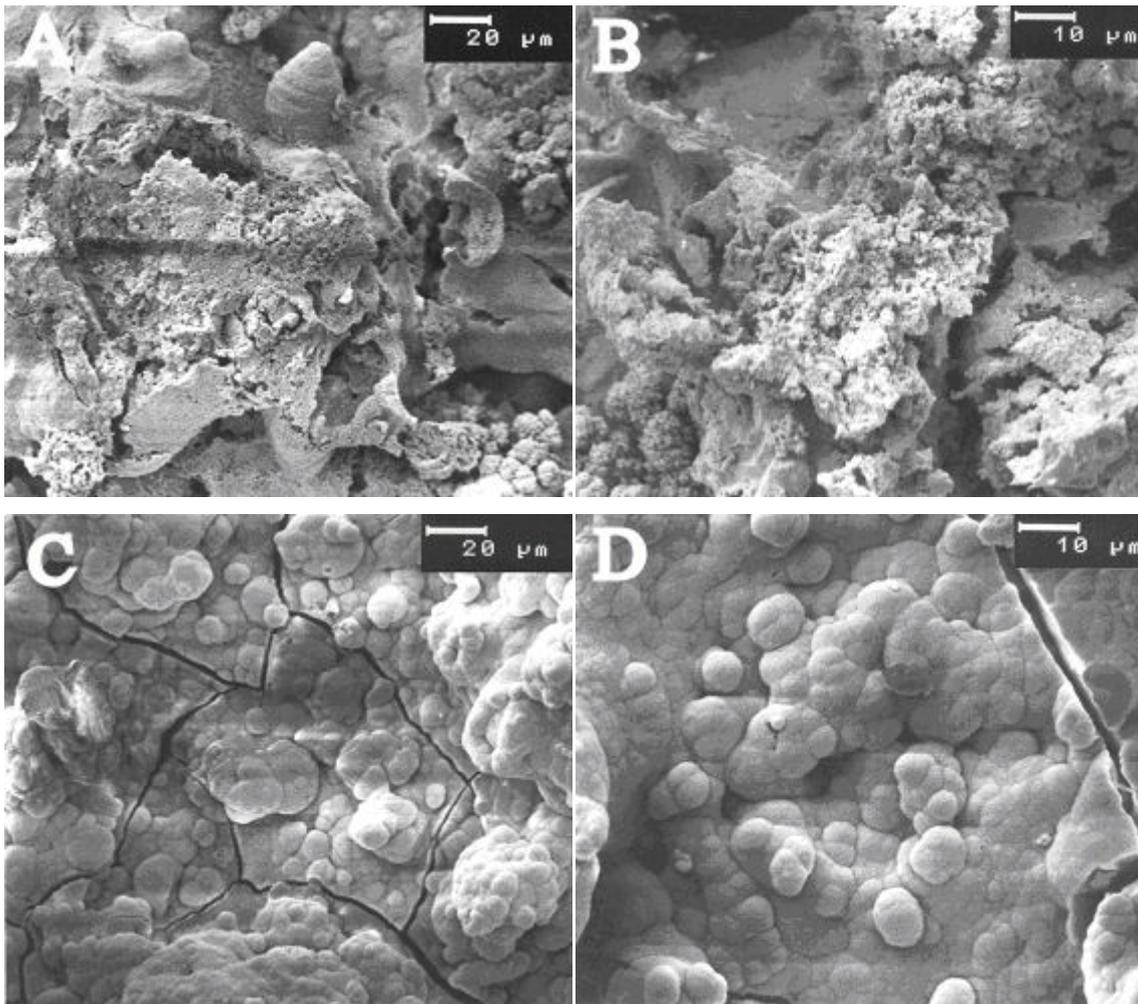


Abbildung 14:

A) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Ag 1 %, 10 kV, 15 mm, 500 x

B) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Ag 1 %, 10 kV, 15 mm, 1000 x

C) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Ag 1 % nach Einlagerung, 10 kV, 16 mm, 500 x

D) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Ag 1 % nach Einlagerung, 10 kV, 15 mm, 1000 x

Plattenartige Morphologien ergänzten sich mit granulatartig wirkenden Bereichen. In der Röntgendiffraktometrie ergab sich für diese Schicht eine Phasenzusammensetzung aus Calciumhydroxid und elementarem Silber.

Die Situation nach einer Woche Einlagerung in Abbildung 14 C) und D) stellte sich ganz ähnlich wie die Oberfläche der mit Strontium dotierten Schicht nach Einlagerung dar. Blumenkohlartige, rundliche Gebilde mit einer kompakten Oberfläche prägten das Bild. Die Oberfläche stand damit auch hier im Kontrast zu eingelagerten Schichten, die aus dem Basiselektrolyten entstanden waren. Durchzogen wurden die unten dargestellten Schichten von 2-3 μm großen Spalten. Die Struktur lässt wiederum auf

Ergebnisse

Apatit-Formationen schließen. Diese Annahme wurde schon durch die XRD-Analyse bestätigt, welche auch in den Schichten nach Einlagerung elementares Silber nachweisen konnte.

4.3.3. Beschichtung nach Strontiumdotierung des Elektrolyten

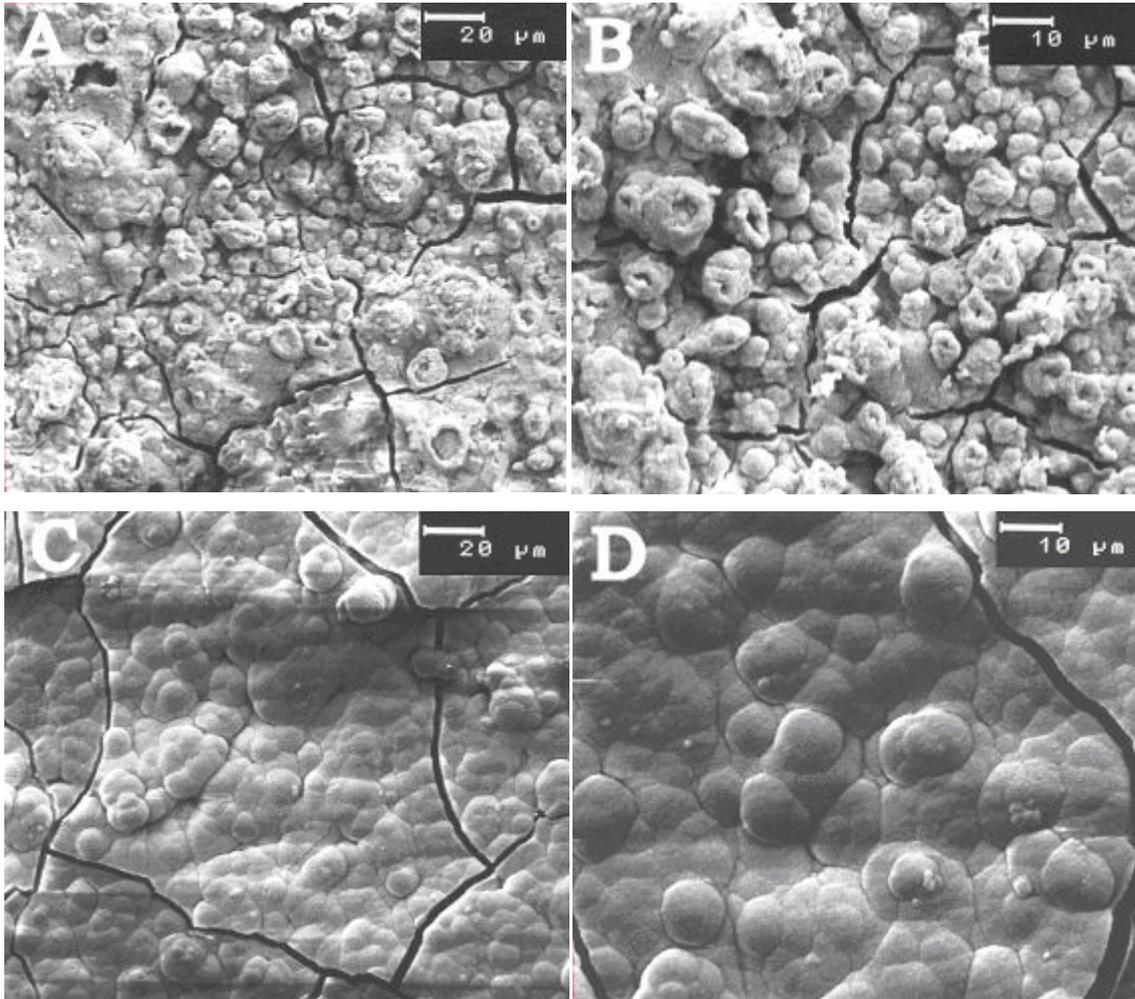


Abbildung 15:

- A) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Sr 10 %, 10 kV, 17 mm, 500x
- B) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Sr 10 %, 10 kV, 17 mm, 1000x
- C) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Sr 10 % nach Einlagerung, 10 kV, 17 mm, 500x
- D) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Sr 10 % nach Einlagerung, 10 kV, 17 mm, 1000x

Die in Abbildung 15 A) und B) dargestellten Beschichtungen, deren zugehöriger, modifizierter Elektrolyt mit 10 % Strontium dotiert war, zeigten ein ähnliches Bild wie die Beschichtung des Basiselektrolyten. Spalten und vermehrte bis zu 10 μm große, pilzartig herauswachsende und kraterartige Erhabenheiten prägten auch hier das Bild.

Ergebnisse

Allerdings schienen diese dichter zu stehen und über dickere und geschlosseneren Kraterränder zu verfügen. Im Vergleich mit der Basisbeschichtung waren außerdem die vorhandenen Risse, welche die Oberfläche durchziehen, auf ca. 1-3 μm verkleinert.

Die Aufnahmen nach der Umwandlung zu HA in Abbildung 15 C und D zeigten hingegen ein stark verändertes Aussehen im Vergleich zu den Schichten des undotierten Elektrolyten. Es zeigten sich nicht mehr die vorher vorhandenen vernetzten Apatitstrukturen. Eine linsenartig rundliche, sehr kompakte Oberflächenformation war zu sehen. Diese nahm bei weiterer Vergrößerung eine rundlich-quaderartige, mit Spalten versehene Struktur an. Diese Linsenform ist ebenfalls eine typische Struktur für Apatite [6].

4.3.4. Beschichtung nach Magnesiumdotierung des Elektrolyten

Die Beschichtung nach einer zehnpromigen Magnesiumdotierung des Elektrolyten in Abbildung 16 A) und B) zeigte vor der Einlagerung eine ähnliche Struktur wie die Basisbeschichtung ohne Dotierung. Eine von Rissen durchzogene und kraterartig wie Pilze stehende Formation der Oberfläche war erkennbar. Auffällig waren insbesondere die in der Vergrößerung vorhandenen, in Büscheln stehenden und lanzettenförmigen Kristallite. Im Röntgendiffraktogramm ergaben sich keine Hinweise auf andere Verbindungen als die des Calciumhydroxids.

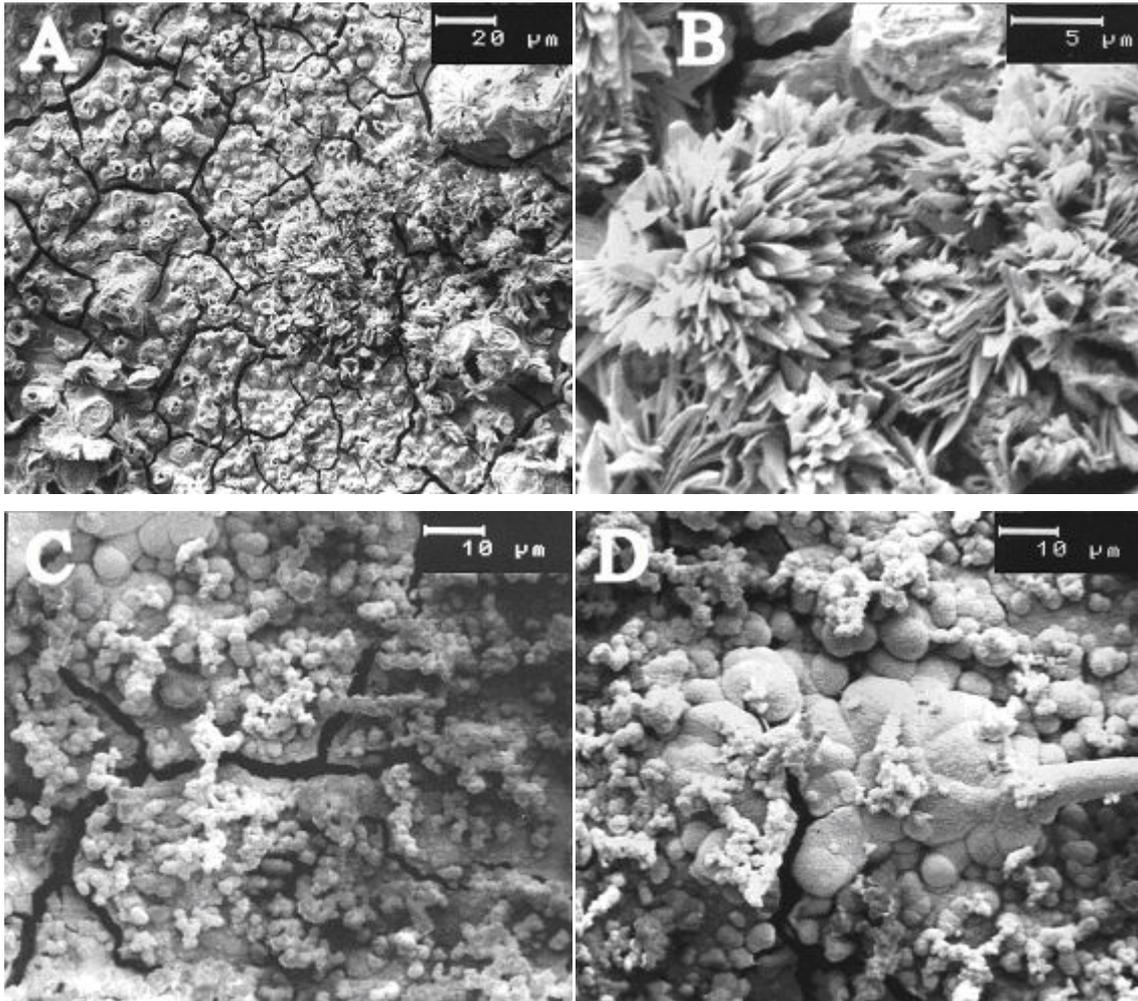


Abbildung 16:

A) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit 10 % Mg, 10 kV, 10 mm, 500x

B) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit 10 % Mg, 10 kV, 10 mm, 3000x

C) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit 10 % Mg nach 7 Tagen in SBF, 10 kV, 10 mm, 1000x

D) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit 10 % Mg nach 7 Tagen in SBF, 10 kV, 10 mm, 1000x

Die Struktur in Abbildung 16 C) und D) nach einer Woche in SBF zeigte ein stark verändertes Aussehen. Zu erkennen sind die typischen vernetzten, kugelförmigen Apatitformationen. Es besteht eine große Ähnlichkeit zur Oberfläche des Basiselektrolyten nach einwöchiger Einlagerung. In der weiteren Vergrößerung sind jedoch auch die rundlichen, kompakten Apatitformationen zu erkennen. Es zeigten sich somit sowohl große, linsenförmige Areale, als auch die kleinen, vernetzt wirkenden Oberflächenbereiche. Zu diskutieren wäre hier die Vermutung, dass es sich bei den kompakten Apatitformationen um eine Substruktur handelt, die von den kleineren, netzartigen Gebilden überzogen ist.

4.3.5. Beschichtung nach Zinkdotierung des Elektrolyten

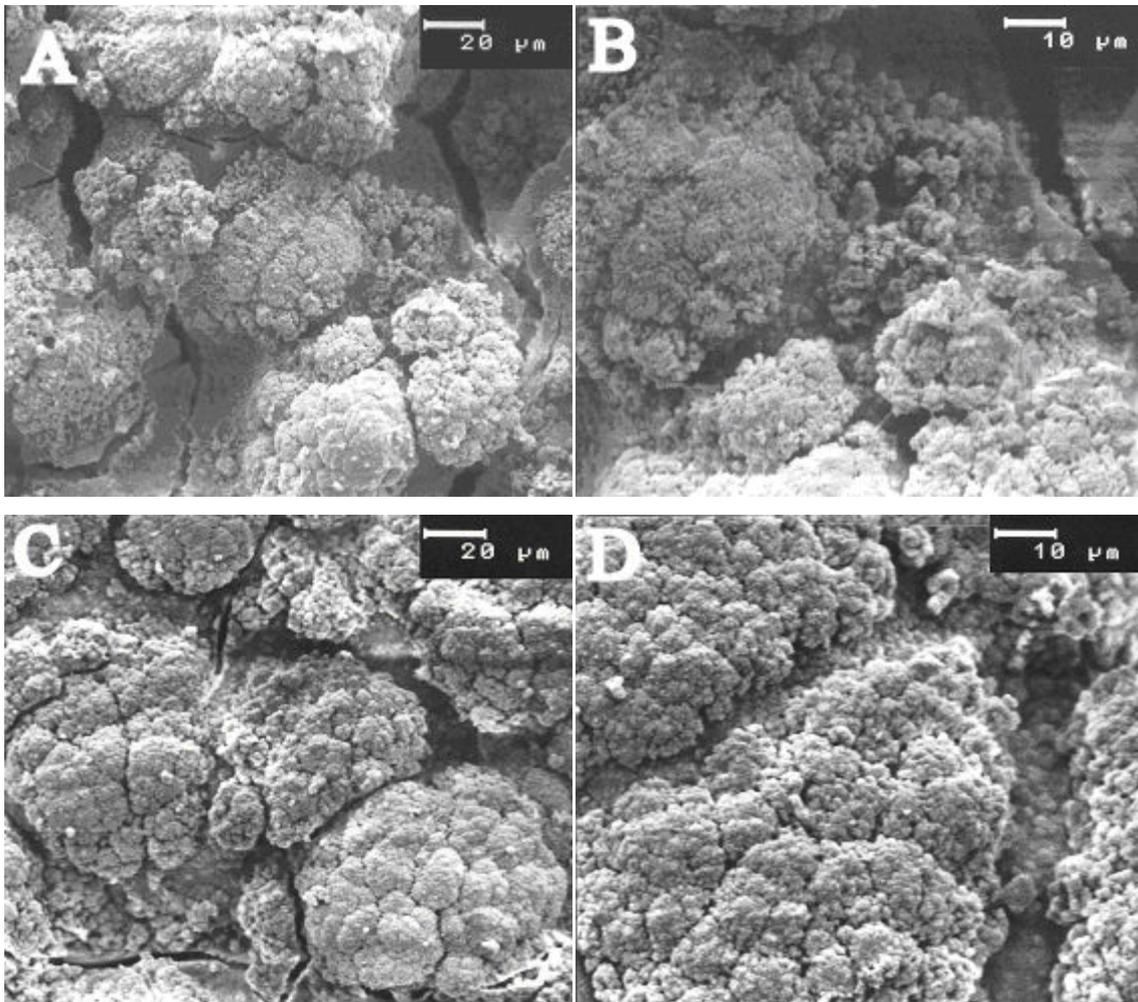


Abbildung 17:

A) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Zn 3 %, 10 kV, 16 mm, 500 x

B) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Zn 3 %, 10 kV, 16 mm, 1000 x

C) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Zn 3 % nach Einlagerung, 10 kV, 17 mm, 500 x

D) $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Beschichtung mit Zn 3 % nach Einlagerung, 10 kV, 17 mm, 1000 x

Die Dotierung mit Zink vor Einlagerung in Abbildung 17 A) und B) zeigte ein deutlich von allen anderen Beschichtungen abweichendes Bild. Bis zu 10 µm große Risse durchzogen eine blumenkohlähnliche, wolkige Oberflächenstruktur mit Aufwerfungen von 20 bis 40 µm Durchmesser. An der Basis dieser Aufwerfungen schien sich jeweils eine kompakte Schicht zu befinden. Die für alle vorausgehenden Beschichtungen typischen Kraterstrukturen waren nicht vorhanden.

Ergebnisse

Die Röntgendiffraktometrie konnte vor der Einlagerung das Vorhandensein elementaren Zinkes nachweisen, die typischen Beugungsreflexe für Calciumhydroxid waren hingegen nicht zu erkennen.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen in Abbildung 17 C) und D) nach sieben Tagen in SBF zeigten kaum morphologische Abweichungen zum Zustand vor der Einlagerung. Die blumenkohllartigen Strukturen schienen etwas dichter zu stehen und mit kleineren Spalten von ca. 2-5 μm durchsetzt zu sein. Eine kontrastreichere Aufnahme war möglich. Im Diffraktogramm war Apatit, aber kein Zink mehr nachweisbar.

4.4. Quantitative Analyse (ICP-MS)

4.4.1. Quantitative Analyse der Beschichtungen

Von großem Interesse war die Zusammensetzung der veränderten Schichten. Es wurde deshalb die quantitative Zusammensetzung der aufgetragenen Schichten prozentual auf das Verhältnis von Dotierungsionen zu Calcium hin untersucht. Die Dotierungsionen können hierbei prinzipiell Calciumionen substituieren, sich in eigenen Verbindungen abscheiden, oder sich an den Oberflächen vorhandener Kristallite anlagern. Die Messung erfolgte mit dem ICP-MS (siehe Kap. 3.5.2). Wie bereits im Kapitel 4.2 (Röntgendiffraktometrie) als Ergebnis festgehalten, waren für keine der Dotierungen mit Ausnahme des Silbers und des Zinkes neu auftretende Maxima im XRD zu erkennen. Es ließen sich damit im Rahmen der Möglichkeit dieser Methode (XRD) für diese Dotierungen keine zusätzlichen Verbindungen nachweisen.

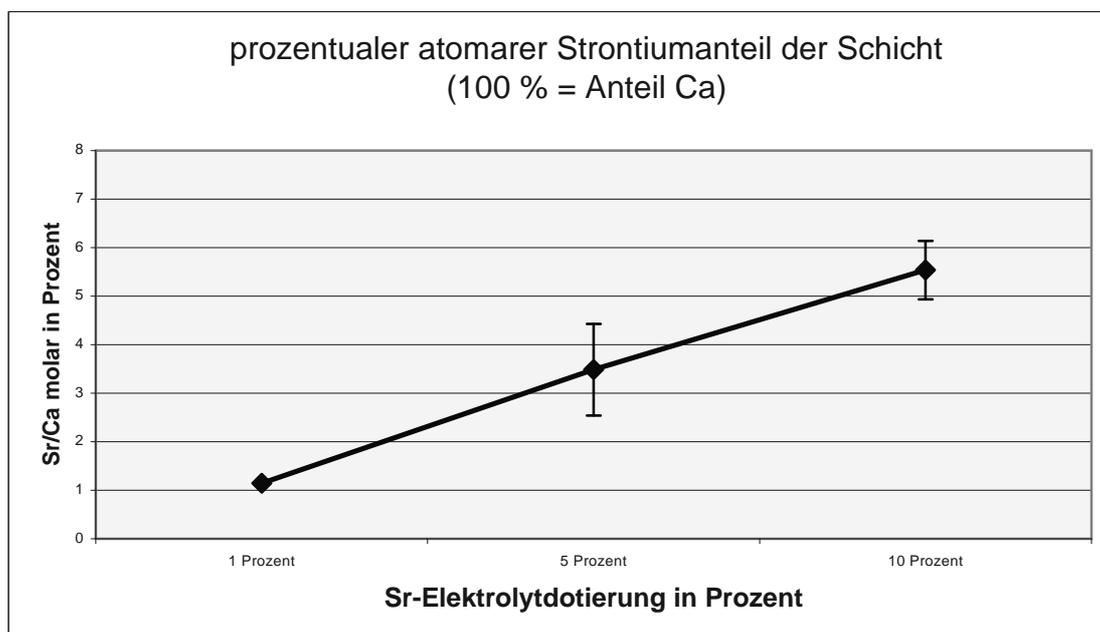


Abbildung 18: Prozentualer atomarer Anteil von Strontium an der Schicht in Abhängigkeit von der Elektrolytdotierung (100 % = jeweils Anteil Ca, n = 3).

Es wurden Beschichtung mit Strontiumdotierungen in der aufsteigenden Reihenfolge von einem, fünf und zehn Prozent untersucht. Deutlich ist zu erkennen, wie mit ansteigender Strontiumkonzentration im Elektrolyten auch die Menge an Strontium in den Schichten steigt. So kommt bei einem Prozent Dotierung noch ein Strontiumion auf

Ergebnisse

87 Calciumionen (1,15 %), bei 5 Prozent kommt ein Strontiumion auf 29 Calciumionen (3,5 %) und bei der zehnpromzentigen Dotierung trifft eines auf 18 Calciumionen (5,54 %). Durch die Erhöhung der Sr-Konzentration im ersten Schritt von einem auf fünf Prozent nimmt die Sr-Schichtkonzentration um den Faktor 3 zu, bei nochmaliger Verdopplung nur um den Faktor 1,6.

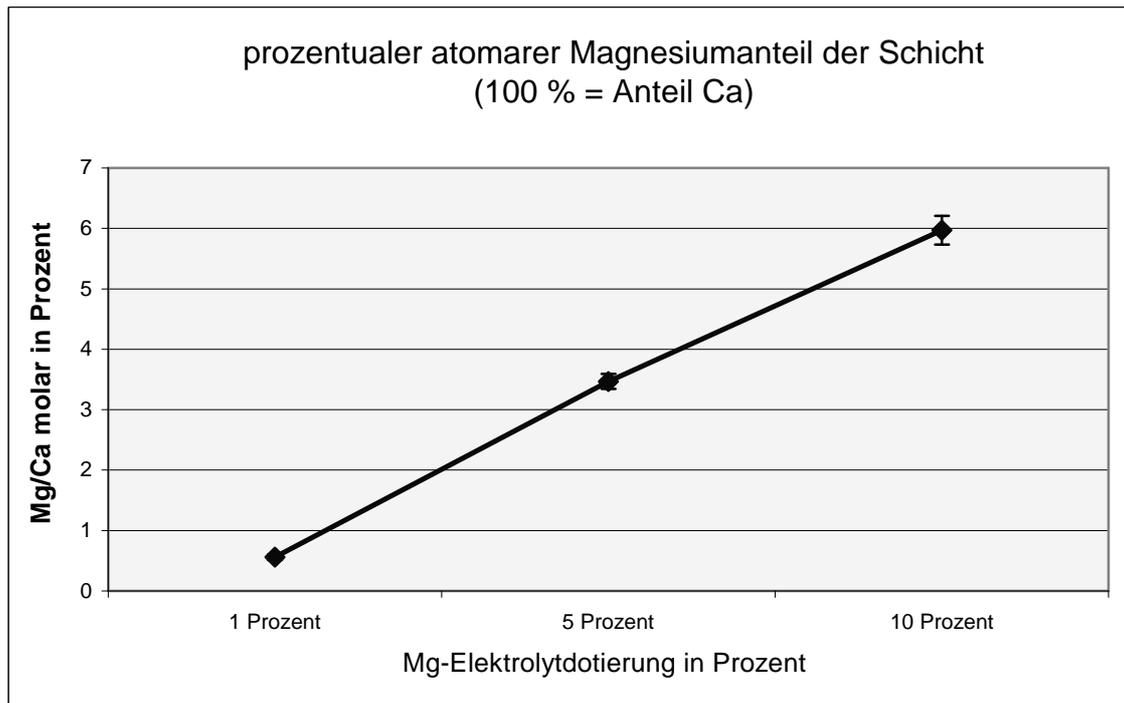


Abbildung 19: Prozentualer atomarer Anteil von Magnesium an der Schicht in Abhängigkeit von der Elektrolytdotierung (100 % = jeweils Anteil Ca, n = 3).

Die Kurve der aufsteigenden Magnesiumdotierung zeigt ebenfalls ein in der Schicht größer werdendes Verhältnis von Magnesium zu Calcium. Für eine einprozentige Dotierung mit Mg ergibt sich ein Verhältnis von Mg/Ca von 1:187 (0,56 %), nach der Erhöhung auf die fünffache Menge nur noch von 1:28 (3,47 %) und nach der weiteren Verdopplung von 1:17 (5,97 %).

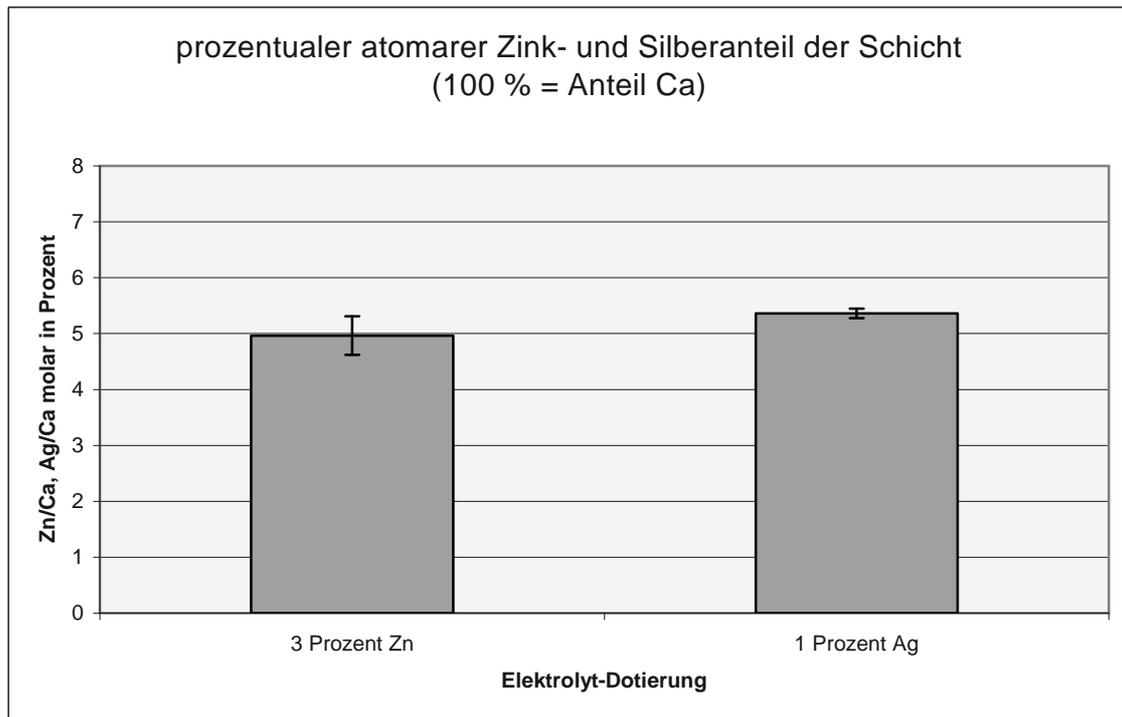


Abbildung 20: Prozentualer atomarer Anteil von Zink und Silber an der Schicht in Abhängigkeit von der Elektrolytdotierung (100 % = jeweils Anteil Ca, n = 3).

Die Abbildung 20 zeigt die atomaren Verhältnisse von Zink und Silber zu Calcium. Da beide Dotierungen nur mit drei, bzw. einem Prozent durchführbar waren, konnte keine Abhängigkeit der Verhältnisse von Calcium zu Dotierung von unterschiedlichen Konzentrationen ermittelt werden. Die Dotierung mit Zink zeigte ein Zn:Ca-Verhältnis von etwa 1:20 (4,96 % Zn), die Dotierung mit Silber etwa 1:19 (5,36 % Ag).

4.4.2. Auslagerungsdynamik der Schichten in SBF ohne täglichen Medienwechsel

Nach der Bestimmung der Schichtzusammensetzung wurde ein besonderes Augenmerk auf das Abgabeverhalten der dotierten Ionen in SBF gerichtet. Bestimmt wurden zum einen das Abgabeverhalten der Schichten in jeweils 10 ml SBF ohne Medienwechsel, um einen sich einstellenden Steady State (Lösungsgleichgewicht) zu erfassen. Zum anderen war auch die Simulation physiologischer Verhältnisse von Bedeutung. Zu diesem Zweck wurde das Medium täglich gewechselt und die jeweils darin abgegebene Menge an Ionen kumulativ in Abhängigkeit von der Zeit aufsummiert.

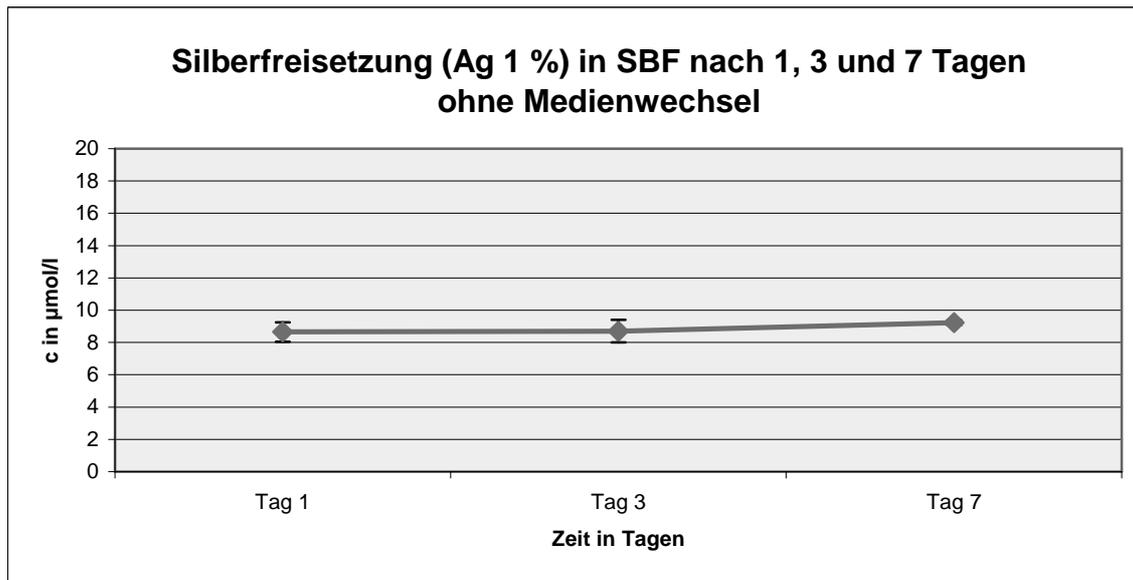


Abbildung 21: Silberabgabe der mit Ag (1 %) dotierten Schicht in 10 ml SBF ohne Medienwechsel (n = 3).

Auch die Kurve der silberdotierten Schicht zeigte, dass sich schon während des ersten Tages ein Lösungsgleichgewicht eingestellt hatte. Die Silberkonzentration im Medium erreichte dabei eine Konzentration von etwa 8,5 bis 9 µmol/l. Eine mögliche Erklärung für diese im Vergleich zu Strontium wesentlich niedrigere Konzentration ist ein niedrigere Löslichkeit des edleren, elementar vorliegenden Silbers im Medium. Die Röntgendiffraktometrie zeigte in diesem Zusammenhang, dass das Silber in der Schicht elementar vorlag, was eine niedrigere Löslichkeit im Vergleich zur ionisierten Form bedingt.

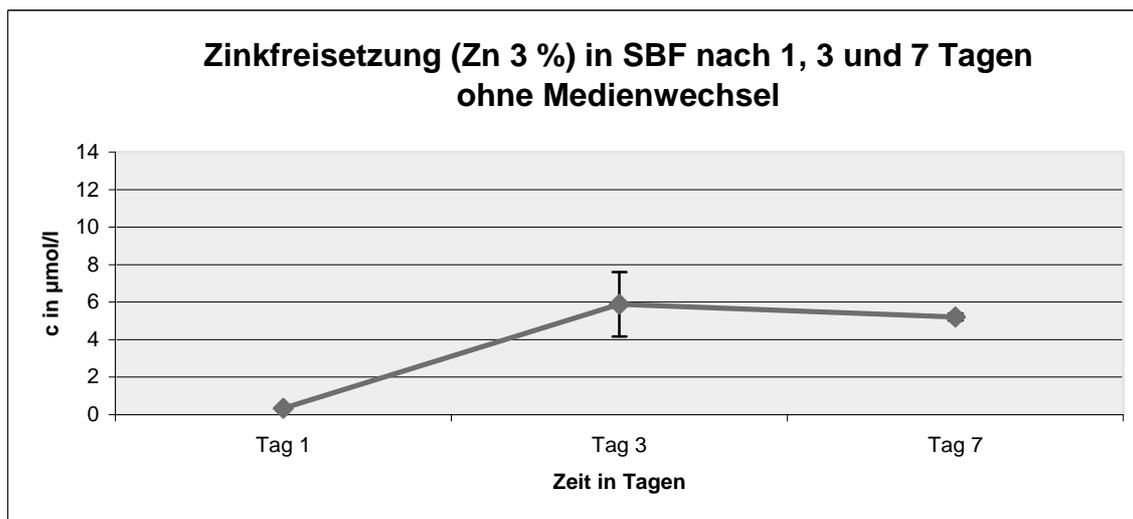


Abbildung 22: Zinkabgabe der mit Zn (3 %) dotierten Schicht in 10 ml SBF ohne Medienwechsel (n = 3).

Ergebnisse

Der Eintrag von Zink (Abbildung 22) in SBF aus dotierten Schichten zeigte hingegen eine andere, im Vergleich zu den vorigen Dotierungen verlangsamte Auslagerungsdynamik. Die Messung zeigte am ersten Tag eine Zinkkonzentration von $0,33 \mu\text{mol/l}$. Während der folgenden zwei Tage stieg diese Konzentration auf etwa $6 \mu\text{mol/l}$ an, um bis zum siebten Tag in etwa konstant zu bleiben ($5,88$ und $5,2 \mu\text{mol/l}$). Die Röntgendiffraktometrie zeigte vor Einlagerung die Anwesenheit von elementarem Zink in der beschichteten Oberfläche.

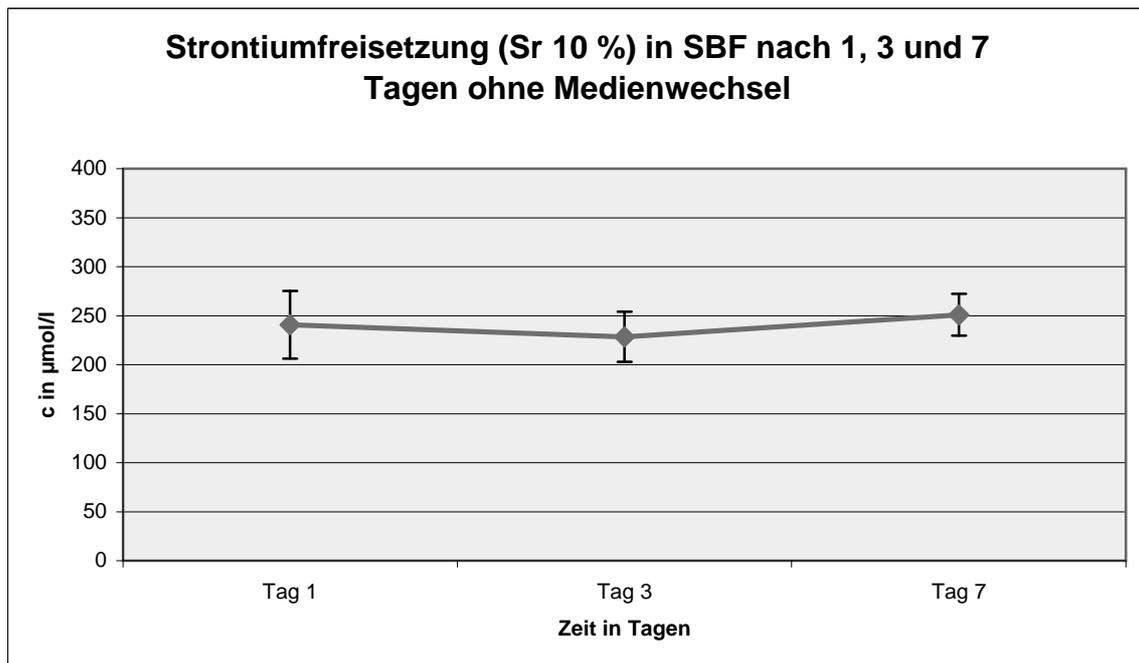


Abbildung 23: Strontiumabgabe der Sr (10 %) dotierten Schicht in 10 ml SBF ohne Medienwechsel ($n = 3$).

Abbildung 23 zeigt den Strontiumeintrag der mit 10 % Sr-dotierten Schicht in SBF ohne Medienwechsel. Es zeigte sich für den Verlauf zwischen dem ersten und siebten Tag eine Kurve fast konstanter Konzentration von etwa $250 \mu\text{mol}$ Strontium pro Liter. Diese lässt den Schluss zu, dass sich schon während des ersten Tages in SBF ein Lösungsgleichgewicht eingestellt hatte.

4.4.3. Kumulative Ionenauslagerung in SBF bei täglichem Medienwechsel

Die kumulative Ionenauslagerung mit täglich ausgewechseltem Medium beschreibt am ehesten physiologische Bedingungen *in vitro* (vgl. Kap. 3.4). Der Austausch von Extrazellulärflüssigkeit wird in diesem Modell simuliert. Die Abgabedynamik wurde über eine Woche verfolgt.

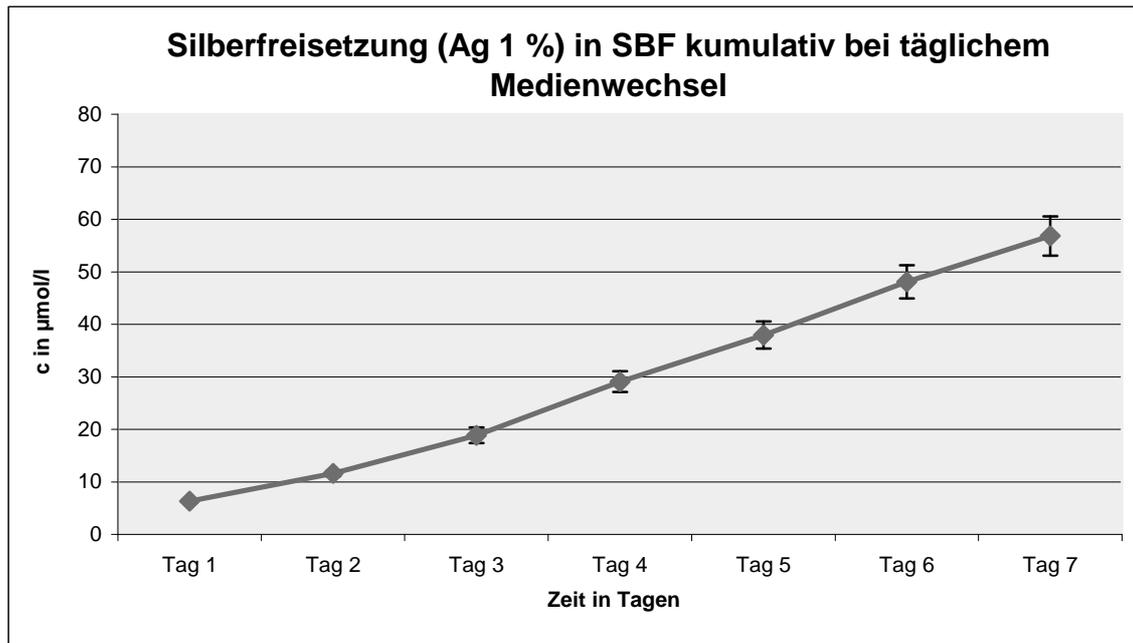


Abbildung 24: kumulativer Silbereintrag (Ag 1 %) in SBF bei täglichem Medienwechsel (n = 3).

Die Verfolgung der Silberabgabe aus dotierten Schichten mit täglichem Medienwechsel zeigte in der kumulativ aufgetragenen Kurve am ersten Tag eine Abgabe von Silber in der gleichen Größenordnung wie die in Abbildung 21 dargestellte Silberabgabe (6,6 vs. 8,6 µmol/l). Diese Abgabe blieb über die gesamte Beobachtungszeit etwa konstant, sodass in diesem Zeitraum eine proportionale Abgabedynamik zu beobachten war. Ein sich über jeden Tag erneut einstellendes Lösungsgleichgewicht ist wahrscheinlich.

Ergebnisse

Der kumulative Eintrag der mit 10 % Strontium dotierten Schicht in Abbildung 25 ins Medium zeigte ebenfalls eine Abgabe, die mit den Konzentrationen in Abbildung 23 übereinstimmt (kumulativ 258 vs. 252 $\mu\text{mol/l}$). Allerdings stieg die Konzentration in Abbildung 25 noch nach dem ersten Tag leicht an. Spätestens nach dem dritten Tag veränderte sich die kumulativ abgegebene Menge aber kaum noch. Damit kann die Abgabe von Strontiumionen ins wechselnde Medium im Wesentlichen nach drei Tagen als abgeschlossen angesehen werden.

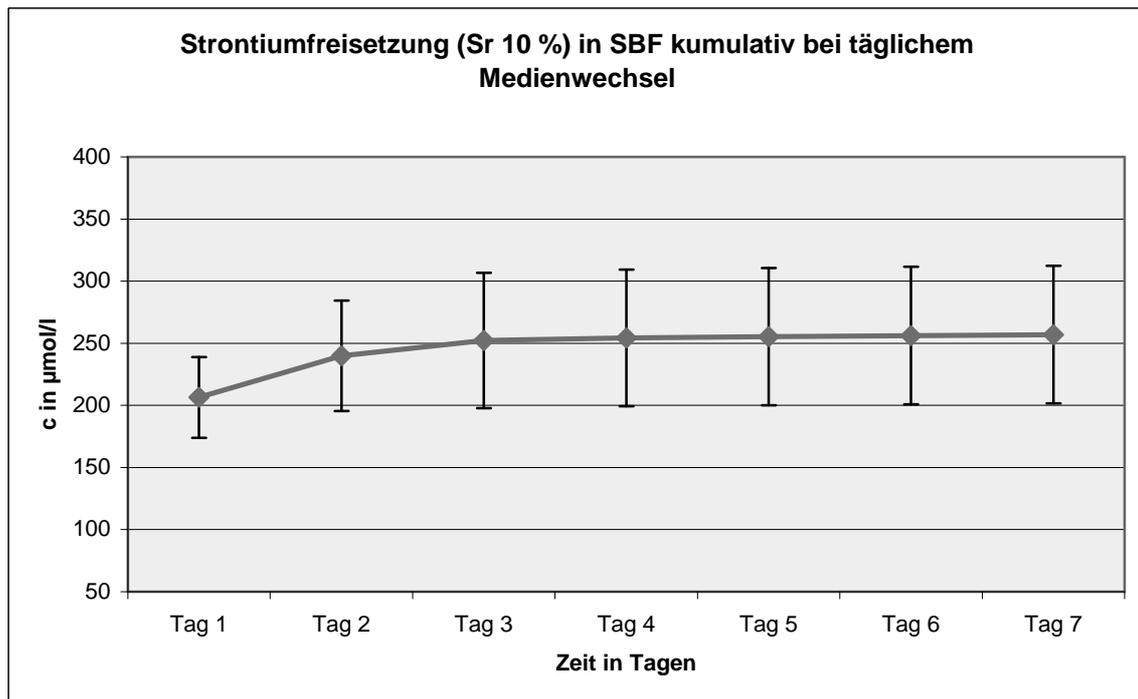


Abbildung 25: kumulativer Strontiumeintrag der mit Sr (10 %) dotierten Schicht bei täglichem Medienwechsel (n=3).

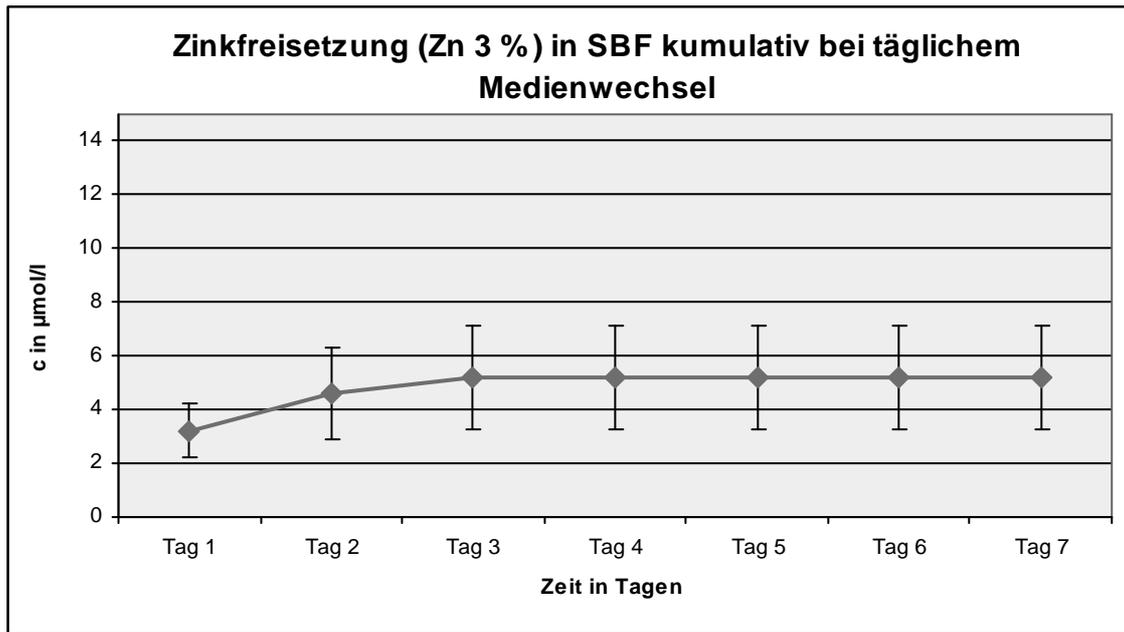


Abbildung 26: kumulativer Zinkeintrag der mit Zn (3 %) in SBF bei täglichem Medienwechsel (n=3).

Der Zinkeintrag in Abbildung 26 aus den zinkdotierten Schichten in SBF zeigte in der kumulativen Auftragung wieder das bereits in Abbildung 22 beobachtete Verhalten des Anstieges der Zn-Konzentration auch noch nach dem ersten Tag. Die Konzentration pendelte sich kumulativ in der gleichen Größenordnung wie die in Abbildung 22 ohne Medienwechsel ein (4,9 vs. 5,5 µmol/l). Die Messungen vom dritten bis zum siebten Tag ergaben nicht mehr messbare (außerhalb des minimalen Meßbereichs) Konzentrationen an Zn^{2+} im Medium, weshalb die kumulative Auftragung am dritten Tag ihr Maximum erreichte. Der Eintrag von Zink ins Medium kann aus diesem Grunde nach dem dritten Tag als abgeschlossen betrachtet werden.

5. Diskussion

Das Ziel dieser Arbeit war es, die in der FMZ Würzburg entwickelte elektrochemische Calciumhydroxidbeschichtung durch Dotierung mit Fremdmetallionen weiter zu entwickeln. Verwendet wurden die biologisch aktiven Elemente Magnesium, Strontium, Silber und Zink, von denen antibakterielle oder für das periimplantäre Gewebe förderliche Eigenschaften in der Literatur beschrieben wurden. Die Dotierung der Schicht wurde durch Zugabe von Metallsalzen zum Elektrolyten erreicht. Der Eintrag der Dotierung in die Oberflächenbeschichtung wurde gemessen, ebenso wie die zeitliche Abgabe in ein physiologisches Medium, welches den Extrazellulärraum simulieren sollte. Ziel war es, die abgegebenen Dosen anhand von Literaturdaten auf ihre Wirksamkeit zu prüfen. Eines der Hauptaugenmerke lag dabei auf der Silberabgabe in SBF, da es eine langfristige Antisepsis garantieren könnte.

5.1. Die Dotierung mit Silber

Silber besitzt eine exzellente und breite antimikrobielle Wirkung. Dabei ist es in der lokalen Anwendung relativ sicher und nebenwirkungsfrei [75]. Es ist das Element mit der höchsten Toxizität für Mikroorganismen, hat aber im Vergleich mit anderen Schwermetallen die geringste Toxizität für tierische Zellen [29]. In der Implantologie ist eine antibakterielle Wirkung besonders während der Phase der ersten Tage nach der Insertion eines Implantates von Bedeutung, da in diesem Zeitraum die meisten Infektionen auftreten. Antiseptische Wirkstoffe wie Silber spielen bei lokalen Wundinfektionen eine immer größere Rolle. Durch ihre unspezifischeren Angriffspunkte im Bakterium bilden sie eine geringere Gefahr im Hinblick auf Resistenzbildung durch Keime als die klassischen Antibiotika mit ihren spezifischen Wirkorten [26].

Aufgrund dieser Eigenschaften und der verbreiteten Anwendung in der Medizin wurde bereits in verschiedenen Ansätzen versucht, antibakterielle Oberflächen mittels einer Dotierung durch Silber herzustellen [18, 76, 77]. Shimazaki et al. entwickelten eine Plasmaspraybeschichtung, in der HA mit Silber gemischt wurde und die im Tierversuch eine gute Wirkung gegen MRSA zeigte [34]. Chen et al. produzierten HA-

Diskussion

Beschichtungen mit einem Gewichtsprozent AgNO_3 , sowie gesputterte HA-Beschichtungen mit Silberanteil [23, 25]. Song et al. entwickelten silberdotierte Oberflächen auf der Basis von HA und β -TCP [18].

Auch in der vorliegenden Arbeit wurde versucht, Silber durch die Zugabe zum Elektrolyten in die Calciumhydroxid-Oberflächenbeschichtung mit einzubauen. Die Dotierung des Elektrolyten mit Silber in dieser Arbeit zeigte tatsächlich für die Beschichtung Beugungsreflexe für elementares Silber im Röntgendiffraktogramm. Damit wurde nachgewiesen, dass sich Silber in elementarer Form mit in die Beschichtung einlagert. Die Peaks für Silber nahmen nach der Einlagerung an Intensität zu. Gleichzeitig wurden sie schmaler, was beides auf einen Trend zur Bildung größerer Kristallite in SBF-Lösung schließen lässt. Kleinere, oberflächennahe Kristallite könnten leichter in Lösung gehen. Außerdem ließ sich vor der Einlagerung die Anwesenheit von Calciumhydroxid und nach Einlagerung die Bildung von Apatit nachweisen, was für das Vorliegen einer mit elementarem Silber vermischten $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -, bzw. HA-Schicht spricht. Die Beugungsreflexe für Calciumhydroxid vor der Einlagerung erschienen im Vergleich mit allen anderen Dotierungen nur leicht ausgeprägt. Dies könnte für das Vorliegen anderer, amorpher Verbindungen sprechen. Die Peaks für HA waren hingegen nach der Einlagerung sehr ausgeprägt. Zuletzt lässt sich aus dieser XRD-Aufnahme eine große Schichtdicke über die Vergleichsweise kleinen Maxima für Titan ableiten. Dies korreliert auch mit der abgeschiedenen Masse der Beschichtung, die erheblich größer als diejenige ohne Dotierung war.

Im Rasterelektronenmikroskop war vor der Einlagerung eine zerklüftete, plattenartige Struktur mit zahlreichen Mikroporositäten zu erkennen. Die Situation nach Einlagerung zeigte eine kompakte Schicht blumenkohlartiger, rundlicher Gebilde, welche sich ebenfalls mit einer in der Literatur beschriebenen Morphologie für Apatitoberflächen vereinbaren lässt [6].

Silber kann konzentrationsabhängig sowohl antibakteriell, als auch zytotoxisch wirken. Es wurde berichtet, dass besonders hohe Silberkonzentrationen zytotoxisch wirken können. Die höchste gefundene toxische Konzentration im menschlichen Körper betrug 10 mg Ag/l [78]. Eine Silbervergiftung nach Resorption von 0,9 g Silber (andere Quellen berichten von 4-6 g Silber im Körper) [79] führt zur Argyrie, die mit dem

Diskussion

Leitsymptom einer blau-grauen Verfärbung der Haut verbunden ist [34, 80, 81]. Es kommt dabei zu einer irreversiblen Ablagerung von Silber im Gewebe [29].

Die in dieser Arbeit mit Silber dotierte Oberflächenbeschichtung enthielt $5,36 \pm 0,09$ % der molaren Calciummenge an Silber. Sie setzte im Mittel (jeweils 3 Proben) relativ konstant über sieben Tage 812 ppb (0,812 ppm) Silber pro Tag in 10 ml SBF frei. Die Höchstkonzentration nach sieben Tagen Einlagerung der silberdotierten Schicht ohne Medienwechsel betrug $986,35 \pm 16,6$ ppb (0,986 ppm).

Damit lag die Abgabe höher als die in der Literatur als notwendig angegebenen, noch bakterizid wirkenden Konzentrationen. Besonders geringe Konzentrationen unter 35 ppb sollen nach Gosheger et al. bakterizid wirken [79]. Höhere Dosen können unter Umständen toxisch für den menschlichen Körper sein.

Als minimale, bakterizide Wirkdosis von Silber wird in der Literatur eine Konzentration von 0,1 ppb angegeben [82]. Hidalgo et al. berichteten, dass Silbernitratkonzentrationen über 2,8 ppm in Wachstumsmedien zytotoxisch auf menschliche Hautfibroblasten wirken (mehr als 90 % Zelltod innerhalb von 24 Stunden) [83]. Allerdings lag die gemessene Silberkonzentration in der vorliegenden Arbeit unter diesem toxischen Level. Eine andere Studie (Agarwal et al.) berichtete über mit Silber imprägnierte Polymerschichten, die in 100 μ l Lösung 0,76 ppm Silber freisetzten und dabei immer noch einen antibakteriellen Effekt zeigten, aber nicht zytotoxisch auf humane Zellen (Fibroblasten) wirkten [76].

Andere Quellen geben Wirkkonzentrationen gegen Bakterien, Pilze und Viren im Konzentrationsbereich von 10^{-9} bis 10^{-6} mol/l an [26, 29]. Damit lägen die in dieser Arbeit über sieben Tage im Mittel freigesetzten Silbermengen von umgerechnet $8,11 * 10^{-6}$ mol/l in diesem angegebenen Referenzbereich.

Insgesamt ist die in dieser Arbeit gemessene Silberabgabe aus der aufgetragenen Oberflächenbeschichtung innerhalb der ersten sieben Tage höher als es für einen antibakteriellen Effekt notwendig wäre. Es stellt sich jedoch die Frage, ob diese in vitro gemessenen hohen Werte sich einfach auf eine Situation in vivo übertragen lassen, bei der es zu einem stetigen Austausch von extrazellulärer Flüssigkeit im periimplantären Wundgebiet kommt. Außerdem wird die Konzentration an freien, reaktiven Ag^+ -Ionen durch die im Körper stattfindende Reaktion mit im Überschuss vorhandenen Chlorid-

oder Sulfidionen limitiert, welche reaktive Ag^+ -Ionen durch die Bildung schwer löslicher Salze inaktivieren können [77]. Patienten mit Brandverletzungen werden oftmals mit silberhaltigen Wundverbänden versorgt. Dabei wurden Serumkonzentrationen von etwa $60 \mu\text{g Silber pro dl}$ [$5,56 * 10^{-7} \text{ mol/l}$] und Silberausscheidungen im Urin von bis zu $1100 \mu\text{g Silber pro 24 h}$ gemessen. Diese Patienten zeigten keine Symptome einer Silbervergiftung [84]. Erst eine Studie mit Versuchen an humanen Zellen könnte daher eine definitive Aussage über die Bioverträglichkeit der vorgestellten Beschichtung bringen. Es scheint jedoch auch im Falle einer toxischen Wirkung leicht umsetzbar, später den Silbergehalt der Beschichtung durch eine Verminderung der Silbernitratzugabe zum Elektrolyten so zu steuern, dass eine optimale Abgabe aus der Schicht zu erreichen ist.

Die silberdotierte Schicht könnte daher eine sehr gute, zweifach wirksame antiseptische Beschichtung darstellen. Die Wirkung des Calciumhydroxides kann dabei periimplantär den starken, kurzfristigen perioperativen Schutz durch die Hydroxylionenfreisetzung garantieren. Die ausgeprägte Wirkung gegen die nosokomialen Keime *S. epidermidis* und *K. pneumonia* und die Verträglichkeit mit eukaryonten Zellen wurde dabei bereits durch Moseke et al. beschrieben.

Die Abgabe der Silberionen aus der Schicht könnte zugleich sowohl initial die Wirkung des Calciumhydroxids unterstützen, als auch nach der gezeigten Umwandlung des Calciumhydroxids in Hydroxylapatit eine längerfristige antiseptische Wirkung im periimplantären Bereich entfalten. Die Wirkung könnte dabei, wie in dieser Arbeit gezeigt, über den Zeitraum von mindestens einer Woche anhalten.

5.2. Die Einbringung von Strontium

Strontium geriet zuletzt durch die medizinische Anwendung in Form von Strontiumranelat in den Fokus der Forschung. Strontiumranelat wurde vor wenigen Jahren als oral zu verabreichendes Medikament in der Osteoporosetherapie zugelassen und soll dem durch Östrogenmangel verursachten osteoporotischen Knochenschwund vorbeugen, indem es den Knochenstoffwechsel in Richtung einer vermehrten Knochenapposition beeinflusst. Osteoporose kann durch die geringere Knochendichte eine verminderte Implantatstabilität nach sich ziehen [51].

Diskussion

Aufgrund dieser Effekte erregte Strontium auch Aufmerksamkeit im Bereich der Oberflächenbeschichtungen. Es wird angenommen, dass lokal verabreichtes Strontium, beispielsweise als Bestandteil einer Oberflächenbeschichtung lokal einen ähnlich positiven Effekt auf die Knochenapposition und Knochendichte hat wie systemisch nach oraler Gabe [85]. Damit könnte es unter Umständen eine Knochenneubildung im periimplantären Bereich begünstigen, die Osseointegration verstärken und den Knochen-Implantat-Verbund festigen [85].

Aufgrund dieser Annahme wurde in einigen wenigen Studien das Einbringen von Strontium in Oberflächenbeschichtungen beschrieben. Kaihui Nan et al. beschrieben das Aufbringen einer mit Strontium dotierten Hydroxylapatitschicht auf Titan für eine mögliche medizinische Anwendung auf dentalen Implantaten [52]. Weichang Xue et al. untersuchten die Herstellung und das Verhalten einer mit zehn Molprozent dotierten, plasmagesprühten HA-Beschichtung und ihre Wirkung auf OPC1-Zellen (osteoblastic precursor cell line 1). Sie berichteten über eine Stimulierung der Zelldifferenzierung und der Aktivität der alkalischen Phosphatase in vitro [35].

Li et al. untersuchten die Fixierung hydroxylapatitbeschichteter Titanschrauben nach deren Implantation in osteoporotische Ratten bei gleichzeitiger oraler Strontiumgabe. Sie berichteten in dieser Studie über eine verbesserte Fixierung der Schrauben im Vergleich mit einer Kontrollgruppe [53].

Auch in dieser Arbeit wurde versucht, die positiven Eigenschaften von Strontium durch den Einbau in eine Oberflächenbeschichtung nutzbar zu machen. Es wurden aus diesem Grund zehn Prozent der Calciummenge an Strontium zum Elektrolyten vor der elektrochemischen Beschichtung hinzugegeben.

Im Röntgendiffraktogramm der mit zehn Prozent Strontium dotierten Schichten ließ sich kein direkter Nachweis für die Anwesenheit von Strontium führen. Es zeigte sich anhand der Glanzwinkel vor der Einlagerung die Anwesenheit von Calciumhydroxid. Nach der Einlagerung ließ sich anhand der Glanzwinkel der Nachweis der Umwandlung zu Hydroxylapatit führen.

Auch die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen der strontiumdotierten Beschichtungen ließen vor der Einlagerung keine strukturellen Abweichungen vom Bild

Diskussion

der reinen Calciumhydroxidbeschichtung erkennen. Nach Einlagerung waren linsenartig rundliche, sehr kompakte Oberflächenformationen vorhanden. Diese Linsenform ist mit einer in der Literatur beschriebenen typischen Struktur für Apatit vereinbar [6]. Diese Aussage wurde durch das Ergebnis der Röntgendiffraktometrie gestützt.

Für die untersuchte Schicht mit 10 % Strontiumdotierung des Elektrolyten ergab sich ein Anteil an Strontium von $5,54 \pm 0,6$ % der molaren Calciummenge. Die höchste gefundene Strontiumkonzentration betrug im Mittel nach sieben Tagen in 10 ml SBF ohne Medienwechsel $250,86 \pm 21,35$ $\mu\text{mol/l}$. Die größte kumulativ abgegebene Konzentration bei täglichem Medienwechsel betrug $256,89 \pm 55,4$ $\mu\text{mol/l}$, wobei bereits am ersten Tag $206,38$ $\mu\text{mol/l}$ und am zweiten Tag $33,45$ $\mu\text{mol/l}$ der gesamten $250,86$ $\mu\text{mol/l}$ an Konzentration abgegeben wurden. Dies lässt die Schlussfolgerung zu, dass die Abgabe von Strontium aus den damit dotierten Schichten zum überwiegenden Teil in den ersten beiden Tagen geschah.

Die biologische Wirkung von Strontium ist konzentrationsabhängig. Die Angabe einer toxischen Strontiumdosis war jedoch in der Literatur nicht zu finden. Die normale Dosis für die Gabe von Strontiumranelat (Protelos®) beträgt 1×2 g peroral pro Tag [49]. Im Tierversuch mit Ratten war sogar eine Gabe von bis zu 1000 mg pro Kilogramm Körpergewicht und Tag verträglich und hatte einen anabolen Effekt auf den periimplantären Knochen zur Folge [53]. Da selbst bei der höchsten in dieser Arbeit gemessenen über sieben Tage kumulativ abgegebenen Konzentration von $256,89$ $\mu\text{mol/l}$ in den verwendeten 10 ml SBF umgerechnet nur 0,23 mg Strontium in Lösung waren, ist keine systemische Toxizität durch die Dotierung anzunehmen. In der Situation in vivo kommt es zusätzlich zu einem stetigen Austausch von extrazellulärer Flüssigkeit im periimplantären Wundgebiet, weshalb auch eine lokale Toxizität unwahrscheinlich erscheint.

Es stellt sich jedoch die Frage nach der Wirksamkeit der abgegebenen Gesamtmenge an Strontium im Hinblick auf dessen anabolen Effekt auf den Knochenstoffwechsel. Zudem wäre es wünschenswert, eine längerfristige Abgabe von Strontium in das Medium bzw. das Wundgebiet zu erzielen. Die in dieser Arbeit beschriebene Auslagerung von Strontium erfolgt als Stoßabgabe innerhalb der ersten beiden Tage. Ein positiver Effekt von Strontium innerhalb dieses kurzen Zeitraums erscheint jedoch

fraglich. Die orale Gabe als Medikament erfolgt im Gegensatz dazu als Langzeittherapie.

Eine mögliche Erklärung der nur kurzfristigen Strontiumabgabe könnte die bekanntermaßen leichte Auswechselbarkeit von Strontium im Knochen (als HA-Entsprechung) sein. Es soll kurzfristig nur geringfügig an Kristallite durch Ionensubstitution gebunden sein. In einer ersten Phase soll Sr also an HA-Oberflächen adsorbiert werden, erst längerfristig soll dann eine teilweise Substitution von Ca durch Sr möglich sein und Sr im Skelett verbleiben [85]. Für eine HA-Beschichtung könnten entsprechende Effekte auftreten. Im Tierversuch war auch bei hochdosierter Strontiumgabe (750 mg/kg/d) in Affen weniger als eines von zehn Calciumionen substituiert. Dies würde eine leichte Löslichkeit und hohe Abgabe von Strontium innerhalb der ersten Tage erklären [85].

Eine andere Erklärungsmöglichkeit für die große Strontiumabgabe innerhalb der ersten Tage wäre die bekanntermaßen höhere Löslichkeit von Strontiumapatit im Vergleich zu HA, falls Sr auch teilweise Ca im HA substituiert hätte [35]. Diese Möglichkeiten ziehen jedoch nur die Abgabe nach der Umwandlung der Calciumhydroxidschicht zu HA in Betracht, die innerhalb des ersten Tages erfolgt. Die Art der Integration von Strontium in der Calciumhydroxidschicht war im Rahmen der verwendeten Methode (XRD) nicht zu klären, da keine chemischen Abweichungen zur reinen $\text{Ca}(\text{OH})_2$ -Schicht festgestellt wurden.

5.3. Die Dotierung mit Magnesium

Magnesium ist zu etwa einem Gewichtsprozent natürlicherweise im Hartgewebe vorhanden [1, 54]. Die extrazelluläre Ionenkonzentration beträgt 1 mmol/l [86]. Es wird stets mit einer Einflussnahme auf natürliche Mineralisierungsprozesse in Zusammenhang gebracht. Auf das Apatitkristallwachstum soll es eine inhibitorische Wirkung haben, so fanden Bigi et al. eine Reduktion der Apatitkristallitgrößen [54, 56-59, 87]. Auf die alkalische Phosphatase hingegen soll es eine aktivierende Wirkung haben. Die inhibitorische Wirkung auf das Apatitkristallwachstum soll durch die Adsorption der Ionen an den Apatit-Wachstumszentren geschehen [57]. Eine andere

Diskussion

biologische Wirkung entfaltet eine Mangel an Magnesium. Hypomagnesiämie führt zur Osteopenie [61].

Auch wenn Magnesium im Hartgewebe vorhanden ist und einen Einfluss auf die Steuerung des Kristallwachstums haben soll, so wird doch über die Frage der Möglichkeit des Einbaus von Magnesium im Hartgewebe kontrovers diskutiert. Terpsta et al. fanden durch die Röntgendiffraktometrie keinen Beweis für die Substitution von Calcium durch Magnesium in Apatiten [88]. Driessen et al. schlugen Dolomit [$\text{CaMg}(\text{CO}_3)_2$] als mögliche magnesiumhaltige Phase in Zähnen vor [60]. Magnesium ist im Knochen wahrscheinlich an die Oberfläche der Apatitkristalle angelagert. Es wird von einer kompetitiven Adsorption von Magnesium und Calcium auf Hydrathüllen biologischer Apatite [57, 58] berichtet. Magnesium wird also wenn, dann nur in sehr geringem Maße in das Kristallgitter integriert [58, 88].

Der Einbau von Magnesium in die mineralische Phase des Knochens soll mit einer verminderten Löslichkeit einhergehen [56, 58, 89]. Dies könnte für HA-Beschichtungen eine verlängerte Resorptionszeit bedeuten, was einen positiven Nebeneffekt bedeuten würde. Eine langsame Bioresorption der Beschichtung ist wichtig für das gute Anwachsen eines Implantates.

Es wurde in dieser Arbeit versucht, Magnesium aufgrund der beschriebenen Eigenschaften durch Zugabe von 10 mol% der molaren Stoffmenge des Calciums zum Elektrolyten mit in die Schicht einzubauen. Mit der Röntgendiffraktometrie waren für die Beschichtung mit der zehnpromzentigen Dotierung des Elektrolyten jedoch keine Verschiebungen der Glanzwinkel nachweisbar. Auch andere Peaks als die des Calciumhydroxides vor, bzw. die des Hydroxylapatites nach Einlagerung waren nicht zu erkennen. Die rasterelektronenmikroskopische Betrachtung stellte sich sehr ähnlich wie die der Beschichtung ohne Dotierung dar.

Die aufsteigende Beimischung von einem, fünf und zehnpromzentiger Dotierung des Elektrolyten führte gleichzeitig zu einem steigenden Magnesiumanteil in der Beschichtung. Für ein Prozent Dotierung ergab sich ein Anteil von $0,56 \pm 0,05$ % der molaren Calciummenge, für fünf Prozent $3,47 \pm 0,12$ % und für zehn Prozent $5,97 \pm 0,24$ % der molaren Calciummenge. Das Auslagerungsverhalten von Magnesium aus

der Schicht konnte durch die Interferenz mit dem Magnesium im SBF nicht gemessen werden.

Die Ergebnisse der Röntgendiffraktometrie decken sich mit der erwähnten Studie von Terpsta et al., die mit dieser Methode ebenfalls keinen Einbau von Magnesium in das Apatitkristallgitter nachweisen konnten. Der Nachweis von Magnesium in der Schicht vor der Einlagerung stellt keinen zwangsläufigen Widerspruch dar, da es durch Adsorption an andere Kristallite gebunden sein könnte. Das Ausbilden von Hydroxylapatit während der Einlagerung wurde in dieser Arbeit nicht unterdrückt. Dies könnte dafür sprechen, dass das durch Adsorption gebundene Magnesium in SBF rasch freigesetzt wird und die Ausbildung von HA zumindest nicht komplett inhibiert.

5.4. Die Einbringung von Zink

Zink spielt eine wichtige Rolle für Wachstum und Knochenbildung [65]. Es ist gut dokumentiert, dass Zink einen stimulierenden Effekt auf die Knochenbildung sowohl in vitro als auch in vivo besitzt [62, 90], indem es einen proliferativen Effekt auf Osteoblasten ausübt und Osteoklasten bereits in geringen Dosen hemmt [37]. Es stimuliert im Tierversuch die Induktion der alkalischen Phosphatase, eines Schlüsselenzyms des Knochenstoffwechsels und steigerte den DNA-Gehalt von Diaphysengewebe [62].

In der Literatur waren keine Berichte über zinkdotierte Oberflächen auf Titan zu finden. Jedoch gibt es eine ganze Reihe von Veröffentlichungen über Calciumphosphatkeramiken und andere Knochenersatzmaterialien, die mit Blick auf die positiven Eigenschaften im Knochengewebe durch Zinkzusätze modifiziert wurden. So berichteten Hesaraki et al. über Calciumsulfatknorpelzemente, die mit verschiedenen Mengen an Zink modifiziert wurden und in bestimmter Konzentration einen proliferativen Effekt auf Osteoblasten ausübten [67]. Ito et al. berichteten über eine zinkabgebende Calciumphosphatkeramik, die ebenfalls in gewissen Konzentrationen der Beimischung einen osteoblastenstimulierenden Effekt besaß [66]. Kawamura et al. beschrieben Calciumphosphatkeramikimplantate, die in Kaninchen eine verstärkte Knochenapposition im periimplantären Bereich zur Folge hatten [37].

Diskussion

Es wurde im Rahmen dieser Arbeit versucht, durch die Zugabe von drei Prozent Zink (der molaren Stoffmenge des Calciums) zum Elektrolyten Zink wegen der angeführten positiven biologischen Effekte mit in die Oberflächenbeschichtung mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$, bzw. HA einzubauen.

Das Röntgendiffraktogramm der Beschichtung zeigte vor Einlagerung nicht die typischen Glanzwinkel für Calciumhydroxid. Das starke Rauschen in der Kurve deutet auf das Vorliegen amorpher Strukturen hin. Jedoch zeigte sich ein Maximum für elementares Zink. Nach der einwöchigen Einlagerung in SBF zeigte sich die Bildung von HA, elementares Zink ließ sich jedoch nicht mehr nachweisen. Dies spricht für das Vorliegen einer Mischung aus Zink und amorphen Calciumverbindungen vor der Einlagerung. Nach Einlagerung scheint das elementare Zink entweder gelöst worden zu sein, oder es hat sich in mit dieser Methode nicht detektierbare Verbindungen umgewandelt. Die kleinen Titanpeaks wie auch der große Massenauftrag auf die Titanprobe sprechen für eine dicke Beschichtung.

Die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen zeigten ein deutlich von allen anderen Schichten abweichendes Bild einer blumenkohlartigen, wolkigen Oberfläche, die sich im Zuge der Einlagerung kaum veränderte.

Im Blutplasma erreicht Zink etwa eine Konzentration von 80-110 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (1,22 – 1,68 $\mu\text{mol}/\text{l}$) [37]. Typische über die Nahrung aufgenommene Zink-Tagesdosen sind 10-15 mg Zn/d [91].

Der oben angeführte stimulierende Effekt von Zink auf die Knochenbildung, gemessen am Calciumgehalt des Knochens, wurde in der Zellkultur bei Konzentrationen von 10^{-6} bis 10^{-3} mol/l beobachtet [92]. Andere Quellen berichteten, dass für die Hemmung der Osteoklastenaktivität, einhergehend mit einer signifikanten Hemmung der Knochenresorption, Konzentrationen zwischen 10^{-14} und 10^{-10} mol/l in vitro nötig waren. Diese Hemmung soll bei weiter ansteigender Konzentration dann erst wieder ab 10^{-4} mol/l einsetzen [65].

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich, dass durch die dreiprozentige Dotierung des Elektrolyten mit Zink der Zinkanteil der Schicht $4,96 \pm 0,35$ % der molaren Calciummenge betrug. Nach einer Woche Einlagerung der zinkdotierten Schichten in

Diskussion

SBF ohne Medienwechsel im Auslagerungsmedium ergab sich eine Konzentration von $5,2 \pm 0,19 \mu\text{mol Zn/l}$ in 10 ml SBF. Für die Versuchsreihe mit täglichem Wechsel des Mediums ergab sich am ersten Tag der Auslagerung eine Konzentration von $3,28 \pm 0,99 \mu\text{mol/l Zn}$ in 10 ml SBF. Am zweiten Tag wurden $1,41 \pm 0,71 \mu\text{mol/l}$ ausgelagert, am dritten Tag waren es nur noch $0,578 \pm 0,21 \mu\text{mol/l}$. Am vierten Tag mit Medienwechsel lag die Konzentration bereits unter der Nachweisgrenze. Kumulativ wurden innerhalb der ersten drei Tage $5,2174 \pm 1,92 \mu\text{mol Zink/l}$ ausgelagert, was recht genau der nach einer Woche erreichten Konzentration ohne Medienwechsel entspricht.

Ein toxischer Effekt durch die abgegebene Zinkkonzentration auf umgebendes Gewebe scheint unwahrscheinlich zu sein, da selbst die maximal aus der dotierten Schicht abgegebene Tagesdosis in 10 ml SBF nur dem 1,95-fachen der Zinkplasmakonzentration entspricht. Es kann bestätigt werden, dass diese innerhalb des ersten Tages abgegebene Dosis im Bereich der osteoblastenstimulierenden, bzw. osteoklastenhemmenden Konzentrationen liegt. Allerdings scheint die Zinkabgabe nach den ersten drei Tagen im Wesentlichen abgeschlossen zu sein. Da die Knochenheilung sich über Monate erstrecken kann, wäre jedoch eine längerfristige Abgabe wünschenswert. Es wäre daher im Weiteren zu überlegen, wie die Dauer der Abgabe verlängert werden könnte.

5.5. Die Dotierung mit Natrium und Kalium

Kalium und Natrium wurden in dieser Arbeit jeweils zu einem Anteil von 5 mol % der Calciummenge zum Elektrolyten hinzugegeben, um dadurch veränderte Abscheidungen erzeugen zu können. Die Dotierung des Elektrolyten mit beiden Kationen führte jeweils zu einer deutlich erhöhten Massenabscheidung. Im Diffraktogramm zeigten sich für beide Dotierungen ausgeprägte Maxima für Calciumhydroxid und kleine Maxima für Titan, was für dicke Oberflächenbeschichtungen spricht. In der Literatur war jedoch kein Hinweis auf die Ursache zu finden. Die Dotierung könnte jedoch aufgrund der erhöhten Massenabscheidung und Schichtdicke eine Möglichkeit zur Steuerung der Schichtdicke sein.

6. Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Möglichkeit der Fremdionendotierung von elektrochemisch auf Titan abgeschiedenen Calciumhydroxidschichten zu untersuchen. Die Dotierung wurde durch die Zugabe von Strontium-, Magnesium-, Silber- und Zinksalzen zum Elektrolyten erreicht.

Die Modifikation des Ausgangselektrolyten zeigte teils erhebliche Auswirkungen auf die abgeschiedenen Massen der Schichten. Eine Dotierung mit Silber und Zink hatte eine deutlich gesteigerte Massenabscheidung zur Folge. Die restlichen Dotierungen zeigten hingegen kaum Einflüsse auf die Massenabscheidung.

Es zeigten sich im Röntgendiffraktogramm für die Beschichtung mit dem Ausgangselektrolyten und der Dotierung mit Strontium und Magnesium jeweils vor Einlagerung die charakteristischen Beugungsreflexe für Calciumhydroxid. Nach sieben Tagen in SBF bildete sich in allen drei Fällen Hydroxylapatit.

Für die Dotierung des Elektrolyten mit Silber ließ sich als Schichtbestandteil neben Calciumhydroxid zusätzlich elementares Silber nachweisen. Nach der Einlagerung in SBF hatte sich das Calciumhydroxid ebenfalls in Hydroxylapatit umgewandelt. Die Dotierung des Elektrolyten mit Zink zeigte vor der Einlagerung keine Glanzwinkel für Calciumhydroxid, aber dafür für elementares Zink, vermutlich vermischt mit amorphen Calciumverbindungen. Nach der Einlagerung zeigte sich die Anwesenheit von Hydroxylapatit. Elementares Zink ließ sich nicht mehr detektieren.

Für die Beschichtungen ohne Dotierung, mit Magnesium und Strontium zeigten sich im Ausgangszustand jeweils durch Risse unterteilte, schollenartige Oberflächen. Nach einer Woche Einlagerung in SBF waren in den ersten beiden Fällen die typischen vernetzten, kugelförmigen Apatitformationen sichtbar.

Für die Dotierung mit Silber ergab sich vor Einlagerung eine zerklüftete Struktur mit zahlreichen Mikroporositäten. Nach der Silbereinlagerung glich die Oberfläche der der Strontiumdotierung nach Einlagerung. Für die Dotierung mit Zink ergaben sich jeweils vor und nach Einlagerung in SBF dieselben blumenkohlartigen Konglomerate.

Die silberdotierte Oberfläche enthielt $5,36 \pm 0,09$ % Silber. Im in vitro-Versuch entließ die Silberdotierung im Mittel relativ konstant über sieben Tage 812 ppb Silber pro Tag

Zusammenfassung

in 10 ml SBF. Die Maximalkonzentration nach sieben Tagen Einlagerung ohne Medienwechsel betrug $986,35 \pm 16,6$ ppb. Die freigesetzten Mengen in dieser Arbeit bewegen sich damit über der minimalen bakteriziden Dosis. Der in der Literatur angegebene Wirkungsbereich von 10^{-9} bis 10^{-6} mol/l wird eingehalten (Abgabe in dieser Arbeit: $8,11 * 10^{-6}$ mol/l/d).

Die strontiumdotierte Schicht (10 %) hatte einen prozentualer Strontiumanteil von $5,54 \pm 0,6$ %. Die höchste gemessene kumulative Strontiumkonzentration betrug nach sieben Tagen in 10 ml SBF ohne Medienwechsel $250,86 \pm 21,35$ μ mol/l. Der Großteil wurde während des ersten Tages abgegeben.

Die mit Zink dotierte Schicht (3 %) wies einen Zinkanteil der Schicht von $4,96 \pm 0,35$ Prozent auf. Nach einer Woche Einlagerung in SBF ohne Medienwechsel im Auslagerungsmedium ergab sich eine Zinkkonzentration von $5,2 \pm 0,19$ μ mol/l in 10 ml SBF. Kumulativ wurden innerhalb der ersten drei Tage $5,22 \pm 1,92$ μ mol Zink/l ausgelagert, danach sank die Abgabe unter die Nachweisgrenze.

Für die mit Magnesium dotierte Schicht (10 %) ergab sich ein Magnesiumanteil von $5,97 \pm 0,24$ Prozent.

Es gelang in dieser Arbeit eine Calciumhydroxidbeschichtung zu entwickeln, die zusätzlich elementares Silber enthielt. Die kurzfristige antiseptische Wirkung des Calciumhydroxides wurde so durch eine längerfristige ebenfalls antiseptische Silberionenabgabe ergänzt. Eine Anheftung und Vermehrung von Mikroorganismen im Biofilm kann durch die antiseptisch beschichtete Oberfläche verhindert werden. Damit könnte zukünftig eine Verringerung der postoperativ entzündlichen Komplikationen von Titanimplantaten erreicht werden.

Zunächst müssten weitere in-vitro-Studien die postulierte längerfristige antiseptische Wirkung der vorgestellten Schicht gegen Mikroorganismen untermauern und die Gewebeverträglichkeit mit eukaryonten Zellen belegen.

7. Literaturverzeichnis

1. Schroeder, H.E., *Orale Strukturbiologie*. 3 ed. 1987, Stuttgart, New York: Thieme Verlag. 117, 197.
2. LeGeros, R.Z., *Calcium phosphates in oral biology and medicine*. Monogr Oral Sci, 1991. **15**: p. 82-107.
3. Schwenger, N., Ehrenfeld, Michael, ed. *Allgemeine Chirurgie, Zahn-Mund- und Kieferheilkunde* Vol. 1, 3. 2000, Thieme Verlag: Stuttgart/New York. 193-214, 127-150.
4. Gradinger, R., Gollwitzer, H, ed. *Ossäre Integration*. 2006, Springer-Verlag GMBH: Heidelberg. 54, 64-67.
5. Kramme, R., ed. *Medizintechnik*. 3 ed. 2007, Springer Medizin Verlag: Heidelberg. 843-44.
6. Wang, C. X., W., M., *Nucleation and growth of apatite on chemically treated titanium alloy: an electrochemical impedance spectroscopy study*. Biomaterials, 2003(24): p. 3069-3070.
7. Kumar, M., H. Dasarathy, and C. Riley, *Electrodeposition of brushite coatings and their transformation to hydroxyapatite in aqueous solutions*. Journal of Biomedical Materials Research, 1999. **45**(4): p. 302-310.
8. Groot, K.D., R. Geesink, C.P.A.T. Klein, and P. Serekian, *Plasma sprayed coatings of hydroxylapatite*. Journal of Biomedical Materials Research, 1987. **21**(12): p. 1375-1381.
9. Prado Da Silva, M.H., Lima, J.H.C. et al. , *Transformation of monetite to hydroxylapatite in bioactive coatings on titanium*. Surface and Coatings Technology, 2001(137): p. 270-276.
10. de Bruijn, J.D., Y.P. Bovell, and C.A. van Blitterswijk, *Structural arrangements at the interface between plasma sprayed calcium phosphates and bone*. Biomaterials, 1994. **15**(7): p. 543.
11. Kumar, M., Xie, J. Et al., *Transformation of modified brushite to hydroxylapatite in aqueous solution: effects of potassium substitution*. Biomaterials, 1999(10): p. 1390, 1396.
12. Wang, B.C., T.M. Lee, E. Chang, and C.Y. Yang, *The shear strength and the failure mode of plasma-sprayed hydroxyapatite coating to bone: The effect of coating thickness*. Journal of Biomedical Materials Research, 1993. **27**(10): p. 1315-1327.
13. Meffert, R., Langer, M., ed. *Biokompatible Operationstechniken*. Hans Marseille Verlag GMBH: München. 56.
14. Cook, S.D., K.A. Thomas, J.E. Delton, T.K. Volkman, T.S.W. III, and J.F. Key, *Hydroxylapatite coating of porous implants improves bone ingrowth and interface attachment strength*. Journal of Biomedical Materials Research, 1992. **26**(8): p. 989-1001.
15. Ellies, L.G., D.G. Nelson, and J.D. Featherstone, *Crystallographic changes in calcium phosphates during plasma-spraying*. Biomaterials, 1992. **13**(5): p. 313.
16. Webster, T.J., C. Ergun, R.H. Doremus, and R. Bizios, *Hydroxylapatite with substituted magnesium, zinc, cadmium, and yttrium. II. Mechanisms of osteoblast adhesion*. Journal of Biomedical Materials Research, 2002. **59**(2): p. 312-317.
17. Kuo, M.C., Yen, S.K., *The process of electrochemical deposited hydroxylapatite coatings on biomedical titanium at room temperature*. Materials Science and Engineering, 2002(C20): p. 153, 155.
18. Song, W.H., H.S. Ryu, and S.H. Hong, *Antibacterial properties of Ag (or Pt)-containing calcium phosphate coatings formed by micro-arc oxidation*. J Biomed Mater Res A, 2009. **88**(1): p. 246-54.
19. Seiji Ban, S.M., *Hydrothermal-electrochemical deposition of hydroxyapatite*. Journal of Biomedical Materials Research, 1998. **42**(3): p. 387-395.
20. Braun, W., Thull, R., *Elektrochemische Abscheidung von Ca(OH)₂ auf Titan zur Unterstützung der Osteointegration*. BIOMaterialien, 2005(6(4)): p. 270-71.
21. Moseke, C., W. Braun, and A. Ewald, *Electrochemically Deposited Ca(OH)₂ Coatings as a Bactericidal and Osteointegrative Modification of Ti Implants*. Advanced Engineering Materials, 2009. **11**(3): p. B1-B6.
22. Ruchholtz, S., G. Tager, and D. Nast-Kolb, *Die infizierte Hüftgelenksendoprothese*. Unfallchirurg, 2004. **107**(4): p. 307-17; quiz 318-9.
23. Chen, W., S. Oh, A.P. Ong, N. Oh, Y. Liu, H.S. Courtney, M. Appleford, and J.L. Ong, *Antibacterial and osteogenic properties of silver-containing hydroxyapatite coatings produced using a sol gel process*. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2007. **82A**(4): p. 899-906.
24. Lew, D.P. and F.A. Waldvogel, *Osteomyelitis*. Lancet, 2004. **364**(9431): p. 369-79.

25. Chen, W., Y. Liu, H.S. Courtney, M. Bettenga, C.M. Agrawal, J.D. Bumgardner, and J.L. Ong, *In vitro anti-bacterial and biological properties of magnetron co-sputtered silver-containing hydroxyapatite coating*. *Biomaterials*, 2006. **27**(32): p. 5512-7.
26. Percival, S.L., P.G. Bowler, and D. Russell, *Bacterial resistance to silver in wound care*. *J Hosp Infect*, 2005. **60**(1): p. 1-7.
27. Nohr, R.S. and J.G. Macdonald, *New biomaterials through surface segregation phenomenon: new quaternary ammonium compounds as antibacterial agents*. *J Biomater Sci Polym Ed*, 1994. **5**(6): p. 607-19.
28. Deb, S., R. Doiron, L. Disilvio, S. Punyani, and H. Singh, *PMMA bone cement containing a quaternary amine comonomer with potential antibacterial properties*. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2008. **85**(1): p. 130-9.
29. Guggenbichler, J.P., M. Boswald, S. Lugauer, and T. Krall, *A new technology of microdispersed silver in polyurethane induces antimicrobial activity in central venous catheters*. *Infection*, 1999. **27 Suppl 1**: p. S16-23.
30. Hellwig, E., Klimek, J., Attin, T., ed. *Einführung in die Zahnerhaltung*. Vol. 1. 2007, Elsevier GmbH: München. 330f, 335, 343.
31. Silver, S., *Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds*. *FEMS Microbiol Rev*, 2003. **27**(2-3): p. 341-53.
32. Falbe, J., Regitz, Manfred, ed. *Römpp Chemie Lexikon*. ed. H. Römpp. Vol. 5. 1995, Thieme: Stuttgart, New York. 2590, 4154f, 4347, 5136ff.
33. Berger, T.J., J.A. Spadaro, S.E. Chapin, and R.O. Becker, *Electrically generated silver ions: quantitative effects on bacterial and mammalian cells*. *Antimicrob Agents Chemother*, 1976. **9**(2): p. 357-8.
34. Shimazaki, T., H. Miyamoto, Y. Ando, I. Noda, Y. Yonekura, S. Kawano, M. Miyazaki, M. Mawatari, and T. Hotokebuchi, *In vivo antibacterial and silver-releasing properties of novel thermal sprayed silver-containing hydroxyapatite coating*. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*. **92B**(2): p. 386-389.
35. Weichang Xue, H.L.H., Amit Bandyopadhyay, Susmita Bose, Chuanxian Ding, *Preparation and cell-materials interactions of plasma sprayed strontium-containing hydroxyapatite coating*. *Surface and Coatings Technology*, 2007. **201**(8): p. 4685-4693.
36. Gineste, L., M. Gineste, X. Ranz, A. Elleferion, A. Guilhem, N. Rouquet, and P. Frayssinet, *Degradation of hydroxylapatite, fluorapatite, and fluorhydroxyapatite coatings of dental implants in dogs*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 1999. **48**(3): p. 224-234.
37. Haruo Kawamura, A.I., Shunpei Miyakawa, Pierre Layrolle, Kenji Ojima, Noboru Ichinose, Tetsuya Tateishi,, *Stimulatory effect of zinc-releasing calcium phosphate implant on bone formation in rabbit femora*. *Journal of Biomedical Materials Research*, 2000. **50**(2): p. 184-190.
38. Kawamura, H., A. Ito, T. Muramatsu, S. Miyakawa, N. Ochiai, and T. Tateishi, *Long-term implantation of zinc-releasing calcium phosphate ceramics in rabbit femora*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2003. **65A**(4): p. 468-474.
39. Li, Z., W.W. Lu, P.K.Y. Chiu, R.W.M. Lam, B. Xu, K.M.C. Cheung, J.C.Y. Leong, and K.D.K. Luk, *Strontium-calcium coadministration stimulates bone matrix osteogenic factor expression and new bone formation in a large animal model*. *Journal of Orthopaedic Research*, 2009. **27**(6): p. 758-762.
40. Pors Nielsen, S., *The biological role of strontium*. *Bone*, 2004. **35**(3): p. 583-8.
41. Meunier, P.J., C. Roux, E. Seeman, S. Ortolani, J.E. Badurski, T.D. Spector, J. Cannata, A. Balogh, E.M. Lemmel, S. Pors-Nielsen, R. Rizzoli, H.K. Genant, and J.Y. Reginster, *The effects of strontium ranelate on the risk of vertebral fracture in women with postmenopausal osteoporosis*. *N Engl J Med*, 2004. **350**(5): p. 459-68.
42. Meunier, P.J., C. Roux, S. Ortolani, M. Diaz-Curiel, J. Compston, P. Marquis, C. Cormier, G. Isaia, J. Badurski, J.D. Wark, J. Collette, and J.Y. Reginster, *Effects of long-term strontium ranelate treatment on vertebral fracture risk in postmenopausal women with osteoporosis*. *Osteoporos Int*, 2009. **20**(10): p. 1663-73.
43. Meunier, P.J., D.O. Slosman, P.D. Delmas, J.L. Sebert, M.L. Brandi, C. Albanese, R. Lorenc, S. Pors-Nielsen, M.C. De Vernejoul, A. Roces, and J.Y. Reginster, *Strontium ranelate: dose-dependent effects in established postmenopausal vertebral osteoporosis--a 2-year randomized placebo controlled trial*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002. **87**(5): p. 2060-6.
44. Roux, C., J.Y. Reginster, J. Fechtenbaum, S. Kolta, A. Sawicki, Z. Tulassay, G. Luisetto, J.M. Padrino, D. Doyle, R. Prince, P. Fardellone, O.H. Sorensen, and P.J. Meunier, *Vertebral fracture*

- risk reduction with strontium ranelate in women with postmenopausal osteoporosis is independent of baseline risk factors.* J Bone Miner Res, 2006. **21**(4): p. 536-42.
45. Shahnazari, M., N.A. Sharkey, G.J. Fosmire, and R.M. Leach, *Effects of Strontium on Bone Strength, Density, Volume, and Microarchitecture in Laying Hens.* Journal of Bone and Mineral Research, 2006. **21**(11): p. 1696-1703.
46. Pfeilschifter, J. *Prophylaxe, Diagnostik und Therapie der OSTEOPOROSE bei Frauen ab der Menopause, bei Männern ab dem 60. Lebensjahr.* 2006 07.02.2010]; 2:[Available from: <http://www.dv-osteologie.org/uploads/leitlinien/Langfassung%20DVO%20Leitlinie%2011-05-06.pdf>.
47. Blake, G.M. and I. Fogelman, *Long-term effect of strontium ranelate treatment on BMD.* J Bone Miner Res, 2005. **20**(11): p. 1901-4.
48. Takahashi, N., T. Sasaki, Y. Tsouderos, and T. Suda, *S 12911-2 inhibits osteoclastic bone resorption in vitro.* J Bone Miner Res, 2003. **18**(6): p. 1082-7.
49. (KBV), K.B. *Strontiumranelat (Protelos®).* WIRKSTOFF AKTUELL 2009; 01:[Available from: <http://daris.kbv.de/daris/doccontent.dll?LibraryName=EXTDARIS^DMSSLAVE&SystemType=2&LogonId=aa06110a23b250c461a48ec661838a19&DocId=003758212&Page=1>.
50. Reginster, J.Y., E. Seeman, M.C. De Vernejoul, S. Adami, J. Compston, C. Phenekos, J.P. Devogelaer, M.D. Curiel, A. Sawicki, S. Goemaere, O.H. Sorensen, D. Felsenberg, and P.J. Meunier, *Strontium ranelate reduces the risk of nonvertebral fractures in postmenopausal women with osteoporosis: Treatment of Peripheral Osteoporosis (TROPOS) study.* J Clin Endocrinol Metab, 2005. **90**(5): p. 2816-22.
51. Duarte, P.M., J.B. Cesar Neto, P.F. Goncalves, E.A. Sallum, and F.H. Nociti, *Estrogen deficiency affects bone healing around titanium implants: a histometric study in rats.* Implant Dent, 2003. **12**(4): p. 340-6.
52. Kaihui Nan, T.W., Jionghao Chen, Shan Jiang, Yong Huang, Guoxian Pei, *Strontium doped hydroxyapatite film formed by micro-arc oxidation* Materials Science and Engineering: C, 2009. **29**(5): p. 1554-1558
53. Li, Y., G. Feng, Y. Gao, E. Luo, X. Liu, and J. Hu, *Strontium ranelate treatment enhances hydroxyapatite-coated titanium screws fixation in osteoporotic rats.* J Orthop Res, 2009.
54. Wiesmann, H.P., T. Tkotz, U. Joos, K. Zierold, U. Stratmann, T. Szuwart, U. Plate, and H.J. Hohling, *Magnesium in newly formed dentin mineral of rat incisor.* J Bone Miner Res, 1997. **12**(3): p. 380-3.
55. Tsuboi, S., H. Nakagaki, K. Ishiguro, K. Kondo, M. Mukai, C. Robinson, and J.A. Weatherell, *Magnesium distribution in human bone.* Calcif Tissue Int, 1994. **54**(1): p. 34-7.
56. Bigi, A., E. Foresti, R. Gregorini, A. Ripamonti, N. Roveri, and J.S. Shah, *The role of magnesium on the structure of biological apatites.* Calcif Tissue Int, 1992. **50**(5): p. 439-44.
57. Aoba, T., E.C. Moreno, and S. Shimoda, *Competitive adsorption of magnesium and calcium ions onto synthetic and biological apatites.* Calcif Tissue Int, 1992. **51**(2): p. 143-50.
58. Serre, C.M., M. Papillard, P. Chavassieux, J.C. Voegel, and G. Boivin, *Influence of magnesium substitution on a collagen-apatite biomaterial on the production of a calcifying matrix by human osteoblasts.* Journal of Biomedical Materials Research, 1998. **42**(4): p. 626-633.
59. Bachra, B.N. and H.R. Fischer, *The effect of some inhibitors on the nucleation and crystal growth of apatite.* Calcif Tissue Res, 1969. **3**(4): p. 348-57.
60. Driessens, F.C. and R.M. Verbeeck, *Dolomite as a possible magnesium-containing phase in human tooth enamel.* Calcif Tissue Int, 1985. **37**(4): p. 376-80.
61. Boskey, A.L., C.M. Rimnac, M. Bansal, M. Federman, J. Lian, and B.D. Boyan, *Effect of short-term hypomagnesemia on the chemical and mechanical properties of rat bone.* J Orthop Res, 1992. **10**(6): p. 774-83.
62. Yamaguchi, M. and R. Yamaguchi, *Action of zinc on bone metabolism in rats. Increases in alkaline phosphatase activity and DNA content.* Biochem Pharmacol, 1986. **35**(5): p. 773-7.
63. Hall, S.L., H.P. Dimai, and J.R. Farley, *Effects of zinc on human skeletal alkaline phosphatase activity in vitro.* Calcif Tissue Int, 1999. **64**(2): p. 163-72.
64. Kishi, S. and M. Yamaguchi, *Inhibitory effect of zinc compounds on osteoclast-like cell formation in mouse marrow cultures.* Biochem Pharmacol, 1994. **48**(6): p. 1225-30.
65. Moonga, B.S. and D.W. Dempster, *Zinc is a potent inhibitor of osteoclastic bone resorption in vitro.* Journal of Bone and Mineral Research, 1995. **10**(3): p. 453-457.

66. Ito, A., K. Ojima, H. Naito, N. Ichinose, and T. Tateishi, *Preparation, solubility, and cytocompatibility of zinc-releasing calcium phosphate ceramics*. Journal of Biomedical Materials Research, 2000. **50**(2): p. 178-183.
67. Hesaraki, S., R. Nemati, and H. Nazarian, *Physico-chemical and in vitro biological study of zinc-doped calcium sulfate bone substitute*. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 2009. **91B**(1): p. 37-45.
68. Rassner, G., ed. *Dermatologie Lehrbuch und Atlas*. 2002, Urban & Fischer: München, Jena. 26f.
69. Brecevic, L. and H. Furedi-Milhofer, *Precipitation of calcium phosphates from electrolyte solutions. V. The influence of citrate ions*. Calcif Tissue Int, 1979. **28**(2): p. 131-6.
70. Song, W.-H., H.S. Ryu, and S.-H. Hong, *Antibacterial properties of Ag (or Pt)-containing calcium phosphate coatings formed by micro-arc oxidation*. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2009. **88A**(1): p. 246-254.
71. Ohtsuki, C., H. Kushitani, T. Kokubo, S. Kotani, and T. Yamamuro, *Apatite formation on the surface of Ceravital-type glass-ceramic in the body*. J Biomed Mater Res, 1991. **25**(11): p. 1363-70.
72. Kokubo, T., H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, and T. Yamamuro, *Solutions able to reproduce in vivo surface-structure changes in bioactive glass-ceramic A-W*. J Biomed Mater Res, 1990. **24**(6): p. 721-34.
73. Kawashita, M., M. Nakao, M. Minoda, H.M. Kim, T. Beppu, T. Miyamoto, T. Kokubo, and T. Nakamura, *Apatite-forming ability of carboxyl group-containing polymer gels in a simulated body fluid*. Biomaterials, 2003. **24**(14): p. 2477.
74. Bader, F., Oberholz, Heinz-Werner, ed. *Physik in einem Band*. Schroedel Verlag GMBH. 2002. S. 499ff.
75. George, N., J. Faoagali, and M. Muller, *Silvazine (silver sulfadiazine and chlorhexidine) activity against 200 clinical isolates*. Burns, 1997. **23**(6): p. 493-5.
76. Agarwal, A., T.L. Weis, M.J. Schurr, N.G. Faith, C.J. Czuprynski, J.F. McAnulty, C.J. Murphy, and N.L. Abbott, *Surfaces modified with nanometer-thick silver-impregnated polymeric films that kill bacteria but support growth of mammalian cells*. Biomaterials. **31**(4): p. 680-90.
77. Ewald, A., S.K. Gluckermann, R. Thull, and U. Gbureck, *Antimicrobial titanium/silver PVD coatings on titanium*. Biomed Eng Online, 2006. **5**: p. 22.
78. Vik, H., K.J. Andersen, K. Julshamn, and K. Todnem, *Neuropathy caused by silver absorption from arthroplasty cement*. Lancet, 1985. **1**(8433): p. 872.
79. Gosheger, G., J. Harges, H. Ahrens, A. Streitburger, H. Buerger, M. Erren, A. Gonsel, F.H. Kemper, W. Winkelmann, and C. Von Eiff, *Silver-coated megaendoprostheses in a rabbit model--an analysis of the infection rate and toxicological side effects*. Biomaterials, 2004. **25**(24): p. 5547-56.
80. Wadhwa, A. and M. Fung, *Systemic argyria associated with ingestion of colloidal silver*. Dermatol Online J, 2005. **11**(1): p. 12.
81. Prescott, R.J. and S. Wells, *Systemic argyria*. J Clin Pathol, 1994. **47**(6): p. 556-7.
82. Kumar, R. and H. Munstedt, *Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites*. Biomaterials, 2005. **26**(14): p. 2081-8.
83. Hidalgo, E., R. Bartolome, C. Barroso, A. Moreno, and C. Dominguez, *Silver nitrate: antimicrobial activity related to cytotoxicity in cultured human fibroblasts*. Skin Pharmacol Appl Skin Physiol, 1998. **11**(3): p. 140-51.
84. Boosalis, M.G., J.T. McCall, D.H. Ahrenholz, L.D. Solem, and C.J. McClain, *Serum and urinary silver levels in thermal injury patients*. Surgery, 1987. **101**(1): p. 40-3.
85. Boivin, G., P. Deloffre, B. Perrat, G. Panczer, M. Boudeulle, Y. Mauras, P. Allain, Y. Tsouderos, and P.J. Meunier, *Strontium distribution and interactions with bone mineral in monkey iliac bone after strontium salt (S 12911) administration*. J Bone Miner Res, 1996. **11**(9): p. 1302-11.
86. Huppelsberg, J., Walter, Kerstin, *Kurzlehrbuch Physiologie*. 2 ed. 2005, Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
87. Wilson, J.W., P.G. Werness, and L.H. Smith, *Inhibitors of crystal growth of hydroxyapatite: a constant composition approach*. J Urol, 1985. **134**(6): p. 1255-8.
88. Terpstra, R.A. and F.C. Driessens, *Magnesium in tooth enamel and synthetic apatites*. Calcif Tissue Int, 1986. **39**(5): p. 348-54.

Literaturverzeichnis

89. Klein, C.P., A.A. Driessen, K. de Groot, and A. van den Hooff, *Biodegradation behavior of various calcium phosphate materials in bone tissue*. J Biomed Mater Res, 1983. **17**(5): p. 769-84.
90. Hashizume, M. and M. Yamaguchi, *Stimulatory effect of beta-alanyl-L-histidinato zinc on cell proliferation is dependent on protein synthesis in osteoblastic MC3T3-E1 cells*. Mol Cell Biochem, 1993. **122**(1): p. 59-64.
91. Mares-Perlman, J.A., A.F. Subar, G. Block, J.L. Greger, and M.H. Luby, *Zinc intake and sources in the US adult population: 1976-1980*. J Am Coll Nutr, 1995. **14**(4): p. 349-57.
92. Yamaguchi, M., H. Oishi, and Y. Suketa, *Stimulatory effect of zinc on bone formation in tissue culture*. Biochem Pharmacol, 1987. **36**(22): p. 4007-12.

Danksagung

Danken möchte ich Herrn **Privatdozent Dr. Uwe Gbureck** für die freundliche Überlassung des Promotionsthemas und der Möglichkeit, die Abteilungslaboratorien jederzeit nutzen zu dürfen.

Mein besonderer Dank gebührt Herrn **Dr. Claus Moseke** für die immer zeitnahe und engagierte Betreuung, das gute Arbeitsklima und den tollen Humor, mit dem er mich durch alle Phasen der Arbeit führte.

Ich danke ebenfalls Herrn **Prof. Dr. Dr. Kübler** für die freundliche Übernahme des Koreferates.

Meinen Eltern Frau **Susanne Hipp** und Herrn **Dr. Horst Hipp** danke ich für die uneingeschränkte Unterstützung bis auf den heutigen Tag.

Ebenso danke ich meinem Mitdoktoranden Herrn **Zahnarzt Florian Wenninger** für die moralische Unterstützung und die enge Freundschaft während und nach den Laborarbeiten und Frau **cand. med. Johanna Keck** und Frau **cand. med. Sophia Danhof** für die wertvolle Hilfe bei der Erstellung dieser Arbeit.

CURRICULUM VITAE

Persönliches

.....

Name	Matthias Hipp
Geburtstag	31. Juli 1984
Geburtsort	Friedrichshafen am Bodensee
Eltern	Dr. med. Horst Hipp Susanne Hipp
Geschwister	Stephan, Florian, Hadmut und Viola Hipp

Schullaufbahn

.....

1990 - 1995	Grundschule Thalheim
1995 - 2004	Martin Heidegger-Gymnasium Meßkirch
Juni 2004	Allgemeine Hochschulreife

Studium

.....

2004 - 2005	Studium der Zahnmedizin an der Universität Ulm
2005	Naturwissenschaftliche Vorprüfung
zum WS 2005/06	Studienortwechsel und Fortsetzung des Studiums an der Universität Würzburg
Frühjahr 2007	Zahnärztliche Vorprüfung
seit Januar 2008	experimentelle Dissertation am Lehrstuhl der Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnmedizin
seit September 2009	Studium der Medizin an der Universität Würzburg. Ziel: Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
Bis einschl. November 2009	Staatsexamen Zahnmedizin
Dezember 2009	Approbation als Zahnarzt
August 2010	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

CURRICULUM VITAE

berufliche Entwicklung

.....

seit Mai 2010

Dozent der MEDI-LEARN GbR für den
Lehrbereich Anatomie

Seit November 2010

Tätigkeit als Zahnarzt

studienbegleitende Veranstaltungen

.....

Juli/August 2007

Summer School an der Newcastle
University upon Tyne

August/September 2008

Famulatur in Madhya Pradesh, Indien
(Padhar Hospital) in den Abteilungen
Zahnmedizin, Chirurgie, sowie Mund-,
Kiefer- und Gesichtschirurgie

außeruniversitäres Engagement

.....

2006

Gründung des Debattierclubs Würzburg
Colloquia Herbipolensia e.V.
Mitglied im Vorstand der
Jungen Europäer Würzburg e.V. (JEF)

2006 – 2007 und 2010 - 2011

Präsident des Debattierclubs Würzburg
Colloquia Herbipolensia e.V.

seit 2007

Teilnahme als Redner an bundesweiten
und europäischen Hochschul-
debattierwettbewerben („ZEIT-
Debatten“) sowie Professorendebatten.
Moderation der *Süddeutschen
Debattiermeisterschaft 2009* in
Würzburg.