
**Aus dem Zentrum für Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin**

DISSERTATION

Rezeptur und werkstoffkundliche Testung
eines monomerfreien Knochenzementes
auf Acrylatbasis

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Franziska Bianca Hausding
aus Bad Saarow

Gutachter:

1. Prof. Dr. Klaus-Peter Lange (Berlin)
2. Prof. Dr. Wolfgang B. Freesmeyer (Berlin)
3. Prof. Dr. Michael Walter (Dresden)

Datum der Promotion: 08. Juni 2007

Ich widme diese Arbeit meinen Eltern, die mich in jeder Lebenssituation unterstützt und immer an das Gelingen geglaubt haben.

1. Einleitung	3
1.1. Historie der Knochenzemente	3
1.2. Zusammensetzung von Knochenzementen	7
1.3. Eigenschaften von Knochenzementen	10
1.3.1. Biegefestigkeit/Härte von Knochenzementen	15
1.3.2. Quellung und Formveränderungen von Knochenzementen	16
1.3.3. Verbundfestigkeit zwischen Knochen und Implantat	17
1.3.4. Porosität von Knochenzementen	19
1.3.5. Biologische Eigenschaften	21
2. Problemstellung	24
3. Ziel- und Aufgabenstellung	26
4. Material und Methoden	27
4.1. Grundkomponenten des experimentellen Knochenzementes	27
4.1.1. säurezahlmodifiziertes Polymethacrylate (PMMA)	28
4.1.2. Lösungsmittel	29
4.1.2.1. Acetessigsäureethylester (AEE)	29
4.1.2.2. Ethanol (EtOH)	30
4.1.3. Zusätze	30
4.1.3.1. Keramiken	30
4.1.3.1.1. Tetracalciumphosphat (TETRA)	31
4.1.3.1.2. GB14	31
4.1.4. weitere anorganische Zusatzkomponenten:	31
4.1.4.1. Zinkoxid (ZnO)	31
4.1.4.2. Calciumzirkonphosphat (CZP)	32
4.1.4.3. Titandioxid (TiO₂)	32
4.1.4.4. Natriumfluorid (NaF)	32
4.2. Vorversuche	33

4.2.1. Mischungsverhältnisse	33
4.2.2. Portionieren der Komponenten	34
4.2.3. Probekörperform	34
4.2.4. Probekörper	35
4.2.5. Umgebungsbedingungen	35
4.3. Biegeprüfung im Dynstat-Gerät (DIN 51453)	36
4.3.1. Probekörper	36
4.3.2. Probenkontrolle	37
4.3.3. Dynstat-Gerät	37
4.3.4. Biegebruchfestigkeit	38
4.3.4.1. Biegemoment	38
4.3.4.2. Widerstandsmoment (W)	39
4.3.4.3. Probekörper	39
4.4. Druckspannung/Härte	39
4.5. Verfahren zur Werkstoffanalytik	41
4.5.1. Durchlichtmikroskopie	41
4.5.2. Rasterelektronenmikroskopie (REM)	41
4.5.2.1. Vorbereitung der Proben	42
4.5.3. Fluoreszenzmikroskopie	42
4.6. Biokompatibilitätstestung	43
4.6.2. Zytotoxizitätstest mit primären humanen Osteoblasten	47
4.6.3. Osteoblastäre Eigenschaften	47
4.6.4. Nachweis Alkalischer Phosphatase (ALP)	48
4.6.5. Darstellung der extrazellulären Matrix	48
4.7. Statische Bewertung der Untersuchungsergebnisse	49
4.7.1. Die Varianzanalyse	49
4.7.2. allgemeine Fehleranalyse	50
5. Ergebnisse	51
5.1. Vorversuche	51

5.1.1. Lösungsmittel für die Zusätze	51
5.1.2. Auswahl des Verhältnisses von Feststoff zu Polymeransatz.....	52
5.1.3. Abbindereaktion.....	54
5.1.4. Auswertung der Vorversuche.....	55
5.2. Reproduzierbarkeit der Zusammensetzung.....	56
5.3. Werkstoffkundliche Eigenschaften	57
5.3.1. Ergebnis des Vier-Punkt-Biegeversuches.....	57
5.3.2. Ergebnis der Druckspannungsprüfung.....	59
5.3.3. Auswertung der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen.....	61
5.3.4. Ergebnisse der Zellkulturtests.....	63
5.3.4.2. Zahl der abgestorbenen primären humanen Osteoblasten (24h-Eluate)	63
5.3.4.3. Zahl der abgestorbenen primären humanen Osteoblasten (48h-Eluate)	64
5.3.4.4. ALP-Aktivität (24h- und 48h-Eluate).....	65
5.3.4.5. ALP-Aktivität (Direktaufлагetest)	66
5.3.4.6. Zytotoxizitätstest mit Saos-2 –Zellen.....	67
5.3.4.7. Zytotoxizitätstest (Direktaufлагetest)	68
5.3.5. Fluoreszenzmikroskopieauswertung	71
6. Diskussion	73
7. Zusammenfassung.....	82
8. Literaturverzeichnis.....	84
Anhang.....	
Messwerte Biegebruchfestigkeit.....	
Messwerte Druckspannung.....	
Rasterelektronische Aufnahmen.....	
Anzahl der abgestorbenen Zellen im 24 h – und 48 h- Eluat.....	
Messwerte ALP-Test I.....	
Messwerte ALP-Test II.....	
Fotographische Dokumentation	

Tabellenverzeichnis.....

Abbildungsverzeichnis.....

Abkürzungsverzeichnis.....

Thesen.....

Erklärung.....

Lebenslauf.....

Danksagung.....

Anhang

Messwerte Biegebruchfestigkeit

Biegefestigkeit

Lagerung: **24 Sunden** bei 37°C in Aqua dest.

Mssg.	Breite [mm]	Höhe [mm]	M _b [Nmm]	W [mm ³]	Biegefestigkeit [N/mm ²]
M1	9,06	1,92	45	5,57	8,08
	9,37	1,95	50	5,94	8,42
	9,52	1,81	35	5,20	6,73
	9,06	1,77	30	4,73	6,34
	9,1	1,89	35	5,42	6,46
	9,15	2,01	40	6,16	6,49
	9,31	1,98	40	6,08	6,58
	9,23	1,99	40	6,09	6,57
	9,12	2,01	35	6,14	5,70
	9,08	1,81	40	4,96	8,07
					6,94
					0,91
M 2	9,78	2,08	30	7,05	4,25
	9,56	1,88	30	5,63	5,33
	9,64	2,28	40	8,35	4,79
	9,24	1,79	35	4,93	7,09
	9,25	2,02	40	6,29	6,36
	9,52	1,88	30	5,61	5,35
	9,57	1,92	35	5,88	5,95
	9,61	2,28	40	8,33	4,80
	9,23	2,01	35	6,22	5,63
	9,25	2,02	40	6,29	6,36
					5,59
					0,87
M 3	9,42	2,23	30	7,81	3,84
	9,63	1,96	30	6,17	4,87
	10,3	2,26	40	8,77	4,56
	9,69	2,2	40	7,82	5,12
	9,89	2,21	40	8,05	4,97
	10,05	2,21	40	8,18	4,89
	9,41	2,22	35	7,73	4,53
	9,58	2,26	40	8,16	4,90
	9,93	2,25	40	8,38	4,77
	10,02	2,2	40	8,08	4,95
					4,74
					0,36

Tabellenanhang

M 4	9,16	2,43	50	9,01	5,55
	9,04	2,12	50	6,77	7,38
	9,01	1,77	35	4,70	7,44
	9,02	2,25	45	7,61	5,91
	9,05	2,3	45	7,98	5,64
	9,18	2,05	40	6,43	6,22
	9,18	2,41	50	8,89	5,63
	9,02	2,13	45	6,82	6,60
	9,05	2,31	45	8,05	5,59
	9,13	2,41	40	8,84	4,53
					6,05
					0,89
	M 5	8,77	2,33	50	7,94
9,03		2,15	45	6,96	6,47
8,81		2,4	45	8,46	5,32
9,1		2,11	40	6,75	5,92
9,18		2,15	40	7,07	5,66
9,21		2,12	40	6,90	5,80
8,81		2,31	45	7,84	5,74
9,12		2,23	40	7,56	5,29
9,18		2,15	40	7,07	5,66
9,21		2,15	40	7,10	5,64
					5,78
					0,38
M 6		8,94	2,02	35	6,08
	8,7	2,14	35	6,64	5,27
	8,89	2,24	50	7,43	6,73
	8,74	2,23	35	7,24	4,83
	8,88	2,25	40	7,49	5,34
	9,01	2,16	40	7,01	5,71
	9,01	2,02	40	6,13	6,53
	8,89	2,24	35	7,43	4,71
	9,03	2,15	40	6,96	5,75
	8,92	2,23	40	7,39	5,41
					5,60
					0,65
	M 7	9,27	2,23	30	7,68
9,04		2,33	35	8,18	4,28
9,18		1,92	30	5,64	5,32
9,19		2,25	30	7,75	3,87
9,23		2,21	35	7,51	4,66
9,17		2,2	35	7,40	4,73
9,31		2,21	35	7,58	4,62
9,22		2,13	35	6,97	5,02
9,18		2,13	30	6,94	4,32
9,26		2,16	35	7,20	4,86
					4,56
					0,47

Tabellenanhang

Biegefestigkeit

Lagerung: **1 Woche** bei 37°C in Aqua dest.

Mssg.	Breite [mm]	Höhe [mm]	Mb [Nmm]	W [mm ³]	Biegefestigkeit [N/mm ²]
M1	9,49	2,32	50	8,51	5,87
	9,55	2,16	45	7,43	6,06
	9,4	2,25	50	7,93	6,30
	9,51	2,23	55	7,88	6,98
	9,56	2,21	50	7,78	6,43
	9,52	2,23	55	7,89	6,97
	9,51	2,31	45	8,46	5,32
	9,45	2,23	50	7,83	6,38
	9,57	2,21	50	7,79	6,42
	9,52	2,25	45	8,03	5,60
					6,23
					0,54
M 2	9,52	2,55	45	10,32	4,36
	9,63	2,64	35	11,19	3,13
	9,93	2,23	30	8,23	3,65
	9,21	2,32	35	8,26	4,24
	9,33	2,41	40	9,03	4,43
	9,45	2,35	40	8,70	4,60
	9,53	2,54	45	10,25	4,39
	9,61	2,51	50	10,09	4,96
	9,24	2,33	45	8,36	5,38
	9,33	2,44	45	9,26	4,86
					4,40
					0,64
M 3	9,7	2,21	30	7,90	3,80
	9,51	2,22	35	7,81	4,48
	9,74	2,44	45	9,66	4,66
	9,28	2,57	40	10,22	3,92
	9,31	2,33	45	8,42	5,34
	9,41	2,42	40	9,18	4,36
	9,69	2,2	35	7,82	4,48
	9,74	2,35	40	8,96	4,46
	9,31	2,31	40	8,28	4,83
	9,39	2,41	45	9,09	4,95
					4,53
					0,46

Tabellenanhang

M 4	9,26	2,05	40	6,49	6,17
	9,24	1,99	35	6,10	5,74
	9,16	1,95	45	5,81	7,75
	9,27	2,08	40	6,68	5,98
	9,31	2,03	40	6,39	6,26
	9,35	2,11	45	6,94	6,49
	9,25	2,03	40	6,35	6,30
	9,15	1,99	45	6,04	7,45
	9,31	2,02	40	6,33	6,32
	9,35	2,12	45	7,00	6,43
					6,49
					0,63
M 5	9,02	1,72	35	4,45	7,87
	9,29	1,9	40	5,59	7,16
	9,1	1,71	30	4,43	6,76
	9,05	2,01	35	6,09	5,74
	9,11	2,04	40	6,32	6,33
	9,15	1,89	40	5,45	7,34
	9,01	1,88	35	5,31	6,59
	9,12	1,79	40	4,87	8,21
	9,05	2,01	35	6,09	5,74
	9,16	2,02	40	6,23	6,42
					6,82
					0,83
M 6	9,01	1,77	35	4,70	7,44
	9,09	1,67	35	4,23	8,28
	9,07	1,88	30	5,34	5,61
	9,06	1,74	35	4,57	7,66
	9,1	1,89	35	5,42	6,46
	9,05	1,7	35	4,36	8,03
	9,05	1,81	35	4,94	7,08
	9,1	1,87	40	5,30	7,54
	9,04	1,88	35	5,33	6,57
	9,12	1,89	40	5,43	7,37
					7,20
					0,80
M 7	9,42	2,05	30	6,60	4,55
	9,25	2,17	35	7,26	4,82
	9,44	2,09	35	6,87	5,09
	9,12	2,02	40	6,20	6,45
	9,32	2,1	40	6,85	5,84
	9,41	2,06	40	6,66	6,01
	9,44	2,06	35	6,68	5,24
	9,32	2,12	40	6,98	5,73
	9,4	2,03	40	6,46	6,20
	9,22	2,13	40	6,97	5,74
					5,57
					0,62

Messwerte Druckspannung

Druckspannung

Lagerung: **24h** bei 37°C in H₂O dest.

Masse:	[g]	750	1250
Durchmesser:	[mm]	1,95	1,95
Druckfestigkeit:	[N/mm ²]	1,93	3,22

Messung Eindrucktiefe [μ m] Eindrucktiefe [μ m]
M1

1	20	60
2	30	80
3	20	70
4	10	40
5	10	30
6	20	50
7	20	60
8	30	70
9	20	70
10	10	30
	19	56

Messung Eindrucktiefe [μ m] Eindrucktiefe [μ m]
M2

1	20	60
2	20	50
3	30	80
4	20	70
5	20	70
6	30	80
7	20	60
8	30	80
9	20	70
10	30	80
	24	70

Messung Eindrucktiefe [μ m] Eindrucktiefe [μ m]
M3

1	20	70
2	20	60
3	30	70
4	30	80
5	20	60
6	20	60
7	20	60
8	30	80
9	20	50
10	20	60
	23	65

Tabellenanhang

Messung	Eindrucktiefe [μm]	Eindrucktiefe [μm]
M4		
1	20	50
2	20	60
3	30	70
4	20	60
5	20	50
6	20	60
7	20	50
8	20	60
9	20	60
10	20	60
	21	58

Messung	Eindrucktiefe [μm]	Eindrucktiefe [μm]
M5		
1	10	40
2	20	60
3	10	40
4	10	30
5	10	30
6	10	40
7	10	40
8	20	60
9	20	60
10	10	40
	13	44

Messung	Eindrucktiefe [μm]	Eindrucktiefe [μm]
M6		
1	20	50
2	30	70
3	20	60
4	20	55
5	20	50
6	20	60
7	20	50
8	20	60
9	20	50
10	20	50
	21	55,5

Messung	Eindrucktiefe [μm]	Eindrucktiefe [μm]
M7		
1	20	60
2	20	60
3	30	80
4	50	100
5	40	90
6	30	70
7	20	60
8	30	80
9	40	90
10	20	60
	30	75

Tabellenanhang

Druckspannung

Lagerung: **1Woche** bei 37°C in H₂O dest.

Masse: [g] **750** **1250**

Durchmesser: [mm] **1,95** **1,95**

Druckfestigkeit: [N/mm²] **1,93** **3,22**

Messung	Eindrucktiefe	
	[μm]	Eindrucktiefe [μm]
M1		
	1	30
	2	20
	3	10
	4	10
	5	20
	6	10
	7	30
	8	30
	9	20
	10	20
		20
		43
M2		
	1	10
	2	20
	3	10
	4	20
	5	20
	6	20
	7	20
	8	10
	9	20
	10	20
		17
		47
M3		
	1	20
	2	10
	3	10
	4	20
	5	10
	6	20
	7	20
	8	20
	9	20
	10	10
		16
		41

Tabellenanhang

M4

1	20	50
2	10	30
3	20	60
4	20	50
5	20	40
6	10	30
7	20	50
8	20	60
9	20	50
10	10	30
	17	45

M5

1	10	40
2	10	30
3	20	60
4	10	30
5	10	30
6	10	30
7	10	40
8	20	60
9	20	60
10	10	30
	13	41

M6

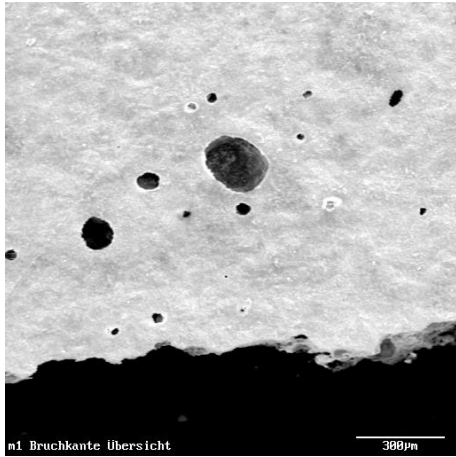
1	10	30
2	20	40
3	10	
4	10	40
5	10	30
6	10	30
7	10	30
8	10	40
9	10	30
10	10	30
	11	33

M7

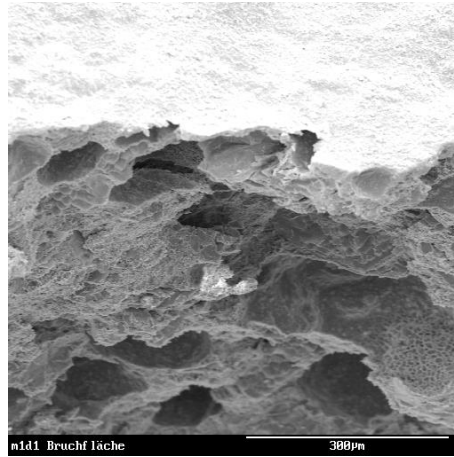
1	30	60
2	10	30
3	30	70
4	10	40
5	10	30
6	10	30
7	10	40
8	30	70
9	10	30
10	10	30
	16	43

Rasterelektronische Aufnahmen

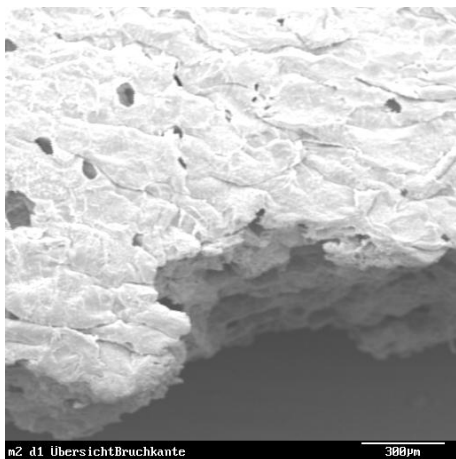
1. REM-Aufnahmen nach 24h-Lagerung



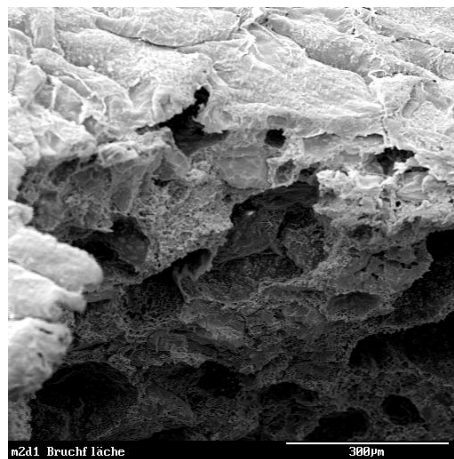
n1 Bruchkante Übersicht
Bruchkante M1 70-fach



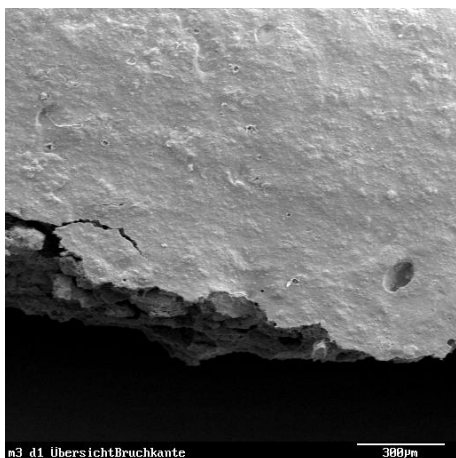
n1d1 Bruchfläche
Bruchkante M1 155-fach



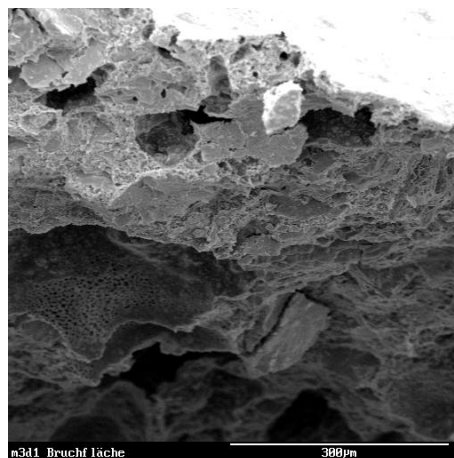
n2 d1 ÜbersichtBruchkante
Bruchkante M2 70-fach



n2d1 Bruchfläche
Bruchkante M2 155-fach

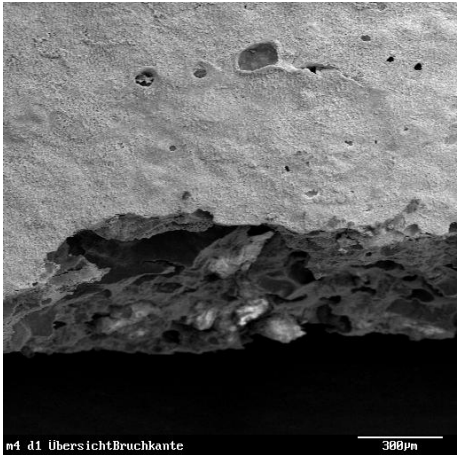


n3 d1 ÜbersichtBruchkante
Bruchkante M3 70-fach

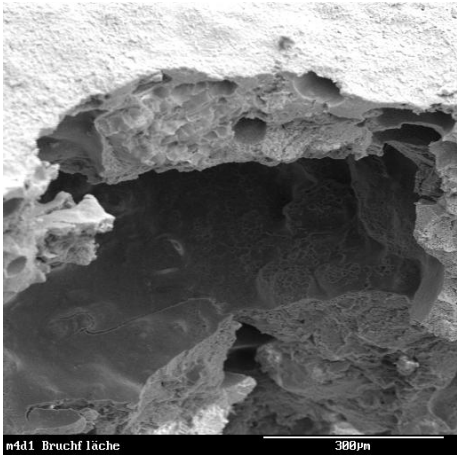


n3d1 Bruchfläche
Bruchkante M3 155-fach

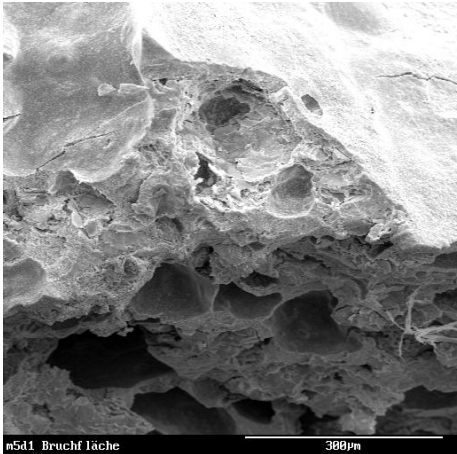
Rasterelektronische Aufnahmen



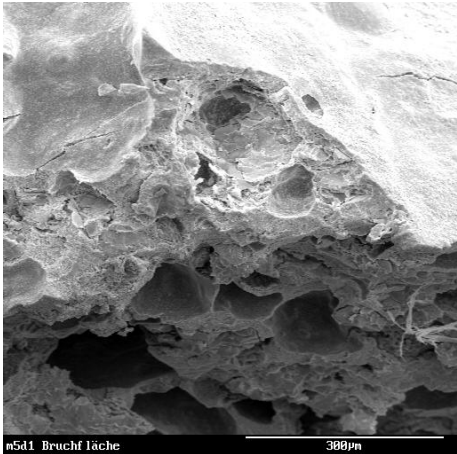
Bruchkante M4 70-fach



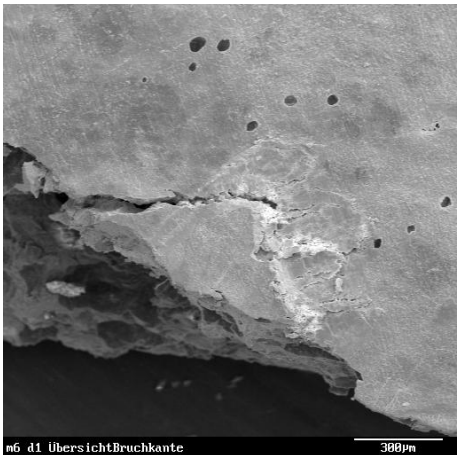
Bruchkante M4 155-fach



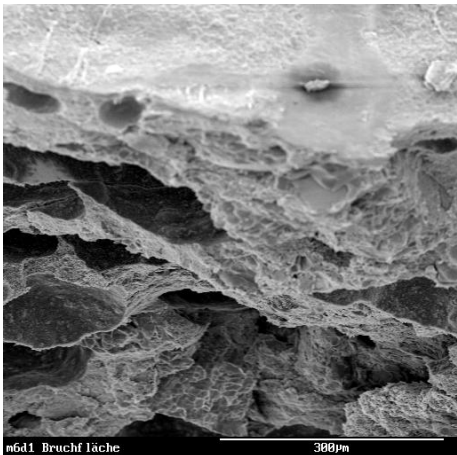
Bruchkante M5 70-fach



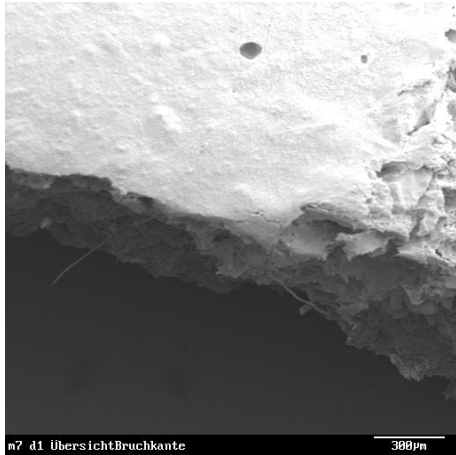
Bruchkante M5 155-fach



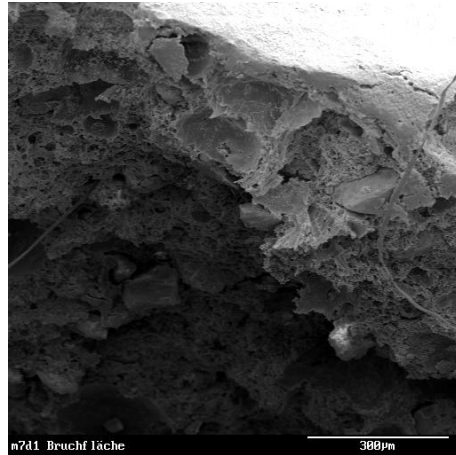
Bruchkante M6 70-fach



Bruchkante M6 155-fach

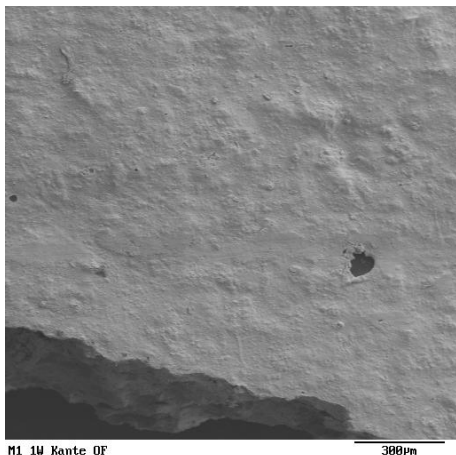


Bruchkante M7 70-fach

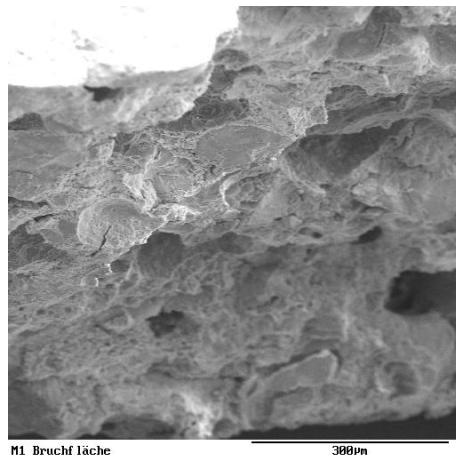


Bruchkante M7 155-fach

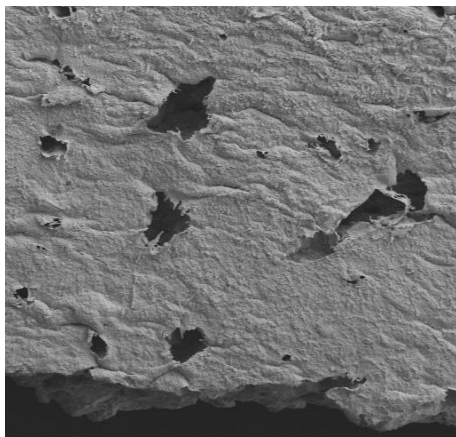
2. REM-Aufnahmen nach 1 Woche Lagerung



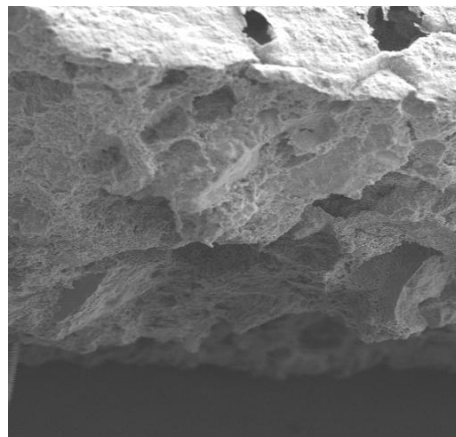
Bruchkante M1 70-fach



Bruchkante M1 155-fach

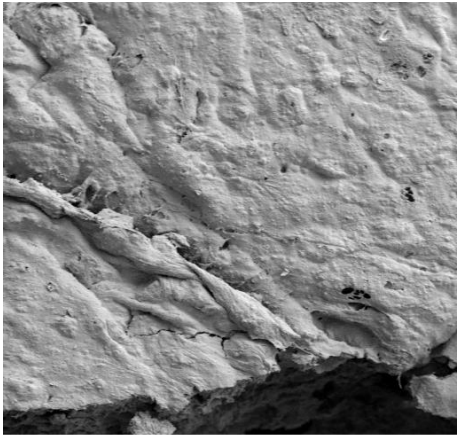


Bruchkante M2 70-fach

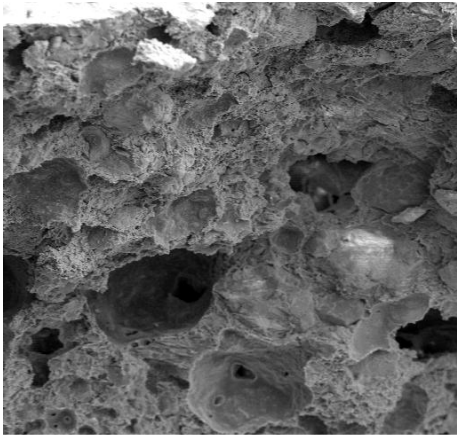


Bruchkante M2 155-fach

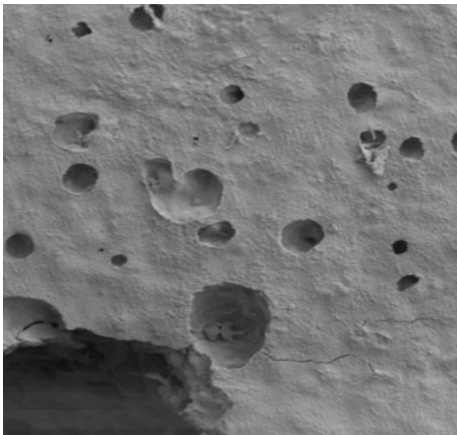
Rasterelektronische Aufnahmen



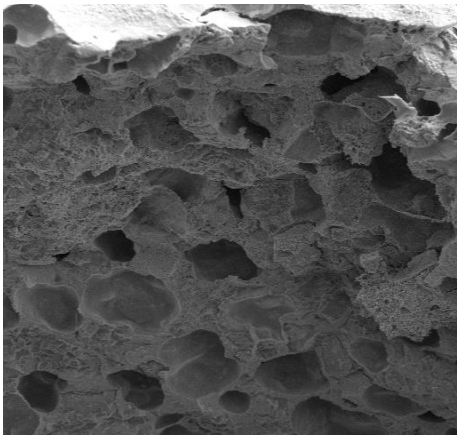
M3 1W Kante 0F
Bruchkante M3 70-fach



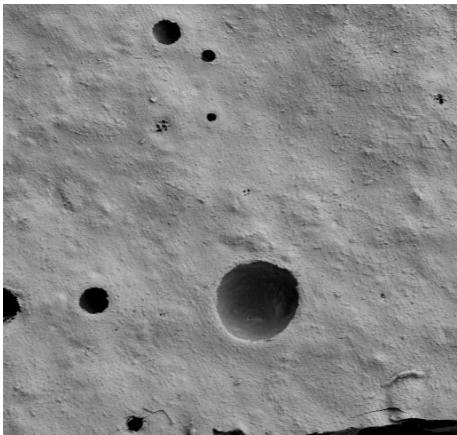
M3 Bruchfläche
Bruchkante M3 155-fach



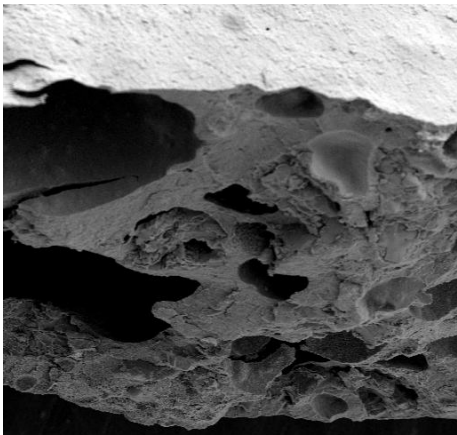
M4 1W Kante 0F
Bruchkante M4 70-fach



M4 Bruchfläche
Bruchkante M4 155-fach

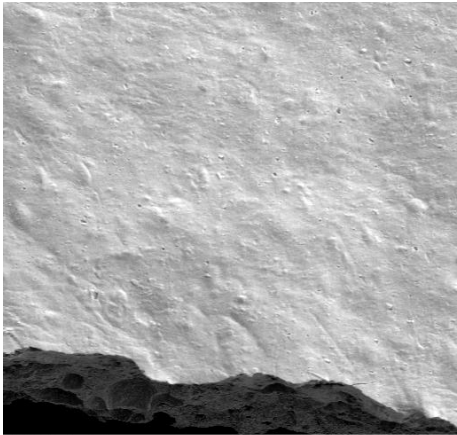


M5 1W Kante 0F
Bruchkante M5 70-fach

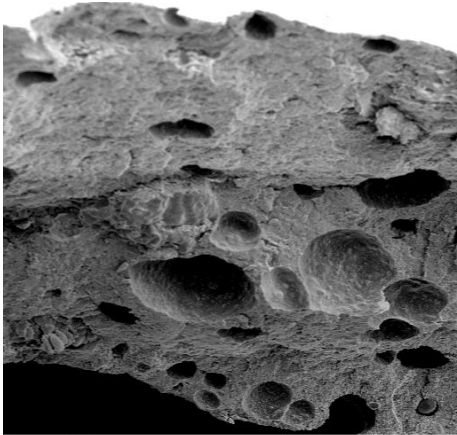


M5 Bruchfläche
Bruchkante M5 155-fach

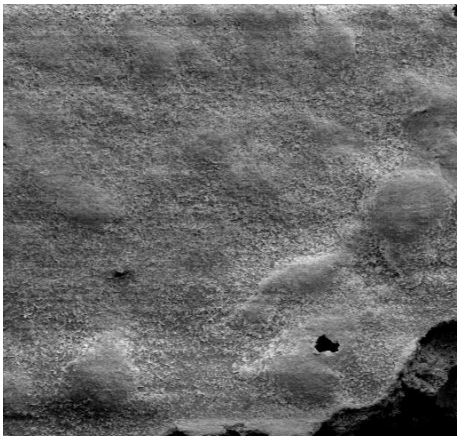
Rasterelektronische Aufnahmen



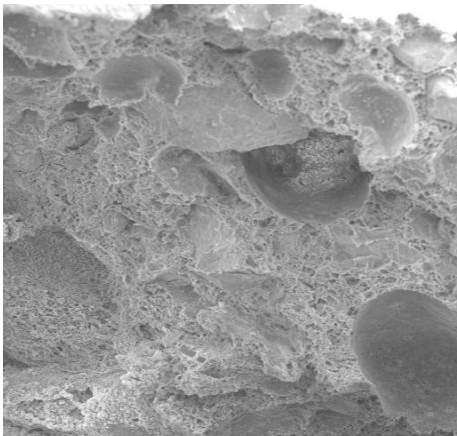
M6 1μ Kante 0F
Bruchkante M6 70-fach



M6 Bruchfläche
Bruchkante M6 155-fach



M7 1μ Kante 0F
Bruchkante M7 70-fach



M7 Bruchfläche
Bruchkante M7 155-fach

Anzahl der abgestorbenen Zellen im 24h- und 48h- Eluat

	Tag 4		Tag 7			Tag 11		
	24 h	48 h		24 h	48 h		24 h	48 h
Zellen	16	15	Zellen	25	24	Zellen	19	18
M1	18	16	M1	14	28	M1	31	53
M2	9	14	M2	4	3	M2	24	15
M3	30	19	M3	3	5	M3	17	26
M4	19	25	M4	15	10	M4	40	17
M5	34	29	M5	16	11	M5	17	19
M6	27	37	M6	21	24	M6	54	40
M7	60	63	M7	20	19	M7	48	24

	Tag 4		Tag 7		Tag 11	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
Zellen	4000	3750	6250	6000	4750	4500
M1	4500	4000	3500	7000	7750	13250
M2	2250	3500	1000	750	6000	3750
M3	7500	4750	750	1250	4250	6500
M4	4750	6250	3750	2500	10000	4250
M5	8500	7250	4000	2750	4250	4750
M6	6750	9250	5250	6000	13500	10000
M7	15000	15750	5000	4750	12000	6000

Messwerte ALP-Test I

Absorption 405 nm								
405 nm	24 Stunden							
Cell	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	
0,052	0,279	0,079	0,108	0,084	0,163	0,155	0,449	
0,145	0,128	0,119	0,078	0,218	0,452	0,208	0,106	
0,151	0,170	0,069	0,061	0,264	0,365	0,138	0,144	
0,108	0,112	0,098	0,077	0,320	0,754	0,261	0,214	
0,102	0,119	0,098	0,100	0,391	0,591	0,213	0,278	
0,123	0,132	0,083	0,064	0,368	0,223	0,158	0,207	
0,099	0,121	0,089	0,082	0,130	0,209	0,074	0,079	
0,091	0,165	0,074	0,071	0,114	0,134	0,073	0,140	
Mittelwert	0,109	0,153	0,089	0,080	0,236	0,361	0,160	0,202

48 h								
Zellen	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	
0,119	0,074	0,066	0,083	0,052	0,066	0,058	0,064	
0,068	0,062	0,092	0,065	0,065	0,075	0,056	0,072	
0,138	0,079	0,067	0,070	0,055	0,097	0,125	0,089	
0,093	0,099	0,065	0,077	0,076	0,105	0,063	0,129	
0,061	0,098	0,060	0,122	0,125	0,236	0,076	0,094	
0,085	0,196	0,073	0,083	0,346	0,307	0,066	0,111	
0,108	0,079	0,095	0,069	0,097	0,170	0,075	0,148	
0,064	0,216	0,084	0,078	0,068	0,214	0,285	0,107	
0,092	0,113	0,075	0,081	0,111	0,159	0,101	0,102	

ALP nmol/min*cm2								
24 hours								
Cell	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	
0,03	1,21	0,17	0,32	0,20	0,61	0,57	2,10	
0,51	0,43	0,38	0,16	0,89	2,11	0,84	0,31	
0,54	0,64	0,12	0,08	1,13	1,66	0,48	0,51	
0,32	0,34	0,27	0,16	1,43	3,69	1,12	0,87	
0,29	0,38	0,27	0,28	1,79	2,84	0,87	1,21	
0,40	0,45	0,19	0,09	1,68	0,92	0,58	0,84	
0,27	0,39	0,22	0,19	0,44	0,85	0,14	0,17	
0,23	0,62	0,14	0,13	0,35	0,46	0,14	0,49	
Mittelwert (alle)	0,33	0,56	0,22	0,18	0,99	1,64	0,59	0,81
Mittel (ohne rot)	0,34	0,48	0,21	0,17	0,99	1,50	0,58	0,70

STBW
in %

Zelluntersuchungen

48 h

Zellen	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
0,38	0,14	0,10	0,19	0,03	0,10	0,06	0,09
0,11	0,08	0,24	0,10	0,10	0,15	0,05	0,13
0,48	0,17	0,11	0,12	0,04	0,26	0,41	0,22
0,24	0,27	0,10	0,16	0,15	0,31	0,09	0,43
0,08	0,27	0,07	0,39	0,41	0,99	0,15	0,25
0,20	0,78	0,14	0,19	1,56	1,36	0,10	0,34
0,32	0,17	0,25	0,12	0,26	0,64	0,15	0,53
0,09	0,88	0,20	0,16	0,11	0,87	1,24	0,32
0,24	0,35	0,15	0,18	0,34	0,59	0,28	0,29

0,22	0,30	0,14	0,16	0,18	0,54	0,16	0,28
------	------	------	------	------	------	------	------

Messwerte ALP-Test II

ALP TEST- Absorption 405nm

NB: Messung wurde mit ELISA instrument of Biology durchgeführt

Kalibrierungskurve: p-Nitrophenol Standard Solution in DPBS

$$\text{Abs} = 0.0022 \cdot \text{micromolar} + 0.0739$$

$$\text{micromolar} = (\text{Abs} - 0.0739) / 0.022$$

$$\text{N}^\circ \text{nmol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2} = \text{micromolar} \cdot 0.25 / (30 \text{ min} \cdot 0.32 \text{ cm}^2)$$

micromolar	Abs
0	0,086
50	0,16
100	0,302
150	0,408

micromolar	Abs
200	0,517
300	0,729
400	1,011
500	1,153

Tag1							
Verdünnung 1:4							
Kontrolle= Zellen	Zement1 +Zellen	Zement2 +Zellen	Zement3 +Zellen	Zement4 +Zellen	Zementt5 +Zellen	Zement6 +Zellen	Zement7 +Zellen
0,151	0,495	0,417	0,323	0,161	0,174	0,184	0,116
0,102	0,277	0,359	0,405	0,174	0,264	0,137	0,110
0,121	0,276	0,656	0,519	0,267	0,230	0,165	0,486
0,135	0,216	0,424	0,319	0,267	0,199	0,155	0,099
0,146	0,185	0,314	0,457	0,277	0,213	0,202	0,105
0,133	0,314	0,524	0,463	0,330	0,324	0,186	0,127
0,318	0,192	0,530	0,480	0,169	0,265	0,268	0,080
0,264	0,307	0,548	0,377	0,191	0,194	0,425	0,087

Zelluntersuchungen

Tag 1							
Verdünnung 1:4							
Kontrolle= Zellen	Zement1 +Zellen	Zement2 +Zellen	Zement3 +Zellen	Zement4 +Zellen	Zement5 +Zellen	Zement6 +Zellen	Zement7 +Zellen
35,045	191,409	155,955	113,227	39,591	45,500	50,045	19,136
12,773	92,318	129,591	150,500	45,500	86,409	28,682	16,409
21,409	91,864	264,591	202,318	87,773	70,955	41,409	187,318
27,773	64,591	159,136	111,409	87,773	56,864	36,864	11,409
32,773	50,500	109,136	174,136	92,318	63,227	58,227	14,136
26,864	109,136	204,591	176,864	116,409	113,682	50,955	24,136
110,955	53,682	207,318	184,591	43,227	86,864	88,227	2,773
86,409	105,955	215,500	137,773	53,227	54,591	159,591	5,955

micromolarer Verdünnungsfaktor

Tag 1								
Verdünnung 1:4								
Kontrolle= Zellen	Zement1 +Zellen	Zement2 +Zellen	Zement3 +Zellen	Zement4 +Zellen	Zement5 +Zellen	Zement6 +Zellen	Zement7 +Zellen	
140,18	765,64	623,82	452,91	158,36	182,00	200,18	76,55	
51,09	369,27	518,36	602,00	182,00	345,64	114,73	65,64	
85,64	367,45	1058,36	809,27	351,09	283,82	165,64	749,27	
111,09	258,36	636,55	445,64	351,09	227,45	147,45	45,64	
131,09	202,00	436,55	696,55	369,27	252,91	232,91	56,55	
107,45	436,55	818,36	707,45	465,64	454,73	203,82	96,55	
443,82	214,73	829,27	738,36	172,91	347,45	352,91	11,09	
345,64	423,82	862,00	551,09	212,91	218,36	638,36	23,82	
Mittelwert (alle) STABW (alle) in %	177,00	379,73	722,91	625,41	282,91	289,05	257,00	140,64
	139,63	180,44	204,74	134,43	115,16	89,16	169,82	247,46
	78,9%	47,5%	28,3%	21,5%	40,7%	30,8%	66,1%	176,0%
Mittel (ohne rot) STABW (ohne rot) in %	153,52	345,03	714,73	624,73	273,21	279,27	217,15	60,79
	96,04	89,62	140,35	109,89	93,14	56,86	73,01	25,16
	62,6%	26,0%	19,6%	17,6%	34,1%	20,4%	33,6%	41,4%

Zelluntersuchungen

nmol·min⁻¹·cm⁻²

Tag 1							
Verdünnung 1:4							
Kontrolle= Zellen	Zement1 +Zellen	Zement2 +Zellen	Zement3 +Zellen	Zement4 +Zellen	Zement5 +Zellen	Zement6 +Zellen	Zement7 +Zellen
1,599	3,594	7,445	6,508	2,846	2,909	2,262	0,633

 nicht berücksichtigt, höchster und niedrigster Wert

Tag 6							
Verdünnung 1:4							
Kontrolle= Zellen	Zement1 +Zellen	Zement2 +Zellen	Zement3 +Zellen	Zement4 +Zellen	Zement5 +Zellen	Zement6 +Zellen	Zement7 +Zellen
0,095	0,338	0,295	0,289	0,286	0,193	0,329	0,108
0,109	0,295	0,295	0,129	0,215	0,128	0,157	0,160
0,146	0,269	0,380	0,547	0,405	0,110	0,357	0,179
0,346	0,217	0,232	0,267	0,232	0,277	0,226	0,264
0,101	0,853	0,152	0,150	0,171	0,126	0,158	0,093
0,107	0,207	0,224	0,236	0,233	0,196	0,400	0,131
0,150	0,399	0,225	0,289	0,187	0,142	0,396	0,183
0,131	0,174	0,223	0,175	0,219	0,152	0,427	0,118

Tag 6							
Verdünnung 1:4							
Kontrolle= Zellen	Zement1 +Zellen	Zement2 +Zellen	Zement3 +Zellen	Zement4 +Zellen	Zement5 +Zellen	Zement6 +Zellen	Zement7 +Zellen
9,591	120,045	100,500	97,773	96,409	54,136	115,955	15,500
15,955	100,500	100,500	25,045	64,136	24,591	37,773	39,136
32,773	88,682	139,136	215,045	150,500	16,409	128,682	47,773
123,682	65,045	71,864	87,773	71,864	92,318	69,136	86,409
12,318	354,136	35,500	34,591	44,136	23,682	38,227	8,682
15,045	60,500	68,227	73,682	72,318	55,500	148,227	25,955
34,591	147,773	68,682	97,773	51,409	30,955	146,409	49,591
25,955	45,500	67,773	45,955	65,955	35,500	160,500	20,045

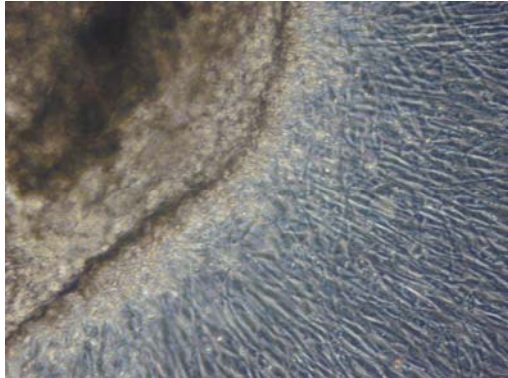
Zelluntersuchungen

Tag 6								
Verdünnung 1:4								
Kontrolle= Zellen	Zement1 +Zellen	Zement2 +Zellen	Zement3 +Zellen	Zement4+Z ellen	Zement5 +Zellen	Zement6 +Zellen	Zement7 +Zellen	
38,364	480,182	402,000	391,091	385,636	216,545	463,818	62,000	
63,818	402,000	402,000	100,182	256,545	98,364	151,091	156,545	
131,091	354,727	556,545	860,182	602,000	65,636	514,727	191,091	
494,727	260,182	287,455	351,091	287,455	369,273	276,545	345,636	
49,273	1416,545	142,000	138,364	176,545	94,727	152,909	34,727	
60,182	242,000	272,909	294,727	289,273	222,000	592,909	103,818	
138,364	591,091	274,727	391,091	205,636	123,818	585,636	198,364	
103,818	182,000	271,091	183,818	263,818	142,000	642,000	80,182	
Mittelwert (alle) STABW (alle) in %	134,95	491,09	326,09	338,82	308,36	166,55	422,45	146,55
	150,12	397,14	124,50	239,21	133,95	99,35	200,60	100,21
	111,2%	80,9%	38,2%	70,6%	43,4%	59,7%	47,5%	68,4%
Mittel (ohne rot) STABW (ohne rot) in %	91,09	388,36	318,36	291,70	281,39	149,58	431,09	132,00
	38,59	133,19	65,04	108,11	59,38	56,71	178,55	58,10
	42,4%	34,3%	20,4%	37,1%	21,1%	37,9%	41,4%	44,0%

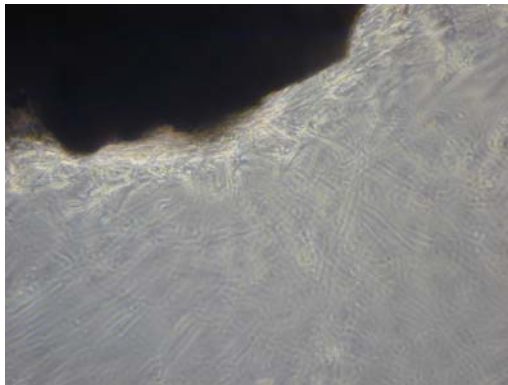
nmol·min⁻¹·cm⁻²

Tag 6							
Verdünnung 1:4							
Kontrolle= Zellen	Zement1 +Zellen	Zement2 +Zellen	Zement3 +Zellen	Zement4 +Zellen	Zement5 +Zellen	Zement6 +Zellen	Zement7 +Zellen
0,949	4,045	3,316	3,039	2,931	1,558	4,491	1,375

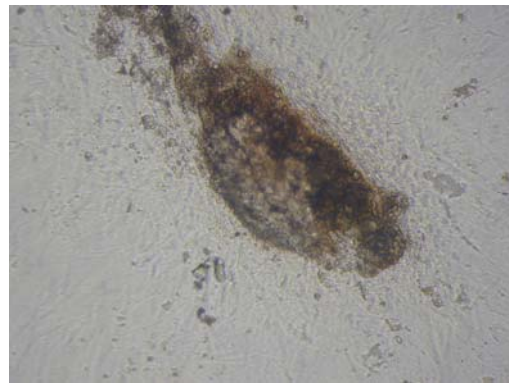
Fotographische Dokumentation



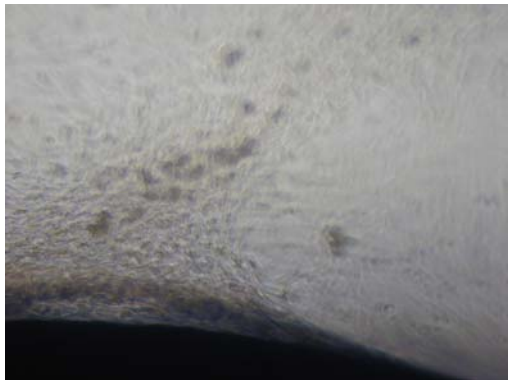
Kontrolle 20-fach



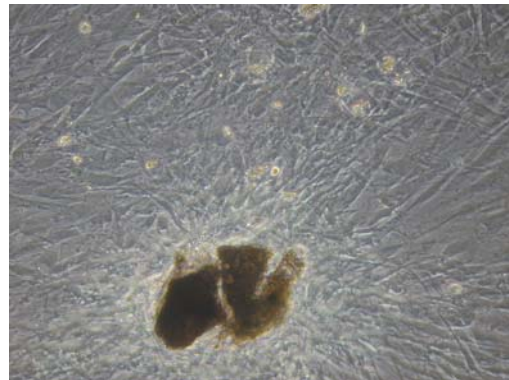
PK M1 mit Zellen 20-fach



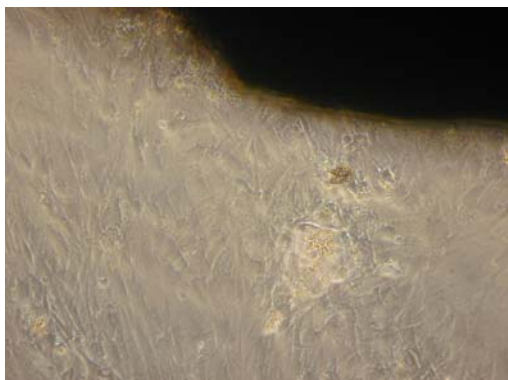
Umgebung von M1 mit Ostonodul



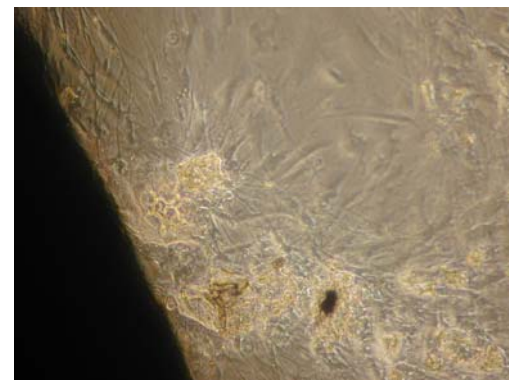
PK M3 mit Zellen 20-fach



Umgebung von M3 mit Ostonodul



PK M4 mit Zellen 20-fach



PK M4 mit beginnender Ostonodul-Bildung

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Nachteile auf dem Markt befindlicher Materialien.....	12
Tabelle 2: Zusammensetzung und mechanische Kennwerte einiger Knochenzementen.....	14
Tabelle 3: Zusammensetzung.....	28
Tabelle 4: Lösungsmittelvergleich von AEE und Ethanol.....	30
Tabelle 5: Summenformeln der eingesetzten Biokeramiken.....	31
Tabelle 6: Komponentenverhältnis	33
Tabelle 7: Grundkomponentenzusammensetzung lt. Drews.....	52
Tabelle 8: Variantenzusammensetzung und Verarbeitung.....	54
Tabelle 9: Zusammensetzung der experimentellen Zemente mit Rezepturen	57
Tabelle 10: Zusammenfassung M1, M3, M4	67
Tabelle 11: Vergleich der werkstoffkundlichen Parameter.....	78
Tabelle 12: Vergleich der Medianwerte M1-M7.....	79

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Struktur von Tri-n-butylboran (TBB)	8
Abb. 2: Beispiel einer Implantation im Bereich des Hüftgelenkes [98]	17
Abb. 3: Strukturformel PMMA und Summenformel SZ-modif. PMMA	29
Abb. 4: Strukturformel von AEE [37].....	30
Abb. 5: Strukturformel von EtOH.....	30
Abb. 6: verwendete Teflonform/Silikonformen.....	34
Abb. 7: fertige Probekörper.....	35
Abb. 8: Durchbiegung eines Werkstoffes	36
Abb. 9: Ansicht des eingespannten Prüfkörpers	38
Abb. 10: Prinzip der Druckspannungsprüfung.....	41
Abb. 11: Prinzip des Eluat-Testes	43
Abb. 12: Prinzip des Direktaufgabe-Testes	43
Abb. 13: graphische Darstellung der statistischen Ergebnisse im Box-Whisker-Plot.....	49
Abb. 14: Polymeransatz in Spritze nach 24-stündiger Mischung	52
Abb. 15: SZ –Acrylat als organische Komponente.....	55
Abb. 16: Biegebruchfestigkeit der PK M1-M7.....	58
Abb. 17: Druckspannung der verschiedenen Probekörper	59
Abb. 18: Druckspannung der verschiedenen Probekörper	60
Abb. 19: PK M4 REM-Aufn.	62
Abb. 20: PK M4 REM-Aufn.....	62
Abb. 21: PK M4 REM-Aufn.	62
Abb. 22: PK M4 REM-Aufn.....	62
Abb. 23: Anzahl der abgestorbenen humanen Osteoblasten.....	63
Abb. 24: Anzahl der abgestorbenen humanen Osteoblasten.....	64
Abb. 25: ALP-Aktivität der primären humanen Osteoblasten.....	65
Abb. 26: ALP-Aktivität von primären humanen Osteoblasten.....	66
Abb. 27: Proliferationsverhalten von Saos-2-Zellen	67
Abb. 28: Proliferationsverhalten von primären humanen Osteoblasten	68
Abb. 29 : Kontrolle (20-fach).....	69
Abb. 30: M1(20-fach)/Ostnodule.....	69
Abb. 31: M3 (20-fach)/Ostnodule.....	70
Abb. 32: M4 (20-fach)/Ostnodule.....	70
Abb. 33: M1 Zellkerne.....	71
Abb. 34: M1 Aktinskelett.....	71
Abb. 35: M1	71
Abb. 36: M3 Zellkerne.....	72
Abb. 37: M3 Aktinskelett.....	72
Abb. 38: M4 Zellkerne.....	72
Abb. 39: M4 Aktinskelett.....	72
Abb. 40: M4	72
Abb. 41: Temperaturkurve Palacos.....	75
Abb. 42: Konzept des Einwachsens des exp. Knochenzementes.....	80

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABS:	Acrylnitril-Butadien-Styren
AEE:	Acetessigsäureethylester
Al-Keramiken:	Aluminiumoxid-Keramiken
A(L)P:	alkalische Phosphatase
Aufn.:	Aufnahme
AWGC:	Apatit-Wollastonit-Glaskeramik
B:	Breite
BABC:	Bioactive Bonecement
BC:	Bonecement
Bis-GMA:	Bisphenol-a-glycidyl-dimethacrylat
BPO:	Benzoylperoxid
ca.:	zirka
COOH:	Carboxylgruppen
CZP:	Calciumzirkonphosphat
d:	Durchmesser
DAPI:	4',6 Diamidin - 2'-phenenylindoldihydrochlorid
DML:	Dimethylamino-benzyl-laurat
DMT:	Dimethyl-p-toluidin
E:	Elastizitätsmodul
EDTA:	Ethylendiamin-tetraessigsäure
EMA:	Ethylmethacrylat
EtOH:	Ethanol
exp.:	experimentell
Fa.:	Firma
FKS:	Fetales Kälberserum
GIZ:	Glasionomorzement
h:	Höhe
HA:	Hydroxylapatit
HOS:	Humane Osteoblasten
HPMA:	Hydroxypropylmethacrylat
IPMA:	Iodphenolmethacrylat
u.ä.:	und ähnliche
UV:	Ultraviolett
W:	Widerstandsmoment
z.B.:	zum Beispiel
ZnO:	Zinkoxid
z.T.	zum Teil

Thesen

Zur Dissertation: Rezeptur und werkstoffkundliche Testung eines monomerfreien Knochenzementes auf Acrylatbasis

1. Optimale Knochenersatzwerkstoffe, die sämtlichen geforderten Parametern gerecht werden, gibt es derzeit noch nicht. Jeder Knochenersatzwerkstoff (bedingte Ausnahme: autologe Materialien) birgt Nachteile.
2. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Rezeptur eines monomerfreien Knochenzementes auf der Grundlage eines in der Säurezahl modifizierten PMMA reproduktiv zu ermitteln und insbesondere hinsichtlich der werkstoffkundlichen Parameter unter besonderer Beachtung der Biokompatibilität zu untersuchen.
3. Als Grundstoff diente ein Polymer:
 - säurezahlmodifiziertes PMMA (SZ62)
4. Zwei Lösungsmittel standen zur Verfügung:
 - Acetessigsäureethylester
 - Ethanol (96%ig)
5. Folgende Füllstoffe wurden untersucht:
 - calciumlössige Keramik GB14
 - Tetracalciumphosphat (TETRA)
 - Calciumzirkonphosphat (CZP)
 - Zinkoxid (ZnO)
 - Titandioxid (TiO₂)in unterschiedlichen Kombinationen.
6. Die Wahl des richtigen Verhältnisses zwischen Dispersionsmittel (säurezahlmodifizierter PMMA in AEE und Ethanol) und disperser Phase (Füllstoffe) war die Voraussetzung für das Zustandekommen eines zementartigen Gemisches.

7. Vorversuche ergaben, dass die Kombination von PMMA-SZ62 als 30%iger Anteil, 96%iger EtOH und AEE im 1:1 Verhältnis hinsichtlich der Aufnahme der dispersen Phase die optimalsten Eigenschaften während der Verarbeitung aufwiesen.
8. Die Füllstoffe wurden unterschiedlich fraktioniert eingesetzt. Nach den Voruntersuchungen ergaben sich drei Kombinationen, die weiteren Biokompatibilitätstestungen zugeführt wurden. Dabei wurden M1, M3 und M4 fortführend untersucht. Die Korngrößen lagen für GB14 grundsätzlich bei 50-200µm und für TETRA bei 90-160µm. Lediglich die Korngröße von Kalziumzirkonphosphat variierte, es wurden die Korngrößen 3.12µm und 2.24µm verwendet.
9. Die hergestellten Probekörper wurden nach ihrer Herstellung feucht gelagert. Die Lagerung erfolgte für 24 Stunden und eine Woche in Aqua bidest. bei 37°C. Der Abbindevorgang des experimentellen Knochenzementes wird durch den Zutritt von Feuchtigkeit initiiert.
10. Alle Probekörper waren im direkten Vergleich bei Wasserlagerung dimensionsstabil bzw. untereinander vergleichbar.
11. Bei den Variationen M1, M3 und M4 ergaben sich günstige verarbeitungstechnische Eigenschaften. Die Konsistenz ist cremig, das Pulver wird vollständig vom Polymeransatz aufgenommen. Die Verarbeitungszeit liegt bei ca. 5-10 min und ist variabel.
12. Der Haftungsverbund zwischen dem experimentellen Knochenzement und metallischen Oberflächen konnte bei allen Variationen, auch unter feuchten Bedingungen, beobachtet werden. Die Haftung war bei M1, M3 und M4 am stärksten ausgeprägt.
13. Die Beurteilung der Biegebruchfestigkeit erfolgte jeweils nach 24 Stunden und einer Woche Lagerung in 37°C Aqua bidest.
14. Die Biegebruchfestigkeit wurde am Dynstat-Gerät durchgeführt. Die Werte lagen mit ca. ≤ 10 MPa weit unter den Werten für konventionelle Knochenzemente.

15. Die Druckspannung wurde mit ebenfalls 24 Stunden bzw. einer Woche nassgelagerten Probekörpern durchgeführt. Dabei kam ein Kegelfließpunktmessgerät zum Einsatz.
16. Der experimentelle Knochenzement stellt eine relativ hohe Konzentration von Kalzium- und Phosphat-Ionen bereit, diese können eine schnelle Resorption und Mineralisation fördern.
17. Der experimentelle Knochenzement erfährt keinerlei Temperaturanstieg während seiner Abbindephase, die Gefahr der Gewebsschädigung durch Überhitzung ist damit vollständig ausgeschaltet.
18. Der Gefügeaufbau, durch rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen dargestellt, lässt die Vermutung zu, dass ein Ein- bzw. Umbau durch umliegendes Knochengewebe, sog. Osteointegration durchaus erfolgen könnte. Damit könnte die Voraussetzung für den Langzeiterfolg einer Implantation in der Orthopädie, aber auch der Prothetik gegeben sein.
19. Zur Überprüfung der Bioverträglichkeit wurden Zellkulturtests mit humanen Osteoblasten (HOS) durchgeführt. Dabei wurden zunächst die zuvor sterilisierten Probekörper der Zellkultur zugefügt. Eine entsprechend der gängigen Praxis, vorherige Sterilisation der Pulverkomponente brachte jedoch zufriedenstellendere Ergebnisse. Durch den Alkoholgehalt des Dispersionsmittels ist von dessen Keimfreiheit auszugehen. Die Eluate zeigten befriedigendes Knochenwachstum, die Fotodokumentation beweist beginnendes Knochenwachstum um die Probekörper herum.
20. Mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie konnten die Zellkerne und das Aktinskelett vitaler Zellen, als Marker für Zellwachstum erfolgreich dargestellt werden.
21. Um eine Optimierung der Rezeptur zu erreichen, wäre es denkbar, vorportionierte Fraktionen, etwa durch eine Art Kapselsystem zusammen zu bringen. Dadurch könnte eine konstante Durchmischung der Komponenten erreicht werden.

22. Für die Zukunft und den klinischen Einsatz des experimentellen Knochenzementes sind, um den gefahrlosen Einsatz zu garantieren, weiterführende Biokompatibilitätstestungen, insbesondere in-vivo-Testungen unerlässlich.

Erklärung an Eides Statt

Ich erkläre hiermit, dass die vorliegende Arbeit von mir selbst und ohne die Hilfe Dritter, lediglich unter Benutzung der hier aufgeführten Quellen und Hilfsmittel, angefertigt worden ist. Diese Arbeit stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar.

Die benutzten Hilfsmittel, sowie die Literatur sind vollständig angegeben.

Diese Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form noch keiner anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

Berlin, den 22. November 2006

Curriculum vitae

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. K.-P. Lange möchte ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und seine konstruktive Kritik danken.

Meinem Betreuer, Herrn Dr. rer. nat. W.-D. Müller, danke ich ganz besonders herzlich für die experimentelle, inhaltliche und organisatorische Unterstützung und konstruktive Kritik bei der Erstellung der Arbeit. Ganz besonders bedanke ich mich für die Möglichkeit, Teilerperimente in Funchal/Madeira durchgeführt haben zu können.

Bei Frau Chr. Schöpf möchte ich mich für die freundliche, und stets zuverlässige Anleitung zu meinen Arbeiten im Forschungslabor bedanken. Ihre Vorbereitungen und Erläuterungen haben mir sehr geholfen.

Ich danke Herrn ZA Reik Lederer für seine Geduld und seine großzügige Arbeitsfreistellung, die zum Gelingen dieser Arbeit notwendig waren.

Herrn Dr. sc. techn. G. Berger von der BAM/Berlin und Herrn Dr. E. Nagel möchte ich für die Bereitstellung der Biokeramiken, bzw. des PMMA-SZ62 Pulvers danken.

Herrn Prof. Dr. J. Schulz und Frau H. Schiebel vom Fachbereich Biochemie danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Erstellung der ersten Zellkulturtests.

Ich danke ganz besonders Herrn Dipl. Ing. Marc Lübberstedt für die äußerst kompetente, freundliche und perfekte Unterstützung bei der Durchführung aller im Zellkulturlabor und außerhalb dessen notwendigen Arbeiten.

Der Universität Madeira/Funchal, insbesondere Frau Prof. Dr. H. Tomas, den Chemikern Dr. J.N. Barros und F.J. Fernandes danke ich für die freundliche Zusammenarbeit bei den in Madeira durchgeführten Teilerperimenten, sowie für die Gastfreundlichkeit während meines Aufenthaltes.

Ich danke Herrn Dr. Paco Pelt und Herrn M.A. Mathias Hausding für ihre äußerst freundliche und konstruktive Unterstützung bei der finalen Korrektur dieser Arbeit.

Ich bedanke mich bei Herrn Inf.-Betr.wirt (VWA) J. Schneiderheinze für die Vorbereitung des Druckes dieser Arbeit.

