

Aus dem Julius Wolff Institut  
Centrum für Muskuloskeletale Chirurgie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin  
Campus Virchow Klinikum

DISSERTATION

Der Einfluss verschiedener Oberflächenbeschichtungen auf die  
Integration von Keramikimplantaten in den trabekulären  
Knochen des Schafs – Biomechanische Evaluation

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Max Julian Mersiowsky

aus Frankfurt am Main

Datum der Promotion: 14. September 2018

# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>II</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>V</b>
<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>VII</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>VIII</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>X</b>
<b>1. Einleitung.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Verwendete Werkstoffe in der Endoprothetik.....</b>	<b>2</b>
<b>1.2 Struktur des Knochengewebes .....</b>	<b>5</b>
<b>1.3 Osteointegration.....</b>	<b>7</b>
1.3.1 Distanz- und Kontaktosteogenese.....	7
1.3.2 Osteokonduktion und Osteoinduktion.....	8
<b>1.4 Verbesserung der biologischen Integration .....</b>	<b>9</b>
1.4.1 Oberflächenmorphologie .....	9
1.4.2 Phosphat-Beschichtungen.....	10
1.4.3 Hydroxylapatit-Beschichtungen .....	10
1.4.4 Bioglas-Beschichtungen .....	12
<b>1.5 Tiermodell .....</b>	<b>14</b>
<b>1.6 Ziele und Hypothesen der Studie.....</b>	<b>15</b>
<b>2. Material und Methoden .....</b>	<b>16</b>
<b>2.1 Implantatkörper .....</b>	<b>16</b>

<b>2.2 Oberflächenbeschichtungen .....</b>	<b>17</b>
<b>2.3 Studiendesign .....</b>	<b>18</b>
2.3.1 Versuchstiere.....	18
2.3.2 Operationsmodell .....	19
2.3.3 Implantation und operatives Management .....	21
2.3.4 Postoperative Nachsorge .....	28
2.3.5 Euthanasie und Sektion.....	29
<b>2.4 Biomechanische Testung .....</b>	<b>30</b>
2.4.1 Vorbereitung der Proben .....	30
2.4.2 Prüfanordnung und biomechanischer Push-Out-Test .....	34
2.4.3 In-vitro-Testung .....	37
<b>2.5 Auswertung.....</b>	<b>38</b>
2.5.1 Ausgewertete Parameter .....	38
2.5.2 Softwaregestützte Berechnung der Parameter .....	39
<b>2.6 Statistische Datenanalyse .....</b>	<b>42</b>
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>43</b>
3.1 Operationsbefunde.....	43
3.2 Biomechanische Ergebnisse.....	43
3.2 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	54
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>55</b>
<b>5. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>66</b>
<b>6. Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>80</b>
<b>7. Lebenslauf .....</b>	<b>81</b>

<b>8. Publikationsliste.....</b>	<b>82</b>
<b>9. Danksagung.....</b>	<b>83</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Implantatkörper aus ZTA-Keramik.....	16
Abbildung 2: Nahaufnahme der „Direct to Bone“-Implantatoberfläche .....	17
Abbildung 3: Weibliche Schafe der Rasse Merino-Mix in Weidehaltung .....	19
Abbildung 4: Schematische Darstellung der Defektlokalisationen im Schafskelett .....	20
Abbildung 5: Vorbereitete Operationsfelder.....	22
Abbildung 6: Einbohren des Kirschner-Drahts mittels Führungshilfe .....	24
Abbildung 7: Platziertes Kirschner-Draht im epimetaphysären Bereich des proximalen Humerus .....	24
Abbildung 8: Kirschner-Draht geführte Bohrlochdefektsetzung.....	25
Abbildung 9: Manuelle Bohrkanalerweiterung mit einem Handbohrer.....	26
Abbildung 10: Implantatpositionierung entlang des Kirschner-Drahts .....	26
Abbildung 11: Einhämmern des Implantats .....	27
Abbildung 12: Vollständig im Knochen versenktes Implantat .....	27
Abbildung 13: Eingeheilte Implantate im Röntgenbild .....	30
Abbildung 14: Linker Humerus in der Diamantbandsäge .....	31
Abbildung 15: Probe in Präzisionssägehilfe .....	32
Abbildung 16: In Präzisionssägehilfe verankerte Probe in der Diamantbandsäge .....	32
Abbildung 17: Probe in Fräsvorrichtung .....	33
Abbildung 18: Materialprüfmaschine der Firma Zwick/Roell.....	34

## Abbildungsverzeichnis

---

Abbildung 19: Stempel und Messingring-Aufbauten der Materialprüfmaschine .....	35
Abbildung 20: Probe in der Zwick-Materialprüfmaschine .....	35
Abbildung 21: Herausgedrücktes Implantat nach der biomechanischen Testung .....	36
Abbildung 22: Probe nach der biomechanischen Testung .....	36
Abbildung 23: Kraft-Weg-Diagramm der biomechanischen Push-Out-Testung .....	41
Abbildung 24: Darstellung der Maximalkraft in beiden Kontrollgruppen .....	44
Abbildung 25: Darstellung der Maximalkraft im Gruppenvergleich .....	45
Abbildung 26: Darstellung der Steifigkeit im Gruppenvergleich.....	47
Abbildung 27: Darstellung der Haftscherfestigkeit im Gruppenvergleich.....	48
Abbildung 28: Darstellung der Reibspannung nach Delamination im Gruppenvergleich .....	49
Abbildung 29: Darstellung der Gesamtarbeit im Gruppenvergleich.....	50
Abbildung 30: Darstellung der Arbeit bis zum Bruch im Gruppenvergleich.....	51
Abbildung 31: Darstellung der Energiefreisetzungsrates im Gruppenvergleich .....	53

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Oberflächenbeschichtungen und Probenanzahl .....	21
Tabelle 2: Verwendete Prüfmittel und Geräte.....	37
Tabelle 3: Berechnete Parameter der biomechanischen Push-Out-Testung .....	39
Tabelle 4: Deskriptive Statistik – Maximalkraft ( $F_{\max}$ ) [N].....	46
Tabelle 5: Deskriptive Statistik – Steifigkeit [N/mm] .....	47
Tabelle 6: Deskriptive Statistik – Haftscherfestigkeit [MPa].....	48
Tabelle 7: Deskriptive Statistik – Reibspannung nach Delamination [MPa] .....	49
Tabelle 8: Deskriptive Statistik – Gesamtarbeit [J] .....	50
Tabelle 9: Deskriptive Statistik – Arbeit bis $F_{\max}$ [J] .....	52
Tabelle 10: Deskriptive Statistik – Energiefreisetzungsrate [ $J/m^2$ ].....	53

## Abstract

**Einleitung:** Zunehmende Erstimplantationen bei jüngeren Patienten, eine steigende Lebenserwartung und ein höherer Mobilitätsanspruch im Alter stellen besondere Anforderungen an die Langlebigkeit implantierter Endoprothesen. Neuartige Keramik-Keramik-Gleitpaarungen besitzen verbesserte tribologische Eigenschaften und werden bisher in Form von Kugelköpfen und Pfanneninserts mit metallischen Prothesenteilen kombiniert. Die zusätzliche Beschichtung der Keramikoberfläche mit bioaktiven Substanzen ist ein vielversprechendes Verfahren, um die unmittelbare Verbindung zum umgebenden Knochengewebe zu fördern und so den Einsatz der Keramik in direktem Knochenkontakt zu ermöglichen. Dazu wurden vier unterschiedliche bioaktive Beschichtungen auf Implantate aus „zirconia-toughened-alumina“-Keramik (ZTA) aufgetragen und biomechanisch auf ihre Integration im trabekulären Knochen des Schafs getestet.

### **Material und Methode:**

Zehn adulte, weibliche Merino-Mix-Schafe erhielten jeweils vier zylindrische Probekörper aus ZTA-Keramik (Fa. CeramTec GmbH, Lauf, Deutschland) mit texturierter Oberfläche (47 %, 200-500 µm Porengröße) mittels Press-Fit-Technik in den trabekulären Knochen des proximalen und distalen linken Humerus sowie beider Femurkondylen implantiert. Untersucht wurden eine kovalent gebundene Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen (CM), eine submikrone Hydroxylapatitbeschichtung (HA), ein mittels Dipping-Verfahren aufgetragenes 45S5 Bioglas (DipBG), ein 70S30C Bioglas aus dem Sol-Gel-Verfahren (SGBG) sowie eine unbeschichtete Kontrolle (NC). Nach zwölf Wochen Einheilungszeit wurde die knöcherne Verankerung der 40 Probekörper (n = 8 pro Gruppe) im biomechanischen Push-Out-Test quantifiziert und die Parameter Maximalkraft ( $F_{max}$ ), Steifigkeit (S), Haftscherfestigkeit ( $T_H$ ), Reibspannung ( $T_R$ ), Gesamtarbeit ( $W_{Ges}$ ), Arbeit bis zum Bruch ( $W_{Bruch}$ ) und Energiefreisetzungsrates des Bruchvorgangs (G) bestimmt. An acht Implantaten wurde zusätzlich im Kadaver die Maximalkraft der Press-Fit-Implantation im jeweils kontralateralen Knochen gemessen. Die Ergebnisse der Beschichtungsgruppen wurden sowohl untereinander als auch mit denen der unbeschichteten Kontrollgruppe verglichen (ANOVA, Post-Hoc-Test Dunnett-T3).

**Ergebnisse:** Die unbeschichtete Kontrollgruppe zeigte nach zwölf Wochen Einheilung eine signifikante Steigerung der Maximalkraft im Vergleich zur Press-Fit-Implantation am Kadaver. Sie erreichte im Push-Out-Test eine durchschnittliche  $F_{\max}$  von  $2625 \pm 1868$  N bei einer mittleren  $T_H$  von  $7,91 \pm 4,48$  MPa. Die CM- sowie die HA-Gruppe erzielten bei allen Parametern des biomechanischen Push-Out-Tests mit Ausnahme von  $W_{\text{Ges}}$  im Mittel höhere Werte als die Kontrollgruppe. Die Mittelwerte beider Biogläser lagen dagegen bis auf  $T_R$  stets unter den Werten der Kontrollgruppe. Statistisch signifikant war dieser Unterschied zwischen der HA- und SGBG-Gruppe in  $F_{\max}$ ,  $T_H$ ,  $W_{\text{Ges}}$ ,  $W_{\text{Bruch}}$  und  $G$ . Im Vergleich zur Kontrollgruppe ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied.

**Schlussfolgerung:** Die ZTA-Keramik mit texturierter Oberfläche war nach zwölf Wochen stabil in den trabekulären Knochen integriert. Eine Beschichtung der Implantatoberfläche mit CM bzw. HA führte zu einer verbesserten biologischen Integration, während beide Biogläser als Oberflächenmodifikation keinen positiven Einfluss auf die Osteointegration zeigten.

## Abstract

**Background:** Due to rising rates of primary implantations in young patients, an increasing life expectancy and higher mobility demands of elderly people, there is an increasing need for longevity of joint endoprotheses. New ceramic-on-ceramic bearings show improved tribological properties and are currently used as ball heads and cup inserts. An additional surface treatment with bioactive coatings is a promising option to enhance the implant-bone-interface and may allow the application of ceramic implants in direct bone contact. In the present study four different bioactive surface coatings were applied on zirconia-toughened alumina (ZTA) ceramic implants to investigate their biological integration into trabecular bone.

**Methods:** Rough-surfaced cylindrical ZTA ceramic implants (CeramTec GmbH, Lauf, Germany) were implanted press-fit and left-sided into the proximal and distal humerus and into both femur condyles of ten adult female merino-mix-sheep. A layer of covalently coupled molecules containing phosphate-like groups (CM), a submicron hydroxylapatite layer (HA), a 45S5 bioglass applied by a dipping technique (DipBG) and a 70S30C bioglass applied using a sol-gel technique (SGBG) were used as surface coatings and compared to an uncoated control group. Twelve weeks after surgery, the osseous integration of 40 test cylinders ( $n = 8$  per group) was quantified using biomechanical push-out tests. Maximum push-out force ( $F_{max}$ ), stiffness ( $S$ ), adhesive shear strength ( $T_H$ ), shear stress by friction ( $T_R$ ), total energy ( $W_{Ges}$ ), energy to failure ( $W_{Bruch}$ ), and energy release rate ( $G$ ) were recorded. Additionally,  $F_{max}$  was recorded for eight further test cylinders after press-fit implantation in cadaveric contralateral bone. The results of the four coating groups were compared amongst themselves and with the uncoated control group (ANOVA, Post-Hoc-Test Dunnett T3).

**Results:** Twelve weeks post implantation, uncoated controls showed statistically significantly higher maximum push-out forces compared to press-fit implantation in cadaveric bone, achieving an average maximum push-out force of  $2625 \pm 1868$  N and an average adhesive shear strength of  $7.91 \pm 4.48$  MPa. For all parameters except  $W_{Ges}$ , both CM and HA achieved higher mean values compared to uncoated controls. Contrarily, both bioglasses always provided lower mean values except  $T_R$ . This

difference was statistically significant between HA and SGBG for  $F_{\max}$ ,  $T_H$ ,  $W_{\text{Ges}}$  and  $G$ . In comparison with the control group no statistically significant differences were found.

**Conclusion:** Rough-surfaced ZTA ceramic test implants demonstrated solid mechanical stability in trabecular bone twelve weeks post implantation. An additional surface-coating with CM or HA resulted in enhanced osteointegration, while both bioglass coatings showed no positive effect.

# 1. Einleitung

Der künstliche Gelenkersatz an Hüfte und Knie gehört mit 222.754 bzw. 153.479 erstimplantierten Endoprothesen im Jahr 2015 zu den am häufigsten durchgeführten operativen Eingriffen in deutschen Krankenhäusern<sup>1</sup>. Auch in amerikanischen, kanadischen und australischen Endoprothesenregistern werden seit Jahren steigende Fallzahlen für endoprothetische Eingriffe an Hüfte und Knie dokumentiert. Steven Kurtz und seine Koautoren prognostizieren anhand einer Hochrechnung der letzten Fallzahlentwicklungen einen Anstieg der jährlich implantierten primären Hüft- bzw. Knieendoprothesen in den Vereinigten Staaten von Amerika um 174 % bzw. 673 % bis zum Jahr 2030<sup>2</sup>. Zunehmende Erstimplantationen bei jüngeren Patienten (unter 65 Jahre) sowie die steigende Lebenserwartung bereits endoprothetisch versorgter Patienten tragen dazu bei, dass auch die Zahl an notwendigen Folgeoperationen steigt<sup>3</sup>. Mit einer maximalen Verweilzeit (Zeitspanne zwischen Erst- und Wechseloperation) von zehn bis zwanzig Jahren ist der operative Austausch der künstlichen Gelenke zu einem bestimmten Zeitpunkt bei vielen Patienten unvermeidbar. Aseptische Implantatlockerung, Gelenkinstabilität, Fehlstellung und periprothetische Infektionen sind die häufigsten Gründe für einen vorzeitigen Wechsel der Prothese<sup>4-6</sup>. Polyethylenverschleiß, Folgearthrosen und periprothetische Frakturen sind weitere, aber weniger häufige Ursachen für Revisionsoperationen<sup>4-6</sup>. Im Jahr 2015 haben allein in Deutschland 23.928 Hüft-Endoprothesen-Wechsel und 17.608 Knie-Endoprothesen-Wechsel stattgefunden<sup>1</sup>. Diese demografische Entwicklung stellt sowohl medizinisch als auch volkswirtschaftlich eine große Herausforderung für das deutsche Gesundheitswesen dar. Es ist unter anderem erforderlich, die Langlebigkeit der Prothesen zu steigern, um Revisions- und Wechseloperationen in Zukunft zu minimieren.

Neuartige Aluminiumoxid-Keramik-Keramik-Gleitpaarungen zeigen sehr gute Lubrikationseigenschaften und weisen im endoprothetischen Einsatz, verglichen mit allen anderen verwendeten Gleitpaarungen, die geringsten Abriebraten auf<sup>7</sup>. Dass die Abriebpartikel zudem vollständig bioinert sind und damit keine systemischen Abwehrreaktionen im Körper auslösen, ist ein wichtiger Vorteil im Vergleich zu Metall- und Polyethylenkomponenten und lässt eine längere Überlebensdauer der Prothese im

klinischen Einsatz erwarten<sup>7,8</sup>. Erste prospektive Studien über Patienten mit implantierten Keramik-Gleitpaarungen zum totalen Hüftgelenksersatz konstatierten gute Ergebnisse. Lee et al. ermittelten eine 10-Jahres-Überlebensrate der Prothesen von 99 % ohne radiologisch nachweisbare Osteolysen<sup>9</sup>. In einer Arbeit von Petsatodis und Kollegen zeigten Langzeitergebnisse eine kumulative Überlebensrate der Keramikpaarungen von 84,4 % nach 20,8 Jahren<sup>10</sup>. Im direkten Vergleich zu den Kombinationsprothesen aus Metall und Polyethylen sind die Langzeitüberlebensraten der Keramikpaarungen nach zehn Jahren höher<sup>11</sup>. Die Patienten mit Keramikgleitpaarungen hatten weniger Revisionsoperationen und keine radiologisch feststellbaren Osteolysen<sup>11</sup>. Dabei scheint Keramik im Vergleich zu Metall und Polyethylen eine höhere Widerstandsfähigkeit gegen die Adhäsion von Bakterien zu haben und weist eine geringere Rate an Biofilmbildung auf ihrer Oberfläche auf<sup>12</sup>. Viele Autoren empfehlen aufgrund dieser vielversprechenden Ergebnisse schon jetzt einen bevorzugten Einsatz der Keramikkombinationen vor allem für junge, körperlich aktive Patienten<sup>9,11,13</sup>. Bisher werden Keramikgleitpaarungen in Form von Kugelkopf und Pfanneninsert mit metallischen Schaft- und Pfannenkomponenten kombiniert, welche die Gelenkprothese im Knochen verankern. Eine Keramik, die auch stabil osteointegriert werden kann, macht es möglich, auf die bisher benötigten, metallischen Teilkomponenten in modularen Systemen zu verzichten.

Das Beschichten eines Implantats zur Funktionalisierung seiner Oberfläche bietet eine vielversprechende Möglichkeit um die Sekundärstabilität im Knochen zu steigern. Mit dem Auftragen einer entsprechenden Beschichtung auf die Oberfläche der Keramik soll eine Verbesserung der knöchernen Implantatintegration erreicht und so die Voraussetzung zur Anwendbarkeit des Materials als Vollprothese mit hoher Langlebigkeit geschaffen werden.

### **1.1 Verwendete Werkstoffe in der Endoprothetik**

Für eine erfolgreiche und dauerhafte Integration in das Knochengewebe muss verwendetes endoprothetisches Material unterschiedliche Anforderungen erfüllen. Hohe mechanische Festigkeit und Korrosionsbeständigkeit sind die Grundlagen für eine schadenfreie Implantation sowie für die langlebige Funktionalität der Endoprothese. Dabei ist es wichtig, dass über die Zeit möglichst wenig Materialabrieb entsteht und

potenzielle Abriebpartikel bioverträglich sind<sup>7</sup>. Trotz ihrer extremen Härte muss sich die Implantatoberfläche flexibel an die biologischen, chemischen und morphologischen Verhältnisse im Zielgewebe anpassen können. Nur so lässt sich eine schnelle und stabile Verankerung der Prothese im Knochenlager realisieren.

Metalle, Keramiken und Polymere sind die zurzeit in der Endoprothetik verwendeten Werkstoffgruppen. Schon vor hundert Jahren wurde Metall erstmals als Grundstoff für ein knochenfixierendes Implantat eingesetzt. Seit fünfzig Jahren spielt vor allem Titan auf Grund seiner Materialeigenschaften eine zentrale Rolle im Knochenersatz und findet eine breite klinische Anwendung<sup>14</sup>. Reintitan (Grad 1-4, je nach Sauerstoff-Gehalt) ist sehr leicht, weitestgehend korrosionsbeständig und weist durch seine chemisch selbstbildende Oberflächenoxidschicht eine sehr hohe Biokompatibilität auf. Der Titanoxidfilm, auch Passivierungsschicht genannt, bildet sich nach einer Oberflächenläsion sofort neu und schützt das Metall vor aggressiven körpereigenen Flüssigkeiten<sup>15</sup>. In legierter Form kann die Materialfestigkeit und Korrosionsbeständigkeit von Titan nochmals erhöht werden. Titan-Aluminium-Vanadium, Titan-Aluminium-Eisen und Titan-Aluminium-Niob sind häufig gebrauchte Legierungsarten. Als Gleitpartner an Gelenkoberflächen ist Reintitan weitestgehend ungeeignet und wird in der Regel durch eine extrem feinkörnige Kobalt-Chrom-Molybdän-Legierungen (CoCrMo) ergänzt<sup>14</sup>. Die Implantation von Titan birgt jedoch auch Risiken. Ellison und Hallan et al. beschreiben Abrieb- und Verschleißvorgänge an Titanfemurschäften als Ursache für Osteolysen und aseptische Implantatlockerungen. Die Abriebpartikel haben einen negativen Einfluss auf das periimplantäre Gewebe und initiieren Entzündungsreaktionen<sup>16</sup>. Des Weiteren rufen Implantate aus Metall Artefakte in der diagnostischen Bildgebung (Röntgen, Computertomographie und Magnetresonanzspektroskopie) hervor, die eine fehlerfreie klinische Bildinterpretation erschweren<sup>17,18</sup>.

Polymere bestehen aus meist einfachen, gesättigten Kohlenwasserstoffketten, die aus vielen gleichen Struktureinheiten (Monomeren) aufgebaut sind. Ihre synthetische Herstellung erfolgt mittels Polyreaktionen (Polymerisation, Polyaddition, Polykondensation). Ultrahochmolekulares Polyethylen (UHMWPE) wurde in den 1950er-Jahren von der Ruhrchemie AG entwickelt und 1962 erstmals von Charnley als Teilkomponente im klinischen Gelenkersatz verwendet<sup>19</sup>. Es besteht aus wesentlich längeren Kettenmolekülen als Polyethylen und die Materialbeschaffenheit konnte durch Quervernetzungsprozesse innerhalb der Kohlenwasserstoffmolekülketten nochmals

erheblich verbessert werden. Der Kunststoff ist sehr hart, besitzt eine hohe Steifigkeit und zeigt eine große Abriebresistenz bei sehr guten tribologischen Eigenschaften. Damit eignet sich UHMWPE als Gleitkomponente im Artikulationsbereich von künstlichen Gelenken. Dem bekannten Problem der altersbedingten Materialversprödung versucht man mit einer durch Antioxidantien vermittelten Radikalreduktion in der Kohlenwasserstoffkette entgegen zu wirken<sup>20</sup>. Polymethylmethacrylat (PMMA, Knochenzement) wird als Füll- und Fixationskomponente in der endoprothetischen Chirurgie verwendet. Der Kunststoff wird im Zweikomponentenverfahren intraoperativ angemischt und kann dann einige Minuten angepasst werden bevor er aushärtet. Diese Verarbeitungsmöglichkeit und seine gute Biokompatibilität machen PMMA zu einem häufig verwendeten Material bei der Zementierung von Metallschäften und Pfannen.

In den 1960er Jahren begann die Forschung zur Anwendbarkeit von Keramiken als Knochenersatzmaterial. Schnell gerieten die hervorragende Biokompatibilität und die guten tribologischen Eigenschaften des Werkstoffs in den Fokus der Wissenschaftler<sup>21</sup>. Je nach Werkstoffzusammensetzung können sich die Materialeigenschaften jedoch erheblich unterscheiden. Im Laufe der Jahre sind vor allem aluminiumoxidische Keramiken ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ -) und Zirkonoxidkeramiken ( $\text{ZrO}_2$ ) als Implantatmaterialien genutzt worden. Ihre Weiterentwicklung führte zu einer Verbund-Keramik, welche die Vorteile von Aluminiumoxid- und Zirkonoxidkeramik miteinander vereint und anderen Werkstoffgruppen deshalb in vielen Bereichen überlegen ist. Bei der „zirconia toughened alumina“-Keramik (ZTA) sorgt ein großer Anteil an Aluminiumoxid für eine extreme Materialhärte und garantiert eine höhere Bruchfestigkeit und Formbeständigkeit. Verteilte Zirkonoxidpartikel erhöhen zusätzlich die Risszähigkeit dieser Verbund-Keramik<sup>22</sup>. Eine sehr hohe Korrosionsbeständigkeit und hervorragende tribologische Eigenschaften minimieren den ohnehin biologisch inerten Materialabrieb und verhindern damit die bei Titan und PEEK beschriebenen negativen Folgen<sup>7,8</sup>. Die hohe chemische Stabilität der Keramikoberfläche bei optimaler Gleitfähigkeit ist ideal für den Einsatz als endoprothetisches Material<sup>23</sup>. In Röntgen, Computertomographie und Magnetresonanzspektroskopie bildet Keramik kaum Artefakte<sup>24,25</sup>. Die beschriebene Verbund-Keramik wird zurzeit in der Hüftendoprothetik vor allem als Pfanneninsert und Kugelkopf in einer Hart-Hart-Paarung eingesetzt. Bei korrekter chirurgischer Implantation der Komponenten einer Keramik-Gleitpaarung ist das Bruchrisiko der Keramik minimal und Geräuschentwicklungen wie Quietschen oder Klicken sind extrem

selten<sup>23</sup>. Im Gegensatz zu hochvernetzten Polyethylenen führt ein größerer Kopfdurchmesser in Keramik-Keramik-Gleitpaarungen nicht zu einem vermehrten Materialabrieb an der Kontaktfläche. Jazrawi et al. konnten in einem Kollektiv von sechzig Totalendoprothesen der Hüfte zu einem mittleren Follow-Up-Zeitpunkt von 12,7 Jahren keine signifikanten Unterschiede in den Abriebraten von 32 mm und 38 mm großen Keramikköpfen feststellen<sup>26</sup>. Mit der Entwicklung einer kompakten Monoblockkeramikpfanne könnte das metallische Pfannengehäuse als osteointegratives Modul eingespart werden. Das schafft Raum, um größere Kugelköpfe mit mehr Luxationssicherheit zu realisieren und der kritische Interfacebereich zwischen Insert und Schale entfällt<sup>27</sup>. Meier und Kollegen dokumentierten in einer ersten klinischen Studie zu komplett metallfreien Knieprothesen aus BioloX-Delta-Keramik eine sichere Einheilung des Materials ohne Lockerungen der Implantate nach zwölf Monaten und zeigten damit, dass die Anwendbarkeit der Keramikgleitpaarungen nicht allein auf das Hüftgelenk beschränkt ist<sup>28</sup>. Voraussetzung für Keramikgleitpaarungen ohne Titananteil ist die Entwicklung einer Keramik, die unter Belastung direkt und stabil osteointegriert werden kann.

## 1.2 Struktur des Knochengewebes

Das Knochengewebe umfasst verschiedene Zelltypen und mineralisierte Extrazellulärmatrix. Letztere besteht zu 35 % aus organischen und zu 65 % aus nicht-organischen Anteilen<sup>29</sup>. Den nicht-organischen Anteil machen hauptsächlich die Hydroxylapatit-Kristalle aus, welche sich aus Kalzium und Phosphat zusammensetzen. Der organische Anteil besteht überwiegend aus Kollagen-Typ-1, dem wichtigsten Strukturprotein des Knochens, und weiteren nicht-kollagenen Proteinen<sup>29</sup>. Die Kollagenfibrillen sind im unreifen Knochengewebe geflechtartig miteinander verwoben (Geflechtknochen), während sie im reifen Knochen zu Schichten angeordnet sind (Lamellenknochen). Makroskopisch lässt sich eine Substantia compacta, welche als homogen erscheinende Rindenschicht die Markhöhle der Röhrenknochen umgibt, von einer Substantia spongiosa im Knocheninneren unterscheiden<sup>30</sup>. Das Knochengewebe der Kompakta weist konzentrische Lamellensysteme (Osteone) mit zentral gelegenen, blutversorgenden Haversschen-Kanälen auf. In der Spongiosa finden sich die Lamellen flächig geschichtet zu einer Trabekelform angeordnet, deren Zwischenräume mit

Knochenmark gefüllt sind<sup>29</sup>. Der Knochen ist außen von einer Knochenhaut, dem Periost, überzogen. Alle inneren Knochenoberflächen werden von abgeplatteten osteogenen Zellen, dem Endost, ausgekleidet<sup>31</sup>.

Die Zellen des Knochengewebes sind Osteoblasten, Osteozyten, Bone Lining Cells und Osteoklasten<sup>30</sup>. Osteoblasten synthetisieren als Knochenbildner Kollagen, Proteoglykane sowie Glykoproteine und regulieren die Mineralisation. Sie stammen von örtlichen Osteoprogenitorzellen ab, welche sich aus mesenchymalen Stammzellen entwickelt haben<sup>31</sup>. Osteoblasten liegen stets einer freien knöchernen Oberfläche an und bilden einen Osteoidsaum um sich, welcher aus noch nicht verkalkten Kollagenfibrillen besteht. Durch die Mineralisierung dieser Grundsubstanz erhält der Knochen seine charakteristische Härte. Osteozyten sind ausgereifte Osteoblasten, die ganz von mineralisierter Knochenmatrix umschlossen sind. Mit langen, in Knochenkanälchen laufenden Zellfortsätzen stehen sie untereinander über Gap junctions und per Diffusion im Austausch<sup>32</sup>. Bone Lining Cells sind ruhende, flache Osteoblasten, die Knochenoberflächen bedecken, an denen weder Resorption noch Neubildung stattfindet<sup>30</sup>. Sie besitzen Gap Junctions zu benachbarten Bone Lining Cells und Osteozyten, sowie Zellfortsätze, die sich in umgebende Knochenkanälchen erstrecken. Bone Lining Cells verhindern gebietsweise den direkten Kontakt zwischen Osteoklasten und Knochenmatrix, um Resorptionsvorgänge zu verhindern und sind durch die Produktion von Osteoprotegerin (OPG) an der Differenzierung von Osteoklasten beteiligt<sup>30</sup>. Osteoklasten sind große, mehrkernige Zellen, deren Aufgabe der Abbau von mineralisierter Knochenmatrix ist. Sie entstehen durch die Fusion einkerniger Zellen, die aus hämatopoetischem Gewebe stammen. Während der Knochenresorption fräsen die Osteoklasten Einbuchtungen, so genannte Howship-Lakunen, in die Trabekeloberflächen und Bohrkanäle in die Kompakta. Dabei zerlegen die Osteoklasten nach der Auflösung der Kalzium-Verbindungen durch Säure enzymatisch die organische Matrix und endozytieren die entstandenen Fragmente<sup>33,34</sup>. Gesunder Knochen ist kein statisches Gewebe, sondern befindet sich zeitlebens in Auf- und Abbauvorgängen. Diese Prozesse unterliegen den Einflüssen lokaler (Wachstumshormone, Zytokine) sowie systemischer (Kalzitinin, Östrogene) Faktoren und werden durch die exakt abgestimmte Interaktion von Osteoblasten, Osteozyten und Osteoklasten gesteuert<sup>30</sup>. Aus der Knochenmatrix freigesetzte Wachstumsfaktoren können den Zellmetabolismus von Osteoblasten und Osteoklasten beeinflussen und sind so in der Lage, die Heilungsantwort nach einem Trauma, Remodelling-Vorgänge

oder die knöcherne Integration von Biomaterialien zu kontrollieren. An den Zielzellen entfalten sie ihre Effekte auf Zelldifferenzierungsvorgänge, Proliferation, Stoffwechselaktivität und Hormonfunktionen durch Bindung an membranständige Rezeptoren mit enzymatischer Aktivität und die intrazelluläre Reizweiterleitung über sogenannte Second-Messenger-Proteine<sup>35,36</sup>.

### 1.3 Osteointegration

Der Begriff Osteointegration, erstmals verwendet von Professor Per Ingvar Branemark um 1960, beschreibt den direkten strukturellen und funktionellen Verbund zwischen vitalem Knochen und der Oberfläche eines lastaufnehmenden Implantats. Ein osteointegriertes Implantat zeigt keine Relativbewegungen zwischen Implantat und Knochen. Das Knochengewebe hat unmittelbaren Kontakt zur Implantatoberfläche ohne eine bindegewebige Umkapselung<sup>37-39</sup>. Die Osteointegration ist abhängig von den biologischen Eigenschaften des Knochens, der Material- und Oberflächenbeschaffenheit sowie der Primärstabilität des Implantats. Als Primärstabilität wird die initiale, mechanische Press-Fit-Stabilität des Implantats nach Einbringung in den Knochen ohne Einheilungszeit bezeichnet<sup>40</sup>.

#### 1.3.1 Distanz- und Kontaktosteogenese

Nach der Implantation werden bestehende Zwischenräume im Grenzbereich zwischen Knochen und Implantatoberfläche durch Osteogenese, die Bildung von neuem Knochengewebe, geschlossen. Auf diese Weise kann eine belastungsfähige Sekundärstabilität erreicht werden<sup>41</sup>. Bei der Implantateinheilung kann, je nach den zu beobachtenden Wechselwirkungen zwischen Knochen und Implantat, Distanzosteogenese von Kontaktosteogenese unterschieden werden<sup>42,43</sup>. Durch das Positionieren eines Implantats im Knochenlager wird eine Verletzung gesetzt und die Kontinuität des Knochens und seiner Gefäße partiell zerstört. Es bildet sich ein Hämatom und es kommt zu Entzündungsprozessen mit lokaler Einwanderung von Granulozyten, Monozyten und Mastzellen. Sezernierte Zytokine und Wachstumsfaktoren führen zu Zellinfiltration, Gefäßneubildung und Zelldifferenzierung. Pluripotente Stammzellen im Hämatombereich differenzieren zu Osteoblasten, Fibroblasten und Chondroblasten aus<sup>43,44</sup>. Beginnt die Knochenneubildung durch

osteogene Zellen am alten Knochenlager, spricht man von Distanzosteogenese. Es findet keine Zellanheftung an der Implantatoberfläche statt. Das Implantat wächst oft nicht direkt knöchern ein, sondern bleibt von einer fibrösen Bindegewebsschicht ummantelt, die nicht mineralisiert. Da der formschlüssige Verbund zwischen Knochen und Implantat dann fehlt, besteht die Gefahr einer Implantatlockerung<sup>44,45</sup>.

Bei der Kontaktosteogenese hingegen kommt es zu einer Knochenneubildung direkt am Implantat. Sie geht von Progenitorzellen aus, die zum Implantat gewandert sind und sich dort zu Osteoblasten ausdifferenziert haben. Diese synthetisieren extrazelluläre Matrix, die dann mineralisiert und neuen Knochen bildet. Es folgt eine Remodelling-Phase mit Ausbildung von trabekulären Knochenstrukturen. Im Verlauf wird der Zwischenraum zum Knochenlager geschlossen<sup>44,45</sup>.

### 1.3.2 Osteokonduktion und Osteoinduktion

Voraussetzung für eine Kontaktosteogenese ist die Osteokonduktivität des Implantatkörpers. Seine Materialeigenschaften ermöglichen dabei das Adhären und Anwachsen von Knochenzellen auf der Implantatoberfläche bzw. das Hineinwachsen von Zellen und vaskulären Strukturen in Poren, Spalten oder Kanäle. Im Gegensatz zum rein passiven Vorgang der Osteokonduktion beschreibt der Begriff Osteoinduktion den aktiven Prozess der Anlockung von undifferenzierten, mesenchymalen Zellen und deren Differenzierung zu Prä-Osteoblasten durch ein induktives Agens. Wachstumsfaktoren (z.B. TGF- $\beta$ 1, IGF-I, BMP-2) gehören unter anderem zu diesen osteoinduktiven Substanzen. Durch ihre migratorische und differenzierende Wirkung kommt es dann am Ort ihrer Freisetzung zur Knochenneubildung<sup>46</sup>. Osteoinduktion und Osteokonduktion sind also zwei unterschiedliche, aber eng miteinander interferierende Vorgänge. Osteoinduktion ist ein Teilschritt in jedem Knochenheilungsprozess, wie man ihn nach einer Fraktur oder nach dem Einbringen eines Implantatkörpers beobachten kann. Das Implantat an sich kann zudem osteokonduktive Eigenschaften haben. Dies ist jedoch keine Voraussetzung für eine Neubildung von Knochengewebe<sup>47</sup>.

Eine Ergänzung der Implantatwerkstoffe mit osteokonduktiven und osteoinduktiven Eigenschaften kann die Einheilungszeit, die Verankerungsstabilität und die Langlebigkeit von Endoprothesen verbessern<sup>48</sup>. Die Osteoinduktivität von Biomaterialien lässt sich unter anderem durch die chemische Zusammensetzung des Werkstoffes und die Oberflächenstruktur des Implantatkörpers beeinflussen<sup>49,50</sup>. Das Beschichten von Implantaten zur Funktionalisierung ihrer Oberfläche ist ein weiterer

Ansatzpunkt, um die knöcherne Integration zu steigern. Das Auftragen osteoinduktiver Substanzen wie Wachstumsfaktoren oder Stammzellen steht ebenso wie der antiinfektiöse Schutz des Implantats mittels antiadhäsiver und antibakterieller Oberflächen im Zentrum vieler Forschungsarbeiten<sup>51-53</sup>.

## 1.4 Verbesserung der biologischen Integration

### 1.4.1 Oberflächenmorphologie

Die Oberflächenbeschaffenheit von Implantaten ist maßgebend für deren primäre und sekundäre Stabilität im Knochen. Schon beim Vorgang des Implantierens verbessert eine texturierte Oberfläche die mechanische Verzahnung zwischen Implantat und umgebendem Knochengewebe, minimiert die Relativbewegungen gegeneinander und sorgt so für eine größere Primärstabilität im kritischen Interface-Bereich<sup>54-56</sup>.

Rauigkeit, Ladung und chemische Zusammensetzung der Implantatoberfläche bestimmen die nach der Einbringung stattfindenden biologischen Wechselwirkungen zum umliegenden Gewebe und damit die Qualität der knöchernen Integration. Direkt nach der Implantation kommt es aufgrund dieser Wechselwirkungen zu einer Annäherung und Anhaftung von Serumproteinen an die Implantatoberfläche. Der so entstandene Proteinfilm stellt dann das Substrat für die Adhäsion von osteogenen Zellen über spezifische Ligand-Rezeptor-Bindungen dar<sup>57</sup>. Strukturierte Oberflächen führen generell zu einer Vergrößerung der Mantelfläche eines Implantatkörpers. Es treten mehr Zellen und Proteine in Kontakt zum Implantat und finden stärkeren Halt. Die knöcherne Integration und die damit verbundene Sekundärstabilität können gesteigert werden<sup>58,59</sup>. Dabei führen nicht nur die Porosität und Porengröße, sondern auch die Zugänglichkeit der Poren für adhärierende Knochenzellen und vaskuläre Strukturen zu einer biologisch wirksamen Oberfläche. Idealerweise sollte das Implantat über ausreichend weite, interkonnektierende Porenkanäle verfügen. Schwammartige Oberflächen mit fehlenden Eintrittspforten sind somit ungeeignet<sup>60,61</sup>.

Mittelmeier teilt strukturierte Oberflächen nach ihrer geometrischen Form und Größe in makrostrukturiert (grobe Formen wie Waben, Lamellen und Stufen bei Strukturgrößen > 2000 µm), mesostrukturiert (Netze, Kugeln, Gitter und Trabekelstrukturen zwischen 2000 µm und 100 µm) und mikrostrukturiert (sandgestrahlte Oberflächen,

Hydroxylapatit-Beschichtungen und mittels Plasmabeschichtungen aufgetragene Strukturen ( $< 100 \mu\text{m}$ ) ein<sup>62</sup>. Bei den angewandten technischen Verfahren zur Fertigung strukturierter Oberflächen lassen sich auftragende (Gießen, Sintern, Plasmaspritzen, Diffusionsschweißen) von abtragenden (Ätzen, Raustrahlen mit Korundpartikeln) Prozessen unterscheiden<sup>63,64</sup>.

### 1.4.2 Phosphat-Beschichtungen

Phosphate bzw. Phosphonate steigern aufgrund ihrer chemischen Eigenschaften die Hydrophilie von Implantatoberflächen. Proteine und Zellen aus dem umgebenden Gewebe und der Blutbahn lagern sich deshalb schneller an die Beschichtung an und bilden erste Knochenmatrix<sup>64,65</sup>. Sowohl die chemische Verbindung zwischen Knochenbett und Implantat als auch die mechanische Verzahnung zwischen der mikroporösen Implantatoberfläche und dem umliegenden Knochen werden durch aufgetragene Phosphatgruppen gefördert. Damit kann die biomechanische Verankerung des Implantatkörpers beschleunigt und die Osteointegration gesteigert werden<sup>66,67</sup>.

Auf Titan aufgetragen haben Phosphat-Beschichtungen *in vitro* bereits positive Ergebnisse gezeigt. Viornery et al. dokumentierten in ihrer Studie auf Titanscheiben mit Phosphonatmolekülen eine signifikant höhere metabolische Aktivität von Rattenosteoblasten mit einer erhöhten Kollagenproduktion im Vergleich zu unbeschichteten Titankontrollen<sup>65</sup>. Abtahi et al. belegten in ihrer klinischen Studie, dass Dentalimplantate aus Titan, die mit Phosphatgruppen beschichtet wurden, in humanen Oberkieferknochen nach sechs Monaten eine größere Verankerungsstabilität und weniger Knochenresorptionsvorgänge im Randbereich aufwiesen als unbeschichtete Titankontrollen<sup>68</sup>.

Die in der vorliegenden Studie verwendete, kovalent gebundene Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen (Chemische Modifikation, CM) ist permanent an das Implantat aus ZTA-Keramik gebunden. Die Moleküle sind enzymatisch stabil und bleiben auch bei großen pH-Schwankungen an der Implantatoberfläche haften.

### 1.4.3 Hydroxylapatit-Beschichtungen

Das Auftragen von Hydroxylapatit-Beschichtungen auf die Oberfläche von metallischen Endoprothesen führt zu einer verbesserten Osteointegration und ist seit vielen Jahren in vorklinischer und klinischer Erprobung<sup>69-73</sup>. Hydroxylapatit ist eine stabile, kovalente

Kalzium-Phosphor-Verbindung und macht den Hauptbestandteil der physiologischen, nichtorganischen Knochensubstanz aus. Eine Beschichtung mit Hydroxylapatit ist deshalb sowohl biokompatibel als auch bioaktiv und erleichtert durch seine osteokonduktiven Eigenschaften die Anlagerung von körpereigenen Knochenzellen<sup>74,75</sup>. Aufgrund ihrer dreidimensionalen Struktur verfügen Hydroxylapatitbeschichtungen außerdem über die Fähigkeit, bioaktive Moleküle wie knochenmorphogenetische Proteine (BMPs) zu binden, die dann osteoinduktive Zusatzeffekte bedingen und die Neubildung von Knochen ermöglichen<sup>75,76</sup>. Es ist nicht abschließend geklärt, ob es sich bei den gemessenen Effekten von Hydroxylapatitbeschichtungen um chemisch-osteinduktive Phänomene, um Resultate der osteokonduktiven Nanostruktur oder eine Kombination aus beidem handelt. In zwei Arbeiten konnte die Arbeitsgruppe um Meirelles zeigen, dass eine Hydroxylapatitbeschichtung keine verbesserte Osteointegration hervorruft, wenn die Nanostruktur der Implantatoberfläche sich nicht von der Kontrollgruppe unterscheidet<sup>77,78</sup>.

Je nach Partikelgröße lassen sich nanostrukturierte Hydroxylapatitbeschichtungen von Beschichtungsgrößen im Mikrometerbereich unterscheiden. Hydroxylapatitbeschichtungen in Nanogröße haben auf Kunststoff- und Titanimplantaten im vorklinischen Kleintiermodell und auf humanen Dentalimplantaten im posterioren Oberkieferknochen positive Ergebnisse gezeigt. Gegenüber unbeschichteten Kontrollen wiesen die beschichteten Implantate eine größere Knochenkontaktfläche auf und ließen eine höhere Rate an Knochenneubildung erkennen<sup>70,71,79</sup>. Søballe et al. konnten in ihrer Studie nachweisen, dass eine Hydroxylapatitbeschichtung auf Titanimplantaten der Entstehung einer fibrösen Bindegewebsschicht um den Implantatkörper, die durch frühe, belastungsbedingte Mikrobewegungen hervorgerufen wird, entgegenwirkt und das Bindegewebe in mineralisierte Knochensubstanz umwandelt<sup>80</sup>. Hydroxylapatitbeschichtungen führen nicht nur zu einer verstärkten Osteointegration, sondern schützen durch die Bildung unmittelbar anhaftender Knochensubstanz den sensiblen Interface-Bereich um Implantate vor Abriebpartikeln und Makrophagen assoziierten periprothetischen Osteolysen<sup>81,82</sup>. In einer Studie von Rahbek et al. war die Migration von Polyethylenpartikeln entlang des Knochen-Implantat-Interfaces bei Hydroxylapatit-beschichteten Titanimplantaten wesentlich geringer ausgeprägt als bei unbeschichteten Titan-Kontrollen<sup>81</sup>.

In der vorliegenden Studie wurde eine submikrone, kristalline Hydroxylapatitbeschichtung (HA, < 100 nm) auf die Implantatkörper aus ZTA-Keramik aufgetragen.

### 1.4.4 Bioglas-Beschichtungen

Biogläser werden seit über 30 Jahren erfolgreich als Ersatzmaterial für kleinere Knochendefekte in Orthopädie und Dentalchirurgie verwendet<sup>83</sup>. Die 1969 von Larry L. Hench und seinen Mitarbeitern entdeckte Grundform des Bioglasses besteht chemisch aus Siliziumoxid, Natriumoxid, Kalziumoxid und Phosphorpentoxid<sup>84</sup>. Inzwischen existieren verschiedene Varianten, deren Zusammensetzungen je nach Hersteller und Einsatzgebiet leicht differieren<sup>83</sup>. Hauptvorteil der Gläser als Knochenersatzmaterial ist ihre hohe Bioaktivität<sup>83,84</sup>. Ihre Oberflächenreaktion macht eine schnelle Verbindung mit dem umliegenden Gewebe möglich. Zunächst kommt es zum Austausch von Kationen (v.a. Na<sup>+</sup>-Ionen) aus dem Bioglas mit Hydronium-Ionen der umgebenden, wässrigen Lösung. Bei der darauf folgenden Hydrolyse von Siloxangruppen (Si-O-Si) des Bioglasses entstehen Silanolgruppen und Wasser. Die reguläre Struktur des Glases wird dabei unterbrochen und es kommt zur Ausbildung einer gelartigen, silicareichen Schicht auf der Oberfläche. Ca<sup>2+</sup> und PO<sub>4</sub> aus der Glasmasse wandern in die entstandene Schicht ein. In Verbindung mit OH<sup>-</sup> und CO<sub>3</sub>-Ionen bilden sich Hydroxycarbonatapatite, die Grundkomponenten der Knochensubstanz. Umliegende Kollagenfibrillen integrieren sich in die Apatitkristalle und rekrutierte Osteoblasten sorgen für eine feste Verbindung zwischen Bioglas und neu geformten Knochen<sup>85,86</sup>. Die Zusammensetzung der Ionen, die aufgetragene Glaspartikelgröße sowie die chemische Zusammensetzung des Glases haben Einfluss auf die Bildung der Hydroxycarbonatapatit-Schicht<sup>87</sup>. Für eine kleine Partikelgröße (5-20 µm) konnten antimikrobielle und antiinflammatorische Eigenschaften der Biogläser nachgewiesen werden<sup>88,89</sup>. In vitro zeigt Bioglas eine gute Zytokompatibilität und fördert die osteogene Differenzierung<sup>90,91</sup>. Problematisch ist, dass Bioglas an sich keine hohe mechanische Belastbarkeit aufweist. Seine Biegefestigkeit reicht nicht für lasttragende klinische Anwendungen aus<sup>92</sup>. Mit dem Auftragen einer Bioglasbeschichtung auf Keramikimplantate könnten die positiven osteoinduktiven Eigenschaften optimal genutzt und an die Osteokonduktivität der Keramik gekoppelt werden.

In dieser Studie wurden zwei verschiedene Bioglas-Beschichtungen (beide hergestellt am Lehrstuhl Biomaterialien der Universität Erlangen-Nürnberg, 91058 Erlangen,

Deutschland) verwendet. Das Standard-Bioglas 45S5 bildet die Grundlage für die erste Bioglasbeschichtung (DipBG), besteht aus einem Kalziumphosphorsilikatmaterial (45 %  $\text{SiO}_2$ , 24,5 %  $\text{CaO}$ , 24,5 %  $\text{Na}_2\text{O}$ , 6 %  $\text{P}_2\text{O}_5$ ) und weist eine Partikelgröße von 2,0  $\mu\text{m}$  auf<sup>84</sup>. Hergestellt wurde die Beschichtung im Dipping-Verfahren, bei welchem das Implantat in ein Bad aus Beschichtungslösung getaucht, mit einer definierten Geschwindigkeit herausgezogen und anschließend einem Trocknungs- und Sinterungsvorgang ausgesetzt wird. Die Beschichtungsdicke lässt sich anhand der Konzentration des Bioglasses in der Beschichtungslösung und der Anzahl der Eintauchzyklen steuern.

Die zweite Bioglasbeschichtung (SGBG) wurde im nanotechnischen Sol-Gel-Verfahren hergestellt<sup>87</sup>. Die Sol-Gel-Synthese basiert auf einer sauer oder basisch katalysierten Hydrolyse und dem anschließenden Gelieren von sogenannten Präkursoren (Silanen, Siloxanen und Organosilanen) durch Kondensation. Dabei geht das flüssige Sol über eine stabile, flüssige Dispersion nanokristalliner Oxidpartikel in einen gelartigen und anschließend in einen festen Zustand über. Unterschiedliche Porositäten und Formen können durch die Zugabe verschiedener Additive oder über das Trocknungssystem eingestellt werden<sup>93,94</sup>. Das im Versuch verwendete 70S30C Bioglas aus dem Sol-Gel-Verfahren setzt sich chemisch aus 70 mol% Siliziumdioxid ( $\text{SiO}_2$ ) und 30 mol% Kalziumoxid ( $\text{CaO}$ ) zusammen.

An zylindrische Titanimplantate, eingebracht in Kaninchen-Femora, die mit 45S5 Bioglas beschichtet wurden, lagerte sich im Vergleich zu Implantaten mit einer Hydroxylapatitbeschichtung und im Vergleich zur unbeschichteten Titankontrollgruppe signifikant mehr Knochensubstanz an. Histomorphometrisch ließen sich an den Bioglas-Implantaten wesentlich dickere Knochen trabekel finden als bei den beiden Vergleichsgruppen mit Hydroxylapatit- und Titanoberfläche<sup>95</sup>. Stanic et al. konstatierten in ihrer Arbeit eine verbesserte Osteointegration für zylindrische Keramikimplantate mit Bioglasbeschichtung. Diese zeigten bei der Einheilung in die Femurkondylen von Ratten nach dreißig und sechzig Tagen histomorphometrisch sowie elektronenmikroskopisch signifikant mehr Knochenanlagerungen als die unbeschichteten Keramikkontrollen<sup>96</sup>.

## 1.5 Tiermodell

Da eine Simulation des knöchernen Einwachsverhaltens von Implantaten mit allen im Körper beteiligten Zellen und Botenstoffen *in vitro* bisher nicht möglich ist, konnte die Analyse der biologischen Implantatintegration nur mit Hilfe eines Tiermodells realisiert werden. Um die Ergebnisse der biologischen Integration besser auf seine geplante Anwendung im humanmedizinischen Bereich übertragen zu können, war es nötig, ein Tiermodell zu verwenden, das dem Menschen in seiner Knochenstruktur und Dimension entspricht. Das Schaf ähnelt in der Größe seiner Knochen, in Knochen- und Gelenkstruktur sowie im Prozess der Knochenheilung dem Menschen<sup>97</sup>. Im Epiphysenbereich verfügt das Schaf über eine trabekuläre Knochenstruktur mit Trabekel- und Zellgrößen, die dem menschlichen Knochen entsprechen. Bei Tieren mit erheblich kleineren Knochen (z.B. Ratte, Kaninchen) wäre die Übertragung der Ergebnisse auf humane Anwendungsgebiete erschwert und entwickelte Implantat- und Porengrößen könnten nicht unmittelbar umgesetzt werden. Da die Frakturheilungszeiten von Mensch und Schaf nicht wesentlich voneinander differieren, lassen sich ähnlich lange Einwachszeiten für die Implantate annehmen<sup>98</sup>. Aus diesen genannten Gründen wird das Schaf häufig in der traumatologischen und orthopädischen Forschung als Versuchstier genutzt. Verschiedene Modelle der Bohrlochdefektsetzung im Schafsknochen haben sich zur Untersuchung der Einheilung von Implantaten in den trabekulären Knochen bewährt und sind inzwischen etabliert. Dabei sind Lokalisationen an Humerus und Femur besonders häufig verwendet<sup>99-103</sup>. Das in dieser Studie verwendete Tiermodell zum Einbringen der zylindrischen Probekörper und zur Untersuchung der Implantatheilung im trabekulären Knochen umfasste Bohrlochdefektsetzungen im proximalen und distalen epimetaphysären Bereich des linken Humerus sowie in beiden Femurkondylen der linken Hintergliedmaße. Die Lokalisationen im trabekulären Knochen entsprechen im Hinblick auf die klinische Anwendung von Gelenkprothesen einer Verankerung im knöchernen Schaffbereich. Durch das ausschließlich linksseitige Operieren konnte die Belastung der Versuchstiere so gering wie möglich gehalten werden.

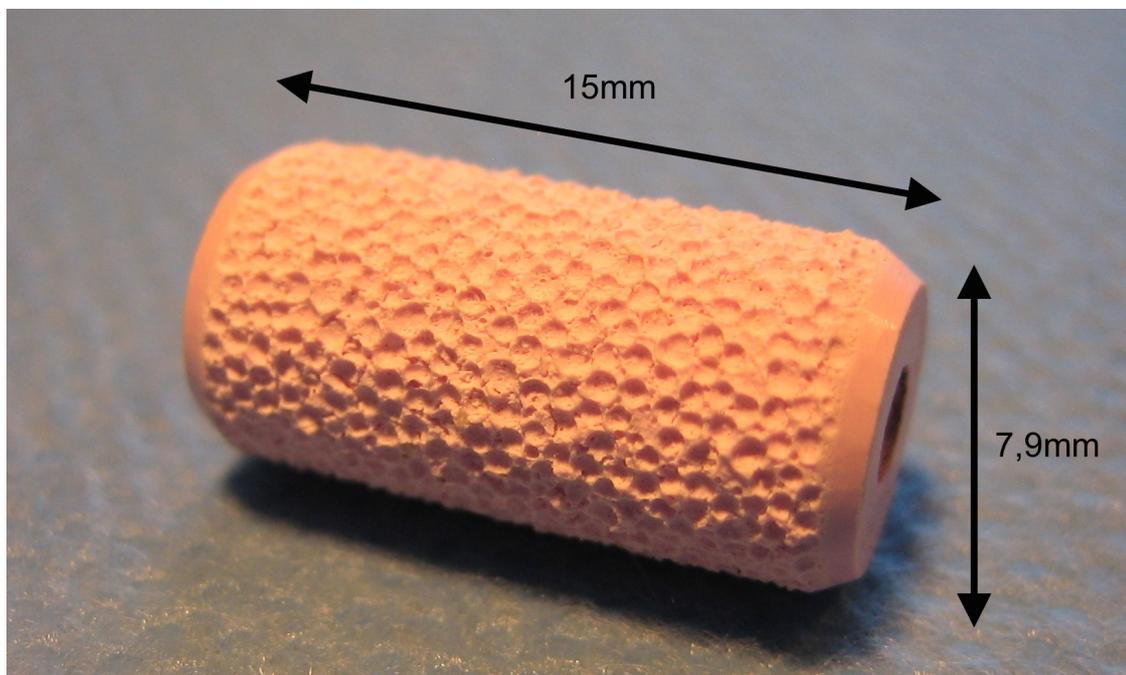
## 1.6 Ziele und Hypothesen der Studie

Ziel der tierexperimentellen Studie ist es, den Einfluss einer kovalent gebundenen Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen (chemische Modifikation, CM), einer submikronen Hydroxylapatitbeschichtung (HA), eines 45S5 Bioglasses aufgetragen mittels Dipping-Verfahren (DipBG) und eines 70S30C Bioglasses aufgetragen mittels Sol-Gel-Verfahren (SGBG) auf die knöchernen Implantatintegration von Probekörpern aus ZTA-Keramik im trabekulären Schafsknochen zu untersuchen. Dabei soll die Hypothese überprüft werden, dass durch eine der vier bioaktiven Beschichtungen die Integration von zylindrischen ZTA-Keramikimplantaten (Fa. CeramTec GmbH, Lauf, Deutschland) im Vergleich zum unbeschichteten Kontrollimplantat verbessert werden kann. Die Beurteilung der erreichten Osteointegration erfolgt anhand der Ergebnisse von Maximalkraft, Steifigkeit, Haftscherfestigkeit, Reibspannung nach Delamination, Gesamtarbeit, Arbeit bis zum Bruch und Energiefreisetzungsrates des Bruchvorgangs im biomechanischen Push-Out-Test. Die Ergebnisse der vier Oberflächenbeschichtungen werden sowohl untereinander als auch mit einer unbeschichteten Kontrollgruppe verglichen, um ihren zusätzlichen Effekt zu analysieren. Um den Einfluss der Press-Fit-Technik bei Implantation auf die maximale Push-Out-Kraft bewerten und so den Zuwachs durch die zwölfwöchige Einheilungszeit bestimmen zu können, werden die Ergebnisse der unbeschichteten Kontrollen zusätzlich mit einer Gruppe nativer Implantate ohne Einheilungszeit verglichen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1 Implantatkörper

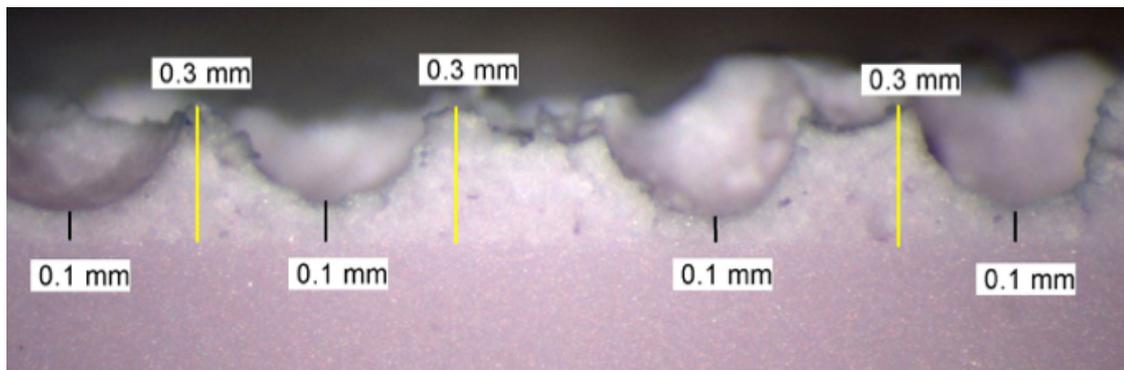
Die verwendeten Implantate besitzen die Geometrie rotationssymmetrischer Zylinder (Abbildung 1) und bestehen aus „zirconia toughened alumina“-Keramik (ZTA, Fa. CeramTec GmbH, Lauf, Deutschland). Die optimale Werkstoffzusammensetzung dieser ZTA-Keramik garantiert hohe Bruchfestigkeit bei gleichzeitig großem Widerstand gegen einsetzendes Risswachstum.



**Abbildung 1: Implantatkörper aus ZTA-Keramik.** Die verwendeten Probekörper besitzen eine texturierte Oberfläche, sind jeweils 15 mm lang und haben fertigungsbedingt einen Durchmesser zwischen 7,8 und 8,1 mm. An beiden Enden des liegenden Implantats ist eine Phase ohne strukturierte Oberfläche zu erkennen, die während der Implantation das Einbringen in den Bohrkanal erleichtert. In Längsrichtung hat der Probekörper ein zentrales Führungsloch, welches größer als 2,4 mm im Durchmesser ist und sowohl die mittige Einbringen in den Bohrkanal als auch das Positionieren der Probe zum mechanischen Push-Out-Test in der Prüfmaschine vereinfacht.

Aluminiumoxid (75 %) sorgt für eine extreme Materialhärte. Tetragonale Zirkonoxidpartikel (23 %), die in der Aluminium-Matrix verteilt sind, erhöhen durch ihre Volumenänderung beim Rissvorgang die Risszähigkeit der Keramik. Enthalten sind

zudem Yttriumoxid (1%), Chromoxid (0,3%) und Strontiumoxid (0,7%). Die verwendete ZTA-Keramik besitzt eine speziell angeraute „Direct to Bone“-Oberfläche (Abbildung 1). Im Herstellungsprozess werden runde Polymerkügelchen auf die noch nicht ausgebrannte Keramik aufgebracht und anschließend durch einen Sinterungsvorgang wieder ausgebrannt. Es sind Einkerbungen entstanden, deren nicht druckstabile Bereiche nochmals mechanisch entfernt werden. Zurück bleiben hemisphärische Poren mit einer Größe von 200-500  $\mu\text{m}$  (Abbildung 2). Mit einer Oberflächenporosität von ca. 47 % und einer erheblich vergrößerten Kontaktfläche für den anwachsenden Knochen hat die Keramik gute Voraussetzungen für eine stabile mechanische Verankerung.



**Abbildung 2: Nahaufnahme der „Direct to Bone“-Implantatoberfläche.** Zu sehen ist ein vergrößerter Ausschnitt der Oberfläche eines Implantatkörpers aus ZTA-Keramik. Durch die spezielle Oberflächenbehandlung sind 200-500  $\mu\text{m}$  große hemisphärische Poren entstanden, die die Kontaktfläche des Implantats vergrößern und die Anlagerung von Knochensubstanz erleichtern sollen (aus CeramTec GmbH: Direct to Bone Oberfläche<sup>104</sup>).

## 2.2 Oberflächenbeschichtungen

Mit vier verschiedenen Oberflächenbeschichtungen soll die biologische Integration der Keramikimplantate optimiert werden. Ziel ist es, die direkte Anhaftung von Knochengewebe an die Oberfläche der ZTA-Keramik zu steigern.

Die kovalent gebundene Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen (Chemische Modifikation, CM) ist pH-stabil und kann nicht durch enzymatische Aktivität abgebaut werden. Die chemischen Eigenschaften der Beschichtung erhöhen die Hydrophilie der Keramikoberfläche und erleichtern damit das Anlagern von Proteinen und Zellen aus dem umgebenden Gewebe. Ihre dreidimensionale Struktur fördert die mechanische Verzahnung zwischen Implantat und benachbartem Knochen. Die Beschichtung aus

Phosphat-ähnlichen Gruppen verfügt demnach über osteokonduktive und osteoinduktive Effekte<sup>64-67</sup>.

Die submikrone, kristalline Hydroxylapatitschicht (HA, <100 nm) besteht aus Kalzium und Phosphat, den Hauptbestandteilen des Knochens, und ist somit höchst biokompatibel. Die aufgetragenen Moleküle vergrößern die raue Oberfläche der Keramik und haben deshalb einen osteokonduktiven Effekt auf die mechanische Integration des Implantats<sup>70,74,75</sup>. Aufgrund ihrer Fähigkeit, knochenmorphogenetische Proteine (BMPs) auf ihrer Oberfläche anzureichern, lassen sich Hydroxylapatitbeschichtungen auch osteoinduktive Effekte zuschreiben<sup>75,76</sup>.

Das Standard-Bioglas 45S5 besteht aus einem Kalziumphosphorsilikatmaterial, weist eine Partikelgröße von 2,0 µm auf und wurde im Dipping-Verfahren auf die Keramikimplantate aufgetragen (DipBG). Eine zweite 70S30C Bioglasbeschichtung ist im nanotechnischen Sol-Gel-Verfahren hergestellt worden und setzt sich chemisch aus 70 mol% SiO<sub>2</sub> und 30 mol% CaO zusammen (SGBG)<sup>87</sup>. Biogläser verbinden sich chemisch sehr schnell mit ihrem Umgebungsgewebe, begünstigen dabei die Neubildung von Hydroxylapatit und gelten dementsprechend als osteoinduktiv<sup>83-86</sup>.

## 2.3 Studiendesign

### 2.3.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere wurden weibliche Schafe der Merino-Mix-Rasse gewählt. Um ein ausgewachsenes Skelettsystem sicherzustellen, waren alle Tiere älter als zweieinhalb Jahre. Der Mittelwert für das Gewicht der Schafe lag bei 78,2 kg mit einer Standardabweichung von 7,64 kg.



**Abbildung 3: Weibliche Schafe der Rasse Merino-Mix in Weidehaltung.**

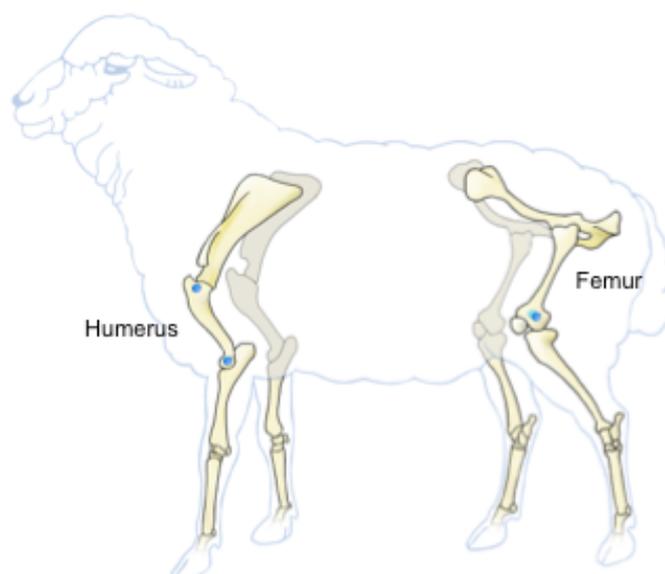
Der Tierversuch wurde vom Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin (Turmstraße 21, 10559 Berlin) unter der Projektnummer G340/13 genehmigt und unter Berücksichtigung der aktuell geltenden nationalen Gesetzgebung durchgeführt.

Die Versuchstiere wurden in der Forschungseinrichtung für experimentelle Medizin (Campus Virchow Klinikum) in Gruppen mit ausschließlich weiblichen Schafen in einem klimatisierten Stall gehalten. Nach der Lieferung durch den Schäfer erfolgte eine Eingangsuntersuchung. Die Tiere konnten sich mindestens eine Woche an die neuen Haltungsbedingungen gewöhnen, wurden mit Wasser ad libitum und zweimal täglich mit Heu versorgt. Bereits operierte und klinisch unauffällige Tiere verbrachten die Zeit bis zur biomechanischen Auswertung auf der Weide der Landwirtschaftlich-Gärtnerischen Fakultät der Humboldt-Universität Versuchsstation-Nutztierwissenschaft (Lentzeallee 75, 14195 Berlin).

### 2.3.2 Operationsmodell

Die Implantation der Probekörper erfolgte in den trabekulären Knochen im proximalen und distalen epimetaphysären Bereich des linken Humerus und an beiden Kondylen des distalen linken Femurs. Das verwendete Operationsmodell ist eine Modifizierung von zwei bereits beschriebenen Modellen. Im trabekulären Defektmodell des Schafes von Nuss et al. wurden die Lokalisationen im proximalen und distalen Humerus bereits beidseitig neben der Verwendung des proximalen und distalen Femurs etabliert<sup>101</sup>. Das Verfahren der achsengleichen Implantation in die beiden Femurkondylen wurde

beidseitig ebenfalls bereits in einer Studie angewendet<sup>103</sup>.



**Abbildung 4: Schematische Darstellung der Defektlokalisationen im Schafskelett.** Die Bohrlochdefektsetzungen in den trabekulären Knochen erfolgen an den hellblau markierten Lokalisationen im proximalen und distalen epimetaphysären Bereich des linken Humerus und achsengleich an beiden Femurkondylen der linken Hintergliedmaße. Die operativen Zugänge für beide Lokalisationen des Humerus und die linke Femurkondyle liegen lateral, während die rechte Femurkondyle von medial erreicht wird. Die Defekte werden in Press-Fit-Technik mit den zylindrischen Keramikkörpern ausgefüllt (adaptiert nach Pobloth et al.<sup>102</sup>).

Die operative Implantation der Probekörper in den trabekulären Knochen erfolgte über Bohrlöcher im proximalen und distalen epimetaphysären Bereich des linken Humerus und an beiden Kondylen des distalen linken Femurs (Abbildung 4). Pro Beschichtung wurden acht Implantate eingesetzt. Um den zusätzlichen Effekt der vier Oberflächenbehandlungen auf die biologische Integrationsfähigkeit der Keramik bewerten zu können, wurde die unbeschichtete ZTA-Keramik als Kontrollgruppe im gleichen Modell implantiert und getestet. Für vier verschiedene Oberflächenbeschichtungen und eine unbeschichtete Kontrollgruppe wurden insgesamt vierzig Bohrlochdefekte gesetzt, die sich mit dem geschilderten, linksseitigen Operationsmodell auf vier Defekte pro Versuchstier verteilten (Tabelle 1). Insgesamt wurden zehn Tiere operiert.

Die Zuteilung der Probekörper auf die vier knöchernen Implantationsorte erfolgte mit Hilfe einer randomisierten vollständigen Blockanlage (Randomized Complete Block Design), um eine einheitliche Verteilung der Proben zu erreichen und mögliche lokalisationsbedingte Heilungsunterschiede homogen auf die fünf

Beschichtungsgruppen zu verteilen. Die Proben jeder Beschichtungsgruppe wurden dabei jeweils auf acht Versuchstiere verteilt und zweimal in jeder der vier möglichen knöchernen Lokalisationen eingesetzt.

Die Versuchstiere wurden postoperativ ohne Bewegungseinschränkungen und mit Weideauslauf gehalten, sodass die Implantate unter körperlicher Vollbelastung standen. Jeweils eine Woche vor ihrer planmäßigen Euthanasie wurden die Tiere zurück in die FEM transportiert. Nach einer Einheilungszeit von exakt zwölf Wochen wurden die Tiere euthanasiert und die knöcherne Einheilung der Implantate biomechanisch analysiert.

**Tabelle 1: Oberflächenbeschichtungen und Probenanzahl**

Oberflächenbeschichtung	Probenanzahl
<b>CM</b> (Chemische Modifikation)	n = 8
<b>HA</b> (Hydroxylapatit)	n = 8
<b>Bioglas Dipping</b> (hergestellt im Dipping-Verfahren)	n = 8
<b>Bioglas SolGel</b> (hergestellt im Sol-Gel-Verfahren)	n = 8
<b>Nude Control</b> (unbeschichtete Referenzgruppe)	n = 8
Anzahl Implantate insgesamt	<b>40</b>

### 2.3.3 Implantation und operatives Management

Die Operation erfolgte unter einer balancierten Inhalationsnarkose mit Isofluran (Fa. AbbVie Deutschland GmbH & Co. KG, Ludwigshafen, Deutschland), Sauerstoff und Lachgas. Noch im Stall erhielt das Tier eine Venenverweilkanüle an der Vena cephalica antebrachii und die Narkose wurde mit Thiopental 2,5 % (Fa. Rotexmedica GmbH, Trittau, Deutschland) in einer Dosierung von 10 mg pro Kilogramm Körpergewicht eingeleitet. Im Operationssaal erfolgten dann die Intubation und der Anschluss an das Beatmungsgerät. Die Haut über den operativen Zugängen wurde geschoren und gewaschen. Nach einer Jod-Desinfektion (Braunoderm, Fa. B. Braun Melsungen AG,

Melsungen, Deutschland) der Operationsfelder wurde das Tier mit sterilen Tüchern abgedeckt (Abbildung 5).



**Abbildung 5: Vorbereitete Operationsfelder.** Zu sehen ist das mit Gurten in einer rechtsseitigen Rückenlage auf dem Operationstisch gesicherte Versuchstier. Die Hautareale über linkem Humerus und Femur sind rasiert, gewaschen und mit Jodlösung desinfiziert. Sterile Tücher bedecken das Tier. Linker Vorder- und Hinterlauf sind mit sterilen Fixierbinden umwickelt.

Das Legen einer Pansensonde verhinderte ein Aufgasen des Pansens (Pansentympanie) während der Operationszeit. Eine periphere Verweilkanüle in einer Ohrvene war für mehrmalige perioperative Blutgasanalysen notwendig. Zur initialen Kreislaufstabilisierung erhielt das Tier in den ersten dreißig Minuten der Narkosezeit intravenös einen Liter vorgewärmte Vollelektrolytlösung (Sterofundin, Fa. B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Im weiteren Verlauf der Narkose wurden Flüssigkeitsverluste mit 500 ml Plasmaexpander (Vololyte 6 %, Fa. Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) und langsam einlaufender Sterofundin-Vollelektrolytlösung substituiert.

Während der Operation bekam das Tier ein Schmerzmittel aus der Gruppe der Opiode verabreicht (Fentanylcitrat, Janssen-Cilag Pharma, Wien, Österreich). Die erstmalige Gabe erfolgte drei Minuten vor dem ersten Hautschnitt intravenös im Bolus (3 ml). Es folgten weitere Gaben im Abstand von dreißig Minuten sowie nach Bedarf bis zur letzten Bohrlochdefektsetzung (je 2 ml). Zur Infektvorbeugung erhielt das Tier intraoperativ eine kombinierte, intravenöse Antibiotikaprophylaxe (3 g Unacid: Wirkstoff 1 g Sulbactam und 2 g Ampicillin, Fa. Pfizer Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland

sowie 100 ml Metronidazol 5 mg/ml, Fa. Actavis, Ingelheim, Deutschland). Zum Schutz des Labmagens wurden intravenös drei Ampullen je 40 mg Pantoprazol (Fa. Actavis, Ingelheim, Deutschland) verabreicht. Blutungen wurden mit dem Elektrokauter gestoppt.

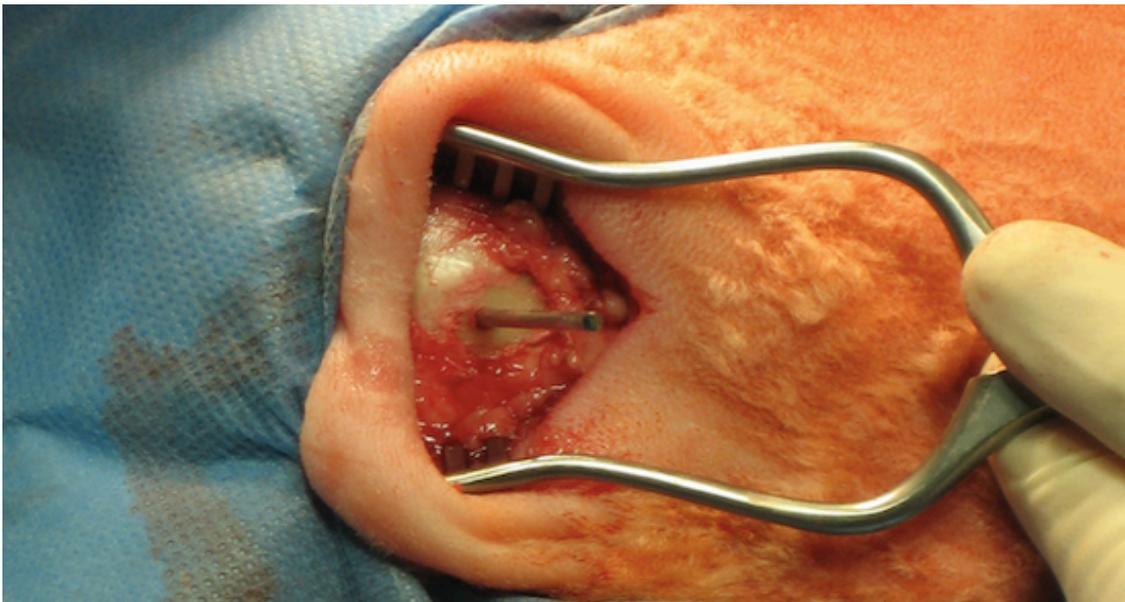
Begonnen wurde mit der Defektsetzung im distalen lateralen epimetaphysären Bereich des linken Femurs. Der Hautschnitt erfolgte über der lateralen Femurkondyle. Der kraniale Anteil des darunter liegenden Musculus biceps sowie seine Faszie wurden senkrecht zum Faserverlauf mit dem Skalpell durchtrennt und mit Wundspreizern (WEITLANER und GELPI, Fa. Eickemeyer, Tuttlingen, Deutschland) zur Seite verlagert bis die Femurkondyle frei sichtbar war. Im Anschluss wurde der operative Zugang an der medialen Femurkondyle präpariert. Der Hautschnitt erfolgte dabei über der medialen Femurkondyle und reichte bis zur Tuberositas der Tibia. Der Musculus sartorius und seine Faszie wurden zwischen dem kranialen und kaudalen Anteil longitudinal durchtrennt und ebenfalls mit Wundspreizern zur Seite verlagert, um eine freie Sicht auf den Knochen zu erhalten.

Die geplanten Positionen der Implantate lagen jeweils proximal der Ansatzpunkte von lateralem bzw. medialem Kollateralband. An genau diesen Stellen wurden die Knochenoberflächen mit einem Raspatorium (WILLINGER, Fa. Eickemeyer, Tuttlingen, Deutschland) vom aufliegenden Periost befreit. Eine Kirschner-Draht-Führungshilfe (Fa. Arthrex, München, Deutschland) wurde genutzt, um beide Implantate parallel zum Gelenkspalt kurz über der Fossa intercondylaris zu positionieren (Abbildung 13). Die beidseitig korrekte Position der Führungshilfe wurde mittels Bildwandler kontrolliert, bevor der Kirschner-Draht (2,4 mm Durchmesser, Fa. DePuy Synthes, Umkirch, Deutschland) von lateral durch die Führungshilfe eingebohrt wurde (Abbildung 6). Erst wenn der Draht auf der Gegenseite des Knochens hinausragte, konnte die Führungsvorrichtung entfernt werden.

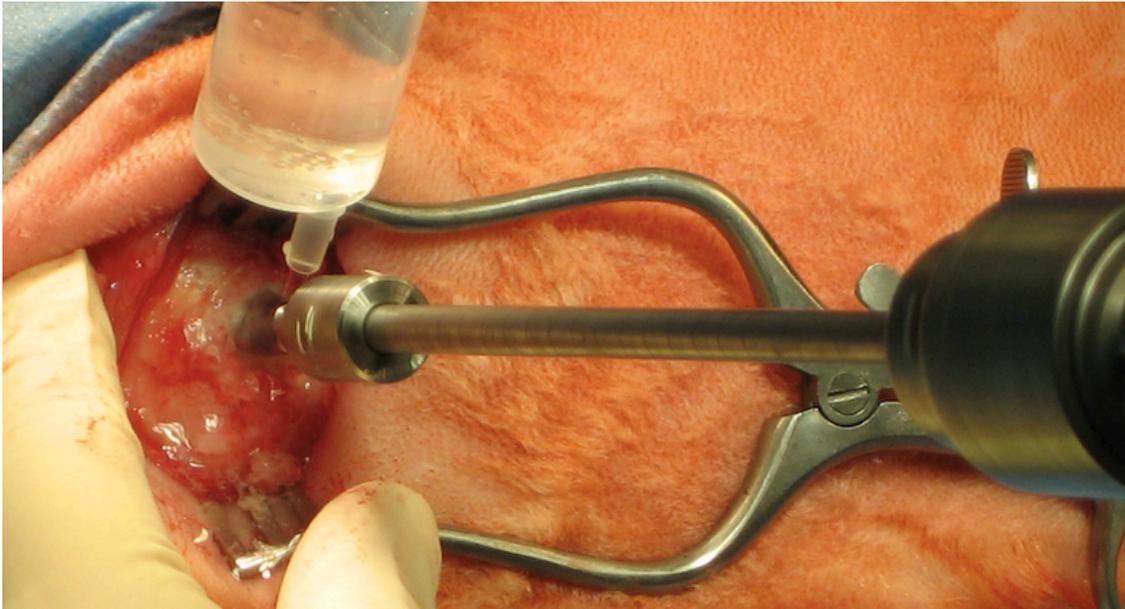
An beiden Lokalisationen im Humerus erfolgte die K-Draht-Bohrung ohne spezielle Führungshilfe. Abbildung 7 zeigt beispielhaft die korrekte Position des Kirschner-Drahts im epimetaphysären Bereich des linken proximalen Humerus.



**Abbildung 6: Einbohren des Kirschner-Drahts mittels Führungshilfe.** Der Kirschner-Draht wird von lateral entlang des Bohrkanals der zuvor positionierten Führungshilfe durch die laterale und mediale Kondyle des linken Femurs gebohrt.



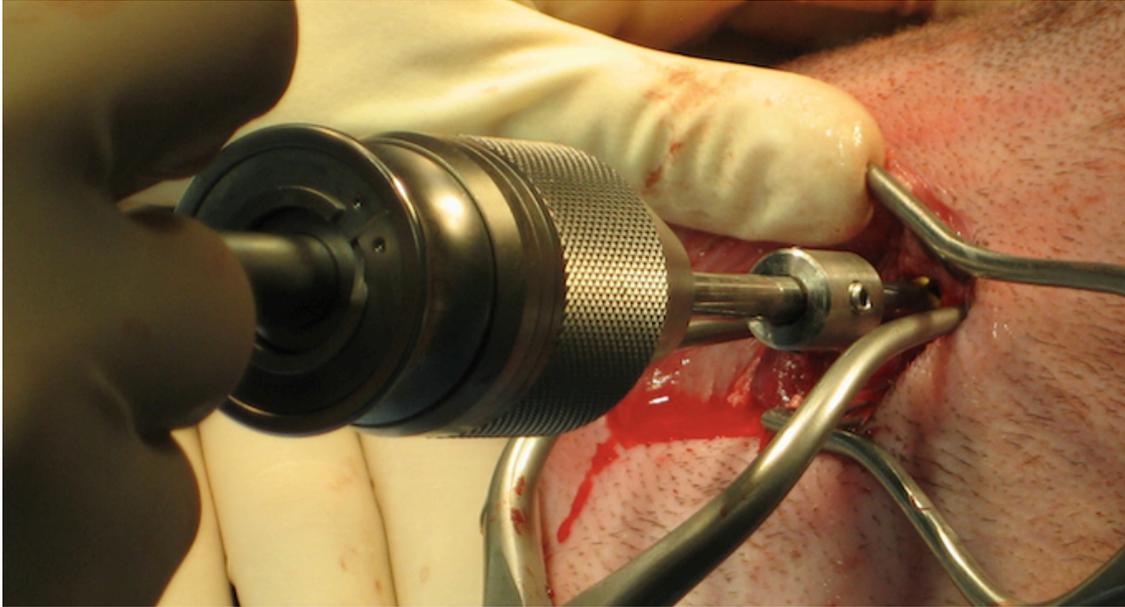
**Abbildung 7: Platziertes Kirschner-Draht im epimetaphysären Bereich des proximalen Humerus.** Der Blick auf den vom Periost befreiten, proximalen Humerus zeigt den distal des Tuberculum majus und lateral der Crista tuberculi majoris positionierten Kirschner-Draht.



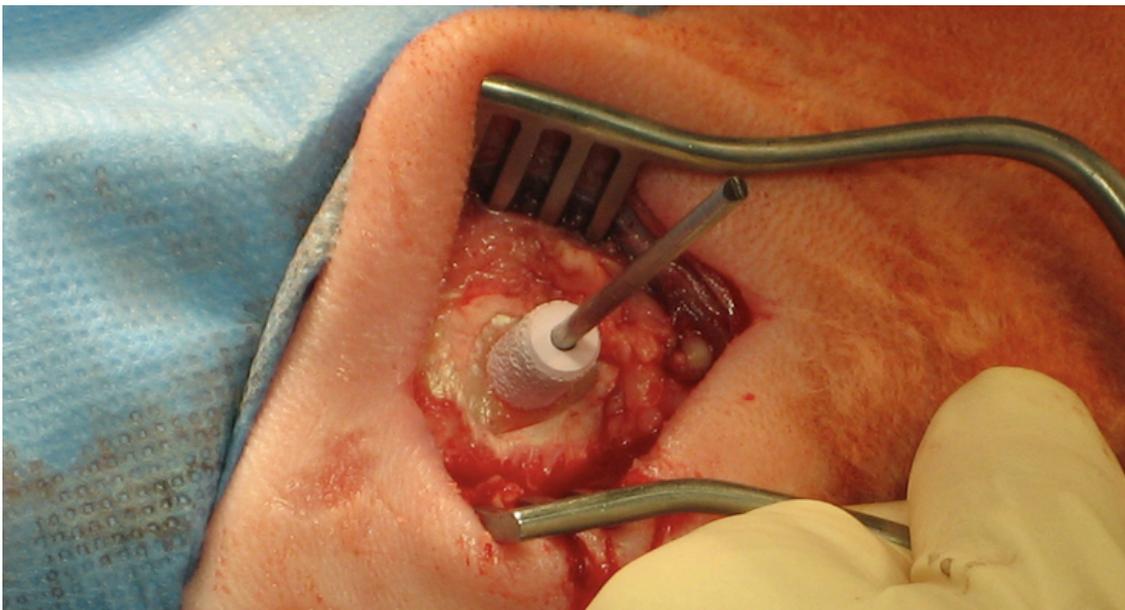
**Abbildung 8: Kirschner-Draht geführte Bohrlochdefektsetzung.** Unter ständigem Spülen mit steriler Kochsalzlösung wird entlang des Kirschner-Drahts in den epimetaphysären Bereich des proximalen Humerus gebohrt. Der aufgesetzte Bohrstopp verhindert das Entstehen zu tiefer Bohrlöcher.

Mit einem kanülierten Bohrer der Größe 7 mm (Fa. Arthrex, München, Deutschland) wurde nun das Bohrloch Kirschner-Draht geführt gesetzt (Abbildung 8). Um zu gewährleisten, dass die Implantate nach ihrer Platzierung vollständig versenkt und komplett von trabekulärem Knochen umgeben waren, wurde ein speziell angefertigter Bohrstopp verwendet, der die Tiefe der Bohrlöcher exakt definierte. Im Anschluss an die Bohrung erfolgte die Entfernung von Periostresten an den Bohrlochrändern mit einem Skalpell. Das Spülen und anschließende Austrocknen des Bohrlochs mit Gazetupfern reinigte den Bohrkanal von Knochenpartikeln.

Es folgte die vorsichtige Erweiterung des Bohrkanals mit einem Handbohrer (Handbohrer mit Handbohrfutter, Fa. DePuy Synthes, Umkirch, Deutschland) bis zum Erreichen des benötigten Press-Fits (Abbildung 9). Nach erneuter Säuberung des Bohrlochs erfolgte die Überprüfung der korrekten Bohrtiefe mit einem Tiefenmesser (Fa. DePuy Synthes, Umkirch, Deutschland). Das Implantat wurde nun mit seinem zentralen Führungsloch auf den Kirschner-Draht geschoben und vor dem Bohrloch positioniert (Abbildung 10).



**Abbildung 9: Manuelle Bohrkanalerweiterung mit einem Handbohrer.** Um das benötigte Press-Fit zwischen Implantat und Bohrkanal zu erreichen wird der Bohrkanal vorsichtig mit einem Handbohrer erweitert. Die gewünschte Zielgröße des Bohrkanals liegt dabei jeweils 0,1 mm unter dem Durchmesser des einzusetzenden Implantats.

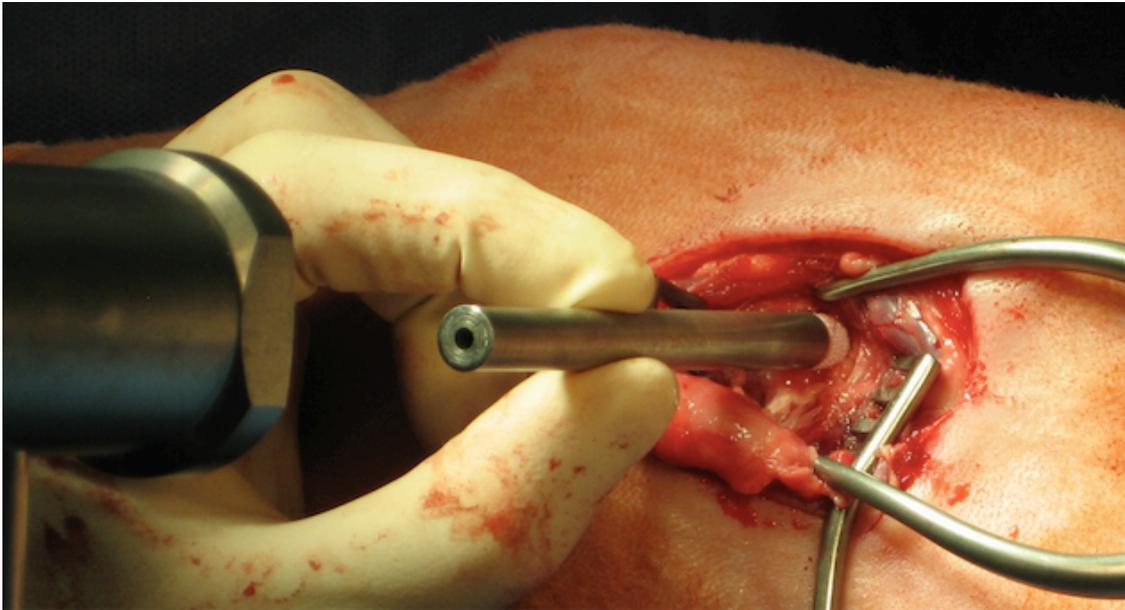


**Abbildung 10: Implantatpositionierung entlang des Kirschner-Drahts.** Das einzusetzende Implantat wird über sein zentrales Führungsloch auf den Kirschner-Draht geschoben und vor dem gesäuberten Bohrloch im epimetaphysären Bereich des proximalen Humerus positioniert.

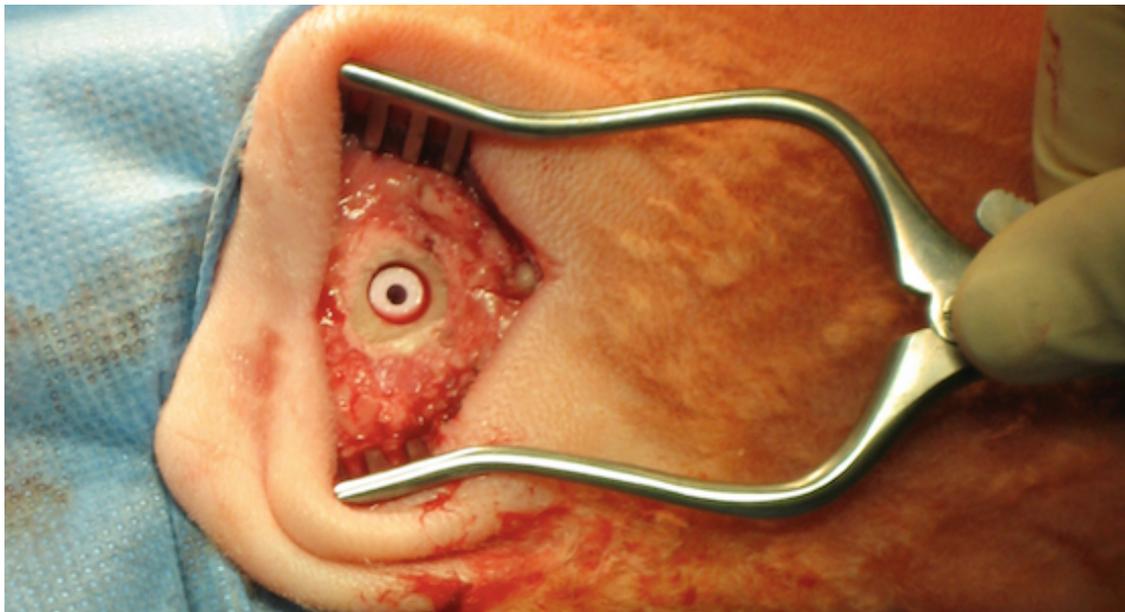
Mit leichten Hammerschlägen auf eine für diesen Versuch speziell angefertigte Einschlaghilfe (Fa. CeramTec GmbH, Lauf, Deutschland) wurde das Implantat vollständig in den Bohrkanal versenkt (Abbildung 11).

Bohrlochsetzung und Implantation erfolgten am Femur zunächst von lateral und im

Anschluss von medial. Nach beidseitigem Einsetzen der Keramikzylinder konnte der Kirschner-Draht aus dem Femur entfernt werden. Abbildung 12 zeigt das vollständig im Knochen versenkte Implantat.



**Abbildung 11: Einhämmern des Implantats.** Über den Kirschner-Draht wird die speziell angefertigte Einschlaghilfe direkt hinter dem Implantat positioniert. Mit leichten Hammerschlägen wird der Probekörper in Press-Fit-Technik im trabekulären Knochen der lateralen Femurkondyle versenkt ohne den Keramikzylinder dabei zu beschädigen. Durch Phasen an beiden Implantatenden wird ein Verkanten an den Knochenrändern verhindert und das leichte Hineingleiten in den Bohrkanal ermöglicht.



**Abbildung 12: Vollständig im Knochen versenktes Implantat.** Zu sehen ist der vollständig in der proximalen Epiphyse des linken Humerus versenkte Implantatkörper nach Entfernung des Kirschner-Drahts. Er ist von allen Seiten von trabekulärem Knochen umgeben.

Zur Defektsetzung in der proximalen Epiphyse des linken Humerus erfolgte ein Hautschnitt vom Acromion der Scapula bis zum distalen Ende des Tuberculum majus des Humerus. Der Teil des Musculus deltoideus, der am Acromion ansetzt, wurde mit einem Skalpell gespalten und nach kaudal verlagert, um die Insertionsstelle der Sehne des Musculus infraspinatus freizulegen. Etwas kaudal zum Ansatzpunkt dieser Sehne, 2,5 cm distal des Tuberculum majus und 2 cm lateral der Crista tuberculi majoris, erfolgte die Knochendefektsetzung nach dem für die Femurlokalisationen beschriebenen Verfahren.

Der operative Zugang an der distalen Epiphyse des linken Humerus begann mit einem Hautschnitt über dem lateralen Epicondylus humeri. Im Anschluss wurde der proximale Anteil des seitlichen Kollateralbandes dem Faserverlauf folgend mit dem Skalpell durchtrennt. Der Ansatzpunkt dieses Bandes befindet sich in einer Einkerbung des Knochens. In dieser Vertiefung erfolgte die Bohrlochsetzung.

Nach den vier Implantationen wurden Muskulatur und Faszien über den Defekten schichtgerecht mit Vicryl-Fäden (ETHICON Vicryl 2-0, Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland) und fortlaufenden Nähten verschlossen. Es folgten Subkutan- (ETHICON Vicryl 3-0, Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland) sowie Hautnähte (ETHICON Prolene, 3-0 Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland). Das Auftragen eines silberhaltigen Wundsprays (MeproVet Aluminium Spray, Fa. Dr. Jäger und Bergmann GmbH, Vechta, Deutschland) auf alle vier Nähte diente dem Oberflächenschutz der Wunden. Nach dem Verschluss der Operationswunden und während der Ausleitung der Isoflurannarkose wurden konventionelle, digitale Röntgenbilder von linkem Femur und Humerus in anterior-posteriorer und medio-lateraler Ebene angefertigt, um die postoperative Implantatlage zu dokumentieren.

### 2.3.4 Postoperative Nachsorge

In der direkten postoperativen Nachsorge standen die Tiere räumlich getrennt in Kleingruppen von zwei bis drei Tieren und wurden täglich intensiv betreut. Schon während der Ausleitung der Operationsnarkose wurde ein Fentanylpflaster (Durogesic 75 µg/h transdermales Pflaster a 12,6 mg, Wirkstoff: Fentanyl, Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) zur direkten Schmerztherapie auf die enthaarte Haut des Unterarms geklebt. Außerdem wurden Finadyne (2,2 ml/50 kg Körpergewicht s.c., Wirkstoff: Flunixin-Meglumin, Fa. MSD Tiergesundheit, Unterschleissheim,

Deutschland) als Analgetikum und Veracin–Compositum (3 ml/50 kg Körpergewicht s.c., 1 ml enthält: 80.000 I.E. (76,19 mg) Benzathin-Benzylpenicillin, 120.000 I.E. (120 mg) Benzylpenicillin-Procaïn, 200.000 I.E. (258 mg) Dihydrostreptomycinsulfat, 20 mg Procainhydrochlorid, Fa. Albrecht GmbH, Aulendorf, Deutschland) als Antibiose verabreicht.

Am ersten postoperativen Tag erhielten die Tiere als Einmaldosis intravenös 100 ml Metronidazol (Metronidazol 5 mg/ml, Fa. Actavis, Ingelheim, Deutschland) und drei Ampullen je 40 mg Pantoprazol (Fa. Actavis, Ingelheim, Deutschland). Die subkutane Schmerzmittelapplikation von Finadyne wurde einmal täglich eine Woche lang fortgeführt. Das Antibiotikum wurde über acht Tage jeden zweiten Tag verabreicht. Am dritten postoperativen Tag wurde das Fentanylpflaster einmalig durch ein Neues ersetzt. Täglich erfolgten eine Kontrolle des Allgemeinbefindens der Tiere und eine Begutachtung der Operationswunden. Am zehnten postoperativen Tag wurden die Wundfäden gezogen.

### 2.3.5 Euthanasie und Sektion

Exakt zwölf Wochen nach ihrem operativen Eingriff wurden die Versuchstiere euthanasiert. Über eine periphere Verweilkanüle erfolgte die Injektion von 2,5 g Thiopental in die rechte Vena cephalica antebrachii. Erst nach dem Ausbleiben der Atmung und sämtlicher Reflexe am Kopf, wurden weitere 100 ml Kaliumchlorid (Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) injiziert, die in wenigen Sekunden zum Herzstillstand führten. Der eingetretene Tod des Tieres wurde durch die Auskultation des Herzens sichergestellt. Im Sektionsraum erfolgte die Entnahme von linkem Humerus und Femur im Ganzen. Dabei wurden das Heilungsergebnis im Bereich des operativen Zugangs, die Implantatlokalisationen sowie die angrenzenden Gelenkstrukturen und die Synovialbeschaffenheit beurteilt und die Ergebnisse auf dem Sektions- und Entnahmeprotokoll vermerkt.

Kontralaterale Femora und Humeri wurden bei allen zehn Tieren ebenfalls entfernt und für die Durchführung der biomechanischen Kadavertestungen eingefroren. Abbildung 13 zeigt exemplarisch die in der Sektion entnommenen Knochen mit enthaltenen Implantaten im anterior-posterior aufgenommenen Röntgenbild (bei 70 kV und 2,5 mA im Siemens Mobilett Plus, Fa. Siemens, München, Deutschland).



**Abbildung 13: Eingehheilte Implantate im Röntgenbild.** Das konventionelle Röntgenbild von Humerus (oben) und Femur (unten) wurde zwölf Wochen postoperativ im anterior-posterioren Strahlengang bei 70 kV und 2,5 mA aufgenommen und zeigt exemplarisch die korrekten Positionen der vier eingehheilten Implantate.

Nach der Probenentnahme folgte umgehend der Transport zur biomechanischen Testung. Die Knochen wurden dabei mit Gazetupfern umwickelt, mit Natriumchlorid feucht gehalten und gekühlt.

## 2.4 Biomechanische Testung

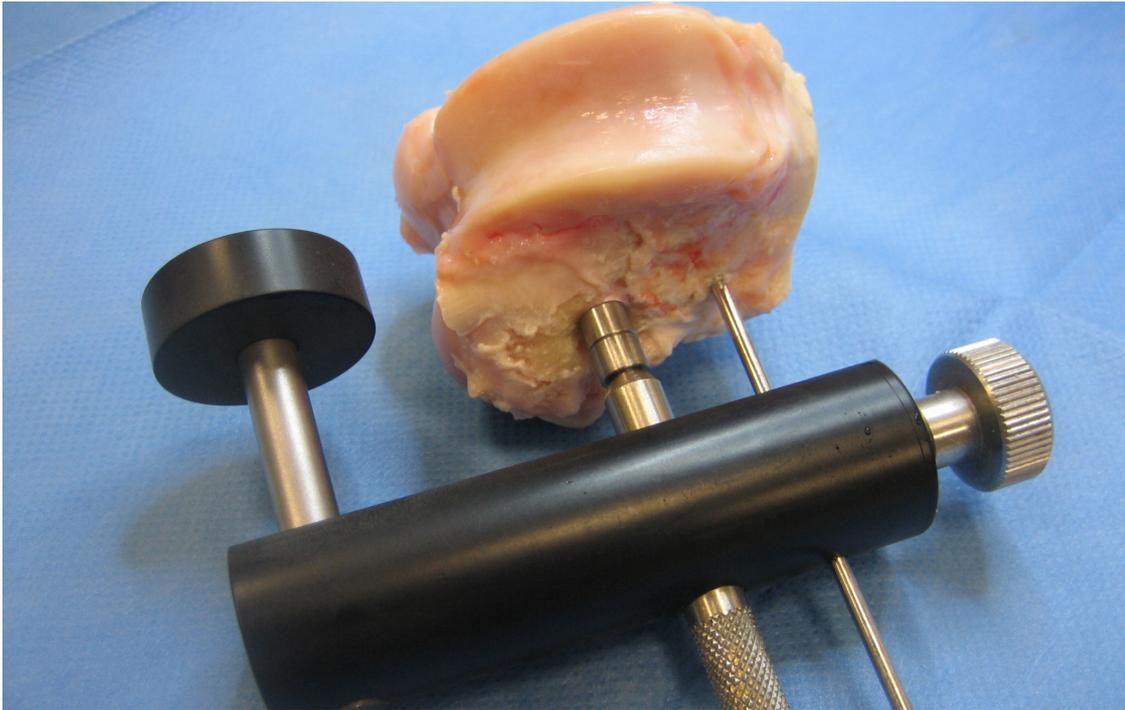
### 2.4.1 Vorbereitung der Proben

Die explantierten Knochen jedes Tieres (linke Femora und Humeri) wurden im Bereich des Probekörpers von Muskeln, Sehnen und Bindegewebe befreit. Während aller Arbeitsschritte wurden die Proben mit physiologischer Kochsalzlösung feucht gehalten, um ihr Austrocknen zu verhindern. Mit einem ersten Sägeschnitt an der Diamantbandsäge (Fa. Exakt, Norderstedt, Deutschland) erfolgte die Trennung der Epiphyse, in welcher sich das Implantat befand, vom restlichen Knochen (Abbildung 14).

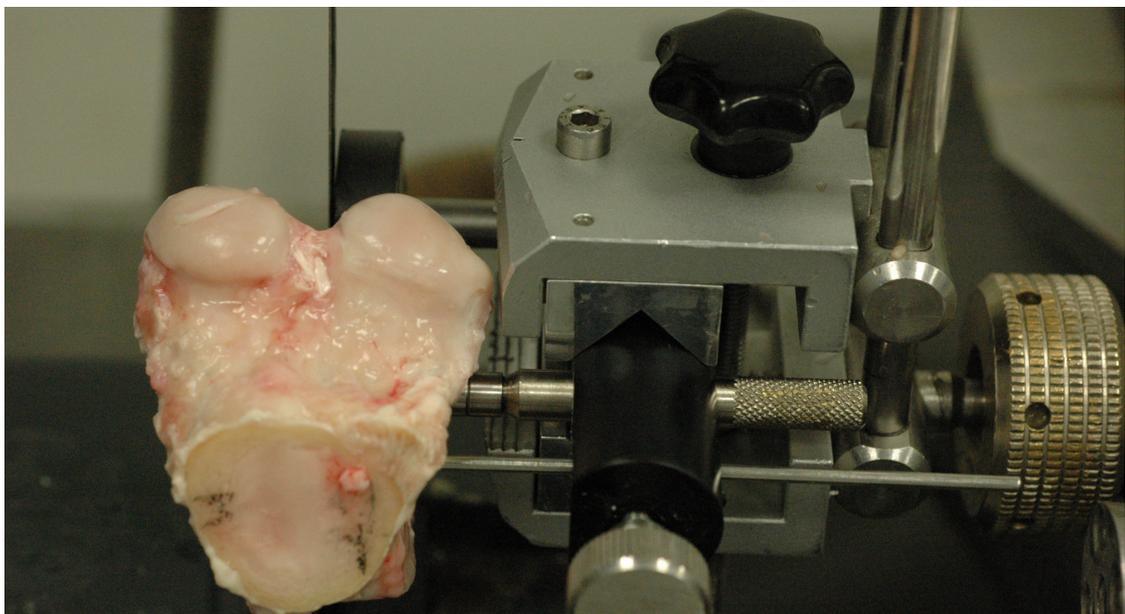


**Abbildung 14: Linker Humerus in der Diamantbandsäge.** Der von Muskeln, Sehnen und Bindegewebe befreite linke Humerus ist mit seiner distalen Epiphyse in der Diamantbandsäge eingespannt. Unter ständigem Spülen mit Wasser erfolgt der Sägeschnitt zum Abtrennen der implantatbesetzten, distalen Epiphyse vom restlichen Knochen.

Danach wurde die abgesägte Probe in eine Präzisionssägehilfe eingespannt und dort mit einem Kirschner-Draht rotationsstabil verankert (Abbildung 15). Die Sägehilfe ist eine Spezialanfertigung aus dem „Centrum Wissenschaftliche Werkstätten“ der Charité. Mit ihr war ein exakt planer Sägeschnitt hinter dem Implantat möglich, der eine stabile, planparallele knöcherne Auflagefläche für den Push-Out-Test gewährleistet und ein Kippen der Probe oder das Verankern des Prüfstempels verhindert (Abbildung 16).

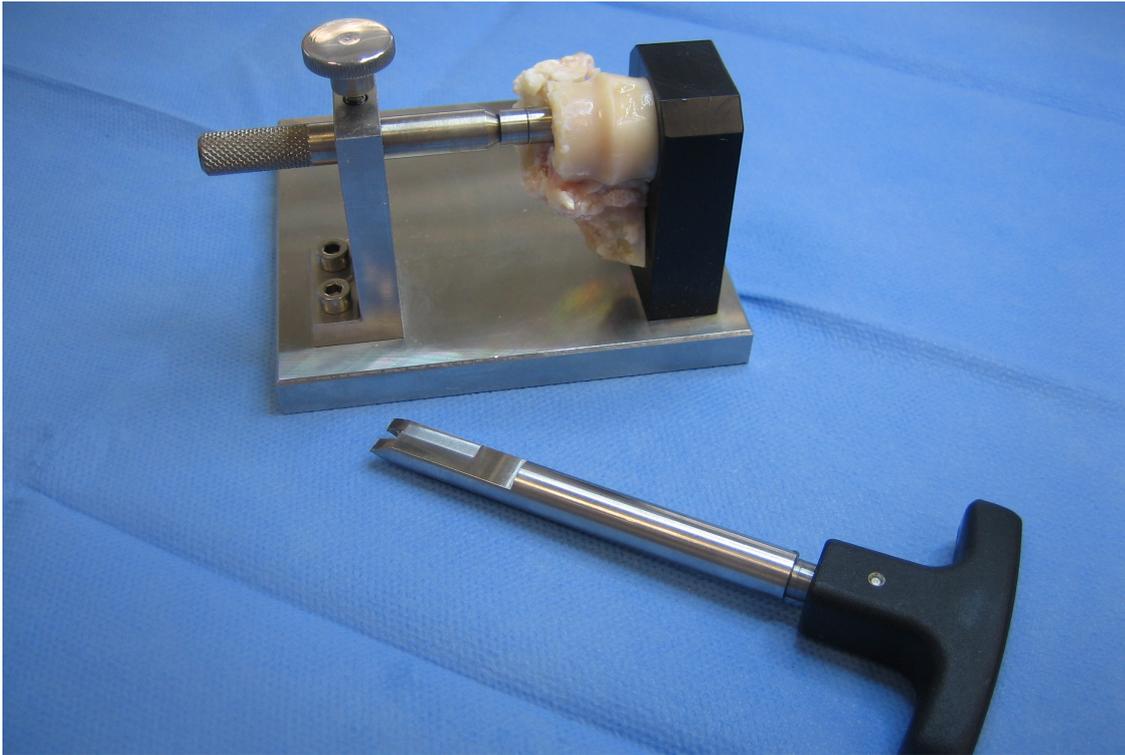


**Abbildung 15: Probe in Präzisionssägehilfe.** Das implantatbesetzte, distale Femur ist mit einem Kirschner-Draht rotationsstabil in der speziell hergestellten Präzisionssägehilfe verankert. Über das zentrale Führungsloch der Implantate lassen sich die Proben so in der Sägehilfe fixieren, dass der schwarze, kreisförmige Abstandshalter als Schnittführungsorientierung für einen exakt planen Sägeschnitt hinter den Implantaten dient.



**Abbildung 16: In Präzisionssägehilfe verankerte Probe in der Diamantbandsäge.** Das Bild zeigt das distale Femur, welches über die Präzisionssägehilfe in der Diamantbandsäge befestigt ist. Mediale und laterale Kondyle sind mit Bleistiftmarkierungen gekennzeichnet. Das Sägeblatt ist an der schwarzen Schnittführungsorientierung ausgerichtet und vollzieht einen exakt planen Sägeschnitt hinter dem Implantat der lateralen Femurkondyle.

Anschließend erfolgte auf der Seite des Sägeschnitts die Entfernung der Knochensubstanz hinter dem Implantat. Hierfür wurde eine speziell im „Centrum Wissenschaftliche Werkstätten“ der Charité angefertigte Fräsvorrichtung mit einem 9 mm breiten Fräskopf verwendet (Abbildung 17). Dieser Arbeitsschritt stellte sicher, dass beim Push-Out-Test nur die tatsächliche Einheilung der Implantat-Seitenflächen getestet wurde und sich keine Knochensubstanz hinter dem Implantat befand, die den Push-Out-Vorgang stören und dabei die gemessenen Kraftwerte verfälschen konnte.



**Abbildung 17: Probe in Fräsvorrichtung.** Die Probe (distale Epiphyse des linken Humerus) ist über das zentrale Führungsloch des Implantats in die Fräsvorrichtung eingespannt. Die plane Unterseite der Probe weist zum schwarzen Kunststoffrechteck. Über ein Loch in diesem wird mit dem nebenliegenden Fräskopf die Knochensubstanz hinter dem Implantat abgetragen.

Zehn Proben wiesen nach diesem Arbeitsschritt keine stabile, planparallele Auflagefläche für das Positionieren auf dem Messingring der Prüfmaschine auf und wurden deshalb in kaltpolymerisierendem Kunststoff für Oberflächenprüfungen und Abdrucknahmen (Technovit 30/40, Fa. Haraeus Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland) eingebettet. Implantat und umliegender Knochen wurden dabei durch Knetmasse vor dem Kunststoff geschützt. Nach dem Aushärten wurde der Kunststoff erneut planparallel zum Implantat abgesägt, sodass der biomechanische Push-Out-Test ohne Einschränkungen vorgenommen werden konnte.

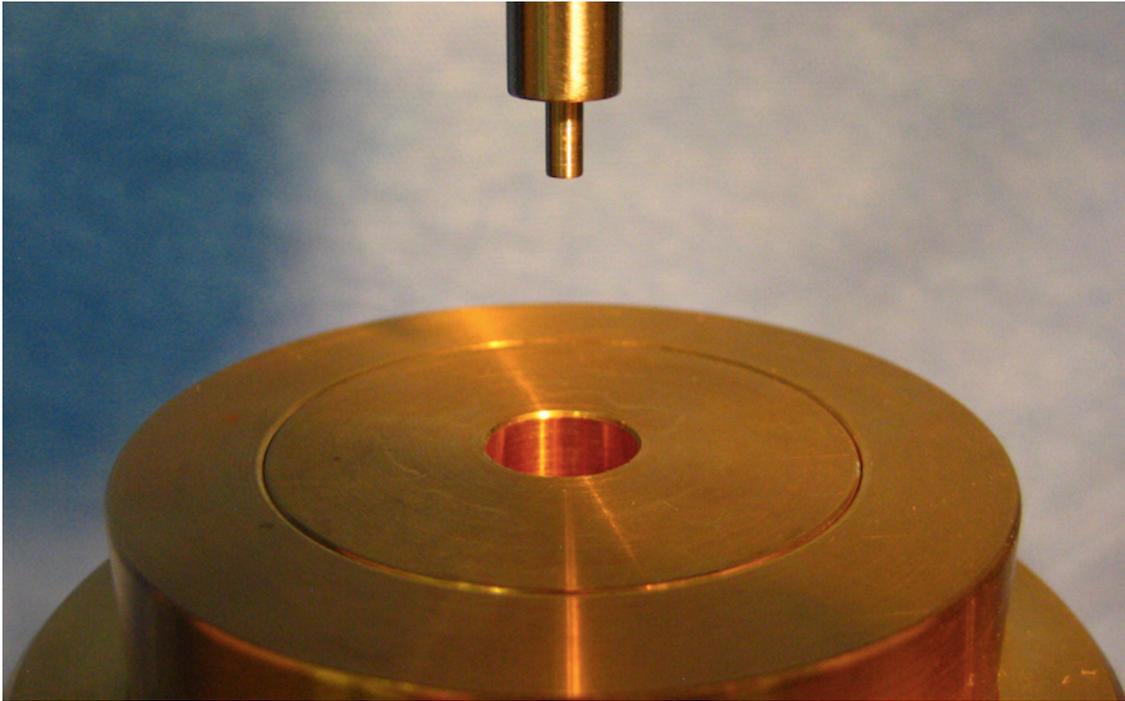
### 2.4.2 Prüfanordnung und biomechanischer Push-Out-Test

Der biomechanische Push-Out-Test prüft die mechanische Qualität der ossären Integration, indem die implantierten Keramikzylinder mit Hilfe eines Stempels aus dem Knochen gedrückt und die dazu erforderlichen Kräfte aufgezeichnet werden. Die Testungen wurden mit der in Abbildung 18 dargestellten Zwick-Materialprüfmaschine (Fa. Zwick/Roell, Ulm, Deutschland) durchgeführt.

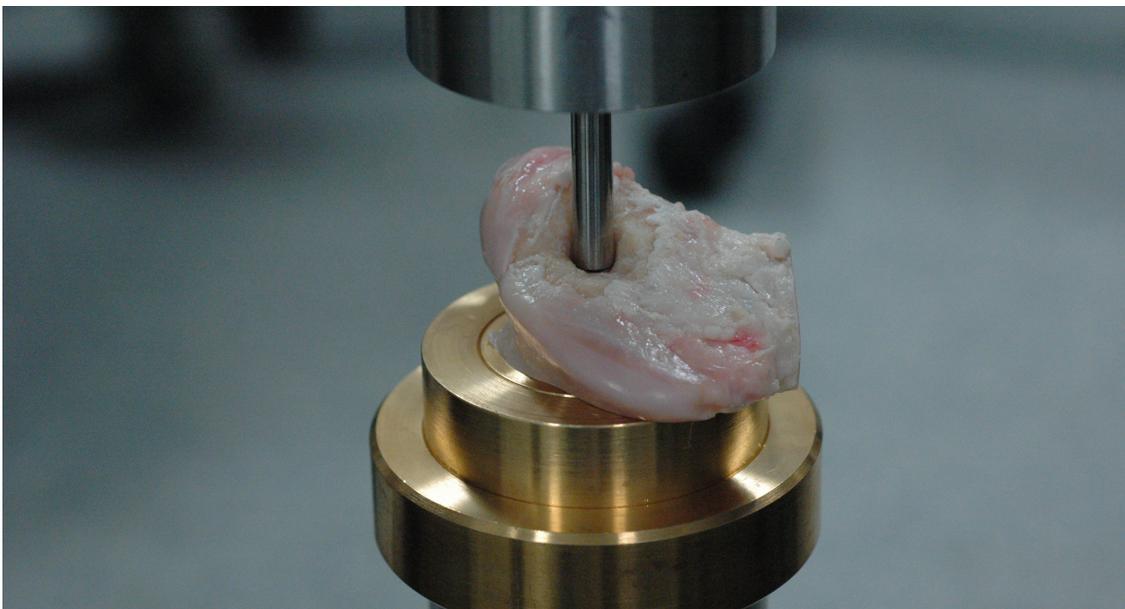


**Abbildung 18: Materialprüfmaschine der Firma Zwick/Roell.**

In die obere Traverse der Prüfmaschine wurde ein Stempel mit zentralem Dorn eingesetzt. Die zu prüfende Probe wurde auf einem Aufbau aus Messingringen auf der unteren Traverse positioniert (Abbildung 19). Die obere Traverse wurde manuell hinuntergefahren und der Dorn des Stempels in das zentrale Loch der Keramikprobe eingeführt (Abbildung 20). Der Stempel hatte dabei noch keinen Kontakt zum Implantat. Vor jedem Testbeginn wurde der Kraftsensor genullt. Mit einer Geschwindigkeit von 2 mm/min wurde der Stempel jetzt durch die Abwärtsbewegung der oberen Traverse in Richtung Probe gefahren, bis eine Reaktionskraft von 3 N erreicht worden war. Nach dem Erreichen dieser Vorkraft wurde die Prüfgeschwindigkeit auf 10 mm/min erhöht.



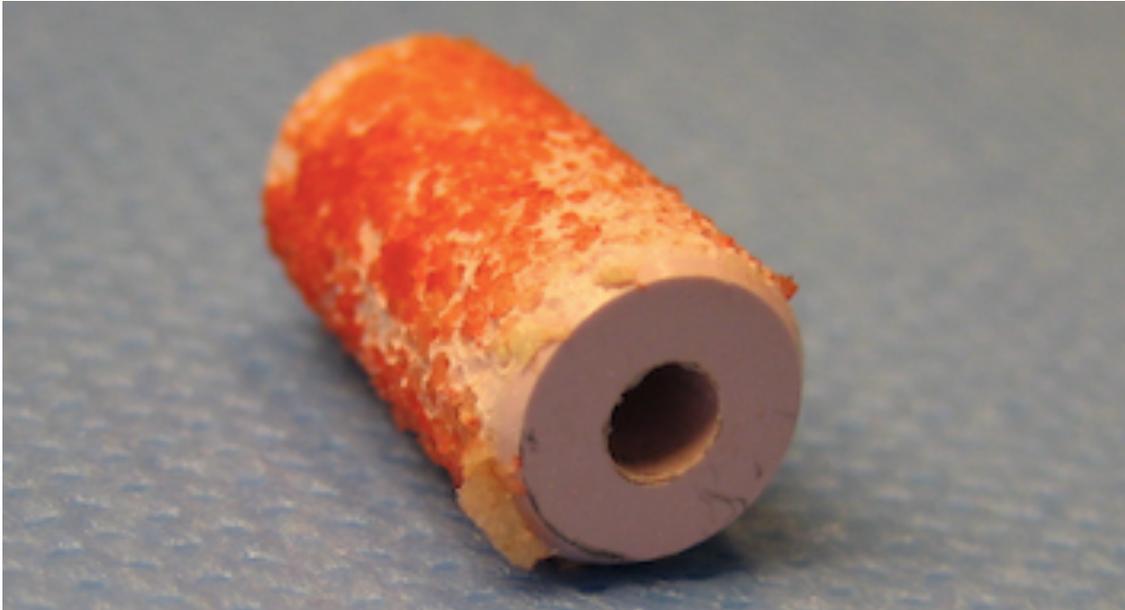
**Abbildung 19: Stempel und Messingring-Aufbauten der Materialprüfmaschine.** Der Stempel der oberen Traverse wird mit seinem zentralen Dorn in das Führungsloch des Implantats eingeführt. Der innere Messingring auf der unteren Traverse verfügt über eine zentrale, kreisförmige Aussparung, in die sich das Implantat beim Push-Out-Vorgang absenken kann.



**Abbildung 20: Probe in der Zwick-Materialprüfmaschine.** Der zentrale Dorn des Prüfstempels ist in das Führungsloch des Implantats eingeführt. Die Probe (mediale Femurkondyle) liegt mit ihrer planen Unterseite auf dem Aufbau aus Messingringen auf und ist bereit für die biomechanische Testung.

Das Ende der Prüfung erfolgte nach einer Wegänderung von 18 mm oder nach dem Überschreiten einer Kraft von 8500 N als Abbruchkriterium. Die Prüfsoftware übertrug

die Informationen des Kraftsensors und der Traversenbewegung in ein Kraft-Weg-Diagramm. Nach Beendigung des Tests wurden Implantat und Knochenprobe außerhalb der Testvorrichtung begutachtet und das Ergebnis fotografisch dokumentiert (Abbildung 21 und 22).



**Abbildung 21: Herausgedrücktes Implantat nach der biomechanischen Testung.** Auf der strukturierten Oberfläche des herausgedrückten Implantatkörpers sind Reste von Knochensubstanz zu erkennen.



**Abbildung 22: Probe nach der biomechanischen Testung.** Der Blick auf die planparallele Unterseite der getesteten Probe (mediale Femurkondyle) zeigt den knöchernen Bohrkanal nach dem Herausdrücken des Implantatkörpers.

Alle vierzig Implantate wurden der biomechanischen Push-Out-Testung unterzogen. Die verwendeten Prüfmittel und Geräte sind mit Herstellerangaben in Tabelle 2 zusammengefasst.

**Tabelle 2: Verwendete Prüfmittel und Geräte**

<b>Prüfmittel/ Gerät</b>	<b>Typ</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Serien- Nummer</b>	<b>Mess- bereich</b>	<b>Mess- genauigkeit</b>
<b>Materialprüf- maschine</b>	Z010	Zwick	WN 192736	-	-
<b>Prüfsoftware</b>	testXpert II	Zwick	V3.2	-	-
<b>Wegaufnehmer</b>	Traverse	Zwick	WN 192736	0,50 mm – 50 mm	0,15 %
<b>Kraftaufnehmer</b>	Xforce K	Zwick	WN 192738	20 N - 10000 N	0,21 %
<b>Messschieber</b>	DIGIT- Cal	TESA	5S 1429 04	150 mm	0,05 mm

### 2.4.3 In-vitro-Testung

Acht weitere Keramikzylinder wurden in die zuvor eingefrorenen, kontralateralen, nativen Knochen derselben Versuchstiere implantiert. Dabei wurden die Lokalisationen der acht unbeschichteten Kontrollen (NC-Proben) ausgewählt und die Implantationen an den exakt gleichen Positionen in den kontralateralen Knochen dieser Tiere vorgenommen. Die direkt nach der Implantation durchgeführten Push-Out-Testungen lieferten Messdaten zur reinen Press-Fit-Verankerung der Probekörper im Knochen und halfen, den Zuwachs durch die zwölfwöchige Einheilungszeit zu bestimmen. Die Vorbereitung der Proben und die Durchführung der Push-Out-Testungen unterschieden sich im Ablauf nicht von den Testungen mit zwölf Wochen Heilungszeit.

## 2.5 Auswertung

### 2.5.1 Ausgewertete Parameter

Die Prüfsoftware (TestXpert II, Fa. Zwick, Ulm, Deutschland) zeichnete über Kraftsensor und Traversenbewegung während der gesamten Testung die auf das Implantat wirkende Kraft ( $F_{PO}$  in N) und den Fahrweg des Stempels ( $z$  in mm) auf und erstellte daraus im Anschluss ein Kraft-Weg-Diagramm. Die aufgenommenen Werte wurden nach Prüfungsende als Excel-Tabelle exportiert. Der gewonnene Datensatz erlaubte die Ausgabe und Berechnung verschiedener Parameter, die in Tabelle 3 zusammengefasst sind.

Tabelle 3: Berechnete Parameter der biomechanischen Push-Out-Testung

Kurzzeichen	Einheit	Name
$F_{\max}$	N	Maximalkraft
$z_{\max}$	mm	Weg in mm bis $F_{\max}$
<b>S</b>	N/mm	Steifigkeit
$T_H$	MPa	Haftscherfestigkeit des Implantats
$T_R$	MPa	Scherspannung durch Reibung (Reibspannung) nach Delamination
$W_{\text{Ges}}$	J	Gesamtarbeit
$W_{\text{Bruch}}$	J	Arbeit bis zum Bruch
<b>G</b>	J/m <sup>2</sup>	Energiefreisetzungsrate G des Bruchvorgangs

### 2.5.2 Softwaregestützte Berechnung der Parameter

Zur mathematischen Berechnung der Parameter und zur grafischen Darstellung der Ergebnisse wurde das Computerprogramm Matlab (MATLAB, Fa. The Mathworks, Natick, Massachusetts, USA) benutzt. Mit einem selbstgeschriebenen Skript wurde der Datensatz jeder Probe auf die gleiche Weise analysiert und die folgenden Werte wurden berechnet:

$F_{\max}$  (N) ist die Maximalkraft der Kurve im Kraft-Weg-Diagramm, demzufolge der höchste verzeichnete Wert auf der y-Achse. Ihm ist auf der x-Achse der entsprechende relative Traversenweg in Millimetern ( $z_{\max}$ ) zugeordnet (Abbildung 23).

Die Steifigkeit (N/mm) beschreibt den Widerstand eines Körpers gegen die elastische Verformung durch eine Kraft. Die Steifigkeit ist als die Steigung des ersten linearen Kurvenabschnitts definiert (Abbildung 23).

Der Umfang des Implantats ( $U_{Imp}$ ) berechnet sich aus dem Durchmesser des Implantats ( $d_{Imp}$ ):

$$U_{Imp} = \pi * d_{Imp}$$

Daraus ergibt sich für die Mantelfläche des Implantats ( $M_{Imp}$ ) folgende Gleichung:

$$M_{Imp} = h_{Imp} * \pi * d_{Imp}$$

Das Implantat haftet an der Matrix, bis es bei  $F_{max}$  aus dem Knochen bricht und mit stetig kleiner werdender Reibungskraft herausgedrückt wird. Die Haftscherfestigkeit des Implantats  $T_H$  ( $N/mm^2 = MPa$ ) mit der Mantelfläche  $M_{Imp}$  berechnet sich dann wie folgt:

$$T_H = \frac{F_{max}}{h_{Imp} * \pi * d_{Imp}}$$

Die Haftscherfestigkeit ist also die Maximalkraft bezogen auf die Mantelfläche des Implantats.

Die Scherspannung durch Reibung  $T_R$  ( $N/mm^2 = MPa$ ), auch Reibspannung nach Delamination genannt, kann aus der Steigung bzw. Regression  $\Delta F_{PO}/\Delta z$  des linearen Bereichs des hinteren Kurvenabschnitts (Abbildung 23) mit Hilfe der folgenden Gleichung berechnet werden:

$$T_R = \frac{dF}{dA} = \frac{dF}{dz} \frac{1}{\pi * d_{Imp}}$$

Der Kraftabfall  $\Delta F_{max}$  bei Delamination wird mit Hilfe der Gleichung zur Reibspannung nach Delamination bestimmt, wobei  $m_2$  den Anstieg der Gleichung wiedergibt:

$$\Delta F_{max} = \frac{\Delta F_{PO}}{\Delta z} * z_{max} + m_2$$

Aus dem Kraftabfall  $\Delta F_{max}$  bei Delamination wird nun die Energie des Bruchvorgangs  $E_{Br}$  ( $Nm = J$ ) bestimmt:

$$E_{Br} = \frac{\Delta F_{max} * z_{max}}{2}$$

Daraus berechnet man die Energiefreisetzungsrates  $G$  ( $J/m^2$ ). Sie entspricht der spezifischen Bruchenergie bezogen auf die Mantelfläche des Implantats:

$$G = \frac{\Delta F_{max} * z_{max}}{2 * M_{Imp}}$$

Die verrichtete Arbeit  $W_{Ges}$  ( $N/mm$ ), die benötigt wird, um das Implantat vollständig aus dem Knochen zu lösen, entspricht der gesamten Fläche unter der in Abbildung 23 gezeigten Kraft-Weg-Kurve und berechnet sich als Integral wie folgt:

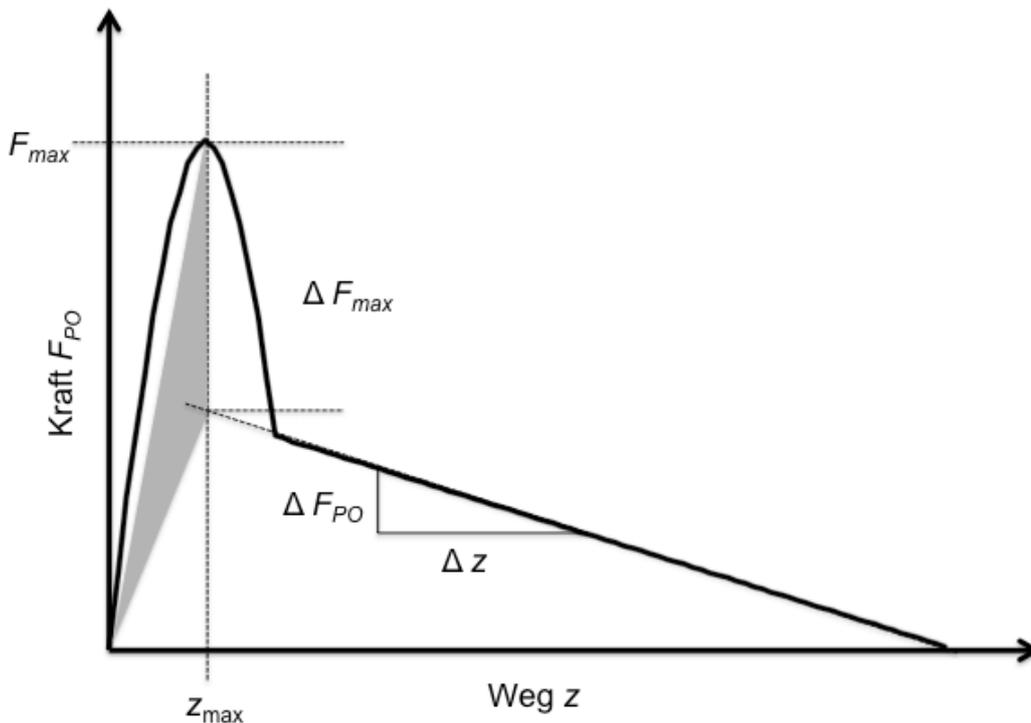
$$W_{Ges} = \int_0^{d_z} F_{PO}(z) dz$$

Die verrichtete Arbeit bis zum Bruch  $W_{Bruch}$  (N/mm) entspricht der Fläche unter der Kraft-Weg-Kurve bis zu  $F_{max}$ :

$$W_{Bruch} = \int_0^{d_{zmax}} F_{PO}(z) dz$$

Die Implantathöhe war mit 15 mm konstant. Der Implantatdurchmesser wurde jeweils per Eingabeaufforderung im Skript abgefragt.

Der Verlauf jeder biomechanischen Push-Out-Testung wurde mit Hilfe der aufgenommenen Werte des Kraftmessers und der Traversenbewegung als Kraft-Weg-Diagramm dargestellt (Abbildung 23).



**Abbildung 23: Kraft-Weg-Diagramm der biomechanischen Push-Out-Testung.** Dargestellt ist der typische Kurvenverlauf einer biomechanischen Push-Out-Testung im Kraft-Weg-Diagramm. Die auf das Implantat wirkende Kraft ( $F_{PO}$  in N) ist auf der y-Achse aufgetragen. Der relative Fahrweg des Prüfstempels ( $z$  in mm) ist auf der x-Achse abgebildet. Beim Erreichen der Maximalkraft ( $F_{max}$ ) löst sich der Implantatkörper aus dem Knochen und wird mit stetig kleiner werdender Reibungskraft herausgedrückt. Die grau hinterlegte Fläche entspricht der beim Bruch verrichteten Arbeit (in Anlehnung an Götz M.<sup>105</sup>).

## 2.6 Statistische Datenanalyse

Die Auswertung und Analyse der Daten erfolgte mit dem Statistikprogramm SPSS (IBM SPSS Statistics, Version 23, International Business Machines Corporation, Armonk, USA). Bei den vorliegenden Daten handelt es sich um gepaarte Stichproben mit einer geringen Gruppengröße von sieben bis acht Proben. Die Werte der einzelnen Parameter aus den biomechanischen Push-Out-Testungen wurden zunächst mit dem Kolmogorov-Smirnov-Test auf das Vorliegen einer Normalverteilung getestet, die für die Parameter Maximalkraft, Steifigkeit, Haftscherfestigkeit, Reibspannung, Gesamtarbeit, Arbeit bis zum Bruch und Energiefreisetzungsrate des Bruchvorgangs nicht abgelehnt werden konnte. Zum Vergleich der Gruppen wurde eine ANOVA-Varianzanalyse mit Post-Hoc-Test Dunnett-T3 gewählt, da dieser Test robust auf eine Abweichung von der Normalverteilung reagiert. Es erfolgte sowohl ein Vergleich der vier Beschichtungsgruppen jeweils zur Kontrollgruppe, als auch der Vergleich der einzelnen Beschichtungsgruppen untereinander. Auf Grund unterschiedlicher Varianzen wurde beim multiplen Testen der Dunnett-T3 Post-Hoc-Test verwendet. Ein signifikanter Unterschied der untersuchten Gruppen liegt bei dem festgelegten Signifikanzniveau ( $\alpha$ ) von 5 % vor. Die Irrtumswahrscheinlichkeit ( $p$ ) liegt damit bei 0,05. Die grafische Datendarstellung erfolgte mit Hilfe von Boxplot-Diagrammen, welche Median, unteres und oberes Quartil sowie Minimum und Maximum (Whiskers) abbilden.

## 3. Ergebnisse

### 3.1 Operationsbefunde

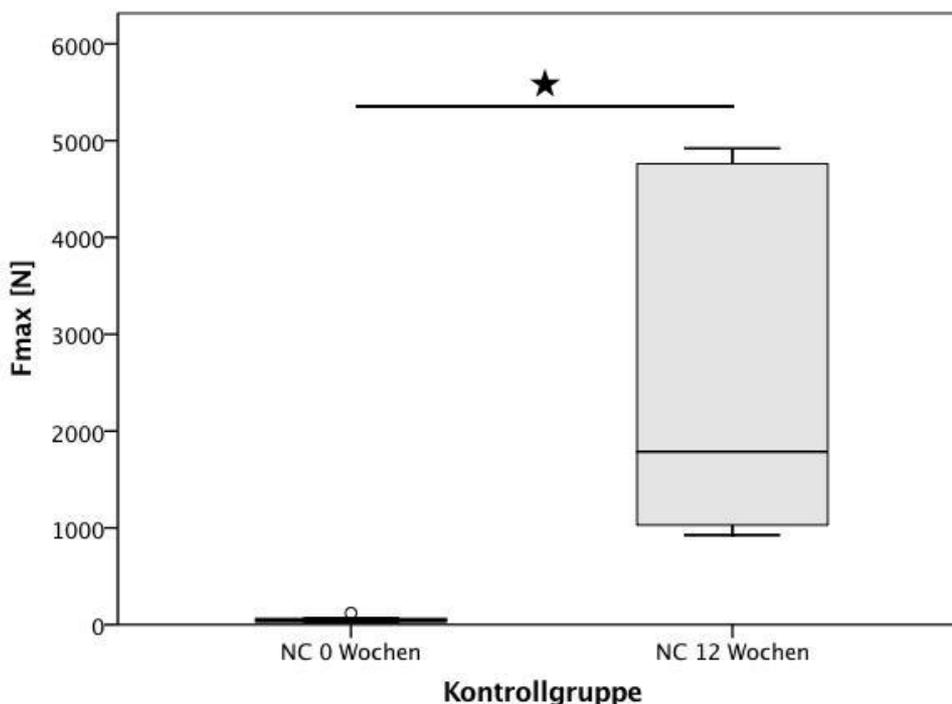
Alle zehn Tiere tolerierten die Narkose und den operativen Eingriff ohne schwere Komplikationen. Sie wurden postoperativ in Kleingruppen von zwei bis drei Tieren gehalten und konnten sich frei bewegen, sodass die betroffenen Extremitäten sofort unter Vollbelastung standen. An den ersten postoperativen Tagen konnte bei allen Tieren eine gering- bis mittelgradige Lahmheit der operierten Extremitäten festgestellt werden, die sich innerhalb der ersten Woche vollständig zurückbildete. Bei der täglichen Kontrolle der Operationswunden zeigten sich bei allen Tieren trockene und reizlose Verhältnisse. Drei Tiere zeigten während der zwölfwöchigen Standzeit kurze Perioden einer gering- bis mittelgradigen Lahmheit (Schaf 21, 23, 27), die sich durch die zusätzliche Applikation von Schmerzmitteln (Finadyne 2,2 ml/50 kg Körpergewicht s.c., Wirkstoff: Flunixin-Meglumin, Fa. MSD Tiergesundheit, Unterschleissheim, Deutschland; Durogesic 75 µg/h transdermales Pflaster a 12,6 mg, Wirkstoff: Fentanyl, Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland; Temgesic 0,01 mg/kg Körpergewicht s.c., Wirkstoff: Buprenorphin, Fa. Essex Pharma GmbH, München, Deutschland) vollständig zurückbildete. Der allgemeine Gesundheitszustand der Tiere war während der gesamten Zeit des Versuches nicht beeinträchtigt.

### 3.2 Biomechanische Ergebnisse

Die Daten von 37 biomechanischen Testungen konnten regulär ausgewertet werden. Drei Probekörper mussten aufgrund ungültiger Prüfabläufe in der Zwick-Materialprüfmaschine (Verkanten und Verbiegen des Prüfstempels) von der statistischen Auswertung ausgeschlossen werden (Schaf 21, mediales Femur, DipBG\_04; Schaf 21, proximaler Humerus, SGBG\_01; Schaf 21, distaler Humerus, CM\_02). Insgesamt wurden acht Kontrollimplantate ohne Beschichtung (NC) und acht Implantatkörper mit Hydroxylapatit-Beschichtung (HA) in die Auswertung einbezogen.

Jeweils sieben Implantate der kovalent gebundenen Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen (CM), sowie der Bioglasbeschichtungen aus dem Dipping- und Sol-Gel-Verfahren (DipBG und SGBG) gingen in die statistische Auswertung ein.

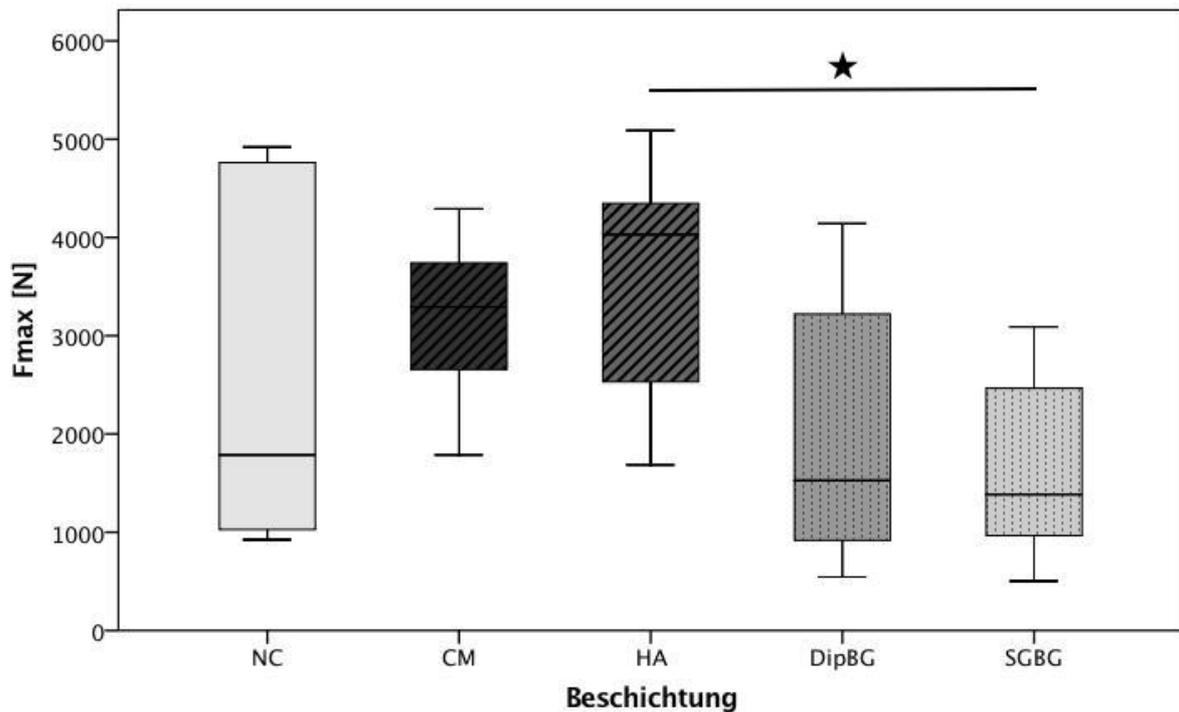
Um den Effekt der Einheilungszeit auf die Implantatstabilität im Knochen zu beurteilen und um die Wirkung der Einheilungszeit vom Einfluss der Press-Fit-Implantationstechnik zu trennen, erfolgte zunächst ein Vergleich der Maximalkraft im Push-Out-Test zwischen der unbeschichteten Kontrollgruppe (NC 12 Wochen) und der Kadaver-Implantation im kontralateralen Knochen ohne Einheilungszeit (NC 0 Wochen). Die Maximalkraft der unbeschichteten Kontrollen mit zwölfwöchiger Einheilungszeit war verglichen mit den Implantaten ohne jede Einheilungszeit signifikant höher ( $p = 0,006$ ).



**Abbildung 24: Darstellung der Maximalkraft in beiden Kontrollgruppen.** Die Maximalkraft ( $F_{max}$ ) im biomechanischen Push-Out-Test der unbeschichteten Kontrollgruppe mit zwölf Wochen Einheilungszeit (NC 12 Wochen) ist verglichen mit den Implantaten der Kadaver-Implantationen im kontralateralen Knochen ohne Einheilungszeit (NC 0 Wochen) signifikant höher ( $p = 0,006$ ).

Für den Parameter der Maximalkraft im Push-Out-Test erfolgte sowohl ein Vergleich der vier Beschichtungsgruppen jeweils zur Kontrollgruppe, als auch der Vergleich der einzelnen Beschichtungsgruppen untereinander (Abbildung 25). CM und HA erzielten Mittelwerte über 3000 N und lagen damit über dem Ergebnis der Kontrollgruppe von 2625 N. Die Mittelwerte beider Biogläser waren niedriger als die von NC. Die Unterschiede waren jedoch nicht statistisch signifikant. Bei den Werten der

Kontrollgruppe fällt eine große Streuung im Vergleich zu den Beschichtungsgruppen auf. Im Vergleich der Beschichtungsgruppen untereinander zeigte HA eine statistisch signifikant höhere Maximalkraft verglichen mit SGBG ( $p = 0,046$ ). Tabelle 4 beinhaltet die deskriptive Statistik zum Parameter Maximalkraft. Für beide Kontrollgruppen und die vier Beschichtungsgruppen sind jeweils Minimum, Maximum, Mittelwert, Median und Standardabweichung der Maximalkraft aufgeführt.



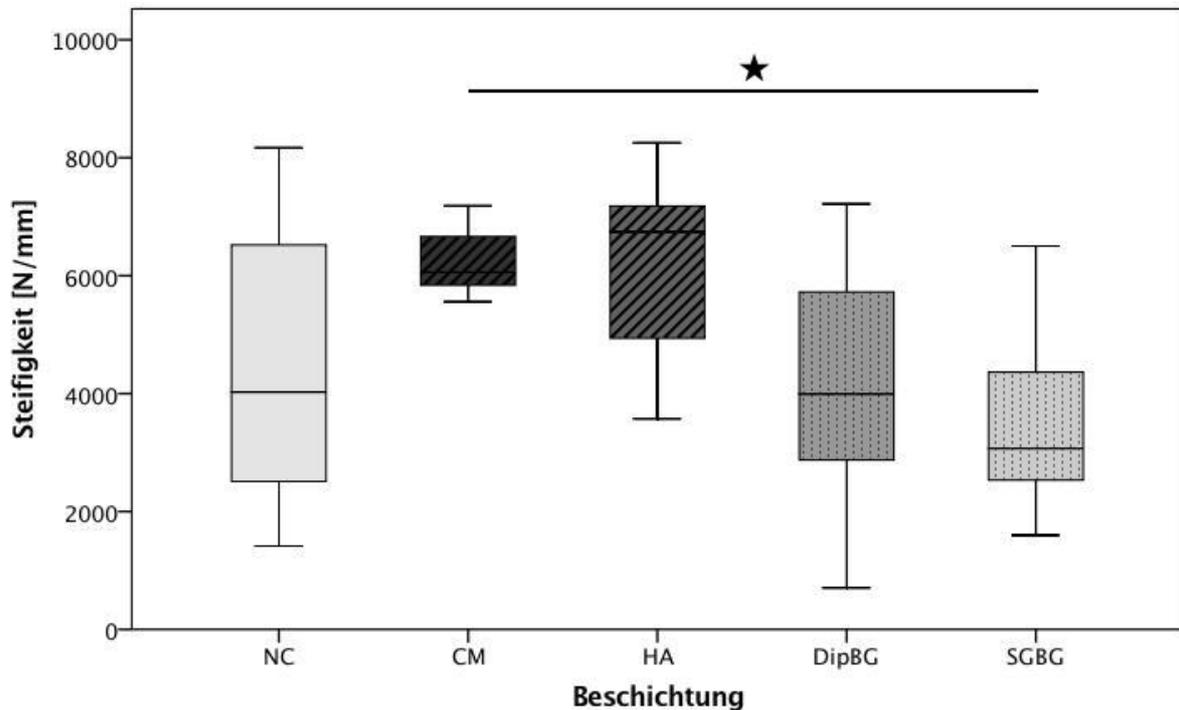
**Abbildung 25: Darstellung der Maximalkraft im Gruppenvergleich.** Vergleicht man die Maximalkraft im Push-Out-Test aller Beschichtungsgruppen untereinander, zeigen CM und HA jeweils höhere, DipBG und SGBG jeweils niedrigere Mittelwerte als die unbeschichtete Kontrollgruppe (NC). HA erzielt von allen Gruppen den höchsten Mittelwert. Dieser ist statistisch signifikant im Vergleich zu SGBG ( $p = 0,046$ ).

**Tabelle 4: Deskriptive Statistik – Maximalkraft ( $F_{\max}$ ) [N]**

Beschichtung	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Standardabweichung
<b>NC</b>	8	925,16	4921,23	2625,15	1786,27	1867,92
<b>CM</b>	7	1786,79	4219,77	3166,32	3291,78	899,74
<b>HA</b>	8	1685,74	5088,80	3573,85	4030,69	1191,91
<b>DipBG</b>	7	544,27	4142,83	2070,52	1526,68	1503,79
<b>SGBG</b>	7	502,19	3089,68	1691,57	1383,69	986,76
<b>NC 0 Wochen</b>	8	24,33	119,30	53,00	43,82	30,47

Bei dem Gruppenvergleich der Steifigkeit zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Beschichtungen und der Kontrollgruppe (Abbildung 26). Innerhalb der Beschichtungsgruppen zeigte CM die geringste Streuung der Werte und wies die höchste Steifigkeit auf, statistisch signifikant verglichen mit SGBG ( $p = 0,038$ ). Tabelle 5 zeigt die deskriptive Statistik zum Parameter Steifigkeit.

## Ergebnisse



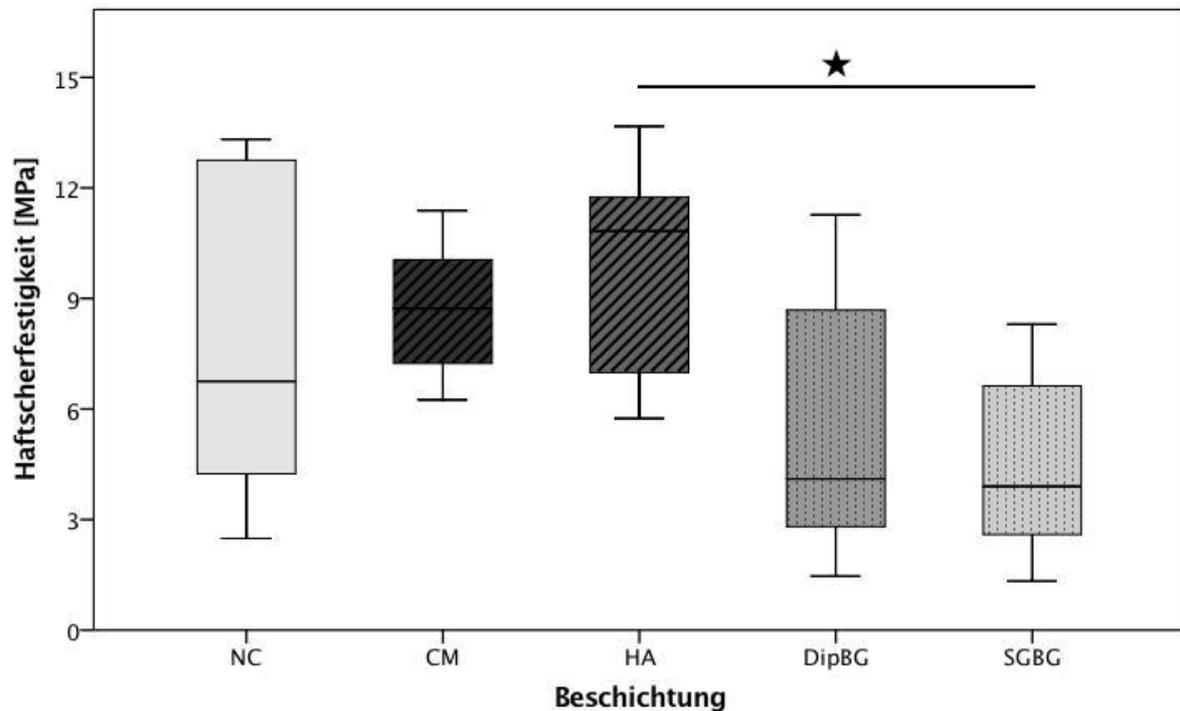
**Abbildung 26: Darstellung der Steifigkeit im Gruppenvergleich.** Vergleicht man die Steifigkeit im biomechanischen Push-Out-Test aller Beschichtungsgruppen untereinander, weisen CM und HA die höchsten Werte auf. CM zeigt die geringste Streuung der Werte und den höchsten Mittelwert. Dieser ist statistisch signifikant im Vergleich zu SGBG ( $p = 0,038$ ).

**Tabelle 5: Deskriptive Statistik – Steifigkeit [N/mm]**

Beschichtung	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Standard-abweichung
NC	8	1414,92	8168,49	4461,67	4023,97	2453,40
CM	7	5556,67	7184,06	6258,06	6056,98	603,80
HA	8	3572,04	8252,21	6194,26	6741,81	1583,02
DipBG	7	703,86	7215,63	4158,11	3995,56	2294,20
SGBG	7	1595,37	6501,37	3565,57	3069,76	1705,31

Für den Parameter der Haftscherfestigkeit im Push-Out-Test ließen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Beschichtungsgruppen und der Kontrollgruppe feststellen (Abbildung 27). Bei dem Vergleich der beschichteten Implantate untereinander zeigte HA eine signifikant höhere Haftscherfestigkeit als

SGBG ( $p = 0,025$ ). Tabelle 6 beinhaltet die zugehörige deskriptive Statistik des Parameters Haftscherfestigkeit.



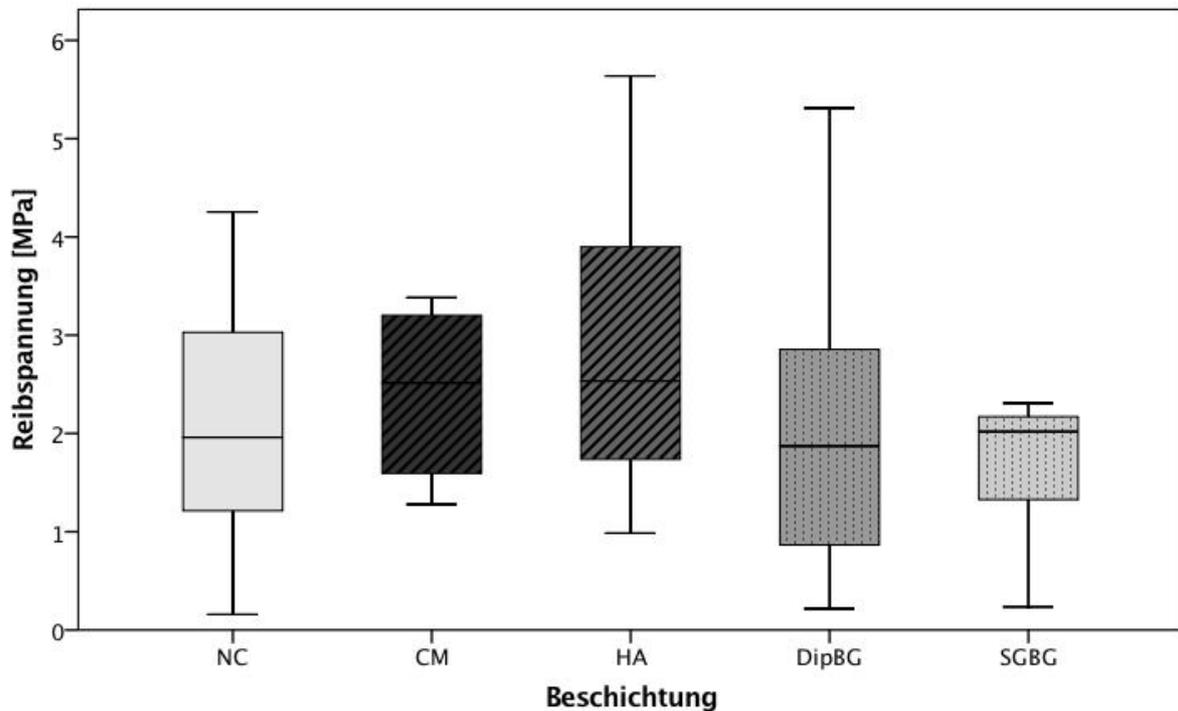
**Abbildung 27: Darstellung der Haftscherfestigkeit im Gruppenvergleich.** Der Vergleich der Haftscherfestigkeit im Push-Out-Test zwischen allen Gruppen zeigt eine statistisch signifikant höhere Haftscherfestigkeit von HA verglichen mit SGBG ( $p = 0,025$ ).

**Tabelle 6: Deskriptive Statistik – Haftscherfestigkeit [MPa]**

Beschichtung	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Standardabweichung
NC	8	2,49	13,32	7,91	6,75	4,48
CM	7	6,25	11,38	8,71	8,73	2,01
HA	8	5,74	13,67	9,82	10,83	2,89
DipBG	7	1,46	11,27	5,69	4,10	4,03
SGBG	7	1,33	8,30	4,57	3,90	2,65

Die Werte des Parameters Reibspannung nach Delamination ließen weder zwischen den einzelnen Beschichtungen und der Kontrollgruppe noch im Vergleich der Beschichtungsgruppen untereinander statistisch signifikante Unterschiede erkennen

(Abbildung 28). Die Streuung der Werte von NC, HA und DipBG war groß. Die Minima, Maxima, Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen für den Parameter Reibspannung sind Tabelle 7 zu entnehmen.



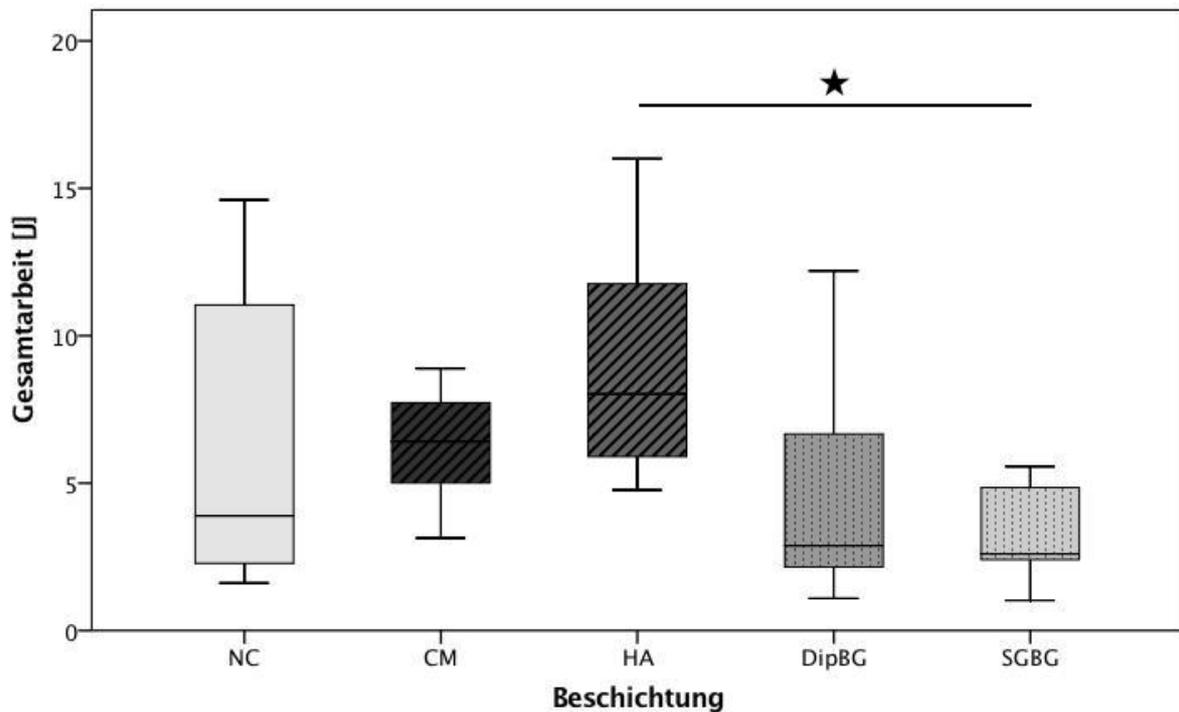
**Abbildung 28: Darstellung der Reibspannung nach Delamination im Gruppenvergleich.** Der Parameter Reibspannung nach Delamination zeigt keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen allen Gruppen.

**Tabelle 7: Deskriptive Statistik – Reibspannung nach Delamination [MPa]**

Beschichtung	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Standardabweichung
<b>NC</b>	8	0,16	4,25	2,10	1,96	1,35
<b>CM</b>	7	1,28	3,38	2,40	2,51	0,91
<b>HA</b>	8	0,99	5,64	2,87	2,53	1,60
<b>DipBG</b>	7	0,22	5,31	2,12	1,87	1,79
<b>SGBG</b>	7	0,24	2,31	1,65	2,02	0,81

Beim Vergleich der Gesamtarbeit im Push-Out-Test zwischen den vier Beschichtungsgruppen und der unbeschichteten Kontrollgruppe wurden keine

signifikanten Unterschiede sichtbar (Abbildung 29). Beim Vergleich der beschichteten Implantate untereinander zeigte sich, dass für HA im Vergleich zu SGBG signifikant höhere Energiemengen erforderlich war, um die Implantate vollständig aus dem Knochen herauszudrücken ( $p = 0,041$ ). NC wies im Vergleich zu den Beschichtungsgruppen eine große Streuung der Werte auf. Tabelle 8 zeigt die deskriptive Statistik zu dem Parameter Gesamtarbeit.

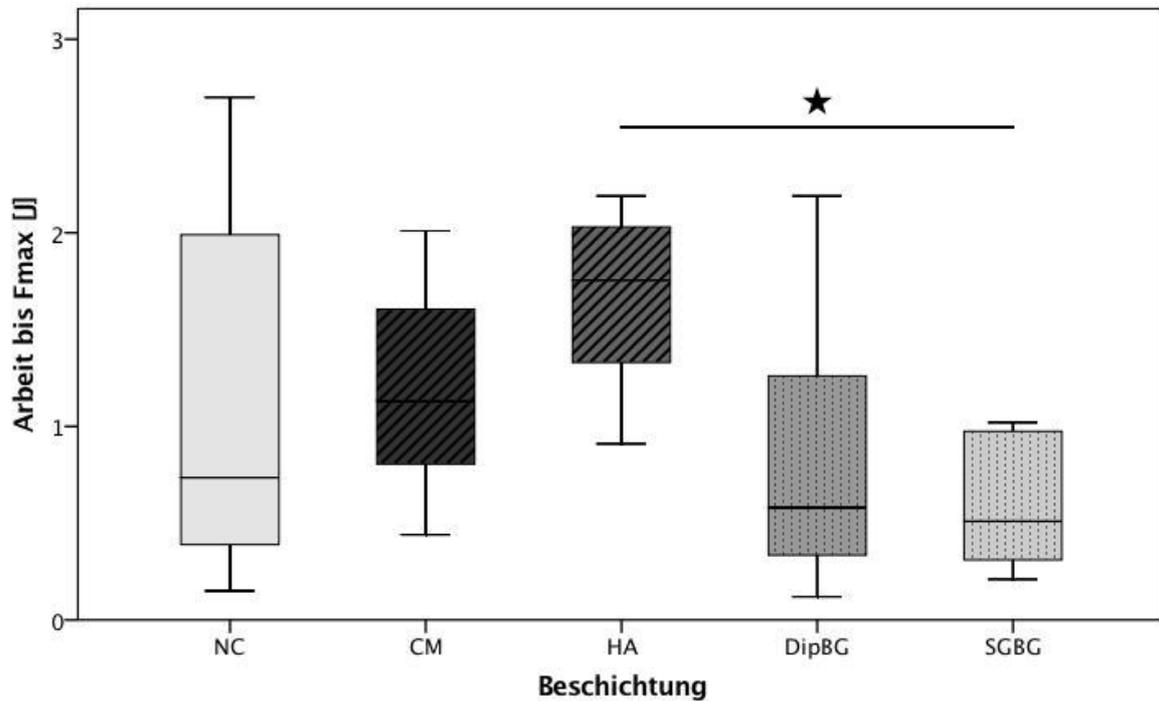


**Abbildung 29: Darstellung der Gesamtarbeit im Gruppenvergleich.** Der Vergleich aller Gruppen für den Parameter der Gesamtarbeit im Push-Out-Test zeigt eine statistisch signifikant höhere Menge an Arbeit für HA im Vergleich zu SGBG ( $p = 0,041$ ).

**Tabelle 8: Deskriptive Statistik – Gesamtarbeit [J]**

Beschichtung	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Standardabweichung
NC	8	1,61	14,61	6,33	3,89	5,13
CM	7	3,14	8,89	6,27	6,41	2,11
HA	8	4,77	16,01	9,02	8,03	4,01
DipBG	7	1,09	12,20	4,83	2,88	4,26
SGBG	7	1,02	5,56	3,39	2,60	1,72

Für den Parameter Arbeit bis zum Bruch ließen sich zwischen den einzelnen Beschichtungsgruppen und der Kontrollgruppe keine signifikanten Unterschiede feststellen (Abbildung 30). Beim Vergleich der beschichteten Gruppen untereinander zeigte HA eine statistisch signifikant größere Teilenergiemenge bis zum Bruch als SGBG ( $p = 0,002$ ). In der Gruppe der unbeschichteten Implantate imponierte eine große Streuung der Werte. Die zugehörigen Daten aus der deskriptiven Statistik sind in Tabelle 9 zu finden.



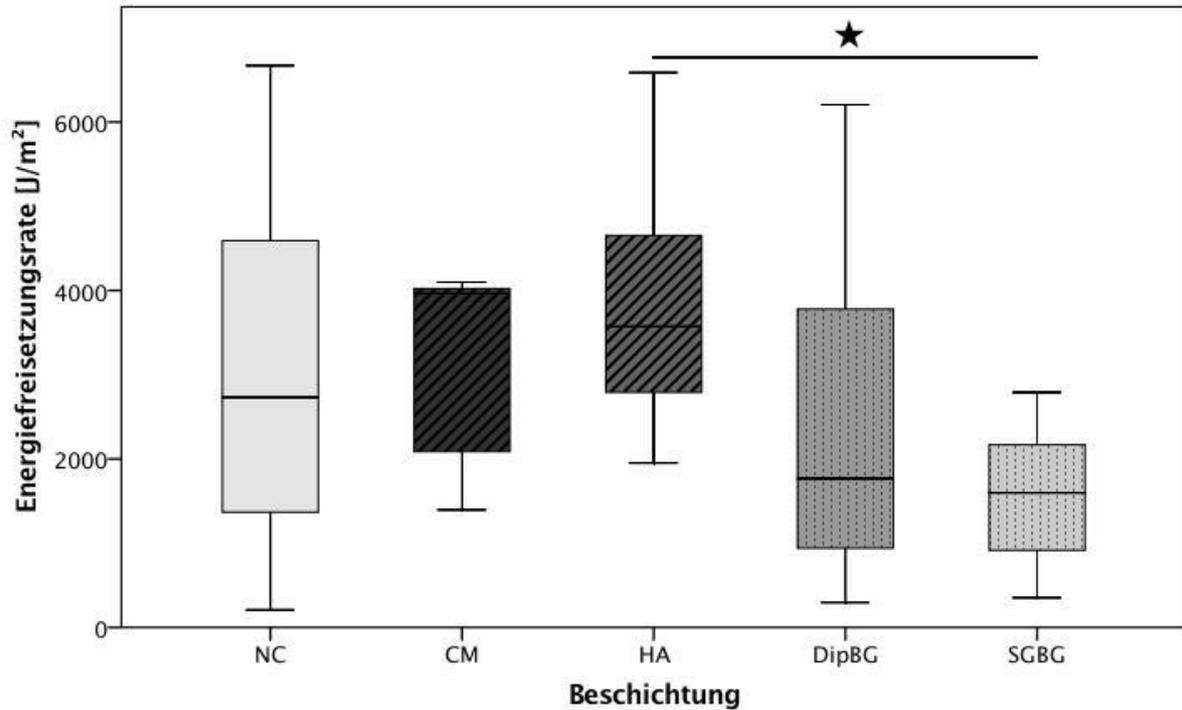
**Abbildung 30: Darstellung der Arbeit bis zum Bruch im Gruppenvergleich.** Der Vergleich aller Gruppen für den Parameter Arbeit bis zum Bruch im biomechanischen Push-Out-Test zeigt eine signifikant größere Teilenergiemenge für HA im Vergleich zu SGBG ( $p = 0,002$ ).

Tabelle 9: Deskriptive Statistik – Arbeit bis  $F_{\max}$  [J]

Beschichtung	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Standardabweichung
<b>NC</b>	8	0,15	2,70	1,14	0,74	0,97
<b>CM</b>	7	0,44	2,01	1,20	1,13	0,60
<b>HA</b>	8	0,91	2,19	1,67	1,76	0,45
<b>DipBG</b>	7	0,12	2,19	0,87	0,58	0,80
<b>SGBG</b>	7	0,21	1,02	0,62	0,51	0,36

Für den Parameter der Energiefreisetzungsrate zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Beschichtungsgruppen und der Kontrollgruppe (Abbildung 31). Der Vergleich der beschichteten Implantatgruppen untereinander belegte eine signifikant höhere Energiefreisetzungsrate für HA im Vergleich zu SGBG ( $p = 0,032$ ). Die Streuung der Werte von NC war groß. Die deskriptiven Werte zur Boxplotdarstellung sind in Tabelle 10 aufgeführt.

## Ergebnisse



**Abbildung 31: Darstellung der Energiefreisetzungsrate im Gruppenvergleich.** Vergleicht man alle Beschichtungsgruppen für den Parameter der Energiefreisetzungsrate im biomechanischen Push-Out-Test miteinander, lässt sich eine statistisch signifikant höhere Energiefreisetzungsrate von HA im Vergleich zu SGBG konstatieren ( $p = 0,032$ ).

**Tabelle 10: Deskriptive Statistik – Energiefreisetzungsrate [ $J/m^2$ ]**

Beschichtung	N	Minimum	Maximum	Mittelwert	Median	Standardabweichung
<b>NC</b>	8	207,70	6670,80	3033,04	2732,10	2185,66
<b>CM</b>	7	1396,90	4099,40	3097,17	3963,90	1196,86
<b>HA</b>	8	1951,30	6587,30	3821,95	3574,00	1474,13
<b>DipBG</b>	7	295,40	6204,80	2529,71	1766,30	2165,62
<b>SGBG</b>	7	352,90	2790,80	1558,47	1597,80	923,47

### 3.2 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Einheilungszeit bewirkte eine statistisch signifikante Steigerung der knöchernen Implantatverankerung. Unbeschichtete Implantate mit zwölf Wochen Einheilungszeit wiesen im Vergleich zu unbeschichteten Implantaten ohne Einheilungszeit aus den kontralateralen Kadaverknochen im biomechanischen Push-Out-Test mindestens 7,75fach höhere Maximalkraftwerte auf.

Sowohl CM als auch HA erzielten bei allen bestimmten Parametern des biomechanischen Push-Out-Tests mit Ausnahme der Gesamtarbeit im Mittel höhere Werte als die unbeschichtete Kontrollgruppe. Die Mittelwerte beider Biogläser lagen dagegen bis auf den Parameter Reibspannung nach Delamination stets unter den Werten der Kontrollgruppe. Für keinen der erhobenen Parameter war dieser Unterschied im Vergleich zur unbeschichteten Kontrollgruppe statistisch signifikant. Die Werte der Kontrollgruppe zeigten für alle Parameter eine breitere Streuung als die der beschichteten Gruppen. Im Vergleich der beschichteten Implantate untereinander zeigte HA in den Parametern Maximalkraft, Haftscherfestigkeit, Gesamtarbeit, Arbeit bis zum Bruch und Energiefreisetzungsrate des Bruchvorgangs die höchsten Mittelwerte, statistisch signifikant im Vergleich zu SGBG, die stets die niedrigsten Mittelwerte aufwies.

## 4. Diskussion

Die Zahl endoprothetischer Eingriffe an Hüfte und Knie steigt weltweit an<sup>1-3</sup>. Zunehmende Erstimplantationen bei jüngeren Patienten, eine steigende Lebenserwartung und ein höherer Mobilitätsanspruch im Alter stellen besondere Anforderungen an die Langlebigkeit implantierter Endoprothesen<sup>3,7</sup>. Neuartige Keramik-Keramik-Gleitpaarungen weisen verglichen mit Gleitpaarungen aus Titan und Polyethylen verbesserte tribologische Eigenschaften auf und sind aufgrund geringer Abriebraten besonders für junge, aktive Patienten geeignet<sup>7</sup>. Bisher werden sie jedoch ausschließlich in Form von Kugelhäfen und Pfanneninserts verwendet und mit metallischen Anteilen kombiniert, welche die Gelenkprothese dann im Knochen verankern. Um die Keramik als Vollprothese auch in direktem Knochenkontakt einsetzen zu können, muss sie zusätzlich zu ihrer Biokompatibilität auch stabil osteointegrierbar sein. Eine Funktionalisierung der Keramikoberfläche mit bioaktiven Beschichtungen ist dabei ein vielversprechendes Verfahren, um die Verbindung zwischen Keramik und Knochen am kritischen Interface-Bereich zu optimieren.

Das Ziel der hier durchgeführten tierexperimentellen Studie war es, den Einfluss einer kovalent gebundenen Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen, einer submikronen Hydroxylapatitbeschichtung, eines 45S5 Bioglasses aufgetragen mittels Dipping-Verfahren und eines 70S30C Bioglasses aufgetragen mittels Sol-Gel-Verfahren auf die knöchernen Implantatintegration von zylindrischen Probekörpern aus ZTA-Keramik im trabekulären Knochen zu untersuchen. Eine Simulation des knöchernen Einwachsverhaltens von Implantaten mit allen im Körper beteiligten Zellen und Botenstoffen ist in vitro bisher nicht hinreichend möglich. Für die Testung und den standardisierten Vergleich neuer Werkstoffe mit einer exakten Analyse ihres knöchernen Einwachsverhaltens auf zellulärer Ebene ist deshalb die Verwendung eines Tiermodells unerlässlich. Das Schaf hat sich aufgrund seiner dem Menschen ähnlichen Knochenstruktur und Dimension als Modell für Fragestellungen in der traumatologischen und orthopädischen Forschung bewährt<sup>97</sup>. Vergleichbare Zell- und Trabekelgrößen sowie eine Frakturheilungszeit, die sich kaum vom Menschen unterscheidet, machen es möglich, die Studienergebnisse zur biologischen Implantatintegration auf später geplante Anwendungen in humanmedizinischen

Fachbereichen zu übertragen<sup>97,98</sup>. Von Vorteil sind die vergleichbaren Größenverhältnisse auch deshalb, weil im Tierversuch entwickelte Oberflächenstrukturen und Porengrößen für einen Einsatz im menschlichen Knochen beibehalten werden können. Die in dieser Studie angewandten Bohrlochdefektsetzungen eignen sich gut als Methode zum Einbringen von zylindrischen Probekörpern in den Knochen und wurden als Modell für die Analyse knöcherner Implantatintegration bereits in verschiedenen Studien im Schafsknochen etabliert und verwendet<sup>99-103</sup>. Die langjährige Erfahrung der Arbeitsgruppe mit Bohrlochdefektsetzungen im Schafsknochen zeigte, dass die Tiere den operativen Eingriff gut tolerieren und postoperative Komplikationen wie Infektionen sehr selten auftreten<sup>102</sup>. Das unilaterale Operationsmodell an linkem Humerus und Femur stellte für die Tiere die geringstmögliche Belastung dar und ermöglichte eine frühe Mobilisation. Um eine möglichst homogene Versuchstiergruppe zu schaffen, entstammten die Schafe alle aus der Zucht eines Schäfers, hatten das gleiche Geschlecht, ein ausgewachsenes Skelettsystem und ein Körpergewicht zwischen 60 und 80 kg. Alle Tiere wurden unter exakt gleichen Bedingungen gehalten, erhielten die gleiche prä- und postoperative Versorgung und wurden vom gleichen Operateur mit dem gleichen Instrumentarium versorgt, um äußere Störeinflüsse auf das Heilungsergebnis zu minimieren. Die Zuteilung der Probekörper auf die vier knöchernen Implantationsorte erfolgte mittels randomisierter vollständiger Blockanlage, um mögliche lokalisationsbedingte Heilungsunterschiede homogen auf die Beschichtungsgruppen zu verteilen. Die Standzeit bis zur biomechanischen Auswertung betrug bei allen Tieren exakt zwölf Wochen. Zu diesem Zeitpunkt befindet sich die sekundäre Knochenheilung schon in einem fortgeschrittenen Stadium und die biologische Integration des Probekörpers kann am Interfacebereich zwischen Implantat und Knochen auf ihre Stabilität getestet werden. Aussagen zur früheren Phase der Osteointegration oder zur Langzeitintegration der Keramikimplantate können zu diesem Zeitpunkt dagegen nicht getroffen werden. In der vorliegenden Studie wurden die beschichteten Implantate sowie die unbeschichteten Kontrollimplantate aus ZTA-Keramik zur Quantifizierung des Ausmaßes der knöchernen Integration nach zwölfwöchiger Einheilungszeit einem biomechanischen Push-Out-Test unterzogen. Die Push-Out- bzw. Pull-Out-Testung ist die am häufigsten angewandte Methode zur Untersuchung und Bewertung der knöchernen Einheilung von Implantatkörpern<sup>106</sup>. In einem typischen Testaufbau wird der meist zylinderförmige Probekörper transkortikal im Knochen platziert und später mit

einer parallel zum Interface applizierten Kraft herausgedrückt. Dabei wird die maximal anwendbare Kraft bis zum Versagen des Implantat-Knochen-Interfaces bestimmt. Bezieht man diese Maximalkraft auf die Mantelfläche des Probekörpers, die mit Knochensubstanz in Kontakt steht, ergibt sich die entsprechende Haftscherfestigkeit<sup>106,107</sup>. Der Push-Out-Test prüft somit die Stabilität des Implantat-Knochen-Verbundes gegen Scherkräfte. Diese wirken im Versuchsaufbau dieser Studie durch den aufgesetzten Stempel exakt achsenparallel. Unter physiologischen Bedingungen ist ein im Knochen integriertes Implantat aber nie solchen streng einseitig gerichteten Belastungen ausgesetzt. Anstatt die In-vivo-Kräfte für die Dislokation eines funktionellen Implantats zu simulieren, ist das Ziel des Push-Out-Tests vielmehr der Rückschluss von gemessenen Haftscherfestigkeiten auf die Güte der Implantat-Osteointegration<sup>108</sup>.

Die Ergebnisse der Push-Out-Testungen der vorliegenden Studie zeigten einen entscheidenden Einfluss der zwölfwöchigen Einheilungszeit auf die Stabilität der unbeschichteten texturierten Implantate aus ZTA-Keramik im trabekulären Knochen. Während die Kontrollimplantate aus den Kadaverimplantationen ohne Einheilungszeit eine durchschnittliche Maximalkraft von  $53,00 \pm 30,47$  N erreichten, zeigte die unbeschichtete Kontrollgruppe nach ihrer zwölfwöchigen Einheilung eine verstärkte knöcherne Verankerung mit einer mittleren Maximalkraft von  $2625,15 \pm 1867,92$  N bei einer durchschnittlichen Haftscherfestigkeit von  $7,91 \pm 4,48$  MPa. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war statistisch signifikant. Die aus der genutzten Press-Fit-Technik bei Implantation resultierende Primärstabilität der Probekörper im Knochen wurde bis zum Auswertungszeitpunkt nach zwölf Wochen mindestens um den Faktor 7,75 gesteigert. Die gemessenen Maximalkraftwerte nach zwölfwöchiger Einheilung belegen eine mechanisch stabile Osteointegration der keramischen Kontrollimplantate in den trabekulären Schafsknochen und bestätigen die Ergebnisse, welche Schreiner et al. in ihrer Arbeit zur knöchernen Integration einer ähnlichen Alumina-Matrix-Composite-Keramik konstatierten. Die von Schreiner et al. verwendeten zylinderförmigen Implantatkörper (Fa. CeramTec GmbH, Lauf, Deutschland) waren 30 mm lang bei einem mittleren Durchmesser von  $9,14 \pm 0,06$  mm und besaßen eine vergleichbar texturierte Oberfläche mit einer Porosität von 40 % bei einer mittleren Porengröße von 218 µm. Sie wurden mittels Press-Fit-Technik interkondylär sowie intertrochantär in den trabekulären Knochen der Femora sechs weiblicher Göttinger Minipigs implantiert. Mit Hilfe eines Push-Out-Tests wurde die mechanische Stabilität der Implantate im

Knochen ebenfalls nach zwölfwöchiger Standzeit bestimmt. Die durchschnittliche maximale Scherkraft des Knochen-Implantat-Interfaces betrug, vergleichbar mit der mittleren Haftscherfestigkeit der Kontrollimplantate der vorliegenden Arbeit,  $7,6 \pm 2,0$  MPa<sup>108</sup>.

Titan ist als bisheriges Standardmaterial in der endoprothetischen Versorgung bereits in vielen Studien auf seine Osteointegrationsfähigkeit am Knochen-Implantat-Interface untersucht worden und liefert Referenzwerte an denen sich die ZTA-Keramik zunächst messen muss. Manzano et al. haben in einem systematischen Review von 16 Studien mit verschiedenen Tiermodellen (Schwein, Kaninchen, Ratte, Affe, Hund und Schaf) die Osteointegrationsfähigkeit von Implantaten aus Titan und Keramik miteinander verglichen. Sie kommen zu dem Schluss, dass sich die Heilungsergebnisse der beiden Materialien (gemessen anhand der Kraft im Ausdrehversuch sowie der Knochen-Implantat-Kontaktfläche) nicht signifikant voneinander unterscheiden<sup>109</sup>. Vergleicht man die Ergebnisse der neuen ZTA-Keramik aus der hier durchgeführten Studie mit den Resultaten aus der Literatur, die Titanimplantate bei ihrer Osteointegration im trabekulären Knochen erzielen, so zeigen sich ebenfalls ähnlich hohe Haftscherfestigkeitswerte. Schwarz et al. verwendeten in einer vergleichbaren Studie zylinderförmige Titanimplantate von 30 mm Länge, deren plasmagespritzte Oberfläche eine Porosität von 28 % bei einer Porengröße von 41  $\mu\text{m}$  aufwies. Die Implantatkörper wurden interkondylär und intertrochantär in den trabekulären Knochen der Femora von Göttinger Minischweinen eingesetzt. Nach ebenfalls zwölfwöchiger Einheilungszeit wurde dann allerdings in einem biomechanischen Pull-Out-Test eine durchschnittliche maximale Scherspannung von  $6,5 \pm 1,5$  MPa ermittelt<sup>110</sup>. Dieser Wert ist, verglichen mit der mittleren Haftscherfestigkeit der Keramikkontrollen der vorliegenden Studie, sogar etwas niedriger, was wahrscheinlich auf die geringere Oberflächenporosität der Titanimplantate zurückzuführen ist. Zahlreiche Studien konnten belegen, dass sich eine texturierte Oberfläche positiv auf die Qualität der primären und sekundären knöchernen Implantatintegration auswirkt<sup>55,57,59,60</sup>. Die Daten aus dem vergleichbaren Pull-Out-Versuch von Schwarz et al. sind dagegen genauso zu bewerten wie die des in der vorliegenden Arbeit durchgeführten Push-Out-Versuchs. Es ist physikalisch betrachtet in einem Scherversuch mit zylinderförmigen Implantatkörpern nicht entscheidend, ob die aufbrachte Kraft achsenparallel zum Interface in die eine Richtung oder dieser genau entgegengesetzt wirkt<sup>108</sup>.

Neben der geometrischen Struktur beeinflusst auch die chemische Zusammensetzung der Oberfläche die Osteointegration eines Implantats<sup>48,49,59</sup>. Die verwendete ZTA-Keramik ist vollständig bioinert und ermöglicht eine Kontaktosteogenese des Implantats<sup>8</sup>. Durch das zusätzliche Auftragen einer bioaktiven Beschichtung soll eine direkte Verbindung mit dem umliegenden Knochengewebe ohne Bindegewebsumkapselung erreicht werden. Hydroxylapatit ist eine Kalzium-Phosphor-Verbindung und macht den Hauptbestandteil der nichtorganischen Knochensubstanz aus. Als Beschichtung ist Hydroxylapatit sowohl biokompatibel als auch bioaktiv, erleichtert mit einer dreidimensionalen Struktur die Anlagerung von körpereigenen Zellen und wird deshalb schon seit vielen Jahren als Oberflächenmodifikation von Implantaten verwendet<sup>69,70,74,75</sup>. Während bisher vor allem Schichtdicken im Mikrometerbereich eingesetzt wurden, ist die in der vorliegenden Studie verwendete Hydroxylapatitbeschichtung unter 100 nm dünn. Für texturierte ZTA-Keramikimplantate mit dieser aufgetragenen submikronen Hydroxylapatitbeschichtung (HA) konnten in der vorliegenden Studie im Push-Out-Test nach zwölf Wochen Einheilung eine mittlere Maximalkraft von  $3573,85 \pm 1191,91$  N und eine durchschnittliche Haftscherfestigkeit von  $9,82 \pm 2,89$  MPa ermittelt werden. Diese Werte sind höher als die der unbeschichteten Keramikkontrollgruppe (Steigerung der mittleren Haftscherfestigkeit um 15 %) und legen eine verbesserte Osteointegration nahe. Sie erreichten aber nicht das geforderte Signifikanzniveau von 0,05.

Die vorliegende Arbeit untersucht als erste die Osteointegrationsfähigkeit der Kombination aus Keramik und einer submikronen Hydroxylapatitbeschichtung. Zahlreiche Publikationen haben bereits gezeigt, dass die Osteointegration von Titanimplantaten durch die Effekte einer aufgetragenen Hydroxylapatitbeschichtung verbessert werden kann<sup>69,71-73</sup>. Die beschriebene Arbeit von Schwarz et al. untersucht die Implantatintegration im trabekulären Knochen der Femora von Minipigs und vergleicht im Pull-Out-Test Implantate mit einer texturierten Titan-Plasma-Oberfläche direkt mit Hydroxylapatit beschichteten Probekörpern. Nach zwölf Wochen Heilungszeit lag die durchschnittliche maximale Scherspannung der Hydroxylapatitbeschichtung bei  $7,3 \pm 1,9$  MPa und damit über den Werten der Titan-Plasma-Oberfläche ( $6,5 \pm 1,5$  MPa)<sup>110</sup>. Vergleichbar zu den Resultaten der vorliegenden Studie erreichten die dort ermittelten Werte ebenfalls nicht das geforderte Signifikanzniveau<sup>110</sup>. Andere präklinische Studien zu Hydroxylapatitbeschichtungen wurden bisher im Kleintiermodell durchgeführt. Wheeler et al. testeten in einer Arbeit zylindrische Titanimplantate

texturierter Oberfläche mit einer plasmagespritzten Hydroxylapatitbeschichtung. Die Probekörper wurden bilateral intramedullär in die Femora von Neuseelandkaninchen eingebracht und ihre mechanische Verankerung im Knochen wurde zu verschiedenen Zeitpunkten mittels Push-Out-Testungen bestimmt. Nach zwölfwöchiger Heilungszeit lag die mittlere Haftscherfestigkeit der Hydroxylapatitbeschichtung bei  $3,82 \pm 0,96$  MPa im Vergleich zu  $2,36 \pm 1,81$  MPa der unbeschichteten Titan-Kontrolle. Auch die gemessenen Maximalkraftwerte waren mit durchschnittlich  $426,55 \pm 104,46$  N höher als die der unbeschichteten Kontrollgruppe ( $286,01 \pm 219,37$  N)<sup>95</sup>. Analog zu den Studienergebnissen der vorliegenden Arbeit zeigte die Hydroxylapatitbeschichtung eine Steigerung der knöchernen Implantatintegration, die jedoch nicht das statistisch geforderte Signifikanzniveau erreichte. Haftscherfestigkeit und Maximalkraft der Hydroxylapatit-Beschichtungsgruppe und der Titankontrollgruppe sind in der Studie von Wheeler et al. deutlich niedriger als die Werte der Keramikimplantate der vorliegenden Arbeit, bedingt durch das verwendete Kaninchenmodell sowie die intramedulläre Implantatlokalisierung, die keinen direkten Vergleich erlauben. Entsprechend den Ergebnissen der vorliegenden Studie, konnte für Implantate aus Titan anhand biomechanischer Messmethoden auch in anderen Studien eine Steigerung der Osteointegration durch eine aufgetragene Hydroxylapatitbeschichtung nachgewiesen werden. Die gemessenen Unterschiede zu den unbeschichteten Titan-Kontrollgruppen sind jedoch nur selten statistisch signifikant. Möglicherweise sind andere Analyseverfahren sensitiver, um die Effekte von Hydroxylapatitbeschichtungen am Interface zwischen Implantat und Knochen aufzuzeigen. So konnte in den histologischen Testungen der beschriebenen Studie von Schwarz et al. für Hydroxylapatit beschichtete Implantate im Vergleich zur unbeschichteten Titankontrolle eine statistisch signifikant höhere Rate an Knochenneubildung am Interface zwischen Implantat und Knochen festgestellt werden<sup>110</sup>. Eine ähnliche Hydroxylapatitbeschichtung wie die, die in der vorliegenden Studie verwendet wurde, hat auf Titanimplantaten im Kleintiermodell sowie auf humanen Dentalimplantaten im posterioren Oberkieferknochen histologisch eine signifikant höhere Rate an Knochenneubildung bzw. eine signifikant größere Knochenkontakfläche gezeigt als unbeschichtete Titankontrollen<sup>70,71</sup>.

Die in der vorliegenden Studie verwendete, kovalent gebundene Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen ist eine weitere Möglichkeit, um die Osteoinduktivität von Implantatkörpern zu steigern. Sie erhöht die Oberflächenhydrophilie, erleichtert damit

die Anlagerung von Proteinen und Zellen aus dem umgebenden Gewebe und fördert so die chemische Verbindung zwischen Implantatoberfläche und Knochenbett<sup>64,65</sup>. Texturierte ZTA-Keramikimplantate mit einer kovalent gebundenen Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen (CM) auf der Oberfläche erzielten in der vorliegenden Arbeit im biomechanischen Push-Out-Test nach 12 Wochen Einheilung eine durchschnittliche Maximalkraft von  $3166,32 \pm 899,74$  N bei einer mittleren Haftscherfestigkeit von  $8,71 \pm 2,01$  MPa. Diese Werte lagen über denen der unbeschichteten Kontrollimplantate und nahe an den Resultaten der chemisch eng verwandten Hydroxylapatitbeschichtung. Eine statistisch signifikante Steigerung zur unbeschichteten Kontrollgruppe konnte nicht nachgewiesen werden.

Eine ähnliche Beschichtung wurde bereits in einer anderen In-vivo-Studie näher untersucht. Von Salis-Soglio et al. beschichteten in ihrer Arbeit 8 mm lange schraubenförmige Titanimplantaten. Diese wurden über Bohrlöcher in die Beckenknochen von 24 Schafen eingesetzt. Nach zwei Wochen Einheilungszeit waren beim Herausdrehen der Schrauben mit Phosphonatbeschichtung auf der Oberfläche im Vergleich zu unbeschichteten Titankontrollen höhere Kräfte nötig. Begleitende histologische Analysen zeigten zu verschiedenen Zeitpunkten einen größeren Knochen-Implantat-Kontakt der beschichteten Implantate im Vergleich zu unbeschichteten Kontrollen aus Titan. In den elektronenmikroskopischen Bildern waren größere Mengen an Knochensubstanz in direktem Kontakt zu den beschichteten Implantaten sichtbar<sup>111</sup>. In einer Studie von Shannon et al. wurde eine dünne Schicht aus Phosphonatmolekülen sowie eine Hydroxylapatitbeschichtung auf die Oberfläche von Titanimplantaten aufgetragen, um ihre biologische Integration im Knochen miteinander zu vergleichen. Anders als im Operationsmodell der vorliegenden Arbeit wurden die zylindrischen Implantatkörper dafür intramedullär in distale Femora von Neuseelandkaninchen eingebracht. Ihre knöchernen Verankerungsstabilität wurde mittels Pull-Out-Testungen bestimmt. Nach vier und 16 Wochen Einheilungszeit erzielten Implantate mit Phosphonatbeschichtung auf der Oberfläche statistisch signifikant höhere Maximalkraftwerte im Vergleich zu Implantaten mit einer Hydroxylapatitbeschichtung. Zusätzlich durchgeführte histomorphometrische Analysen belegten nach zwei und 16 Wochen Heilungszeit eine vermehrte Knochenneubildung an der Oberfläche der phosphonatbeschichteten Implantate im Vergleich zu Implantatkörpern mit Hydroxylapatitbeschichtung<sup>112</sup>. Die beiden genannten Studien konnten zeigen, dass Phosphonatbeschichtungen die biologische Integration von Titanschrauben sowie von

intramedullär platzierten Titanimplantaten steigern und deren Sekundärstabilität im Knochen erhöhen. Analog zu den Ergebnissen der vorliegenden Studie zur ZTA-Keramik, waren bei den biomechanischen Testungen im Vergleich zu den jeweiligen Kontrollgruppen aus Titan bzw. Hydroxylapatit höhere Kräfte erforderlich, um die mit Phosphonatbeschichtungen versehenen Implantate aus dem Knochen zu drehen oder zu ziehen.

Neben den beiden chemisch eng verwandten Beschichtungen aus Hydroxylapatit- bzw. kovalent gebundenen Molekülen aus Phosphat-ähnlichen Gruppen wurden in der vorliegenden Studie auch zwei verschiedene Bioglasbeschichtungen zu ihrem Einfluss auf die knöcherne Implantatintegration untersucht. Bioglas spielt als Beschichtung bisher vor allem in der Dentalchirurgie eine Rolle. Dort soll es, aufgetragen auf Titan, die Entstehung einer fibrösen Bindegewebsschicht bei der knöchernen Einheilung von Implantaten verhindern<sup>83</sup>. Die hohe Bioaktivität von Biogläsern zeigt sich beim Kontakt zu umgebenden Flüssigkeiten durch die schnelle Bildung einer Hydroxylcarbonatapatitschicht<sup>83,84</sup>. ZTA-Keramikimplantate mit einer 45S5-Bioglas-Beschichtung aus dem Dipping-Verfahren (DipBG) erreichten in der vorliegenden Arbeit im Push-Out-Test eine durchschnittliche Maximalkraft von  $2070,52 \pm 1503,79$  N und eine mittlere Haftscherfestigkeit von  $5,69 \pm 4,03$  MPa. Das im Sol-Gel-Verfahren hergestellte 70S30C Bioglas (SGBG) erlangte eine durchschnittliche Maximalkraft von  $1691,57 \pm 986,76$  N bei einer mittleren Haftscherfestigkeit von  $4,57 \pm 2,65$  MPa. Damit lagen die Mittelwerte beider Biogläser unter denen der unbeschichteten Keramikkontrollgruppe. Die Sol-Gel-Bioglasbeschichtung wies in allen gemessenen Push-Out-Parametern die niedrigsten Mittelwerte auf und unterschied sich dabei mit Ausnahme der Reibspannung in sämtlichen Parametern statistisch signifikant von den Ergebnissen der HA- bzw. der CM-Beschichtung.

Die Kombination aus Keramik und Bioglas wurde bereits in einer Studie von Ignatius et al. zu ihrem Einfluss auf die knöcherne Implantatintegration im Großtiermodell getestet. Zylinderförmige Implantate aus Verbundkeramik mit und ohne Bioglasbeschichtung auf der Oberfläche wurden über ein Bohrlochdefektmodell in die Tibiadiaphysen von 16 Schafen eingesetzt. Nach sechs Monaten Einheilungszeit wurden die Probekörper einem axialen Push-Out-Test unterzogen. Analog zu den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit kam es durch die Bioglasbeschichtung zu keiner signifikanten Steigerung der Haftscherfestigkeit im biomechanischen Test und die bioglasbeschichtete Testgruppe wies niedrigere Werte auf als die unbeschichteten Keramikkontrollen<sup>113</sup>. Auch auf

Titanimplantaten zeigten Bioglasbeschichtungen mit biomechanischen Messmethoden bisher keine signifikante Steigerung der Osteointegration. In der beschriebenen Studie von Wheeler et al. wiesen zylindrische, texturierte Titanimplantate mit einer 45S5-Bioglasbeschichtung zwölf Wochen nach ihrer intramedullären Implantation in die distalen Femora von Neuseelandkaninchen im Push-Out-Test ähnliche Haftscherfestigkeiten ( $2,92 \pm 0,51$  MPa) und Maximalkraftwerte ( $339,40 \pm 52,18$  N) wie ihre unbeschichtete Kontrollgruppe ( $2,36 \pm 1,81$  MPa und  $286,01 \pm 219,37$  N) auf<sup>95</sup>. Auch hier scheint das 45S5-Bioglas die knöchernen Integration der Implantatkörper im Vergleich zu seiner Kontrollgruppe nicht entscheidend zu steigern. Die Haftscherfestigkeiten der Probekörper von Ignatius und Wheeler sind verglichen mit den Ergebnissen der ZTA-Keramik aus der vorliegenden Studie deutlich geringer, da es sich um intramedulläre Implantatlokalisationen bzw. ein Kleintiermodell am Kaninchen handelt. Beides lässt keinen direkten Vergleich der Werte zu. Die Studie von Lopez-Sastre et al. vergleicht unmittelbar die Osteointegration einer Hydroxylapatitbeschichtung mit der einer Bioglasbeschichtung auf Titanimplantaten im Großtiermodell. Die Implantate wurden im Plasmasprühverfahren mit den beiden Oberflächenbeschichtungen versehen und beidseitig in die Femurdiaphysen von sechs Schafen implantiert, um ihre biomechanische Verankerung im Knochen zu verschiedenen Heilungszeitpunkten mit Hilfe eines Push-Out-Tests zu quantifizieren. Die mit Hydroxylapatit beschichteten Implantate wiesen zu allen Auswertungszeitpunkten (2,4,6,8,12 und 16 Wochen) zwischen vier- und zehnfach höhere Haftscherfestigkeitswerte auf als Implantate mit einer Bioglasbeschichtung. Zusätzlich durchgeführte histologische Analysen zeigten, dass die mit Bioglas beschichteten Implantate von einer Bindegewebsschicht ummantelt waren, die im Vergleich zu Hydroxylapatit-Implantaten zu einer verminderten Rate an Knochenneubildung im Interface-Bereich führte<sup>114</sup>. Auf Implantaten aus Keramik konnten Bioglasbeschichtungen dagegen vielversprechende histologische Ergebnisse erzielen und zeigten im Vergleich zu unbeschichteten Kontrollgruppen ein vermehrtes und direktes Anwachsen von Knochensubstanz an die beschichtete Keramik<sup>96,115</sup>. Stanic et al. setzten 4 mm lange, zylinderförmige Keramikimplantate mit und ohne Bioglasoberfläche in den trabekulären Knochen der Femurkondylen von gesunden Ratten ein. Histomorphometrische Analysen belegten nach dreißig Tagen Heilungszeit einen positiven Effekt der Bioglasbeschichtung. Der Knochen-Implantat-Kontakt war im Vergleich zur unbeschichteten Keramik signifikant erhöht. Im

elektronenmikroskopischen Scan ließen sich sowohl dreißig als auch sechzig Tage nach der Einbringung signifikant mehr Knochenanlagerungen an die mit Bioglas beschichteten Implantate nachweisen<sup>96</sup>. In einer Studie von Hamadouche et al. wurden zylinderförmige, 6 mm lange Keramikimplantate mit zwei unterschiedlich zusammengesetzten Biogläsern aus dem Sol-Gel-Verfahren beschichtet und in die distalen Femora von Neuseelandkaninchen eingesetzt. Nach 24 Wochen Einheilungszeit zeigten die mit Bioglas modifizierten Implantate in der histomorphometrischen Analyse einen signifikant größeren Knochen-Implantat-Kontakt als die unbeschichtete Kontrollgruppe<sup>115</sup>. Biomechanisch konnte aber auch in diesen beiden Studien keine signifikante Steigerung der Sekundärstabilität durch die Bioglasbeschichtungen nachgewiesen werden<sup>96,115</sup>.

Zusammenfassend belegen die biomechanischen Resultate der vorliegenden Studie eine stabile knöcherne Integration der texturierten Implantate aus ZTA-Keramik nach zwölf Wochen Heilungszeit. Eine zusätzliche Beschichtung der Implantatoberfläche mit einer kovalent gebundenen Molekülschicht aus Phosphat-ähnlichen Gruppen bzw. Hydroxylapatitmolekülen führte zu einer verbesserten biologischen Integration. Während die Werte der unbeschichteten Kontrollgruppe bei allen Parametern des Push-Out-Tests eine relativ breite Streuung aufwiesen, führte eine Beschichtung der Implantate mit CM oder HA zu einer geringeren Streuung und höheren Werten, sodass sich ein stabilisierender Effekt auf die Osteointegration nachweisen ließ. Beide aufgetragenen Biogläser bewirkten dagegen keine Steigerung der Osteointegration. Der Vergleich der beschichteten Gruppen untereinander zeigte den Einfluss der Oberflächenmodifikation statistisch signifikant für HA und SGBG. Da im Vergleich der Beschichtungsgruppen zur unbeschichteten Kontrollgruppe jedoch keine statistisch signifikante Steigerung der Osteointegration nachgewiesen werden konnte, muss die eingangs aufgestellte Hypothese, dass durch eine der vier bioaktiven Beschichtungen die Integration von zylindrischen ZTA-Keramikimplantaten im Vergleich zum unbeschichteten Kontrollimplantat verbessert werden kann, abgelehnt werden. Die positiven Effekte der CM- sowie der HA-Beschichtung auf die biologische Integration von Implantatkörpern aus ZTA-Keramik sind dennoch deutlich und sollten in weiteren vorklinischen Forschungsarbeiten bestätigt werden. Ob die nach zwölf Wochen Einheilung biomechanisch nachgewiesene, stabile Osteointegration der ZTA-Keramik mit CM- bzw. HA-Beschichtung im trabekulären Knochen auch über einen längeren Zeitraum anhält, ist im Hinblick auf den späteren klinischen Einsatz der ZTA-Keramik

eine wichtige Frage, die in Langzeitstudien untersucht werden sollte. Ob die stabile knöcherne Integration durch die bioaktiven Beschichtungen auch beschleunigt wird, sollte durch biomechanische Studien mit früheren Auswertungszeitpunkten geprüft werden. Lässt sich auch in Folgestudien eine biologisch stabile Osteointegration von ZTA-Keramimplantaten mit CM- bzw. Hydroxylapatitbeschichtung nachweisen, ist im nächsten Schritt eine vorklinische und anwendungsnähere Testung der Beschichtungen, beispielsweise als Oberflächenmodifikation von funktionellen Keramikvollprothesen, sinnvoll.

## 5. Literaturverzeichnis

1. **IQTIG - Institut für Qualitätssicherung und Transparenz im Gesundheitswesen** (2016). *Qualitätsreport 2015*. Berlin, Deutschland. URL: [https://www.g-ba.de/downloads/39-261-2699/2016-08-03\\_QSKH-RL\\_Freigabe-Q-Report-IQTIG\\_2015\\_inkl\\_Anlage.pdf](https://www.g-ba.de/downloads/39-261-2699/2016-08-03_QSKH-RL_Freigabe-Q-Report-IQTIG_2015_inkl_Anlage.pdf) (19.08.2017).
2. **Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M.** *Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030*. J Bone Joint Surg Am 2007;89:780-785.
3. **Kurtz SM, Lau E, Ong K, Zhao K, Kelly M, Bozic KJ.** *Future young patient demand for primary and revision joint replacement: national projections from 2010 to 2030*. Clin Orthop Relat Res 2009;467:2606-2612.
4. **Thiele K, Perka C, Matziolis G, Mayr HO, Sostheim M, Hube R.** *Current failure mechanisms after knee arthroplasty have changed: polyethylene wear is less common in revision surgery*. J Bone Joint Surg Am 2015;97:715-720.
5. **Perka C, Haschke F, Tohtz S.** *Dislocation after total hip arthroplasty*. Z Orthop Unfall 2012;150:e89-103, quiz e104-105.
6. **Winkler T, Trampuz A, Hardt S, Janz V, Kleber C, Perka C.** *Periprosthetic infection after hip arthroplasty*. Orthopade 2014;43:70-78.
7. **Senturk U, Perka C.** *Ceramic-on-ceramic bearings in total hip arthroplasty (THA)*. Z Orthop Unfall 2015;153:198-202.
8. **Christel PS.** *Biocompatibility of surgical-grade dense polycrystalline alumina*. Clin Orthop Relat Res 1992:10-18.

9. **Lee YK, Ha YC, Yoo JJ, Koo KH, Yoon KS, Kim HJ.** *Alumina-on-alumina total hip arthroplasty: a concise follow-up, at a minimum of ten years, of a previous report.* J Bone Joint Surg Am 2010;92:1715-1719.
  
10. **Petsatodis GE, Papadopoulos PP, Papavasiliou KA, Hatzokos IG, Agathangelidis FG, Christodoulou AG.** *Primary cementless total hip arthroplasty with an alumina ceramic-on-ceramic bearing: results after a minimum of twenty years of follow-up.* J Bone Joint Surg Am 2010;92:639-644.
  
11. **D'Antonio JA, Capello WN, Naughton M.** *Ceramic bearings for total hip arthroplasty have high survivorship at 10 years.* Clin Orthop Relat Res 2012;470:373-381.
  
12. **Trampuz A, Maiolo EM, Winkler T, Perka C.** *Biofilm formation on ceramic, metal and polyethylene bearing components from hip joint replacement systems.* Bone Joint J 2016:80.
  
13. **Finkbone PR, Severson EP, Cabanela ME, Trousdale RT.** *Ceramic-on-ceramic total hip arthroplasty in patients younger than 20 years.* J Arthroplasty 2012;27:213-219.
  
14. **Hermawan H, Ramdan D, Djuansjah J.** *Metals for Biomedical Applications.* Biomedical Engineering - From Theory to Applications, Prof Reza Fazel (Ed) 2011;20:411-431.
  
15. **Pan J, Leygraf C, Thierry D, Ektessabi AM.** *Corrosion resistance for biomaterial applications of TiO<sub>2</sub> films deposited on titanium and stainless steel by ion-beam-assisted sputtering.* J Biomed Mater Res 1997;35:309-318.
  
16. **Ellison P, Hallan G, Hol PJ, Gjerdet NR, Havelin LI.** *Coordinating retrieval and register studies improves postmarket surveillance.* Clin Orthop Relat Res 2012;470:2995-3002.

17. **Maas R, Kooijman H, Heller M, Langkowski HJ, Grabbe E, Bucheler E.** *Risks and artifacts in MRT (1.5 tesla) caused by metallic foreign bodies. Studies on phantoms and 60 patients.* Rofo 1987;147:365-374.
18. **Watzke O, Kalender WA.** *A pragmatic approach to metal artifact reduction in CT: merging of metal artifact reduced images.* Eur Radiol 2004;14:849-856.
19. **Charnley J.** *The long-term results of low-friction arthroplasty of the hip performed as a primary intervention.* J Bone Joint Surg Br 1972;54:61-76.
20. **Oral E, Muratoglu OK.** *Radiation cross-linking in ultra-high molecular weight polyethylene for orthopaedic applications.* Nucl Instrum Methods Phys Res B 2007;265:18-22.
21. **Heimke G, Griss P.** *Ceramic implant materials.* Med Biol Eng Comput 1980;18:503-510.
22. **De Aza AH, Chevalier J, Fantozzi G, Schehl M, Torrecillas R.** *Crack growth resistance of alumina, zirconia and zirconia toughened alumina ceramics for joint prostheses.* Biomaterials 2002;23:937-945.
23. **Sentuerk U, von Roth P, Perka C.** *Ceramic on ceramic arthroplasty of the hip: new materials confirm appropriate use in young patients.* Bone Joint J 2016;98-B:14-17.
24. **Panfili E, Pierdicca L, Salvolini L, Imperiale L, Dubbini J, Giovagnoni A.** *Magnetic resonance imaging (MRI) artefacts in hip prostheses: a comparison of different prosthetic compositions.* Radiol Med 2014;119:113-120.
25. **Rodrigues SP, Paiva JM, De Francesco S, Amaral MI, Oliveira FJ, Silva RF.** *Artifact level produced by different femoral head prostheses in CT imaging: diamond coated silicon nitride as total hip replacement material.* J Mater Sci Mater Med 2013;24:231-239.

26. **Jazrawi LM, Bogner E, Della Valle CJ, Chen FS, Pak KI, Stuchin SA, Frankel VH, Di Cesare PE.** *Wear rates of ceramic-on-ceramic bearing surfaces in total hip implants: a 12-year follow-up study.* J Arthroplasty 1999;14:781-787.
27. **Bader R, Scholz R, Steinhauser E, Zimmermann S, Busch R, Mittelmeier W.** *The influence of head and neck geometry on stability of total hip replacement: a mechanical test study.* Acta Orthop Scand 2004;75:415-421.
28. **Meier E, Gelse K, Trieb K, Pachowsky M, Hennig FF, Mauerer A.** *First clinical study of a novel complete metal-free ceramic total knee replacement system.* J Orthop Surg Res 2016;11:21.
29. **Clarke B.** *Normal bone anatomy and physiology.* Clin J Am Soc Nephrol 2008;3 Suppl 3:S131-139.
30. **Florencio-Silva R, Sasso GR, Sasso-Cerri E, Simoes MJ, Cerri PS.** *Biology of Bone Tissue: Structure, Function, and Factors That Influence Bone Cells.* Biomed Res Int 2015;2015:421746.
31. **Downey PA, Siegel MI.** *Bone biology and the clinical implications for osteoporosis.* Phys Ther 2006;86:77-91.
32. **Ducy P, Schinke T, Karsenty G.** *The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance.* Science 2000;289:1501-1504.
33. **Crockett JC, Mellis DJ, Scott DI, Helfrich MH.** *New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis.* Osteoporos Int 2011;22:1-20.
34. **Yavropoulou MP, Yovos JG.** *Osteoclastogenesis - current knowledge and future perspectives.* J Musculoskelet Neuronal Interact 2008;8:204-216.

35. **Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA.** *The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications.* J Bone Joint Surg Am 2002;84-A:1032-1044.
36. **Nauth A, Ristevski B, Li R, Schemitsch EH.** *Growth factors and bone regeneration: how much bone can we expect?* Injury 2011;42:574-579.
37. **Branemark PI.** *Osseointegration and its experimental background.* J Prosthet Dent 1983;50:399-410.
38. **Linder L, Carlsson A, Marsal L, Bjursten LM, Branemark PI.** *Clinical aspects of osseointegration in joint replacement. A histological study of titanium implants.* J Bone Joint Surg Br 1988;70:550-555.
39. **Branemark R, Branemark PI, Rydevik B, Myers RR.** *Osseointegration in skeletal reconstruction and rehabilitation: a review.* J Rehabil Res Dev 2001;38:175-181.
40. **Goriainov V, Cook R, J ML, D GD, Oreffo RO.** *Bone and metal: an orthopaedic perspective on osseointegration of metals.* Acta Biomater 2014;10:4043-4057.
41. **Fini M, Giavaresi G, Torricelli P, Borsari V, Giardino R, Nicolini A, Carpi A.** *Osteoporosis and biomaterial osteointegration.* Biomed Pharmacother 2004;58:487-493.
42. **Osborn JF.** *Biological behavior of the hydroxyapatite ceramic coating on the femur shaft of a titanium endoprosthesis--initial histologic evaluation of a human explant.* Biomed Tech (Berl) 1987;32:177-183.
43. **Davies JE.** *Understanding peri-implant endosseous healing.* J Dent Educ 2003;67:932-949.

44. **Marco F, Milena F, Gianluca G, Vittoria O.** *Peri-implant osteogenesis in health and osteoporosis.* Micron 2005;36:630-644.
45. **Meyer U, Joos U, Mythili J, Stamm T, Hohoff A, Fillies T, Stratmann U, Wiesmann HP.** *Ultrastructural characterization of the implant/bone interface of immediately loaded dental implants.* Biomaterials 2004;25:1959-1967.
46. **Miron RJ, Zhang YF.** *Osteoinduction: a review of old concepts with new standards.* J Dent Res 2012;91:736-744.
47. **Albrektsson T, Johansson C.** *Osteoinduction, osteoconduction and osseointegration.* Eur Spine J 2001;10 Suppl 2:S96-101.
48. **Forster Y, Rentsch C, Schneiders W, Bernhardt R, Simon JC, Worch H, Rammelt S.** *Surface modification of implants in long bone.* Biomatter 2012;2:149-157.
49. **Dohan Ehrenfest DM, Coelho PG, Kang BS, Sul YT, Albrektsson T.** *Classification of osseointegrated implant surfaces: materials, chemistry and topography.* Trends Biotechnol 2010;28:198-206.
50. **Garcia-Gareta E, Coathup MJ, Blunn GW.** *Osteoinduction of bone grafting materials for bone repair and regeneration.* Bone 2015;81:112-121.
51. **Gallo J, Holinka M, Moucha CS.** *Antibacterial surface treatment for orthopaedic implants.* Int J Mol Sci 2014;15:13849-13880.
52. **Veerachamy S, Yarlagadda T, Manivasagam G, Yarlagadda PK.** *Bacterial adherence and biofilm formation on medical implants: a review.* Proc Inst Mech Eng H 2014;228:1083-1099.
53. **Chan KH, Zhuo S, Ni M.** *Priming the Surface of Orthopedic Implants for Osteoblast Attachment in Bone Tissue Engineering.* Int J Med Sci 2015;12:701-707.

54. **Pilliar RM, Lee JM, Maniopoulos C.** *Observations on the effect of movement on bone ingrowth into porous-surfaced implants.* Clin Orthop Relat Res 1986;108-113.
55. **Harrison N, Field JR, Quondamatteo F, Curtin W, McHugh PE, Mc Donnell P.** *Preclinical trial of a novel surface architecture for improved primary fixation of cementless orthopaedic implants.* Clin Biomech (Bristol, Avon) 2014;29:861-868.
56. **Liu Y, Bao C, Wismeijer D, Wu G.** *The physicochemical/biological properties of porous tantalum and the potential surface modification techniques to improve its clinical application in dental implantology.* Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2015;49:323-329.
57. **Kieswetter K, Schwartz Z, Dean DD, Boyan BD.** *The role of implant surface characteristics in the healing of bone.* Crit Rev Oral Biol Med 1996;7:329-345.
58. **Herath HM, Di Silvio L, Evans JR.** *Osteoblast response to zirconia surfaces with different topographies.* Mater Sci Eng C Mater Biol Appl 2015;57:363-370.
59. **Barradas AM, Yuan H, van Blitterswijk CA, Habibovic P.** *Osteoinductive biomaterials: current knowledge of properties, experimental models and biological mechanisms.* Eur Cell Mater 2011;21:407-429.
60. **Karageorgiou V, Kaplan D.** *Porosity of 3D biomaterial scaffolds and osteogenesis.* Biomaterials 2005;26:5474-5491.
61. **Noro A, Kaneko M, Murata I, Yoshinari M.** *Influence of surface topography and surface physicochemistry on wettability of zirconia (tetragonal zirconia polycrystal).* J Biomed Mater Res B Appl Biomater 2013;101:355-363.
62. **Mittelmeier W, Grunwald I, Schafer R, Grundei H, Gradinger R.** *Cementless fixation of the endoprosthesis using trabecular, 3-dimensional interconnected surface structures.* Orthopade 1997;26:117-124.

63. **Goel M. MR, Kumar A., Kumar V., Bhayana G., Wadhwa S.** *Implant Surface Modification and Osseointegration - Past, Present and Future.* Journal of Oral Health and Community Dentistry 2014.
64. **de Jonge LT, Leeuwenburgh SC, Wolke JG, Jansen JA.** *Organic-inorganic surface modifications for titanium implant surfaces.* Pharm Res 2008;25:2357-2369.
65. **Viornerly C, Guenther HL, Aronsson BO, Pechy P, Descouts P, Gratzel M.** *Osteoblast culture on polished titanium disks modified with phosphonic acids.* J Biomed Mater Res 2002;62:149-155.
66. **Gittens RA, Scheideler L, Rupp F, Hyzy SL, Geis-Gerstorfer J, Schwartz Z, Boyan BD.** *A review on the wettability of dental implant surfaces II: Biological and clinical aspects.* Acta Biomater 2014;10:2907-2918.
67. **Maekawa K, Shimono K, Oshima M, Yoshida Y, Van Meerbeek B, Suzuki K, Kuboki T.** *Polyphosphoric acid treatment promotes bone regeneration around titanium implants.* J Oral Rehabil 2009;36:362-367.
68. **Abtahi J, Tengvall P, Aspenberg P.** *A bisphosphonate-coating improves the fixation of metal implants in human bone. A randomized trial of dental implants.* Bone 2012;50:1148-1151.
69. **Geesink RG, de Groot K, Klein CP.** *Chemical implant fixation using hydroxyl-apatite coatings. The development of a human total hip prosthesis for chemical fixation to bone using hydroxyl-apatite coatings on titanium substrates.* Clin Orthop Relat Res 1987:147-170.
70. **Meirelles L, Arvidsson A, Andersson M, Kjellin P, Albrektsson T, Wennerberg A.** *Nano hydroxyapatite structures influence early bone formation.* J Biomed Mater Res A 2008;87:299-307.

71. **Orsini G, Piattelli M, Scarano A, Petrone G, Kenealy J, Piattelli A, Caputi S.** *Randomized, controlled histologic and histomorphometric evaluation of implants with nanometer-scale calcium phosphate added to the dual acid-etched surface in the human posterior maxilla.* J Periodontol 2007;78:209-218.
72. **Chambers B, St Clair SF, Froimson MI.** *Hydroxyapatite-coated tapered cementless femoral components in total hip arthroplasty.* J Arthroplasty 2007;22:71-74.
73. **Reikeras O, Gunderson RB.** *Excellent results of HA coating on a grit-blasted stem: 245 patients followed for 8-12 years.* Acta Orthop Scand 2003;74:140-145.
74. **Geesink RG, de Groot K, Klein CP.** *Bonding of bone to apatite-coated implants.* J Bone Joint Surg Br 1988;70:17-22.
75. **Goodman SB, Yao Z, Keeney M, Yang F.** *The future of biologic coatings for orthopaedic implants.* Biomaterials 2013;34:3174-3183.
76. **LeGeros RZ.** *Properties of osteoconductive biomaterials: calcium phosphates.* Clin Orthop Relat Res 2002:81-98.
77. **Meirelles L, Melin L, Peltola T, Kjellin P, Kangasniemi I, Currie F, Andersson M, Albrektsson T, Wennerberg A.** *Effect of hydroxyapatite and titania nanostructures on early in vivo bone response.* Clin Implant Dent Relat Res 2008;10:245-254.
78. **Meirelles L, Albrektsson T, Kjellin P, Arvidsson A, Franke-Stenport V, Andersson M, Currie F, Wennerberg A.** *Bone reaction to nano hydroxyapatite modified titanium implants placed in a gap-healing model.* J Biomed Mater Res A 2008;87:624-631.
79. **Barkarmo S, Wennerberg A, Hoffman M, Kjellin P, Breiding K, Handa P, Stenport V.** *Nano-hydroxyapatite-coated PEEK implants: a pilot study in rabbit bone.* J Biomed Mater Res A 2013;101:465-471.

80. **Soballe K, Hansen ES, Brockstedt-Rasmussen H, Bunger C.** *Hydroxyapatite coating converts fibrous tissue to bone around loaded implants.* J Bone Joint Surg Br 1993;75:270-278.
81. **Rahbek O, Overgaard S, Lind M, Bendix K, Bunger C, Soballe K.** *Sealing effect of hydroxyapatite coating on peri-implant migration of particles. An experimental study in dogs.* J Bone Joint Surg Br 2001;83:441-447.
82. **Geesink RG.** *Osteoconductive coatings for total joint arthroplasty.* Clin Orthop Relat Res 2002:53-65.
83. **Jones JR.** *Reprint of: Review of bioactive glass: From Hench to hybrids.* Acta Biomater 2015;23 Suppl:S53-82.
84. **Hench LL.** *The story of Bioglass.* J Mater Sci Mater Med 2006;17:967-978.
85. **Andersson OH, Kangasniemi I.** *Calcium phosphate formation at the surface of bioactive glass in vitro.* J Biomed Mater Res 1991;25:1019-1030.
86. **Filgueiras MR, LaTorre G, Hench LL.** *Solution effects on the surface reactions of three bioactive glass compositions.* J Biomed Mater Res 1993;27:1485-1493.
87. **Sepulveda P, Jones JR, Hench LL.** *Characterization of melt-derived 45S5 and sol-gel-derived 58S bioactive glasses.* J Biomed Mater Res 2001;58:734-740.
88. **Allan I, Newman H, Wilson M.** *Antibacterial activity of particulate bioglass against supra- and subgingival bacteria.* Biomaterials 2001;22:1683-1687.
89. **Rectenwald JE, Minter RM, Rosenberg JJ, Gaines GC, Lee S, Moldawer LL.** *Bioglass attenuates a proinflammatory response in mouse peritoneal endotoxemia.* Shock 2002;17:135-138.

90. **Xynos ID, Hukkanen MV, Batten JJ, BATTERY LD, HENCH LL, POLAK JM.** *Bioglass 45S5 stimulates osteoblast turnover and enhances bone formation In vitro: implications and applications for bone tissue engineering.* Calcif Tissue Int 2000;67:321-329.
91. **Saravanapavan P, HENCH LL.** *Low-temperature synthesis, structure, and bioactivity of gel-derived glasses in the binary CaO-SiO<sub>2</sub> system.* J Biomed Mater Res 2001;54:608-618.
92. **Dorozhkin SV.** *Biocomposites and hybrid biomaterials based on calcium orthophosphates.* Biomater 2011;1:3-56.
93. **Saravanapavan P, Jones JR, Verrier S, Beilby R, Shirtliff VJ, HENCH LL, Polak JM.** *Binary CaO-SiO<sub>2</sub> gel-glasses for biomedical applications.* Biomed Mater Eng 2004;14:467-486.
94. **Sepulveda P, Jones JR, HENCH LL.** *Bioactive sol-gel foams for tissue repair.* J Biomed Mater Res 2002;59:340-348.
95. **Wheeler DL, Montfort MJ, McLoughlin SW.** *Differential healing response of bone adjacent to porous implants coated with hydroxyapatite and 45S5 bioactive glass.* J Biomed Mater Res 2001;55:603-612.
96. **Stanic V, Aldini NN, Fini M, Giavaresi G, Giardino R, Krajewski A, Ravaglioli A, Mazzocchi M, Dubini B, Bossi MG, Rustichelli F.** *Osteointegration of bioactive glass-coated zirconia in healthy bone: an in vivo evaluation.* Biomaterials 2002;23:3833-3841.
97. **Martini L, Fini M, Giavaresi G, Giardino R.** *Sheep model in orthopedic research: a literature review.* Comp Med 2001;51:292-299.

98. **den Boer FC, Patka P, Bakker FC, Wippermann BW, van Lingen A, Vink GQ, Boshuizen K, Haarman HJ.** *New segmental long bone defect model in sheep: quantitative analysis of healing with dual energy x-ray absorptiometry.* J Orthop Res 1999;17:654-660.
99. **Schneider OD, Mohn D, Fuhrer R, Klein K, Kampf K, Nuss KM, Sidler M, Zlinszky K, von Rechenberg B, Stark WJ.** *Biocompatibility and Bone Formation of Flexible, Cotton Wool-like PLGA/Calcium Phosphate Nanocomposites in Sheep.* Open Orthop J 2011;5:63-71.
100. **von Rechenberg B, Genot OR, Nuss K, Galuppo L, Fulmer M, Jacobson E, Kronen P, Zlinszky K, Auer JA.** *Evaluation of four biodegradable, injectable bone cements in an experimental drill hole model in sheep.* Eur J Pharm Biopharm 2013;85:130-138.
101. **Nuss KM, Auer JA, Boos A, von Rechenberg B.** *An animal model in sheep for biocompatibility testing of biomaterials in cancellous bones.* BMC Musculoskelet Disord 2006;7:67.
102. **Pobloth AM, Johnson KA, Schell H, Kolarczik N, Wulsten D, Duda GN, Schmidt-Bleek K.** *Establishment of a preclinical ovine screening model for the investigation of bone tissue engineering strategies in cancellous and cortical bone defects.* BMC Musculoskelet Disord 2016;17:111.
103. **Hipp I** (2012). *Einfluss von Oberflächenstrukturierung und Oberflächenbeschichtung bei neuartigen Verbund-Keramikimplantaten auf die knöchernen Integration am Schafmodell - eine histomorphologische Untersuchung.* Ludwig-Maximilians-Universität München, München.
104. **CeramTec** (2014). *Direct to Bone Oberfläche - Schichtung und Fertigung.* Lauf, Deutschland.

105. **Götz ME** (2014). *Modulare Keramik-Komposite mit periodischer Mikrostruktur*. Technische Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, Deutschland.
106. **Chang PC, Lang NP, Giannobile WV**. *Evaluation of functional dynamics during osseointegration and regeneration associated with oral implants*. Clin Oral Implants Res 2010;21:1-12.
107. **Brunski JB, Puleo DA, Nanci A**. *Biomaterials and biomechanics of oral and maxillofacial implants: current status and future developments*. Int J Oral Maxillofac Implants 2000;15:15-46.
108. **Schreiner U, Koester H, Pott P, Scheller G, Schwarz M**. *Osteointegration of an alumina matrix composite ceramic with a porous surface: mechanical and histological results of an animal experiment*. Z Orthop Unfall 2009;147:603-609.
109. **Manzano G, Herrero LR, Montero J**. *Comparison of clinical performance of zirconia implants and titanium implants in animal models: a systematic review*. Int J Oral Maxillofac Implants 2014;29:311-320.
110. **Schwarz ML, Kowarsch M, Rose S, Becker K, Lenz T, Jani L**. *Effect of surface roughness, porosity, and a resorbable calcium phosphate coating on osseointegration of titanium in a minipig model*. J Biomed Mater Res A 2009;89:667-678.
111. **von Salis-Soglio M, Stubinger S, Sidler M, Klein K, Ferguson SJ, Kampf K, Zlinszky K, Buchini S, Curno R, Pechy P, Aronsson BO, von Rechenberg B**. *A novel multi-phosphonate surface treatment of titanium dental implants: a study in sheep*. J Funct Biomater 2014;5:135-157.

112. **Shannon FJ, Cottrell JM, Deng XH, Crowder KN, Doty SB, Avaltroni MJ, Warren RF, Wright TM, Schwartz J.** *A novel surface treatment for porous metallic implants that improves the rate of bony ongrowth.* J Biomed Mater Res A 2008;86:857-864.
113. **Ignatius A, Peraus M, Schorlemmer S, Augat P, Burger W, Leyen S, Claes L.** *Osseointegration of alumina with a bioactive coating under load-bearing and unloaded conditions.* Biomaterials 2005;26:2325-2332.
114. **Lopez-Sastre S, Gonzalo-Orden JM, Altonaga JA, Altonaga JR, Orden MA.** *Coating titanium implants with bioglass and with hydroxyapatite. A comparative study in sheep.* Int Orthop 1998;22:380-383.
115. **Hamadouche M, Meunier A, Greenspan DC, Blanchat C, Zhong JP, La Torre GP, Sedel L.** *Bioactivity of sol-gel bioactive glass coated alumina implants.* J Biomed Mater Res 2000;52:422-429.

## 6. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Max Julian Mersiowsky, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Der Einfluss verschiedener Oberflächenbeschichtungen auf die Integration von Keramikimplantaten in den trabekulären Knochen des Schafs – Biomechanische Evaluation“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

## **7. Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

## 8. Publikationsliste

Pobloth AM, Mersiowsky MJ, Kliemt L, Schell H, Burgkart R, Wulsten D, Duda GN. (2017). Bioaktive Oberflächenbeschichtungen zur Verbesserung der Osteointegration von ZTA Keramikimplantaten im Schafmodell. Vortrag auf Deutscher Kongress für Orthopädie und Unfallchirurgie, Berlin.

## 9. Danksagung

Ich möchte Herrn Professor Dr.- Ing. Georg Duda, an dessen Institut die experimentelle Arbeit durchgeführt wurde, und Herrn Professor Dr. med. Carsten Perka für ihre Betreuung und Unterstützung beim Erstellen meiner Arbeit danken.

Ein besonders großer Dank gebührt außerdem Frau Dr. med. vet. Anne-Marie Pobloth, die diese Arbeit als meine Betreuerin im Institut sowohl während der praktischen Phase im Operationssaal als auch bei der biomechanischen Auswertung im Labor intensiv begleitet hat und mir beim Erstellen des Manuskripts zu jeder Zeit helfend zur Seite stand. Ich hätte mir keine bessere Betreuung vorstellen können.

Auch Frau Dr. med. vet. Hanna Schell, Nicolai Kolarczik und meiner Mitdotorandin Luisa Kliemt möchte ich für ihren großen Einsatz in der operativ-praktischen Phase dieser Arbeit danken. Sie haben mir den artgerechten Umgang und das Arbeiten mit den Schafen vermittelt. Ich habe viel von ihnen lernen können und ohne ihre tatkräftige Unterstützung wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Dag Wulsten danke ich ganz besonders herzlich für die intensive Betreuung während der Auswertung im biomechanischen Prüflabor und für seine Hilfe bei der IT-technischen Analyse meiner Daten.

Des Weiteren gilt mein Dank der Firma CeramTec AG für die professionelle und wissenschaftliche Zusammenarbeit.

Für das Korrekturlesen des Manuskripts bedanke ich mich bei Janis el Bira und für die Durchsicht des englischen Teils bei Stefanie Morris und Sebastian Schreiber.

Nicht zuletzt gebührt meinen Eltern sowie meinen Mitbewohnern und Freunden ein besonderer Dank. Sie haben mich in den arbeitsreichen Monaten der experimentellen Phase und über den langen Zeitraum der Monografie-Niederschrift immer unterstützt und an das Gelingen dieser Arbeit geglaubt.