

Aus der Klinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten  
Abteilung für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde  
der Universität Würzburg  
Leitung: Prof. Dr. rer. nat. Jürgen Groll

**In vitro Testverfahren zur Qualifizierung von Knochenklebstoffen**

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

vorgelegt von

Tobias Renner  
aus Buttenheim  
Würzburg, Oktober 2017

Referent: Prof. Dr. U. Gbureck  
Korreferent: Prof. Dr. Dr. A. C. Kübler  
Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung:

30.04.2018

Der Promovend ist Zahnarzt

## Abkürzungsverzeichnis

BSA	bovines Serumalbumin
CPC	Kalziumphosphatzement
CQ	Campherchinon
IPN	Interpenetrierendes Polymernetzwerk
MgO	Magnesiumoxid/ Magnesia
MPC	Magnesiumphosphatzement
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PEG	Poly(ethylenglykol)
PEGDMA	Poly(ethylenglykol)dimethacrylat
PEO	Poly(ethylenoxid)
pH	negativ-dekadischer Logarithmus der Protonenkonzentration
PMMA	Polymethylmethacrylat
REM	Rasterelektronenmikroskop
SPEG	sternförmiges Molekül NCO-sP(EO- <i>stat</i> -PO)

In Liebe und Dankbarkeit meiner Familie gewidmet.

# Inhaltsverzeichnis

1	Motivation und Problemstellung .....	1
2	Kenntnisstand: Knochenklebungen .....	3
2.1	Das Fügeteil Knochen .....	3
2.1.1	Anatomie des Knochens .....	3
2.1.2	Belastungsanpassung und Knochenstoffwechsel .....	5
2.1.3	Knochenbruchmechanik .....	6
2.1.4	Frakturheilung.....	7
2.2	Eigenschaften von Klebungen .....	8
2.2.1	Aufbau, Kräfte und Bruchverhalten einer Klebung.....	8
2.2.2	Eigenschaften der Klebefuge .....	9
2.2.3	Eigenschaften der Füge-teile.....	9
2.3	Anforderungen an medizinische Adhäsive .....	11
2.4	Vorstellung ausgewählter Knochen- oder Gewe-beadhäsive .....	11
2.4.1	Adhäsive auf Basis von Protein-Polymeren .....	11
2.4.2	Adhäsive auf Basis von Cyanoacrylaten .....	14
2.4.3	Kalzium- und Magnesiumphosphat basierte Zemente .....	16
2.4.4	Adhäsive mit sternförmigen NCO-sP(EO- <i>stat</i> -PO) .....	19
2.5	Werkstoffprüfung von Klebstoffen und Knochenklebstoffen .....	21
3	Material und Methoden .....	25
3.1	Verwendete Klebstoffe.....	25
3.1.1	BioGlue® Surgical Adhesive .....	25
3.1.2	Histoacryl® Gewebekleber.....	26
3.1.3	TruGlue® Single Dose Gewebekleber .....	26
3.1.4	Magnesiumphosphatzement mit Phytinsäure-Komplexbildner.....	26
3.1.5	Lichthärtender Knochenklebstoff basierend auf einem interpenetrierenden Polymernetzwerk .....	27
3.2	Herstellung der Knochen- und Metallprüfkörper.....	28
3.3	Klebevorgang und Lagerung.....	30
3.4	Versuchsaufbauten.....	33
3.4.1	Bestimmung der Scherfestigkeit.....	33
3.4.2	Bestimmung der Zugfestigkeit .....	34
3.5	Untersuchung der Kleberückstände .....	35
3.5.1	Makroskopische Analyse.....	35
3.5.2	Mikroskopische Analyse .....	36
3.5.3	Rasterelektronenmikroskopische Analyse.....	36

3.6	Variation der Klebefugenbreite .....	39
3.7	Deskriptive Statistik .....	40
4	Ergebnisse.....	43
4.1	Prüfung der Zug- und Scherfestigkeit.....	44
4.2	Klebstoffeigenschaften nach dem Spannungs-Dehnungs-Diagramm.....	48
4.3	Variation der Klebefugenbreite .....	49
4.4	Makro- und Mikroskopische Analyse .....	50
4.5	Elektronenmikroskopische Analyse.....	53
4.6	Ergänzende statistische Auswertung .....	56
5	Diskussion .....	58
5.1	Diskussion der Methoden.....	58
5.2	Diskussion der Ergebnisse .....	63
5.3	Konklusion der Diskussion .....	67
6	Zusammenfassung .....	69
7	Literaturverzeichnis .....	71
8	Tabellenverzeichnis .....	79
9	Abbildungsverzeichnis .....	80
9.1	Literaturverzeichnis der Abbildungen .....	82
10	Anhang.....	83

### 1 Motivation und Problemstellung

Nach DIN 923 sind Klebstoffe als nichtmetallische Werkstoffe, welche Fügeteile durch Flächenhaftung und innere Festigkeit verbinden können, definiert. Fügeteile müssen allerdings nicht immer im konventionellem Sinne Werkstoffe wie Holz, Metall oder Kunststoffe sein. Das Kleben wurde aus dem technischen Bereich auf die Medizin übertragen und so kann indes auch menschliches Gewebe als Fügeteil fungieren. Gewebekleber im weiten Sinne sind Klebstoffe zur Fixation adaptierter Hautwundränder als Alternative zum Nähen. Derartige Klebungen wurden bereits im Ägypten des Altertums praktiziert<sup>[1, 2]</sup>. Die sicherlich größere Herausforderung ist jedoch das Kleben von Knochengewebe, was den Einsatz von Schrauben und Platten hinfällig machen oder zumindest in bestimmten Fällen eine einfachere, zeitsparendere oder minimalinvasivere Alternative zum konventionellen Vorgehen darstellen soll. Rostfreier Stahl und Titanlegierungen haben sich auf Grund ihrer mechanischen Stabilität, Biokompatibilität und Korrosionsbeständigkeit in der Chirurgie etabliert<sup>[3]</sup>. Ein diesen Fixationsmöglichkeiten überlegener Knochenklebstoff wird zwar als technisch realisierbar erachtet, hat sich jedoch trotz weitreichender Forschung auf diesem Gebiet noch nicht durchgesetzt<sup>[4]</sup>. Grund hierfür sind mutmaßlich die Fülle an Ansprüchen, die ein Knochenklebstoff im Gegensatz zu einem konventionellen Klebstoff mit sich bringen muss. Ein blutiger Operationsbereich beispielsweise stellt den Klebstoff vor die neuartige Herausforderung, überhaupt in solch einem Milieu auszuhärten. Eine weitere Hürde, ist die Biokompatibilität, neben der sich noch zahlreiche weitere Problematiken im Umgang mit lebendem Gewebe aufreihen. Im Rahmen der Forschungsarbeit werden Ideen von Knochenklebstoffkompositionen zu Beginn einem *in vitro* Prüfverfahren unterzogen, um sie auf ihre Tauglichkeit hinsichtlich mechanischer Parameter zu testen. Dabei sollte es Hauptaugenmerk sein, die Besonderheiten des „Werkstoffes Knochen“ und die besonderen Anforderungen an einen Knochenklebstoff in das Prüfverfahren zu integrieren, um realistische Ergebnisse zu erhalten. Für konventionelle Kleber leistet das Comité 193 „Klebstoffe“ des Comité Européen Normalisation die Normierungsarbeit der Prüfverfahren<sup>[5]</sup>. Für Knochenklebstoffe im Speziellen besteht momentan weder eine nationale, noch eine europäische oder internationale Prüfnorm. Dies führt dazu, dass zwischen verschiedenen Forschungsarbeiten die Prüfverfahren variieren<sup>[6]</sup>, da notgedrungen auf improvisier-

te und labor- oder firmenspezifische Prüfverfahren zurückgegriffen werden muss. Gerade für den Leser einer wissenschaftlichen Arbeit kristallisiert sich dadurch das Potential eines Klebstoffsystems möglicherweise nicht heraus, da sich die Ergebnisse nicht mit anderen Arbeiten vergleichen lassen. Unnötige Forschungsarbeit und Stagnierung im Fortschritt können die Folge sein, wenn es einem Prüfverfahren an der Übertragbarkeit *in vivo* fehlt.

Ziel dieser Arbeit war es daher, mechanische Prüfverfahren für Knochenklebstoffe zu entwickeln, welche sich an den *in vivo* Gegebenheiten orientieren. In Bezug auf diese gilt es, die einzelnen Aspekte, welche gerade bei Knochen einen entscheidenden Einfluss auf die letztendlichen Ergebnisse haben, aufzuarbeiten und zudem darzustellen, welche Punkte der Klebstoffprüfung der Leser einer entsprechenden wissenschaftlichen Arbeit kritisch begutachten sollte. Schließlich sollen diese Prüfverfahren begründete Vorschläge verkörpern, wie man einen Knochenklebstoff testen kann und welche Parameter Gegenstand einer solchen Untersuchung sein könnten. Neben der klassischen Bestimmung der Klebefestigkeit, also einer Abscherbelastung, ist gerade die Beständigkeit gegenüber Zugbelastungen Gegenstand der Untersuchungen.

Im Rahmen der Arbeit wurden drei bereits kommerziell erhältliche Gewebeklebstoffe vorgestellt, welche am Knochen *in vitro* angewendet wurden. Dies sind zum einen Histoacryl® und TruGlue® Gewebekleber, zwei Klebstoffe auf Cyanoacrylatbasis mit Alkylseitenketten von unterschiedlicher Länge, zum anderen Bioglue®, ein Protein-Polymer aus Albumin und Glutaraldehyd. Neben diesen werden zwei neuartige Klebstoffsysteme präsentiert, welche unkonventionelle Ansätze verfolgen. Dies sind einerseits ein Magnesiumphosphat-Zementsystem, welches mit Hilfe organischer Phytinsäure über Chelatkomplex-Bildung aushärtet, andererseits ein Knochenklebstoff, welcher unter Bildung eines interpenetrierenden Polymernetzwerkes aus lighthärtendem Poly(ethylenglykol)dimethacrylat und den sternförmigen Polymeren NCO-sP(EO-*stat*-PO), welche über Isocyanate modifiziert wurden, aushärtet. Das Polymernetzwerk war mit biologisch abbaubaren keramischen Partikeln modifiziert. Neben einer Gegenüberstellung dieser fünf Systeme in Abscher- und Zugbelastung von Klebungen zwischen Knochenfügeteilen sowie Knochen und Metall, werden insbesondere die Vorzüge der beiden neuartigen Klebstoffsysteme diskutiert und ihr Potential herausgearbeitet.



## 2 Kenntnisstand: Knochenklebungen

### 2.1 Das Fügeteil Knochen

#### 2.1.1 Anatomie des Knochens

Knochengewebe, welches zusammen mit Zahndentin und -schmelz das härteste Gewebe im Körper darstellt, zeichnet sich durch eine hohe Druck-, Zug-, sowie Torsionsfestigkeit aus <sup>[7]</sup>, wobei das Verhältnis der Zug- zur Druckfestigkeit dabei 2:3 beträgt. Bei Torsionsbelastungen nutzt der Körper daher das Prinzip der muskulären oder ligamentären Zuggurtung, um die Komponente der Zugspannung zu reduzieren. Ein Beispiel hierfür ist der Tractus iliotibialis an der Außenseite des Femurs. <sup>[8]</sup>

Knochengewebe besteht zu 65 % aus anorganischer und zu 35% aus organischer Matrix. Die anorganische Komponente der Knochengrundsubstanz stellt das Hydroxylapatit dar. Zur organischen Komponente gehören Proteoglykane mit adhäsiven Glykoproteinen, sowie Kollagen Typ I. <sup>[7]</sup> In diesem Bauprinzip verleihen die Mineralkristalle dem Knochen seine Druckfestigkeit, die Kollagenfibrillen ihm seine Zugfestigkeit. Diese Verbundstruktur ist zudem auch biegefest. <sup>[9]</sup>

Im Knochengewebe lässt sich kompakter von spongiösem Knochen unterscheiden. Die marginale Kompakta weist eine homogene Struktur auf. Die Spongiosa ist ein Trabekelnetzwerk, in dessen Zwischenräumen sich das Knochenmark befindet. An einem langen, sogenannten Röhrenknochen, teilt man außerdem zwischen Schaft (Diaphyse) und Endstück (Epiphyse) ein. Im wachsenden Knochen sind diese durch die Metaphyse getrennt. <sup>[9]</sup> Der ganze Knochen ist von einem Periost, der Beinhaut, umgeben. Insertionsstellen von Sehnen oder Gelenkflächen sind dabei ausgespart. Es besteht aus einer Regenerationsschicht, dem Stratum osteogenicum, und dem darüberliegenden bindegewebigen Stratum fibrosum. Dieses besteht aus Kollagenfasern, sogenannte Sharpey-Fasern, welche zentripetal bis in die Kompakta verlaufen und so das Periost dort fixieren. Das Periost ist generell gut vaskularisiert und stark innerviert. Es ist somit verantwortlich für die Schmerzempfindlichkeit des Knochens. Den Knochen trabekeln der Spongiosa liegt das Endost auf. Der Knochen wird von den Vasa nutritia versorgt. Diese durchtreten die Kompakta an den Foramina nutritia und sind essentiell für die Remodeling-Vorgänge. <sup>[10]</sup>

Histologisch nennt sich eine Baueinheit der Kompakta Osteon. Dies ist ein sogenanntes Havers-System, in dessen Mitte sich der Havers-Kanal befindet. Er enthält eine Kapillare, sowie Bindegewebszellen und -fasern, zudem partiell postkapilläre Venolen oder Nervenfasern. Querverbindende Anastomosen der Havers-Kanäle nennt man Volkmann-Kanäle. Ein Havers-Kanal ist ebenfalls mit Endost ausgekleidet. Um den Kanal herum „stapeln“ sich konzentrisch 5-20 Knochenlamellen. Um eine kompakte Knochenmasse zu erreichen, befinden sich zwischen den zylinderförmigen Osteon-Baueinheiten Schaltlamellen. Dies sind Überbleibsel alter Osteone, die nach Knochen-Remodeling Vorgängen hinterblieben sind. [9]

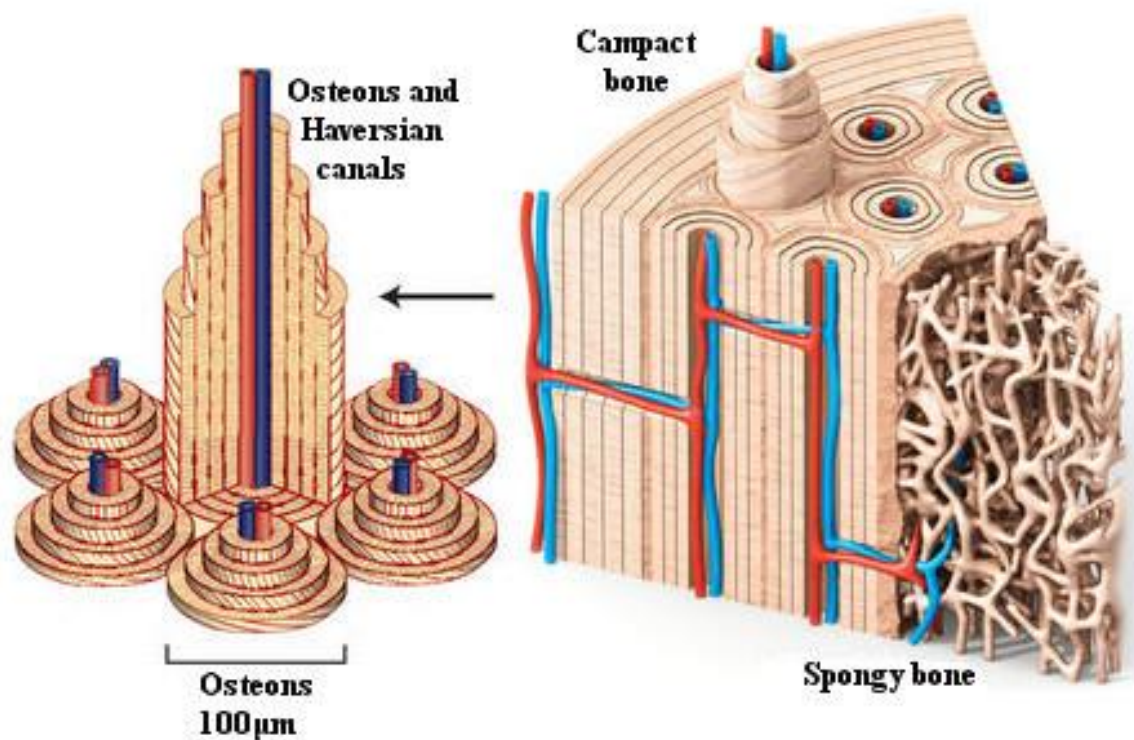


Abbildung 1 [11]: Schematischer Schnitt durch die Substantia compacta des Knochens; Ausschnittsvergrößerung: Aufbau eines Osteons.

Die bislang beschriebenen Gegebenheiten beziehen sich auf ausgewachsenen Lamellenknochen. Von ihm unterscheidet man Geflechtknochen, bei dem die Kollagenfibrillen in Bündeln vorliegen. Geflechtknochen kann sehr schnell gebildet werden und tritt zunächst in der Knochenentwicklung oder bei einer Frakturheilung auf. Er wird anschließend sukzessive in hochwertigeren Lamellenknochen umgebaut. [9]

Auf zellulär-histologischer Ebene beschreibt Lüllmann-Rauch (2009, S. 144ff)<sup>[9]</sup> die

anatomischen Gegebenheiten wie folgt: Man unterscheidet zellulär Osteozyten, Osteoblasten und Osteoklasten. Zwischen Lamellen liegen linsenförmige Lakunen, in denen die Zellleiber der Osteozyten zu liegen kommen. Knochenkanälchen, welche die Ausläufer der Osteozyten beherbergen, verlaufen entweder senkrecht durch die Lakunen oder parallel dazu. Das so entstandene Netz durchzieht die gesamte mineralisierte Matrix. Jedoch verbleibt um jeden Osteozyten eine dünne Zone, welche nur Kollagenfibrillen und interstitielle Flüssigkeit enthält und somit nicht mineralisiert ist. Einzelne Osteozyten verbinden sich untereinander über Gap Junctions. Osteoblasten sind „Knochenbildner“ und steuern die Synthese von Kollagen, sowie die Mineralisation. Zudem kontrollieren sie die Osteoklastenaktivität und damit den Knochenabbau. Sie bilden eine einschichtige Lage auf einer freien Knochenoberfläche, sei es im Inneren des Knochens oder an der äußeren Grenze des Knochens. Sie sind von noch nicht mineralisierter Matrix umgeben, dem Osteoid. Würde einer solchen Oberflächenschicht eine neue Osteoblastenschicht aufgelagert werden, so würde das Osteoid mineralisieren und die Osteoblasten sich zu Osteozyten differenzieren. Osteoklasten sind mehrkernige Zellen. An Trabekeloberflächen „fressen“ sie sogenannte Howship-Lakunen in die Oberfläche, in der Kompakta Bohrkanäle, welche die späteren Harvers-Kanäle darstellen. Solche Resorptionsstellen in Kompakta oder Spongiosa werden im Rahmen des Knochen-Remodeling anschließend wieder aufgefüllt. <sup>[9]</sup>

### 2.1.2 Belastungsanpassung und Knochenstoffwechsel

Die Osteone des Knochens verlaufen entlang der Richtung des Schaftes, was der Kortikalis ein orthotropes Verhalten verleiht. So sind beispielsweise an einer Tibia orthogonal zur Schafrichtung gemessene Festigkeitswerte wesentlich geringer als solche, die mit der Achse gemessen werden. Zugfestigkeitswerte erreichen dort 80-150MPa und sind damit deutlich geringer als Druckfestigkeitswerte, welche 131-206MPa betragen. Der E-Modul einer Kortikalis misst 17000-27400MPa. <sup>[12]</sup>

Knochengewebe zeigt durch Remodeling-Prozesse ein Anpassungsvermögen und kann je nach Belastung oder Nicht-Belastung entsprechend auf- oder abgebaut werden<sup>[12]</sup>. So atrophiert zum Beispiel zahnloser Alveolarkamm eines Kiefers. Zudem bedingt die Druckbelastung einer Totalprothese eine Atrophie, weswegen ein Zahnarzt bei der Gestaltung der Prothese auf eine flächige Belastung achten sollte. <sup>[13]</sup> RANKL (receptor

activator of Nuclear Factor- $\kappa$ B – Ligand) ist ein Protein, welches sich an der Membran von Osteoblasten befindet. Es bindet an den Rezeptor RANK der Osteoklasten und sorgt für deren Differenzierung, unterdrückt deren Apoptose und veranlasst deren Fusion zu einer mehrkernigen Zelle. Parathormon, Calcitriol oder Sexualhormone sind Beispiele für Hormone, welche in den Knochenstoffwechsel durch eine Beeinflussung der RANKL/RANK-Interaktion eingreifen.<sup>[9]</sup> So sorgt Calcitonin aus den C-Zellen der Schilddrüse für einen Kalziumphosphateinbau in den Knochen, wohingegen Parathormon aus der Nebenschilddrüse umgekehrt Kalziumphosphat aus dem Knochen freisetzt. Somit wird durch Calcitonin die Plasma-Kalziumkonzentration erniedrigt, durch Parathormon wird sie erhöht. Parathormon regt zudem eine Kalcitriol-Freisetzung an. Dieses sogenannte Vitamin-D-Hormon, auch 1,25-Dihydroxycholecalciferol, veranlasst auf lange Sicht wiederum eine Inkorporation von Kalziumphosphat in den Knochen. Östrogenen wird eine anabole Wirkung am Knochen über Osteoblastenstimulation zugeschrieben.<sup>[14]</sup> Knochenstoffwechselstörungen können wie bei der Osteomalazie durch eine Mangelernährung oder auch einen Lichtmangel, und damit einem Mangel an Kalzitriol, entstehen. Bei einer Osteoporose kann die Stoffwechselstörung postmenopausal hormonell, oder beispielsweise auch durch chronische Glukokortikoidmedikation bedingt sein. Therapieansätze können dabei Vitamin D, Bisphosphonatgabe, oder aber auch die Medikation von Denosumab, einem monoklonalen Antikörper gegen RANKL, sein.<sup>[15]</sup>

### 2.1.3 Knochenbruchmechanik

Es werden direkte Knochenbrüche, welche am Ort der Gewalteinwirkung entstehen, von indirekten Knochenbrüchen, die in ihrer Lokalisation vom Ort der Gewalteinwirkung abweichen, unterschieden. Biegungs-, Stauchungs-, Abscher-, Abriss- oder Torsionsbrüche sind typische Bruchvarianten für indirekte Knochenbrüche. Biegungsbrüche können dabei auch direkt auftreten. Bei Kindern kann es zu einer sogenannten Grünholzfraktur kommen. Das besonders dicke Periost hält dabei eine Dislokation bei einem geringen Ausmaß.<sup>[16]</sup>

Kommt es zu einer Dislokation, so sind typische Formen der Verschiebung die *Dislocatio ad latus* (Seitverschiebung), die *Dislocatio ad axim* (Abknicken im Verlauf der Knochenachse) und die *Dislocatio ad peripheram* (Dislokation durch Rotation eines

Bruchfragments). Außerdem unterscheidet man eine Dislokation, bei der es zur Verkürzung des Knochens kommt, von derjenigen mit folglich Verlängerung des Knochens (*Dislocatio ad longitudinem cum contractione/ distractione*).<sup>[17]</sup>

Bei der klinischen Diagnostik einer Fraktur unterscheidet man sichere von unsicheren Frakturzeichen. Zu den sicheren Zeichen gehören die Deformierung des Knochens, eine regelwidrige Mobilität und Krepitationsgeräusche. Unsichere Frakturzeichen, welche regelmäßig als Begleiterscheinung von Frakturen auftreten, diese jedoch nicht beweisen, sind Hämatome, Schwellungen, Druck- und Stauchungsschmerzen oder Funktionseinschränkungen.<sup>[18]</sup>

### 2.1.4 Frakturheilung

Grundvoraussetzungen für eine erfolgreiche Frakturheilung sind das exakte Reponieren der Fragmente und eine ausreichende Fraktursicherung. Man grenzt eine primäre von einer sekundären Knochenheilung ab. Bei letzterer kommt es in der anfänglichen Entzündungsphase zur Einblutung am Frakturspalt. Ein daraus hervorgegangenes undichtes Bindegewebe, das in dieser Granulationsphase reich an Gefäßen ist, verknorpelt anschließend mit Hilfe von End- und Periost. Der Begriff der Kallushärtung beschreibt die darauffolgende Mineralisation des Kallus innerhalb von 6-9 Wochen. Es entsteht zunächst ein Geflechtknochen, welcher im Verlauf von mehreren Monaten in Lamellenknochen umgebaut wird. Das Ziel einer operativen Osteosynthese ist jedoch das Erreichen einer primären Frakturheilung, bei der die Kallusbildung ausbleibt und Osteone optimalerweise direkt von einem in das andere Frakturende einwachsen.<sup>[17]</sup>

Bei einer konservativen Frakturbehandlung steht zu Beginn das Reponieren im Vordergrund. Dies kann manuell oder mit Hilfe eines Streckverbandes erfolgen. Anschließend kommt zumeist ein Gipsverband zum Einsatz.<sup>[19]</sup> Chirurgische Osteosyntheseverfahren unterteilt Schumpelick (2010, S 615ff.)<sup>[19]</sup> in intramedulläre Verfahren, wie den Marknagel und extramedulläre Verfahren. Zu letzteren gehören die Fixateure interne und externe, die Platten-, Draht- und die Schraubenosteosynthese. Die Anwendung eines Knochenzements findet nur in Form einer Defektauffüllung in Kombination mit einem metallischen Osteosyntheseverfahren Erwähnung.<sup>[19]</sup> Eine reine Klebung von zwei Fragmenten führt er nicht an.

## 2.2 Eigenschaften von Klebungen

### 2.2.1 Aufbau, Kräfte und Bruchverhalten einer Klebung

Allgemein besteht eine Klebung aus einer Klebefuge, welche von zwei Fügeteilen flankiert wird. Zwischen den Fügeteilen und der Klebefuge befinden sich jeweils Grenzschichten. Die Klebefestigkeit  $\tau$  bezieht sich dabei auf die Gesamtheit der Klebung, obwohl in diesem Verbund die schwächste Schicht maßgeblich für das Versagen des ganzen Systems ist.<sup>[5]</sup> Die Bindekräfte, welche die Klebefestigkeit auszeichnen, sind chemische Phänomene oder die rein mechanische Verankerung. Chemisch sind kovalente Bindungen, sowie elektrostatische Ionenbindungen zu nennen. Daneben spielen van-der-Waalsche Kräfte, Dipol-, Induktions- und Dispersionskräfte, sowie Wasserstoffbrückenbindungen oder Adhäsionskräfte eine Rolle. Das Klebeereignis entsteht dabei wahrscheinlich aus einem Verbund genannter Phänomene.<sup>[20, 21]</sup>

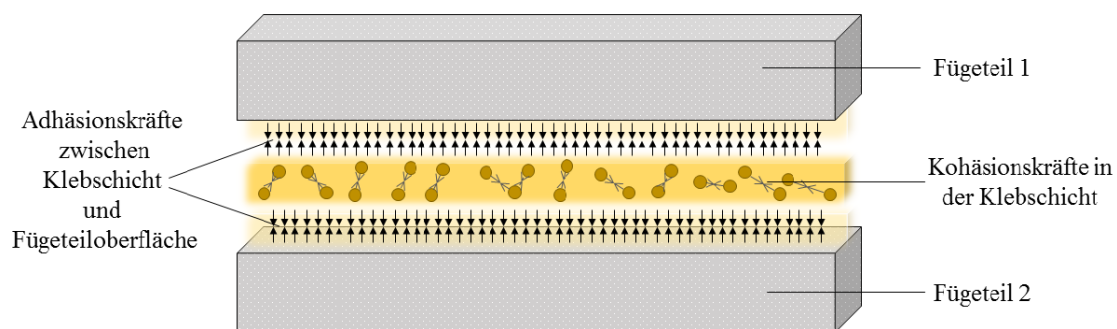


Abbildung 2<sup>[22]</sup>: Adhäsions- und Kohäsionskräfte in einer Klebung.

Das Versagen dieser Bindekräfte und damit das Bruchverhalten einer Klebung beschreibt DIN EN ISO 10365. Man unterscheidet grundlegend einen Adhäsionsbruch, welcher exakt an der Grenze zwischen Klebeschicht und Fügeteil stattfindet, von einem Kohäsionsbruch, der als Bruch innerhalb der Klebeschicht definiert ist. Zudem existieren Modifikationen dieser Grundverhalten und Mischformen aus beiden Bruchvariantionen. Es ist zu betonen, dass die Existenz eines reinen Adhäsionsbruches umstritten ist. Vielmehr soll ein Adhäsionsbruch einen Kohäsionsbruch innerhalb der Grenzschicht zwischen Klebeschicht und Fügeteil darstellen<sup>[23]</sup>. Demungeachtet kann das Bruchverhalten zusätzlich als eher spröde oder zäh beschrieben werden<sup>[5]</sup>. Genereller Grund für einen Bruch können dabei Mikrorisse oder Strukturfehler sein, welche lokale Span-

nungsabfälle und Rissausbreitungen induzieren<sup>[24]</sup>. Daneben muss die Klebstoffalterung Erwähnung finden, denn eine Wasseraufnahme, welche mit zunehmendem Klebstoffalter erfolgen kann, kann zur Destabilisierung führen<sup>[25]</sup>.

### 2.2.2 Eigenschaften der Klebefuge

Der Klebstoff selbst enthält neben dem Grundstoff zumeist weitere Zusätze. Beispiele hierfür sind Härter, Vernetzer, Katalysatoren, Weichmacher, Harze, Füllstoffe, Stabilisatoren, Löse- und Dispersionsmittel, Verdüner, Haftvermittler oder Primer. In diesem Stoffgemisch weisen gerade energiereichere Moleküle im Randbereich eine zentripetal gerichtete Kraft auf. Dieses Zielen auf eine energetisch günstige, möglichst kleine Oberfläche, lässt eine Oberflächenspannung entstehen. <sup>[5]</sup>

Hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften dieses Stoffverbundes ist neben den in Kapitel 2.5 beschriebenen Parametern das Phänomen des Kriechens zu nennen, welches vor allem bei viskoelastischen Klebstoffen auftritt. Diese zeitlich versetzte reversible Verformung geht bei Überschreiten der Dehngrenze des Werkstoffes in eine irreversible Verformung, dem Fließen, über. Das Kriechen, das gerade bei Polymeren auftritt, ist dabei von der Stärke und Geschwindigkeit der Belastung, sowie der Temperatur, abhängig. Es lässt sich durch ein Auflösen von schwachen Bindungen, bei partiell gleichzeitigem Knüpfen neuer Bindungen erklären. <sup>[26]</sup> Man kann dabei ein primäres Kriechen ohne plastische Verformung, von einem sekundären Kriechen, bei dem eine Art Homöostase zwischen Lösen alter und Knüpfen neuer Bindungen herrscht, und einem tertiären Kriechen unterscheiden, bei welchem der Bruch der Klebung initiiert wird. <sup>[27]</sup> Bei den beschreibenden Eigenschaften einer Klebeschicht hinsichtlich ihrer Gestalt, müssen Fehler in ihrem Gefüge in Betracht gezogen werden. Dabei ist von besonderer Bedeutung, dass viele Klebeschichten eine gewisse Porosität aufweisen. Zudem kann in den wenigsten Fällen von einer einheitlichen Schichtdicke ausgegangen werden. <sup>[28]</sup> Zuletzt sind Risse oder Bereiche unvollständiger Klebstoffhärtung sind zu nennen <sup>[29]</sup>.

### 2.2.3 Eigenschaften der Fügeiteile

Nicht nur das Material des Fügeiteils, sondern vor allem seine Oberfläche nimmt besonderen Einfluss auf die Klebung<sup>[30, 31]</sup>. Von der geometrischen Oberfläche, deren Größe sich aus den Abmessungen des Fügeiteils ergibt, unterscheidet sich die wahre Oberflä-

che, welche durch Rauheit vergrößert wird. Von diesen abzugrenzen ist der Begriff der wirksamen Oberfläche, welche als der Teil der wahren Oberfläche definiert ist, der tatsächlich vom Klebstoff benetzt wird. <sup>[5]</sup>

Die wahre Oberfläche wird also maßgeblich von Benetzung und Oberflächenspannung beeinflusst, weswegen kein direkter Zusammenhang zwischen technischer Oberflächenrauheit und Haftfestigkeit besteht<sup>[32]</sup>. Eine definierte Oberflächenrauheit sollte zudem immer in Korrelation mit einer entsprechend optimalen Klebschichtdicke stehen. Bei zu dünnen Klebschichtdicken kann es dazu kommen, dass sich Spitzen des rauen Oberflächenreliefs zwischen zwei Fügeteilen berühren (vgl. Abbildung 3), und es somit zu Beeinträchtigungen im Kraftlinienverlauf kommt. <sup>[33]</sup> Orientierend sollte die Fuge mindestens der maximalen Rauigkeitstiefe gleichkommen<sup>[5]</sup>.

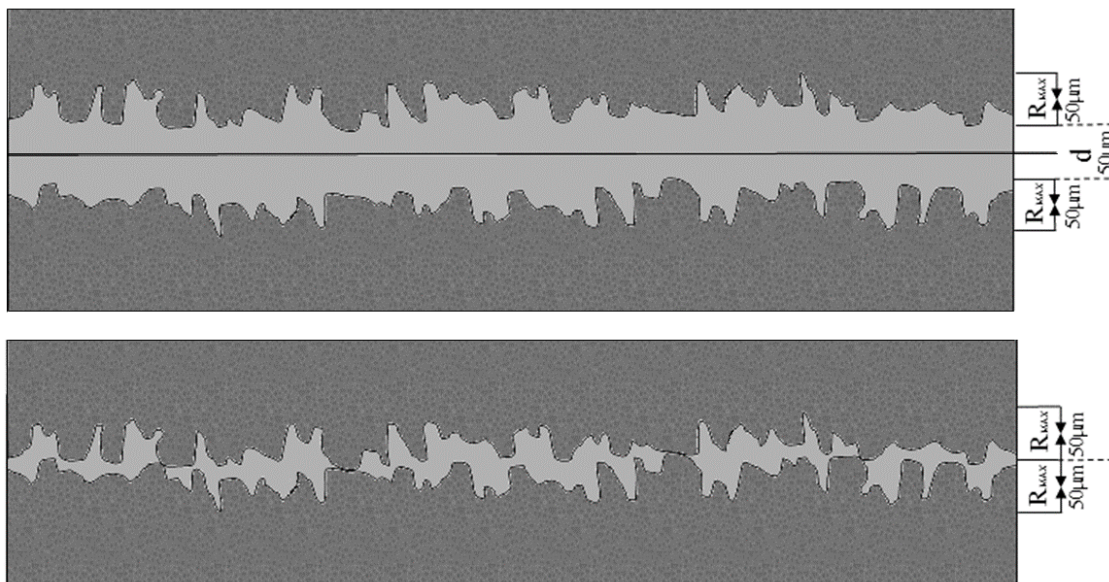


Abbildung 3 <sup>[5]</sup>: Zusammenhang zwischen Klebschichtdicke und Oberflächenrauheit.

Die Oberflächenrauheit beeinflusst zudem maßgebend die Benetzbarkeit der jeweiligen Oberfläche. Die Oberflächenspannung, welche ein Klebstoff besitzt, muss für eine optimale Benetzung der Oberfläche unter der kritischen Oberflächenspannung liegen. Letztere ist eine Kenngröße nach Zismann (1964)<sup>[34]</sup>, welche experimentell bestimmbar ist<sup>[35]</sup> und die Oberflächenkonditionen der Fügeteile mit einbezieht. <sup>[34]</sup>



### 2.3 Anforderungen an medizinische Adhäsive

Die Anforderungen an ein Gewebeadhäsiv gleichen als medizinisches Adhäsiv sehr denen der Knochenklebstoffe. Als Eigenschaften, welche Bedingungen eines solchen Adhäsives sein sollten, sind die Biokompatibilität und biologische Abbaubarkeit bei geringer Gewebsschädigung zu nennen. Bei der Herstellung ist daher darauf zu achten, dass die Monomere in maximal 10 min polymerisieren<sup>[6]</sup>. Zudem sind Initiatoren zu verwenden, welche biokompatibel sind.<sup>[36, 37]</sup> Weiterhin sind eine gute Oberflächenbenetzbarkeit und eine gute Verarbeitbarkeit Voraussetzung. Der Klebstoff sollte auch in wässrigem Milieu anwendbar sein und dabei eine ausreichende Verarbeitungszeit aufweisen.<sup>[37]</sup> Während das Adhäsiv biologisch abgebaut wird, sollte die Knochenheilung parallel im gleichen Ausmaß verlaufen. Chronologisch noch vor der intraoperativen Anwendung, sollten die Sterilisierbarkeit und eine ausreichende Lagerungsfähigkeit Grundvoraussetzungen sein.<sup>[38]</sup> Gerade bei Gewebeadhäsiven ist die Fähigkeit, eine Hämostase zu erzielen, sowie das Induzieren einer Gewebsheilung wünschenswert<sup>[39]</sup>. Ebenso sollte der Klebstoff kosteneffizient sein<sup>[6]</sup>, sowie die Möglichkeit Medikamente zu inkorporieren, welche Infektionen verhindern oder die Knochenheilung begünstigen, wäre wünschenswert. Vorteilhaft wäre eine zusätzliche Klebefähigkeit an chirurgischen Legierungen. Zu nennen sind hier beispielsweise rostfreier Stahl oder Titanlegierungen. Essentielle Grundbedingung ist eine ausreichende Festigkeit<sup>[39]</sup>, um eintretenden Schubspannungen zu widerstehen. Nach der Einschätzung von Weber und Chapman (1984, S. 256)<sup>[40]</sup>, sollte bei Knochenadhäsiven mindestens eine Klebefestigkeit von 0,2 MPa gegeben sein. Geringere Werte wären klinisch unverträglich.<sup>[40]</sup>

### 2.4 Vorstellung ausgewählter Knochen- oder Gewebeadhäsive

#### 2.4.1 Adhäsive auf Basis von Protein-Polymeren

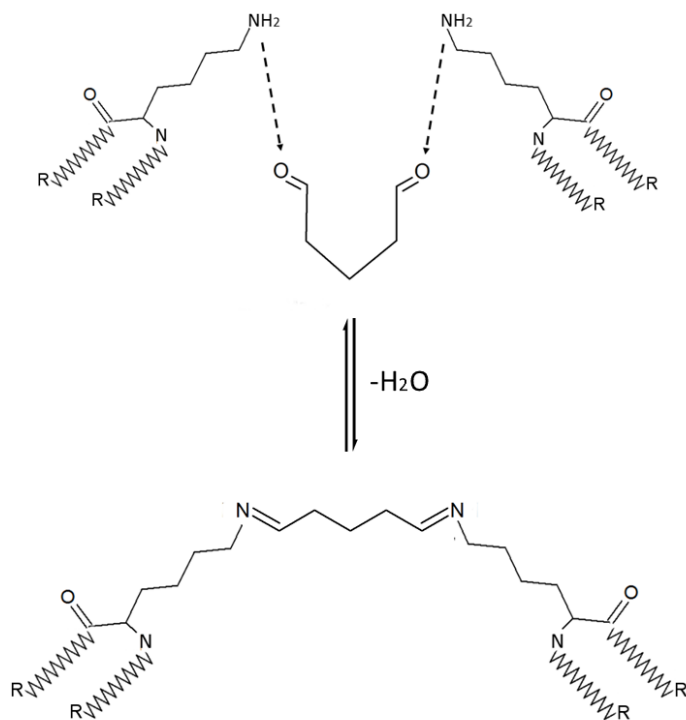
Chemisch besteht diese Art von Polymer aus einer Matrix, welche ein Protein, ein Peptid oder ein synthetisches Polymer sein kann, und einem Stoff, welcher Quervernetzungen induzieren kann. Bei dieser Quervernetzungsreaktion spielen funktionelle Gruppen, nämlich Aldehyde, Anhydride, Succinimide, Thiole oder Amine, eine wichtige Rolle. Genauer kommt es zum nukleophilen Angriff von Aminen oder Thiolen an Succinimiden oder Aldehyden.<sup>[41]</sup> Kommerziell sind bereits verschiedene Variationen dieser Matrix/Quervernetzungsagens-Kombination erhältlich.

Ein Protein, welches Gegenstand der Forschung in Bezug auf Gewebeadhäsive war, ist Fibrin. Fibrinkleber sind weit verbreitet und sie finden Anwendung in vielen chirurgischen Bereichen.<sup>[41]</sup> Dieses Protein, als Bestandteil der Gerinnungskaskade, zeigte im Tierversuch Effekte auf die Wundheilung.<sup>[42]</sup> Verwendete Fibrinklebstoffe bestehen zum einen aus Fibrinogen, Faktor XIII, Fibronectin und einem Fibrinolyse-Inhibitor, zum anderen aus Thrombin und Kalziumchlorid<sup>[43]</sup>. Prinzipiell finden beim Abbindevorgang die abschließenden Schritte der Gerinnungskaskade statt: Thrombin spaltet Fibrinogen in einzelne Fibrin-Monomere, welche ein Netzwerk aus Fibrillen formen. Zudem spaltet Thrombin Faktor XIII, welcher wiederum in der Anwesenheit von Kalzium in seine aktivierte Form Faktor XIIIa gespalten wird und unterstützend die Fibrin-Monomere kovalent verbindet.<sup>[44]</sup> Dieses Adhäsivsystem kann anschließend Verbindungen zu Zellrezeptoren, Kollagen oder Integrinen aufweisen.<sup>[44]</sup> Tranexaminsäure, Protamin oder  $\epsilon$ -Aminocaprinsäure können als Zusätze eine schwächende Fibrinolyse durch Plasmin verzögern<sup>[45]</sup>.

Bonchek und Braunwald (1967)<sup>[46]</sup> beschrieben erstmals ein chirurgisches Adhäsivsystem auf Basis von Gelatine und Resorcinol. Die Zugabe von Formaldehyd induziert die in einer Kondensationsreaktion ablaufende Quervernetzung dieses sogenannten GRF-Systems.<sup>[46, 47]</sup> Formaldehyd nimmt im System einen Anteil von bis zu über einem Drittel ein, was als Grund für unbefriedigende Ergebnisse erachtet wird<sup>[48]</sup>. Imoto (2011)<sup>[49]</sup> propagierte einen möglichst schnellen Stopp der Verwendung von GRF-Klebstoff, da er ihn auf Grund des hohen Formaldehydgehaltes als gewebsschädigend bewertet<sup>[49]</sup>.

Geringere Aldehydkonzentrationen beinhaltet hingegen BioGlue®, ein zwei-Komponenten Adhäsiv, das aus 45% bovinem Serumalbumin (BSA) und 10% Glutaraldehyd besteht<sup>[48]</sup>. Albumin ist ein körpereigenes Protein, welches mit über 60% den größten Anteil an der Gesamtheit der Serumproteine stellt. Durch dieses immense Aufkommen, leistet es den größten Beitrag zum kolloidosmotischen Druck und kann zur rechnerischen Bestimmung des Plasmavolumens verwendet werden. Weitere Aufgaben im Körper sind Puffer- und Transportfunktionen.<sup>[50]</sup> Daneben ist zu nennen, dass vor allem Albumin die Kapazität für Antioxidantien stellt, es Liganden metabolisch modifizieren, oder dass es mögliche Toxine entgiften kann. Albumin dient in der Labormedizin zudem als Biomarker für eine Vielzahl an Erkrankungen.<sup>[51]</sup>

Glutaraldehyd ist vor allem bekannt für seinen Einsatz in der Ledergerberei, die Verwendung bei Desinfektion und Sterilisation, oder seine Benutzung zur Fixierung von Geweben bei der Elektronenmikroskopie<sup>[52]</sup>. Es ist jedoch zu betonen, dass die Abgabe von Glutaraldehyd aus Gewebeadhäsiven zu Entzündungen, Ödemen und Nekrosen führen kann<sup>[53]</sup>. So gibt auch Fürst (2005)<sup>[53]</sup> bei Verwendung von BioGlue® zu Bedenken, was bereits bei GFR-Systemen ein Problem darstellt: Wegen der Freigabe von Glutaraldehyd nach Polymerisation an die Umgebung, könne es dort auf Grund dessen Zytotoxizität zu Entzündungen, Ödemen und Nekrosen führen.<sup>[53]</sup> Albumin enthält, so wie auch Zellmembranproteine oder Extrazellulärmatrix, Lysin. Die Besonderheit dieser Aminosäure liegt in der zusätzlichen Aminogruppe in der Seitenkette, mit welcher die zwei Aldehydgruppen von Glutaraldehyd reagieren können, wodurch kovalente Bindungen entstehen.<sup>[48]</sup> Durch diesen Mechanismus vernetzt BioGlue® sowohl innerhalb sich selbst, als auch mit der Geweboberfläche quer<sup>[41]</sup> (siehe Abbildung 4)<sup>[48]</sup>.



R= Albumin / Zelloberfläche / Extrazelläre Matrix

Abbildung 4: Bildung der kovalenten Bindung zwischen Lysinseitenketten und Glutaraldehyd.

BioGlue® wird nach der Verwendung im Körper hydrolytisch abgebaut, was zumeist in einem Aufquellen in wässrigem Milieu resultiert<sup>[41]</sup>.

Neben Fibrin, GFR und Adlehyd-Systemen sind weitere Adhäsive biologischen Ursprungs derzeit Gegenstand der Forschung. Muschel-Adhäsivproteine und biomimetrische Polymere, der „Sandcastle Glue“ des Wurms *Phragmatopoma Californica* oder der „Frog Glue“ des Australischen Frosches *Notaden Bennetti* sind Beispiele, welche im aktuellen Fokus von Forschungsarbeiten stehen. <sup>[6]</sup>

### 2.4.2 Adhäsive auf Basis von Cyanoacrylaten

Quinn zitiert nach Coover (1959, S. 5-6)<sup>[54]</sup>, dass die erstmalige Synthese eines Adhäsives auf Cyanoacrylat-Basis 1949 gelang<sup>[41]</sup>. Mittlerweile finden sie Anwendung in den meisten chirurgischen Fachbereichen<sup>[55]</sup>. Er lobt die herausragende Zugfestigkeit<sup>[41]</sup> und auch Bishara et al. (2002)<sup>[56]</sup> nennen Klebefestigkeiten eines bis zu 90% aus Ethylcyanoacrylat bestehenden Adhäsivs von  $7,1 \pm 3,3$  MPa<sup>[56]</sup>. Die Poly(alkyl-2-cyanoacrylat) Polymere reagieren mit Hydroxylgruppen bereits bei Dasein von kleinen Mengen an Feuchtigkeit, was in einer exothermen Reaktion mündet. Die extrem elektronegativen Cyano- und Alkylgruppen polarisieren dabei die Kohlenstoffatome der Ethylengruppe, welche bei Vorhandensein einer schwachen Base, wie eben Wasser, zur Polymerisation veranlasst werden. <sup>[41]</sup> Quinn (2005)<sup>[41]</sup> schildert Synthese, Polymerisationsreaktion und Abbau dieser Gewebekleber wie folgt: Die Synthese der Alkyl-2-Cyanoacrylat Monomere gelingt mittels Kondensationsreaktion der Reaktionspartner Formaldehyd und Cyanoacrylat, wobei die Anwesenheit eines basischen Katalysators, so zum Beispiel Piperidin, von Nöten ist. In einer Polymerisationsreaktion entsteht Poly(alkyl-2-cyanoacrylat). Durch Erhitzen und unter Verwendung eines Polymerisations-Inhibitors wird bei Vakuum das vorab gewonnene Polymer gebrochen und in mehreren Schritten der Aufreinigung das flüssige adhäsive Cyanoacrylat-Monomer, nämlich Alkyl-2-cyanoacrylat, abdestilliert. Es wird abschließend durch einen Stabilisator freier Radikale, beispielsweise Hydrochinon, stabilisiert. <sup>[41]</sup>

Bei Anwendung der Gewebekleber kommen die Monomere mit Hydroxylgruppen, beispielsweise durch eine leicht feuchte Oberfläche oder Luftfeuchtigkeit, in Kontakt. Sie veranlassen die Ethylengruppen zur Polymerisation, da diese durch die ausgeprägt elektronegativen Nitril(-C≡N)- und Alkoxy-carbonylgruppen(-COOR), bereits polarisiert sind. <sup>[41]</sup>

Die generelle Strukturformel eines Cyanoacrylates zeigt Abbildung 5. Als Alkylrest des Monomers sind Methyl-, Ethyl-, Butyl-, Isobutyl- oder Octylgruppen üblich.

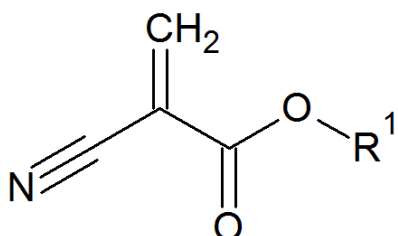


Abbildung 5: Strukturformel von Cyanoacrylat ( $R^1$ : Alkylrest).

Zusammenhänge zwischen der Länge der Alkyl-Seitenkette, der Polymerisation, der entstehenden Matrix, sowie dem Abbau illustriert Tabelle 1. Die geringere Anfälligkeit für eine Hydrolyse der Matrix und die damit verbundene geringere Freisetzung der toxischen Abbauprodukte Formaldehyd und Alkylcyanoacetat erklärt liegt an der gewonnenen Hydrophobizität mit wachsender Kohlenstoffkette. Auf Grund der umschriebenen Gegebenheiten werden klinisch Alkylketten mit zumindest vier Kohlenstoffatomen für optimal befunden. <sup>[41]</sup>

Tabelle 1: Einfluss der Länge der Alkylseitenkette von Alkyl-2-Cyanoacrylat.

	Länge der Alkylseitenkette	
	kurz	lang
Polymerisationsdauer	schnell	langsam
Beschaffenheit der Polymermatrix	starr	flexibel
Dauer der hydrolytischen Degradation	schnell	langsam

Cyanoacrylat-basierenden Gewebeklebern wird zwar ein antimikrobieller Effekt zugeschrieben<sup>[57]</sup>, jedoch impliziert dies auch eine gewisse Histotoxizität. Gerade Methyl-2-Cyanoacrylat zeigt einen deutlich nekrotisierenden und pyogenen Charakter. Homologe mit höherem Molekulargewicht induzieren jedoch deutlich mildere Antworten. <sup>[58]</sup> Beim Abbau der Polymermatrix entstehen die Abspaltprodukte Formaldehyd und Alkylcyanoacetat, denen ein zyto- und histotoxischer Effekt zugeschrieben wird<sup>[41]</sup>. Sie können von der Haut absorbiert werden<sup>[59]</sup>. Cyanoacrylate polymerisieren zudem in

einer exothermen Reaktion, weswegen auf Grund der dabei entstehenden Hitze Bedenken getragen werden <sup>[41]</sup>.

Bei der Verarbeitung sollte die Umgebungsluft eine Luftfeuchtigkeit von 40-70 % aufweisen, denn der Wassergehalt der Umgebungsluft induziert die Polyadditionsreaktion. Da das Wasser jedoch nur bis zu einem gewissen Grad an den Fügeiteiloberflächen adsorbiert, sollte darauf geachtet werden, dass eine geringere Klebeschichtdicke als 0,2 mm verklebt wird. Die Verarbeitungszeit von Cyanoacrylatklebstoffen liegt im Sekundenbereich, weswegen sich im Volksmund der Begriff „Sekundenkleber“ eingebürgert hat. <sup>[22]</sup>

Histoacryl®, sowie TruGlue® sind Beispiele für kommerziell erhältliche Gewebekleber auf Cyanoacrylat-Basis. Histoacryl® besteht laut Herstellerangaben aus n-Butyl-2-Cyanoacrylat, wohingegen TruGlue® Ethyl-2-Cyanoacrylat beinhaltet. Somit enthalten beide Gewebekleber ein reines flüssiges Monomer mit dem allgemeinen Namen Alkyl-2-Cyanoacrylat so wie 90% der Gewebekleber auf Cyanoacrylat-Basis. Weitere Stoffe wie Stabilisatoren, Polymerisationsinhibitoren oder Weichmacher können Gewebeklebern aber zugesetzt sein. <sup>[41]</sup>

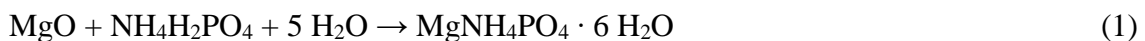
### 2.4.3 Kalzium- und Magnesiumphosphat basierte Zemente

Die Entwicklung eines Kalziumphosphatzementes (CPC) gelang erstmals Brown und Chow in den 1980'ern, welcher als Dentalzement zum Einsatz kommen sollte. <sup>[60]</sup> Seit her wurden die Zementbestandteile im Rahmen der Forschung unterschiedlich kombiniert, wobei jedoch immer eines der drei Produkte Apatit, Bruschit oder amorphes Kalziumphosphat entstand. <sup>[61]</sup> Driessens et al. (1996) <sup>[62]</sup> zeigten jedoch, dass letzteres sich nach der Synthese schnell in Apatit umwandelt, weswegen Bohner (2000) <sup>[61]</sup> lediglich Apatit und Bruschit differenziert. Kalziumphosphate sind vergleichsweise ausgiebig untersucht. Sie finden medizinische Anwendung als Knochenzemente oder als Oberflächenbeschichtung von Endoprothesen, im speziellen beispielsweise in der Hüftendoprothetik. <sup>[63]</sup> Waselau et al. (2007) <sup>[64]</sup> verglichen in einer *in vivo*- Studie einen Kalziumphosphat- mit einem Magnesiumphosphatzement (MPC). Obwohl sich beide Zemente als absolut biokompatibel darstellen, wurde bei der Verwendung von Magnesiumphosphatzement stärker die Bildung von Geflechtknochen induziert und ausgeheilte Knochenfragmente ähnelten letztendlich mehr dem Ausgangszustand. <sup>[64]</sup> Neben einer ver-

gleichsweise besseren Knochenbildung, zeigten Magnesiumphosphatzemente eine ebenfalls sehr gute biologische Abbaubarkeit. <sup>[65]</sup>

Auch in der industriellen Massenproduktion findet Zement auf MgO-Basis seit 150 Jahren Anwendung. Neben der energieärmeren Produktion, verglichen mit beispielsweise Portlandzement, ist die Eigenschaft „carbon-neutral“ von Vorteil: MgO (Magnesia) soll die CO<sub>2</sub>-Emission bei Produktion wieder nivellieren, indem es nach Herstellung umgebenes CO<sub>2</sub> bindet und zu Carbonaten oder Hydroxycarbonaten konvertiert. <sup>[66]</sup> Magnesia wird vor allem über Kalzinierung von Magnesit (MgCO<sub>3</sub>) produziert. Dabei ist zu betonen, dass Magnesit zu den „Critical Raw Materials“ der Europäischen Union gelistet wurde<sup>[67]</sup>. Das bei der Kalzinierung entstehende MgO verliert mit zunehmender Brenntemperatur an Reaktivität. So ist bei 700-1000 °C gebranntes MgO deutlich reaktiver als bei 1500-2000 °C, sogenanntes todtgebranntes, MgO <sup>[66]</sup>

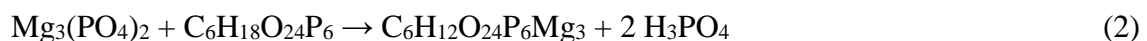
Soudée (2000)<sup>[68]</sup> beschreibt den Reaktionsmechanismus von Magnesiumphosphatzementen im Zuge einer Säure-Base-Reaktion. Reaktionspartner sind dabei MgO und eine Verbundstruktur aus Ammonium- und Phosphationen. Diese Verbundstruktur könnte Phosphorsäure, Monoammoniumdihydrogenphosphat oder Diammoniumhydrogenphosphat sein. Soudée betont jedoch, dass in der Literatur mehrere Reaktionsprodukte vorgeschlagen werden und hält den Abbindemechanismus für nicht vollständig verstanden. <sup>[68]</sup> Allan und Asgar (1966)<sup>[69]</sup> bringen bereits Struvit (MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub> · 6 H<sub>2</sub>O) als Hauptreaktionsprodukt an. Auch Hall (1998)<sup>[70]</sup>, der Magnesiumphosphatzemente mit einem definiertem Gehalt an Wasser anreicherte, identifizierte Struvit als Reaktionsprodukt und propagiert, dass mit einer Erhöhung des Wassergehalts auch der Produktanteil von Struvit steigt. Hall benennt folgende Reaktionsgleichung mit Monoammoniumdihydrogenphosphat als Reaktionspartner von MgO:



Neben dem Hauptprodukt Struvit, sind ebenfalls Dittmarit (MgNH<sub>4</sub>PO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O) und Schertelit (Mg(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(HPO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O) mögliche Reaktionsprodukte. <sup>[70]</sup> Sugama und Kukacka (1983)<sup>[71]</sup> gaben zuvor bei der Kombination von MgO und Diammoniumhydrogenphosphat neben Struvit Mg<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 4 H<sub>2</sub>O, Bruschit Mg(OH)<sub>2</sub> und Newberyit (MgHPO<sub>4</sub> · 3 H<sub>2</sub>O) als Produkt an<sup>[71]</sup>. Dagegen erhielten Abdelrazing und Sharp

(1985)<sup>[72]</sup> bei Kombination von MgO mit Monoammoniumphosphat Dittmarit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) als Produkt<sup>[72]</sup>. Bei Zusatz des Abbindeverzögerers Pentanatriumtriphosphat soll Struvit also Hauptphase produziert werden, ebenso ein kleinerer Anteil an Schertelit ( $\text{Mg}(\text{NH}_4)_2(\text{HPO}_4)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ ). Über letzteres wird vermutet, dass es ein Zwischenprodukt darstellt, aus welchem letztendlich Struvit entsteht.<sup>[73]</sup> Diese Unstimmigkeiten der Ergebnisse von Abdelrazing und Sharp<sup>[72]</sup> verglichen mit den Ergebnissen von Sugama und Kukacka<sup>[71]</sup> versuchen Popovics *et al.*(1987)<sup>[74]</sup> zu erklären, indem sie abhängig von der Abbindezeit feststellten, dass beim schnellem Abbinden Dittmarit, bei langsamem Struvit, entstand<sup>[74]</sup>. Struvit kann über dies in einer neutralen Reaktion von Farringtonit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ ) mit Diammoniumhydrogenphosphat entehen.<sup>[75]</sup>

Christel *et al.* (2015)<sup>[76]</sup> beschrieb eine unkonventionelle Methode zur Erzeugung eines Ammonium-freien Magnesiumphosphatzements: Statt der herkömmlichen Phosphate wurde Phytinsäure ( $\text{C}_6\text{H}_{18}\text{O}_{24}\text{P}_6$ ) (siehe Abbildung 6) als ein Komplexbildner eingesetzt. Es bindet Metallionen und scheint eine antioxidative Wirkung zu besitzen.<sup>[77]</sup> Christel<sup>[76]</sup> verwendete unterschiedlich konzentrierte Phytinsäurelösungen (10-30 %), um aus Farringtonit ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ ), mit Hilfe des Zwischenprodukts Phosphorsäure, hydratisiertes Farringtonit, nämlich Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ ), auszufällen. Folgende Reaktionsgleichung wurde vorgeschlagen:



Es wurde beobachtet, dass mit Erhöhung der Phytinsäurekonzentration (i) die Abbindezeit verlängerte (bis zu 16 min), (ii) der pH-Wert sankt (bis zu  $\text{pH} = 4$ ) und (iii) sich die Temperatur während des Abbindens erhöhte (auf  $31 \text{ }^\circ\text{C}$ ).<sup>[76]</sup>



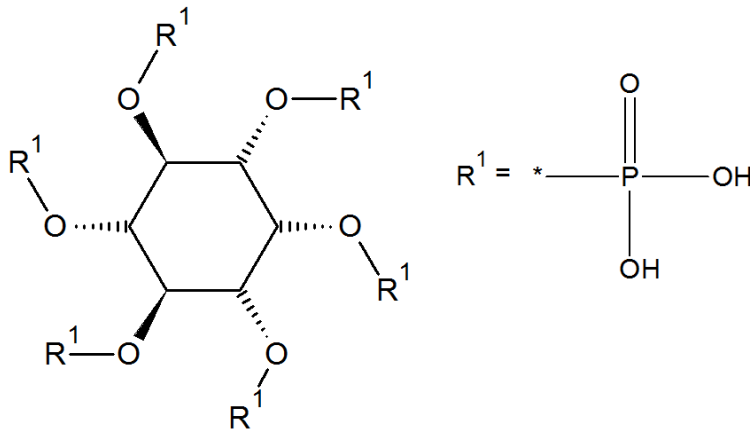


Abbildung 6: Strukturformel von Phytinsäure.

Ein bereits kommerziell erhältliches Produkt auf Magnesiumphosphat- Basis ist Osteo-Crete® der Firma Bone Solutions Inc. Dieses fungiert jedoch nicht als Knochenadhäsiv, sondern lediglich zur Augmentation von Knochendefekten.

#### 2.4.4 Adhäsive mit sternförmigen NCO-sP(EO-*stat*-PO)

Sternförmige Moleküle zeichnen sich durch eine festgelegte Struktur aus. Vom Zentrum des Moleküls entspringen lineare Polymerketten, deren Anzahl für das Molekül bedeutsam ist. [78]

Das sternförmige Poly(ethylenglykol) (PEG) beispielsweise findet Anwendung bei der Herstellung von Hydrogelen mit kennzeichnenden Charakteristiken. [79] Generell sollte man Poly(ethylenglykol) (PEG), von Poly(ethylenoxid) (PEO) unterscheiden. Letzteres hat eine relative Molekülmasse von über 2000, während PEG eine Molekülmasse von unter 2000 besitzt. PEG vermag an kovalent bindende Moleküle eigene Eigenschaften, wie zum Beispiel seine nicht-toxische Beschaffenheit, zu übertragen. Andere Eigenschaften, welche dieses Polymer als herausragendes Biomaterial hervortun, sind seine Wasserlöslichkeit oder seine immunologische Akzeptanz. [80] Die reaktiven Endgruppen von PEO können weiter funktionalisiert werden. Groll und Moeller (2010)[81] beschrieben eine solche Funktionalisierung von PEO, welches zusammen mit Polypropylenoxid (PPO) in einem Verhältnis von 4:1 das Grundgerüst für ein sechs-armiges sternförmiges Molekül bildete. Jeder Arm verfügte über eine endständige Hydroxylgruppe (-OH) und hing zentral an einem Sorbitol-Kern (sP(EO-*stat*-PO)). Die funktionellen Hydroxylgruppen, welche wahlweise modifiziert werden konnten, wurden mit einem Isocya-

nat-Ende (-NCO) funktionalisiert, sodass das sternförmige Molekül NCO-sP(EO-*stat*-PO) entstand (siehe Abbildung 7):

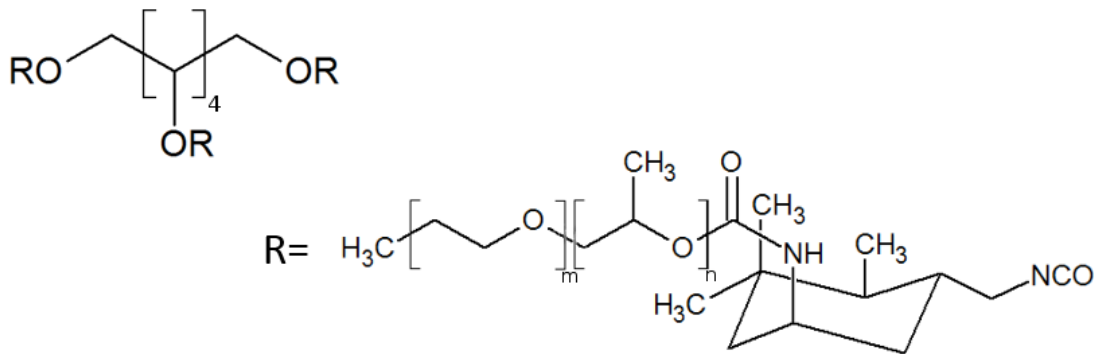


Abbildung 7: Strukturformel von NCO-sP(EO-*stat*-PO).

In wässrigem Milieu kommt es zur Hydrolyse der Isocyanatenden, sodass kurzweilig Carbaminsäure entsteht, welche jedoch im Rahmen einer pH-neutralen Reaktion umgehend zu Amingruppen decarboxyliert. Folglich werden durch Harnstoff-Brücken, welche die Amingruppen mit Isocyanatgruppen, welche noch nicht hydrolysiert wurden, knüpfen, die einzelnen NCO-sP(EO-*stat*-PO)-Moleküle quervernetzt. <sup>[81]</sup>

Wistlich *et al.* (2017)<sup>[82]</sup> benutzen NCO-sP(EO-*stat*-PO) mit dem Ziel der Herstellung eines lighthärtenden Knochenklebstoffs, der wässrigen Bedingungen standhält. NCO-sP(EP-*stat*-PO) wird einer lichtsensitiven Poly(ethylenglykol)dimethacrylat (PEGDMA)-Matrix (siehe Abbildung 8) zugesetzt. <sup>[82]</sup>

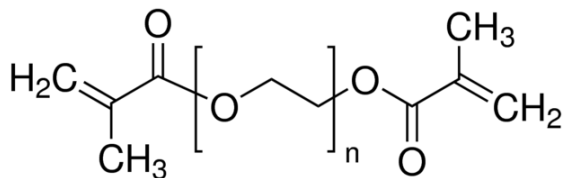


Abbildung 8: Strukturformel von Poly(ethylenglykol)dimethacrylat.

Die Porosität wurde durch den Zusatz von Keramik-Füllern erhöht. Osteoinduktive Füller, wie Struvit ( $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ), Newberyit ( $\text{MgHPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) oder Gips ( $\text{CaSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) sollten außerdem Ionen freisetzen, welche das Einsprossen von Knochenosteonen begünstigen sollten. <sup>[83]</sup> Neben der beschriebenen Polyaddition der stern-

förmigen NCO-sP(EP-*stat*-PO)-Moleküle läuft eine lichtinduzierte Polymerisation der PEGDMA-Matrix ab. Es bildet sich ein interpenetrierendes Polymernetzwerk (IPN) aus, bei welchem Bindungen der Isocyanatgruppen an protischen Bestandteilen der Knochenoberfläche zu einer Adhäsion an dieser beitragen sollen. <sup>[82]</sup>

## 2.5 Werkstoffprüfung von Klebstoffen und Knochenklebstoffen

Generell kann man Werkstoffe statisch oder dynamisch Prüfen. Bei der Prüfung der Festigkeit eines Werkstoffs wird bei ersterem Prüfverfahren der Prüfkörper mit zunächst langsam steigender Intensität bis zum Maximum belastet und anschließend gehalten. Bei der Festigkeit eines Werkstoffs, welche der in einem Versuch ermittelten Spannung gleichzusetzen ist, kann man die Zug- von der Druck-, Scher- und Biegefestigkeit unterscheiden. Bei einem Zugversuch ist Sorge zu tragen, dass die Spannung bei der Prüfung gleichmäßig über den gesamten Probenquerschnitt verteilt wird und diese nur in der Stabachse wirkt. <sup>[84]</sup> Die Festigkeit eines Klebstoffes per se kann über folgende Formel errechnet werden: <sup>[22]</sup>

$$\text{Festigkeit des Werkstoffs} = \frac{\text{zum Zerreißen erforderliche Kraft}}{\text{Fläche in mm}^2} \quad \left[ \frac{N}{\text{mm}^2} \right] \quad (4)$$

Die Klebefestigkeit eines Klebstoffes definiert sich durch die maximale Kraft, die bei Versagen des Klebstoffs aufgewendet werden musste, bezogen auf die jeweilige Klebefläche: <sup>[22]</sup>

$$\text{Klebefestigkeit } \tau_B = \frac{\text{maximale Kraft } F_{\max} \text{ beim Bruch}}{\text{Klebefläche } A} = \frac{F_{\max}}{A} \quad \left[ \frac{N}{\text{mm}^2} \right] \triangleq [\text{MPa}] \quad (5)$$

Klebungen müssen rein auf Zug belastet werden, wobei die Kraft zentrisch und senkrecht angreifen muss, um die Zugfestigkeit  $\sigma_B$  zu prüfen. Auch sie berechnet sich aus dem Quotienten aus der Maximalkraft  $F_{\max}$  und der Klebefläche  $A$ : <sup>[22]</sup>

$$\text{Zugfestigkeit } \sigma_B = \frac{F_{\max}}{A} \quad \left[ \frac{N}{\text{mm}^2} \right] \triangleq [\text{MPa}] \quad (6)$$

Während der Zugprüfung wird die Auslenkung bei gegebener Belastung registriert und die Daten werden in ein Spannungs-Dehnungs-Diagramm überführt. Die Spannung  $\sigma$  ist ein Begriff für die vorliegende Kraft pro anfänglicher Probenquerschnittsfläche. Die Dehnung  $\varepsilon$  beschreibt die Längenänderung der Probe. Im Spannungs-Dehnungs-Diagramm durchläuft die Kurve bei einem duktilen Material anfangs einen linear-elastischen Bereich, in welchem die Verformung noch reversibel ist. Es folgt eine plastische Deformierung, welche permanent ist. Ab dem Punkt der maximalen Spannung ist zunehmend weniger Spannung nötig um eine Längenänderung zu erzielen. Aus dem beschriebenen linearen sogenannten Hookeschen Bereich, lässt sich an Hand der Steigung der E-Modul berechnen. <sup>[85]</sup>

Nachfolgend werden die Beziehung zwischen der Spannung  $\sigma$ , der Dehnung  $\varepsilon$  und dem E-Modul formell dargestellt<sup>[85]</sup>:

$$\sigma = \frac{F}{A_0} \quad \varepsilon = \frac{\Delta L}{L_0} \quad E = \frac{\sigma}{\varepsilon} \quad (7, 8, 9)$$

Das Pendant zum E-Modul ist bei Schubbeanspruchung der Schubmodul G. Statt der Begriffe Spannung  $\sigma$  und Dehnung  $\varepsilon$  werden die Begriffe Schiebung  $\gamma$  und Schubspannung  $\tau$  verwendet. Bei Verschiebung in Schubachse stellt die Schiebung  $\gamma$  den Winkel dar, welcher durch das Versetzen von zwei Flächen bei einer in der Stabachse wirkenden Kraft F. <sup>[86]</sup> Der Schubmodul G berechnet sich wie folgt<sup>[5]</sup>:

$$G = \frac{\tau}{\tan\gamma} \quad (10)$$

Habenicht (2013, S. 821–836)<sup>[5]</sup> nennt über 200 Normen, welche er mit diversen ASTM-Methoden erweitert. Diese beinhalten Prüfnormen von Klebstoffen für Materialien wie Metall, Holz, Kunst- und Dichtstoffen, Leder oder Papier. <sup>[5]</sup> Bei der Prüfung von Knochenklebstoffen scheint es an einer Richtschnur oder Mussvorschrift zum Prüfungsverfahren zu fehlen, was an den vielen möglichen Variablen im Ablauf eines Prüfverfahrens, über welche noch kein gemeinsamer Konsens herrscht, lag. So variieren beispielsweise Ätiologie und Entnahmestelle des Knochens: Es wurde Knochen vom Rind<sup>[40, 87, 88]</sup>, aber auch vom Schwein<sup>[89, 90]</sup>, von explizit weiblichen Kühen<sup>[91]</sup> oder vom

Menschen<sup>[88, 92]</sup> verwendet. Topografisch unterschieden sich die Entnahmestellen. Es wird die Tibia<sup>[87, 93]</sup>, aber auch Rippe<sup>[94]</sup>, Hüfte<sup>[91]</sup>, Parietalknochen<sup>[95]</sup> oder Femur<sup>[88, 93]</sup> verwendet. Auch bei der Art des Knochengewebes unterschieden sich Knochenproben aus Kortikalis<sup>[93, 95-97]</sup> von Proben aus der Spongiosa<sup>[98]</sup>. Sie wurden auf unterschiedliche Art und Weise aus dem jeweiligen Knochen gewonnen. In den meisten Arbeiten wurde eine Diamantblattsäge<sup>[88, 95, 96, 99]</sup> benutzt. Aber auch andere Werkzeuge wie Bohrer<sup>[91]</sup>, Fräs- und Drehmaschinen<sup>[87]</sup>, Osteome<sup>[40]</sup> oder Bandsägen<sup>[100, 101]</sup> fanden Anwendung. Die Probengröße, wie auch die Oberflächenbeschaffung, variierten zwischen verschiedenen Prüfverfahren. Sano und Hidehiku (1994)<sup>[99]</sup> empfahlen jedoch, zumindest für Zugversuche, eine Klebeoberfläche von etwa 1,6-1,8 mm<sup>2</sup>, denn die Streubreite bei den Ergebnissen sei bei dieser Klebefläche am geringsten<sup>[99]</sup>. Die Oberfläche wurde in zurückliegenden wissenschaftlichen Arbeiten mit Säure<sup>[93, 97]</sup> behandelt oder mit Sandpapier<sup>[94, 95, 97]</sup> bearbeitet, wobei sowohl Säuren, als auch Körnungen des Schleifpapiers differierten. Die Knochenlagerung vor der Prüfkörperherstellung, sowie vor und nach der Klebung gingen zudem auseinander. Über Art und Zeit der Knochenlagerung vor der Prüfkörperherstellung wurden in wissenschaftlichen Publikationen oft keine Angaben gemacht. Es wurde von einer gefrorenen Lagerung<sup>[95, 97]</sup>, sowie von einer zeitnahen Präparation nach der Schlachtung des Tieres<sup>[91]</sup> oder einer wässrigen Lagerung<sup>[87]</sup> berichtet. Während der Präparation gibt es Autoren, die die Proben feucht hielten<sup>[102, 103]</sup>. Nach der Prüfkörperherstellung wurden die Proben gefroren<sup>[101, 102]</sup>, in Wasser<sup>[97]</sup>, trocken<sup>[88]</sup> oder unter biologischen Bedingungen bei 37 °C in physiologischer Salzlösung<sup>[96, 103]</sup> bzw. PBS (phosphatgepufferte Salzlösung)<sup>[94]</sup> aufbewahrt. Vor der Klebung wurde mehrfach angegeben, dass die Proben, beispielsweise mit Filterpapier, trockengetupft wurden<sup>[87, 96, 97]</sup>. Die Proben wurden entweder manuell per Fingerdruck<sup>[87, 93, 97]</sup> oder mit definiertem Druck<sup>[96, 100]</sup> verklebt, oder aber es wurde eine definierte Klebeschichtdicke<sup>[98]</sup> sichergestellt. Die geklebten Proben wurden in PBS gelagert<sup>[94, 101]</sup>, aber auch in Wasser<sup>[97, 99]</sup>, bei 100% Luftfeuchtigkeit<sup>[87, 100, 101]</sup>, in Salzlösung<sup>[103]</sup> oder trocken<sup>[88]</sup>. Die Lagerungstemperatur von 37 °C<sup>[87, 88, 94, 95, 97, 100, 101]</sup> steht in Kontrast zur Lagerung bei Raumtemperatur bei etwa 23 °C<sup>[97]</sup>. Die Versuchsaufbauten zur Bestimmung von Zug- oder Klebefestigkeit gehen innerhalb der Literatur auseinander. Auch die Prüfgeschwindigkeiten divergierten zwischen beispielsweise 1 mm/min<sup>[93, 94]</sup>, 2 mm/min<sup>[88, 96, 100]</sup> oder 5mm/min<sup>[97]</sup>. Als Messdosengröße wurden

9,81 N<sup>[101]</sup> oder 2 kN<sup>[100]</sup> angegeben, oder aber es wurde darüber keine Aussage gemacht. In fast allen Arbeiten schließt sich eine Analyse des Versagensmodus, sowie eine Betrachtung mit einem Lichtmikroskop, teilweise zusätzlich mit einem Rasterelektronenmikroskop an.

## 3 Material und Methoden

### 3.1 Verwendete Klebstoffe

Insgesamt wurden fünf Klebstoffe verwendet und anschließend mechanischen Tests unterzogen. Drei der Klebstoffe waren kommerziell erhältlich, nämlich der Gewebekleber BioGlue® Surgical Adhesive (Fa. CryoLife, Kennesaw, Georgia, Vereinigte Staaten), sowie zwei Gewebekleber auf Cyanoacrylat-Basis, und zwar Histoacryl® Gewebekleber (Fa. B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) und TruGlue® Single Dose Gewebekleber (Fa. Trusetal Verbandstoffwerk GmbH, Schloß Holte-Stukenbrock, Deutschland). Zwei der Klebstoffe waren zum Zeitpunkt der Verwendung Gegenstand der Forschung am Lehrstuhl für Funktionswerkstoffe der Medizin und der Zahnheilkunde der Universität Würzburg. Dies war zum einen ein Magnesiumphosphatzement mit einem Phytinsäure-Komplexbildner, welcher von M. Sc. Theresa Brückner (FMZ; Universität Würzburg) bereitgestellt wurde. Zum anderen wurde ein lighthärtender Knochenklebstoff, basierend auf einem interpenetrierenden Polymernetzwerk aus sternförmigen NCO-sP(EO-stat-PO)-Molekülen und einer PEGDMA-Matrix, versetzt mit Newberyit-Füllern, nach Wistlich et al. (2017)<sup>[82]</sup> verwendet.

#### 3.1.1 BioGlue® Surgical Adhesive

BioGlue® Surgical Adhesive (Fa. CryoLife, Kennesaw, Georgia, Vereinigte Staaten), ein chirurgischer Klebstoff aus den zwei Komponenten Rinderserum-Albumin und Glutaraldehyd, wurde gemäß der Gebrauchsanweisung appliziert. Dabei wurde die Doppelkammerspritze des Herstellers verwendet, welche vor Benutzung entsprechend entlüftet wurde. Zwischen Klebungen wurde der Spritzenaufsatz ausgewechselt. Auf Grund der schnellen Polymerisation wurden die Fügeteile unmittelbar und zügig verklebt. Laut Herstellerangaben benötigt der Klebstoff zwei Minuten, um seine volle Haftstärke zu erreichen, weswegen diese Zeit vor einem jeweiligen Prüfverfahren oder einer Lagerung in PBS eingehalten wurde. Der Klebstoff wurde, durch eine Kappe gesichert, geschlossen bei Raumtemperatur (21-23 °C) gelagert. Die Spritzenaufsätze waren dabei steril verpackt.

### 3.1.2 Histoacryl® Gewebekleber

Histoacryl® (Fa. B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) ist ein Gewebekleber welcher n-Butyl-2-Cyanoacrylat beinhaltet. Der Klebstoff wurde nach Entlüftung der Ampullenspritze dünn-schichtig punktuell nach Herstellerangaben appliziert. Nach Abdrehen der Ampullenspritze wurde diese mehrfach verwendet. Die Füge-teile wurden umgehend verklebt. Dieser hygroskopisch aushärtende Klebstoff wurde bei normaler Umgebungsluft mit einer Luftfeuchtigkeit von 40-60 % verarbeitet. Laut Angaben des Herstellers sollte eine Hautwunde bei Verwendung von Histoacryl® Gewebekleber mindestens eine Minute fixiert werden. Um diese Zeit zu garantieren, wurden vor einem Prüfverfahren oder der Lagerung in PBS-Pufferlösung fünf Minuten abgewartet. Der Klebstoff wurde vor Licht geschützt bei 5 °C im Kühlschrank Labex-468 (Fa. Phillip Kirsch GmbH, Offenburg, Deutschland) gelagert. Die Ampullenspritzen waren dabei steril abgepackt.

### 3.1.3 TruGlue® Single Dose Gewebekleber

TruGlue® Single Dose (Fa. Trusetal Verbandstoffwerk GmbH, Schloß Holte-Stukenbrock, Deutschland), ein Gewebekleber, enthält in Applikationsdosetten die monomere flüssige Form von Etyhl-2-Cyanoacrylat. Eine Dosette wurde nach Öffnung mehrmals verwendet. Der Klebstoff wurde dünn aufgetragen und umgehend verklebt. Es wurde ebenfalls bei einer gängigen Luftfeuchtigkeit von 40-60% gearbeitet und es wurden vor Prüfverfahren oder Lagerung der Prüfkörper ebenfalls fünf Minuten abgewartet. Die Lagerung fand auch vor Licht geschützt bei 5 °C im Kühlschrank Labex-468 (Fa. Phillip Kirsch GmbH, Offenburg, Deutschland) bei steril verpackten Dosetten statt.

### 3.1.4 Magnesiumphosphatzement mit Phytinsäure-Komplexbildner

Die Bestandteile des Magnesiumphosphatzementes wurden vor jeder Klebung neu abgewogen, pipettiert und angemischt. 50 % Phytinsäure (Fa. Sigma-Aldrich GmbH, Steinheim, Deutschland; Lot: #MKBR8885V) wurde mit derselben Menge an destilliertem Wasser zu 25 % Phytinsäure verdünnt, welche bis zur Benutzung kühl bei 5 °C im Kühlschrank Labex-468 (Fa. Phillip Kirsch GmbH, Offenburg, Deutschland) gelagert wurde.

Das Trimagnesiumphosphatpulver wurde vorab hergestellt. Zunächst wurde dafür Magnesiumhydrogenphosphat (Fa. Sigma-Aldrich/ Hineywell, Missouri, Vereinigte Staaten,



Lot: E-1210) auf  $\leq 125 \mu\text{m}$  gesiebt (Fa. Retsch Technology GmbH, Haan, Deutschland). Das gesiebte Pulver wurde im Achatbecher eine Stunde bei 200 U/min in zwei Richtungen trocken gemahlen. Nach dem Mahlvorgang wurden das Pulver mit Magnesiumphosphat (Fa. VWR Prolabo, Pennsylvania, Vereinigte Staaten, Lot: 14K030040) im Verhältnis 2:1 für eine Stunde in der Planetenmühle bei 200 U/min in zwei Richtungen vermischt. Danach wurde das erhaltene Pulver bei  $1100 \text{ }^\circ\text{C}$  für fünf Stunden gesintert und anschließend gemörsert und auf  $\leq 355 \mu\text{m}$  gesiebt. Abschließend wurde das Pulver nochmals für eine Stunde in zwei Richtungen trocken aufgemahlen.

278 mg Trimagnesiumphosphat und 23 mg hochreaktives Magnesiumoxid 2933 (Fa. Magnesia GmbH, Lüneburg, Deutschland) wurden abgewogen. Entsprechend eines Pulver/Flüssigkeits-Verhältnisses von 2 g/mL wurden 150  $\mu\text{L}$  der 25% Phytinsäure pipettiert und auf eine Glasplatte gegeben. Alle Komponenten wurden auf der Glasplatte manuell mit einem Spatel vermischt und das homogene Gefüge zügig verklebt. Eine Abbindezeit von 16-18 min wurde eingehalten, bevor die Proben entsprechend getestet oder gelagert wurden.

### 3.1.5 Lichthärtender Knochenklebstoff basierend auf einem interpenetrierenden Polymernetzwerk

Es wurde ein Ansatz aus 500mg hergestellt, welcher zu 20 % aus sternförmigen NCO-SP(EO-stat-PO)-Molekülen (Fa. DWI Leibniz-Institute for Interactive Materials, Aachen, Deutschland) und zu 80% aus PEGDMA (Fa. Sigma-Adrich GmbH, Steinheim, Deutschland; Lot: #MKBR8265V) bestand. Die sternförmigen Moleküle wurden in einer GS-Inertgas Glovebox (Fa. GS Glovebox Systemtechnik GmbH, Malsch, Deutschland) unter Stickstoffatmosphäre gelagert und in dieser Umgebung entsprechend mit der Waage ABT 320-4M (Fa. Kern & Sohn GmbH, Balingen-Frommern, Deutschland) abgewogen. Arbeitsgefäße wurden nachfolgend generell zusätzlich mit Parafilm Verschlussfolie versiegelt und mit Industriefolie aus Aluminium abgedeckt, um lichtsensible Inhalte abzuschirmen. Die sternförmigen Moleküle wurden ausgeschleust und umgehend unter Zuhilfenahme eines Rührfisches am Magnetrührer C-MAG HS7 (Fa. IKA-Werke, Staufen im Breisgau, Deutschland) mit einer PEGDMA-Phase, welche zu 99 % aus PEGDMA und zu 1 % aus Campherchinon (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland; Lot: # S24335809) bestand, verrührt bis eine homogene, schlierenfreie Lösung entstand. Manuell wurde im Pulver/ Flüssigkeits- Verhältnis von

1,1:1 g/ml Magnesium-hydrogenphosphat/ Newberyit (Fa. Sigma-Aldrich/ Hineywell, Missouri, Vereinigte Staaten, Lot: E-1210) mit einem Spatel zugegeben und vermengt bis ein homogenes Stoffgemisch entstand. Sowohl Campherchinon, als auch Newberyit wurden an der Waage Explorer® Analytica (Fa. Ohaus Corporation, Nanikon, Schweiz) abgewogen. Von der Herstellung bis zur anschließenden Verwendung an Knochenproben wurde eine Zeitspanne von 6 h nicht überschritten.

Bei Benutzung am Knochen wurde eine entsprechende Menge auf ein Fügeteil gegeben, das zweite Fügeteil aufgesetzt und die Klebefuge mit dem LED-Polymerisationsgerät Bluephase100-240V Promo (Fa. Ivoclar Vivadent GmbH, Ellwangen, Deutschland) umgehend von vier Seiten jeweils für 30 s in möglichst geringem Abstand ausgehärtet.

### 3.2 Herstellung der Knochen- und Metallprüfkörper

Die Knochenprüfkörper entstammen frischem bovinem Femur (Metzgerei Dotzel, Würzburg, Deutschland und Metzgerei Hübschmann, Ebermannstadt, Deutschland). Mit einer Knochenbandsäge MKB 754 Selekt 3 (Fa. Mado GmbH, Dornhan, Deutschland) wurden die Epiphysen entfernt und die Diaphyse grob portioniert. Muskel- und Sehnenansätze, sowie Periost und Knochenmark wurden entfernt. Mit Hammer und Meißel wurde die verbliebene Kortikalis weiter zerkleinert und anschließend unter Wasserkühlung mit SiC-Nassschleifpapier Korn 80 (Fa. Schmitz Metallographie GmbH, Herzogenrath, Deutschland) an dem Tellerschleifer Metaserv®3000 (Fa. Buehler, Esslingen am Neckar, Deutschland) bei 300 U/min in Form geschliffen. Es entstanden zum einen quaderförmige Prüfkörper mit den Abmessungen 20 mm x 10 mm x 5 mm. Zum anderen wurden aus der Kortikalis zylinderförmige Prüfkörper mit den Abmessungen  $3 \text{ mm}^2 \times \pi \times 3 \text{ mm}$  bei 2000 U/min gedreht. Verwendet wurde dafür die Drehmaschine Robling 800 Stfl. Anschließend wurde die Oberfläche nochmals per Hand mit SiC-Nassschleifpapier Korn 80 angeraut.

Zylindrische Knochenprüfkörper, welche im Zugversuch verwendet werden sollten, wurden zusätzlich mit Hilfe einer Teflon-Hülse als Leitschiene mit einer Edelstahlschraube mit 2-K-Epoxidkleber (Fa. Uhu GmbH & Co. KG, Bühl, Deutschland) verklebt (vgl. Kapitel 3.3). Die Knochenprüfkörper wurden nach Herstellung umgehend in PBS-Lösung bei 5 °C gelagert. Die Zusammensetzung der zehnfach konzentrierten PBS-Stammlösung ist Tabelle 2 zu entnehmen. Die erhaltene Stammlösung wurde mit

## Material und Methoden

destilliertem Wasser entsprechend zu einfachem PBS verdünnt und ein physiologischer  $\text{pH} \approx 7,4$  wurde am pH-Meter inoLab Level 1 und inoLab Level 2 (Fa. WTW, Weilheim, Deutschland) eingestellt.

Tabelle 2: Zusammensetzung der zehnfach konzentrierten Stammlösung phosphatgepufferter Salzlösung (PBS).

NaCl	80g	Lot: 712A16294; Scheller, Euerbach
KCl	2g	Lot: K46167736515; Merck, Darmstadt
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	14,4g	Lot: F1897486529; Merck, Darmstadt
KH <sub>2</sub> PO <sub>2</sub>	2,4g	Lot: A585477734; Merck, Darmstadt
H <sub>2</sub> O	1l	

Als Pendant zu den quaderförmigen Knochenprüfkörpern wurden mit Hilfe einer Tafelschere (Fa. Fasti-Werk GmbH & Co. KG, Wermelskirchen, Deutschland) metallische, ebenfalls quaderförmige, Prüfkörper aus sowohl Titan Grade 2 (Werkstoffnummer: 3.7035), als auch rostfreiem Stahl der Legierung XCrNi18 (Werkstoffnummer: 1.4301), hergestellt. Die Abmessungen betragen 20mm x 10mm x 1mm. Die Metallischen Prüfkörper wurden mit Edelkorund-Strahlmittel aus 99,6 % Aluminium-Oxid mit jeweils den Körnungen Korox50, Korox110 und Korox250 bei 5 bar bei 1 cm Abstand für etwa 20 sek am Feinstrahler Basic Quattro (Fa. Renfert, Hilzingen, Deutschland) abgestrahlt. Genaue Angaben zum jeweiligen Strahlmittel, welches DIN 8201 entsprach, sind Tabelle 3 zu entnehmen.

Tabelle 3: Körnung, Lot-Nummer und Firma der verwendeten Strahlmittel.

Körnung	Lot-Nummer	Firma
Korox 50	1825069 1016	BEGO, Bremen, Deutschland
Korox 110	1658469 0115	BEGO, Bremen, Deutschland
Korox 250	1658462 0115	BEGO, Bremen, Deutschland

Die metallischen Prüfkörper wurden anschließend mit Isopropanol entfettet, mit Wasser gewaschen und luftgetrocknet. Metallische Proben wurden generell trocken gelagert und die Oberfläche bis zum und während des Klebevorgangs lediglich mit einer Pinzette berührt.

### 3.3 Klebevorgang und Lagerung

Von der Abholung des Knochens im Metzgereifachbetrieb bis zur Klebung vergingen bei allen Klebungen nicht mehr als 24 Stunden. Kurz vor der Klebung wurden die Knochenproben aus der PBS-Lösung entnommen und Flüssigkeitsauflagerungen wurden mit einem Filterpapier entfernt. Der Klebevorgang für den anschließenden Test auf Scherfestigkeit unterscheidet sich leicht vom Vorgang für den Test auf Zugfestigkeit. In allen Fällen wurde der Klebstoff nach Gebrauchsanweisung (vgl. Kapitel 3.1) verwendet.

Für die Verwendung im Test auf Scherfestigkeit wurden die zylindrischen auf den quaderförmigen Knochenproben mittig verklebt. In allen Fällen wurde dabei moderater Fingerdruck aufgewendet.

Für die Benutzung im Test auf Zugfestigkeit wurden zylindrische Knochenproben nach ihrer Herstellung, noch vor der Lagerung bei 5 °C in PBS mit 2-K-Epoxidkleber (Fa. Uhu GmbH & Co. KG, Bühl, Deutschland), mit einem zylinderförmigen Schraubenkopf verklebt. Der Durchmesser des Kopfes betrug 6mm und die Klebefläche wurde mit Korox50-Abstrahlmittel abgestrahlt (vgl. Kapitel 3.1.2). Die Schrauben waren aus Edelstahl und wurden in der hauseigenen Werkstatt angefertigt. Für die Klebung an sich wurde ebenfalls eine Klebevorrichtung (siehe Abbildung 9) hergestellt.

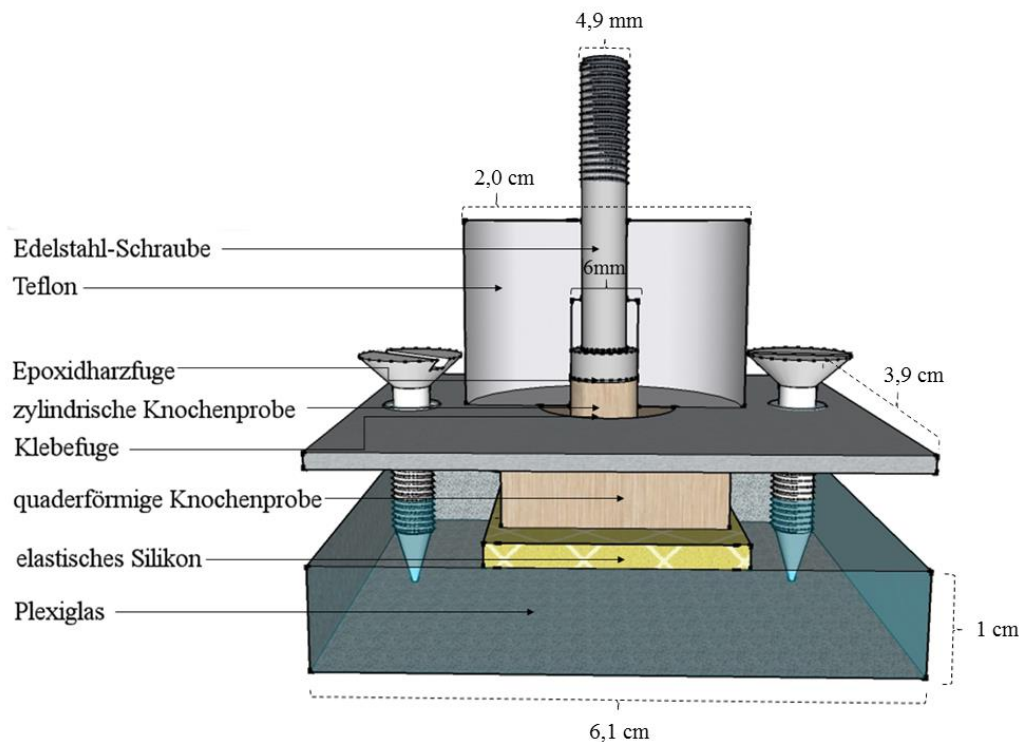


Abbildung 9: Klebevorrichtung für den Test auf Zugfestigkeit.

Die Grundlage aus Plexiglas wurde mit Hilfe einer Metallkreissäge Typ 1631 (Fa. Ulmia GmbH, Langenenslingen, Deutschland) auf eine Größe von 6,1cm x 3,9cm x 1cm zurechtgeschnitten. Die Deckfläche bestand aus Blech, welches mit der Tafelschere (Fa. Fasti-Werk GmbH & Co. KG, Wermelskirchen, Deutschland) auf dieselbe Größe beschnitten wurde. Eine Bohrung im Blech fand mittig mit einer Universalfräsmaschine FP1 (Fa. Friedrich Deckel AG, München, Deutschland) statt, mit welcher auch seitliche Bohrungen im Blech, wie auch Gewindeborungen im Plexiglas für die Schrauben angefertigt wurden. Grund dieser Klebevorrichtung war, dass die quaderförmigen Knochenproben per Hand am Tellerschleifer hergestellt wurden. Daher konnte nicht garantiert werden, dass Klebe- und Grundfläche des Quaders exakt parallel zueinander stehen. Durch eine elastische Einlage aus dem C-Silikon Eurosil Max 2 Putty (Fa. Henry Schein, Melville, New York, Vereinigte Staaten) an der Grundfläche des Quaders, konnte die Klebefläche parallel zum Metalldeckel der Klebevorrichtung verschraubt werden. Ebenfalls in der hauseigenen Werkstatt wurde ein Halbzylinder aus Teflon hergestellt. Dieser besaß eine Innenbohrung von 6 mm, also entsprechend dem Schraubenkopfdurchmesser, die in eine schmalere Bohrung übergeht, welche dem Schraubenschaft gleicht. Er wurde mit einer Universalfräsmaschine UWF 902H (Fa. Hermle Ag, Lohfelden, Deutschland) und der Leit- und Zugspindeldrehmaschine Praktikant GSD (Fa. Weiler Werkzeugmaschinen GmbH, Emskirchen, Bayern) aus einem Teflon-Rohling (PTFE natur) hergestellt. Die Teflonhülse wurde während des Klebevorgangs dem Metalldeckel der Klebevorrichtung aufgesetzt und somit garantiert, dass die zylindrische Knochenprobe, einbegriffen der mit Epoxidharz verklebten Schraube, orthogonal zur Klebefläche der quaderförmigen Knochenprobe geklebt wird. So konnte sichergestellt werden, dass während des Zugvorgangs die Klebung ausschließlich axial belastet wird und während des Zugversuches keine Schäl- oder Spaltbeanspruchung auf die Klebschicht wirkt. Auch bei dieser Klebung für den Test auf Zugfestigkeit wurde moderater Fingerdruck angewendet und eine möglichst kleine Klebefuge erstrebt.

Die verklebten Knochenproben wurden jeweils nach der klebstoffeigenen Abbindezeit entweder umgehend auf Zug- bzw. Scherfestigkeit getestet, oder in PBS im Trockenschrank Modell 100-800 (Fa. Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) bei 37 °C gelagert und nach einer Klebstoffalterung von zwei Stunden, 24 Stunden oder sieben Tagen einem entsprechenden Prüfverfahren unterzogen. Prüfkörper mit ange-

klebten Schrauben, welche für den Zugversuch bestimmt waren, wurden während der Lagerung über eine Silikonbrücke stabilisiert, um eventuelle Schälkräfte, welche auf Grund des Eigengewichts der Schrauben entstehen könnten, zu vermeiden.

Zusammenfassend wurden somit fünf verschiedene Klebstoffe verwendet. Wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben wurden metallischen Proben sandgestrahlt, und zwar rostfreier Stahl mit Korox50 und Titan mit Korox50, Korox110 und Korox250. Die Klebungen erfolgten bei jedem der fünf Klebstoffe jeweils Knochen auf Knochen, indem die zylindrische mit der quaderförmigen Knochenprobe verklebt wurde. Im Fall des Magnesiumphosphatzements wurde die zylindrische Knochenprobe zusätzlich auf Titan (Korox50, Korox110 und Korox250), sowie auf rostfreiem Stahl (Korox50) geklebt. Jede dieser Klebungen wurde für einen Test auf Zug-, sowie auf Scherfestigkeit durchgeführt. Darüber hinaus wurde jede der genannten Klebungen für den Test nach jeweils vier Zeiteinheiten verklebt, nämlich ohne Klebstoffalterung, sowie einer Alterung nach zwei Stunden, 24 Stunden und sieben Tagen. Das Probenvolumen an Klebungen für jede dieser Zeiteinheiten umfasste jeweils zehn Proben (n=10).

### 3.4 Versuchsaufbauten

#### 3.4.1 Bestimmung der Scherfestigkeit

Für die Bestimmung der Scherfestigkeit wurde in der hauseigenen Werkstatt des Instituts eine Prüfvorrichtung (siehe Abbildung 10) hergestellt.

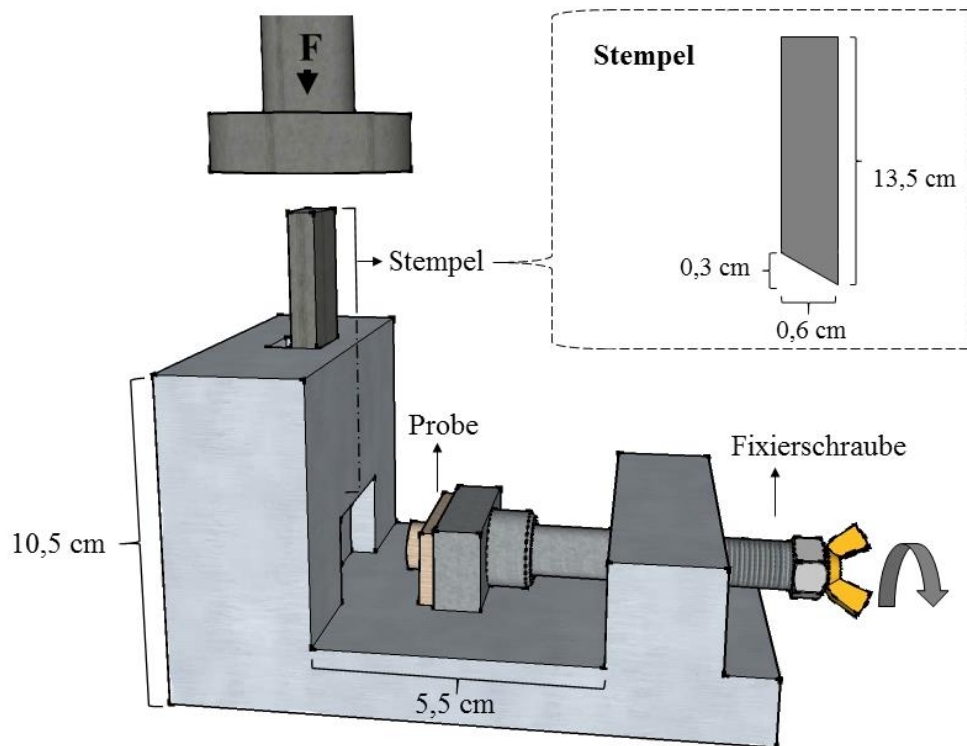


Abbildung 10: Aufbau der Prüfvorrichtung des Scherversuches.

Der Stempel wog 66,23 g. Die Scherfestigkeit wurde an einer Universalprüfmaschine Zwick/Roell Z010 (Fa. Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Deutschland) und der Prüfsoftware testXpert® II ermittelt. Der verklebte Prüfkörper wurde aus der PBS-Lösung entnommen und mit Hilfe der Fixierschraube gegen entsprechende Aussparungen im Metall geschoben. Mit Hilfe der Aussparungen wurde die Probe so fixiert, dass allein der zylindrische Knochenkörper in die Leitschiene für den Stempel ragte. Der Stempel wurde auf den zylindrischen Knochenkörper gelegt, sodass anfangs allein das Eigengewicht des Stempels auf der Klebung lastete. Anschließend wurde durch die Prüfmaschine axial Kraft auf den Stempel appliziert, wodurch die Klebung eine Schubspannung erfuhr. Gemessen wurde bis zum Zeitpunkt des Versagens der Klebung, was durch ei-

nen Kraftabfall registriert wurde. Hinsichtlich der voreinstellbaren Prüfvorschrift wurde eine Prüfgeschwindigkeit von 1 mm/sek gewählt. Es wurde ab einer Vorkraft von 1 N gemessen und eine 2,5 kN-Messdose verwendet.

### 3.4.2 Bestimmung der Zugfestigkeit

Die Prüfvorrichtung für den Zugversuch wurde ebenfalls in der Werkstatt des Instituts hergestellt. Der Aufbau ist Abbildung 11 zu entnehmen.

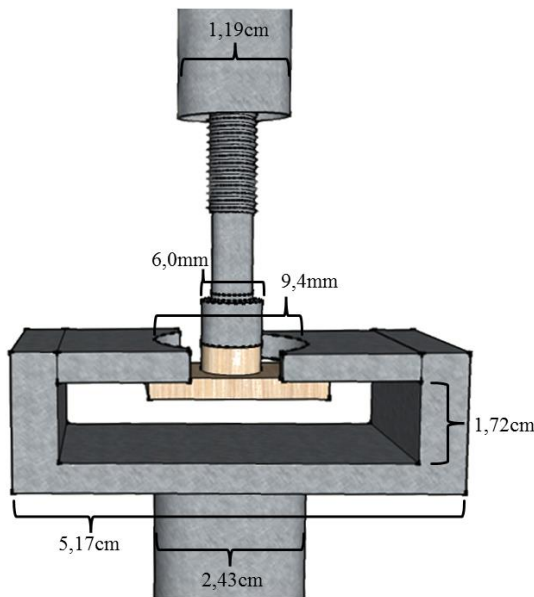


Abbildung 11: Aufbau der Prüfvorrichtung des Zugversuchs.

Eine Edelstahlschraube wurde, wie in Kapitel 3.1.2 beschrieben, mit Epoxidharz am verklebten Prüfkörper befestigt. Diese Schraube wurde in einen Metallzylinder mit entsprechender Innenbohrung gedreht. Durch die in Kapitel 3.3 vorgestellte Klebevorrichtung wurde gewährleistet, dass die Oberseite der quaderförmigen Knochenprobe parallel zu den Branchen des Unterteils der Prüfvorrichtung liegt und während der Prüfung dieses flächig kontaktiert. Während des Prüfvorgangs fuhr der Zylinder nach oben und die Klebung wurde bis zum Versagen, und dem damit verbundenen registrierbaren Kraftabfall, axial belastet. Die Vorkraft, welche vor Messbeginn erreicht werden musste, lag bei 0,05 N. Die Prüfgeschwindigkeit betrug 1 mm/min. Es wurde eine 2,5 kN-Messdose verwendet. Wie auch bei der Bestimmung der Scherfestigkeit, wurden die



Universalprüfmaschine Zwick/Roell Z010 (Fa. Zwick GmbH & Co. KG, Ulm, Deutschland) und die Prüfsoftware testXpert® II verwendet.

### 3.5 Untersuchung der Kleberückstände

#### 3.5.1 Makroskopische Analyse

Nach jeweiligem Prüfverfahren erfolgte eine Untersuchung der Kleberückstände. Zunächst wurde makroskopisch das Bruchverhalten analysiert. Dabei wurde zwischen einem tendenziell kohäsiven, adhäsiven oder kombinierten Bruchverhalten unterschieden. Zudem fanden morphologische Veränderung des Klebstoffs, wie zum Beispiel etwaiges Aufquellen, Schrumpfen oder Sprödigkeitszunahmen, Beachtung. Weitergehend wurde registriert, auf welchem der Fügeiteile sich der Hauptteil der Klebereste befand. Gerade bei unterschiedlichen Fügeiteilen, wie bei einer Klebung von Knochen auf Titan, konnte dies Aufschluss über das Klebeverhalten geben. Aber auch bei Klebungen von zwei Fügeiteilen aus Knochen, konnte die Lokalisation der Klebereste auf eventuelle Auswirkung der unterschiedlichen Prüfkörperherstellung zwischen zylindrischem und quadratischem Knochenprüfkörper (siehe Kapitel 3.1.2), und somit den Einfluss der Knochenbearbeitung mit einer Drehmaschine, hinweisen. Für eine dahingehende statistische Auswertung, wurde die runde Klebefläche jeweils am quaderförmigen Prüfkörper in Viertel geteilt (siehe Abbildung 12). Nach diesem Schema wurde die Menge der Klebereste in Viertel-Schritten festgehalten.

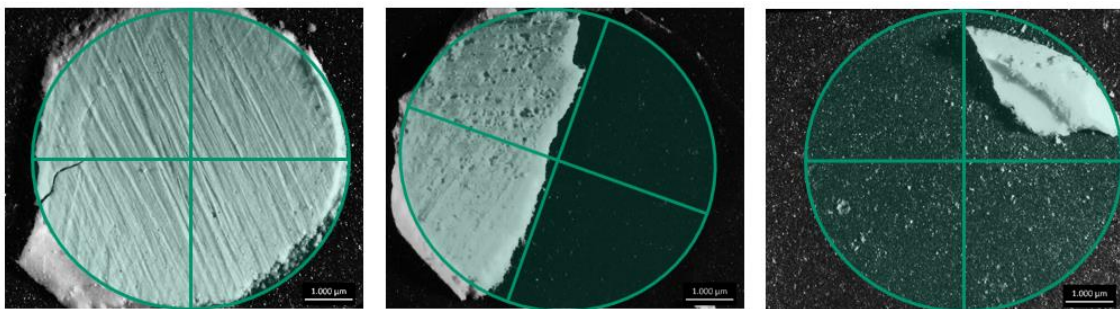


Abbildung 12: Schema der Einteilung der Klebefläche für eine statische Auswertung der Lokalisation der Kleberückstände.

### 3.5.2 Mikroskopische Analyse

Nach der makroskopischen Begutachtung der Klebereste, wurden die Proben mit Hilfe eines Stereomikroskops SteREO Discovery.V20 (Fa. Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) weitergehend untersucht. Es wurden Materialreste auf Morphologie, Menge oder Lokalisation analysiert und dabei die 81mm-Linse PlanApo 0,63x FWD bei unterschiedlichen Zoom-Faktoren verwendet. Die Proben wurden zusätzlich seitlich über externes LED-Licht mit hoher Intensität ausgeleuchtet. Von relevanten Einsichten wurden mit der Software ZEN (Fa. Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) fotografische Aufnahmen mittels Bilddateien erstellt.

### 3.5.3 Rasterelektronenmikroskopische Analyse

Gegenstand einer weiterführenden rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung wurden Knochenproben, welche, wie in Kapitel 3.3 beschrieben, nach erfolgter Klebung sieben Tage gelagert wurden und anschließend, nach mechanischer Prüfung, getestet wurden. Um das Rasterelektronenmikroskop nicht zu beschädigen, und um nach Einschleusen der Proben ein ausreichendes Vakuum zu erreichen, mussten möglichst trockene Proben angestrebt werden. Dafür wurden die Proben zunächst einer elutropen Aceton-Reihe unterzogen, welche nach dem Schema aus Tabelle 4 durchgeführt wurde. Dabei wurde die Flüssigkeit mit einem rotierenden Plattformschüttler Rotamax 120 (Fa. Heidolph, Schwabach, Deutschland) bei der angegebenen Geschwindigkeit von 50 rpm permanent mobilisiert. Ein Vorversuch, bei dem die in Kapitel 3.1 angeführten Klebstoffe auf eine Glasplatte gegeben und nach jeweiligem Aushärten mit Aceton beträufelt wurden, zeigte, dass Aceton Klebstoffe auf Cyanoacrylat-Basis anscheinend anlöst (vgl. Abbildung 13 A, B). Daher konnte bei den Cyanoacrylat-haltigen Klebstoffen Histoacryl® und TruGlue® keine Aceton-Reihe durchgeführt werden. Im gleichen Vorversuch mit Ethanol wurden genannte Klebstoffe ebenfalls angelöst (vgl. Abbildung 13 C, D).

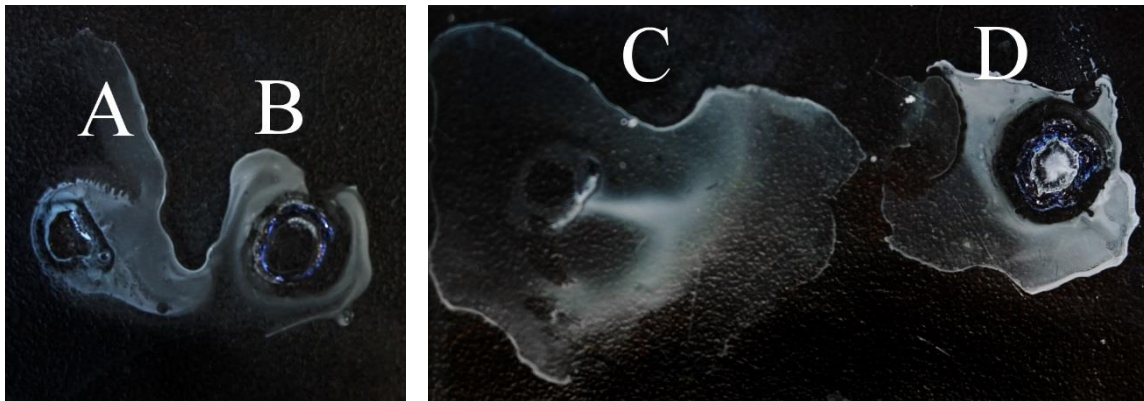


Abbildung 13: Zustand nach 24h nach nach Zugabe von Aceton auf TruGlue® (A) und Histoacryl® (B) und nach Zugabe von Ethanol auf TruGlue® (C) und Histoacryl® (D).

Eine vergleichbare Ethanol-Reihe war somit gleichermaßen nicht ohne Beschädigung des Klebstoffs zu realisieren, weswegen auf die Elektronenmikroskopie bei Proben mit genannten Klebstoffen verzichtet wurde.

Tabelle 4: Ablauf der elutropen Aceton-Reihe für die Knochenproben.

Aceton-Menge	Wasser-Menge	Aceton-Konzentration	Lagerung
1,5mL	3,5 mL	30 %	Mindestens 1h bei 50rpm
2,5mL	2,5 mL	50 %	Mindestens 1h bei 50rpm
3,5mL	1,5 mL	70 %	Mindestens 1h bei 50rpm
4,5mL	0,5 mL	90 %	Mindestens 1h bei 50rpm
5,0mL	/	100 %	Mindestens 1h bei 50rpm
5,0mL	/	100 %	Mindestens 1h bei 50rpm
5,0mL	/	100 %	Mindestens 1h bei 50rpm
5,0mL	/	100 %	Mindestens 1h bei 50rpm
5,0mL	/	100 %	Mindestens 1h bei 50rpm
5,0mL	/	100 %	Lagerung bis zur überkritischen Trocknung

Die Proben wurden anschließend in die Druckkammer des Kritisch-Punkt-Trockners CPD 030 (Fa. BalTec Maschinenbau AG, Pfäffikon, Schweiz) in 100 % Aceton gegeben und diese abgeschlossene Kammer auf 8-9 °C abgekühlt. Sukzessiv wurde in meh-

rerer Zyklen jeweils CO<sub>2</sub> eingeleitet und gegen Aceton ausgetauscht. Dabei waren die Proben stets mit Aceton bedeckt. Anschließend wurde die Temperatur in der Druckkammer bei auf 40-42 °C erhöht, wodurch der kritische Punkt des CO<sub>2</sub> überschritten, und es somit in seine Gasphase überführt wurde. Innerhalb von 30 min wurde das Gas graduell entfernt, wobei ein Druck von  $\leq 5$  bar eingehalten wurde.

Die getrockneten quaderförmigen Proben wurden zu allen Seiten bis auf die Oberfläche mit den Klebstoffresten mit Leit-C (Fa. Sigma-Aldrich, St. Louis, Vereinigte Staaten) bestrichen und anschließend in einer Sputter-Beschichtungsanlage EM ACE600 (Fa. Leica Camera, Wetzlar, Deutschland) unter Vakuum bei  $10^{-7}$  mbar über Nacht mit Platin bedampft, sodass eine Schichtdicke von 4,0 nm entstand.

Abschließend wurden die Proben am Rasterelektronenmikroskop Zeiss Crossbeam 340 (Fa. Carl Zeiss, Oberkochen, Deutschland) betrachtet, wobei Sekundärelektronen verwendet wurden. Es wurde bei 3,00 kV, einem Vakuum  $1,25 \times 10^{-6}$  mbar und einer Blende von 30,00  $\mu\text{m}$  operiert. Scharfe Aufnahmen wurden dabei bis zu einer 50000-fachen Vergrößerung erzielt. Das Elektronenmikroskop wurde mit der Software Smart SEM® bedient, mit welcher auch Bilddateien von relevanten Aufnahmen angefertigt wurden.

### 3.6 Variation der Klebefugenbreite

Zusätzlich zu den in Kapitel 3.3 beschriebenen Klebungen wurde im Falle des Magnesiumphosphatzementes die Auswirkung der Klebefugenbreite getestet. Material dieses Tests waren die Teflon-Hülse, sowie die Edelstahlschraube, welche bereits in Kapitel 3.3 angeführt wurden. Die Edelstahlschraube wurde jeweils in die Innenbohrung der Teflon-Hülse gelegt und der Schraubenkopf mit Hilfe eines elektronischen Universalmessschiebers Horex (Fa. Hoffmann Group, Nürnberg, Deutschland) je in den Abständen 1 mm, 2 mm oder 3 mm zur Grundfläche der Hülse geschoben. Dadurch wurden bei der anschließenden Klebung Klebefugenbreiten der entsprechenden Größe erzielt. Als Referenz wurden zusätzlich Klebungen durchgeführt, bei denen der Schraubenkopf mit der Grundfläche der Hülse abschloss um eine möglichst geringe Klebefugenbreite zu erzielen. Die Schrauben wurden vor der Klebung in ihrer jeweiligen Position mit dem C-Silikon Eurosil Max 2 Putty (Fa. Henry Schein, Melville, New York, Vereinigte Staaten) fixiert (vgl. Abbildung 14, A).

Der Magnesiumphosphatzement wurde nach dem Anmischvorgang auf den Schraubenkopf gegeben, sodass er die Teflon-Hülse bis leicht über die Grundfläche ausfüllte. Als zweites Fügeteil wurde ein, wie in Kapitel 3.6 hergestelltes, Titanplättchen, welches mit Korox50 sandgestrahlt wurde, zur Grundfläche abschließend verklebt. Zu jeder der beschriebenen vier unterschiedlichen Klebefugenbreiten wurde eine Reihe von zehn Klebungen durchgeführt. Nach einer Aushärtezeit von 16-18 min wurde die Edelstahlschraube samt dem Titanplättchen entformt, welche über eine definierte Klebefuge verbunden waren (vgl. Abbildung 14, B). Anschließend wurde umgehend der Test auf Zugfestigkeit aus Kapitel 3.4.2 durchgeführt.



Abbildung 14: Fixierung der Edelstahlschraube mit C-Silikon im Abstand von 1mm von der Grundfläche der Teflon-Hülse (A).

Klebung einer Korox50-abgestrahlten Edelstahlschraube mit Korox50-abgestrahltem Titan über eine definierte Klebefuge von 3mm Magnesiumphosphatzement (B).

### 3.7 Deskriptive Statistik

Die Statistik wurde durchgehend nach der Lehrmeinung von Arens et al. (2013)<sup>[104]</sup> bewerkstelligt. Innerhalb einer normalverteilten Reihe an Klebungen, also bei jedem Korpus von  $n=10$  Prüfkörpern, in welchem die Prüfkörper mit dem gleichen Klebstoff verklebt wurden, die gleichen Fügeteile verklebt wurden, sowie die Proben gleich lange in PBS gelagert wurden, wurden die Streuungsmaße bestimmt.

Dabei wurde zunächst jeweils das arithmetische Mittel  $\bar{x}$  bestimmt:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (11)$$

Anschließend wurde die Varianz  $\sigma$  und daraus die Standardabweichung  $s_x$  errechnet:

$$\sigma^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \quad (12)$$

$$s_x = \sqrt{\sigma} \quad (13)$$

Mit Hilfe der Standardabweichung wurde der Varianzkoeffizient  $v$  bestimmt:

$$v = \frac{\sigma}{\bar{x}} \cdot 100 \quad (14)$$

Dabei wurde die Streuung bei  $v < 100\%$  als gering, bei  $v > 100\%$  als groß definiert. Der Varianzkoeffizient soll somit der praktischen Bewertung der Standardabweichung die-

nen, indem er diesem mit dem Mittelwert verknüpft. Er ist damit ein Maß für das Risiko der Klebung, vom Erwartungswert abzuweichen.

Als Variablen bei Verwendung von jedem der fünf Klebstoffe (vgl. Kapitel 3.1) zählen zum einen die Art des Prüfverfahrens (vgl. Kapitel 3.4) und die Zeit der Lagerung bzw. Klebstoffalterung (vgl. Kapitel 3.3). Im Falle der Verwendung von MPC kommen noch zwei unterschiedliche Metalle, und zwar rostfreier Stahl und Titan, dazu. Bei letzterem sind drei unterschiedliche Körnungen eine weitere Stellgröße (vgl. Kapitel 3.2). Mit Hilfe des Korrelationskoeffizienten wurde ermittelt, in welchem Ausmaß die genannten Variablen mit den erhaltenen Festigkeitswerten im Zusammenhang stehen. Dieser errechnete sich bei zwei Merkmalsausprägungen  $x$  und  $y$  wie folgt:

$$r_{xy} = \frac{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \cdot \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (15)$$

$r_{xy}$  nimmt dabei Werte zwischen -1 und 1 an. Das Vorzeichen des Wertes entscheidet dabei über die Art der Beziehung der Merkmalsausprägungen zueinander. Ist der Wert positiv, so bedeutet dies, dass mit Erhöhung der Werte des einen Merkmals sich auch die des anderen erhöhen. Bei negativem Vorzeichen bedeutet eine Erhöhung der Werte eines Merkmals das Sinken derer des anderen Merkmals. Der Betrag der Werte hingegen gibt Auskunft darüber, wie stark die Merkmale korrelieren. Werte nahe der 1 korrelieren dabei stärker miteinander als Werte nahe der 0. Da die Art des Prüfverfahrens, also Scherversuch oder Zugversuch, keinen Zahlenwert besitzt, wurde dem Scherversuch die Zahl 1 und dem Zugversuch die Zahl 2 zugeordnet. Es muss zudem betont werden, dass bei der Zeit der Lagerung, sowie bei den verwendeten Körnungen zur Behandlung der Titanoberfläche keine stetige Reihe vorlag. Daher wurden diesen Parametern Zahlen mit entsprechenden Abständen zueinander zugeordnet. Eine Übersicht über die Zuordnung der Zahlen zu den verschiedenen Merkmalsausprägungen gibt Tabelle 5.

## Material und Methoden

Tabelle 5: Zugeordnete Zahlenwerte zur Bestimmung des Korrelationskoeffizienten zu den Merkmalsausprägungen "Strahlmittel", "Prüfverfahren" und "Dauer der Lagerung".

Strahlmittel		Prüfverfahren		Dauer der Lagerung	
Korox50	50	Zugversuch	1	0h	1
Korox110	110	Scherversuch	2	2h	3
Korox250	250			24h	25
				7d	169

Bei der Bewertung des Korrelationskoeffizienten wurde festgelegt, dass ein Betrag von 0-0,5 einen schwachen, von 0,5-0,8 einen mittelstarken und von 0,8-1 einen starken linearen Zusammenhang der Merkmale bedeutete.

Im Falle des MPC wurde zusätzlich ein „Zweistichproben t-Test“ durchgeführt. Dieser wurde auf die Ergebnisse bei der Klebung auf Knochen angewendet, wobei die Ergebnisse der Prüfung der Scherfestigkeit zum Zeitpunkt initial nach der Klebung und nach einer siebentägigen Lagerung in PBS verglichen wurden. Ziel war es dabei, den Einfluss der Werkstoffalterung unter Berücksichtigung einer Irrtumswahrscheinlichkeit zu prüfen. Dabei wurden folgende Hypothese  $H_0$  und die Gegenhypothese  $H_1$  aufgestellt:

$H_0$ : Die Alterung von MPC hat keinen Einfluss auf die Klebefestigkeit

$H_1$ : Die Alterung von MPC hat Einfluss auf die Klebefestigkeit

Die Stichproben  $x$  zum Zeitpunkt der initialen Messung hatten den Probenumfang  $m$ , wobei die Zufallsvariablen mit  $X$  benannt wurden. Die Stichproben  $y$  zum Zeitpunkt der Messung nach sieben Tagen hatten den Probenumfang  $n$ , wobei die Zufallsvariablen mit  $Y$  benannt wurden. Die Teststatistik  $T$  ergab sich aus:

$$T = \frac{\bar{X}_m - \bar{Y}_n}{\sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} \cdot S_p^2}} \quad (16)$$

Diese t- verteilte Statistik besaß  $m+n-2$  Freiheitsgrade. Dabei hat gegolten:

$$S_p^2 = \frac{(m-1)S_{X,m}^2 + (n-1)S_{Y,n}^2}{m+n-2} \quad (17)$$

Das Signifikanzniveau  $\alpha$  betrug 5%.



## 4 Ergebnisse

Ziel der Arbeit war es, mechanische Prüfverfahren von Knochenadhäsiven zu entwickeln, welche eine unkomplizierte initiale *in vitro*-Analyse ermöglichen, sowie die makro-, mikro- und elektronenmikroskopische Analyse der Klebefugen und Prüfkörperoberfläche nach dem Versagen im Test. Dabei sollte im Mittelpunkt stehen, mit den Prüfverfahren realistische und reproduzierbare Ergebnisse zu liefern. Die Testverfahren an sich sollten sich im Rahmen eines *in vitro*-Versuchs möglichst an den Gegebenheiten *in vivo* orientieren. Ein einheitliches Prüfverfahren soll Knochenadhäsive unterschiedlicher Ätiologie hinsichtlich mechanischer Klebeeigenschaften vergleichbar machen. Mit Hilfe dieser Prüfverfahren wurden neben drei kommerziell erhältlichen Klebstoffsystemen zwei Systeme getestet, welche neue Ansätze für Knochenklebstoffe darstellen. Dies waren ein Magnesiumphosphatzement mit einem Phytinsäure-Komplexbildner und ein lichthärtender Knochenklebstoff, der unter Entstehung eines interpenetrierenden Polymernetzwerkes aushärtet. Das Potential solcher Klebstoffe, welche sich im Gegensatz zu den konventionellen medizinischen Adhäsiven nicht aus dem Engineering oder anderen Applikationen heraus entwickelt haben, zeigt vorab ein konkreter Handversuch (Abbildung 15), bei welchem Magnesiumphosphatzement verwendet wurde, der Belastungen bis 20 kg standhielt.

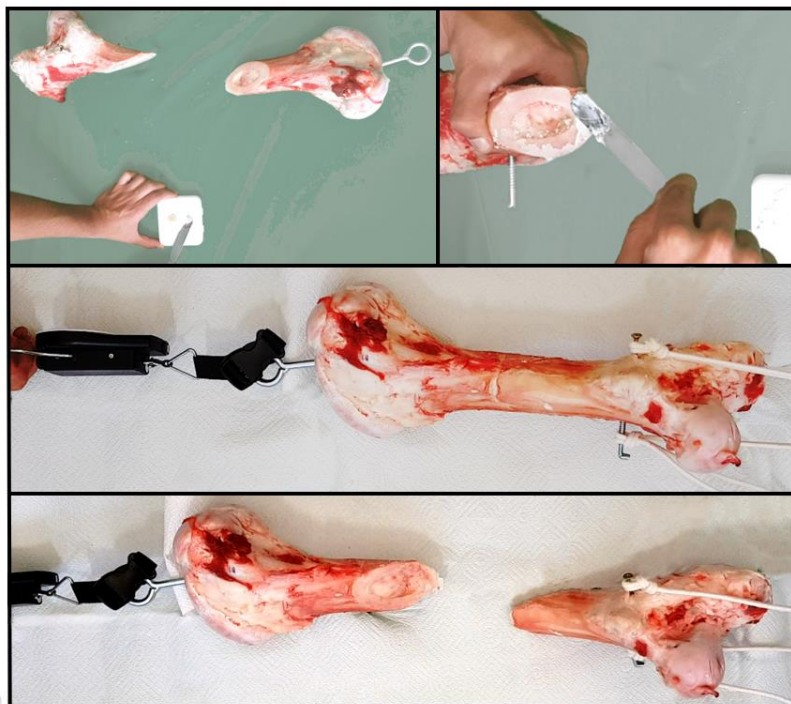


Abbildung 15: Klebung eines bovinen Femurs mit Magnesiumphosphatzement und anschließende Zugbelastung.

#### 4.1 Prüfung der Zug- und Scherfestigkeit

Die errechneten Mittelwerte aus einer jeweiligen Probenanzahl  $n=10$ , welche sich aus den in Kapitel 3.4.1 und Kapitel 3.4.2 beschriebenen Prüfverfahren ergeben, werden in Abbildung 16 bis Abbildung 20 graphisch dargestellt.

Abbildung 16 zeigt eine Rezession der Scherfestigkeit von BioGlue® Surgical Adhesive von  $0,58 \pm 0,26$  MPa auf  $0,33 \pm 0,27$  MPa, sowie der Zugfestigkeitswerte von  $0,58 \pm 0,20$  MPa auf  $0,12$  MPa  $\pm 0,10$  MPa bei siebentägiger Lagerung im PBS-Puffer. Es fiel gerade die geringe Zugfestigkeit des Klebstoffes zum Zeitpunkt nach 7 d auf, sowie eine Abweichung von diesem Schema bei Zugfestigkeitsmessung nach 24 h ( $0,89 \pm 0,10$  MPa).

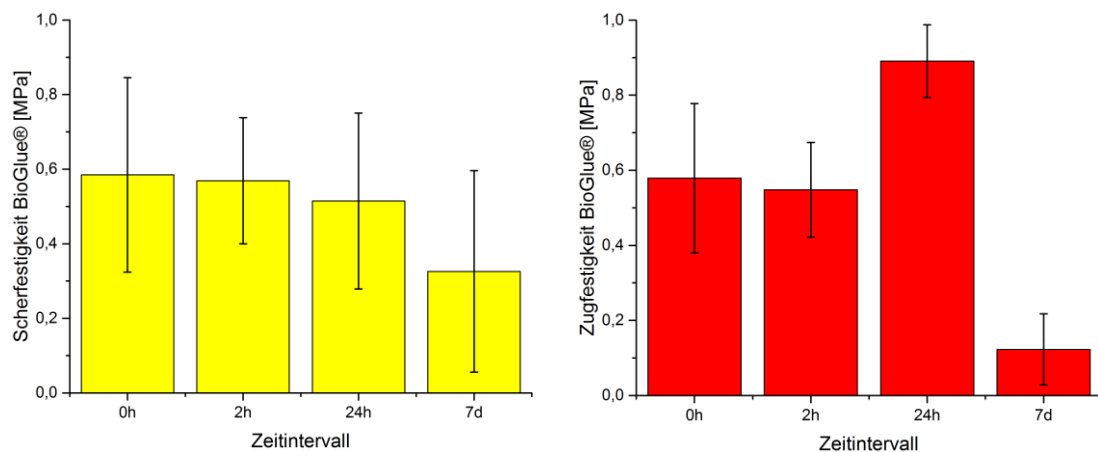


Abbildung 16: Scherfestigkeit (links) und Zugfestigkeit (rechts) von BioGlue® initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.

Die in Abbildung 17 dargestellten Zug- und Scherfestigkeiten Cyanoacrylat-haltiger Gewebadhäsive wiesen generell deutlich höhere Festigkeitswerte auf. TruGlue® (kurze Ethyl-Seitenkette) erbrachte initial höhere Festigkeitswerte (Scherfestigkeit:  $3,64 \pm 0,92$  MPa; Zugfestigkeit:  $7,81 \pm 2,96$  MPa), als Histoacryl® (lange n-Butyl-Seitenkette) erzielen konnte (Scherfestigkeit:  $1,29 \pm 0,60$  MPa; Zugfestigkeit:  $5,83 \pm 3,15$  MPa), wobei die hohen Zugfestigkeitswerte der Cyanoacrylate auffallen. Bei Betrachtung der Festigkeitswerte zum Zeitpunkt nach 7 d, zeigte Histoacryl® hingegen vergleichsweise höhere Festigkeitswerte (Scherfestigkeit:  $3,46 \pm 0,81$  MPa; Zugfestigkeit:  $1,71 \pm 0,23$  MPa) als das konkurrierende TruGlue® (Scherfestigkeit:  $1,28 \pm 0,68$  MPa; Zugfestigkeit:  $0,95 \pm 0,19$  MPa).

## Ergebnisse

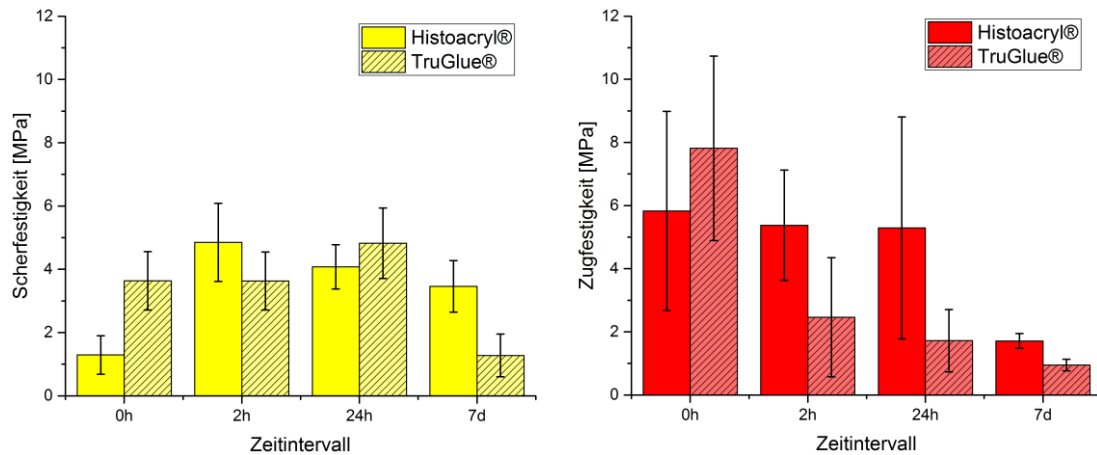


Abbildung 17: Scherfestigkeit (links) und Zugfestigkeit (rechts) von TruGlue® (schraffiert) und Histoacryl® initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.

Abbildung 18 veranschaulicht die Zug- und Scherfestigkeitswerte des MPC aus Trimagnesiumphosphat, Magnesiumoxid und Phytinsäure, welcher zwischen einer Knochenprobe und entweder einer weiteren Knochenprobe, oder Titan unterschiedlicher Körnung verklebt wurde. Generell wurde kein ausgeprägter Festigkeitsverlust mit Alterung der Proben verzeichnet (z.B.: initiale Scherfestigkeit:  $0,72 \pm 0,35$  MPa; vs. Scherfestigkeit nach 7 d:  $0,68 \pm 0,15$  MPa, jeweils bei reiner Knochenklebung), wie es etwa bei BioGlue® oder Cyanoacrylaten der Fall war. Die Zugfestigkeitswerte waren deutlich unter den Scherfestigkeitswerten anzusiedeln (z.B.: initiale Scherfestigkeit:  $1,00 \pm 0,46$  MPa; vs. initiale Zugfestigkeit:  $0,26 \pm 0,13$  MPa; jeweils bei Klebung auf Titan Korox 50). Dabei fielen durchgehend erhöhte Standardabweichungen, sowie Varianzkoeffizienten  $< 40\%$  auf. Tabelle 6 zeigt den errechneten Mittelwert aus allen Proben, unbeachtet zu welchem Zeitpunkt gemessen wurde. Da die Zeitintervalle zwischen den Prüfungen unterschiedlich lang sind, darf dieser Mittelwert nur als etwaiger Wert gesehen werden, der jedoch aus einer erhöhten Probenzahl von  $n=40$  errechnet wurde. Die Festigkeiten wiesen dabei sowohl zwischen verschiedenen Oberflächenbeschaffenheiten von Titan, als auch zwischen Knochen und Titan keine sich abhebenden Unterschiede auf (z.B.: Scherfestigkeiten Titan Korox 50:  $0,67 \pm 0,25$  MPa; vs. Titan Korox 110:  $0,73 \pm 0,49$  MPa; vs. Titan Korox 250:  $0,65 \pm 0,42$  MPa). Tendenziell schienen Festigkeiten bei der Verwendung von Titan Korox 50 größere Werte anzunehmen. Generell wurde im Hinblick auf diese Ergebnisse der Oberflächenkörnung des Titans, zumindest im Rahmen der verwendeten Körnungen, ein entscheidender Einfluss auf die

## Ergebnisse

mechanischen Festigkeitswerte der Klebung beschrieben.

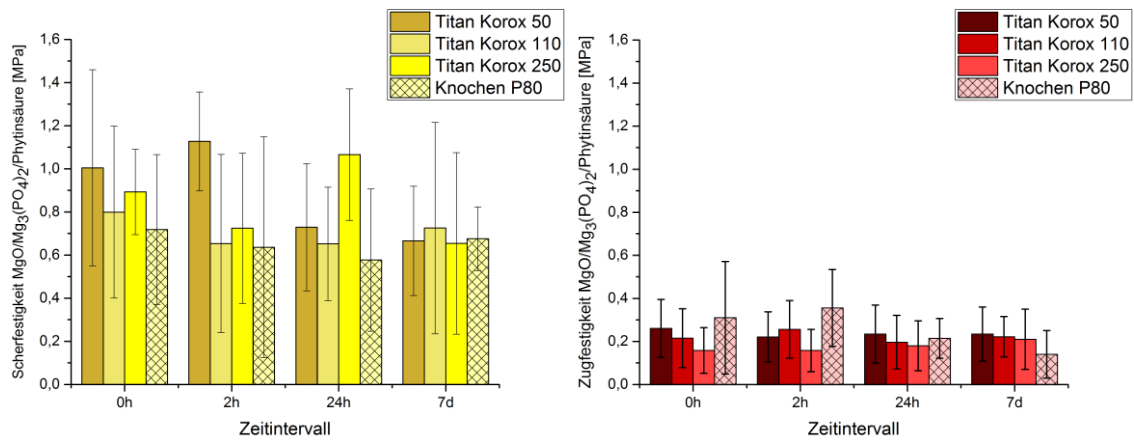


Abbildung 18: Scherfestigkeit (links) und Zugfestigkeit (rechts) in MPa von MPC zwischen Knochen und Knochen und Knochen (angeraut mit SiC-Nassschleifpapier Korn 80) und Titan (abgestrahlt mit Edelmetall Korox 50, Korox 110, Korox 250); Messzeitpunkte initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.

Tabelle 6: Errechnete Mittelwerte aus den gemessenen Zug- und Scherfestigkeiten der Klebungen mit MPC zwischen Knochen und Titan Korox 50, Korox 110, Korox 250 oder Knochen P80, unbeachtet zu welchem Zeitpunkt gemessen wurde.

	Mittelwert	
	Scherfestigkeit [MPa]	Zugfestigkeit [MPa]
Titan Korox 50	0,88	0,24
Titan Korox 110	0,71	0,22
Titan Korox 250	0,83	0,18
Titan Knochen P80	0,65	0,26

Abbildung 19 gibt gemessene Scherfestigkeitswerte im Vergleich zwischen Klebungen von Knochen auf Titan und Knochen auf rostfreiem Stahl derselben Körnung wieder. Dabei wurde ebenfalls Magnesiumphosphatzement verwendet. Klebungen auf rostfreiem Stahl wiesen durchgehend geringere Scherfestigkeiten auf (z.B.: initiale Scherfestigkeit bei Titan:  $1,00 \pm 0,46$  MPa; vs. initiale Scherfestigkeit bei rostfreiem Stahl:  $0,56 \pm 0,28$  MPa, jeweils Korox 50). Aus diesem Grund wurde auf weitere Testreihen, wie Versuche mit anderen Körnungen oder auf einen Zugversuch bei diesem Material, das eine Alternative zum Titan als medizinisches und chirurgisches Material darstellte, verzichtet.

## Ergebnisse

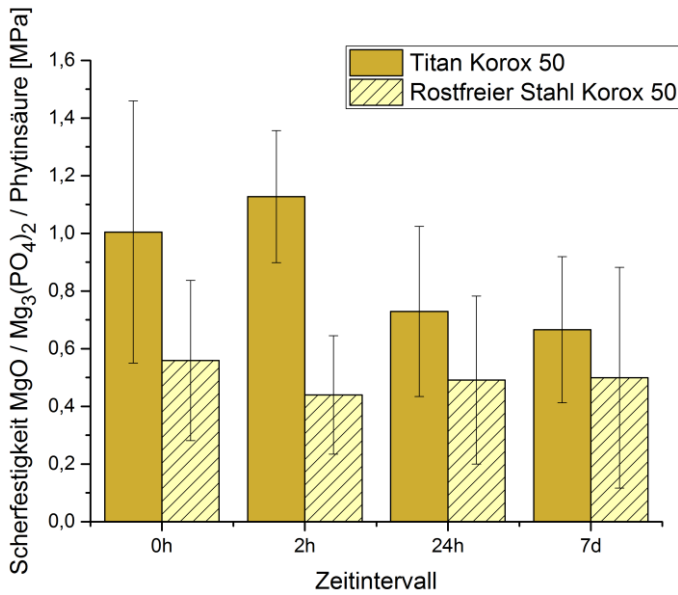


Abbildung 19: Scherfestigkeit von MPC zwischen Knochen und Titan (sandgestrahlt mit Edelkorund Korox 50) und Knochen und rostfreiem Stahl (sandgestrahlt mit Edelkorund Korox 50); Messzeitpunkte initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.

Die Festigkeitswerte der Klebungen mit lichterhärtendem Klebstoff, bestehend aus SPEG, PEGDMA, Newberyit und Campherchinon zwischen zwei Fügeteilen aus Knochen illustriert die Graphik von Abbildung 20. Deutlich reduzierte Festigkeitswerte konnten mit zeitlich zunehmender Lagerung der Proben verzeichnet werden. Von dieser Rezession waren dabei insbesondere die Zugfestigkeitswerte betroffen (vgl.: initiale Scherfestigkeit:  $1,41 \pm 0,74$  MPa; vs. Scherfestigkeit nach 7 d:  $0,23 \pm 0,10$  MPa).

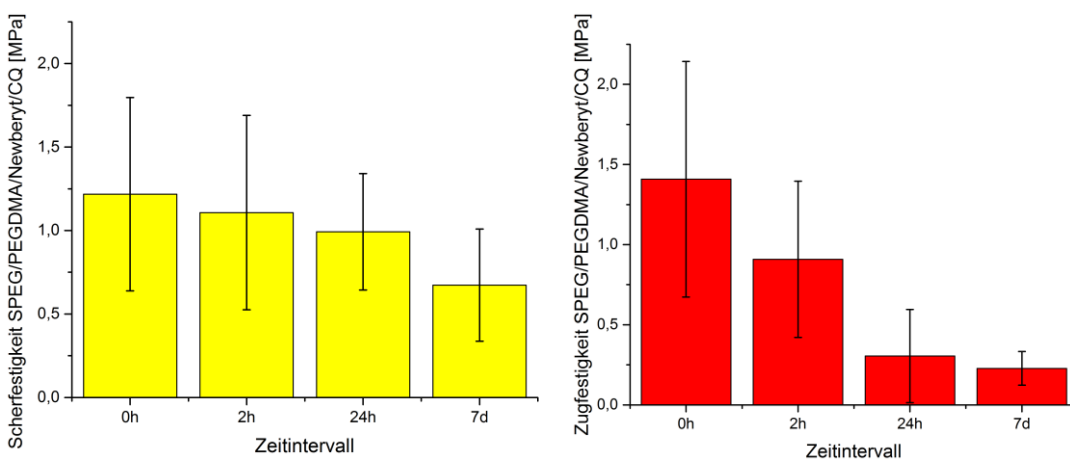


Abbildung 20: Scherfestigkeit (links) und Zugfestigkeit (rechts) von lichterhärtendem Knochenklebstoff (SPEG/ PEG-DMA/ Newberyit/ CQ) initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.

Tabelle 9 und Tabelle 10 (jeweils Kapitel 10: Anhang) geben die genauen Werte aller Mittelwerte, Standardabweichungen und Varianzkoeffizienten wieder.

Abbildung 27 (Kapitel 10: Anhang) zeigt die Ergebnisse in einem anderen Kontext, und zwar Zug- bzw. Scherfestigkeit der Klebstoffe-vergleichend zu den jeweiligen Messzeitpunkten.

#### 4.2 Klebstoffeigenschaften nach dem Spannungs-Dehnungs-Diagramm

Die im Zugversuch zusätzlich ermittelte Längenänderung der Proben erlaubte die Darstellung des Prüfverlaufs im Spannungs-Dehnungs-Diagramm. Dieses konnte neben der Festigkeit Aufschluss über etwaige Klebstoffeigenschaften wie Plastizität, Sprödigkeit oder Elastizität geben. Abbildung 21 zeigt Beispiele typischer Spannungs-Dehnungs-Verläufe der Klebstoffe, welche auf Knochen verklebt und anschließend auf Zug beansprucht wurden.

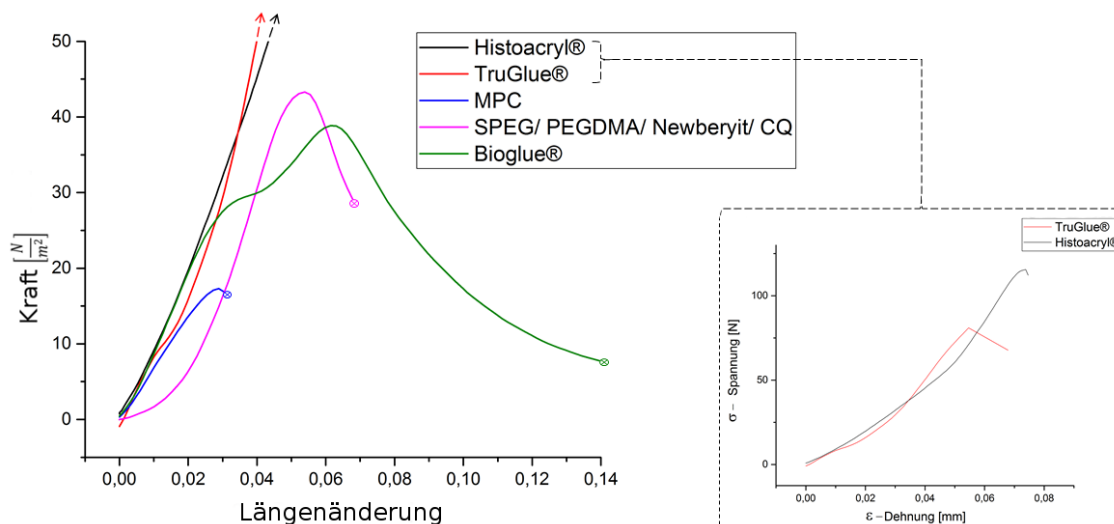


Abbildung 21: Längenänderung bei Zugbeanspruchung einer Klebung mit Histoacryl® (schwarz), TruGlue® (rot), MPC (blau), lichthärtendem Knochenklebstoff (SPEG/ PEGDMA/ Newberyt/ CQ) (rosa) und Bioglue® (grün) im Zugversuch.

Proben mit Bioglue® zeigten ein eher duktileres Verhalten im Spannungs-Dehnungs-Diagramm. Nach einer Gleichmaßdehnung bis hin zur maximalen Festigkeit zeigten die meisten Proben bis zum Bruch plastische Dehnungsanteile im Sinne einer Bruchdehnung. Ein solcher Kurvenverlauf gab Hinweis auf eine Querschnittsverjüngung während der Zugprüfung. Ferner wurden bei vielen Prüfungen von Bioglue® anfängliche Kurvenverläufe gemäß einer Lüdersdehnung beobachtet.

## Ergebnisse

Proben, welche mit lighthärtendem Knochenklebstoff aus SPEG, PEGDMA, Newberyit und Campherchinon geklebt wurden, zeigten ein den Klebungen mit Bioglue® ähnliches Spannungs-Dehnungs-Verhalten, jedoch mit tendenziell weniger ausgeprägtem duktilen Charakter.

Klebungen mit Cyanoacrylat-haltigen Klebstoffen, wie Histoacryl® und TruGlue®, kennzeichnete ein langer linearer Proportionalbereich im Kurvenverlauf. Nach Erreichen der Elastizitätsgrenze wurde zumeist ein abrupter Bruch verzeichnet. Dieser Verlauf, ohne plastisch-elastischen Anteil, wies auf eine spröde Beschaffenheit dieser Klebstoffe hin. Ähnliche Merkmale zeigten Kurvenverläufe bei Klebungen mit keramischem Magnesiumphosphatzement.

### 4.3 Variation der Klebefugenbreite

In Abbildung 22 ist die initiale Zugfestigkeit des Magnesiumphosphatzementes in Abhängigkeit von der Klebefugenbreite dargestellt. Es schien gerade eine Erhöhung der Klebefugenbreite von 1 mm ( $0,38 \pm 0,12$  MPa) auf 2 mm ( $0,58 \pm 0,17$  MPa) eine Zunahme der Zugfestigkeit, und das bei stets kohäsivem Bruchverhalten, zu bewirken.

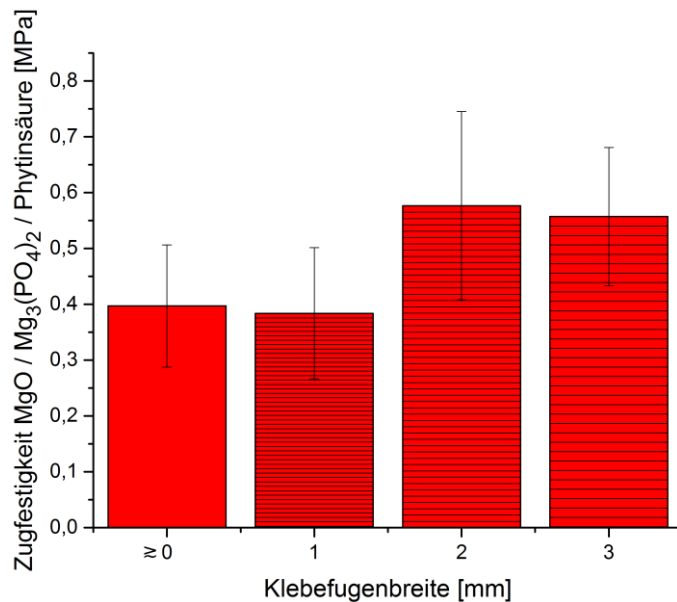


Abbildung 22: initiale Zugfestigkeit zwischen Edelstahl (sandgestrahlt mit Edelmetall Korox50) und Titan (sandgestrahlt mit Edelmetall Korox 50) von MPC mit einer möglichst geringen Klebefugenbreite (0 mm) und definierten Klebefugenbreiten von 1 mm, 2 mm und 3 mm.

### 4.4 Makro- und Mikroskopische Analyse

Klebefugen aus Bioglue® waren von gummiartiger Konsistenz, was den duktilen Charakter aus Abbildung 21 erklärt. Klebungen, welche nach siebentägiger Lagerung in PBS getestet wurden, zeigten bevorzugt diesen zunehmend gelartigen Zustand. Dieses Aufquellen stand in Zusammenhang mit verzeichneten Festigkeitsverluste im zeitlichen Verlauf (vgl. Abbildung 16). Zusammen mit mikroskopischen Aufnahmen, wie in Abbildung 23 (A), wurde auf ein vornehmlich adhäsives Bruchverhalten geschlossen. Diese Aufnahmen zeigten durchgehend Impressionen der Oberflächenbeschaffenheit des antagonistischen Knochenprüfkörpers, was Hinweis auf ein gutes Fließverhalten des Klebstoffes gab.

Eben solche Impressionen zeigten mikroskopische Aufnahmen Cyanoacrylat-haltiger Klebstoffe (vgl. Abbildung 23; B und C). Es wurde vornehmlich ein adhäsives, sowie ein kombiniert kohäsiv-adhäsives Bruchverhalten beobachtet.

Verbliebene Zementfugen nach Prüfung des Magnesiumphosphatzementes (vgl. Abbildung 23; D und E) waren im Umgang eher spröde und fragil. Lichtmikroskopische Aufnahmen bestätigten gute Fließeigenschaften und zeigten eine Durchsetzung des Materials mit Luftblasen. Eine Porengröße von 30-50 µm wurde dabei verzeichnet.

Eine, wie in Kapitel 3.5.1 beschriebene, Einteilung der Klebefläche in Viertel und eine anschließende statistische Auswertung konnte Rückschlüsse auf den Einfluss der Körnung der Oberfläche von Titanplättchen oder den Einfluss einer Knochendrehung bei 2000 U/min ohne Wasserkühlung geben. Hinsichtlich der Titankörnung konnte jedoch nicht festgestellt werden, dass ein Füge teil in besonderem Maße Zementrückstände enthielt. Es war zudem weder ein Zusammenhang mit der Zementalterung in PBS, noch ein Zusammenhang mit einem bestimmten Prüfverfahren feststellbar (vgl. Tabelle 11 und Tabelle 12; Kapitel 10: Anhang). Ferner war jedoch auffällig, dass innerhalb einer Messreihe (n=10) stets ein ähnliches Muster hinsichtlich Lokalisation und Menge der Zementreste auftrat. Eine Analyse der 24 Messreihen, bei denen Knochen auf Titan zementiert wurde, also bei insgesamt 240 Proben, zeigt Tabelle 13 (Kapitel 10: Anhang). Sie ergab, dass in 92 % der Fälle mindestens sieben Proben innerhalb einer Probenreihe (n=10) das gleiche Verhaltensmuster auswiesen. Als Muster wurde definiert, dass sich entweder <50 % oder  $\geq 50$  % der Zementreste auf dem Titan befanden. Bei Proben im Scherversuch, zeigten sogar in 100 % der Fälle mindestens sieben Proben



## Ergebnisse

innerhalb der Messreihen das gleiche Verhalten. Diese Gruppendynamik indizierte, dass die Lokalisation der Zementreste mehr im Zusammenhang mit anderen Variablen im Arbeitsverlauf, wie etwa dem Anmischvorgang, dem Alter oder der Beschaffenheit der Knochenprobe stand. Knochenproben, welche zwar innerhalb der Diaphyse, jedoch in der Nähe von Meta- oder Epiphyse, entnommen wurden, wiesen abweichende Oberflächenstrukturen auf und ließen einen erhöhten Fett- und Knorpelanteil vermuten. Gleiches galt für insgesamt kleine Oberschenkelknochen von tendenziell jungen Rindern.

Klebereste des lichthärtenden Knochenklebstoffs auf Basis von SPEG und PEGDMA zeigten bereits makroskopisch mittig einen unvollständig ausgehärteten Bereich, welcher sich unter dem Mikroskop deutlich darstellte (vgl. Abbildung 23; F, G und H). Die Eindringtiefe des LED-Lichtes betrug dabei etwa 1 mm. Die Klebefugen waren zudem nach einer siebentägigen Lagerung in PBS leicht aufgeweicht. Dieser Zustand stand, gemäß Abbildung 20, mit reduzierten Festigkeitswerten in Verbindung.

## Ergebnisse

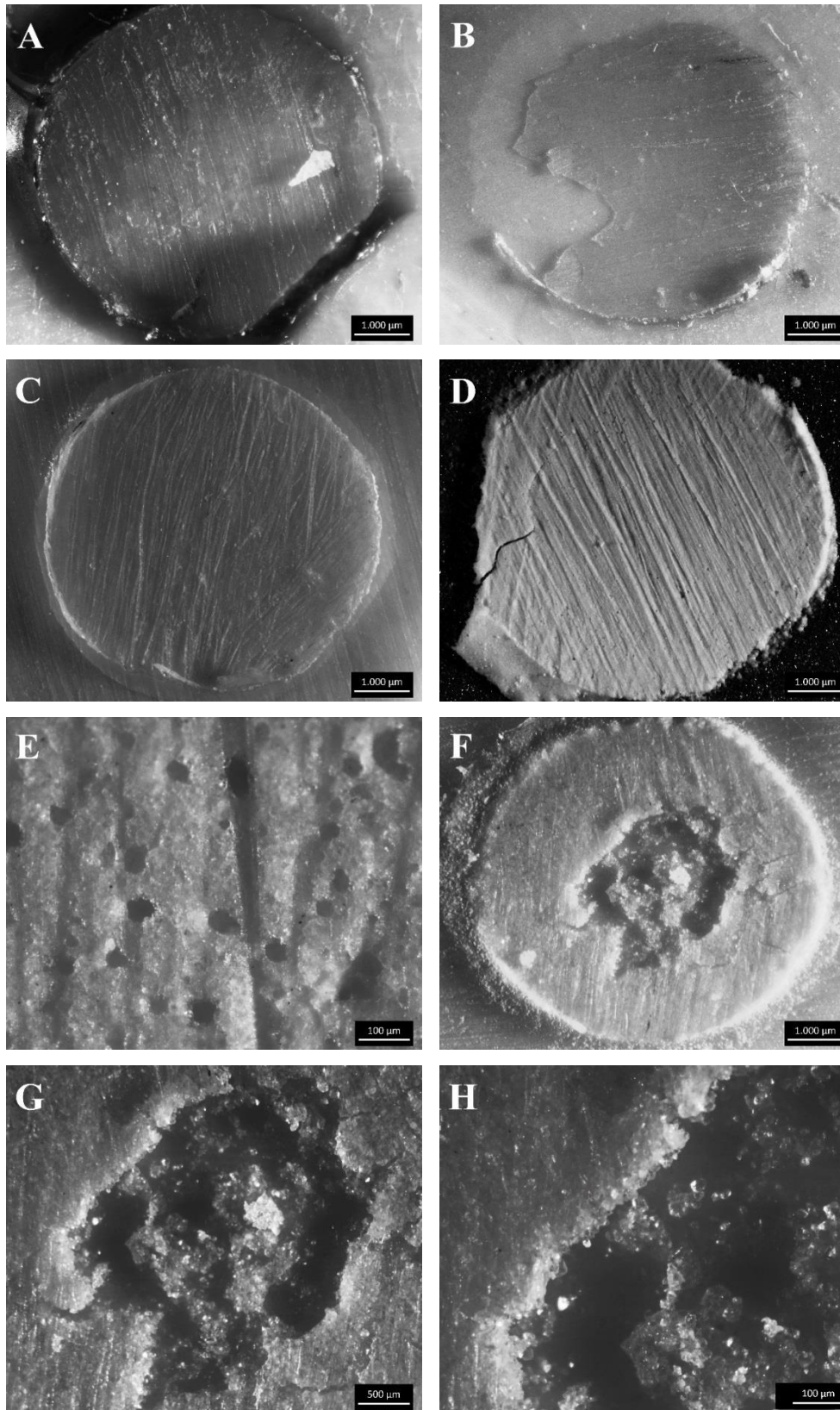


Abbildung 23: Mikroskopische Aufnahme nach Prüfung einer Knochenklebung mit Bioglue® (A), Histoacryl® (B), TruGlue® (C), MPC (D,E) und lichterhärtendem Knochenklebstoff (F-H) nach sieben­tägiger Lagerung und Versagen im Zugversuch.

#### 4.5 Elektronenmikroskopische Analyse

Aufnahmen von Bioglue® (Abbildung 24) im Rasterelektronenmikroskop zeigten in 50000-facher Vergrößerung (D) netzartig verkettete globuläre Strukturen, für welche angenommen wurde, dass sie das Protein Albumin oder Protein-Agglomerate verkörperten. Aufnahmen mit kleinerer Vergrößerung (C) veranschaulichten, wie genannte Albumin-Netze sich flächig homogen darstellten. Aufnahmen mit zunehmend weniger starken Vergrößerung in 500-facher (B) oder 100-facher (A) Vergrößerung ließen parallel verlaufende strangartige Formationen mit feinen Querverbindungen erkennen.

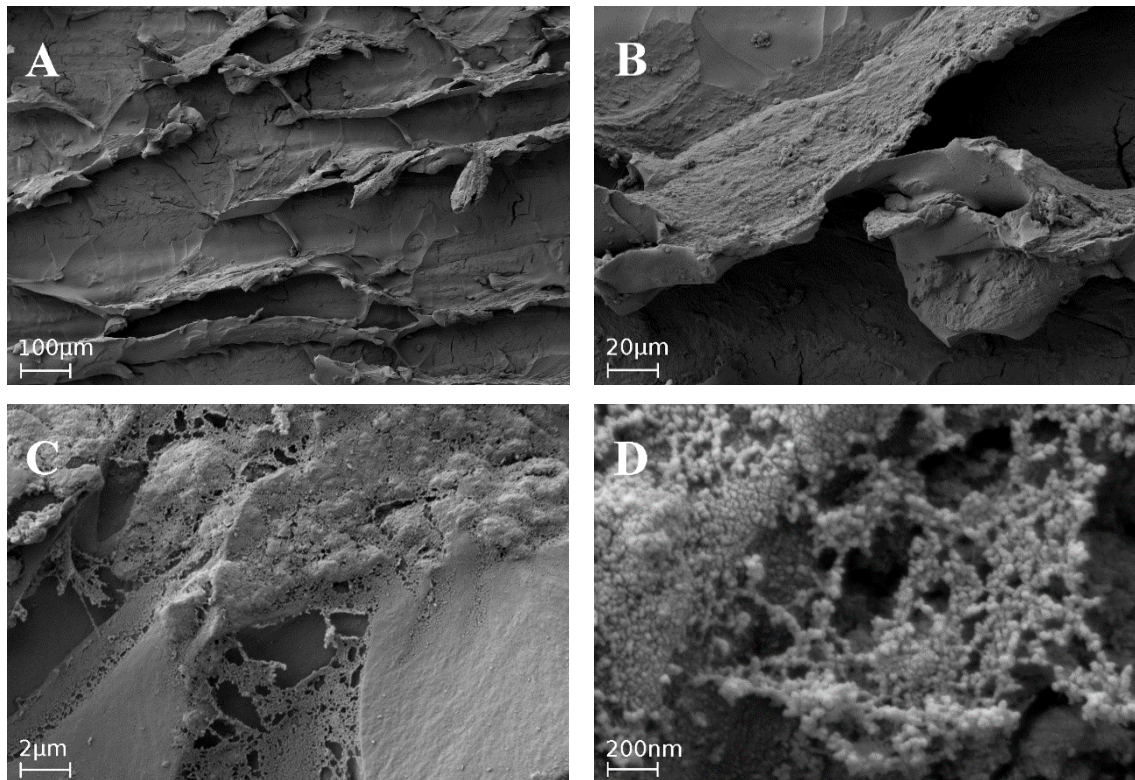


Abbildung 24: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus Bioglue® in 100-facher (A), 600-facher (B), 6000-facher (C) und 50000-facher (D) Vergrößerung nach siebentägiger Lagerung und Versagen im Zugversuch.

Klebefugenaufnahmen des MPCs waren nach dem Versagen im Test von krustenähnlichen Rissformationen gekennzeichnet (Abbildung 25: A, B). Der Zement wies mehrfach Strukturen von diskreter Symmetrie auf, was auf Kristallformationen hinwies. Die Abbildungen B-D zeigen zusätzlich dem Zement aufgelagerte zylindrisch-ellipsoide Gebilde, welche stellenweise in großer Menge auftraten. Für diese Objekte wurden stäbchenförmige Bakterien veranschlagt, was zeigte, dass dieser Magnesiumphosphatzement anscheinend das Wachstum biologischer Organismen unterstützt.

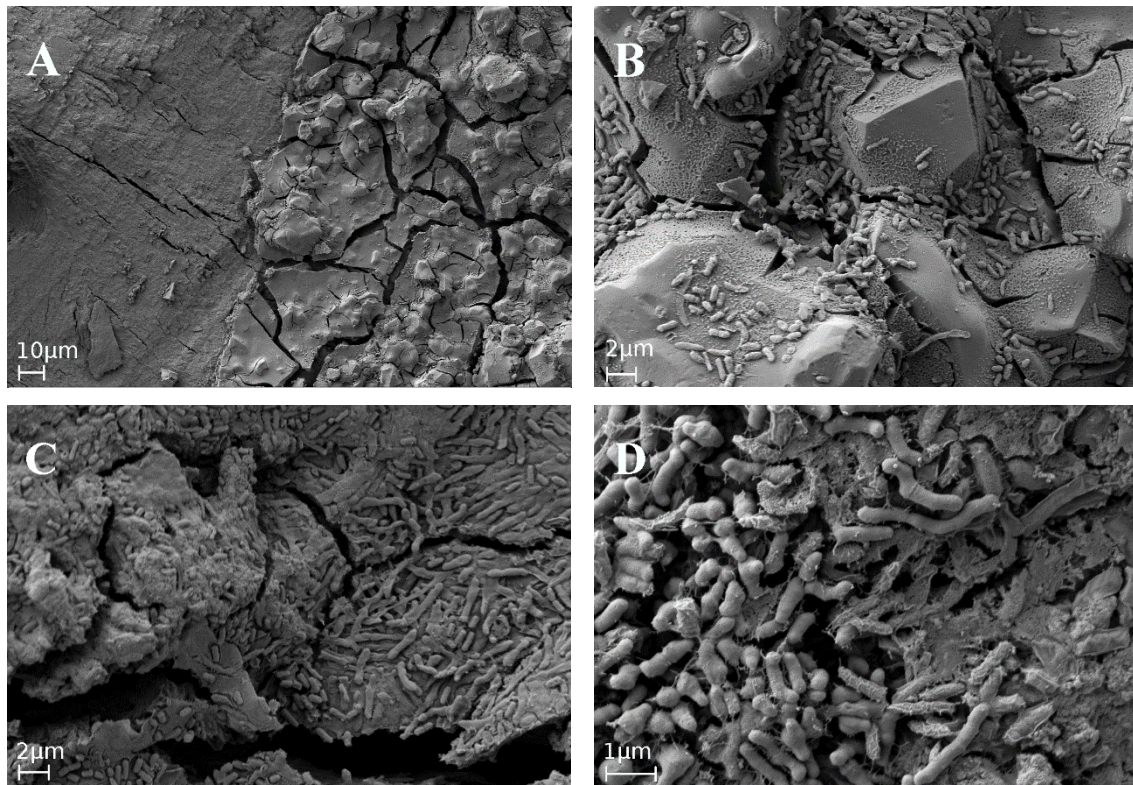


Abbildung 25: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus MPC ( $Mg_3(PO_4)_2$ ;  $MgO$ ;  $C_6H_{18}O_{24}P_6$ ) in 500-facher (A), 3000-facher (B, C) und 10000-facher (D) Vergrößerung nach sieben-tägiger Lagerung und Versagen im Zugversuch.

Abbildung 26 zeigt rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen des lighthärtenden Knochenklebstoffs aus SPEG, PEGDMA, Newberyit und Campherchinon. In Kapitel 4.4 wurde bereits dargelegt, dass die Eindringtiefe des Lichtes etwa 1 mm beträgt, wodurch die Klebefuge nur partiell ausgehärtet wurde. An der Grenze zwischen ausgehärtetem und nicht ausgehärtetem Klebstoff (A) unterscheidet sich eine abrupt endende Schicht eines solide vernetzt erscheinenden Polymernetzwerkes von einer tiefergestellten homogenen Masse. Bei Letzterer handelt es sich um unvollständig ausgehärtete SPEG- und PEGDMA-Masse, in welcher herausgelöste Newberyit-Kristalle kraterförmige Einsenkungen hinterließen (B). Diese Newberyit-Kristalle durchzogen das gesamte Präparat und wiesen eine orthorhombisch-dipyramidale Struktur auf. Es ließen sich Verbindungen zwischen den Kristallen und dem Polymernetzwerk darstellen (A). Das interpenetrierende Polymernetzwerk zeichnete sich in vergrößerten Aufnahmen (C, D) durch seine unstrukturierte, stellenweise schwammartige, Anordnung aus.

## Ergebnisse

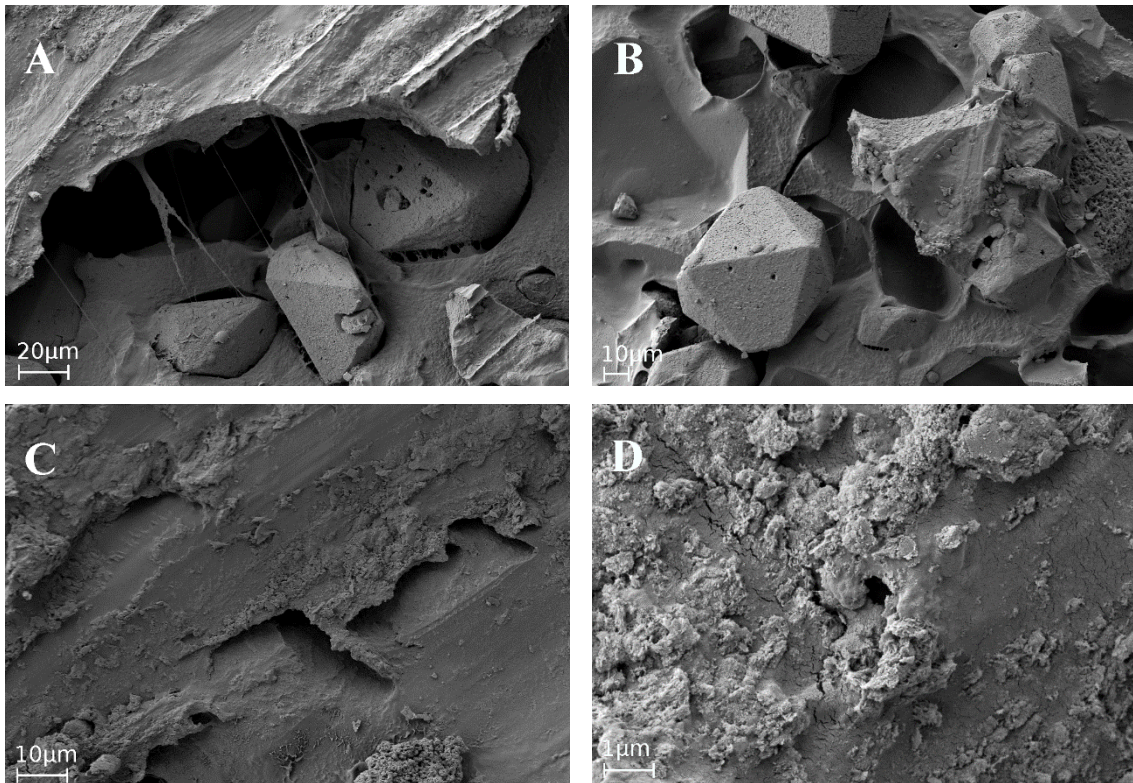


Abbildung 26: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus lichthärtendem Knochenklebstoff (SPEG, PEGDMA, Newberyit, CQ) in 500-facher (A, B), 1000-facher (C) und 10000-facher (D) Vergrößerung nach siebentägiger Lagerung und Versagen im Zugversuch.

#### 4.6 Ergänzende statistische Auswertung

Tabelle 7 zeigt die Korrelationskoeffizienten zwischen den Festigkeitswerten und den Merkmalen "Strahlmittel", "Prüfverfahren" und "Dauer der Lagerung".

Tabelle 7: Korrelationskoeffizient zwischen den Festigkeiten und den Merkmalsausprägungen "Strahlmittel", "Prüfverfahren" und "Dauer der Lagerung".

Klebstoff	Dauer der Lagerung	Prüfverfahren	Strahlmittel
Histoactyl®	-0,70	-0,63	-
TruGlue®	-0,54	-0,11	-
Bioglue®	-0,77	0,012	-
SPEG/ PEGDMA/ Newberyit/ CQ	-0,66	-0,73	-
MPC	-0,15	-0,80	-
MPC auf Titan	-0,11	-0,93	-0,05

Die Korrelationskoeffizienten zeigten, dass bei allen Klebstoffen mit der zeitlichen Lagerung in PBS die Festigkeitswerte sanken. Die niedrigen Beträge bei MPC zeigten, dass dieser nur in sehr geringem Maße davon betroffen war. Bei diesem keramischen Werkstoff war hingegen die Art des Prüfverfahrens sehr ausschlaggebend. Die Beträge nahe der 1 zeigten einen mittelstarken bis sehr starken linearen Zusammenhang, welcher auch beim lichthärtenden Klebstoff zu verzeichnen war. Diese Werkstoffe waren folgendermaßen weniger auf Zug belastbar, während das Prüfverfahren bei den anderen Klebstoffen eine weniger entscheidende Rolle spielte. Beim Zementieren des MPC schien die Körnung des Titans nicht in Korrelation mit den resultierenden Festigkeitswerten zu stehen, da der entsprechende Korrelationskoeffizient betragsmäßig nahe der 0 anzusiedeln war.

Tabelle 8 zeigt zusätzlich, dass der kritische t-Wert bei einseitigem t-Test deutlich über dem Wert der t-Statistik liegt, wodurch die Gegenhypothese  $H_1$  verworfen wurde. Somit konnte davon ausgegangen werden, dass die Lagerung in PBS zu den gegebenen Messzeitpunkten keinen signifikanten Einfluss auf die Festigkeitswerte des MPC hatte.

## Ergebnisse

Tabelle 8: Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen:  
 ·  $H_0$ : Die Alterung von MPC hat keinen Einfluss auf die Klebefestigkeit  
 ·  $H_1$ : Die Alterung von MPC hat Einfluss auf die Klebefestigkeit  
 · Zufallsvariable X: Messung initial (0h)  
 · Zufallsvariable Y: Messung nach Lagerung in PBS für sieben Tage (7d)  
 · Signifikanzniveau  $\alpha = 5\%$ .

	0 h	7 d
Mittelwert	0,72	0,68
Varianz	0,14	0,02
Beobachtungen	10	10
Hypothetische Differenz der Mittelwerte	0	
Freiheitsgrade (df)	11	
t-Statistik	0,32	
P(T<=t) einseitig	0,38	
Kritischer t-Wert bei einseitigem t-Test	1,80	
P(T<=t) zweiseitig	0,75	
Kritischer t-Wert bei zweiseitigem t-Test	2,20	

## 5 Diskussion

Ziel der Arbeit war es, mechanische Prüfverfahren von Knochenadhäsiven zu entwickeln, welche eine unkomplizierte initiale *in vitro*-Analyse ermöglichen, sowie die makro-, mikro- und elektronenmikroskopische Analyse der Klebefugen und Prüfkörperoberfläche nach dem Versagen im Test. Dabei sollte im Mittelpunkt stehen, mit den Prüfverfahren realistische und reproduzierbare Ergebnisse zu liefern. Die Testverfahren sollten sich im Rahmen eines *in vitro*-Versuchs möglichst an den Gegebenheiten *in vivo* orientieren. Ein einheitliches Prüfverfahren soll Knochenadhäsive unterschiedlicher Ätiologie hinsichtlich mechanischer Klebeeigenschaften vergleichbar machen.

Neben der Prüfverfahren, mit denen unter anderem drei kommerziell erhältliche Klebstoffsysteme getestet wurden, waren speziell zwei Klebstoffsysteme im Fokus der Arbeit, welche neue Ansätze für Knochenklebstoffe verfolgen. Dies waren zum einen ein Magnesiumphosphatzement mit einem Phytinsäure-Komplexbildner und zum anderen ein lighthärtender Knochenklebstoff, der unter Entstehung eines interpenetrierenden Polymernetzwerkes aushärtet.

Für eine künftige Durchführung war es wichtig, den Test für den Prüfer zum einen möglichst einfach zu gestalten, zum anderen zu berücksichtigen, dass es sich bei Knochen nicht um einen Werkstoff wie Metall oder Keramik, sondern um zelluläres Gewebe handelt, welches entsprechender Behandlung bedarf. Neben mechanischer Parameter, müssen Knochenklebstoffe durch ihren Einsatz im menschlichen Körper viele zusätzliche Eigenschaften aufweisen, welche neben mechanischen Prüfverfahren Gegenstand einer Klebstoff-Analyse sein müssen.

### 5.1 Diskussion der Methoden

Eine Problematik, die es beim Test von Knochenklebstoffen zu beachten gilt, ist, dass Knochen als „lebendes“ Gewebe von Individuen entnommen wird, und somit eine Einheitlichkeit der letztendlichen Prüfkörper erheblich erschwert wird. Eine Literaturrecherche ergab eine Uneinheitlichkeit im Ablauf der Knochenvorbereitung, sowie Prüfung unter den Autoren. Zahlreiche Unterschiede kristallisierten sich heraus, welche in Kapitel 2.5 wurden. Im Folgenden werden die Gründe diskutiert, weswegen sich in dieser Arbeit auf die einzelnen Arbeitsabläufe und Versuchsaufbauten im Speziellen fest-



gelegt wurde:

Es wurde sich für bovinen Knochen, und dabei lediglich für Kortikalis am Femur, entschieden. Rinderfemur bietet ein Höchstmaß an kortikalem Material. Eine Klebung der markhaltigen Spongiosa würde sich auf Grund der nicht festen Konsistenz und einer schwer stoppbaren Blutung, intraoperativ als schwierig gestalten. Auch konservative Osteosyntheseplatten finden nach Möglichkeit Verankerung in der Kortikalis<sup>[16]</sup>. Da die Kortikalis im Bereich der Diaphyse am dicksten ist, wurde dieser Teil des Knochens verwendet. Dabei wurde jedoch nicht darauf Rücksicht genommen, in welchem biologischen Alter sich das Rind befand. Jüngere Rinderknochen enthalten, besonders im Bereich der Epiphyse entscheidend mehr mineralisiertes oder noch nicht mineralisiertes Knorpelmaterial<sup>[9, 105]</sup>. Da sich dieser Umstand nach Prüfkörperherstellung bereits makroskopisch darstellte, wird angeraten, in künftigen Arbeiten lediglich Knochen ausgewachsener Rinder zu verwenden. Lediglich eine Angabe von Tierart und Knochenbezeichnung erscheint als unzureichend. Da für eine möglichst primäre Knochenheilung die Reposition im Vordergrund steht<sup>[19]</sup>, und man daher keine von Periost überzogenen Frakturrenden reponiert, empfiehlt es sich das Periost von den Knochenprüfkörpern zu entfernen. Dieser Arbeitsschritt findet in den meisten wissenschaftlichen Arbeiten mit Knochenprüfkörpern keine Erwähnung. Um operative Knochenverhältnisse bereits *in vitro* zu simulieren, erscheint es sinnvoll, möglichst frischen Knochen zu verwenden. Der Knochen wurde daher am Schlachttag abgeholt und sofort weiterarbeitet. Auf Lagerungen, wie etwa das Einfrieren, wurde verzichtet. Bei Weiterverarbeitungsmethoden, wie dem in Form schleifen, Oberflächenbearbeitung der Prüfkörper oder Sägen, wurde Wasserkühlung verwendet. Hitzenekrosen und bleibende Schädigungen treten in etwa ab einer Temperatur von 50 °C- 60 °C auf<sup>[106-108]</sup>. Dafür werden vor allem die Denaturierung der alkalischen Phosphatase<sup>[108]</sup> oder die Strukturveränderung des Kollagens<sup>[106]</sup> verantwortlich gemacht. Fuchsberger (1989)<sup>[109]</sup> besagt eine deutliche Senkung der Knochentemperatur bei entsprechender Kühlung mit isotonischer Kochsalzlösung. Es muss im Nachhinein bemängelt werden, dass bei der Verwendung der Drehmaschine (vgl. Kapitel 3.2) aus technischen Gründen keine Wasserkühlung möglich war. Es wäre jedoch zu empfehlen Drehmaschinen mit Wasserkühlung, wie etwa bei Brauer *et al.* (1979)<sup>[87]</sup>, zu verwenden. Eben aus diesem Grund wurde sich für Schleifpapier, bei welchem eine Wasserkühlung technisch möglich ist, als Mittel der Oberflächenbearbeitung

entschieden. Die Oberflächenkörnung, wie aber auch die Prüfkörpergeometrie und Klebeflächengröße, im *in vitro*-Versuch hängt stark vom angestrebten Einsatzgebiet *in-vivo* ab. Sano und Hidehiko (1994)<sup>[99]</sup> schlagen für Zugversuche eine Klebefläche von 1,6-1,8 mm<sup>2</sup> vor. Eine solch kleine Klebefläche zu realisieren, ist jedoch, gerade beim Umgang mit Zementen, ein Problem in der Applikation, welches nicht zu realisieren ist, und wird für einen Handversuch als fehleranfällig erachtet. Kleine Klebeflächen generell sind jedoch schon zu empfehlen, da sie dafür sorgen, dass die Festigkeit der Klebefuge die Dehngrenze der Fügeiteile nicht überschreitet. Eine Dehnung der Fügeiteile vermag lokale Spannungsspitzen zu induzieren und damit die übertragbare Last zu dezimieren. <sup>[5, 110]</sup>

Neben reinen Knochenklebungen wurden auch Klebungen zwischen Knochen und Titan, bzw. rostfreiem Stahl, durchgeführt. Ein biokompatibles Metall, welches auch auf Grund seiner mechanischen Festigkeit und Korrosionsbeständigkeit, in der Medizin Anwendung findet, ist Reintitan, aber auch die Titanlegierungen TiAl6V4 und TiAl6Nb7. Daneben sind Kobalt-Basislegierungen oder rostfreie Stähle aus Chrom, Nickel und Molybdän zu nennen. <sup>[111]</sup> Da, wie etwa bei der Versorgung von Unterkieferfrakturen, das Knochenangebot für eine Miniplattenosteosynthese mit Schrauben in schwierigen Fällen sehr gering ist<sup>[112]</sup>, wäre eine Überlegung, die Osteosyntheseplatten zu kleben und somit auf Schrauben zu verzichten. Diese Idee, welche auch Endres (2008)<sup>[102]</sup> verfolgte, würde jedoch die Entfernung der Platte nach erfolgter Knochenheilung erschweren. Eine chirurgische Metallentfernung wird jedoch nach der Meinung von Schildhauer (2007)<sup>[113]</sup> ohnehin zu oft indikationslos durchgeführt und birgt zahlreiche Komplikationen. Da die Metallplättchen während der Herstellung keiner Wasserkühlung bedürfen, und das Abstrahlen als optimales Verfahren für die Oberflächenbearbeitung angesehen wird<sup>[22]</sup>, wurden diese mit Korund feingestrahlt und zur optimalen Benetzung mit Klebstoff entfettet<sup>[22]</sup>.

Nach Prüfkörperherstellung erfolgte jegliche Lagerung von Knochen in phosphatgepufferter Salzlösung bei 37 °C. Vorteile gegenüber einem Einfrieren der Proben<sup>[101, 102]</sup>, einer trockenen Lagerung<sup>[88]</sup> oder Lagerung in Wasser<sup>[97]</sup> sind, dass bei einem für einen *in-vitro* Versuch vertretbaren Aufwand, ein konstanter physiologischer pH-Wert garantiert und der osmotische Druck des Körpers imitiert wird.

Der Klebevorgang an sich bietet eine Reihe von Fehler- und Variationsmöglichkeiten. Zunächst gilt es, den Knochen, im Rahmen der Möglichkeiten eines Chirurgen, zu trocknen. Angelehnt an die Arbeit eines Chirurgen tupfen die meisten Autoren die Prüfkörper trocken<sup>[87, 96, 97]</sup>. Der Feuchtigkeitsgehalt der Oberfläche ist damit undefiniert, was unterschiedliche Studien schwer vergleichbar macht. Die Hydrophilie von Klebstoffen ist allerdings verschieden. So gibt es zum Beispiel Cyanoacrylat-haltige Klebstoffe, welche gerade in wässrigen Milieu schnell aushärten<sup>[114]</sup>. Der Feuchtigkeitszustand ist also eine wichtige Kenngröße, die sich jedoch nicht ohne erheblichen Aufwand justieren lässt. So bleibt es noch Aufgabe eines jeden Autors die Methodik der Trocknung und den Feuchtigkeitszustand der Knochenoberfläche weitestgehend zu konkretisieren. Diesem Aspekt der Knochenklebung könnte fortführend weitere Aufmerksamkeit gewidmet werden. Einfache Methoden zur Erfassung der Oberflächenfeuchtigkeit, wie sie etwa schon bei Putzfassaden angewandt wird<sup>[115]</sup>, könnte auf den Knochen übertragen werden.

Eine weitere unpräzise Stellgröße beim Kleben ist der Anpressdruck, der, je nach Viskosität und Fließverhalten des Klebstoffes, wiederum die Klebschichtdicke beeinflusst. Ein Anpressen mit Fingerdruck, wie es in den meisten Arbeiten praktiziert wird<sup>[87, 93, 97]</sup>, ist nicht standardisierbar. Bei Druckapplikation kommt es zum Austreiben niedermolekularer Spaltprodukte, wie auch Lösemittelreste<sup>[5]</sup>. Imoto und Hosokawa (1966)<sup>[116]</sup> beobachten, dass eine Erhöhung des Drucks bis zu einem gewissen Punkt die wirksame Oberfläche, und damit die resultierende Festigkeit, vergrößert. Weitere Druckerhöhungen führen jedoch zu einer Abnahme der Festigkeit. Dies erklären sie mit einer Zunahme der Viskosität, was ebenfalls Bueche (1962)<sup>[117]</sup> schildert. Durch einen geeigneten Druck werden zudem die Entfernungen zwischen den Molekülen des Klebstoffes und denen des Fügeteils reduziert. Dies führt zu einer Erhöhung der Adhäsionsarbeit  $W_A$ .<sup>[5]</sup> Diese wird durch die Young-Dupré-Gleichung ausgedrückt, wobei  $\sigma_{KM}$  die Oberflächenenergie zwischen dem Klebstoff und der umgebenden Gasphase darstellt<sup>[118]</sup>:

$$W_A = \sigma_{KG}(1 + \cos\alpha) \quad (18)$$

Die Gleichung zeigt zudem auf, dass die größte Adhäsionsarbeit bei  $\alpha=0$ , also bei vollständiger Benetzung, frei wird. Diese entsprechende Arbeit müsste bei einer Trennung der Klebung aufgewendet werden. Trotz des beschriebenen Einflusses des Anpressdruckes wäre eine verbindliche Norm für diesen jedoch undenkbar, da auf die spezifischen

Eigenschaften und Beschaffenheit eines jeden Klebstoffes Rücksicht genommen werden muss. Die Angabe eines geeigneten Anpressdruckes wäre für den Anwender eines Klebstoffes ohnehin eine nicht umsetzbare abstrakte Größe. Als sinnvoller Parameter wurde jedoch eine *in-vitro* Variation der Klebefugenbreite erachtet, welche dem Anwender zumindest einen Hinweis auf die Toleranz des Klebstoffes gäbe. Die in Kapitel 3.6 aufgezeigte Methode zur Variation der Klebefugenbreite beinhaltet einen Halbzylinder aus Teflon (Polytetrafluorethylen) als Vorrichtung. Da dieses Material als hochgradig inerte Substanz bekannt ist<sup>[119]</sup>, hilft es dabei Festigkeitsverluste beim Entformen, z.B. durch Rissinduktion, zu vermeiden. Während andere Autoren feste Abstandshalter von definierter Größe verwenden<sup>[98, 120]</sup>, beruht diese Methode auf der Justierung der Position eines Fügeteils innerhalb einer „Leitschiene“, wie etwa der Teflon-Hülse. Ein ähnliches System führten Feligioni *et al* (20013)<sup>[121]</sup> aus. Im Unterschied zum Halbzylinder verwendeten sie dagegen ein geschlossenes System, in das über eine Öffnung der Klebstoff injiziert wurde<sup>[121]</sup>. Nachteil dieses Verfahrens wäre, dass der Klebstoff eine ausreichende Fließfähigkeit aufweisen muss. Die Klebstoffapplikation kann zudem visuell nicht überwacht werden. Auch das Entformen gestaltet sich als schwieriger als bei einem Halbzylinder, welcher in zwei Raumdimensionen entformbar ist. Die Aushärtung eines lighthärtenden Klebstoffes wäre zudem nicht möglich. Neben dem Umstand, dass geschlossene Systeme mit einer definierten zu injizierenden Klebstoffmenge vergesellschaftet sein müssen, muss ein räumlicher Puffer hinsichtlich einer Änderung des Klebstoffvolumens während des Abbindens mit einkalkuliert werden. Die Höhe des C-Faktors (Verhältnis zwischen gebundener und ungebundener Oberfläche) kann entscheidend sein bei der Polymerisationsschrumpfung und der damit verbundenen Entstehung innerer Spannungen<sup>[122]</sup>. Die Einflussnahme des C-Faktors könnte weiterführend bei einem gegebenen Knochenklebstoff Gegenstand einer Untersuchung sein.

Der soweit beschriebenen Prüfkörperherstellung und dem anschließenden Klebevorgang mit Lagerung, folgte das eigentliche Prüfverfahren. Die Besonderheit der Zugfestigkeitsprüfung (Kapitel 3.4.2) ist, dass im Prüfsystem ein zweiter Klebstoff, nämlich Epoxidharz, vorhanden ist. Alternativ könnte man die Knochenfügeteile in Branchen einspannen, wie es etwa Kalpikari (1986)<sup>[97]</sup> handhabten. Um die Klebung hierbei jedoch exakt axial zu belasten, würden die Fügeteile für das orthogonale Einspannen in

die Branchen eine präzise definierte Geometrie benötigen. Auch für das Kleben wäre eine Klebevorrichtung nötig, welche die Fügeile in der gleichen axialen Richtung zusammenführt, um Schälkräfte zu vermeiden. Ferner nicht zu vernachlässigen ist die Biegebeanspruchung, welche die Fügeile beim Einbringen in Branchen oder durch etwaiges Bohren und Verschrauben erfahren, was gerade in spröden Klebefugen Risse induzieren kann. Da Epoxidharz mit einer Zugfestigkeit von 30-40 MPa<sup>[22]</sup> deutlich über den zu erwartenden Festigkeitswerten der Knochenklebstoffe liegt und die Gesamtfestigkeit in einem System der Festigkeit des schwächsten Gliedes entspricht<sup>[5]</sup>, scheint eine Klebung eine schonende Variante der Prüfkörperbefestigung zu sein.

Bei einer Scherfestigkeitsprüfung käme alternativ auch eine Prüfung einer überlappenden Klebung nach DIN EN 1465 zweier gleichförmiger Fügeile in Frage. In dieser Arbeit wurde ein Fügeile jedoch mittels Stempel von einem fixierten Fügeile abgesichert. Grund hierfür war die kongruente Prüfkörpergeometrie zum Zugversuch, was letztendlich die Ergebnisse besser vergleichbar macht.

Zur Festlegung der Prüfgeschwindigkeit auf 1 mm/min dienten anderen Arbeiten zur Orientierung<sup>[93, 94]</sup>, wobei jedoch auch Arbeiten mit anderen, wenngleich ähnlich geringen, Prüfgeschwindigkeiten existieren<sup>[88, 96, 97, 100]</sup>. Glocke und Kahl-Nieke (2005)<sup>[123]</sup> variierten solch geringe Prüfgeschwindigkeiten bei einer Spannweite zwischen 0,1 mm/min und 5 mm/min. Sie konnten jedoch keinen signifikanten Einfluss auf die Scherfestigkeit darlegen<sup>[123]</sup>.

### 5.2 Diskussion der Ergebnisse

Raanani (2001)<sup>[48]</sup> zitierte nach einem 1997 von Yuksel *et al.*<sup>[124]</sup> gehaltenem Vortrag am XVI. Kongress der International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH): „*In vivo bovine animal studies demonstrated that aortic bonding with BioGlue produced a tensile strength of  $847 \pm 127$  g/cm<sup>2</sup> and an ex vivo shear strength (lamina to media) of  $256 \pm 46$  g/cm<sup>2</sup>.*“<sup>[48]</sup>. Damit läge die Zugfestigkeit von BioGlue® bei Verwendung an der Aorta bei etwa 0,85 MPa. Die Scherfestigkeit ergäbe etwa 0,26 MPa. Die Werte umfassen die Größenordnung der in dieser Arbeit ermittelten Festigkeitswerte für BioGlue® auf Knochen (initiale Zugfestigkeit  $0,58 \pm 0,2$  MPa; initiale Scherfestigkeit  $0,58 \pm 0,26$ ), wobei Zug- und Scherfestigkeit nach Yuksel *et al.*<sup>[124]</sup> stärker divergierten. Geringe Zugfestigkeitswerte kommen leicht durch exzentrische Belastungen und damit

aufretende Schälkräfte zustande. Es muss betont werden, dass von Raanani<sup>[48]</sup> keinerlei Informationen über Testmethoden, Zeitpunkt der Messung oder Zustand der Präparate vorliegen. Auffällig an den eigenen Ergebnissen sind stark reduzierte Festigkeitswerte nach einer siebentägigen Lagerung in PBS. Dies könnte einer Hydrolyse geschuldet sein, wobei BioGlue® wohl weniger anfällig sein soll, als beispielsweise das konkurrierende CoSeal®<sup>[41]</sup>, das funktionalisiertes vierarmiges PEG enthält. Auffällig war aber eine Flüssigkeitsinkorporation nach sieben Tagen. Ein solches Quellen wurde auch von Lauvin *et al.* (2015)<sup>[125]</sup> beobachtet.

Bei Betrachtung der Cyanoacrylat-haltigen Klebstoffe Histoacryl® und TruGlue® siedelten sich insbesondere initial die Zugfestigkeitswerte über den Scherfestigkeitswerten an (vgl. Abbildung 17). Auch Quinn (2005)<sup>[41]</sup> lobte explizit die enorme Zugfestigkeit der Cyanoacrylate. Die Klebefestigkeit Polyadditionsvernetzender Klebstoffe, wie es Cyanoacrylat-Klebstoffe sind, sah Habenicht (2016, S153)<sup>[22]</sup> im Bereich von 10-20 MPa. Derivate auf Cyanoacrylat-Basis, welche als medizinische Gewebekleber eingesetzt werden, scheinen eine geringere Klebefestigkeit zu besitzen: Bishara (2002)<sup>[56]</sup> maß mit einem Klebstoff der zu 70-80 % aus Ethyl-2-Cyanoacrylat bestand zwischen Molaren und kieferorthopädischen Brackets eine Klebefestigkeit von 5,8 MPa nach einer halben Stunde, welche nach 24 Stunden auf 7,1 MPa ansteigt. Brauer *et al.* (1979)<sup>[87]</sup> messen Klebefestigkeiten von Isobutyl-2-cyanoacrylat und Isoamyl-2-cyanoacrylat von 6,2-7,2 MPa. Sie stellten jedoch fest, dass die Klebefestigkeit mit der Dauer der Lagerung in wässrigem Milieu sank und beobachteten diese Hydrolyse des Klebstoffs weniger bei Cyanoacrylaten mit längerer Alkylseitenkette<sup>[87]</sup>. Auch in dieser Arbeit wies Histoacryl® Gewebekleber bei Lagerung in PBS nach sieben Tagen eine höhere Festigkeit auf als TruGlue® mit vergleichsweise kürzerer Alkyl-Seitenkette, mutmaßlich auf Grund der erhöhten Hydrophobizität von Histoacryl® und der somit erhöhten hydrolytischen Resistenz. Neben diesem Zusammenhang nannte Quinn (2005)<sup>[41]</sup> auch die Polymerisationsdauer, welche sich mit kürzerer Seitenkette vermindert (vgl. Kapitel 2.4.2), und die Elastizität, welche mit wachsender Seitenkette zunimmt. Der Aspekt der Polymerisationsdauer spiegelt sich in den erhaltenen Festigkeitswerten der Cyanoacrylate wieder. Bei initialen Zug- und Scherfestigkeitsprüfungen lagen die Festigkeitswerte von TruGlue® deutlich über denen von Histoacryl® Gewe-

bekleber. Trotz beschriebener höherer Elastizität von Cyanoacrylaten mit längerer Seitenkette, wurde sowohl bei TuGlue®, also auch bei Histoacryl® ein sprödes Bruchverhalten detektiert (vgl. Abbildung 21, Kapitel 4.2). Letzteres wurde allerdings zuvor bereits als eher spröde charakterisiert<sup>[126]</sup>.

Farrar (2012)<sup>[6]</sup> erachtete die mechanischen Eigenschaften von Kalzium- oder Magnesiumphosphatzementen als unbefriedigend für den Einsatz als Knochenklebstoff. Ihre Sprödigkeit mache sie zudem unzulänglich<sup>[6]</sup>. Allerdings erhöhte die Verwendung von Pyrophosphat in einem Bruschit-Zementsystem beispielsweise, die Klebefestigkeit zu Knochen bereits auf 1,3 MPa<sup>[127]</sup>. Die erhaltenen Scherfestigkeitswerte des untersuchten Magnesiumphosphatzementes liegen initial bei 0,72 MPa, die Zugfestigkeitswerte bei 0,31 MPa. Dieser Magnesiumphosphatzement gehört als chemische Verbindung aus einem Metall und nichtmetallischen Oxiden zur Gruppe der keramischen Werkstoffe<sup>[128]</sup>. Diese weisen typischerweise eine deutlich niedrigere Zugfestigkeit auf<sup>[85]</sup>, was die gemessenen Werte verdeutlichen (vgl. Abbildung 18, Kapitel 4.1). Nichtsdestotrotz lagen beide Werte über den von Weber und Chapman (1984)<sup>[40]</sup> geforderten Mindestklebefestigkeit eines Knochenadhäsives von 0,20 MPa. Ein sprödes Bruchverhalten konnte bestätigt werden (vgl. Kapitel 4.2) und zeigte sich in mikroskopischen und elektronenmikroskopischen Aufnahmen in Form von Rissen (vgl. Abbildung 23 D und E, Kapitel 4.4 und Abbildung 25, Kapitel 4.5). Der Umstand, dass bei Klebungen von Knochen mit Metall unterschiedlicher Körnung sich der Zusammenhang mit der Stärke der Oberflächenkörnung nicht deutlich herauskristallisierte, könnte mit der Oberflächenbenetzung des Zementes zusammenhängen. Die Injizierbarkeit der den Magnesiumphosphatzementen verwandten Kalziumphosphatzemente wurde bislang als unzureichend angesehen<sup>[129]</sup>. Diese ist bei hoher Viskosität eines Zementes gering<sup>[130]</sup>. Die nicht ausreichend geringe Viskosität könnte Grund dafür sein, dass trotz erhöhter wahrer Oberfläche bei feinerer Körnung des Strahlmittels die wirksame Oberfläche trotzdem nicht erhöht wurde. Die Frage, welchen Einfluss die Oberflächenbeschaffenheit bei Adhäsiven oder Zementen mit sehr niedriger Viskosität hat, bleibt offen. Wie in Kapitel 2.2.3 angeführt, sollte die optimale Klebefugenbreite der maximalen Rauheit entsprechen. Diese Richtlinie lässt sich nicht mit den aus Kapitel 4.3 ermittelten Zugfestigkeitswerten eines Magnesiumphosphat-Zementsystems in Übereinstimmung bringen,

nach denen gerade eine Erhöhung der Klebefugenbreite von 1 mm auf 2 mm die Zugfestigkeit nochmals erhöhte und somit ein kohäsives Bruchverhalten begünstigte.

Untersuchungen einer Klebung zwischen den zwei unterschiedlichen Füge­teilen Knochen und Metall sind bislang kaum vorhanden. Endres (2008)<sup>[102]</sup> zementierte Osteosyntheseplatten mit PMMA-Zement auf Knochen und erreichte Zugfestigkeitswerte von bis zu 8 MPa. Es ist jedoch zu betonen, dass diese Werte nicht mit den ermittelten Zugfestigkeitswerten dieser Arbeit verglichen werden können. Zum einen wurde der Zement zusätzlich in die Schraubenlöcher der Platte appliziert, weswegen die Klebung nicht rein axial belastet wurde und zusätzlich Scherkräfte mit auf die Festigkeit einwirkten. Zum anderen darf ein PMMA-Zement, wie auch die meisten konventionellen Klebstoffsysteme, generell nicht mit einem Magnesiumphosphatzement verglichen werden, der aus dem Anspruch der Biokompatibilität, Biodegradibilität oder Osteoinduktivität heraus entwickelt wird. Der Einsatz des PMMA-Zementes erforderte eine Oberflächenbehandlung mit einem amphiphilen Primer<sup>[102]</sup>. Auf Grund ihrer exothermen Abbinde­reaktion, sowie Monomerfreisetzung können sie zu Knochennekrosen führen<sup>[131]</sup>.

Die Poren des Magnesiumphosphatzementes zeigten in mikroskopischen Aufnahmen (vgl. Abbildung 23; E) eine Größe von 30-50  $\mu\text{m}$ . Nach der Meinung von Hulbert (1970)<sup>[132]</sup> sollte die Porengröße von keramischen Materialien mindestens 100  $\mu\text{m}$  betragen, um das osteokonduktive Einwachsen von Knochen zu ermöglichen. Andere Autoren sahen jedoch ein gleichwertiges Knocheneinwachsen bei kleineren Porengrößen bis zu 50  $\mu\text{m}$ <sup>[133, 134]</sup>. Jüngste umfassende Untersuchungen von Bohner *et al.* (2017)<sup>[135]</sup> zeigten bei deutlich kleineren Poren von etwa 1  $\mu\text{m}$  in  $\beta$ -Trikalziumphosphat-Scaffolds das Einwachsen von Kalziumphosphat, Kollagen und untereinander verbundenen Zellen. Die Frage nach dem tatsächlichen osteokonduktiven, sowie osteoinduktiven Potential des untersuchten Magnesiumphosphatzementes bleibt offen.

Das Vorhandensein von Bakterien in elektronenmikroskopischen Aufnahmen des Magnesiumphosphatzementes (vgl. Abbildung 25; B-D) ist wahrscheinlich auf die unsterilen Arbeitsverhältnisse zurückzuführen, zeigt aber auch das Potential dieses Werkstoffes als Biohybrid. Vorndran und Lindberg (2016)<sup>[136]</sup> zeigten jüngst, dass Magnesiumphosphatzement als Wirt-Struktur für Mikroorganismen, in jenem Fall Cyanobakterien, dienen kann, was je nach Kultivierung potenzielle Vorteile mit sich bringt.



Wistlich *et al.* (2017)<sup>[82]</sup> maßen bei der Verwendung eines lichthärtenden Klebstoffs aus 20% NCO-sP(EO-*stat*-PO)-Anteil und PEGDMA, versetzt mit Newberyit-Füllern, eine Scherfestigkeit auf Knochen von initial  $\sim 0,5$  MPa mit entsprechender zeitlich progressiver Abnahme der Festigkeit bei Lagerung in PBS. Diese durch Hydrolyse bedingte Abnahme der Festigkeit spiegelt sich auch in den eigenen Ergebnissen wieder (vgl. Kapitel 4.1), wenngleich weniger gravierend. Allerdings wurden mit beispielsweise initial  $1,22 \pm 0,58$  MPa deutlich höhere Scherfestigkeitswerte ermittelt. Während in dieser Arbeit zwei Fügeteile aus Knochen gegeneinander abgeschert wurden, polymerisierten Wistlich *et al.*<sup>[82]</sup> einen Klebstoffzylinder auf einer Knochenprobe aus und scherten diesen ab. Grund für geringere Festigkeitswerte könnte sein, dass die deutlich höhere Menge an Material im Klebstoffzylinder eine höhere Reaktionsschwindung nach sich zieht. Die resultierenden Schwindungsspannungen könnten die Klebung schwächen. Der höhere Anteil an freier Oberfläche könnte den Klebstoffzylinder zudem anfälliger für eine Hydrolyse in PBS machen. Ohne ein zweites Fügeteil ist der Klebstoff jedoch besser zugänglich für Licht. Eine Klebefuge zwischen zwei Fügeteilen konnte nicht vollständig ausgehärtet werden (vgl. Abbildung 23 F-H und Abbildung 26). Dies macht den Knochenkleber bislang nur bei kleinen Klebeflächen einsetzbar. Eine Überlegung wäre Untersuchungen hinsichtlich einer zusätzlichen chemischen Härtung anzustellen. Hinsichtlich der Absicht, Osteosyntheseplatten zu kleben, wären transparente resorbierbare Platten, wie sie Kandalam *et al.* (2013)<sup>[95]</sup> verkleben, denkbar.

### 5.3 Konklusion der Diskussion

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die verwendeten Methoden Ergebnisse produzieren, welche sich mit den Vorlagen aus der Literatur decken, was für die Güte der Testmethoden spricht. Abweichungen ließen sich weitestgehend begründen.

Generell sind erhöhte Standardabweichungen und dementsprechend moderat hohe Varianzkoeffizienten, die jedoch stets bei  $<100\%$  lagen, auffällig (vgl. Tabelle 9 und Tabelle 10; Kapitel 10: Anhang). Dies mag zum einen daran liegen, dass eine Prüfreihe lediglich zehn Proben umfasste. Sollte gezielt ein Klebstoff auf seine Eigenschaften untersucht werden, würde sich die Grundgesamtheit der Prüfkörper erhöhen lassen, sodass das Gesetz der großen Zahlen greift. Zum anderen trägt sicherlich das Fügeteil Knochen eine Mitschuld. Die Ätiologie des Knochens sollte in künftigen Arbeiten weitestgehend

konkretisiert werden. Daneben gilt es, die Oberflächenbeschaffenheit und gerade den Feuchtigkeitsgehalt der Oberfläche aufzuzeigen. *In spe* wäre bei fortgeschrittener Popularisierung von Knochenklebstoffen denkbar, lediglich für die Prüfung mechanischer Parameter, sich beispielsweise dem 3D-Druck zu bedienen. Durch dieses Verfahren ließe sich der Werkstoff „Knochen“, gegebenenfalls mit eigenen Werkstoffnummern, genau definiert produzieren. Dies würde, nach den Ergebnissen dieser Arbeit, die Reliabilität der Prüfverfahren entscheidend erhöhen. Für andere Parameter, wie etwa dem Einwachsen von Osteonen oder der Biokompatibilität, müsste bisweilen jedoch weiterhin auf allo- oder xenogenen Knochen zurückgegriffen werden.

Gemeinhin muss beim Befassen mit Knochenadhäsiven stets in Betracht gezogen werden, dass Knochen als organisches, sowie anorganisches mehrkomponentiges Material, Besonderheiten mit sich bringt. Auch das feuchte bis blutige Milieu, in welchem die Klebung durchgeführt wird, ist grundverschieden zu den Bedingungen beim konventionellen Kleben im Alltag. Bei der Gestaltung des Prüfverfahrens müssen daher die diskutierten Punkte berücksichtigt werden. Beim Evaluieren eines Knochenklebstoffes muss bedacht werden, dass diese eben nicht den Anspruch haben, permanent hohe Adhäsionskräfte zu erbringen, da parallel die körpereigene Knochenheilung eintreten sollte. Die mitunter in Kapitel 2.3 beschriebenen Anforderungen müssen bei einer Beurteilung berücksichtigt werden.

Generell berücksichtigen die Prüfverfahren dieser Arbeit die Besonderheiten des Füge-teils Knochen so weit, wie es für einen *in vitro* Versuch vertretbar ist. Sobald Knochenklebstoffe und -zemente sich weitgehender etabliert haben, sollten entsprechend Normen für aufwendigere Prüfverfahren erstellt werden, auf welche sich in der Literatur berufen werden kann, in denen, verglichen mit dieser Arbeit, beispielsweise Parameter wie der Feuchtigkeitsgehalt der Oberfläche oder eine präzise Knochenätiologie, definiert sind.

### 6 Zusammenfassung

Gegenstand dieser Arbeit waren Knochenklebstoffe, welche eine unkonventionelle Möglichkeit im Bereich der chirurgischen Frakturversorgung darstellen. Derartige Klebstoffe müssen bereits *in vitro* eine Reihe an klinischen Anforderungen erfüllen. Jedoch wurde hinsichtlich entsprechender Prüfverfahren noch keine Normierungsarbeit geleistet, weswegen Ergebnisse verschiedener Arbeiten schwierig vergleichbar sind. Ziel dieser Arbeit war es, gezielt Prüfverfahren vorzustellen, welche im Gegensatz zu Normierungen des konventionellen Klebens die Besonderheiten des „Werkstoffes Knochen“ berücksichtigen. In diesem Rahmen hatte die Arbeit, neben drei kommerziellen Produkten, zwei neuartige Klebstoffsysteme zum Thema, welche den Anspruch haben, den speziellen klinischen Anforderungen eines Knochenklebstoffes nachzukommen.

Diese zwei neuartigen Systeme verkörperten ein *in situ* härtender Knochenzement aus Trimagnesiumphosphat, Magnesiumoxid und Phytinsäure und ein lichthärtender Knochenklebstoff aus PEGDMA, NCO-sP(EO-*stat*-PO), Campherchinon und anorganischen Newberyit-Füllern. Neben diesen waren drei kommerziell erhältliche Klebstoffe Gegenstand der Untersuchung. Dies waren zum einen Histoacryl® und TruGlue® Gewebekleber, zwei Klebstoffe auf Cyanoacrylat-Basis mit unterschiedlich langer Alkyl-Seitenkette, zum anderen Bioglue®, ein Gewebekleber aus Albumin und Glutaraldehyd.

Die Klebstoffe wurden zwischen Knochen-Fügeteilen aus Rinderkortikalis verklebt. Im Falle des Knochenzementes wurde zusätzlich Knochen mit rostfreiem Stahl, sowie Titan unterschiedlicher Körnung verklebt. Zudem wurde die Klebefugenbreite variiert. Initial und nach Zeitintervallen der Klebstoff- und Knochenalterung unter physiologischen Bedingungen wurden Prüfverfahren zur Ermittlung der Zugfestigkeit, sowie der Scherfestigkeit entwickelt und angestellt. Nach Versagen der Klebungen wurden diese mikroskopisch und mit Hilfe eines Rasterelektronenmikroskops analysiert.

Es zeigte sich, dass Histoacryl® (initiale Zugfestigkeit: 5,83 MPa; initiale Scherfestigkeit: 1,29 MPa) mit längerer Alkylseitenkette eine längere Polymerisationszeit aufwies als TruGlue® (initiale Zugfestigkeit: 7,81 MPa; initiale Scherfestigkeit: 3,64 MPa) mit kürzerer Alkylseitenkette. Histoacryl® zeigte dagegen eine geringere Anfälligkeit ge-

## Zusammenfassung

gen Hydrolyse bei Lagerung in PBS (Zugfestigkeit nach sieben Tagen: 1,71 MPa; Scherfestigkeit nach sieben Tagen: 3,46 MPa) als TruGlue® (Zugfestigkeit nach sieben Tagen: 0,95 MPa; Scherfestigkeit nach sieben Tagen: 1,23 MPa).

Bioglue® erbrachte eine initiale Zug- sowie Scherfestigkeit von 0,58 MPa. Der Klebstoff quoll durch die Lagerung in PBS und die Festigkeitswerte verringerten sich.

Weniger hydrolyseempfindlich war der Magnesiumphosphatzement. Als keramischer Werkstoff lagen die Zugfestigkeitswerte (initial: 0,31 MPa) deutlich unter den Scherfestigkeitswerten (initial: 0,72 MPa). Klebungen auf Titan zeigten vergleichbare Scherfestigkeitswerte, während Klebungen auf rostfreiem Stahl diesen unterlagen. Wesentliche Unterschiede der Festigkeit bei veränderten Oberflächenrauheiten ließen sich nicht feststellen.

Bei Verwendung des lighthärtenden Knochenklebstoffes wurden initial eine Zugfestigkeit von 1,41 MPa und eine Scherfestigkeit von 1,22 MPa gemessen. Auch hier dezimierten sich die Festigkeiten mit der zeitlichen Lagerung (Zugfestigkeit nach sieben Tagen: 0,22 MPa; Scherfestigkeit nach sieben Tagen: 0,67 MPa). Mikroskopische, sowie rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten, dass der Klebstoff nicht vollständig ausgehärtet werden konnte, weil das UV-Licht den Klebstoff lediglich bis etwa 1 mm vom Rand der Klebefuge aus polymerisierte.

Sinngemäß vergleichbare Untersuchungen aus der Literatur stimmen weitestgehend mit gemessenen Werten der Arbeit überein, was für eine Reliabilität der entwickelten Prüfverfahren spricht. Die Ergebnisse zeigten zudem, dass der untersuchte Magnesiumphosphatzement, sowie der lighthärtende Knochenklebstoff, zwar konventionellen Klebstoffsystemen lediglich hinsichtlich mechanischer Parameter unterliegen, sie jedoch für eine Reihe an Anwendungsgebieten ausreichende Festigkeiten aufweisen und daneben klinische Anforderungen erfüllen. Sie stellen damit neuartige Ansätze dar, welche von klinischer Relevanz sein können. Vorausgesetzt ein Klebstoff wäre in einer Operationssituation indiziert, erscheint gerade der Magnesiumphosphatzement bislang vielversprechend für den Einsatz in nicht lasttragenden Bereichen, bei großen Klebeflächen oder abseits von fetthaltigem isolierenden Mark, wobei weiterführende *in vivo* Tests abzuwarten sind. Sobald sich generell Knochenklebstoffe und -zemente künftig weiter etabliert haben, gilt es zudem, entsprechend Normen für Prüfverfahren zu verfassen, auf die in der Literatur Bezug genommen werden kann.

## 7 Literaturverzeichnis

1. Majno G.: *The healing hand: man and wound in the ancient world*, Harvard University Press, 1991
2. Forrest R.D.: *Early history of wound treatment*; Journal of the Royal Society of Medicine, 75 (3), S. 198, 1982
3. Geetha M., A. Singh, R. Asokamani und A. Gogia: *Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—a review*; Progress in materials science, 54 (3), S. 397-425, 2009
4. Heiss C. und R. Schnettler: *Bioresorbable bone adhesives. Historical perspective and current status*; Der Unfallchirurg, 108 (5), S. 348-355, 2005
5. Habenicht G.: *Kleben: Grundlagen, Technologien, Anwendungen*, Springer Berlin Heidelberg, S. 821–836, 2013
6. Farrar D.F.: *Bone adhesives for trauma surgery: A review of challenges and developments*; International Journal of Adhesion and Adhesives, 33 S. 89-97, 2012
7. Aumüller G., G. Aust, J. Engele, J. Kirsch und G. Maio: *Duale Reihe Anatomie*; 3. Auflage, Thieme, S. 75-76, 2014
8. Benninghoff A. und D. Drenckhahn: *Taschenbuch Anatomie*; 1. Auflage, Elsevier, Urban & Fischer, S. 24, 2008
9. Lüllmann-Rauch R.: *Taschenlehrbuch Histologie*; 3. Auflage, Thieme, S. 144-158, 2009
10. Böckers T.M., J. Waschke und F. Paulsen: *Sobotta Lehrbuch Anatomie*; 1. Auflage, Urban & Fischer/Elsevier, S. 19-23, 2015
11. Wegst U.G.K., H. Bai, E. Saiz, A.P. Tomsia und R.O. Ritchie: *Bioinspired structural materials*; Nat Mater, 14 (1), S. 23-36, 2015
12. Richard H.A. und G. Kullmer: *Biomechanik: Grundlagen und Anwendungen auf den menschlichen Bewegungsapparat*, Springer Fachmedien Wiesbaden, S. 153-158, 2013
13. Strub J.R., M. Kern, J.C. Türp, S. Witkowski, G. Heydecke und S. Wolfart: *Curriculum Prothetik Band III*; 4. Auflage, Quintessenz Verlag, S. 843f, 2010
14. Behrends J., J. Bischofberger, R. Deutzmann, H. Ehmke und S. Frings: *Duale Reihe Physiologie*; 2. Auflage, Thieme, S. 325-327, 417, 2012
15. Baenkler H.W., H. Goldschmidt, J.M. Hahn, M. Hinterseer und A. Knez: *Kurzlehrbuch Innere Medizin*; 3. Auflage, Thieme, 2015
16. Schwenzer N. und M. Ehrenfeld: *Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie*; 4. Auflage, Thieme, S. 58-60, 2010
17. Schünke M., E. Schulte, U. Schumacher, M. Voll und K.H. Wesker: *Prometheus - Allgemeine Anatomie und Bewegungssystem: LernAtlas der Anatomie*; 3. Auflage, Thieme Georg Verlag, S. 52f., 2011
18. Bier J. und H.H. Horch: *Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie*; 4. Auflage, Elsevier, Urban & Fischer, S. 62f., 2007
19. Bleese N., U. Mommsen, V. Schumpelick, G. Arlt und M. Binnebösel: *Kurzlehrbuch Chirurgie*, Thieme, S. 615-620, 2010
20. Allen K.W.: *Some reflections on contemporary views of theories of adhesion*; International Journal of Adhesion and Adhesives, 13 (2), S. 67-72, 1993

## Literaturverzeichnis

21. Allen K.W.: *Fundamental Aspects of Adhesion*; Adhesives in Engineering Design. Lees, W.A. (Ed.), The Design Council und Springer Verlag, S. 129-139, 1984
22. Habenicht G., *Festigkeit, Berechnung und Prüfung von Klebungen*, In *Kleben - erfolgreich und fehlerfrei: Handwerk, Praktiker, Ausbildung, Industrie*. 2016, Springer Fachmedien Wiesbaden: Wiesbaden.
23. Bikerman J.J.: *The science of adhesive joints*; New York, Academic Press Inc., 1968
24. Smekal A.: *Über den Zerreivorgang der Gläser*; *Glastech. Ber*, 13 S. 141-151, 1935
25. Babchin A. und V. Raevsky: *Characterization Criteria of Adhesive and Cohesive Failure*; *Adhesives age*, 18 (12), S. 25-28, 1975
26. Angershöfer M. und R. Wilken: *Kleben unter Druck, Kriechen von Haftklebstoffen*; *Pack. Rep.*, 1 (2), S. 19-22, 1995
27. Paffrath: *Beiträge zur Technologie der Hochpolymeren — Gummi und Kunststoffe*; *Angewandte Chemie*, 69 (12), 1957
28. Hart-Smith L.: *Adhesive layer thickness and porosity criteria for bonded joints*, McDonnell Douglas Corp., 1982
29. Klapp O. und M. Schlimmer: *Einfluss von Fertigungsfehlern auf die Eigenschaften von Dickschichtklebverbindungen*; *Der Praktiker*, 53 (7), S. 250-252, 2001
30. Ata A., Y.I. Rabinovich und R.K. Singh: *Role of surface roughness in capillary adhesion*; *Journal of Adhesion Science and Technology*, 16 (4), S. 337-346, 2002
31. Cheng W., P.F. Dunn und R.M. Brach: *Surface roughness effects on microparticle adhesion*; *The Journal of Adhesion*, 78 (11), S. 929-965, 2002
32. Brockmann W.: *Über Haftvorgänge beim Kleben*; *Adhäsion*, 13 S. 335-342, 448-460, 1969
33. Heldt E.: *Der Einfluss der Oberflächenrauigkeit und Klebfugendicke auf das übertragbare Drehmoment bei Klebpassungen*; *Feingerätetechnik*, 12 S. 567-571, 1963
34. Zisman W.A., *Relation of the Equilibrium Contact Angle to Liquid and Solid Constitution*, In *Contact Angle, Wettability, and Adhesion*. 1964, American chemical society. S. 1-51.
35. Zorll U.: *Bedeutung und Problematik der kritischen Oberflächenspannung*; *Adhäsion*, 18 S. 262-270, 1974
36. Ambrose R.J.: *Adhesion 10*, K. W. Allen, Ed., Elsevier, London and New York; *Journal of Polymer Science Part C: Polymer Letters*, 24 (12), S. 662-662, 1986
37. Donkerwolcke M., F. Burny und D. Muster: *Tissues and bone adhesives - historical aspects*; *Biomaterials*, 19 (16), S. 1461-1466, 1998
38. Heiss C., R. Kraus, D. Schluckebier, A.-C. Stiller, S. Wenisch und R. Schnettler: *Bone Adhesives in Trauma and Orthopedic Surgery*; *European Journal of Trauma*, 32 (2), S. 141-148, 2006
39. Sierra D.H. und R. Saltz: *Surgical Adhesives & Sealants: Current Technology and Applications*, Taylor & Francis, S. 3f., 1998
40. Weber S.C. und M.W. Chapman: *Adhesives in orthopaedic surgery. A review of the literature and in vitro bonding strengths of bone-bonding agents*; *Clin Orthop Relat Res*, (191), S. 249-261, 1984

41. Quinn J.V.: *Tissue Adhesives in Clinical Medicine*, BC Decker, Incorporated, 2005
42. Matras H.: *Fibrin seal: the state of the art*; J Oral Maxillofac Surg, 43 (8), S. 605-611, 1985
43. Vinazzer H.: *Fibrin sealing: physiologic and biochemical background*; Facial Plastic Surgery, 2 (04), S. 291-295, 1985
44. Sierra D.H.: *Fibrin sealant adhesive systems: a review of their chemistry, material properties and clinical applications*; J Biomater Appl, 7 (4), S. 309-352, 1993
45. Pipan C.M., W.P. Glasheen, T.L. Matthew, S.L. Gonias, L.-J. Hwang, J.A. Jane und W.D. Spotnitz: *Effects of antifibrinolytic agents on the life span of fibrin sealant*; Journal of Surgical Research, 53 (4), S. 402-407, 1992
46. Bonchek L.I. und N.S. Braunwald: *Experimental evaluation of a cross-linked gelatin adhesive in gastrointestinal surgery*; Ann Surg, 165 (3), S. 420-424, 1967
47. Tatooles C.J. und N.S. Braunwald: *The use of crosslinked gelatin as a tissue adhesive to control hemorrhage from liver and kidney*; Surgery, 60 (4), S. 857-861,
48. Raanani E., D.A. Latter, L.E. Errett, D.B. Bonneau, Y. Leclerc und G.C. Salasidis: *Use of "BioGlue" in aortic surgical repair*; Ann Thorac Surg, 72 (2), S. 638-640, 2001
49. Imoto K.: *Recent status of gelatin-resorcin-formalin glue for acute type A aortic dissection*; Gen Thorac Cardiovasc Surg, 59 (5), S. 313-314, 2011
50. Huppelsberg J. und K. Walter: *Kurzlehrbuch Physiologie*, Thieme, 2013
51. Fanali G., A. di Masi, V. Trezza, M. Marino, M. Fasano und P. Ascenzi: *Human serum albumin: from bench to bedside*; Mol Aspects Med, 33 (3), S. 209-290, 2012
52. Russell A. und D. Hopwood: *4 The Biological Uses and Importance of Glutaraldehyde*; Progress in medicinal chemistry, 13 S. 271-301, 1976
53. Fürst W. und A. Banerjee: *Release of Glutaraldehyde From an Albumin-Glutaraldehyde Tissue Adhesive Causes Significant In Vitro and In Vivo Toxicity*; The Annals of Thoracic Surgery, 79 (5), S. 1522-1528, 2005
54. Coover H.N. J.F.B., Sheere N.H.: *Chemistry and performance of cyanoacrylate adhesive*; J Soc Plast Surg Eng, 15 S. 5-6, 1959
55. Matsumoto T.: *Vienna International Symposium--tissue adhesives in surgery*; Arch Surg, 96 (2), S. 226-230, 1968
56. Bishara S.E., J.F. Laffoon, L. VonWald und J. Warren: *Effect of time on the shear bond strength of cyanoacrylate and composite orthodontic adhesives*; American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics, 121 (3), S. 297-300, 2002
57. Romero I.L., J. Malta, C.B. Silva, L.M.J. Mimica, K.H. Soong und R.Y. Hida: *Antibacterial properties of cyanoacrylate tissue adhesive: Does the polymerization reaction play a role?*; Indian J Ophthalmol, 57 (5), S. 341-344, 2009
58. Woodward S.C., J.B. Herrmann, J.L. Cameron, G. Brandes, E.J. Pulaski und F. Leonard: *Histotoxicity of Cyanoacrylate Tissue Adhesive in the Rat*; Ann Surg, 162 (1), S. 113-122, 1965

59. Ousterhout D.K., G.V. Gladioux und F. Leonard: *Cutaneous absorption of N-alkyl alpha-cyanoacrylate*; J Biomed Mater Res, 2 (1), S. 157-163, 1968
60. Brown W.E. und L.C. Chow, *Dental restorative cement pastes*. 1990, Google Patents.
61. Bohner M.: *Calcium orthophosphates in medicine: from ceramics to calcium phosphate cements*; Injury, 31 Suppl 4 S. 37-47, 2000
62. F. Driessens E.D.M., E. Fernandez, M. Bolting, G. Berger, Ronald Verbeeck, M. Ginebrea, J. Planell: *Amorphous calcium phosphate cements and their transformation into calcium deficient hydroxyapatite*; Bioceramics, 9 S. 231-233, 1996
63. Dorozhkin S.V. und M. Epple: *Biological and medical significance of calcium phosphates*; Angew Chem Int Ed Engl, 41 (17), S. 3130-3146, 2002
64. Waselau M., V.F. Samii, S.E. Weisbrode, A.S. Litsky und A.L. Bertone: *Effects of a magnesium adhesive cement on bone stability and healing following a metatarsal osteotomy in horses*; Am J Vet Res, 68 (4), S. 370-378, 2007
65. Wei J., J. Jia, F. Wu, S. Wei, H. Zhou, H. Zhang, J.W. Shin und C. Liu: *Hierarchically microporous/macroporous scaffold of magnesium-calcium phosphate for bone tissue regeneration*; Biomaterials, 31 (6), S. 1260-1269, 2010
66. Walling S.A. und J.L. Provis: *Magnesia-Based Cements: A Journey of 150 Years, and Cements for the Future?*; Chemical Reviews, 116 (7), S. 4170-4204, 2016
67. European Commission D.E.a.I.: *Report on Critical Raw Materials for the EU: Report of the Ad Hoc Working Group on Defining Critical Raw Materials*; Brussels, Belgium, 2014
68. Soudée E. und J. Péra: *Mechanism of setting reaction in magnesia-phosphate cements*; Cement and Concrete Research, 30 (2), S. 315-321, 2000
69. Allan F.C. und K. Asgar: *Reaction of cobalt-chromium casting alloy with investment*; J Dent Res, 45 (5), S. 1516-1528, 1966
70. Hall D.A., R. Stevens und B.E. Jazairi: *Effect of Water Content on the Structure and Mechanical Properties of Magnesia-Phosphate Cement Mortar*; Journal of the American Ceramic Society, 81 (6), S. 1550-1556, 1998
71. Sugama T. und L.E. Kukacka: *Magnesium monophosphate cements derived from diammonium phosphate solutions*; Cement and Concrete Research, 13 (3), S. 407-416, 1983
72. Abdelrazig B.E.I., J.H. Sharp und B. El-Jazairi: *A discussion of the papers on magnesia-phosphate cements by T. Sugama and L.E. Kukacka*; Cem. Concr., 15 S. 921-922, 1985
73. Abdelrazig B.E.I., J.H. Sharp und B. El-Jazairi: *The chemical composition of mortars made from magnesia-phosphate cement*; Cement and Concrete Research, 18 (3), S. 415-425, 1988
74. Sandor Popovics N.R. und P. Michael: *Rapid Hardening Cements for Repair of Concrete*; Materials Journal, 84 (1), S. 64-73, 1987
75. Vorndran E., A. Ewald, F.A. Muller, K. Zorn, A. Kufner und U. Gbureck: *Formation and properties of magnesium-ammonium-phosphate hexahydrate biocements in the Ca-Mg-PO<sub>4</sub> system*; J Mater Sci Mater Med, 22 (3), S. 429-436, 2011



76. Christel T., S. Christ, J.E. Barralet, J. Groll und U. Gbureck: *Chelate Bonding Mechanism in a Novel Magnesium Phosphate Bone Cement*; Journal of the American Ceramic Society, 98 (3), S. 694-697, 2015
77. Zhou J.R. und J.W. Erdman, Jr.: *Phytic acid in health and disease*; Crit Rev Food Sci Nutr, 35 (6), S. 495-508, 1995
78. Gasteier P., A. Reska, P. Schulte, J. Salber, A. Offenhausser, M. Moeller und J. Groll: *Surface grafting of PEO-based star-shaped molecules for bioanalytical and biomedical applications*; Macromol Biosci, 7 (8), S. 1010-1023, 2007
79. Peppas N.A., K.B. Keys, M. Torres-Lugo und A.M. Lowman: *Poly(ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery*; J Control Release, 62 (1-2), S. 81-87, 1999
80. Harris J.M.: *Poly(Ethylene Glycol) Chemistry: Biotechnical and Biomedical Applications*, Springer US, S. 1-16, 2013
81. Walter N.G.: *Single molecule tools: fluorescence based approaches, part A. Preface*; Methods Enzymol, 472 S. 1-16, 2010
82. Wistlich L., A. Rucker, M. Schamel, A.C. Kubler, U. Gbureck und J. Groll: *A Bone Glue with Sustained Adhesion under Wet Conditions*; Adv Healthc Mater, 6 (3), 2017
83. Holzapfel B.M., J.C. Reichert, J.-T. Schantz, U. Gbureck, L. Rackwitz, U. Nöth, F. Jakob, M. Rudert, J. Groll und D.W. Hutmacher: *How smart do biomaterials need to be? A translational science and clinical point of view*; Advanced Drug Delivery Reviews, 65 (4), S. 581-603, 2013
84. Weißbach W., *Werkstoffprüfung*, In *Werkstoffkunde: Strukturen, Eigenschaften, Prüfung*. 2010, Vieweg+Teubner: Wiesbaden. S. 365-404.
85. Czichos H., T. Saito und L.E. Smith: *Springer Handbook of Materials Measurement Methods*, Springer Berlin Heidelberg, S. 333ff., 2007
86. Böge A., W. Böge, K.D. Arndt, W. Bahmann, L. Barfels, J. Bauer, H. Bernstein, G. Böge, M. Dehli und B. Heinrich: *Handbuch Maschinenbau: Grundlagen und Anwendungen der Maschinenbau-Technik*, Springer Fachmedien Wiesbaden, S. 399ff., 2017
87. Brauer G.M., J.W. Kumpula, D.J. Termini und K.M. Davidson: *Durability of the bond between bone and various 2-cyanoacrylates in an aqueous environment*; J Biomed Mater Res, 13 (4), S. 593-606, 1979
88. Ishihara K. und N. Nakabayashi: *Adhesive bone cement both to bone and metals: 4-META in MMA initiated with tri-n-butyl borane*; J Biomed Mater Res, 23 (12), S. 1475-1482, 1989
89. Chivers R.A. und R.G. Wolowacz: *The strength of adhesive-bonded tissue joints*; International Journal of Adhesion and Adhesives, 17 (2), S. 127-132, 1997
90. Maurer P., K. Bekes, C.R. Gernhardt, H.-G. Schaller und J. Schubert: *Tensile bond strength of different adhesive systems between bone and composite compared: an in vitro study*; Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery, 32 (2), S. 85-89, 2004
91. Schneider O.D., A. Stepuk, D. Mohn, N.A. Luechinger, K. Feldman und W.J. Stark: *Light-curable polymer/calcium phosphate nanocomposite glue for bone defect treatment*; Acta Biomater, 6 (7), S. 2704-2710, 2010

92. Ishihara K., H. Arai, N. Nakabayashi, S. Morita und K. Furuya: *Adhesive bone cement containing hydroxyapatite particle as bone compatible filler*; J Biomed Mater Res, 26 (7), S. 937-945, 1992
93. Vainio J., J. Kilpikari, P. Tormala und P. Rokkanen: *Experimental fixation of bone cement and composite resins to bone*; Arch Orthop Trauma Surg, 94 (3), S. 191-195, 1979
94. Shahbazi S., F. Moztafzadeh, G.M. Sadeghi und Y. Jafari: *In vitro study of a new biodegradable nanocomposite based on poly propylene fumarate as bone glue*; Mater Sci Eng C Mater Biol Appl, 69 S. 1201-1209, 2016
95. Kandalam U., A.J. Bouvier, S.B. Casas, R.L. Smith, A.M. Gallego, J.K. Rothrock, J.Y. Thompson, C.Y. Huang und E.J. Stelnicki: *Novel bone adhesives: a comparison of bond strengths in vitro*; Int J Oral Maxillofac Surg, 42 (9), S. 1054-1059, 2013
96. Hoffmann B., E. Volkmer, A. Kokott, P. Augat, M. Ohnmacht, N. Sedlmayr, M. Schieker, L. Claes, W. Mutschler und G. Ziegler: *Characterisation of a new bioadhesive system based on polysaccharides with the potential to be used as bone glue*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 20 (10), S. 2001-2009, 2009
97. Kilpikari J., M. Lapinsuo, P. Törmälä, H. Pätäälä und P. Rokkanen: *Bonding strength of alkyl-2-cyanoacrylates to bone in vitro*; Journal of Biomedical Materials Research, 20 (8), S. 1095-1102, 1986
98. Tong J., K. Wong und C. Lupton: *Determination of interfacial fracture toughness of bone-cement interface using sandwich Brazilian disks*; Eng Fract Mech, 74 (12), S. 1904-1916, 2007
99. Sano H., T. Shono, H. Sonoda, T. Takatsu, B. Ciucchi, R. Carvalho und D.H. Pashley: *Relationship between surface area for adhesion and tensile bond strength — Evaluation of a micro-tensile bond test*; Dental Materials, 10 (4), S. 236-240, 1994
100. Cohen B., M. Panker, E. Zuckerman, M. Foxx und M. Zilberman: *Effect of calcium phosphate-based fillers on the structure and bonding strength of novel gelatin-alginate bioadhesives*; J Biomater Appl, 28 (9), S. 1366-1375, 2014
101. Shao H., K.N. Bachus und R.J. Stewart: *A Water-Borne Adhesive Modeled after the Sandcastle Glue of P. californica*; Macromol Biosci, 9 (5), S. 464-471, 2009
102. Endres K., R. Marx, J. Tinschert, D.C. Wirtz, C. Stoll, D. Riediger und R. Smeets: *A new adhesive technique for internal fixation in midfacial surgery*; Biomed Eng Online, 7 S. 16, 2008
103. Smeets R., R. Marx, A. Kolk, S. Said-Yekta, M.B. Grosjean, C. Stoll, J. Tinschert, D.C. Wirtz, D. Riediger und K. Endres: *In vitro study of adhesive polymethylmethacrylate bone cement bonding to cortical bone in maxillofacial surgery*; J Oral Maxillofac Surg, 68 (12), S. 3028-3033, 2010
104. Arens T., F. Hettlich, C. Karpfinger, U. Kockelkorn, K. Lichtenegger und H. Stachel: *Mathematik*, Springer-Verlag, 2015
105. Schenk R.K., D. Spiro und J. Wiener: *Cartilage resorption in the tibial epiphyseal plate of growing rats*; The Journal of Cell Biology, 34 (1), S. 275-291, 1967
106. Bonfield W. und C.H. Li: *The temperature dependence of the deformation of bone*; Journal of Biomechanics, 1 (4), S. 323-329, 1968

107. Lundskog J.: *Heat and bone tissue. An experimental investigation of the thermal properties of bone and threshold levels for thermal injury*; Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery, 9 S. 1-80, 1972
108. Matthews L.S. und C. Hirsch: *Temperatures measured in human cortical bone when drilling*; JBJS, 54 (2), S. 297-308, 1972
109. Fuchsberger A.: *Die spanende Bearbeitung von Knochen mit Fräsworkzeugen*; Unfallchirurgie, 15 (2), S. 59-72, 1989
110. Chai H.: *Deformation and failure of adhesive bonds under shear loading*; Journal of Materials Science, 28 (18), S. 4944-4956, 1993
111. Ha S.-W. und E. Wintermantel, *Biokompatible Metalle*, In *Medizintechnik: Life Science Engineering*, E. Wintermantel, S.-W. Ha, Editors. 2009, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. S. 191-217.
112. Heibel H., K.W. Alt, R. Wächter und W. Bähr: *Kortikalisdicke am Unterkiefer unter besonderer Berücksichtigung der Miniplattenosteosynthese*; Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, 5 (3), S. 180-185, 2001
113. Schildhauer T.A.: *Metallentfernungen*; Trauma und Berufskrankheit, 9 (3), S. S292-S296, 2007
114. Montanaro L., C.R. Arciola, E. Cenni, G. Ciapetti, F. Savioli, F. Filippini und L.A. Barsanti: *Cytotoxicity, blood compatibility and antimicrobial activity of two cyanoacrylate glues for surgical use*; Biomaterials, 22 (1), S. 59-66, 2000
115. Krus M. und C. Fitz. *Vergleich unterschiedlicher Messverfahren zur Erfassung der Oberflächenfeuchte von Putzfassaden*. 2007.
116. Imoto T. und H. Hosokawa: *Effects of pressure to adhesion*; Kolloid-Zeitschrift und Zeitschrift für Polymere, 208 (2), S. 153-156, 1966
117. Bueche F.: *Rate and Pressure Effects in Polymers and Other Glass-Forming Substances*; The Journal of Chemical Physics, 36 (11), S. 2940-2946, 1962
118. Wistuba E.: *Kleben und Klebstoffe*; Chemie in unserer Zeit, 14 (4), S. 124-133, 1980
119. Renfrew M. und E. Lewis: *Polytetrafluoroethylene. Heat resistant, chemically inert plastic*; Industrial & Engineering Chemistry, 38 (9), S. 870-877, 1946
120. Wetzig M., P. Haß, P. Niemz und A. Hänsel: *Untersuchungen zur Verklebung dreischichtiger Massivholzplatten unter Verwendung von Laubholz*; Bautechnik, 88 (10), S. 687-693, 2011
121. Feligioni L., P. Lavischi, G. Duchanois, M. De Ciechi und P. Spinelli: *Influence of glue rheology and joint thickness on the strength of bonded-in rods*; Holz als Roh- und Werkstoff, 61 (4), S. 281-287, 2003
122. Carvalho R.M., J.C. Pereira, M. Yoshiyama und D.H. Pashley: *A review of polymerization contraction: the influence of stress development versus stress relief*; Operative dentistry, 21 (1), S. 17-24, 1996
123. Klocke A. und B. Kahl-Nieke: *Influence of cross-head speed in orthodontic bond strength testing*; Dental Materials, 21 (2), S. 139-144, 2005
124. Yuksel U., L. Peacock und H. Thomas, *Characteristics of an experimental bioadhesive. Presented at the XVIIth Congress of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH)*. Florence, Italy.
125. Lauvin M.-A., I. Zemmoura, X. Cazals und J.-P. Cottier: *Delayed cauda equina compression after spinal dura repair with BioGlue: magnetic resonance imaging and computed tomography aspects of two cases of "glue-oma"*; The Spine Journal, 15 (1), S. e5-e8, 2015

126. Galil K., I. Schofield und G. Wright: *Effect of N-butyl-2-cyanoacrylate (histoacryl blue) on the healing of skin wounds*; Journal (Canadian Dental Association), 50 (7), S. 565-569, 1984
127. Grover L.M., U. Gbureck, D. Farrar und J. Barralet. *Adhesion of a novel calcium phosphate cement to cortical bone and several common biomaterials*. in *Key Engineering Materials*. 2006. Trans Tech Publ.
128. Hornbogen E.: *Werkstoffe: Aufbau und Eigenschaften von Keramik-, Metall-, Polymer- und Verbundwerkstoffen*, Springer-Verlag, S. 245-268, 2007
129. Kunio I. *Effects of spherical tetracalcium phosphate on injectability and basic properties of apatitic cement*. in *Key Engineering Materials*. 2003. Trans Tech Publ.
130. Khairoun I., M.G. Boltong, F.C.M. Driessens und J.A. Planell: *Some factors controlling the injectability of calcium phosphate bone cements*; Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 9 (8), S. 425-428, 1998
131. Lewis G.: *Properties of acrylic bone cement: state of the art review*; Journal of Biomedical Materials Research Part A, 38 (2), S. 155-182, 1997
132. Hulbert S.F., F.A. Young, R.S. Mathews, J.J. Klawitter, C.D. Talbert und F.H. Stelling: *Potential of ceramic materials as permanently implantable skeletal prostheses*; Journal of Biomedical Materials Research, 4 (3), S. 433-456, 1970
133. Boby J.D., R.M. Pilliar, H.U. Cameron und G.C. Weatherly: *The optimum pore size for the fixation of porous-surfaced metal implants by the ingrowth of bone*; Clinical orthopaedics and related research, (150), S. 263-270, 1980
134. Itälä A.I., H.O. Ylänen, C. Ekholm, K.H. Karlsson und H.T. Aro: *Pore diameter of more than 100 µm is not requisite for bone ingrowth in rabbits*; Journal of Biomedical Materials Research, 58 (6), S. 679-683, 2001
135. Bohner M., G. Baroud, A. Bernstein, N. Döbelin, L. Galea, B. Hesse, R. Heuberger, S. Meille, P. Michel und B. von Rechenberg: *Characterization and distribution of mechanically competent mineralized tissue in micropores of  $\beta$ -tricalcium phosphate bone substitutes*; Materials Today, 20 (3), S. 106-115, 2017
136. Vorndran E. und P. Lindberg: *In situ-immobilization of two model cyanobacterial strains in ceramic structures: A new biohybrid material for photobioreactor applications*; Journal of biotechnology, 223 S. 1-5, 2016

## 8 Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1:</i>	<i>Einfluss der Länge der Alkylseitenkette von Alkyl-2-Cyanoacrylat.</i>	<i>15</i>
<i>Tabelle 2:</i>	<i>Zusammensetzung der zehnfach konzentrierten Stammlösung phosphatgepufferter Salzlösung (PBS).</i>	<i>29</i>
<i>Tabelle 3:</i>	<i>Körnung, Lot-Nummer und Firma der verwendeten Strahlmittel.</i>	<i>29</i>
<i>Tabelle 4:</i>	<i>Ablauf der elutropen Aceton-Reihe für die Knochenproben.</i>	<i>37</i>
<i>Tabelle 5:</i>	<i>Zugeordnete Zahlenwerte zur Bestimmung des Korrelationskoeffizienten zu den Merkmalsausprägungen "Strahlmittel", "Prüfverfahren" und "Dauer der Lagerung".</i>	<i>42</i>
<i>Tabelle 6:</i>	<i>Errechnete Mittelwerte aus den gemessenen Zug- und Scherfestigkeiten der Klebungen mit MPC zwischen Knochen und Titan Korox 50, Korox 110, Korox 250 oder Knochen P80, unbeachtet zu welchem Zeitpunkt gemessen wurde.</i>	<i>46</i>
<i>Tabelle 7:</i>	<i>Korrelationskoeffizient zwischen den Festigkeiten und den Merkmalsausprägungen "Strahlmittel", "Prüfverfahren" und "Dauer der Lagerung".</i>	<i>56</i>
<i>Tabelle 8:</i>	<i>Zweistichproben t-Test unter der Annahme unterschiedlicher Varianzen: · <math>H_0</math>: Die Alterung von MPC hat keinen Einfluss auf die Klebefestigkeit · <math>H_1</math>: Die Alterung von MPC hat Einfluss auf die Klebefestigkeit · Zufallsvariable X: Messung initial (0h) · Zufallsvariable Y: Messung nach Lagerung in PBS für sieben Tage (7d) · Signifikanzniveau <math>\alpha = 5\%</math>.</i>	<i>57</i>
<i>Tabelle 9:</i>	<i>Mittelwerte der Zugfestigkeiten (in MPa), Standardabweichungen und Varianzkoeffizienten initial und nach Lagerung in PBS für 2 h, 24 h oder 7 d (aus jeweils <math>n=10</math>).</i>	<i>83</i>
<i>Tabelle 10:</i>	<i>Mittelwerte der Scherfestigkeiten (in MPa), Standardabweichungen und Varianzkoeffizienten initial und nach Lagerung in PBS für 2 h, 24 h oder 7 d (aus jeweils <math>n=10</math>).</i>	<i>84</i>
<i>Tabelle 11:</i>	<i>Menge der makroskopischen Zementrückstände des MPC in % (gerundet) auf dem Titan (Korox50, Korox110, Korox250) nach Prüfung im Zugversuch; Messzeitpunkte initial und nach Alterung bei 37°C in PBS nach 2h, 24h und 7d.</i>	<i>87</i>
<i>Tabelle 12:</i>	<i>Menge der makroskopischen Zementrückstände des MPC in % (gerundet) auf dem Titan (Korox50, Korox110, Korox250) nach Prüfung im Scherversuch; Messzeitpunkte initial und nach Alterung bei 37°C in PBS nach 2h, 24h und 7d.</i>	<i>88</i>
<i>Tabelle 13:</i>	<i>Klebung mit MPC Knochen auf Titan (Titankörnung und Probenalter unbeachtet): Anzahl der Messreihen, innerhalb derer bei mindestens 7 bzw. mindestens 8 Prüfkörpern entweder <math>&lt;50\%</math> oder <math>\geq 50\%</math> der Zementreste auf dem Titan verbleiben.</i>	<i>90</i>

## 9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 <sup>[11]</sup> : Schematischer Schnitt durch die Substantia compacta des Knochens; Ausschnittsvergrößerung: Aufbau eines Osteons.	4
Abbildung 2 <sup>[22]</sup> : Adhäsions- und Kohäsionskräfte in einer Klebung.	8
Abbildung 3 <sup>[5]</sup> : Zusammenhang zwischen Klebschichtdicke und Oberflächenrauheit.	10
Abbildung 4: Bildung der kovalenten Bindung zwischen Lysinseitenketten und Glutaraldehyd.	13
Abbildung 5: Strukturformel von Cyanoacrylat ( $R^1$ : Alkylrest).	15
Abbildung 6: Strukturformel von Phytinsäure.	19
Abbildung 7: Strukturformel von NCO-sP(EO-stat-PO).	20
Abbildung 8: Strukturformel von Poly(ethylenglykol)dimethacrylat.	20
Abbildung 9: Klebevorrichtung für den Test auf Zugfestigkeit.	30
Abbildung 10: Aufbau der Prüfvorrichtung des Scherversuches.	33
Abbildung 11: Aufbau der Prüfvorrichtung des Zugversuchs.	34
Abbildung 12: Schema der Einteilung der Klebefläche für eine statische Auswertung der Lokalisation der Kleberückstände.	35
Abbildung 13: Zustand nach 24h nach Zugabe von Aceton auf TruGlue® (A) und Histoacryl® (B) und nach Zugabe von Ethanol auf TruGlue® (C) und Histoacryl® (D).	37
Abbildung 14: Fixierung der Edelstahlschraube mit C-Silikon im Abstand von 1mm von der Grundfläche der Teflon-Hülse (A). Klebung einer Korox50-abgestrahlten Edelstahlschraube mit Korox50-abgestrahltem Titan über eine definierte Klebefuge von 3mm Magnesiumphosphatzement (B).	40
Abbildung 15: Klebung eines bovinen Femurs mit Magnesiumphosphatzement und anschließende Zugbelastung.	43
Abbildung 16: Scherfestigkeit (links) und Zugfestigkeit (rechts) von BioGlue® initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.	44
Abbildung 17: Scherfestigkeit (links) und Zugfestigkeit (rechts) von TruGlue® (schraffiert) und Histoacryl® initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.	45
Abbildung 18: Scherfestigkeit (links) und Zugfestigkeit (rechts) in MPa von MPC zwischen Knochen und Knochen und Knochen (angeraut mit SiC-Nassschleifpapier Korn 80) und Titan (abgestrahlt mit Edelkorund Korox 50, Korox 110, Korox 250); Messzeitpunkte initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.	46
Abbildung 19: Scherfestigkeit von MPC zwischen Knochen und Titan (sandgestrahlt mit Edelkorund Korox 50) und Knochen und rostfreiem Stahl (sandgestrahlt mit	

## Abbildungsverzeichnis

	<i>Edelkorund Korox 50); Messzeitpunkte initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.</i>	47
Abbildung 20:	<i>Scherfestigkeit (links) und Zugfestigkeit (rechts) von lichthärtendem Knochenklebstoff (SPEG/ PEGDMA/ Newberyit/ CQ) initial (0 h) und nach Alterung bei 37 °C in PBS nach 2 h, 24 h und 7 d.</i>	47
Abbildung 21:	<i>Längenänderung bei Zugbeanspruchung einer Klebung mit Histoacryl® (schwarz), TruGlue® (rot), MPC (blau), lichthärtendem Knochenklebstoff (SPEG/ PEGDMA/ Newberyit/ CQ) (rosa) und Bioglue® (grün) im Zugversuch.</i>	48
Abbildung 22:	<i>initiale Zugfestigkeit zwischen Edelstahl (sandgestrahlt mit Edelkorund Korox50) und Titan (sandgestrahlt mit Edelkorund Korox 50) von MPC mit einer möglichst geringen Klebefugenbreite (0 mm) und definierten Klebefugenbreiten von 1 mm, 2 mm und 3 mm.</i>	49
Abbildung 23:	<i>Mikroskopische Aufnahme nach Prüfung einer Knochenklebung mit Bioglue® (A), Histoacryl® (B), TruGlue® (C), MPC (D,E) und lichthärtendem Knochenklebstoff (F-H) nach siebentägiger Lagerung und Versagen im Zugversuch.</i>	52
Abbildung 24:	<i>Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus Bioglue® in 100-facher (A), 600-facher (B), 6000-facher (C) und 50000-facher (D) Vergrößerung nach siebentägiger Lagerung und Versagen im Zugversuch.</i>	53
Abbildung 25:	<i>Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus MPC (<math>Mg_3(PO_4)_2</math>; MgO; <math>C_6H_{18}O_{24}P_6</math>) in 500-facher (A), 3000-facher (B, C) und 10000-facher (D) Vergrößerung nach siebentägiger Lagerung und Versagen im Zugversuch.</i>	54
Abbildung 26:	<i>Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer Klebefuge aus lichthärtendem Knochenklebstoff (SPEG, PEGDMA, Newberyit, CQ) in 500-facher (A, B), 1000-facher (C) und 10000-facher (D) Vergrößerung nach siebentägiger Lagerung und Versagen im Zugversuch.</i>	55
Abbildung 27:	<i>Vergleich von Zug- und Scherfestigkeit (in MPa) zwischen TruGlue®, Histoacryl®, BioGlue®, MPC (Magnesia/ Trimagnesiumphosphat/ Phytinsäure) und lichthärtendem Knochenklebstoff (SPEG/PEGDMA/Newberyit/CQ) bei einer Messung initial (1) oder nach Lagerung in PBS-Puffer für 2 h (2), 24 h (3) und 7 d (4).</i>	86

## 9.1 Literaturverzeichnis der Abbildungen

- Abbildung 1: **Mit Erlaubnis des Rechteinhabers:** Wegst U.G.K., H. Bai, E. Saiz, A.P. Tomsia und R.O. Ritchie: *Bioinspired structural materials*; *Nat Mater*, 14 (1), S. 23-36, 2015 (Unwesentliche Abänderung)
- Abbildung 2 **Inhaltlich nach:** Habenicht G., *Festigkeit, Berechnung und Prüfung von Klebungen*, in *Kleben - erfolgreich und fehlerfrei: Handwerk, Praktiker, Ausbildung, Industrie*. 2016, Springer Fachmedien Wiesbaden: Wiesbaden.
- Abbildung 3 **Inhaltlich nach:** Habenicht G.: *Kleben: Grundlagen, Technologien, Anwendungen*, Springer Berlin Heidelberg, S. 821–836, 2013



## Anhang

### 10 Anhang

Tabelle 9: Mittelwerte der Zugfestigkeiten (in MPa), Standardabweichungen und Varianzkoeffizienten initial und nach Lagerung in PBS für 2 h, 24 h oder 7 d (aus jeweils n=10).

Klebstoff		Mittelwert Zugfestigkeit [MPa]			
		Standardabweichung [MPa]			
		Varianzkoeffizient [%]			
		Initial	2 h	24 h	7 d
Bioglue®	Mittelwert	0,57885	0,54815	0,89057	0,12268
	Standardabweichung	0,19868	0,1262	0,09685	0,09476
	Varianzkoeffizient	34,32322	23,02289	10,87505	77,24160
Histoacryl®	Mittelwert	5,83024	5,3769	5,29568	1,71177
	Standardabweichung	3,15197	1,74598	3,51572	0,23397
	Varianzkoeffizient	54,06243	32,47187	66,38845	13,66830
TruGlue®	Mittelwert	7,81409	2,46088	1,72075	0,94762
	Standardabweichung	2,92509	1,88652	0,9877	0,18532
	Varianzkoeffizient	37,43353	76,66038	57,39938	19,55636
<b>MPC</b>					
Knochen/ Knochen	Mittelwert	0,3098	0,35576	0,21448	0,14021
	Standardabweichung	0,26094	0,17851	0,0921	0,11054
	Varianzkoeffizient	84,22853	50,17708	42,94106	78,83888
Knochen/ Titan Korox 50	Mittelwert	0,26065	0,22077	0,23407	0,23418
	Standardabweichung	0,13456	0,11626	0,13462	0,12574
	Varianzkoeffizient	51,62478	52,66114	57,51270	53,69373
Knochen/ Titan Korox	Mittelwert	0,21523	0,25592	0,19641	0,22183

## Anhang

110	Standardabweichung	0,13641	0,13416	0,12456	0,09388
	Varianzkoeffizient	63,37871	52,42263	63,41835	42,32069
Knochen/ Titan Korox 250	Mittelwert	0,15805	0,15793	0,18014	0,20999
	Standardabweichung	0,10566	0,09823	0,11599	0,13962
SPEG/ PEGDMA/ Newberyit/ CQ	Standardabweichung	0,73514	0,48741	0,29034	0,1049
	Varianzkoeffizient	52,20571	53,63934	95,34036	46,03501

*Tabelle 10: Mittelwerte der Scherfestigkeiten (in MPa), Standardabweichungen und Varianzkoeffizienten initial und nach Lagerung in PBS für 2 h, 24 h oder 7 d (aus jeweils n=10).*

Klebstoff		Mittelwert Scherfestigkeit [MPa]			
		Standardabweichung [MPa]			
		Initial	2 h	24 h	7 d
Bioglu®	Mittelwert	0,58466	0,56889	0,51467	0,32582
	Standardabweichung	0,26067	0,16899	0,23584	0,27018
	Varianzkoeffizient	44,58488	29,70521	45,82353	82,92308
Histoacryl®	Mittelwert	1,2914	4,85124	4,07795	3,46017
	Standardabweichung	0,60479	1,23396	0,69937	0,81194
	Varianzkoeffizient	46,83212	25,43597	17,15003	23,46532
TruGlue®	Mittelwert	3,63798	3,6309	4,82484	1,27707
	Standardabweichung	0,92434	0,91784	1,11557	0,67782
	Varianzkoeffizient	25,40805	25,27858	23,12138	53,07618
<b>MPC</b>					

## Anhang

Knochen/ Knochen	Mittelwert	0,71862	0,63636	0,57684	0,67615
	Standardabweichung	0,34693	0,51164	0,32988	0,14761
	Varianzkoeffizient	48,27725	80,40103	57,18743	21,83095
Knochen/ Titan Korox 50	Mittelwert	1,00457	1,12706	0,72958	0,66582
	Standardabweichung	0,45502	0,22889	0,29506	0,25319
	Varianzkoeffizient	45,29500	20,30859	40,44244	38,02679
Knochen/ Titan Korox 110	Mittelwert	0,79924	0,65336	0,65221	0,7253
	Standardabweichung	0,39853	0,41306	0,26288	0,49009
	Varianzkoeffizient	49,86362	63,22088	40,30603	67,57066
Knochen/ Titan Korox 250	Mittelwert	0,89258	0,72433	1,06574	0,65408
	Standardabweichung	0,19787	0,34823	0,30531	0,42121
	Varianzkoeffizient	22,16832	48,07615	28,64770	64,39732
Knochen/ stainl. Steel Korox 50	Mittelwert	0,55906	0,43946	0,491	0,49929
	Standardabweichung	0,27802	0,20531	0,29142	0,38314
	Varianzkoeffizient	49,72990	46,71870	59,35234	76,73696
SPEG/ PEGDMA/ Newberyit/ CQ	Mittelwert	1,21737	1,10749	0,99232	0,67305
	Standardabweichung	0,57904	0,58239	0,34823	0,33627
	Varianzkoeffizient	47,56483	52,58647	35,09251	49,96211

## Anhang

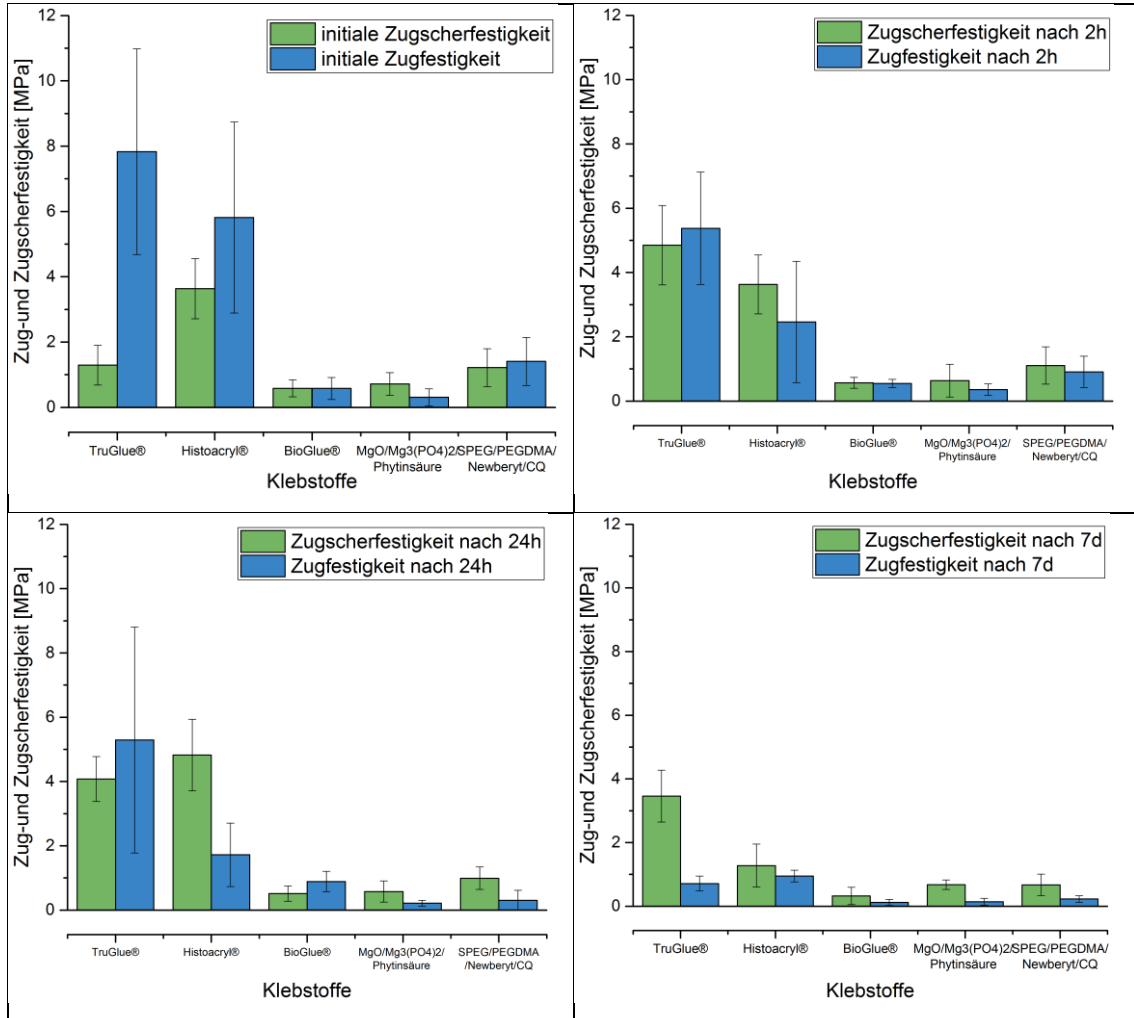


Abbildung 27: Vergleich von Zug- und Scherfestigkeit (in MPa) zwischen TruGlue®, Histoacryl®, BioGlue®, MPC (Magnesia/ Trimagnesiumphosphat/ Phytinsäure) und lichterhärtendem Knochenklebstoff (SPEG/PEGDMA/Newberyit/CQ) bei einer Messung initial (1) oder nach Lagerung in PBS-Puffer für 2 h (2), 24 h (3) und 7 d (4).

## Anhang

Tabelle 11: Menge der makroskopischen Zementrückstände des MPC in % (gerundet) auf dem Titan (Korox50, Korox110, Korox250) nach Prüfung im **Zugversuch**; Messzeitpunkte initial und nach Alterung bei 37°C in PBS nach 2h, 24h und 7d.

<b>Knochen/Titan</b> <b>Korox50</b>	Rückstände des MPC auf dem Titan in %				
	0	25	50	75	100
Initial	5	0	0	2	3
Nach 2h	0	1	0	2	7
Nach 24h	1	0	1	0	8
Nach 7d	7	2	1	0	0
	<50		≥50		<b>Summe</b>
Initial	5		5		10
Nach 2h	1		9		10
Nach 24h	1		9		10
Nach 7d	9		1		10
Summe	16		24		

<b>Knochen/Titan</b> <b>Korox110</b>	Rückstände der Klebstofffuge auf dem Titan in %				
	0	25	50	75	100
Initial	0	0	0	0	10
Nach 2h	2	4	0	2	2
Nach 24h	0	0	0	0	10
Nach 7d	6	1	0	0	3
	<50		≥50		<b>Summe</b>
Initial	0		10		10
Nach 2h	6		4		10
Nach 24h	0		10		10
Nach 7d	7		3		10
Summe	13		27		

<b>Knochen/Titan</b> <b>Korox250</b>	Rückstände der Klebstofffuge auf dem Titan in %				
	0	25	50	75	100
Initial	0	0	0	0	10

## Anhang

Nach 2h	2	1	0	0	7	
Nach 24h	8	0	1	0	1	
Nach 7d	1	2	0	0	7	
	<50		≥50			Summe
Initial	0		10			10
Nach 2h	3		7			10
Nach 24h	8		2			10
Nach 7d	3		7			10
Summe	14		26			

*Tabelle 12: Menge der makroskopischen Zementrückstände des MPC in % (gerundet) auf dem Titan (Korox50, Korox110, Korox250) nach Prüfung im Scherversuch; Messzeitpunkte initial und nach Alterung bei 37°C in PBS nach 2h, 24h und 7d.*

Knochen/Titan	Rückstände der Klebstofffuge auf dem Titan in %					
	Korox50	0	25	50	75	100
Initial	8	0	0	0	2	
Nach 2h	1	0	0	0	9	
Nach 24h	0	0	0	0	10	
Nach 7d	0	0	1	1	8	
	<50		≥50			Summe
Initial	8		2			10
Nach 2h	1		9			10
Nach 24h	0		10			10
Nach 7d	0		10			10
Summe	9		31			

Knochen/Titan	Rückstände der Klebstofffuge auf dem Titan in %				
	Korox110	0	25	50	75
Initial	10	0	0	0	0

## Anhang

Nach 2h	8	0	0	0	2	
Nach 24h	0	0	0	0	10	
Nach 7d	7	0	0	0	3	
	<50		≥50			<b>Summe</b>
<b>Initial</b>	10		0			10
Nach 2h	8		2			10
Nach 24h	0		10			10
Nach 7d	7		3			10
<b>Summe</b>	25		15			

<b>Knochen/Titan Korox250</b>	Rückstände der Klebstoffuge auf dem Titan in %					
	0	25	50	75	100	
Initial	3	0	0	5	2	
Nach 2h	0	0	1	2	7	
Nach 24h	0		0	0	10	
Nach 7d	1	0	0	0	9	
	<50		≥50			<b>Summe</b>
<b>Initial</b>	3		7			10
Nach 2h	0		10			10
Nach 24h	0		10			10
Nach 7d	1		9			10
<b>Summe</b>	4		36			

## Anhang

Tabelle 13: *Klebung mit MPC Knochen auf Titan (Titankörnung und Probenalter unbeachtet): Anzahl der Messreihen, innerhalb derer bei mindestens 7 bzw. mindestens 8 Prüfkörpern entweder <50% oder  $\geq 50\%$  der Zementreste auf dem Titan verbleiben.*

A	B	C	D	
Anzahl der Prüfkörper einer Messreihe mit dem gleichen Verhalten (Rückstände auf dem Titan $\geq 50\%$ oder $< 50\%$ )	Anzahl Messreihen bei denen das Kriterium aus Spalte A zutrifft	Summe der Messreihen	$\frac{\text{Spalte B}}{\text{Spalte C}}$ in %	Art des Versuchsaufbaus
$\geq 8$	6	12	50	Zugversuch
$\geq 7$	10	12	83,3	Zugversuch
$\geq 8$	10	12	83,3	Scherversuch
$\geq 7$	12	12	100	Scherversuch
$\geq 8$	16	24	66,7	Zugversuch und Scherversuch
$\geq 7$	22	24	91,6	Zugversuch und Scherversuch



## Danksagung

Ich möchte Prof. Dr. U. Gbureck für die Überlassung des interessanten Promotionsthemas, sowie für die gute Betreuung und die dabei stets herzliche Art danken.

Mein besonderer Dank gilt allen Insassen des Messraumes 3.508, die dafür gesorgt haben, dass ich gern meiner Promotionsarbeit nachgegangen bin und die mir die Zeit am Institut unvergesslich gemacht haben.

Ein herzlicher Dank gilt generell den Mitarbeitern der Funktionswerkstoffe der Medizin und Zahnmedizin, hierbei im Speziellen vielen Dank an Theresa Brückner für die Unterstützung im Labor und das intensive Korrekturlesen. Im Besonderen danke ich zudem Anton Hofmann für die umfassende Hilfe und Arbeit in der Werkstatt, für das Interesse an meiner Arbeit und gute Ideen.

Abschließend möchte ich Dr. Gerhard Habermann danken, der noch während meiner Promotionsarbeit am 14. Juni 2017 unerwartet verstorben ist. Er war zu dieser Zeit nicht nur ein herzensguter Chef, sondern auch ein Freund, der großes Interesse und Hilfsbereitschaft für diese Arbeit zeigte.