

Klinik für Orthopädie und Sportorthopädie  
der Technischen Universität München  
Klinikum rechts der Isar  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. R. Gradinger)

**Experimentelle Untersuchungen zum Abriebverhalten zementierter Titan- und CoCr-  
Hüftendoprothesen-Stiele und zu deren Abriebprodukten**

Regina Wittmann geb. Brem

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin  
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines  
Doktors der Medizin  
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier  
Prüfer der Dissertation: 1. Univ.-Prof. Dr. W. Mittelmeier, Universität Rostock  
(schriftl. Beurteilung)  
1. apl. Prof. Dr. Dr. H.P. Rechl (mdl. Prüfung)  
2. Univ.-Prof. Dr. R. Gradinger  
3. Univ.-Prof. Dr. A. Imhoff

Die Dissertation wurde am 27.02.2006 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin  
am 18.10.2006 angenommen.

---

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>4</b>
<b>2. PROBLEMSTELLUNG UND ZIELSETZUNG</b>	<b>8</b>
<b>3. MATERIAL UND METHODE</b>	<b>10</b>
<b>3.1 Partikelprüfstand</b>	<b>10</b>
3.1.1 Prüfobjekte	12
<b>3.2 Charakterisierung der Implantatoberfläche</b>	<b>14</b>
3.2.1 Makroskopische Beurteilung von Endoprothesen-Stiel und Knochenzement	14
3.2.2 Oberflächenrauheit	14
3.2.3 Rasterelektronenmikroskopie (REM)	15
<b>3.3 Charakterisierung der Grenzflächenprodukte</b>	<b>15</b>
3.3.1 Quantitative und qualitative Analyse der nativen Grenzflächenprodukte	15
3.3.1.1 Gravimetrische Bestimmung und makroskopische Betrachtung des generierten Abriebpulvers	15
3.3.1.2 Morphologie der Grenzflächenprodukte	15
3.3.1.3 Quantifizierung der nativen Grenzflächenprodukte mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)	19
3.3.2 Quantitative und qualitative Analyse der aufbereiteten Grenzflächenprodukte	21
3.3.2.1 Aufbereitung des Abriebpulvers und Eliminierung des Knochenzements	21
3.3.2.2 Partikelverlust bei Eliminierung des Knochenzements	23
3.3.2.3 Morphologie der aufbereiteten Grenzflächenprodukte	24
<b>3.4 Versuche zum Partikelverlust</b>	<b>26</b>
3.4.1 Partikelverlust in Abhängigkeit von Gefäß, Reagenz und Behandlung der Proben	26
3.4.2 Gefäßtestung	30
3.4.3 Pipettentestung	31
<b>3.5 Partikeladhärenz an Folien</b>	<b>33</b>
<b>4. ERGEBNISSE</b>	<b>36</b>
<b>4.1 Charakterisierung der Implantatoberfläche</b>	<b>36</b>
4.1.1 Makroskopische Beurteilung von Endoprothese und Knochenzement	36
4.1.2 Oberflächenrauheit	37
4.1.3 Rasterelektronenmikroskop (REM)	38
<b>4.2 Charakterisierung der Grenzflächenprodukte</b>	<b>42</b>
4.2.1 Quantitative und qualitative Analyse der nativen Grenzflächenprodukte	42
4.2.1.1 Gravimetrische Bestimmung und makroskopische Analyse des generierten Abriebpulvers	42
4.2.1.2 Morphologie der Grenzflächenprodukte	44
4.2.1.3 Quantifizierung der nativen Grenzflächenprodukte mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)	48
4.2.2 Quantitative und qualitative Analyse der aufbereiteten Grenzflächenprodukte	50

---

4.2.2.1	Aufbereitung des Abriebpulvers zur Eliminierung des Knochenzements	50
4.2.2.2	Partikelverlust bei Eliminierung des Knochenzements	51
4.2.2.3	Morphologie der aufbereiteten Grenzflächenprodukte	52
<b>4.3</b>	<b>Versuche zum Partikelverlust</b>	<b>55</b>
4.3.1	Partikelverlust in Abhängigkeit von Gefäß, Reagenz und Behandlung der Probe	55
4.3.2	Gefäßtestung	60
4.3.3	Pipettentestung	61
<b>4.4</b>	<b>Partikeladhärenz an Folien</b>	<b>64</b>
<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>67</b>
<b>5.1</b>	<b>Charakterisierung der Implantatoberfläche</b>	<b>69</b>
5.1.1	Makroskopische Beurteilung von Endoprothese und Knochenzement	69
5.1.2	Oberflächenrauheit	70
5.1.3	Rasterelektronenmikroskopie (REM)	71
<b>5.2</b>	<b>Charakterisierung der Grenzflächenprodukte</b>	<b>72</b>
5.2.1	Quantitative und qualitative Analyse der nativen Grenzflächenprodukte	72
5.2.1.1	Gravimetrische Bestimmung der Abriebmenge sowie Quantifizierung der Metallkonzentration und des Gesamtmetallabriebs mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)	72
5.2.1.2	Makroskopische Analyse und Morphologie der nativen Grenzflächenprodukte	79
5.2.2	Quantitative und qualitative Analyse der aufbereiteten Grenzflächenprodukte	83
5.2.2.1	Aufbereitung des Abriebpulvers zur Eliminierung des Knochenzements	83
5.2.2.2	Partikelverlust bei Eliminierung des Knochenzements	83
5.2.2.3	Morphologie der aufbereiteten Grenzflächenprodukte	84
<b>5.3</b>	<b>Versuche zum Partikelverlust</b>	<b>86</b>
5.3.1	Partikelverlust in Abhängigkeit von Gefäß, Reagenz und Behandlung der Probe	86
5.3.2	Gefäßtestung	88
5.3.3	Pipettentestung	89
<b>5.4</b>	<b>Partikeladhärenz an Folien</b>	<b>92</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>94</b>
<b>7</b>	<b>VERZEICHNISSE</b>	<b>96</b>
7.1	Literaturverzeichnis	96
7.2	Abbildungsverzeichnis	108
7.3	Tabellenverzeichnis	122
7.4	Chemikalienverzeichnis	123
7.5	Abkürzungsverzeichnis	125

---

<b>8. ANHANG</b>	<b>127</b>
<b>8.1 Abbildungen und Graphiken</b>	<b>127</b>
<b>8.2 Danksagung</b>	<b>160</b>
<b>8.3 Lebenslauf</b>	<b>161</b>

# 1. Einleitung

Die Totalendoprothetik ist ein effektives, verlässliches und kosteneffizientes Verfahren für die Wiederherstellung von großen, entzündlich oder traumatisch arthrotisch deformierten Gelenken ([42] S. 25). Der künstliche Gelenkersatz hat das Leben von Millionen von Patienten weltweit entscheidend verbessert. Während die Patienten früher dauerhaft Schmerzen hatten, auf den Rollstuhl oder fremde Hilfe angewiesen waren, können sie heute nach der Operation wieder ein annähernd normales Leben führen ([85] S. 115). Besonders der Hüftgelenkersatz stellt einen der bemerkenswertesten medizinischen Fortschritte des letzten Jahrhunderts dar. In Europa werden jährlich ca. 500.000 Hüftendoprothesen implantiert ([20] S. 918). In den nächsten Jahren ist mit einem Anstieg der notwendigen Hüftgelenkersatz-Operationen zu rechnen, da die Zahl alter Menschen stetig zunimmt, und zudem immer mehr junge, aktive Patienten von einer Arthrose im Hüftgelenk betroffen sind ([20] S. 918; [28] S. 57).

Diese demographische Entwicklung stellt eine große Herausforderung für die Endoprothetik dar, da eine dauerhafte Fixation und eine schmerzfreie Funktion der Endoprothese für alle Patienten erreicht, und somit die Zahl der Revisions-Operationen so gering wie möglich gehalten werden sollte ([20] S. 918). Dies impliziert, dass bei jüngeren Patienten teilweise Standzeiten von mehreren Jahrzehnten erreicht werden müssen.

Als Hauptursache für das Frühversagen des künstlichen Hüftgelenks gilt neben Infektion, Luxation, Knochen- und Implantatbrüchen die aseptische Lockerung ([4] S. 309; [5] S. 148; [15] S. 2082; [30] S. 586; [34] S. 77; [37] S. 258; [52] S. 155; [63] S.798; [75] S. 841; [90] S. 792, [92] S. 512; [93] S. 149; [99] S. 554), im besonderen bei jungen, aktiven Patienten ([39] S. 599).

Hierfür scheinen Gewebsreaktionen auf Abriebpartikel („wear disease“), die in der Gleitfläche Endoprothesenkopf-Pfanne, aber auch an der Grenzfläche Implantat-Knochen bzw. Implantat-Knochenzement entstehen, hauptverantwortlich zu sein ([1] S. 395; [17] S. 881; [77] S. 856; [82] S. 174; [98] S. 1773; [102] S. 51; [103] S. 7; [106] S. 271). Diese lösen komplexe Interaktionen zwischen Makrophagen, Fibroblasten, Osteoblasten, Osteoklasten und anderen Gewebszellen aus ([82] S. 174; [109] S. 22). Durch bestimmte Mediatoren, wie Interleukine, Matrix-Metalloproteinasen und andere Gewebefaktoren (PG-E<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ ) kommt es zur Stimulation von knochenresorptiven Vorgängen und zur verminderten Synthese von Knochenaufbaustoffen in Osteoblasten ([32] S. 206/207, [43] S. 912; [57] S. 40/46; [83] S. 810/814), was beides zur Verminderung der Knochensubstanz und damit zur Endoprothesenlockerung führt. Dabei gelten PG-E<sub>2</sub> und IL-1 als hauptsächliche Auslöser der Knochenresorption ([44] S. 826). Aber auch Mikro- und Relativbewegungen zwischen

Implantat und Knochen ([98] S. 1773; [109] S. 22), geänderte Belastungen des Knochenlagers nach Endoprothesen-Implantation („stress shielding“) ([47] S. 119, [101] S. 150; [106] S. 271), oder eine Kombination aus den genannten Versagensursachen ([49] S. 167; [82] S. 173/181) können zur aseptischen Lockerung führen.

Als mögliche Einflussfaktoren auf das Versagen zementierter Hüftendoprothesen-Stiele gelten sowohl der Endoprothesen-Stiel selbst als auch der Knochenzement. Hinsichtlich des Stiels hängt die Erfolgsrate bzw. Standzeit von dessen Werkstoff, Oberflächenbeschaffenheit und Design ab ([18] S. 685; [51] S. 597; [59] S. 956; [82] S. 179; [86] S. 570; [98] S. 1774; [109] S. 22).

In Bezug auf den Knochenzement spielen die Zusammensetzung, Viskosität, Zementiertechnik und Zementmanteldicke eine große Rolle ([1] S. 397; [19] S. 105; [20] S. 919; [45] S. 55; [64] S. 605; [74] S. 41; [93] S. 148).

In der Literatur wird auch auf den Einfluss von Zusammensetzung, Größe, Form und Menge der Abriebprodukte auf Zellreaktionen und Veränderungen des Gewebes, und damit auf die Lebensdauer von zementierten Hüftendoprothesen hingewiesen ([3] S. 511, [88]; [91] S. 214; [92] S. 514).

Zusätzlich kommt auch der Operationstechnik, der Erfahrung des Operateurs und Patientenbezogenen Faktoren, wie Alter, Geschlecht, Körpergewicht und -größe, Aktivität und Knochenqualität, eine entscheidende Bedeutung für die Standzeit einer Hüftendoprothese zu ([39] S. 599; [49] S. 157; [51] S. 595/597; [93] S. 148; [95] S. 623).

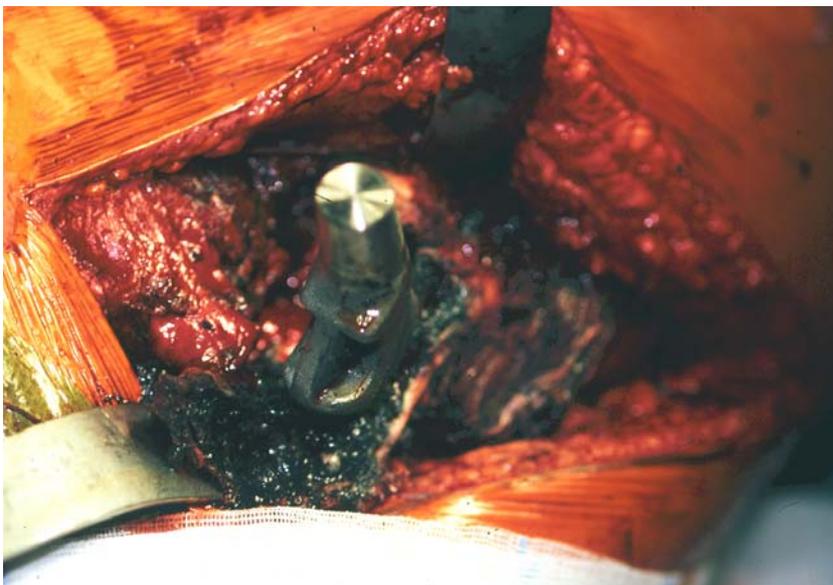
Unter den in der orthopädischen Chirurgie verwendeten Werkstoffen zeichnen sich Titan und seine Legierungen durch hohe Festigkeit, niedrigen Elastizitätsmodul, gute Gewebeverträglichkeit, geringe Toxizität, fehlende Immunogenität, exzellentes Einwachsen des Knochens und gute Korrosionsbeständigkeit aus ([1] S. 391; [2] S. 347; [44] S. 826; [45] S. 52; [51] S. 592; [54] S. 291; [59] S. 957; [60] S. 1623; [86] S. 572; [100] S. 181). Titanlegierungen werden heute sehr häufig als Implantatmaterial für zementfreie Hüftendoprothesen-Stiele erfolgreich verwendet. Bei manchen Modellen zementierter Stiele auf Titan-Basis wurden dagegen sehr hohe Frühlockerungsraten beobachtet ([36] S. 805; [51] S. 594; [59] S. 957; [64] S. 604; [86] S. 571; [80] S. 338). Eine wichtige Ursache für diese frühzeitige Lockerung bzw. das Versagen von Titan-Stielen ist der abrasive Verschleiß und die Spaltkorrosion ([59] S. 959). Infolge der Bildung einer stabilen Passivierungsschicht aus Titanoxid unter Sauerstoffverbrauch gelten Titan-Legierungen als sehr korrosionsbeständig im Körpermilieu. Bei zementierten Stielen ist jedoch die Sauerstoffzufuhr in die Grenzfläche zum Knochenzement begrenzt. Durch oben genannte Mikrobewegungen kann es unter ungünstigen Bedingungen zur Zerstörung der Titanoxid-Schicht an der Implantatoberfläche kommen. Durch Bildung einer unvollständigen Passivierungsschicht reagieren freigesetzte

Titan-Ionen mit Chlorid-Ionen, was die Ansäuerung der Umgebung zur Folge hat. Dadurch werden Korrosionsvorgänge an der Stiel-Oberfläche beschleunigt. Zudem zerstört der kontinuierliche mechanische Abrieb die unzureichende Passivierungsschicht ([36] S. 809; [86] S. 574; [100] S. 181; [102] S. 70) und erlaubt nicht deren geschlossene Neubildung.

Bei der Explantation insbesondere zementierter Hüftendoprothesen aus Titan wurde in zahlreichen Fällen ein meist schwärzlich verfärbtes Granulationsgewebe (Abb. 1.1) beobachtet ([2] S. 350; [13] S. 321; [33] S. 93; [39] S. 604; [44] S. 825; [52] S. 159;). Dies lässt vermuten, dass ein kausaler Zusammenhang zwischen metallischen Abriebpartikeln und entzündlichen bzw. osteolytischen Begleitreaktionen besteht. Bekräftigt wird diese Vermutung durch mehrere Beobachtungen bei der Explantation von gelockerten Hüftendoprothesen-Stielen: Neben dem schwärzlich verfärbten Granulationsgewebe wurden in manchen Gewebeproben Knochen- oder Zementfragmente entdeckt. Dabei enthielt das Zytoplasma von Synovialzellen und der meisten Histozyten des Granulationsgewebes viele schwarze, unregelmäßige Metallpartikel ([2] S. 350). Evans et al. fanden bei Hüftendoprothesen aus Titan, die versagt hatten, einen etwa hundertmal höheren Metallspiegel im Gewebe als bei solchen aus Kobalt-Chrom-Legierungen ([39] S. 605).

Kobalt-Chrom-Legierungen sind sehr hart ([13] S. 321; [14] S. 7; [38] S. 584). Sie besitzen ein höheres Elastizitätsmodul ([95] S. 628) und eine höhere Festigkeit ([97] S. 32), eine hohe Korrosionsbeständigkeit ([40] S. 14; [97] S. 32) und einen guten Verschleißwiderstand ([97] S. 31).

Bei CoCr-Stielen ist kein derartiges Frühversagen bekannt, wie es bei Titan-Stielen auftreten kann.



**Abb. 1.1: Revision eines Hüftendoprothesen-Stiels aus Titan. Ansammlung von schwärzlich-gefärbtem periprosthetischen Granulationsgewebe**

Die geringere Toxizität der Titanpartikel im Vergleich zu Kobalt-Chrom-Partikeln scheint in diesem Zusammenhang von Bedeutung zu sein. Während die toxischen Partikel aus Kobalt-Chrom-Legierungen eher zum Zelltod führen, stimulieren die weniger toxischen Titan-Partikel die Synthese und Abgabe von Entzündungsmediatoren, die für die Knochenresorption verantwortlich sind ([44] S. 826).

Es herrschen bis heute kontroverse Meinungen darüber, ob Titan-Basis-Legierungen weiterhin bei zementierten Hüftendoprothesen-Stielen klinisch eingesetzt werden sollen. In der Literatur wird nämlich auch von guten Erfolgsraten solcher Stiele berichtet ([18] S. 683; [45] S. 55).

Da Nickel und Chrom als Allergene bekannt sind ([48] S. 433; [54] S. 291; [94] S. 90), werden Legierungen aus diesen Metallen bei manifester Metallsensitivität nicht empfohlen ([81] S.1411). Potentiell nachteilig bei Kobalt-Chrom-Legierungen ist, dass eine Karzinogenität freigesetzter Partikel bislang nicht sicher auszuschließen ist ([27] S. 701; [54] S. 291; [84] S. 163).

In Bezug auf die Oberflächenbeschaffenheit scheinen raue Endoprothesenoberflächen die Erzeugung von Abrieb zu fördern, da diese v.a. nach dem „Debonding“ zu einer ungleichmäßigen Lastverteilung an der Grenzfläche Implantat-Zement führen ([20] S. 922; [30] S. 586; [36] S. 809; [66] S. 1201; [67] S. 1318). „Debonding“ entsteht, wenn der feste Verbund zwischen rauem Stiel und Zement, der anfangs durch die aufgeraute Oberfläche besteht, auf Dauer nicht aufrechterhalten werden kann, und sich der Stiel vom Zement löst ([20] S. 922).

In der Literatur sind mehrere Studien über die Effekte von Abriebpartikeln auf das Gewebe beschrieben, bei denen allerdings keine Partikel aus dem Interface zwischen Endoprothese und Knochenzement verwendet wurden. In einigen Studien wurden kommerzielle Titan-Partikel und deren Effekt auf verschiedene Zellen getestet ([15] S. 2083; [41] S. 334; [57] S. 41; [75] S. 842; [92] S. 510;), für andere Studien die Metallpartikel speziell artifiziell generiert ([24] S. 179; [44] S. 826; [72] S. 656; [77] S. 857; [78] S. 298; [79] S. 312; [90] S. 793; [91] S. 206; [108] S. 220).

Unabhängig von der Art und Herkunft der Partikel entstehen bei der Gewinnung von und beim Arbeiten mit Partikeln auffällige Mengenverluste ([96] S. 41). Diese sind z.T. auf deren Agglomeration ([32] S. 213; [53] S. 164) und Anhaftung an Kunststoffoberflächen, wie z.B. Pipettenspitzen und Reaktionsgefäßen, zurückzuführen ([96] S. 41).

## 2. Problemstellung und Zielsetzung

Ein Problem beim künstlichen Hüftgelenkersatz ist die Entstehung von Abriebpartikeln an verschiedenen Grenzflächen. Diese lösen, wie eingangs erwähnt, komplexe Gewebsreaktionen aus, in Folge derer es zu Endoprothesenlockerungen kommen kann. Bei zementierten Endoprothesen-Stielen aus Titan wurden z.T. vermehrt Lockerungen beobachtet ([59] S. 957; [64] S. 604). Abgesehen vom Werkstoff des Stiels scheinen auch die Oberflächenbeschaffenheit des Stiels, das Stiel-Design und der Knochenzement einen Einfluss auf die Erfolgsrate einer zementierten Hüftendoprothese zu haben ([1] S. 391; [49] S. 157; [51] S. 595; [99] S. 558,). Deshalb wäre es wünschenswert, die o.g. Einflussfaktoren gezielt bestimmen zu können.

Ziel dieser Arbeit ist es, mit Hilfe eines neu entwickelten In-vitro-Modells („Partikelprüfstand“) ([7] S. 95), diese Einflussfaktoren zu evaluieren und reproduzierbar Grenzflächenprodukte zu erzeugen. Die Destruktionsprodukte aus der Grenzfläche Implantat-Knochenzement sollen mittels verschiedener Methoden hinsichtlich Abriebmenge, Zusammensetzung, Größe und Größenverteilung der entstandenen Partikel analysiert werden. Zudem soll die Morphologie der in vitro generierten Abriebpartikel mit der von in vivo entstandenen Partikeln verglichen werden.

Es ist geplant, mit den im Partikelprüfstand generierten Abriebpartikeln später zellbiologische Untersuchungen durchzuführen, und die Reaktion der Zellen auf die Partikel zu analysieren. Zudem soll eine Methode zur Eliminierung des Knochenzementes und zur Gewinnung der reinen Metallpartikel entwickelt werden.

Wie eingangs schon erwähnt, ergibt sich beim Arbeiten mit Partikeln das Problem des enormen Partikelverlustes ([96] S. 41). Dieser kann zu einer erheblichen Verfälschung der Ergebnisse führen und die oft schon sehr kleine Menge an weiter verwendbaren Partikeln zusätzlich reduzieren, so dass diese nicht mehr in ausreichender Menge für weitere Tests zur Verfügung stehen. Deshalb ist es ein weiteres Ziel dieser Arbeit, Methoden zu entwickeln, mit denen handelsübliche Pipettenspitzen und Reaktionsgefäße auf deren Anhaftungsfähigkeit getestet werden und somit der Partikelverlust quantifiziert werden kann.

Die evaluierten Endoprothesenstiele sollen neben trockenen auch unter feuchten Umgebungsbedingungen im Partikelprüfstand untersucht werden. Hierbei tritt das Problem des Partikelverlustes durch Anhaftung an den Folien auf, die zur Abkapselung der Prüfvorrichtung benötigt werden. Adhärierende Partikel stehen jedoch für eine weitere Charakterisierung und Zellversuche nicht zur Verfügung. Deshalb sollen in einem weiteren Teilprojekt

verschiedene Folien hinsichtlich ihrer Anhaftungsfähigkeit und Reißfestigkeit analysiert werden. Die Festigkeit wird benötigt, da die Folie im Prüfstand mechanisch beansprucht wird.

Zusammenfassend sind folgende Ziele definiert:

- Evaluation des Abrasionsverhaltens von zementierten Hüftendoprothesen mittels eines speziellen In-vitro-Modells („Partikelprüfstand“)
- Reproduzierbare Erzeugung von Abriebprodukten aus der Grenzfläche zwischen Endoprothesenstiel und Knochenzement
- Evaluation des Einflusses der Werkstoffzusammensetzung (Stiel und Knochenzement) sowie der Modifikation der Stieloberfläche
- Aufbereitung und Charakterisierung der Abriebpartikel mittels verschiedener Methoden
- Entwicklung von Methoden zur Quantifizierung des Partikelverlustes durch verschiedene Reagenz- bzw. Laborgefäße und Pipetten
- Wahl einer geeigneten Folie für den Partikelprüfstand zur Testung der Stiele im feuchten Umgebungsmilieu

### 3. Material und Methode

Um das Abriebverhalten von zementierten Hüftendoprothesen-Stielen zu evaluieren, wurden diese in einem speziellen Prüfmodell (Partikelprüfstand) ([7] S. 95) getestet und die generierten Destruktionsprodukte qualitativ und quantitativ mittels verschiedener Methoden analysiert.

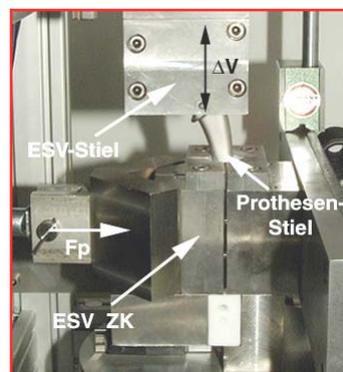
Des Weiteren werden verschiedene, eigens entwickelte Testverfahren zur Quantifizierung bzw. Minimierung des Partikelverlustes vorgestellt.

#### 3.1 Partikelprüfstand

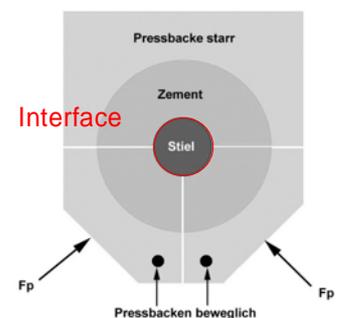
Der modular aufgebaute Prüfstand (Abb. 3.1 und 3.2) besteht im Wesentlichen aus Einspannvorrichtungen sowohl für den Endoprothesenstiel als auch den Zementköcher, sowie regelbaren Hydraulikkomponenten ([6] S. 168, [12] S. 224). Ein weggeregelter Hydraulikzylinder (= Bewegungszylinder) sorgt im Interface zwischen Prothesenstiel und Zementköcher für Relativbewegungen, die wiederum für die Destruktionsvorgänge in der Grenzfläche verantwortlich sind ([6] S. 169, [12] S. 224).



**Abb. 3.1:** Prüfstand zur Partikelerzeugung. Markierter Bildausschnitt siehe Detailvergrößerung in Abb. 3.2.



**Abb. 3.2:** Detailausschnitt aus der Abb. 3.1: Einspannvorrichtung des Endoprothesenstiels (ESV-Stiel), sowie des Zementköchers (ESV-ZK),  $F_p$ : Anpresskraft, eingeleitet über Hydraulikzylinder.



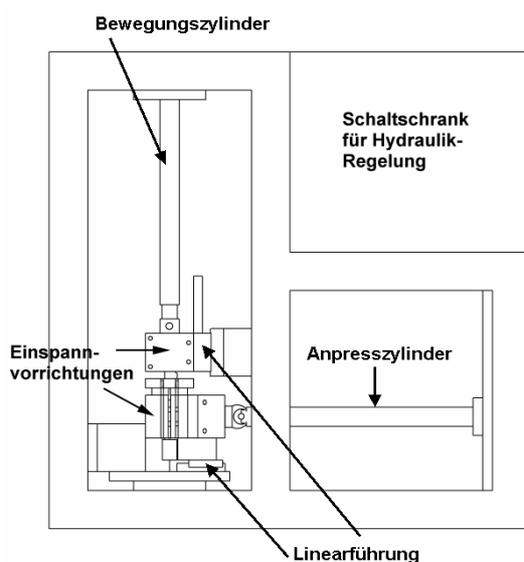
**Abb. 3.3:** Einleitung der Anpresskraft  $F_p$  in den 3-teiligen Zementköcher über zwei drehbar gelagerte Backen, die zudem horizontal uni-axial verschiebbar sind.

Es können klinisch relevante Relativbewegungen appliziert werden, die laut Literaturangaben im Interface Endoprothesenstiel-Zement zwischen 100  $\mu\text{m}$  und 500  $\mu\text{m}$  betragen ([63] S. 802; [76] S. 299). Der Zustand eines im Zementköcher gelockerten und reibenden Hüftendoprothesenstiels (Abb. 3.3) wird simuliert, indem nach vorausgegangener partieller distaler

Stiel-Zementierung das Interface zwischen Implantat und Zement gelockert wird ([6] S. 168, [12] S. 225) und anschließend o.g. Relativbewegungen mit einer Frequenz von bis zu 5 Hz appliziert werden ([6] S. 169, [12] S. 225). Die Bewegungsübertragung vom Hydraulikzylinder auf den Endoprothesenstiel erfolgt über eine formschlüssige Verbindung mittels der o.g. Einspannvorrichtung ([6] S. 169). Die Beanspruchung des Stiels bzw. des Zementköchers erfolgte jeweils über drei Mio. Belastungszyklen.

In dieser Arbeit wurden zur Herstellung des Zementköchers kommerzielle und neu entwickelte Endoprothesen-Zemente verwendet. Nach Anrühren des Zementes wurde der Zementköchler in einer speziell angefertigten Zementier Vorrichtung aus Polytetrafluorethylen (PTFE) hergestellt (Abb. 3.5). Der Endoprothesenstiel wurde nach dem Aushärten aus dem Zementköchler entfernt. Für jede Stieltestung wurde jeweils ein separater Köchler hergestellt. Um eine gleichmäßig verteilte Flächenpressung an der Grenzfläche zu erhalten, wurde der Zementköchler definiert in drei Teile gespalten. Die Einzementierung des Stiels erstreckte sich zur besseren Vergleichbarkeit mit Stielen anderen Designs und aus versuchstechnischen Gründen über das mittlere und distale Drittel des Prothesenstiels.

Der zu testende Prothesenstiel und die Zementköcherteile wurden anschließend in die Prüfvorrichtung eingebracht. Über einen Anpresszylinder (= kraftregelbarer Hydraulikzylinder) (Abb. 3.4) wurde während der ganzen Versuchsdauer eine konstante Flächenpressung zwischen Endoprothesenstiel und Knochenzement von 2 MPa aufrechterhalten ([6] S. 168, [12] S. 225).



**Abb. 3.4: Schemazeichnung des Prüfstands zur Partikelgenerierung.**



**Abb. 3.5: Vorrichtung zur Herstellung der Zementköchler.**

In der Literatur werden Flächenpressungen zwischen Endoprothesenstiel und Knochenzement von etwa 2 MPa bis maximal 7 MPa angegeben ([63] S. 802/803; [76] S. 298). Die Einleitung der Anpresskraft in den Zementköcher erfolgte über zwei drehbar gelagerte Backen. Die Druckkraft des Zylinders wurde dabei in zwei senkrecht zueinander stehende Kraftkomponenten zerlegt (Abb. 3.3). Ein Teil der Einspannvorrichtung war über eine Linearführung uni-axial beweglich gelagert (Abb. 3.3), um notwendige Ausgleichsbewegungen zu ermöglichen und somit die Flächenpressung trotz des stattfindenden Abriebs konstant zu halten ([12] S. 225).

Durch die Verschleißvorgänge an der Grenzfläche Stiel-Knochenzement (Abb. 3.7), entstanden kontinuierlich Abriebpartikel. Diese wurden bei der Testung im trockenen Umgebungsmilieu als Gemisch aus Knochenzement und Metallpartikeln in einem Behälter aus Polytetrafluorethylen (PTFE) (Abb. 3.7) gesammelt ([12] S. 225). Zur Vermeidung von Verunreinigungen des Abriebpulvers wurde der Teil des Prüfstandes, in dem sich die Prüfobjekte befanden, entsprechend abgedeckt. Nach Ablauf der Versuchszeit wurde die Abriebmenge mittels einer Feinanalysenwaage (BP210D, Fa. Sartorius, Göttingen) gravimetrisch bestimmt ([12] S. 225) und in ein Glasgefäß (Mikrofläschchen 15 ml, Fa. neoLab, Heidelberg) gefüllt.

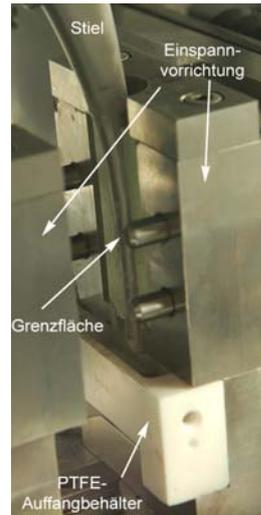
Nach jeder Testung wurden die Einspannvorrichtungen und der Auffangbehälter (im Ultraschallbad) mittels Ethanol gereinigt, um Verunreinigungen mit Abriebpartikeln von Testungen vorheriger Stiele auszuschließen.

### 3.1.1 Prüfobjekte

Getestet wurden anatomisch geformte, geometrisch identische zementierte CAP-M Hüftendoprothesen-Stiele (Peter Brehm Chirurgie Mechanik, Weisendorf). Diese bestanden aus TiAl6Nb7 (Abb. 3.6, links) sowie aus einer geschmiedeten CoCr28Mo6-Legierung (Abb. 3.6, rechts) mit definierten Oberflächenrauheiten. Dazu wurden die Stieloberflächen einer Kugelstrahlbehandlung (mittels Korund und Glasperlen) unterzogen. Die glatten Stiele beider Legierungen besaßen eine Rauheit ( $R_z$ ) von jeweils etwa 7  $\mu\text{m}$ , wohingegen die rauen Stiele ein  $R_z$  von etwa 20  $\mu\text{m}$  aufwiesen. Die Stiele aus TiAl6Nb7 wurden als Sonderanfertigung geschmiedet, da sie für den zementierten Einsatz in der Klinik nicht erhältlich sind, während die CoCr28Mo6-Stiele handelsüblich waren. Alle verwendeten Endoprothesenstiele wurden nach erfolgter Testung erneut kugelgestrahlt, um die gewünschte Oberflächenrauheit wieder einzustellen.



**Abb. 3.6: Prüfobjekte im Ausgangszustand: anatomische Hüftendoprothesen-Stiele aus TiAl6Nb7 (links) und CoCr28Mo6 (rechts).**



**Abb. 3.7: Detailansicht der Einspannvorrichtung des Hüftendoprothesen-Stiels mit Darstellung der Grenzfläche Endoprothesenstiel-Zementköcher sowie Auffangbehälter aus Polytetrafluorethylen.**

Zur Herstellung der Zementköcher wurden folgende Zemente verwendet:

- a) Polymethylmetacrylat (PMMA) Knochenzement mit Zirkondioxid (Palacos<sup>®</sup> R, Fa. Heraeus Kulzer, Werheim)
- b) Polymethylmetacrylat (PMMA) Knochenzement ohne Zirkondioxid (Palacos R, Fa. Heraeus Kulzer, Werheim)
- c) Polymethylmetacrylat (PMMA) Knochenzement mit Gentamicin und Bariumsulfat (BaSO<sub>4</sub>) (CMW 2000, Fa. DePuy Orthopaedie GmbH, Sulzbach)
- d) Standardvisköser Polymethylmetacrylat (PMMA) Knochenzement mit Zirkondioxid (Sulcem<sup>®</sup>1, Sulzer Orthopedics Ltd, Baar, CH)
- e) Niedrigvisköser Polymethylmetacrylat (PMMA) Knochenzement mit Zirkondioxid (Sulcem<sup>®</sup>3, Sulzer Orthopedics Ltd, Baar, CH)

Folgende Stiele wurden laut Tab. 3.1 getestet:

**Tab. 3.1: Auflistung der im Prüfstand getesteten Hüftendoprothesen-Stiele.**

WERKSTOFF	RAUHEIT	ZEMENT	ANZAHL
TiAl6Nb7	rau (Rz = ca. 20 $\mu\text{m}$ )	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=3
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=4
	glatt (Rz = ca. 7 $\mu\text{m}$ )	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=2
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=4
CoCr28Mo6	rau (Rz = ca. 20 $\mu\text{m}$ )	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=3
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=2
	glatt (Rz = ca. 7 $\mu\text{m}$ )	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=3
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=4
TiAl6Nb7	rau (Rz = ca. 20 $\mu\text{m}$ )	CMW 2000 mit BaSO <sub>4</sub>	n=1
CoCr28Mo6	glatt (Rz = ca. 7 $\mu\text{m}$ )	CMW 2000 mit BaSO <sub>4</sub>	n=2
CoCr28Mo6	rau (Rz = ca. 20 $\mu\text{m}$ )	CMW 2000 mit BaSO <sub>4</sub>	n=1
		Sulcem <sup>®</sup> 1 hochviskös, PMMA mit ZrO <sub>2</sub>	n=1
		Sulcem <sup>®</sup> 3 niedrigviskös, PMMA mit ZrO <sub>2</sub>	n=1

## 3.2 Charakterisierung der Implantatoberfläche

### 3.2.1 Makroskopische Beurteilung von Endoprothesen-Stiel und Knochenzement

Nach der Testung wurden die Stiele makroskopisch begutachtet. Hierbei sind mögliche Verschleißspuren und deren Sitz zu beurteilen und mögliche Rückschlüsse auf Hauptbelastungszonen zu ziehen.

Zudem wurde der Zementköcher makroskopisch beurteilt. Es sollte geklärt werden, inwieweit das Verschleißmuster am Endoprothesenstiel mit dem des Zementköchers korreliert.

### 3.2.2 Oberflächenrauheit

Vor und nach der Testung wurden die Oberflächenrauheiten der Stiele mittels eines Rauheitsmessgerätes (Surftest SV 502, Fa. Mitutoyo, Neuss) bestimmt. Dazu wurde bei jedem Stiel an denselben Stellen gemessen, d.h. 2,5 cm von der Stielspitze anterolateral und 8 cm von der Stielspitze dorsomedial. Diese weit distalen bzw. proximalen Areale stellen laut

Literatur die Hauptbelastungszonen von Endoprothesen-Stielen dar ([73] S. 221), d.h. bei Explantaten zeigen sich im Allgemeinen die Abriebspuren dort am deutlichsten ([25] S. 319; [66] S. 1198).

Durch Messung der Oberflächenrauheit konnten Änderungen der Oberflächentopographie ermittelt werden. Die Rauheit wird entweder als  $R_z$  oder  $R_a$  angegeben. Der Wert  $R_z$  gibt die gemittelte Rauhtiefe an. Er ist ein Mittelwert aus Einzelrauhtiefen  $Z_i$ , die den senkrechten Abstand des höchsten vom tiefsten Profilpunkt angeben. Unter  $R_a$  versteht man den Mittelrauhwert, der den arithmetischen Mittelwert der Beträge aller Profilwerte des Rauheitsprofils darstellt.

### **3.2.3 Rasterelektronenmikroskopie (REM)**

Die Oberfläche der getesteten Hüftendoprothesen-Stiele wurde nach der Testung sowohl an einem unbeanspruchten als auch einem beanspruchten Areal mit einem Rasterelektronenmikroskop (CamScan 44, Serien-Nr. 052, Cambridge Scanning, Cambridge, England) in Kooperation mit der FH Rosenheim (Prof. Dr. Müller/Frau Hartl) untersucht. Damit konnten mögliche abrasive Veränderungen an der Implantatoberfläche nachgewiesen werden, auch bei makroskopisch intakt erscheinender Oberfläche.

## **3.3 Charakterisierung der Grenzflächenprodukte**

### **3.3.1 Quantitative und qualitative Analyse der nativen Grenzflächenprodukte**

#### **3.3.1.1 Gravimetrische Bestimmung und makroskopische Betrachtung des generierten Abriebpulvers**

Nach Ablauf der Testung des Endoprothesenstiels über 3 Mio. Belastungszyklen wurde die Abriebpulvermenge (bestehend aus Zement- und Metallpartikeln), die in dem PTFE-Behälter (Abb. 3.7) aufgefangen worden war, mittels einer Feinanalysenwaage (BP210D, Fa. Sartorius, Göttingen) gravimetrisch bestimmt. Die Abriebpartikel wurden anschließend in ein Glasgefäß (Mikrofläschchen 15 ml, Fa. NeoLab, Heidelberg) gegeben.

Gleichzeitig wurde das Pulver makroskopisch begutachtet, um Unterschiede und Besonderheiten zwischen einzelnen Stielen und Knochenzementen zu ermitteln.

#### **3.3.1.2 Morphologie der Grenzflächenprodukte**

Die im Interface zwischen Implantat und Knochenzement anfallenden Grenzflächen- bzw. Destruktionsprodukte, die von der Implantatoberfläche, dem verwendeten Knochenzement

und ggf. darin enthaltenen Zirkondioxid- oder Bariumsulfat-Partikeln stammen, wurden mit verschiedenen unabhängigen Verfahren hinsichtlich deren Morphologie untersucht.

Durch den Vergleich der Größenverteilung der Partikel mit den Angaben in der Literatur, sollte geprüft werden, ob die im Partikelprüfstand generierten Destruktionsprodukte adäquate Prüfobjekte für nachfolgende zellbiologische Untersuchungen darstellten.

a) *Mastersizer*

Hinsichtlich der Größenverteilung der Destruktionsprodukte wurden am Mastersizer 2000 (Fa. Malvern, Worcestershire, UK) (Abb. 3.8) Analysen von verschiedenen Abriebpulvern (Tab. 3.2) durchgeführt.



**Abb. 3.8: Mastersizer 2000, Fa. Malvern, Worcestershire, UK.**

Dies geschah in Kooperation mit dem Zentralinstitut für Medizintechnik (ZIMT) der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. Wintermantel). Untersuchungen am Mastersizer sind ein anerkanntes Verfahren für die Bestimmung der Größenverteilung von Partikeln ([53] S. 164).

**Tab. 3.2: Native Grenzflächenprodukte von getesteten Hüftendoprothesen-Stielen, analysiert mittels Mastersizer.**

WERKSTOFF	RAUHEIT	ZEMENT	ANZAHL
TiAl6Nb7	rau (Rz = ca. 20 µm)	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=1
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=1
	glatt (Rz = ca. 7 µm)	Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=1
		Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=1
CoCr28Mo6	rau (Rz = ca. 20 µm)	Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=2
		Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=1
	glatt (Rz = ca. 7 µm)	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=1
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=1
	glatt (Rz = ca. 7 µm)	CMW 2000 mit BaSO <sub>4</sub>	n=1

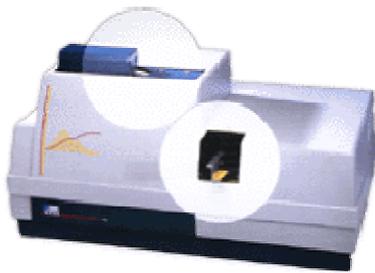
Die Messtechnik beruht auf dem Prinzip der Laserbeugung (Abb. 3.1 A). Ein Helium-Neon-Laserstrahl ist durch eine Reverse-Fourier-Linse auf einen Punkt in der Mitte des zentralen Detektors fokussiert. Dieser besteht aus einer großen Anzahl von Photosensoren, die um einen Zentralpunkt angeordnet sind und nach außen dabei flächenmäßig zunehmen. Durch eine kleine Öffnung im Zentrum des Detektors fällt der Laserstrahl auf einen zweiten Detektor. Wenn der Laserstrahl auf keine Partikel trifft, dann fällt das gesamte Laserlicht auf diesen zweiten Detektor. Sobald jedoch Partikel in den Laserstrahl eintreten, blockieren sie das Licht und lenken es auf andere Elemente der Detektoranordnung. Der Winkel, unter dem das Licht von einem Partikel abgelenkt wird, ist umgekehrt proportional zu dessen Größe. Es besteht eine direkte Beziehung zwischen der Intensitätsverteilung des gestreuten Lichtes und der Partikelgrößenverteilung. Es können Partikel mit einer Größe von 0,02 µm bis zu einer Größe von 2000 µm gemessen werden.

Für die Analysen wurden die nativen Destruktionsprodukte mit ein paar Tropfen wässriger Brij<sup>®</sup>-Lösung (5 Tropfen Brij<sup>®</sup> auf 15 ml H<sub>2</sub>O) vermischt. Brij<sup>®</sup> (Brij<sup>®</sup> 35 Solution, 35 %, Sigma Diagnostics, St. Louis, MO, USA) ist ein Detergenz und dient der Reduzierung der Oberflächenspannung. Dann wurden die Proben im Ultraschallbad behandelt, um eine gleichmäßigere Verteilung der Partikel zu erreichen ([53] S. 164), und eine Anhaftung der Partikel an die Gefäßwand zu verhindern. Anschließend wurden die suspendierten Abriebpulver nacheinander in die Messkapillare eingebracht und die Analyse durchgeführt.

### b) Lasergranulometer

In Zusammenarbeit mit dem Friedrich-Baur-Institut (Direktor: Prof. Dr. Ziegler), Bayreuth, wurden am unbehandelten, im Partikelprüfstand generierten Abriebpulver Messungen an einem Lasergranulometer (CILAS-Gerät 920, Fa. Quantachrome, Odelzhausen) (Abb. 3.9) durchgeführt. Exemplarisch wurde das Abriebpulver eines glatten CoCr28Mo6-Endoprothesenstiels, der gegen Knochenzement Palacos R ohne ZrO<sub>2</sub> gelaufen war, hinsichtlich der Größenverteilung der Partikel analysiert. Analog der Messungen mit dem Mastersizer wurde das Abriebpulver zur Herabsetzung der Oberflächenspannung mit wässriger Brij<sup>®</sup>-Lösung suspendiert.

Die erhaltenen Ergebnisse dienen zur Kontrolle der Analyseergebnisse des Mastersizers.



**Abb. 3.9: CILAS-Gerät 920, Fa. Quantachrome, Odelzhausen.**

### c) Flow Particle Image Analyser (FPIA)

Mit Hilfe dieses Partikelzählgerätes (FPIA-2100, Fa. Malvern, Worcestershire, UK) wurden in Kooperation mit der Fakultät für Maschinenwesen der Technischen Universität München (Frau Dr.-Ing. Guder) generierte Partikel gezählt und morphologisch vermessen. Dabei wurden die Partikel einer Zählklasse zugeordnet und einzeln photographisch abgebildet. Von jedem Partikel wurden zwei senkrecht zueinander liegende Längen bestimmt und anschließend ihr Verhältnis zueinander graphisch dargestellt. Mit dieser Methode kann analog zu Mastersizer und Lasergranulometer nicht zwischen PMMA-, Metall- und ZrO<sub>2</sub>-Partikeln unterschieden werden. Ebenso wird die Quantifizierung dadurch verfälscht, dass die Partikel manchmal große Agglomerate bilden, aus denen einzelne Partikel nicht differenziert werden können. Ein weiterer Nachteil ist, dass Destruktionsprodukte, die kleiner als 1 µm sind, mit der FPIA nicht mehr nachgewiesen werden können. Da kleine Partikel nicht mehr oder nur mit erheblichem Fehler auflösbar sind, wurden nur einzelne Proben exemplarisch analysiert.

#### *d) Rasterelektronenmikroskopie (REM)*

Die nativen Destruktionsprodukte wurden einer weiteren Analyse hinsichtlich Morphologie und Zusammensetzung im REM unterzogen. Die Metall-, Knochenzement- und keramischen ( $ZrO_2$ ) Partikel sollten zum einen hinsichtlich ihrer Größe und ihres Aussehens untersucht und eine EDX-Analyse zur Darstellung der im Abriebpulver vorhandenen Elemente durchgeführt werden. Dies ermöglichte sowohl den Vergleich mit o.g. Methoden als auch mit späteren REM-Aufnahmen der aufbereiteten Destruktionsprodukte.

#### **3.3.1.3 Quantifizierung der nativen Grenzflächenprodukte mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)**

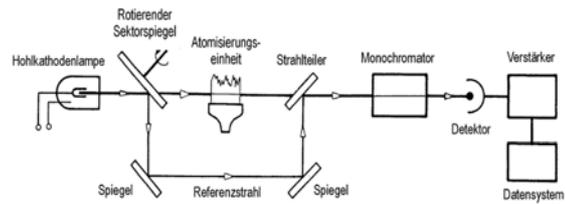
Der Einfluss der Oberflächenmodifikation (rau/glatt), des Endoprothesen-Werkstoffs und des verwendeten Knochenzements auf den Anteil metallischer Partikel in den jeweiligen Destruktionsprodukten wurde in Zusammenarbeit mit der Fachhochschule München (Fachbereich Feinwerk- und Mikrotechnik/Physikalische Technik, Prof. Dr. Winklmaier, Dipl.-Ing. Düttmann) mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) (Gerät: Spectr AA 30/40 Zeeman, Fa. Varian, Darmstadt) analysiert.

Die Atomabsorptionsspektrometrie (Abb. 3.10 und 3.11) ist ein Standardwerkzeug für die Analyse von Metallkonzentrationen ([84] S. 160) und eine hochselektive Methode zur Analyse von Elementen. Sie beruht auf der Absorption von ultraviolettem oder sichtbarem Licht durch neutrale, nicht angeregte gasförmige Atome. Die Wellenlängen des Lichtes sind für jedes Element spezifisch. Das Atomabsorptionsspektrometer besteht aus einer Primärstrahlungsquelle, einer Atomisierungseinrichtung, einem Monochromator, einem Detektor, einer Auswerte- und Steuerelektronik und einem Untergrundkompensator. Bei dem verwendeten Spektrometer wurde eine Hohlkathodenlampe als Primärstrahlungsquelle verwendet, die mit Titan bzw. Cobalt gefüllt ist. Die Hohlkathodenlampe sendet die charakteristische Strahlung des zu untersuchenden Elements und des Füllgases (Argon oder Neon) aus. Aus der Kathode dieser Lampe werden nach Anlegen einer Spannung von einigen hundert Volt, durch den Strom positiver Gasionen, Atome herausgeschlagen und zur Emission angeregt. Ein elektrisch beheiztes Graphitrohr wird zur Atomisierung der Probe verwendet.

Das Lösungsmittel bzw. bei Proben in wässriger Lösung das Aqua dest. wird zuerst durch Trocknen entfernt, dann werden die Feststoffpartikel atomisiert und das Graphitrohr anschließend ausgeheizt, um Metallreste zu entfernen. Durch einen Monochromator wird dann der gewünschte Wellenlängenbereich ausgeblendet und die Strahlung durch einen Photomultiplier in ein elektrisches Signal umgewandelt. Die unteren Nachweisgrenzen liegen bei einigen  $\mu\text{g/l}$ , z.T. bis zu einigen  $\text{ng/l}$ .



**Abb. 3.10: Atomabsorptionsspektrometer Spectr AA 30/40 Zeeman, Fa. Varian, Darmstadt.**



Schema eines Atomabsorptionsspektrometers

**Abb. 3.11: Schemabild des Funktionsprinzips des Atomabsorptionsspektrometers.**

Mittels AAS wurden folgende generierte native Grenzflächenprodukte (Tab. 3.3) analysiert:

**Tab. 3.3: Native Grenzflächenprodukte von getesteten Hüftendoprothesen-Stielen, analysiert mittels Atomabsorptionsspektrometer.**

WERKSTOFF	RAUHEIT	ZEMENT	ANZAHL
TiAl6Nb7	rau (Rz = ca. 20 $\mu\text{m}$ )	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=2
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=3
	glatt (Rz = ca. 7 $\mu\text{m}$ )	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=2
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=3
CoCr28Mo6	rau (Rz = ca. 20 $\mu\text{m}$ )	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=3
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=2
	glatt (Rz = ca. 7 $\mu\text{m}$ )	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=2
		Palacos <sup>®</sup> R mit ZrO <sub>2</sub>	n=3
TiAl6Nb7	rau (Rz = ca. 20 $\mu\text{m}$ )	CMW 2000 mit BaSO <sub>4</sub>	n=1
CoCr28Mo6	glatt (Rz = ca. 7 $\mu\text{m}$ )	CMW 2000 mit BaSO <sub>4</sub>	n=2
CoCr28Mo6	rau (Rz = ca. 20 $\mu\text{m}$ )	CMW 2000 mit BaSO <sub>4</sub>	n=1
		Sulcem <sup>®</sup> 1 hochviskös, PMMA mit ZrO <sub>2</sub>	n=1
		Sulcem <sup>®</sup> 3 niedrigviskös, PMMA mit ZrO <sub>2</sub>	n=1

Vor der Analyse wurden eine Blanklösung und eine Ti- bzw. Co-Standardlösung zur Kalibrierung des Gerätes hergestellt. Diese enthielten jeweils definierte Mengen Salzsäure (HCl), Glycerin, organisches Lösungsmittel (DMSO/DMF/Aceton) und wurden bis zu einem

Volumen von 20 ml mit Aqua dest. aufgefüllt. Im Gegensatz zur Blanklösung wurde der Standardlösung ein 10 mg/l Titanstandard bzw. ein 10 mg/l Cobaltstandard hinzugefügt.

Für die Messung der Cobalt-, nicht jedoch für die Titan-Proben war zusätzlich die Herstellung eines Modifiers erforderlich. Dieser bestand zu gleichen Teilen aus Palladium-(II)-chlorid 2g/l und Hydroxylammoniumchlorid 100 g/l. Der Modifier wird nur bei leicht verdampfenden Elementen benötigt. Dadurch werden diese so modifiziert, dass sie erst bei höheren Temperaturen verdampfen. Dadurch können für das Ausheizen des Graphitrohres sehr hohe Temperaturen verwendet werden, wodurch das Graphitrohr besser von Verschmutzungen durch Proben- bzw. Metallreste gereinigt wird.

Zur Aufbereitung der Abriebpulver wurden je nach vorhandener Menge zwischen 5 und 15 mg des Destruktionsproduktes in einen 10 ml Glaskolben eingebracht. Danach wurde das Pulver mittels o.g. Reagenzien gelöst. Zur Verbesserung der Löslichkeit und zur Vermeidung der Anhaftung von Partikeln am Gefäß wurde jede Lösung 3 Minuten im Ultraschallbad behandelt.

Nach Herstellung einer Kalibrierkurve wurde jeweils 1 ml der zu messenden Probe in ein spezielles Gefäß gegeben und der Ti- bzw. Co-Gehalt gemessen. Sofern der Metallgehalt in der Probe oberhalb der Nachweisgrenze lag, wurde die Probe nochmals verdünnt und erneut gemessen. Vor jeder Messung wurden die Proben ausgiebig von Hand geschüttelt, um die Messung einer falsch niedrigen Metallkonzentration bedingt durch mögliche Sedimentation und Anhaftung der Partikel zu vermeiden.

### **3.3.2 Quantitative und qualitative Analyse der aufbereiteten Grenzflächenprodukte**

#### **3.3.2.1 Aufbereitung des Abriebpulvers und Eliminierung des Knochenzements**

Zur Charakterisierung von an der Stiel-Oberfläche freigesetzten Abriebpartikeln mussten die organischen Knochenzement-Bestandteile (PMMA), welche den Hauptbestandteil des Abriebproduktes ausmachten, in einem geeigneten Verfahren separiert bzw. chemisch eliminiert werden. Um die reinen metallischen Abriebpartikel allein (bei Verwendung von ZrO<sub>2</sub>-haltigem Knochenzement zusammen mit den keramischen ZrO<sub>2</sub>-Partikeln) analysieren zu können, wurde ein Verfahren zur Eliminierung des PMMA-Knochenzements entwickelt.

Nach Rücksprache mit dem Zementhersteller wurde der Knochenzement zunächst mittels Aceton aufgelöst. Da die Zementpartikel im Abriebpulver durch Aceton aber nur unzureichend aufzutrennen waren, wurden in einem Parallelversuch die organischen Lösungsmittel Dimethylsulfoxid (DMSO) und N,N-Dimethylformamid (DMF) zur Partikelaufräumung verwendet.

Die Vorgehensweise bei der Aufbereitung der Grenzflächenprodukte ist in Tabelle 3.4 dargestellt.

**Tab. 3.4: Schritte zur Aufbereitung der nativen Grenzflächenprodukte.**

	<b>Aufbereitungsschritte</b>
<b>1. Reinigung Knochenzement</b>	<b>1.1</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l <u>Lösungsmittel</u> ; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>1.2</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l <u>Lösungsmittel</u> ; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>1.3</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l <u>Lösungsmittel</u> ; 30 min <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>1.4</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l <u>Lösungsmittel</u> ; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>1.5</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l <u>Lösungsmittel</u> ; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>1.6</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l <u>Lösungsmittel</u> ; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>1.7</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l <u>Lösungsmittel</u> ; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>1.8</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l <u>Lösungsmittel</u> ; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
<b>2. Auswaschen v. Lösungsmittel</b>	<b>2.1</b> Auswaschen des <u>Lösungsmittels</u> durch Zugabe von 1500 $\mu$ l Aqua dest.; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>2.2</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l Aqua dest.; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>2.3</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l Aqua dest.; 30 Minuten <i>Sedimentation</i> ; Abpipettieren des Überstandes
	<b>2.4</b> Zugabe von 1500 $\mu$ l Aqua dest.

Von den im Prüfstand generierten Abriebpulvern wurden je nach vorhandener Abriebmenge und je nach Bedarf zwischen 5 und 30 mg in ein Glasgefäß (Mikrofläschchen 5 ml, Fa. neoLab, Heidelberg) gegeben. Nach Zugabe von Lösungsmittel (DMSO, DMF bzw. Aceton) und anschließender Sedimentation wurden unter der Annahme eines Absinkens der Metallpartikel jeweils ca. 2/3 des gräulich, teilweise milchig-trüben Überstandes abpipettiert und in einem eigenen Glasgefäß für eine spätere Kontrollanalyse aufbewahrt. Zum

Pipettieren wurden Pipettenspitzen aus Polypropylen (SafeSeal-Tips<sup>®</sup>, Fa. Biozym, Hess. Oldendorf) verwendet.

Dem Sediment wurden wiederum 1,5 bzw. 2 ml Lösungsmittel zugegeben. Dieser Schritt wurde bis zu zehnmal wiederholt, bis der Überstand keine Zementschlieren mehr aufwies bzw. klar war. Um die Lösung mit den Metallpartikeln für spätere Zellversuche verwenden zu können, ist eine anschließende Entfernung bzw. Neutralisierung des zelltoxischen organischen Lösungsmittels erforderlich. Dies erfolgte in analoger Technik, nur dass Aqua dest. anstelle von Lösungsmittel verwendet wurde. Die Schritte wurden 3- bis 4-mal wiederholt, bis kein Lösungsmittelgeruch mehr wahrnehmbar war.

### **3.3.2.2 Partikelverlust bei Eliminierung des Knochenzements**

Zur Überprüfung der Effizienz des neu entwickelten Verfahrens zur Eliminierung des Knochenzements und Gewinnung von reinen Metallpartikeln wurden am Atomabsorptionsspektrometer Vergleichsmessungen durchgeführt. Hierzu wurde die Metallkonzentration in verschiedenen abpipettierten Überständen, die beim Auflösen des Knochenzements mit den jeweiligen Lösungsmitteln oder Auswaschen der Lösungsmittel mit Aqua dest. entstanden, sowie in der reingewaschenen Probe gemessen. Die Ergebnisse wurden mit den vorher gemessenen Konzentrationen der nativen Abriebpulver verglichen, um den bei dieser Methode anfallenden Partikel- bzw. Metallverlust quantifizieren zu können.

Für die Messung im Atomabsorptionsspektrometer (Abb. 3.10 und 3.11) wurden die Lösungen folgendermaßen aufbereitet: Um eine Anhaftung von Partikeln am Glasboden zu vermeiden, wurde jedes Probengefäß in ein Ultraschallbad (1 bis 5 Minuten je nach Sediment) gestellt. Anschließend wurde die Lösung in einen 25 ml Glaskolben überführt. Das Probengefäß wurde zusätzlich mit jeweils 1 ml Aqua dest. zweimal und dann mit 1 ml HCl nachgewaschen, um angehaftete Partikel zu lösen und somit einen möglichen Partikelverlust zu minimieren. Anschließend wurden in den Kolben 2,4 g Glycerin und Aqua dest. bis zu einem Gesamtvolumen von 25 ml zugegeben. Das Glycerin dient zur Erhöhung der Viskosität, ohne welches ein falsch niedriges Ergebnis durch eine zu rasche Sedimentation der Partikel während der Messungen im Atomabsorptionsspektrometer entstehen würde. Aus oben hergestellter Lösung wurde jeweils 1 ml für die Messungen im Spektrometer entnommen.

Die Herstellung der Blank-, Ti- bzw. Co-Standardlösungen und des Modifiers erfolgte analog der Messungen des nativen Abriebpulvers.

### 3.3.2.3 Morphologie der aufbereiteten Grenzflächenprodukte

Nach der Aufbereitung der generierten Destruktionsprodukte lagen die Metall- bzw.  $ZrO_2$ -Partikel zur weiteren Analyse und Charakterisierung gelöst in Aceton bzw. DMSO bzw. DMF, sowie nach deren Auswaschen in wässriger Lösung vor.

#### a) Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Metallische Grenzflächenprodukte im  $\mu\text{m}$ - und Sub- $\mu\text{m}$ -Bereich wurden aus der Lösung mittels Polycarbonat-Filtern herausgefiltert und nach Präparation der Filter (Goldbedampfung) im REM untersucht. Zur rasterelektronenmikroskopischen Partikelanalyse standen jeweils Filter-Rückstände aus Überständen und gewaschenen Proben von rauhen und glatt gestrahlten TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Prothesen zur Verfügung. Zusätzlich wurden exemplarisch ein Aufbereitungs-Überstand und eine gewaschene Probe direkt ohne vorherige Filtrierung im REM untersucht.

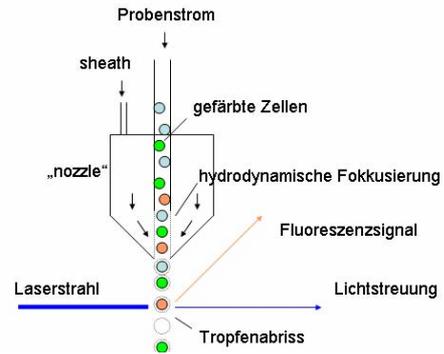
#### b) Durchflusszytometrie

Da sich in Vorversuchen die Konzentration der aufbereiteten Partikel als zu gering bzw. zu nahe an der Nachweisgrenze für eine valide Analyse mittels Lasergranulometer bzw. Mastersizer erwies, wurden die Größenverteilung und Granularität der aufbereiteten Partikel mit Hilfe der Durchflusszytometrie (FACSCalibur™, Fa. Becton-Dickinson, Heidelberg) bestimmt.

Die Durchflusszytometrie (Abb. 3.12 und 3.13) ist ein optisches Meßsystem zur Analyse von physikalischen und molekularen Eigenschaften einzelner Zellen und Partikel (z.B. aus Kunststoff und Metall). Das Gerät besteht im Wesentlichen aus einem optischen System, einem Flüssigkeitssystem mit Probenröhrchen, Messkammer und Messpunkt und einer Signalverarbeitungseinheit zur Umwandlung von optischen in elektrische Signale. Suspendierte Einzelzellen oder Partikel werden an einem Lichtstrahl (Laser: Argon, He-Ne, Krypton) vorbeigeführt. Dabei senden sie charakteristische Lichtsignale (Vorwärts-Streuung, Seitwärts-Streuung, Fluoreszenz-Licht) aus, die durch geeignete Detektoren erfasst werden. Das Vorwärts-Streulicht ist dabei proportional zur Zellgröße während das Seitwärts-Streulicht proportional zur Granularität der Zellen bzw. Partikel ist. Für die Fluoreszenz sind nach Möglichkeit gefärbte Partikel bzw. Zellen erforderlich. Diese ist proportional zur Anzahl gebundener Fluorochrom-Moleküle und damit zur Menge angeregter Zellen bzw. Partikel.



**Abb. 3.12: Durchflusszytometer (FACSCalibur™, Fa. Becton-Dickinson, Heidelberg).**



**Abb. 3.13: Schemabild des Funktionsprinzips des Durchflusszytometers.**

Es wurden aufbereitete, gereinigte Partikel und Partikel von unter 2.3.2.1 genannten Aufbereitungs-Überständen von glatten und rauen TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen, die sowohl gegen Knochenzement mit als auch ohne ZrO<sub>2</sub> gelaufen waren, analysiert. Zusätzlich wurden aufbereitete und gereinigte Partikel und Aufbereitungs-Überstände von rauen CoCr28Mo6-Stielen, die sowohl gegen Knochenzement Sulcem® 1 als auch Sulcem® 3 gelaufen waren, hinsichtlich der Partikelverteilung analysiert (Tab. 3.5). Als Referenz wurden kommerzielle Partikel aus cp-Titan (3 µm Durchschnittsgröße, Fa. Chemetall, Frankfurt) und TiO<sub>2</sub> (0,5 µm und 1,8 µm, Hombitan, Fa. Sachtleben, Duisburg) untersucht. Eine Analyse von Partikeln aus der Prüfung von Endoprothesen-Stielen gegen Knochenzement CMW 2000 war wegen der geringen Abriebpulvermenge nicht möglich.

**Tab. 3.5: Auflistung der Lösungen aufbereiteter Grenzflächenprodukte von getesteten Hüftendoprothesen-Stielen, analysiert mittels Durchflusszytometer.**

WERKSTOFF	RAUHEIT	KNOCHENZEMENT	ANZAHL	UNTERSUCHTE LÖSUNG
CoCr28Mo6	rau (Rz = ca. 20 µm)	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=1	Überstände 1 – 4 reingewaschene Probe
		Palacos® R mit ZrO <sub>2</sub>	n=1	Überstände 1 – 4 reingewaschene Probe
	glatt (Rz = ca. 7 µm)	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=1	Überstände 2 – 4 reingewaschene Probe
		Palacos® R mit ZrO <sub>2</sub>	n=1	Überstände 2 – 4 reingewaschene Probe
TiAl6Nb7	rau (Rz = ca. 20 µm)	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=1	Überstände 2, 4, 5 reingewaschene Probe
		Palacos® R mit ZrO <sub>2</sub>	n=1	Überstände 1 – 4 reingewaschene Probe
	glatt (Rz = ca. 7 µm)	Palacos R ohne ZrO <sub>2</sub>	n=1	Überstände 1 – 4 reingewaschene Probe
		Palacos® R mit ZrO <sub>2</sub>	n=1	Überstände 1 – 4 reingewaschene Probe

### 3.4 Versuche zum Partikelverlust

Beim Arbeiten mit metallischen Partikeln wurden deren Verluste beschrieben ([96] S. 41) Zur Bewertung eines möglichen Verlustes von im Prüfstand generierten Destruktionsprodukten im Rahmen der Aufbereitung und Weiterverarbeitung wurden verschiedene handelsübliche Probengefäße und Pipettendesigns getestet.

#### 3.4.1 Partikelverlust in Abhängigkeit von Gefäß, Reagenz und Behandlung der Proben

Zum einen wurde der Einfluss verschiedener handelsüblicher Probengefäße, Reagenzien und unterschiedlicher Behandlungsmethoden der Proben geprüft. Ziel war es, geeignete Gefäße, Reagenzien und Behandlungsmethoden zur Minimierung der Verluste von Metallpartikeln zu finden.

Es wurden folgende Gefäße verwendet (Abb. 3.14):

- Eppendorf-Reaktionsgefäße aus Polypropylen (Micro Test Tubes 2,0 ml, Fa. Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg)
- Biozym-Reaktionsgefäße aus Polypropylen (Reaktionsgefäße 2,0 ml, Fa. Biozym Diagnostik GmbH, Hess. Oldendorf)
- Falcon®-Röhrchen aus Polypropylen (Falcon® Tubes 15 ml, Fa. Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA)
- Glasgefäße (Mikrofläschchen 5 ml, Fa. neoLab, Heidelberg)



**Abb. 3.14: Verwendete Gefäße im Partikelverlustversuch: Eppendorf-Reaktionsgefäß (links außen), Biozym-Reaktionsgefäß (links Mitte), Glasgefäß (rechts Mitte) und Falcon®-Röhrchen (rechts außen).**

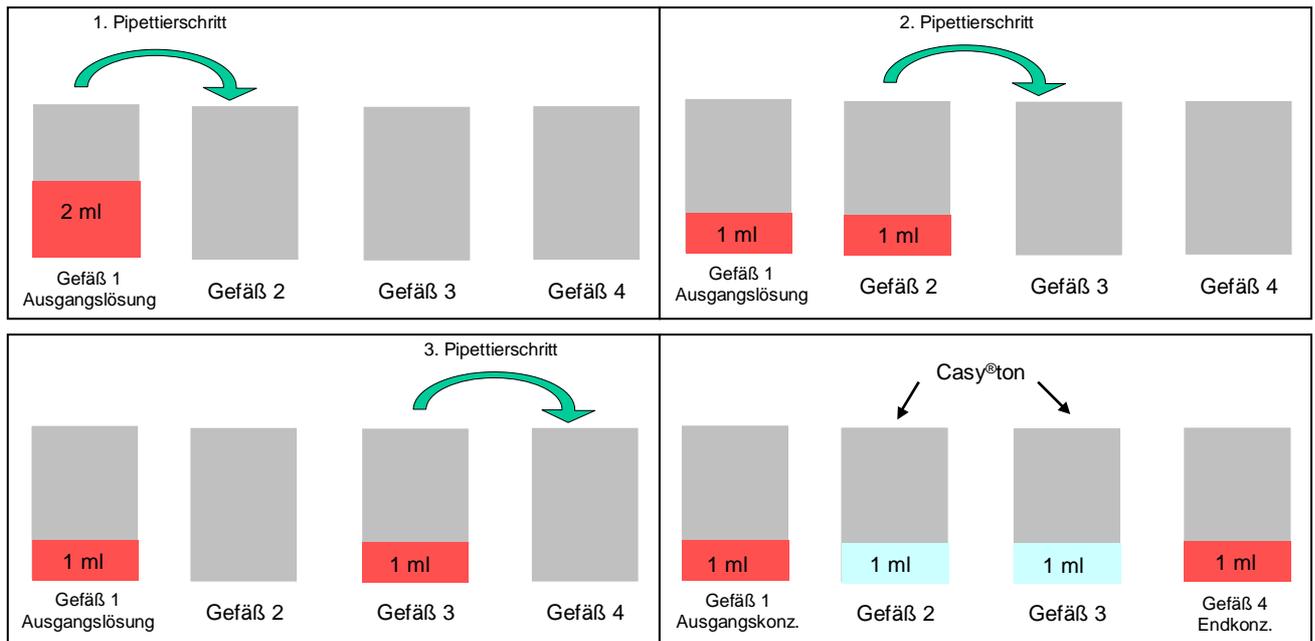
Für die Versuche wurde zunächst aus 30 mg kommerziellen cp-Titan-Partikeln und 10 ml Aqua dest. ein Stammlösung hergestellt, um eine annähernd gleiche Anzahl und

gleichmäßige Größenverteilung der Partikel in allen Probengefäßen zu garantieren. In Vorversuchen, bei denen die Titanpartikel direkt in die zu testenden Gefäße abgewogen worden waren, hatte sich eine extrem unterschiedliche Anzahl von Partikeln in der Ausgangslösung gezeigt, so dass die Ergebnisse nicht vergleichbar waren.

Aus der Stammlösung wurden 500 µl entnommen und in die verschiedenen unbehandelten oben genannten Gefäße pipettiert, wobei für jedes Gefäß jeweils vier Ansätze hergestellt wurden, da zwei Einflussfaktoren getestet werden sollten. Es wurden je zwei Gefäße einer Gefäßart mit Zellmedium + Trypsin-EDTA (Fa. Biochrom AG, Berlin) bzw. Phosphat gepufferte Kochsalzlösung mit pH 7,4 (PBS) (Fa. Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim) auf insgesamt 2 ml aufgefüllt. Danach wurden die Lösungen kräftig mittels eines Vortexgerätes gemischt. (Ausgangskonzentration: 0,75 mg Titanpartikel/1 ml)

Um den Einfluss von Ultraschall auf die bessere Löslichkeit der Partikel von den Gefäßwänden und auf die Vermeidung der Agglomeration der Partikel, der in der Literatur beschrieben ist ([53] S. 164), analysieren zu können, wurde jeweils ein Ansatz je Reagenz und Gefäß (d.h. je Gefäß zwei Ansätze) für 5 Minuten ins Ultraschallbad gestellt. Die beiden je Gefäß übrigen Ansätze blieben unbehandelt, um die Ergebnisse vergleichen und so Rückschlüsse auf den Einfluss von Ultraschall-Behandlung auf den Partikelverlust ziehen zu können.

Nach dieser Vorbereitung wurde aus jedem Gefäß jeweils 1 ml entnommen und in ein leeres Gefäß gleicher Art pipettiert. Dieser 1 ml wurde noch zweimal in ein anderes leeres Gefäß pipettiert. Da der 1 ml aus den mittleren Gefäßen jeweils wieder entnommen wurde, enthielten sowohl das erste als auch das vierte Gefäß jeweils 1 ml der Ausgangslösung, während die beiden mittleren Gefäße keine Lösungen mehr enthielten (Abb. 3.15). Mittels dieses Versuches sollte getestet werden, wie viele Partikel in den Gefäßen 2 und 3 zurückbleiben, obwohl der gesamte 1 ml der Lösung herauspipettiert worden war. Zudem war auch der Vergleich zwischen dem ersten und vierten Gefäß möglich, die beide die gleiche Anzahl an Partikeln enthalten sollen, unter der Annahme, dass man keine Partikel zwischen den einzelnen Schritten verliert.



**Abb. 3.15: Schemabild zur Vorgehensweise beim Partikelverlust-Versuch.**

Pipettiert wurde mit Pasteurpipetten aus Glas (Fa. John Poulten, Ltd, Barking, UK) bei den Glasgefäßen, mit Macro Tips aus Polypropylen (Fa. Biozym Diagnostik GmbH, Hess. Oldendorf) bei Biozym- und zunächst auch bei Eppendorf-Cups und mit einer serologischen Pipette (Abb. 3.2A) (Falcon<sup>®</sup> Serologische Pipette, 2 ml, Fa. Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) bei den Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen.

Zusätzlich wurde derselbe Versuch mit Eppendorf-Cups, bei denen mit Eppendorf-Pipettenspitzen aus Polypropylen (Fa. Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg) pipettiert wurde, durchgeführt. Für eine weitere analoge Versuchsreihe mit Eppendorf-Gefäßen wurden Combitips plus-Pipettenspitzen aus Polypropylen und Polyethylen (Fa. Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg) verwendet. Hiermit sollte gewährleistet werden, dass bei jeder Versuchsreihe mit den Materialien derselben Firma gearbeitet wurde.

Zur Quantifizierung des Partikelverlustes wurden alle entsprechend hergestellten Lösungen am Zentralinstitut für Medizintechnik der Technischen Universität München (Direktor: Prof. Dr. Wintermantel) mit dem Cell Counter (Casy<sup>®</sup>1, Fa. Schärfe, Reutlingen) gemessen.

Der Cell Counter (Abb. 3.16) ist ein Gerät zur Partikel- und Zellzählung. Die Messungen beruhen auf dem Widerstandsmessprinzip kombiniert mit der Pulsflächenanalyse, einer Methode zur Signalauswertung. Zur Messung werden die Partikel bzw. Zellen in einer schwachen Elektrolytlösung suspendiert und mit konstanter Geschwindigkeit durch eine Kapillare definierter Geometrie gesaugt. In den Kapillarkörper ist ein Rubin mit

Präzisionsmessspore eingegossen. Während der Messung wird über zwei Elektroden aus Platin eine Spannung an die Kapillarstrecke angelegt. Die Partikel bzw. Zellen verdrängen beim Durchtritt durch die mit Elektrolytlösung gefüllte Kapillare eine ihrem Volumen entsprechende Menge der Elektrolytlösung. Durch die Partikel bzw. Zellen kommt es zu einer Widerstandserhöhung entlang der Kapillarstrecke, die ein Maß für das Volumen der Partikel bzw. Zellen ist. Voraussetzung für dieses Messverfahren ist, dass die Partikel bzw. Zellen die Messspore einzeln passieren. Aus den einzelnen Messsignalen wird dann das Integral des Messsignals (Pulsflächenanalyse) berechnet.



**Abb. 3.16: Cell Counter, Casy<sup>®</sup> 1, Fa. Schärfe, Reutlingen**

Für die Messungen wurden die leeren Gefäße (die zwei mittleren Gefäße des o.g. Versuchs) (Abb. 3.15) mit je 1 ml partikelfreier, physiologischer Kochsalzlösung (Casy<sup>®</sup>ton) aufgefüllt. Dadurch sollten die beim heraus pipettieren evtl. an der Gefäßwand haftenden Restpartikel in Lösung gehen und einer anschließenden Quantifizierung im Cell Counter zugeführt werden. Die Gefäße 1 und 4 enthielten je 1 ml der Ausgangslösung (Abb. 3.15). Diesen wurde kein Casy<sup>®</sup>ton zugegeben, um in allen vier Gefäßen ein identisches Ausgangsvolumen zu erhalten. Die Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen mußten aus pipettier-technischen Gründen (zu kurze Pipette für das hohe Gefäß) jeweils auf 10 ml aufgefüllt werden.

Aus jeder Probe wurden jeweils 100 µl entnommen und in ein mit 10 ml Casy<sup>®</sup>ton gefülltes Casy<sup>®</sup>-Cup (Fa. Schärfe, Reutlingen) pipettiert. Die Mischung aus Probe und Casy<sup>®</sup>ton (Verdünnung 1:10.000) wurde per Hand kurz geschüttelt und anschließend die Anzahl der Partikel im Cell Counter gemessen. Die Verdünnung der Probe ist wegen entsprechender Einstellung des Gerätes zur Berechnung der Partikelanzahl erforderlich.

In o.g. Versuchsreihen wurden jeweils Leermessungen durchgeführt. Die Proben wurden nach dem gleichen Schema pipettiert, jedoch wurde als Ausgangs-Stammlösung 10 ml

reines Aqua dest. ohne Titanpartikel verwendet. Die Leermessungen dienten der Quantifizierung von Verschmutzung sowohl der Probengefäße als auch der Pipetten.

### 3.4.2 Gefäßtestung

Die verwendeten Gefäße sollten unabhängig von anderen Einflußfaktoren getestet werden. Dazu wurde ein Versuchsdesign entwickelt, um den Partikelverlust durch Anhaftung an Gefäße, die aus unterschiedlichen Materialien bestehen, quantifizieren zu können.

Zusätzlich zu oben genannten handelsüblichen Gefäßen (Glasgefäße, Eppendorf- und Biozym-Reaktionsgefäße, Falcon®-Röhrchen) (Abb. 3.14) wurden zwei nicht haftende Materialien getestet, und zwar eine weiße Platte aus Polyolefine (EP 548S, Fa. Basell, Mainz) und eine schwarze Platte ebenfalls aus Polyolefine (BR 735 G – 3187, Fa. Basell, Mainz).

Da jedoch jedes Gefäß eine unterschiedliche Geometrie und damit Oberfläche hat, wurden diese auf identische Oberflächen (Testkörper) (Abb. 3.17) zugeschnitten.



a)



b)



c)



d)



e)



f)

Abb. 3.17: Untersuchte Testkörper hinsichtlich Partikeladhärenz bzw. Verschmutzung a: Eppendorf-Reaktionsgefäß. b: Biozym-Reaktionsgefäß. c: Glasgefäß. d: Falcon®-Röhrchen. e: Polyolefine BR 735 G - 3187. f: Polyolefine EP 548S.

Da von einer Verschmutzung der Testkörper durch Fremdpartikel auszugehen war, wurden die Testkörper vor der Testung mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln gewaschen, um diese Fremdpartikel zu eliminieren und dadurch Verfälschungen des Testergebnisses auszuschließen.

Hierzu wurde jeder Testkörper nacheinander in Benzin, Toluol und Ethanol (70%) gewaschen und anschließend in Ethanol im Ultraschallbad für 2 Minuten gereinigt. Anschließend wurden die Testkörper bis zur Testung in einem mit 40 ml Aqua dest. gefüllten Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen (Falcon<sup>®</sup> Tubes 40 ml, Fa. Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NJ, USA) aufbewahrt. Das Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen war zuvor mit 40 ml Aqua. dest. ausgespült worden, um analog Verunreinigungen durch Schmutzpartikel auszuschließen.

Für Testkörper wurde eine eigene Stammlösung hergestellt. Dazu wurden in ein zuvor mit 40 ml Aqua dest. ausgewaschenes Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen 120 mg Titanpulver aus kommerziellen cp-Titan-Partikeln eingebracht und mit 40 ml Aqua dest. aufgefüllt (Ausgangskonzentration: 3 mg Titanpulver/1 ml Aqua dest.). Aus dieser Lösung wurden für die Messung vor dem Eintauchen des Testkörpers 100 µl entnommen, mit 10 ml Casy<sup>®</sup>ton verdünnt und die Anzahl der darin enthaltenen Partikel im Cell Counter gemessen. Anschließend wurde der Testkörper fünfmal in die o.g. Lösung eingetaucht und diese wiederum gemessen. Durch Vergleich der Partikelanzahl vor dem Eintauchen mit der nach dem Eintauchen des Testkörpers lassen sich Rückschlüsse auf deren Anhaftungsfähigkeit ziehen. Es wurden für jeden Testkörper jeweils n = 2 Messungen durchgeführt. Zwischen den beiden Messungen wurde jeder Testkörper mit Benzin, Toluol und Ethanol, wie oben beschrieben, gereinigt. Zwischen den einzelnen Schritten wurde die Lösung immer wieder geschüttelt, um eine Verfälschung der Ergebnisse durch Sedimentation zu vermeiden.

Für jeden Testkörper wurden zusätzlich jeweils zwei Leermessungen durchgeführt. Die Stammlösung bestand aus 40 ml Aqua dest. ohne beigefügte Titan-Partikeln. Mit Hilfe dieser Messungen kann man die Verschmutzung der Testkörper durch andere Partikel außer Titan quantifizieren.

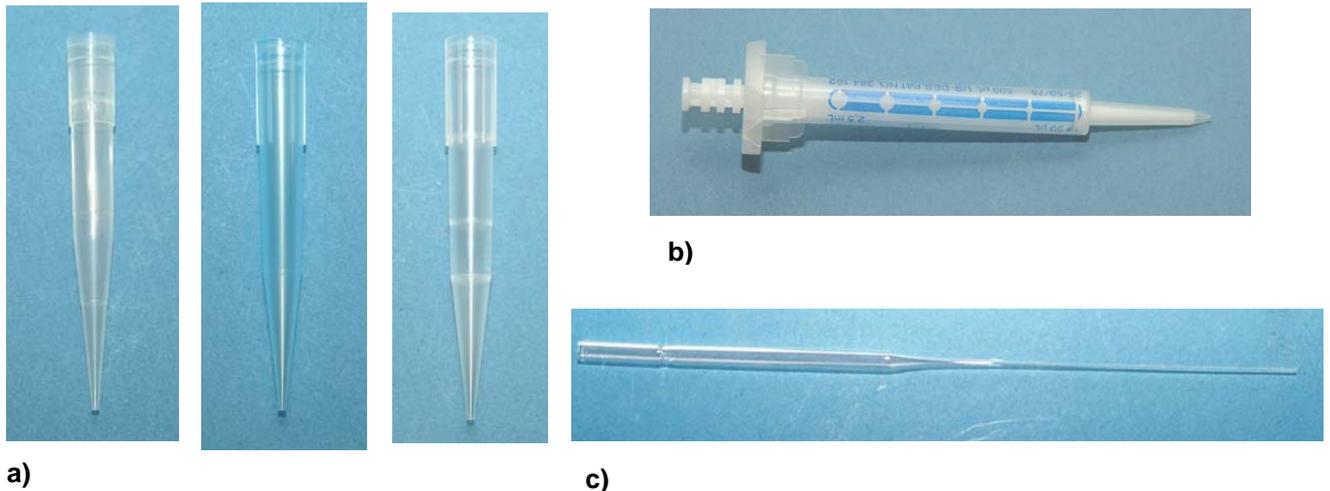
### 3.4.3 Pipettentestung

Da auch Pipetten eine mögliche Quelle für Partikelverluste darstellen, sollten verschiedene handelsübliche Pipetten getestet werden. Ziel war es, mit einem eigens entwickelten Versuchdesign Partikelverluste durch häufiges Pipettieren zu quantifizieren und eventuell Unterschiede zwischen einzelnen Pipetten-Modellen zu erfassen.

Folgende Pipetten wurden getestet (Abb. 3.18):

a) Pasteurpipetten aus Glas (Fa. John Poulten, Ltd, Barking, UK)

- b) Macro Tips aus Polypropylen 1000  $\mu\text{l}$  (Fa. Biozym Diagnostik GmbH, Hess. Oldendorf)
- c) LAd-Pipettenspitzen, silikonisiert aus Polypropylen 1000  $\mu\text{l}$  (Fa. Biozym Diagnostik GmbH, Hess. Oldendorf)
- d) Eppendorf-Pipettenspitzen aus Polypropylen 1000  $\mu\text{l}$  (Fa. Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg)
- e) Combitips plus 0,5 ml Pipetten aus Polypropylen und Polyethylen (Fa. Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH, Hamburg)



**Abb. 3.18: Untersuchte Pipetten hinsichtlich Partikeladhärenz bzw. Verschmutzung: a: Eppendorf-Pipette (links), Biozym-Pipette (Mitte), silikonisierte Biozym-Pipette (rechts). b: Combitips plus-Pipette. c: Pasteurpipette.**

a) *Partikelverlust ohne Ausspülen der Pipetten vor dem Pipettieren*

Für die Messungen wurde eine Stammlösung mit 120 mg Titanpulver aus kommerziellen cp-Titan-Partikeln in 10 ml Aqua dest. in einem Glasgefäß vorbereitet. Aus dieser Stammlösung wurde jeweils 1 ml entnommen, in ein zuvor mit 10 ml Aqua dest. ausgespültes Glasgefäß pipettiert und mit 9 ml Aqua dest. aufgefüllt (Ausgangskonzentration: 1,2 mg Titanpulver pro 1 ml Aqua dest.). Für jede Pipette wurden jeweils zwei eigene Gefäße für Doppelbestimmungen vorbereitet.

Für die Messungen im Cell Counter wurden 100  $\mu\text{l}$  aus der Stammlösung entnommen, mit 10 ml Casy<sup>®</sup>ton vermischt und die enthaltenen Partikel gezählt. Anschließend wurde aus demselben Gefäß mit der zu testenden Pipette 10-mal je 1 ml heraus- und wieder hineinpipettiert. Für die zehn Pipettiervorgänge wurde jeweils eine neue Pipette verwendet. Es wurden 100  $\mu\text{l}$  entnommen, mit 10 ml Casy<sup>®</sup>ton vermischt und im Cell Counter gemessen. Zwischen den einzelnen Schritten wurde die Lösung immer wieder geschüttelt zur Vermeidung von Sedimentation. Jeder Pipettentyp wurde in separaten Messungen zweimal getestet.

Die Partikelverluste wurden durch Differenzbildung zwischen den Messungen vor und nach dem Pipettieren quantifiziert.

Analog wurden jeweils Leermessungen mit Doppelbestimmungen (ohne Titanpartikel) durchgeführt.

#### *b) Partikelverlust mit Ausspülen der Pipetten vor dem Pipettieren*

Die Pipetten wurden in einem zusätzlichen Versuchsdesign getestet, zu dem Zweck der Vermeidung einer Fehlbestimmung von Partikeln, die infolge von Verschmutzung oder des Herstellungsprozesses an der Aussen- oder Innenseite der Pipettenspitzen haften können. Das Versuchsdesign entsprach dem in a), bis auf ein kurzes Ausspülen der Pipetten mit Aqua dest. vor jedem Pipettierschritt.

#### *c) Combitips plus-Pipettentestung*

Da die Combitips plus-Pipettenspitzen (Abb. 3.18 b) auf einem anderen Funktionsprinzip beruhen als die übrigen Pipetten, wurden diese zusätzlich in einem speziell entwickelten Versuchsdesign getestet.

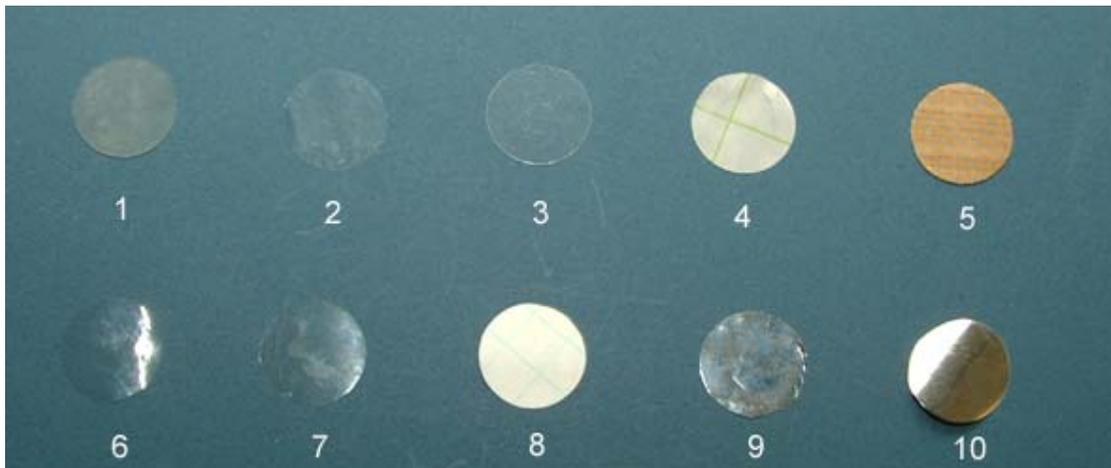
Hierfür wurde eine Stammlösung mit 36 mg kommerziellen cp-Titan-Partikeln, die in 12 ml Aqua dest. aufgelöst wurden, hergestellt (Ausgangskonzentration: 3 mg Titanpulver pro 1 ml Aqua dest.). Aus dieser Stammlösung wurde je 1 ml in 6 Glasgefäße mit einer Biozym-Pipettenspitze pipettiert. Jedes Glasgefäß war vorher mit 10 ml Aqua dest. ausgespült worden. Anschließend wurden aus drei der Gefäße mit einer Combitips plus-Pipettenspitze 0,5 ml heraus- und anschließend wieder hinein pipettiert. Für jedes Gefäß wurde eine neue Pipettenspitze benutzt. Die anderen drei Lösungen bzw. Gefäße blieben unberührt (Leermessung). Dann wurde jeweils die Anzahl der Partikel in den einzelnen Gefäßen im Cell Counter gezählt. Durch den Vergleich der beiden Gruppen (ohne vs. mit Pipettieren) wurden mögliche Partikelverluste durch die Combitips plus-Pipettenspitze quantifiziert.

### **3.5 Partikeladhärenz an Folien**

Für die Testungen der Endoprothesenstiele im Partikelprüfstand unter feuchten Umgebungsbedingungen, sollte eine geeignete Folie mit möglichst geringer Partikelanhaftung und möglichst großer Reißfestigkeit ermittelt bzw. ausgewählt werden. Diese Folie dient im Partikelprüfstand zum Abdichten der Versuchskammer (Zementköcher – Stiel), d.h. die generierten Partikel sollen mit der jeweiligen Umgebungslösung nicht verloren gehen.

Nach entsprechender Rückfrage bei verschiedenen Folienherstellern wurden folgende antistatische bzw. antihaftenden Folien für die Versuche zur Bestätigung einer möglichen Partikeladhärenz herangezogen (Abb. 3.19):

- a) Folie 1: Siliconplatte 0,5 mm, Fa. Leewood, Bremen
- b) Folie 2: Norflex Polyesterfolie 0,05 mm, Fa. NSK, Nordenham
- c) Folie 3: Norflex Polyesterfolie 0,2 mm, Fa. NSK, Nordenham
- d) Folie 4: Anti-Haftglasfolie beidseitig, Fa. ABC Folien, München
- e) Folie 5: PTFE Glasfaserfolie, Fa. Sahlberg, München
- f) Folie 6: Propafilm MTX, Fa. UCP, Kerpen
- g) Folie 7: Propafilm RHX, Fa. UCP, Kerpen
- h) Folie 8: Anti-Haftglasfolie beidseitig, Fa. ABC Folien München
- i) Folie 9: Metallisierte Folie (Geschenkpapier)
- j) Folie 10: Folie zur Nahrungsmittelaufbewahrung (Chipstüte)



**Abb. 3.19: Untersuchte Folien hinsichtlich Partikeladhärenz bzw. Verschmutzung: (1) Siliconplatte 0,5 mm; (2) Norflex Polyesterfolie 0,05 mm; (3) Norflex Polyesterfolie 0,2 mm; (4) Anti-Haftglasfolie beidseitig; (5) PTFE Glasfaserfolie; (6) Propafilm MTX; (7) Propafilm RHX; (8) Anti-Haftglasfolie beidseitig; (9) Metallisierte Folie (Geschenkpapier); (10) Folie zur Nahrungsmittelaufbewahrung (Chipstüte).**

Vor der Testung wurden jeweils identische Querschnittsflächen der Folien durch Ausstanzen hergestellt. Um eine Kontamination der Folien mit Partikeln auszuschließen, wurde jede chemisch gereinigt. Dazu wurden die Folien nacheinander kurz in Benzin, Toluol und Ethanol gewaschen und zusätzlich in Ethanol im Ultraschallbad für 2 Minuten gereinigt. Zur Aufbewahrung der Folien diente jeweils ein mit 10 ml Aqua dest. gefülltes Glasgefäß, das zuvor mit 10 ml Aqua dest. ausgespült worden war.

Für die Stammlösung wurden 30 mg Titanpulver aus kommerziellen cp-Titan-Partikeln in 10 ml Aqua dest. in einem Glasgefäß aufgelöst (Ausgangskonzentration: 3 mg Titanpulver pro 1 ml Aqua dest.). Aus dieser Stammlösung wurden 100 µl entnommen und mit 10 ml Casy<sup>®</sup>ton

vermischt. Nach kräftigem Schütteln wurde die Partikelanzahl wiederum mit dem Partikelzählgerät Cell Counter Casy<sup>®</sup>1 bestimmt. Anschließend wurden die verschiedenen Folien in die jeweiligen zuvor gemessenen Lösungen dreimal getaucht, das Casy<sup>®</sup>-Cup geschüttelt und die Partikelzahl erneut bestimmt.

Für jede Folie wurde stets eine separate Lösung (100 µl Stammlösung und 10 ml Casy<sup>®</sup>ton) hergestellt und jeweils eine Messung vor dem Eintauchen zur Referenz durchgeführt. Die Partikelanzahl wurde für jeden Folientyp doppelt bestimmt. Die Differenz der gezählten Partikel zwischen der ersten Messung und der Messung nach Eintauchen der Folie diente als Maß für die Anhaftungsfähigkeit von Metallpartikeln an die jeweilige Folie. Analog wurden Leermessungen ohne Titanpartikel durchgeführt.

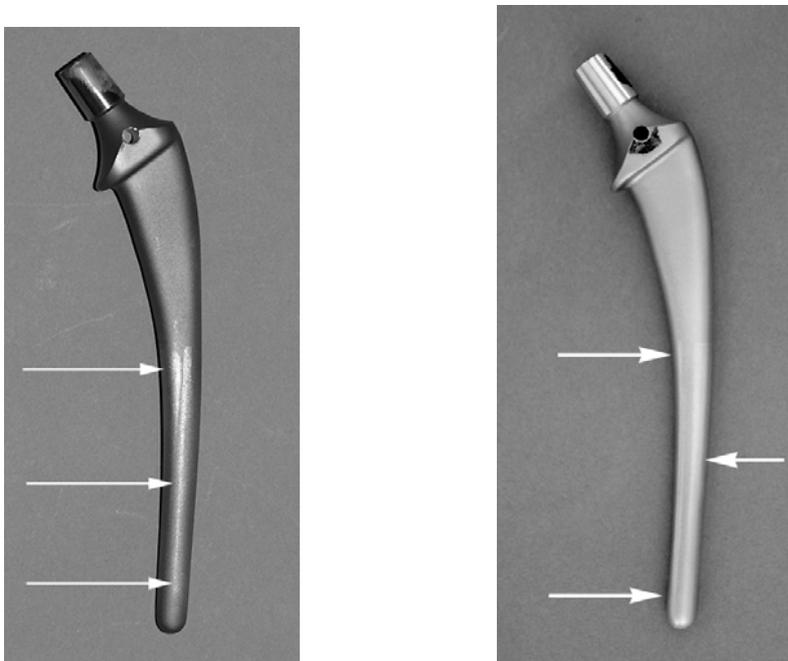
Bei der chemischen Reinigung hatte sich Folie 2 in Toluol aufgelöst und war deshalb für die Partikelzählung ausgefallen. Bei Folie 3 trat durch das Waschen in den organischen Lösungsmitteln eine Veränderung von deren Konsistenz auf. Diese Veränderung entstand nur durch Benzin und Toluol, nicht aber durch Ethanol.

## 4. Ergebnisse

### 4.1 Charakterisierung der Implantatoberfläche

#### 4.1.1 Makroskopische Beurteilung von Endoprothese und Knochenzement

Nur raue TiAl6Nb7- bzw. CoCr28Mo6-Stiele, jeweils gegen Knochenzement Palacos® R mit ZrO<sub>2</sub> gerieben, zeigten makroskopisch großflächig geglättete Stiel-Areale (Abb. 4.1). In der Stielmitte, d.h. am proximalen Ende des Zementköchers, waren ventralseitig lateral und dorsalseitig medial polierte Stellen zu erkennen. Am unteren Stieldrittel fanden sich diese v.a. dorsalseitig.



**Abb. 4.1:** Hüftendoprothesen-Stiele nach Prüfende, Reinigung bzw. Entfernung des Abriebpulvers. Pfeile kennzeichnen geglättete Oberflächenareale. Rauer Stiel aus TiAl6Nb7 (links) bzw. rauer Stiel aus CoCr28Mo6 (rechts).

Auch bei den rauen CoCr28Mo6-Stielen, die gegen Knochenzement Sulcem® 1 und Sulcem® 3 (beide mit ZrO<sub>2</sub>) gelaufen waren, konnten abrasive Veränderungen ähnlich zu oben genannten festgestellt werden. An beanspruchten glatt gestrahlten Stielen waren keine makroskopischen Schädigungen nachzuweisen. Bei Stielen, die gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> und CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub> gelaufen waren, konnten makroskopisch keine Veränderungen in der Oberflächenbeschaffenheit festgestellt werden. Zudem waren keine Unterschiede zwischen den verschiedenen Werkstoffen feststellbar.

In Bezug auf den Knochenzement waren bei makroskopischer Betrachtung im Fall von ZrO<sub>2</sub>-haltigem Knochenzement bei der Testung aller Stiele dunkel verfärbte, vermutlich metallhaltige Bereiche an der reibbeanspruchten Zementköcheroberfläche nachzuweisen

(Abb. 4.2, links). Solche Verfärbungen waren nicht so deutlich bei Knochenzement ohne  $ZrO_2$  vorhanden (Abb. 4.2, rechts).

Bei der Testung von rauen Endoprothesenstielen gegen Knochenzement CMW 2000 mit  $BaSO_4$  waren auf der Zementoberfläche deutliche dunkel verfärbte Bereiche nachzuweisen (Abb. 4.1A, oben links), während diese bei der Testung eines glatten Stiels nicht so ausgeprägt waren.

Nach der Testung eines rauen CoCr28Mo6-Endoprothesenstiels gegen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 3 zeigte die Zementoberfläche kaum dunkel verfärbte Areale (Abb. 4.1A, unten links), während diese bei der Testung eines analogen Endoprothesenstiels gegen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 sehr ausgeprägt waren (Abb. 4.1A, oben rechts).



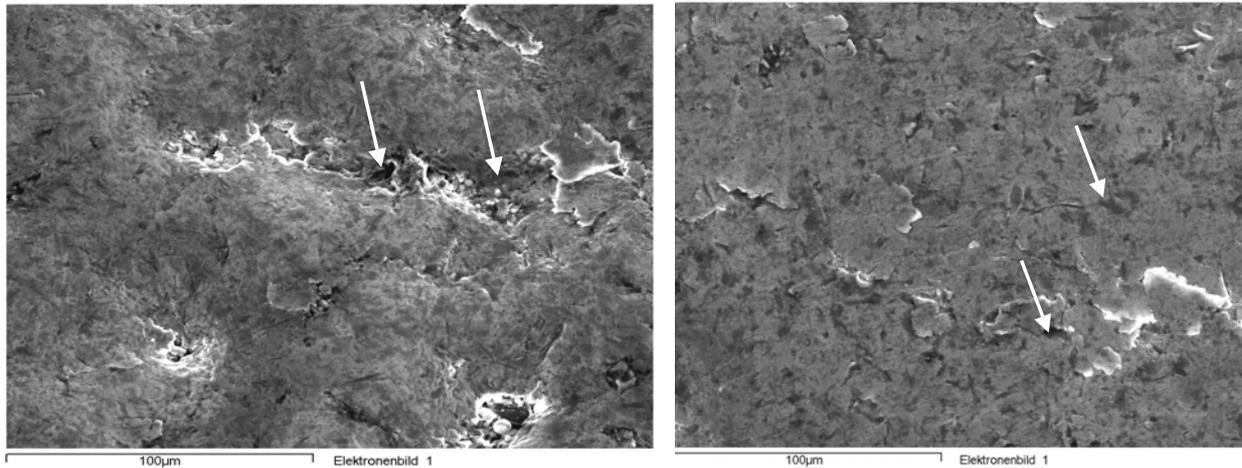
**Abb. 4.2: Zementköcher nach Prüfung. Palacos<sup>®</sup> R mit  $ZrO_2$  nach Testung gegen rauen TiAl6Nb7-Stiel (links) bzw. Palacos R ohne  $ZrO_2$  nach Testung gegen glatten CoCr28Mo6-Stiel rechts).**

#### 4.1.2 Oberflächenrauheit

Die Messungen der Oberflächenrauheiten nach Ablauf der Testung im trockenen Umgebungsmilieu ergaben sowohl bei rauen als auch glatten TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen, die gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  gelaufen waren, eine leichte Abnahme der Oberflächenrauheit an den belasteten Arealen. Diese betrug bei den verschiedenen Stielen zwischen  $1\ \mu m$  und  $3\ \mu m$  bei einem Ausgangswert von  $R_z = 20\ \mu m$ ). Nach Versuchen mit Knochenzement ohne  $ZrO_2$  und CMW 2000 mit  $BaSO_4$  wiesen sowohl raue als auch glatte Stiele beider Legierungen nach identischer Lastwechselzahl keine messbaren Rauheitsunterschiede auf. Es waren folglich keine Unterschiede zwischen den TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen feststellbar. Beim rauen CoCr28Mo6-Endoprothesenstiel, der gegen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 gelaufen war, traten keine Veränderungen in der Rauheit der Implantatoberfläche auf. Im Gegensatz dazu nahm die Oberflächenrauheit beim gleichen Stiel bei der Testung gegen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 3 geringfügig ab.

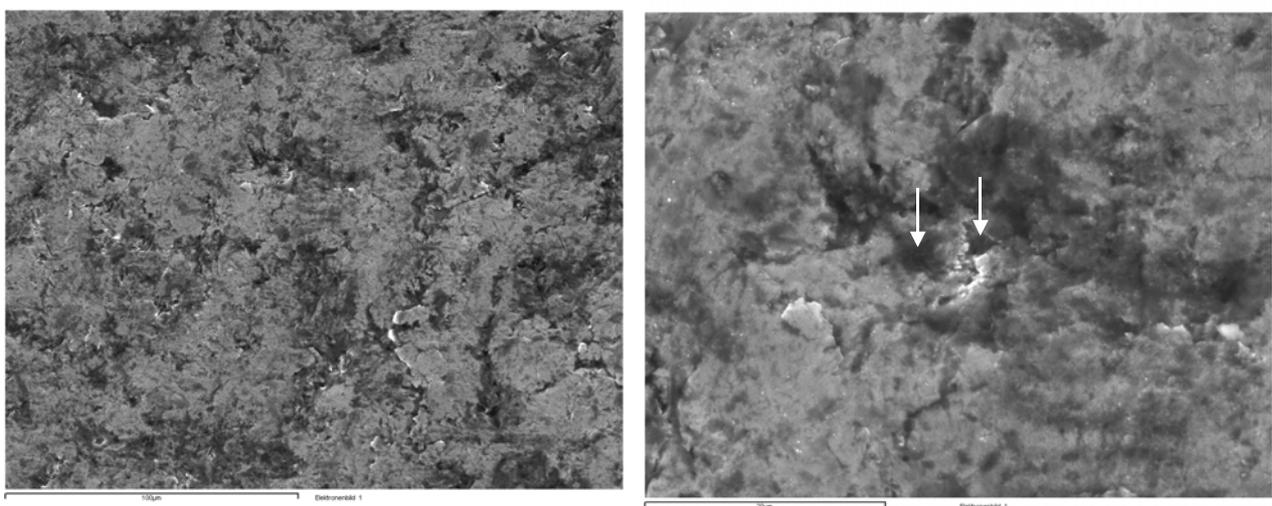
### 4.1.3 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

An den unbeanspruchten Arealen der rauen TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen zeigte sich in rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen eine gebirgsähnliche Oberflächenstruktur mit deutlich sichtbaren Tälern (→) (Abb. 4.3; Abb. 4.2A).



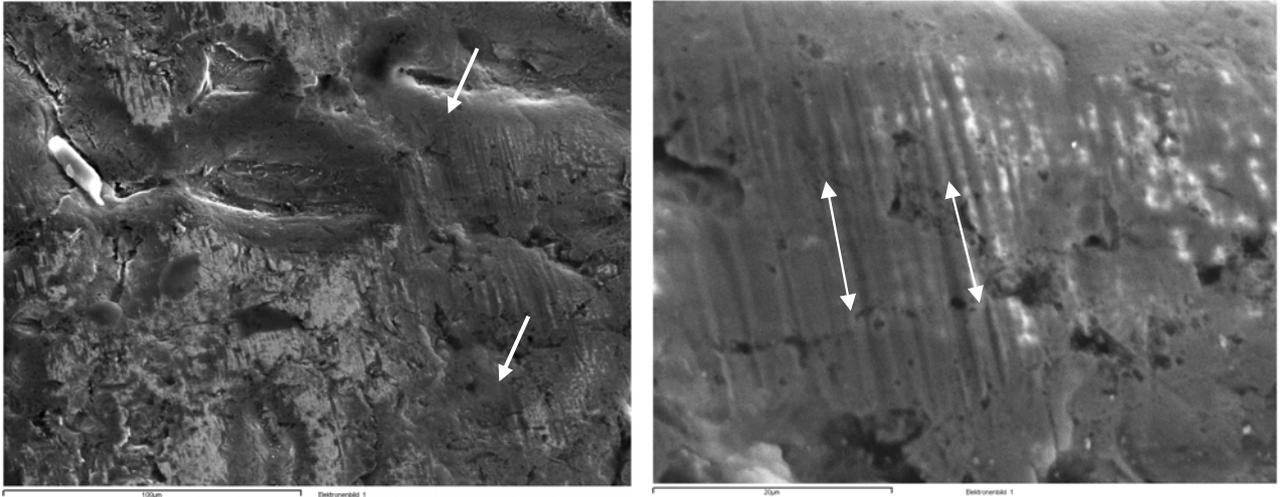
**Abb. 4.3:** REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines unbeanspruchten rauen CoCr28Mo6- (links) bzw. TiAl6Nb7-Stiels (rechts) bei 500-facher Vergrößerung. Die Pfeile kennzeichnen die sichtbaren Täler der gebirgsähnlichen Oberflächenstruktur.

Im Gegensatz dazu zeigte sich bei den glatten Stielen eine zwar ebenfalls unregelmäßige, aber feiner strukturierte Stieloberfläche. Ebenfalls konnten auch bei glatten TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen einzelne Vertiefungen im Oberflächenrelief beobachtet werden (Abb. 4.4; Abb. 4.3A).



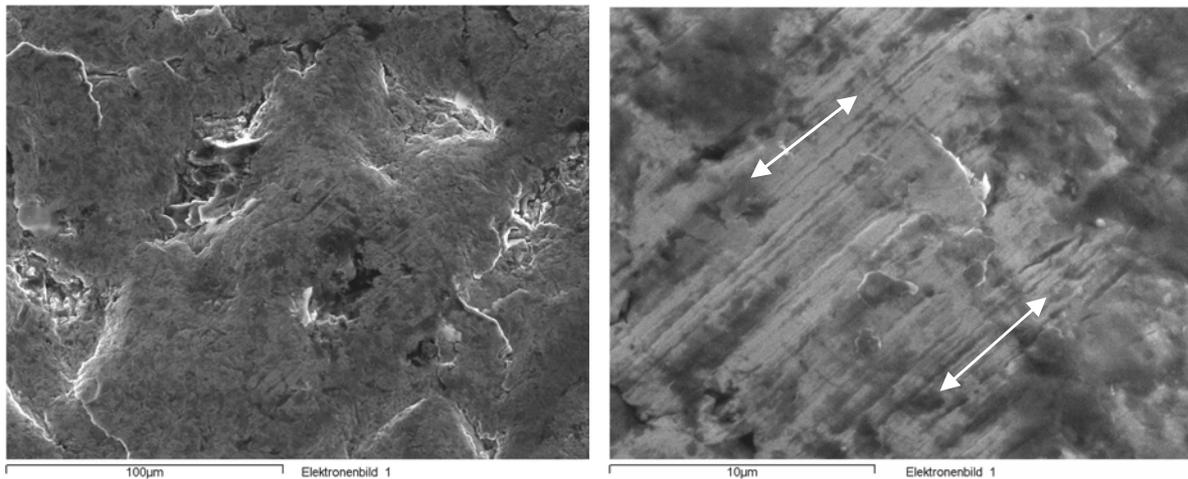
**Abb. 4.4:** REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines unbeanspruchten glatt gestrahlten CoCr28Mo6-Stiels in 500-facher (links) bzw. 2000-facher (rechts) Vergrößerung mit einzelnen Vertiefungen (→) im Oberflächenrelief.

Nach Reibbeanspruchung eines rauen CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  zeigten sich eingeebnete Oberflächenpeaks (Abb. 4.5, links). Zudem stellte sich in der Vergrößerung (2000-fach) ein deutlicher abrasiver Verschleiß dar. Dieser verlief in Richtung der Relativbewegungen von Zementköcher und Endoprothesen-Stiel (Abb. 4.5, rechts). Es wurden Riefen mit Breiten bis zu  $1\ \mu\text{m}$  sichtbar (Abb. 4.5, rechts). Zusätzlich konnten an der Stieloberfläche einzelne zerriebene  $ZrO_2$ -Partikel im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich nachgewiesen werden (Abb. 4.4A).



**Abb. 4.5:** REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten rauen Stiels aus CoCr28Mo6, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ . Links: 500-fache Vergrößerung mit eingeebneten Oberflächenpeaks ( $\rightarrow$ ), rechts: 2.000-fache Vergrößerung mit abrasivem Verschleiß in Richtung der Relativbewegungen von Stiel und Zementköcher ( $\leftrightarrow$ ).

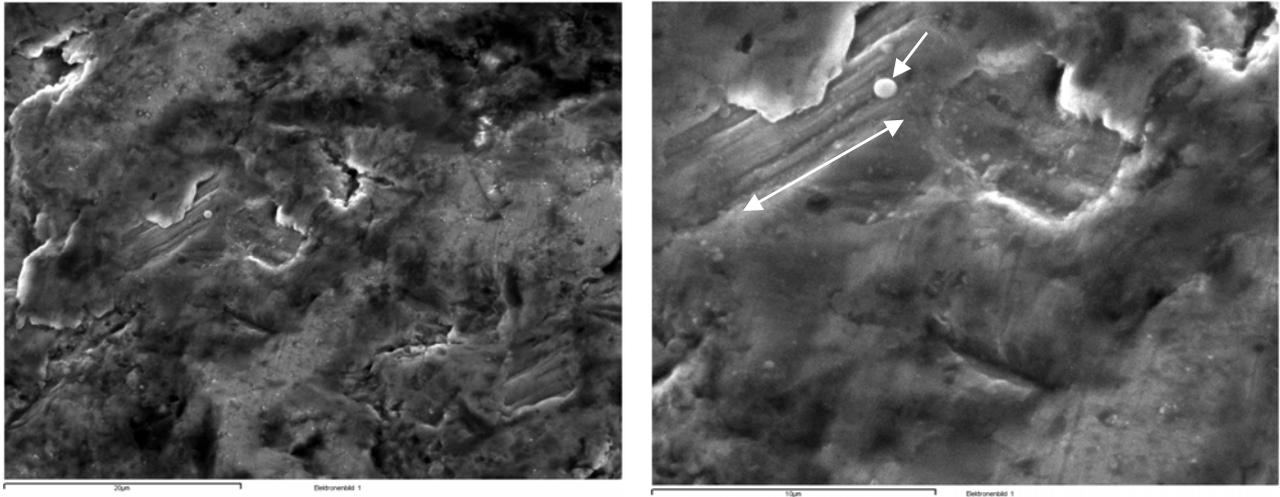
Beim identischen Endoprothesen-Stiel, der gegen Knochenzement ohne  $ZrO_2$  gelaufen war, konnten in der Übersichtsaufnahme (500-fach) an beanspruchten Arealen kaum abrasive Veränderungen festgestellt werden (Abb. 4.6, links). In der Vergrößerung (500-fach) zeigte sich jedoch eine eingeebnete Oberflächenstruktur mit deutlichen abrasiven Veränderungen der Oberfläche. Diese verliefen in Richtung der Belastung und zeigten Riefen mit Breiten im nm-Bereich (Abb. 4.6, rechts).



**Abb. 4.6: REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten rauhen Stiels aus CoCr28Mo6, gelaufen gegen Knochenzement ohne  $ZrO_2$ . Links: 500-fache Vergrößerung kaum abrasive Veränderungen, rechts: 5.000-fache Vergrößerung deutliche abrasive Veränderungen in Belastungsrichtung ( $\leftrightarrow$ ).**

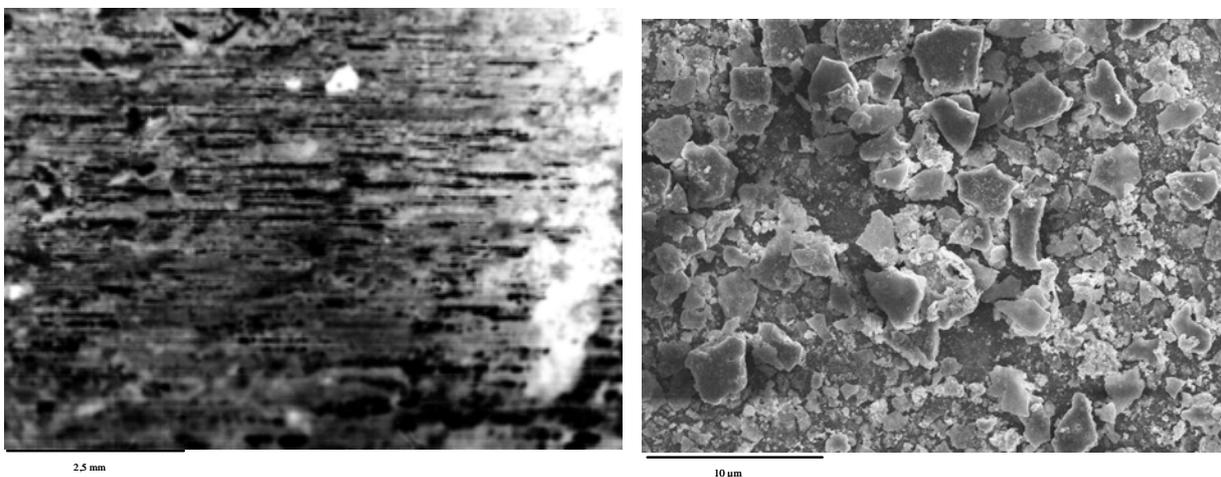
Beim rauhen TiAl6Nb7-Stiel, der gegen Knochenzement CMW 2000 mit  $BaSO_4$  gelaufen war, waren schon in der Übersichtsaufnahme (500-fach) Einebnungen der Oberflächenstruktur an beanspruchten Arealen erkennbar (Abb. 4.5A, links). In der Vergrößerung (5000-fach) konnten wiederum (analog der anderen rauhen Stiele) deutliche Spuren abrasiven Verschleißes nachgewiesen werden. Die Riefen mit Breiten im nm-Bereich verliefen wiederum in Richtung der Relativbewegungen von Knochenzement und Endoprothesen-Stiel (Abb. 4.5A, rechts).

Im Gegensatz zu den rauhen Stielen konnten sowohl beim glatten CoCr28Mo6-Stiel (gegen CMW 2000 mit  $BaSO_4$ ) (Abb. 4.7, links) als auch beim glatten TiAl6Nb7-Stiel (gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ ) (Abb. 4.6A) nur geringfügige Zeichen abrasiven Verschleißes der Stieloberfläche (Riefen) festgestellt werden. Diese verliefen wiederum in Richtung der Belastung (Abb. 4.7, rechts). An der Oberfläche des glatten TiAl6Nb7-Stiels zeigten sich zudem abgelagerte Knochenzement-Partikel (Abb. 4.6A). In der Vergrößerung (5000-fach) konnte an der Oberfläche des glatten CoCr28Mo6-Stiels zudem ein Strahlpartikel nachgewiesen werden (Abb. 4.7, rechts).



**Abb. 4.7:** REM-Aufnahmen eines im Prüfstand getesteten glatt gestrahlten Stiels aus CoCr28Mo6, gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub>. Links: geringfügige Zeichen abrasiven Verschleißes (2.000-fache Vergrößerung). Rechts: Zeichen abrasiven Verschleißes in Richtung der Relativbewegungen von Stiel und Zementköcher (↔) und einem an der Endoprothesen-Oberfläche anhaftenden Strahlpartikel (→) (5.000-fache Vergrößerung).

Bei den Zementköchern zeigte die Oberfläche porenartige Vertiefungen und Schleifspuren, die in Richtung der Relativbewegungen der beiden Oberflächen (Stiel und Knochenzement) verliefen (Abb. 4.8, links). Die Knochenzement-Partikel waren meist schuppenförmig (Abb. 4.8, rechts).



**Abb. 4.8:** Links: Beanspruchungsspuren auf der Oberfläche eines Zementköchers (Palacos<sup>®</sup> R mit ZrO<sub>2</sub>) nach Test gegen einen rauen TiAl6Nb7-Endoprothesenstiel. Rechts: Schuppenförmige Knochenzementpartikel mit Größen im sub-µm-Bereich bis zu ca. 5 µm.

## 4.2 Charakterisierung der Grenzflächenprodukte

### 4.2.1 Quantitative und qualitative Analyse der nativen Grenzflächenprodukte

#### 4.2.1.1 Gravimetrische Bestimmung und makroskopische Analyse des generierten Abriebpulvers

Nach Ablauf der Testung (3 Mio. Bewegungszyklen) wurde die Menge des in der Grenzfläche zwischen Stiel und Zement generierten Abriebpulvers gravimetrisch bestimmt und das Pulver makroskopisch begutachtet.

Unter trockenen Umgebungsbedingungen wurde bei rauen CoCr28Mo6-Stielen mehr Abriebpulver (aus Knochenzement- und Metallpartikeln) als bei identisch beanspruchten glatten Stielen freigesetzt. Dies traf sowohl für die Testung gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> (Palacos® R) als auch gegen ZrO<sub>2</sub>-freien Knochenzement zu (Tab. 4.1). Bei den TiAl6Nb7-Stielen wurde wieder bei den rauen Stielen, die gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> gelaufen waren, mehr Abriebpulver generiert als bei identisch beanspruchten glatten Stielen. Die Abriebpulvermenge war bei rauen TiAl6Nb7-Stielen, die gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> getestet wurden, größer als bei Testungen mit ZrO<sub>2</sub> (Tab. 4.1), generell war die Abriebpulvermenge bei Verwendung von Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> bei allen untersuchten rauen und glatten TiAl6Nb7- bzw. CoCr28Mo6-Stielen größer als bei der Testung gegen ZrO<sub>2</sub>-haltigen Knochenzement. In Bezug auf die Werkstoffe (TiAl6Nb7 vs. CoCr28Mo6) konnte kein deutlicher Unterschied bezüglich der Abriebmenge bei der Testung gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> festgestellt werden, bei Titan-Stielen wurden tendenziell etwas geringere Mengen beobachtet (Tab. 4.1). Bei der Testung gegen ZrO<sub>2</sub>-freien Knochenzement waren die Unterschiede zwischen den beiden Legierungen jedoch deutlicher. Bei rauen CoCr28Mo6-Stielen entstand eine deutlich höhere Abriebpulvermenge als bei rauen TiAl6Nb7-Stielen (Tab. 4.1).

Bei den bisherigen Testungen gegen alternative Knochenzemente wurden relativ hohe Abriebpulvermengen beim rauen TiAl6Nb7-Stiel mit 181 mg, vor allem jedoch beim rauen CoCr28Mo6-Stiel mit 670 mg beobachtet, die beide gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub> gelaufen waren. Bei den glatten CoCr28Mo6-Stielen fielen diese dagegen mit 19 mg niedrig aus.

**Tab. 4.1: Generierte, mittlere Abriebpulvermenge in mg (Knochenzement- und Metallpartikel), Laufzeit 1 Woche, 3 Mio. Lastwechsel.**

Werkstoff Hüft-Stiel	Knochenzement mit ZrO <sub>2</sub>		Knochenzement ohne ZrO <sub>2</sub>		Knochenzement mit BaSO <sub>4</sub>	
TiAl6Nb7 rau	n=4	98 ± 28 mg	n=3	185 ± 99 mg	n=1	181 mg
TiAl6Nb7 glatt	n=4	24 ± 4,0 mg	n=2	59 ± 8 mg	n=0	n.u.
CoCr28Mo6 rau	n=2	131 ± 29 mg	n=3	574 ± 303 mg	n=1	670 mg
CoCr28Mo6 glatt	n=4	71 ± 26 mg	n=3	113 ± 34 mg	n=2	19 ± 1 mg

n.u.: nicht untersucht

Die höchste aller Abriebmengen entstand mit 1000 mg beim rauen CoCr28Mo6-Stiel, der gegen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 3 gelaufen war. Beim identischen Stiel fiel die Abriebmenge bei Testung gegen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 dagegen mit 314 mg deutlich niedriger aus.

Makroskopisch betrachtet war das Destruktionsprodukt bei Verwendung von ZrO<sub>2</sub>-haltigem Knochenzement bei gleichem Stielwerkstoff dunkler gefärbt als bei Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> (Abb. 4.9, Abb. 4.7A). Dies traf sowohl auf TiAl6Nb7- als auch CoCr28Mo6-Stiele gleichermaßen zu. In Bezug auf den Zusammenhang zwischen Implantatoberfläche (rau vs. glatt) und Farbe des Abriebpulvers konnten keine allgemein gültigen Aussagen, die sowohl für TiAl6Nb7- als auch CoCr28Mo6-Stiele gleichermaßen zutrafen, gemacht werden. Das Abriebpulver war bei rauen TiAl6Nb7-Stielen dunkler als bei glatten Stielen desselben Werkstoffes, unabhängig davon, ob Knochenzement mit oder ohne ZrO<sub>2</sub> für die Testung verwendet wurde (Abb. 4.7A). Bei CoCr28Mo6-Stielen bestand kein Unterschied in der Farbe des Abriebpulvers zwischen glatten und rauen Stielen, die gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> gerieben wurden. Bei der Testung gegen ZrO<sub>2</sub>-haltigen Zement konnte ebenfalls kein deutlicher Unterschied in der Farbe des Destruktionsproduktes zwischen rauem und glatt gestrahltem CoCr28Mo6-Stiel festgestellt werden. Während die rauen TiAl6Nb7-Stiele ein dunkler gefärbtes Abriebpulver erzeugten als rau gestrahlte CoCr28Mo6-Stiele, war dies bei glatt gestrahlten Endoprothesen-Stielen genau umgekehrt. Diese Ergebnisse trafen unabhängig von der Anwesenheit von ZrO<sub>2</sub> im Zement zu.

Beim sowohl glatten als auch rau gestrahlten CoCr28Mo6, die gegen CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub> gerieben wurden, ergab sich ein gelblich-weißes Abriebpulver (Abb. 4.8A). Dagegen war das Destruktionsprodukt beim rau gestrahlten TiAl6Nb7-Stiel bei gleichem Zement hellgrau (Abb. 4.8A).

Das Abriebpulver der rauen CoCr28Mo6-Endoprothesen-Stiele war sowohl bei Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 als auch Sulcem<sup>®</sup> 3 dunkler grau als bei Verwendung von

Knochenzement CMW 2000 und  $ZrO_2$ -freiem Knochenzement, jedoch heller als bei der Testung gegen Palacos® R (Abb. 4.9A).



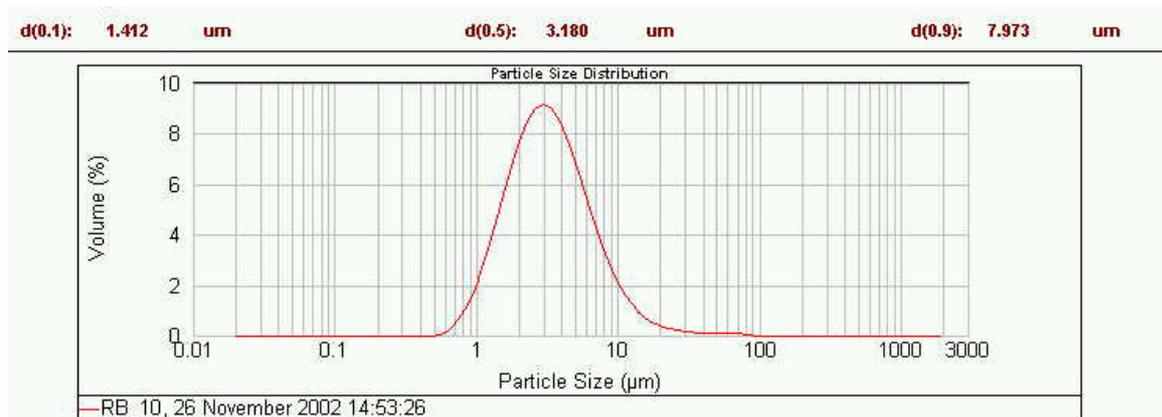
**Abb. 4.9:** Native, in der Grenzfläche Endoprothesen-Stiel-Knochenzement generierte Abriebpulver. Links: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ . Rechts: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement ohne  $ZrO_2$ .

#### 4.2.1.2 Morphologie der Grenzflächenprodukte

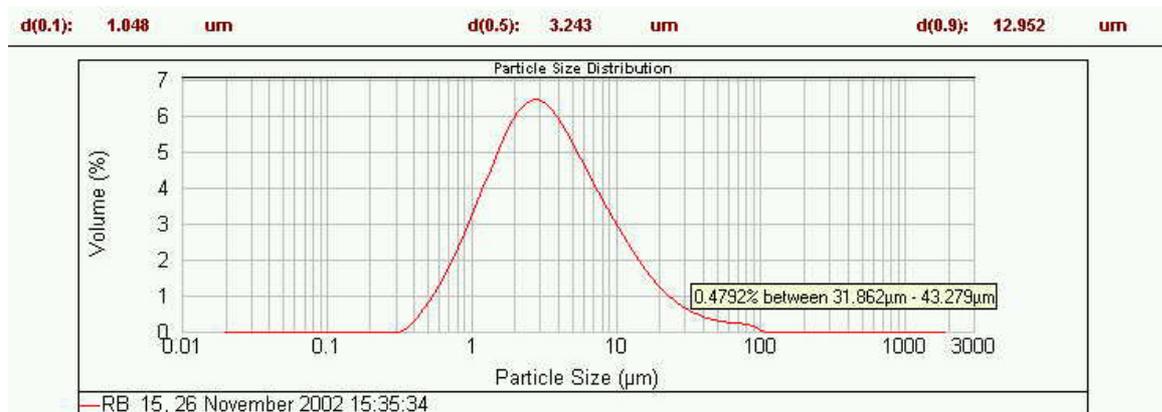
Mit Hilfe verschiedener unabhängiger Verfahren wurden die in der Grenzfläche zwischen Implantat und Knochenzement anfallenden Destruktionsprodukte hinsichtlich ihrer Größe, Gestalt und Granularität analysiert.

##### a) Mastersizer

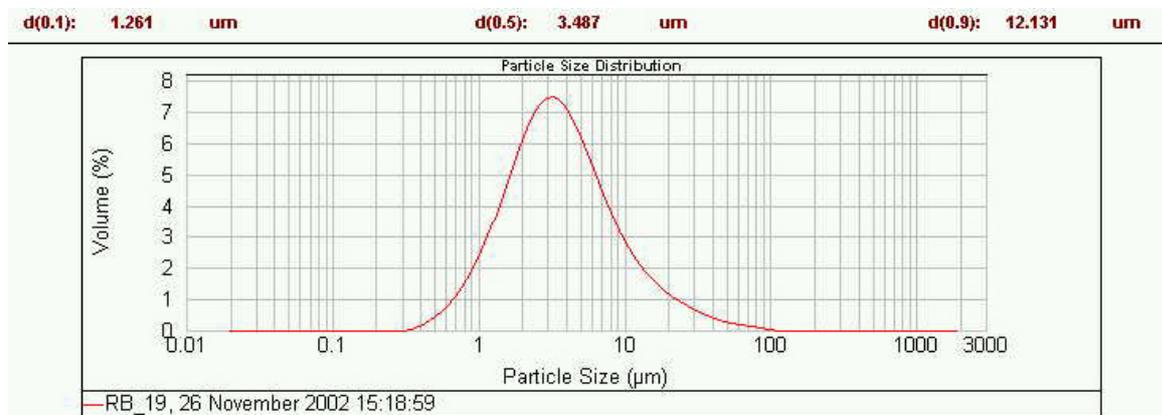
Mittels Mastersizer konnten die nativen Abriebpartikel hinsichtlich deren Größenverteilung untersucht werden. Dabei zeigte sich eine mittlere Partikelgröße zwischen  $2,8\ \mu\text{m}$  und  $4,4\ \mu\text{m}$ . Der  $d(0,1)$ -Wert betrug zwischen  $1,0\ \mu\text{m}$  und  $1,3\ \mu\text{m}$ . Dieser Wert gibt die Größe bzw. die Obergrenze der kleinsten 10 % der Partikel an. Der  $d(0,9)$ -Wert betrug zwischen  $8\ \mu\text{m}$  und  $17\ \mu\text{m}$ , d.h. 90% der Partikel waren kleiner als o.g. Werte (Abb. 4.10, Abb. 4.10A). Zwischen den TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen konnten keine deutlichen Unterschiede in den Partikelgrößen beobachtet werden, ebenso hatte die Oberflächentopographie des Stiels keinen maßgeblichen Einfluss. Bezüglich der Zusammensetzung des Knochenzements (mit bzw. ohne  $ZrO_2$ ) war der  $d(0,9)$ -Wert beim Knochenzement ohne  $ZrO_2$  niedriger als beim Knochenzement mit  $ZrO_2$  (Abb. 4.10; Abb. 4.10A).



a)



b)



c)

**Abb. 4.10: Teilchengrößenverteilung von generiertem, unbehandeltem Abriebpulver mittels Mastersizer. a) Abriebpulver von Testung eines glatten CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement ohne  $\text{ZrO}_2$ . b) Abriebpulver von Testung eines rauhen CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement mit  $\text{ZrO}_2$ . c) Testung eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels gegen Knochenzement mit  $\text{ZrO}_2$ .**

#### b) Lasergranulometer

Die Analyse der Partikelgrößen-Verteilung am Lasergranulometer diente zur Kontrolle der Ergebnisse des Mastersizers. Die mittlere Größe der Partikel lag bei knapp 3  $\mu\text{m}$ , während die Größenverteilung der Partikel zwischen 0,7  $\mu\text{m}$  und 10  $\mu\text{m}$  betrug. Dabei hatten 10 % der

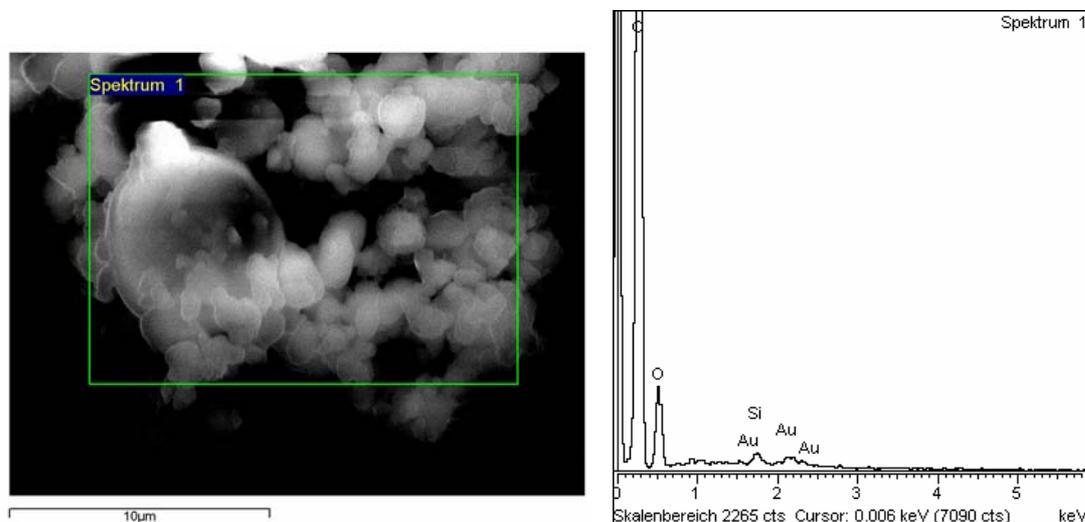
Partikel eine Größe von kleiner oder gleich 1  $\mu\text{m}$ , und 90 % der Partikel lagen innerhalb einer Größe von 6  $\mu\text{m}$  bis 8  $\mu\text{m}$  (Abb. 4.11A).

*c) Flow Particle Image Analyser (FPIA)*

Zur Kontrolle der Ergebnisse der o.g. Methoden wurde exemplarisch Abriebpulver (Testung eines rauen TiAl6Nb7-Stiels bzw. eines glatten CoCr28Mo6-Stiels jeweils gegen Palacos<sup>®</sup> R mit ZrO<sub>2</sub>) mittels FPIA analysiert. Dabei zeigte sich, dass die wesentlich rauere Oberfläche des TiAl6Nb7-Stiels im Gegensatz zur glatten Oberfläche des CoCr28Mo6-Stiels eine etwas höhere Anzahl von Partikeln unter 5  $\mu\text{m}$  bedingte. Unabhängig von der Rauheit und dem Werkstoff der Endoprothesen-Stiele besaß der überwiegende Teil der Partikel eine Größe zwischen 1  $\mu\text{m}$  und 10  $\mu\text{m}$  von nahezu sphärischer Form.

*d) Rasterelektronenmikroskopie (REM)*

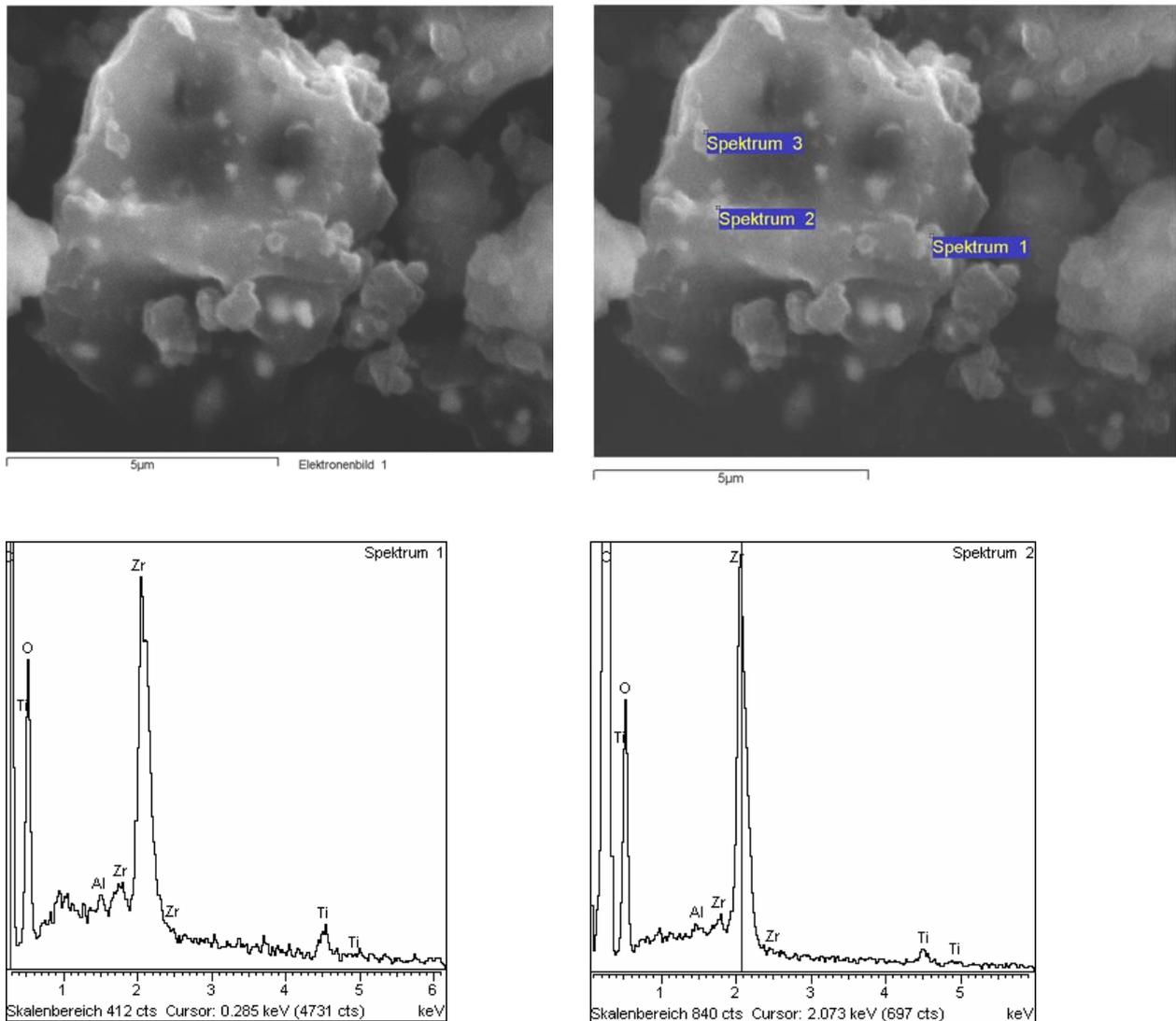
Im Abriebpulver eines rauen TiAl6Nb7-Stiels, der gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> gelaufen war, konnten kleinere, agglomerierte und ein großer Zementpartikel in Größenbereichen zwischen 1  $\mu\text{m}$  und 10  $\mu\text{m}$  nachgewiesen werden (Abb. 4.11, links). In der EDX-Analyse war kein Titan nachweisbar, jedoch ergaben sich Peaks für Kohlenstoff und Sauerstoff (Abb. 4.11, rechts), wahrscheinlich aus Knochenzement (PMMA).



**Abb. 4.11: Natives Abriebpulver eines rauen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. REM-Bild (5.000-fache Vergrößerung) (links) und zugehöriges EDX-Spektrum (rechts).**

Im nativen Abriebpulver desselben Stiels, der gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> gelaufen war, konnte ein großer Knochenzement-Partikel (aus PMMA und ZrO<sub>2</sub>) mit einer Größe von ca. 6  $\mu\text{m}$  - 7  $\mu\text{m}$  nachgewiesen werden (Abb. 4.12, oben). Durch EDX-Analyse konnten Auflagerungen kleinerer (sub- $\mu\text{m}$ -Bereich) Titan-Partikel identifiziert werden (Abb. 4.12, unten, Spektrum 1 und 2). In einer weiteren Abbildung zeigten sich größtenteils nicht agglomerierte Partikel mit Größen vom sub- $\mu\text{m}$ -Bereich bis ca. 2  $\mu\text{m}$  - 3  $\mu\text{m}$  (Abb. 4.12A,

oben). Im Spektrum 6 der EDX-Analyse konnten Zr-Partikel mit Größen von ca. 1  $\mu\text{m}$  identifiziert werden (Abb. 4.12A, Spektrum 6). Anhand von Spektrum 11 wurden kleine Titan-Partikel (sub- $\mu\text{m}$ -Bereich) beobachtet, die auf größeren PMMA- bzw.  $\text{ZrO}_2$ -Partikel aufgelagert waren (Abb. 4.12A, Spektrum 11).



**Abb. 4.12:** Oben: REM-Aufnahmen (10.000-fache Vergrößerung) eines Knochenzementpartikels im nativen Abriebpulver eines rauen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit  $\text{ZrO}_2$ . Unten: zugehörige EDX-Spektren.

Bei REM-Untersuchungen des Abriebpulvers eines glatten TiAl6Nb7-Stiels, der gegen Knochenzement mit  $\text{ZrO}_2$  getestet wurde, konnte ein großer Zementpartikel (Größe ca. 30  $\mu\text{m}$ ) mit einzelnen Auflagerungen kleiner Titan-Partikel im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich bzw.  $\mu\text{m}$ -Bereich beobachtet werden (Abb. 4.13A). Ebenfalls konnten agglomerierte PMMA-Partikel mit Einzelgrößen von bis zu 3  $\mu\text{m}$  gefunden werden (Abb. 4.13, links). In der EDX-Analyse zeigte das Spektrum 1 neben Kohlenstoff- und Sauerstoffanteilen ebenfalls ein Titan- und Zr-Signal (Abb. 4.13, rechts, Spektrum 1), was auf einen Verbund aus Titan-,  $\text{ZrO}_2$  und PMMA-Partikeln hindeutete.

Bei baugleichen (glatten) getesteten CoCr28Mo6-Stielen ergaben sich analoge Resultate zu denen der TiAl6Nb7-Stiele.

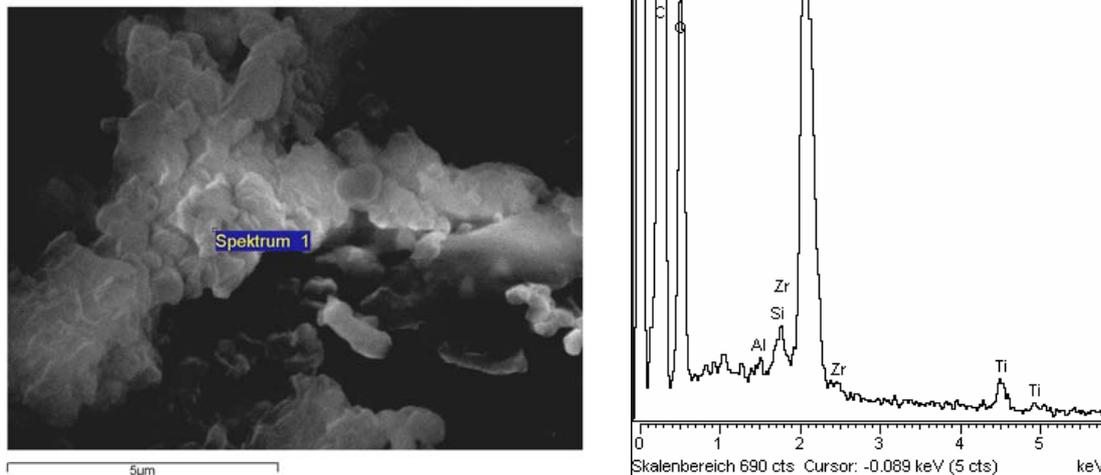


Abb. 4.13: Natives Abriebpulver eines glatt gestrahlten Endoprothesen-Stiels aus TiAl6Nb7, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ . REM-Bild (10.000-fache Vergrößerung) und zugehöriges EDX-Spektrum.

#### 4.2.1.3 Quantifizierung der nativen Grenzflächenprodukte mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)

Durch die Bestimmung der Metallkonzentrationen im nativen Abriebpulver wurde der Einfluss von Oberflächenmodifikation (rau/glatt), Stiel-Werkstoff und verwendetem Knochenzement auf den Anteil metallischer Partikel in den jeweiligen generierten Destruktionsprodukten analysiert.

Bei den TiAl6Nb7-Stielen, die gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  gelaufen waren, ergab sich unter trockenen Umgebungsbedingungen bei rauen TiAl6Nb7-Stielen eine deutlich höhere Ti-Konzentration im freigesetzten Abrieb (Knochenzement- und Metallpartikel) als bei identisch beanspruchten glatten Stielen. Bei CoCr28Mo6-Stielen wurde ein geringerer Unterschied in der Co-Konzentration zwischen rauen und glatten Stielen ermittelt (Tab. 4.2).

Tab. 4.2: Gehalt an Titan bzw. Kobalt in  $\mu\text{g}$  pro g Abriebpulver, mittels Atomabsorptionsspektrometrie, Laufzeit 1 Woche, 3 Mio. Lastwechsel.

Werkstoff Hüft-Stiel		Knochenzement mit $ZrO_2$		Knochenzement ohne $ZrO_2$		Knochenzement mit $BaSO_4$
TiAl6Nb7 rau	n=3	$5308 \pm 2110 \mu\text{g Ti/g}$	n=2	$723 \pm 240 \mu\text{g Ti/g}$	n=1	$560 \mu\text{g Ti/g}$
TiAl6Nb7 glatt	n=3	$2393 \pm 167 \mu\text{g Ti/g}$	n=2	$241 \pm 43 \mu\text{g Ti/g}$	n=0	n.u.
CoCr28Mo6 rau	n=2	$5110 \pm 234 \mu\text{g Co/g}$	n=3	$181 \pm 52 \mu\text{g Co/g}$	n=1	$198 \mu\text{g Co/g}$
CoCr28Mo6 glatt	n=3	$4250 \pm 750 \mu\text{g Co/g}$	n=2	$350 \pm 125 \mu\text{g Co/g}$	n=1	$1784 \mu\text{g Co/g}$

n.u.: nicht untersucht

Unter Berücksichtigung der erhöhten Abriebmenge bei den rauen Stielen im Gegensatz zu den glatten Stielen (Tab. 4.1), wurden bei rauen TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen, die gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> gelaufen waren, insgesamt deutlich mehr Metallpartikel an der Grenzfläche zwischen Implantat und Knochenzement als bei identisch beanspruchten glatten Stielen freigesetzt (Tab. 4.3). Dabei war der Gesamtmetallgehalt bei rauen, vor allem aber bei glatten CoCr28Mo6-Stielen deutlich höher als bei den entsprechenden TiAl6Nb7-Stielen (Tab. 4.3).

Bei Verwendung von ZrO<sub>2</sub>-freiem Knochenzement wurde wiederum bei rauen TiAl6Nb7-Stielen eine deutlich höhere Metallkonzentration im Abriebpulver als bei identisch beanspruchten glatten Stielen festgestellt. Generell waren diese um ein vielfaches kleiner als bei der jeweiligen Testung gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> (Tab. 4.2). Im Gegensatz dazu waren die Metallkonzentrationen bei der Testung von glatten CoCr28Mo6-Stielen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> höher als bei identisch beanspruchten rauen Stielen (Tab. 4.2), bei beiden Oberflächenbeschaffenheiten betrug diese jedoch weniger als ein Zehntel der Konzentrationen bei Testung gegen ZrO<sub>2</sub>-haltigen Zement. Unter Berücksichtigung der Abriebpulvermengen (Tab. 4.1) ergaben sich wiederum für die rauen Stiele beider Legierungen deutlich höhere Gesamtmetallkonzentrationen als für die glatten Stiele (Tab. 4.3).

**Tab. 4.3: Gesamtgehalt an Titan bzw. Kobalt in µg im gesamten Abriebpulver, Laufzeit 1 Woche, 3 Mio. Lastwechsel.**

Werkstoff Hüft-Stiel		Knochenzement mit ZrO <sub>2</sub>		Knochenzement ohne ZrO <sub>2</sub>		Knochenzement mit BaSO <sub>4</sub>
TiAl6Nb7 rau	n=3	424 ± 93 µg Ti	n=2	150 ± 3,0 µg Ti	n=1	101 µg Ti
TiAl6Nb7 glatt	n=3	56 ± 8 µg Ti	n=2	15 ± 4 µg Ti	n=0	n.u.
CoCr28Mo6 rau	n=2	659 ± 120 µg Co	n=3	88 ± 29 µg Co	n=1	133 µg Co
CoCr28Mo6 glatt	n=3	376 ± 83 µg Co	n=2	28 ± 1 µg Co	n=1	36 µg Co

n.u.: nicht untersucht

Bei den bisher gegen alternative Knochenzemente getesteten Endoprothesen-Stielen ergaben sich sowohl für den rauen TiAl6Nb7- als auch den rauen CoCr28Mo6-Stiel und den glatten CoCr28Mo6-Stiel, die alle gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub> gelaufen waren, Konzentrationen, die mit denen bei der Verwendung von Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> vergleichbar waren (Tab. 4.2). Unter Berücksichtigung der Abriebpulvermengen (Tab. 4.1) entstand jedoch beim glatten CoCr28Mo6-Stiel ein deutlich geringerer Gesamtmetallgehalt

im Vergleich zu den anderen, gegen CMW 2000 getesteten Stielen und zur Testung gegen ZrO<sub>2</sub>-freien Knochenzement.

Auf Grund der hohen Abriebpulvermengen (314 mg bzw. 1000 mg) ergab sich für die rauen CoCr28Mo6-Stiele, die sowohl gegen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 als auch Sulcem<sup>®</sup> 3 gelaufen waren, eine sehr hohe Gesamtmetallkonzentration im Abriebpulver. Diese war wegen der hohen Abriebpulvermenge höher bei Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 3, obwohl der Kobalt-Gehalt in µg/g Abrieb bei letzt genanntem Zement geringer war.

## **4.2.2 Quantitative und qualitative Analyse der aufbereiteten Grenzflächenprodukte**

### **4.2.2.1 Aufbereitung des Abriebpulvers zur Eliminierung des Knochenzements**

Mit Hilfe verschiedener organischer Lösungsmittel (DMSO/DMF/Aceton) wurde der Knochenzement aus dem Abriebpulver eliminiert, um reine Metallpartikel für weitere Untersuchungen bereit zu stellen.

Beim Abriebpulver, das Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> enthielt, war sowohl bei Stielen aus TiAl6Nb7 als auch CoCr28Mo6 der erste Überstand schwarz bzw. dunkelgrau (Abb. 4.14, links) gefärbt. Durch die Färbung waren keine Partikel makroskopisch in der Lösung sichtbar. Mit jedem weiteren Aufbereitungsschritt (siehe Kapitel Material und Methode 3.3.2.1) ging die Lösung von hellgrau über milchig-trüb in eine klare Lösung über. Unter Aufhellung des Überstandes wurden vereinzelt Metallpartikel sichtbar. Die zu Beginn der Aufbereitung noch vereinzelt vorhandenen Zementpartikel nahmen mit jedem Aufbereitungsschritt ab. Etwa ab dem siebten bis achten Schritt war die Lösung wasserklar und enthielt sichtbare Metallpartikel, jedoch keine Zementpartikel. Während des Auswaschens des Lösungsmittels mit Aqua dest. blieb die Lösung wasserklar (Abb. 4.14, Mitte und rechts). Die Eliminierung des Lösungsmittels wurde am Verschwinden des Lösungsmittelgeruches festgestellt. Zwischen den einzelnen Lösungsmitteln (DMSO vs. DMF vs. Aceton) konnten keine Unterschiede im Auflösungsvermögen der Zemente festgestellt werden. Einzig bei Aceton bestand die Möglichkeit der Verdampfung mit Ausfällung der im Überstand evtl. vorhandenen Knochenzementbestandteile bzw. Metallpartikel.

Bei der Aufbereitung der Abriebpulver mit Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> (aufbereitet mit DMSO und Aceton) war der erste Überstand bei beiden Legierungen gelblich und durchsichtig. Es konnten schon von Beginn an Metallpartikel mit bloßem Auge erkannt werden. Hier war der Überstand etwa ab dem vierten bis fünften Aufbereitungsschritt klar.

Beim Abriebpulver mit Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub> (aufbereitet mit DMSO) war der erste Überstand gelb-grau und durchsichtig. Die Lösung wurde schon ab dem dritten bis

vierten Aufbereitungsschritt klar, jedoch waren bis etwa zum siebten Überstand immer noch Zementrückstände erkennbar.

Bei der Aufbereitung der Abriebpulver mit Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 und Sulcem<sup>®</sup> 3 war der erste Überstand dunkler und gräulich gefärbt. Es waren kaum Metallpartikel mit bloßem Auge erkennbar. Mit jedem Überstand wurde die Lösung jedoch klarer, bis sie ab dem etwa fünften Überstand wasserklar war. Nun konnten vereinzelte Metallpartikel beobachtet werden.

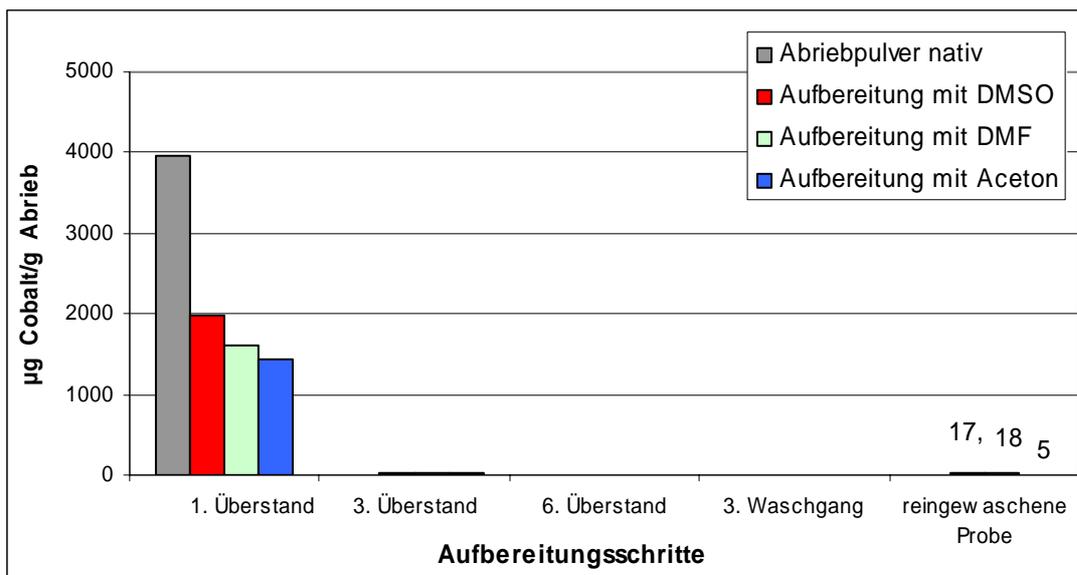


**Abb. 4.14: Aufbereitungsschritte des Abriebpulvers eines glatten CoCr28Mo6-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ , zur Eliminierung des Knochenzements. Links: Erster Überstand. Mitte: Erster Waschgang. Rechts: reingewaschene Probe.**

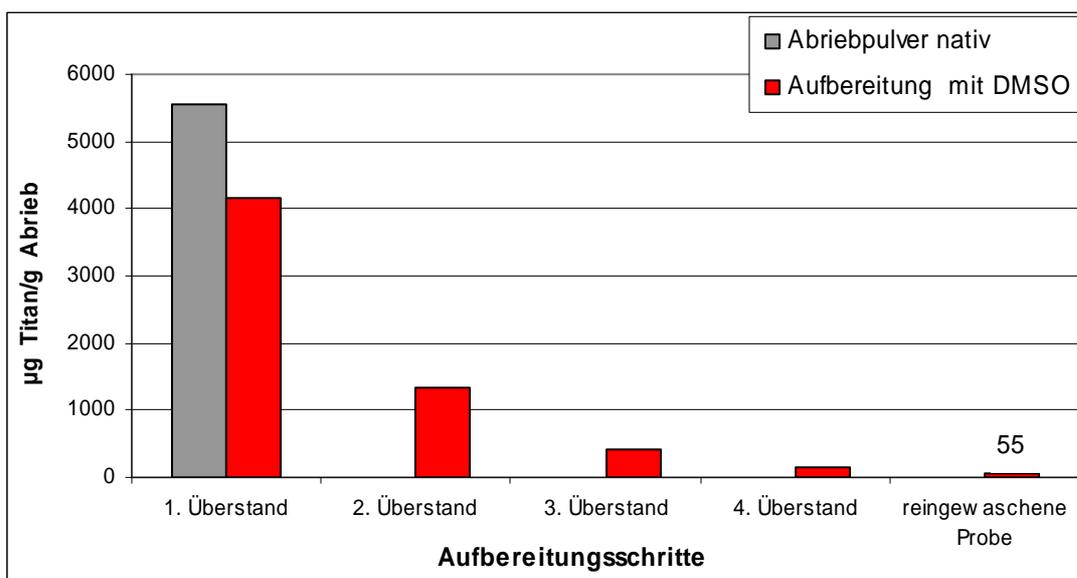
#### 4.2.2.2 Partikelverlust bei Eliminierung des Knochenzements

Zur Überprüfung der Effizienz der Methode zur Auflösung des Knochenzements und Bestimmung des Verlustes gereinigter Titan- bzw. Co-Partikel wurde der Metallgehalt einzelner Überstände, in Überständen vom Auswaschen des Lösungsmittels (Waschgang) und in der gereinigten (reingewaschenen) Probe mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) bestimmt.

Bei den Abriebpulvern von sowohl rauen als auch glatten TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen ergab sich eine sehr hohe Metallkonzentration im 1. Überstand. Diese betrug zwischen 30% und 70% der Metallkonzentration vom nativen Abriebpulver (Abb. 4.15, Abb. 4.16, Abb. 4.14A, Abb. 4.15A). Ab dem 3. Überstand sowie in der reingewaschenen Probe konnten nur sehr geringe Metallkonzentrationen festgestellt werden (Abb. 4.15, Abb. 4.16, Abb. 4.14A, Abb. 4.15A). Diese lagen teilweise schon an der unteren Nachweisgrenze des Gerätes. Diese Beobachtungen trafen unabhängig vom verwendeten Lösungsmittel auf alle Proben gleichermaßen zu.



**Abb. 4.15:** Kobalt-Konzentrationen im nativen Abriebpulver, in verschiedenen Überständen nach Aufbereitung des Abriebpulvers bzw. Eliminierung von PMMA mittels organischem Lösungsmittel (DMSO, DMF, Aceton), während (Waschgang) und nach dessen Auswaschen mittels Aqua dest. (reingewaschene Probe). Partikel wurden im Interface zwischen einem glatten CoCr28Mo6-Stiel und Knochenzement Palacos® R mit ZrO<sub>2</sub> generiert.



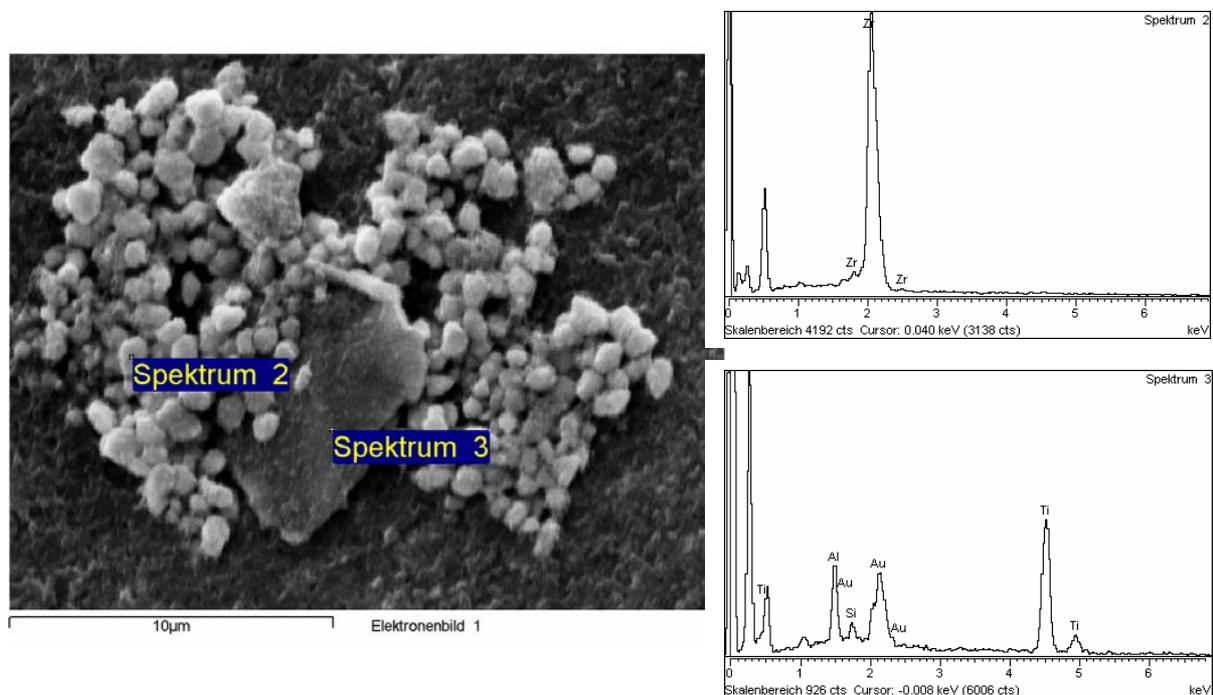
**Abb. 4.16:** Titan-Konzentrationen im nativen Abriebpulver, in verschiedenen Überständen nach Aufbereitung des Abriebpulvers bzw. Eliminierung von PMMA mittels organischem Lösungsmittel (DMSO) und nach dessen Auswaschen mittels Aqua dest. (reingewaschene Probe). Partikel wurden im Interface zwischen einem rauem TiAl6Nb7-Stiel und Knochenzement Palacos® R mit ZrO<sub>2</sub> generiert.

#### 4.2.2.3 Morphologie der aufbereiteten Grenzflächenprodukte

Nach der Aufbereitung der generierten Destruktionsprodukte konnten die Metall- bzw. ZrO<sub>2</sub>-Partikel in Lösung mittels verschiedener Methoden analysiert werden.

### a) Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Nach Filtration der reingewaschenen Probe eines rauen TiAl6Nb7-Stiels, der gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  gelaufen war, konnten kleine, größtenteils nicht agglomerierte, an der Grenzfläche zwischen Knochenzement und Endoprothesen-Stiel zerriebene  $ZrO_2$ -Partikel im sub- $\mu\text{m}$ - bis  $\mu\text{m}$ -Bereich (Abb. 4.17, Spektrum 2) nachgewiesen werden. Ebenso wurde ein ca. 8  $\mu\text{m}$  großer scherbenförmiger Partikel (Abb. 4.17) gefunden, der anhand von Spektrum 3 (Abb. 4.17, Spektrum 3) als Titanpartikel identifiziert werden konnte. Im Röntgenverteilungsbild (Mapping) war im markierten Abschnitt (Abb. 4.16A, oben links) wiederum Zr nachweisbar (Abb. 4.16A, unten rechts). Neben Titan (Abb. 4.16A, unten links), für das im Spektrum 3 (Abb. 4.17) schon deutliche Signale auftraten, konnte nun auch Aluminium als weiterer Bestandteil des Endoprothesen-Werkstoffs nachgewiesen werden (Abb. 4.16A, oben rechts).



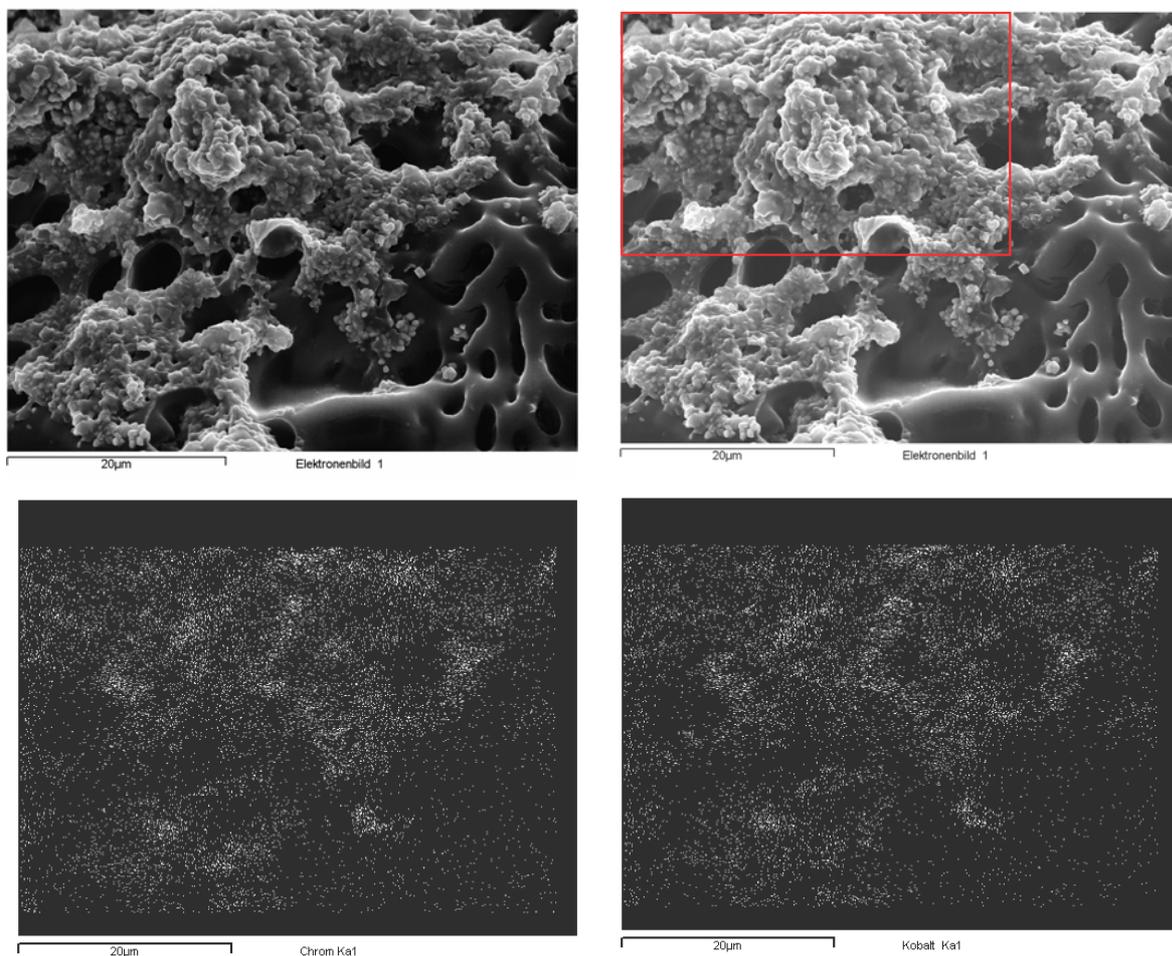
**Abb. 4.17: Partikelrückstände nach Filtration des aufbereiteten Abriebpulvers eines rauen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ . REM-Bild (5.000-fache Vergrößerung) und dazugehörige EDX-Spektren.**

Nach Filtration des Überstandes eines glatten TiAl6Nb7-Stiels, der ebenfalls gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  gelaufen war, konnte ein Agglomerat (ca. 3  $\mu\text{m}$ ) aus kleinen Partikeln mit Größen im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich nachgewiesen werden (Abb. 4.17A, links). Diese bestanden aus Titan, was in der EDX--Analyse im Spektrum 1 anhand der Titan-Peaks bestätigt wurde (Abb. 4.17A, Spektrum 1).

Nach Filtration des Überstands eines glatten CoCr28Mo6-Stiels, der gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  gelaufen war, konnten kleine, unregelmäßig geformte Kobalt-Partikel im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich gefunden werden (Abb. 4.18A, Spektrum 1). Ebenso waren größere, dünne,

plättchenförmige Kobalt-Partikel ( $1\ \mu\text{m} - 1,5\ \mu\text{m}$ ) nachweisbar (Abb. 4.18A, Spektrum 3 und 5), die von der glatten Stieloberfläche abgeschert worden waren. Zusätzlich konnten viele kleine, nicht agglomerierte, im Interface zerriebene  $\text{ZrO}_2$ -Partikel im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich nachgewiesen werden (Abb. 4.18A, Spektrum 2).

Bei direkter Untersuchung ohne Filtration des Überstandes eines glatten  $\text{CoCr28Mo6}$ -Stiels (gegen Knochenzement ohne  $\text{ZrO}_2$ ) konnte ein Partikelagglomerat nach partieller Ausfällung von PMMA ( $\rightarrow$ ) nachgewiesen werden (Abb. 4.18, oben links). Im Röntgenverteilungsbild (Mapping) (Abb. 4.18, unten) zeigten sich im gekennzeichneten Ausschnitt (Abb. 4.18, oben rechts) Chrom (Abb. 4.18, unten links) und Kobalt (Abb. 4.18, unten rechts) als Bestandteile des Agglomerates.



**Abb. 4.18:** Aufbereiteter Überstand eines glatt gestrahlten Hüftendoprothesen-Stiels aus  $\text{CoCr28Mo6}$ , gelaufen gegen Knochenzement ohne  $\text{ZrO}_2$ . Oben: REM-Bild in 2000-facher Vergrößerung, rechts mit Detailausschnitt. Unten: Röntgenverteilungsbilder des Detailausschnitts. Unten links mit Chrom-Darstellung, unten rechts mit Kobalt-Darstellung.

In der reingewaschenen Probe eines rauen  $\text{TiAl6Nb7}$ -Stiels (gegen Knochenzement ohne  $\text{ZrO}_2$ ) konnten ohne Filtration mehrere, größtenteils nicht agglomerierte Titan-Partikel mit durchschnittlicher Größe von  $1\ \mu\text{m} - 10\ \mu\text{m}$  nachgewiesen werden (Abb. 4.19A, links). Der

Detailausschnitt zeigte einen großen scherbenförmigen Titan-Partikel (ca. 8  $\mu\text{m}$ ) mit aufgelagerten kleineren Titan-Partikeln (sub- $\mu\text{m}$ -Bereich) (Abb. 4.19A, rechts).

#### *b) Durchflusszytometrie*

In der Durchflusszytometrie ergab sich in den unfraktionierten, gewaschenen Proben sowohl bei glatten als auch rauen TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen eine große Streuung der Partikel bezüglich Granularität und Größe (Abb. 4.20A). Die Mehrzahl der Partikel lag zwar im Bereich kleinerer (sub- $\mu\text{m}$ - bis 1  $\mu\text{m}$ -Bereich) Größen, jedoch wurden auch etliche sehr große ( $> 3 \mu\text{m}$ ) Partikel gefunden. Im Gegensatz dazu waren die Partikel in den Aufbereitungs-Überständen von sowohl rauen als auch glatten Titan-Stielen sehr homogen und besaßen sehr kleine (nm- bis sub- $\mu\text{m}$ -Bereich) Durchmesser (Abb. 4.21A, Abb. 4.22A). Partikel aus den Überständen von sowohl rauen als auch glatten CoCr28Mo6-Stielen waren vergleichsweise heterogen hinsichtlich der Granularität und besaßen analog der gewaschenen Proben eine größere Streuung der Partikelgröße (Abb. 4.23A - 4.25A). Wiederum lag jedoch die Mehrzahl der Partikel im Bereich kleinerer Größen und wiederum konnten etliche große Partikel nachgewiesen werden.

Die untersuchten kommerziellen Referenzpartikel aus cp-Titan (Abb. 4.26A) zeigten eine deutlich größere Granularität und breitere Streuung der Partikelgröße als die generierten Ti- bzw. CoCr-Partikel in den Aufbereitungsüberständen (Abb. 4.21A - 4.25A). Dagegen war die Inhomogenität der kommerziellen cp-Titan-Partikel mit der der generierten Ti- bzw. CoCr-Partikel in den unfraktionierten, gewaschenen Proben vergleichbar (Abb. 4.20A).

Die Referenzpartikel aus  $\text{TiO}_2$  (Korngröße 1,8  $\mu\text{m}$  bzw. 0,5  $\mu\text{m}$ ) wiesen ebenfalls eine deutlich größere Granularität als die Partikel in den Aufbereitungs-Überständen auf. Dabei entsprachen die  $\text{TiO}_2$ -Partikel mit einer Körnung von 0,5  $\mu\text{m}$  (Abb. 4.27A) am ehesten den Partikeln in den Aufbereitungs-Überständen (Abb. 4.21A - 4.25A), während die  $\text{TiO}_2$ -Partikel mit 1,8  $\mu\text{m}$ -Körnung (Abb. 4.28A) mit den Partikeln der gewaschenen Proben vergleichbar waren (Abb. 4.20A).

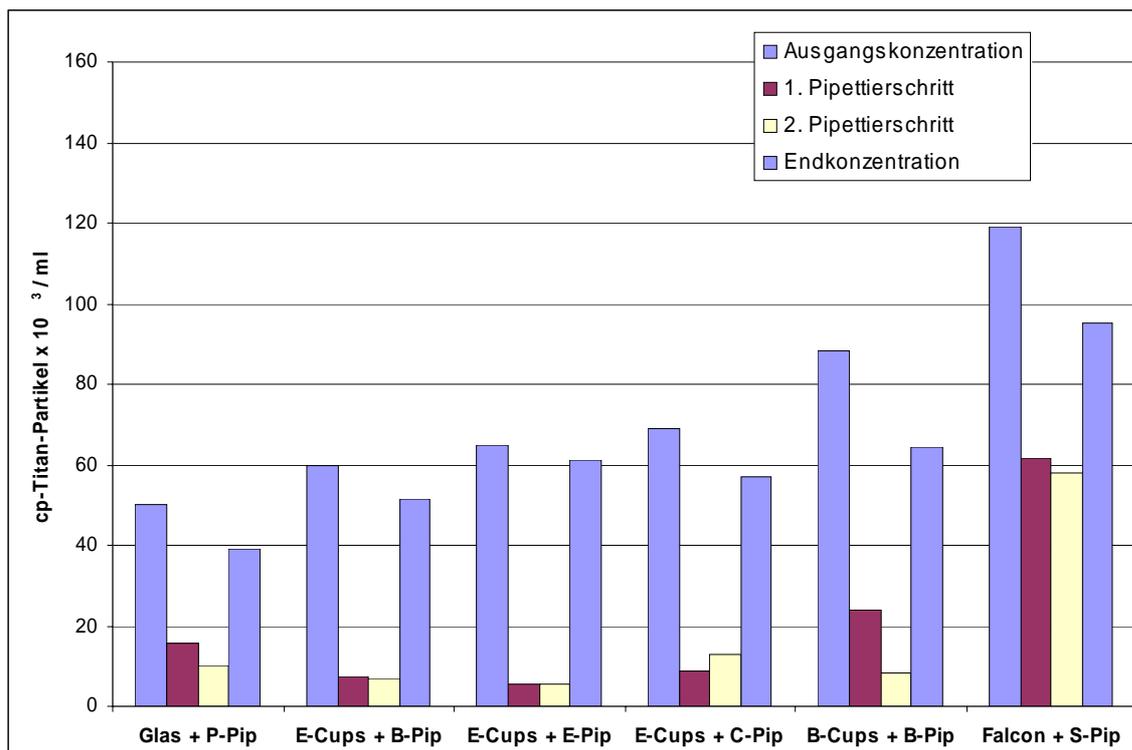
## **4.3 Versuche zum Partikelverlust**

### **4.3.1 Partikelverlust in Abhängigkeit von Gefäß, Reagenz und Behandlung der Probe**

In diesem Versuch sollte der Einfluss vom Gefäß (Eppendorf-Cup, Glasgefäß, Biozym-Cup, Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen), aber auch von Reagenz (Zellmedium, PBS) und Behandlungsmethode der Probe (+/- Ultraschall) auf den Partikelverlust analysiert werden.

Im Idealfall sollten die Ausgangs- (Probe 1) und Endkonzentrationen (Probe 4) der Titanpartikel gleich groß, im ersten (Probe 2) und im zweiten Pipettierschritt (Probe 3) sollten keine Partikel nachweisbar sein (Abb. 3.15).

Es zeigt sich (Abb. 4.19, Abb. 4.29A - 4.35A), dass in allen vier Gefäßen Partikel enthalten waren. Die Konzentration der cp-Titan-Partikel in Probe 4 war bei allen getesteten Gefäßen und den verschiedenen Reagenzien und Behandlungsmethoden niedriger als in Probe 1. Eine Ausnahme machte das Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen, das Zellmedium enthielt und mit Ultraschall (US) behandelt wurde. Hier war die Endkonzentration der Partikel höher als die Anfangskonzentration (Abb. 4.30A, Abb. 4.34A).

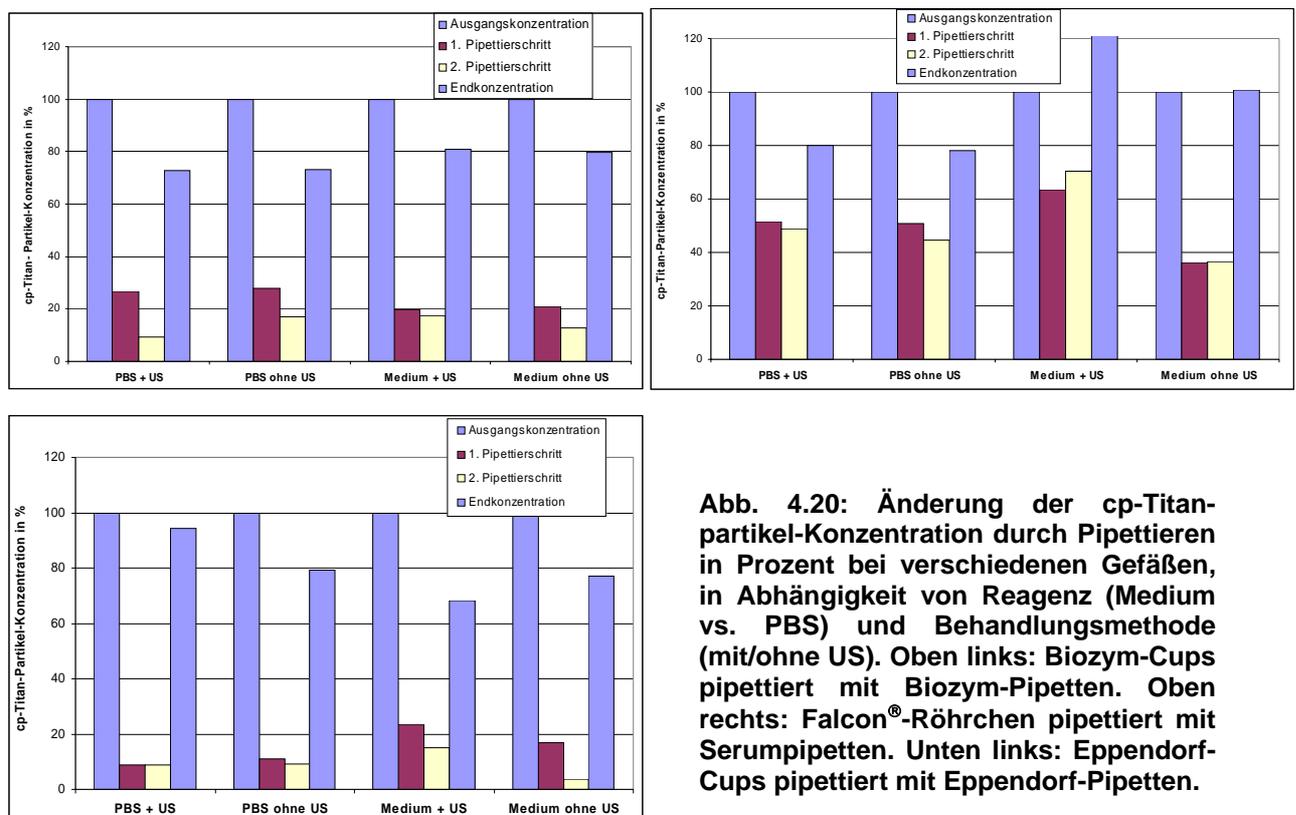


**Abb. 4.19: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten: Ausgangslösung: Titanpulver + PBS mit Ultraschall behandelt.**

In den Proben 2 und 3 wurden ebenfalls Partikel detektiert, jedoch ausnahmslos weniger als in den beiden Proben 1 und 4. Die Partikelkonzentrationen waren bei den Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen grundsätzlich höher als bei allen anderen Gefäßen (Abb. 4.19, Abb. 4.29A - 4.31A). Zum Teil war schon die Ausgangskonzentration doppelt so hoch als bei den übrigen getesteten Reaktionsgefäßen. In den Proben 2 und 3 fand sich bei Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen teilweise eine bis zu sechs-fache Erhöhung der Partikelkonzentrationen im Vergleich zu den anderen Laborgefäßen (Abb. 4.29A, Abb. 4.30A). Eine Ausnahme stellte der Vergleich mit den Biozym-Gefäßen dar, da bei diesen in allen Proben im Vergleich zu Eppendorf- und Glasgefäßen auch höhere Partikelkonzentrationen messbar waren (Abb. 4.19, Abb. 4.29A, Abb. 4.30A). Die Konzentrationen waren aber geringer als mit den Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen. Die

geringsten Partikelkonzentrationen in den Proben 2 und 3 ergaben sich bei den Eppendorf-Reaktionsgefäßen, und zwar wenn mit Eppendorf-Pipetten gearbeitet wurde (Abb. 4.19, Abb. 4.31A). Die höchsten Partikelkonzentrationen in den mittleren Gefäßen beim Testen der Eppendorf-Gefäße wurden beim Arbeiten mit den Combitips plus-Pipetten verzeichnet (Abb. 4.19; Abb. 4.29A).

Der Vergleich der verschiedenen Lösungen (Zellmedium vs. PBS) und Behandlungsmethoden (mit vs. ohne US) innerhalb eines Gefäßes (Abb. 4.20, Abb. 4.36A - 4.44A), ergab keine deutlichen Unterschiede in den Partikelkonzentrationen.

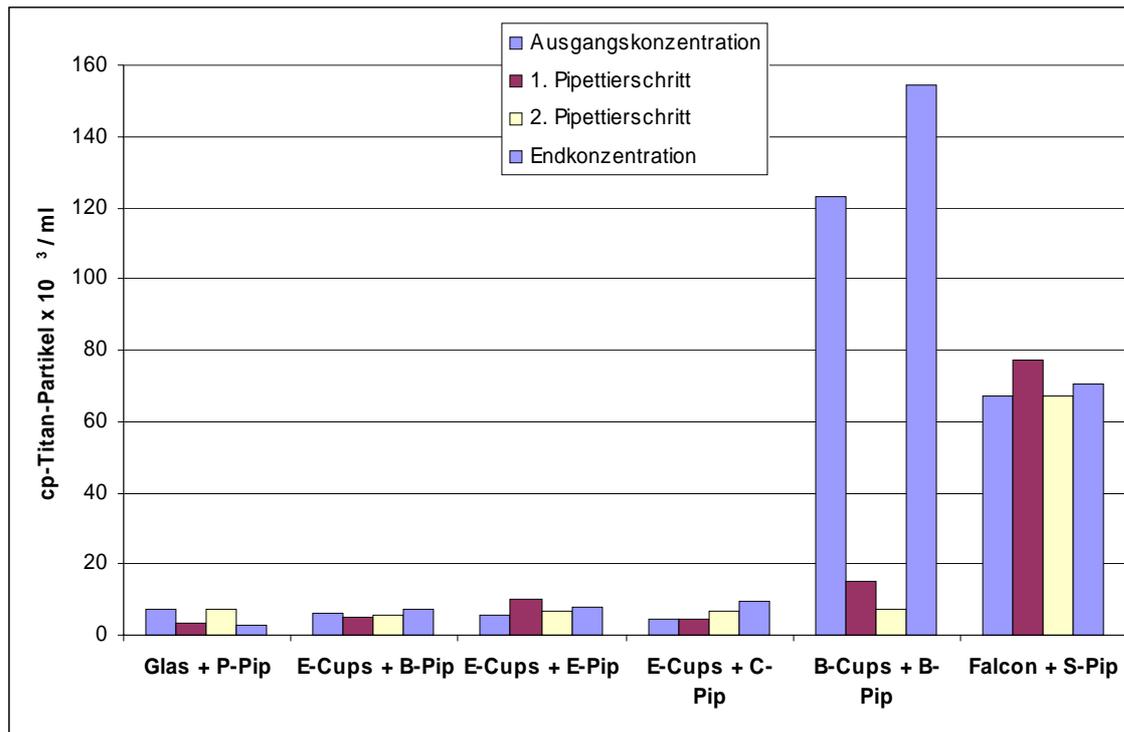


**Abb. 4.20: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren in Prozent bei verschiedenen Gefäßen, in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). Oben links: Biozym-Cups pipettiert mit Biozym-Pipetten. Oben rechts: Falcon®-Röhrchen pipettiert mit Serumpipetten. Unten links: Eppendorf-Cups pipettiert mit Eppendorf-Pipetten.**

#### - Leermessungen

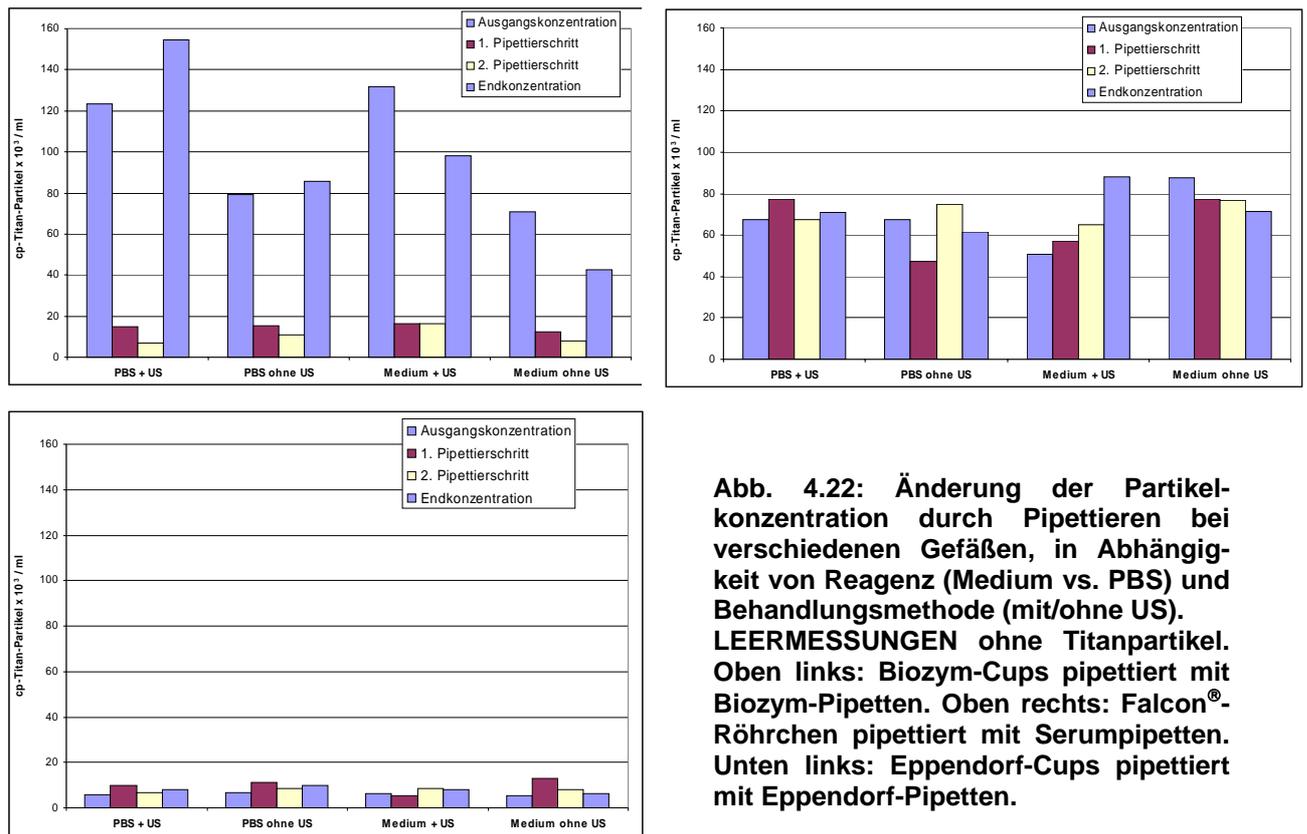
Mittels der Leermessungen sollten mögliche Verunreinigungen der Gefäße durch Fremdpartikel erfasst werden. Bei den Glasgefäßen und Eppendorf-Cups mit den verschiedenen Pipetten war in den Proben 1 – 4 eine in etwa identische Partikelkonzentration enthalten (Abb. 4.21, Abb. 4.45A - 4.47A). Dies war für alle Reaktionsgefäße gültig, unabhängig vom verwendeten Reagenz oder der Behandlungsmethode (Abb. 4.22; Abb. 4.48 - 4.50A). Bei den Falcon®-Röhrchen dagegen waren die Partikelkonzentrationen bis zu acht Mal größer als bei Glas- und Eppendorf-Gefäßen (Abb. 4.46A, Abb. 4.47A). Allerdings waren die Konzentrationen in den vier Proben ähnlich hoch. Das Muster, das sich bei den Messungen mit Titanpartikeln bei Glas- und Eppendorf-Gefäßen ergab, d.h. dass in den

Proben 1 und 4 sehr viele Partikel, in Proben 2 und 3 dagegen wenige Partikel nachweisbar waren, war bei den Leermessungen mit den Falcon®-Röhrchen nicht zu erkennen. Allerdings bestanden bei den Falcon®-Röhrchen im Gegensatz zu Glasgefäßen und Eppendorf-Cups größere Schwankungen der Partikelkonzentrationen in allen vier Proben (Abb. 4.22, oben rechts). Dabei war keine Abhängigkeit vom verwendeten Reagenz oder von der Behandlungsmethode erkennbar.



**Abb. 4.21: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei verschiedenen Gefäßen: LEERMESSUNG ohne Titanpartikel: Ausgangslösung: Aqua dest. + PBS mit Ultraschall behandelt.**

Bei den Biozym-Cups traten dagegen deutliche Unterschiede zu allen übrigen getesteten Gefäßen auf. Hier ergaben sich analog der Messungen mit Titanpartikeln sehr hohe Konzentrationen in Proben 1 und 4 und niedrige Konzentrationen in Proben 2 und 3. Bei den Leermessungen wurde in manchen Fällen eine höhere Partikelkonzentration beobachtet als bei den Messungen mit Partikeln (Abb. 4.21A, Abb. 4.46A). Die Partikelkonzentrationen in den Proben 1 und 4, vor allem aber in den Proben 2 und 3 waren deutlich höher als die der Leermessungen von Glas- und Eppendorf-Gefäßen. Diese Aussagen trafen sowohl auf alle Lösungen (Zellmedium und PBS) als auch auf die verschiedenen Behandlungsmethoden (mit/ohne US) zu. Die Partikelkonzentrationen in den Proben 1 und 4 übertrafen in den meisten Fällen sogar die Werte der Falcon®-Röhrchen.

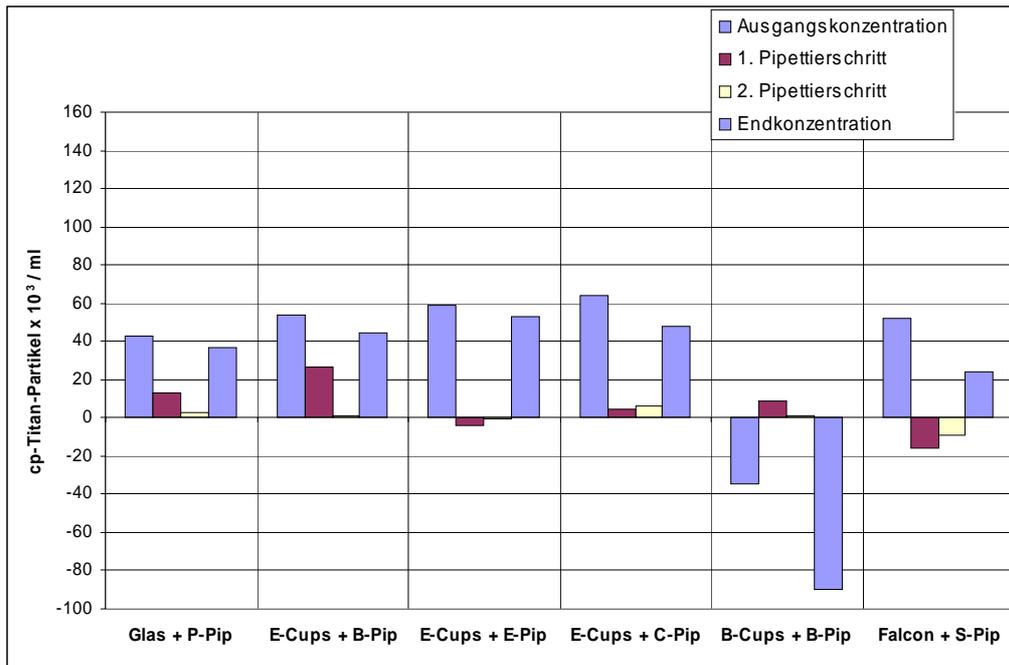


**Abb. 4.22: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei verschiedenen Gefäßen, in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). LEERMESSUNGEN ohne Titanpartikel. Oben links: Biozym-Cups pipettiert mit Biozym-Pipetten. Oben rechts: Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen pipettiert mit Serumpipetten. Unten links: Eppendorf-Cups pipettiert mit Eppendorf-Pipetten.**

#### *Versuche mit Titanpartikeln unter Berücksichtigung der Leermessungen:*

Bei den Glas- und Eppendorf-Gefäßen ergaben sich in den Proben 1 und 4 nach Differenzbildung bzw. Subtraktion der Leermessung die höchsten Partikelkonzentrationen, während die Partikelkonzentrationen in den Proben 2 und 3 sehr niedrig waren (Abb. 4.23, Abb. 4.51A - 4.53A). Negativwerte, das heißt die Partikelkonzentration der Leermessung war größer als bei der Messung mit cp-Titan-Partikeln, traten bei den Eppendorf-Cups nur vereinzelt auf (Abb. 4.23, Abb. 4.51A, Abb. 4.53A).

Bei den Biozym-Gefäßen ergaben sich dagegen häufig Negativwerte, besonders bei den Proben 1 und 4 (Abb. 4.23; Abb. 4.51A; Abb. 4.52A). Bei den Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen ergaben sich nur Negativwerte für die Gefäße 2 und 3 (Abb. 4.23, Abb. 4.51A, Abb. 4.53A), die Partikelkonzentrationen der Proben 1 und 4 entsprachen in etwa denen der Glasgefäße und Eppendorf-Cups.

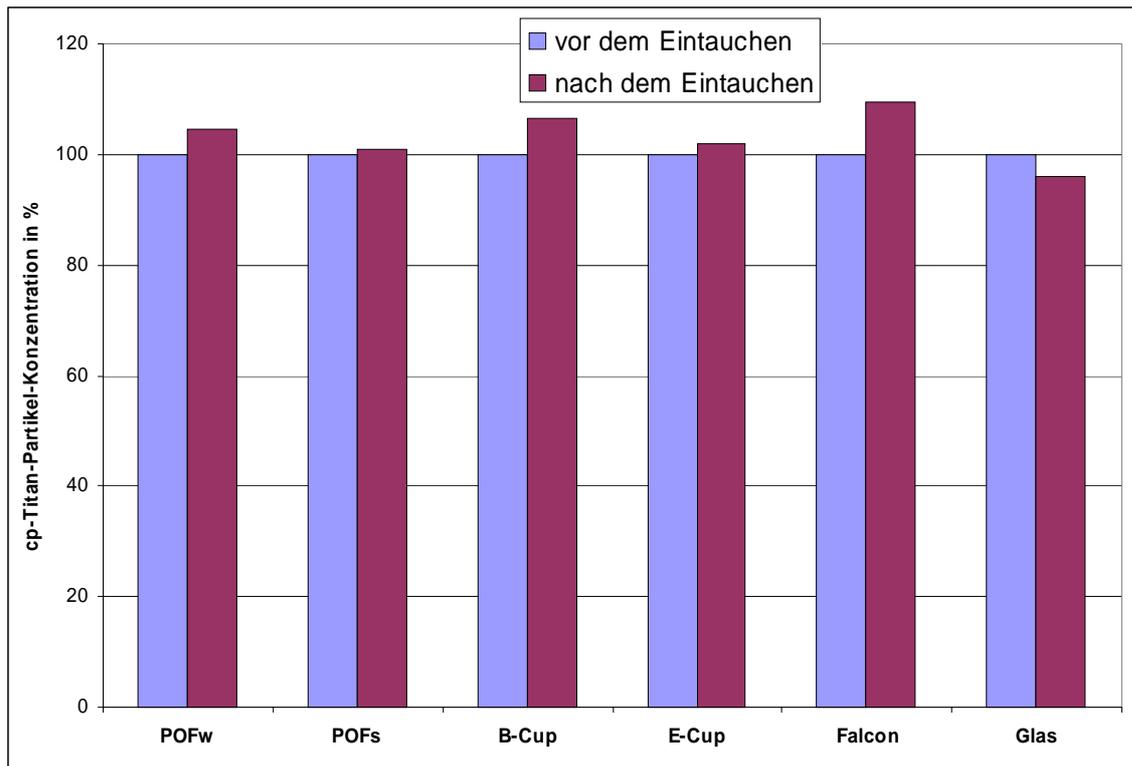


**Abb. 4.23: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei verschiedenen Gefäßen - hier unter Berücksichtigung der Leermessung. Ausgangslösung: Titanpulver + PBS mit Ultraschall behandelt.**

#### 4.3.2 Gefäßtestung

In diesem Versuch wurden die oben genannten Gefäße nach Standardisierung der Oberfläche auf deren Anhaftungsfähigkeit analysiert. Dafür wurden die Gefäße auf identische Größe der Oberfläche (Testkörper) zugeschnitten. Zudem wurden die Testkörper vor der Testung gewaschen, um Verunreinigungen mit Fremdpartikeln zu eliminieren. Zusätzlich wurden zwei Testkörper aus speziellen Materialien getestet.

Vor dem Eintauchen der Testkörper waren die Partikelkonzentrationen in allen Lösungen in etwa gleich groß (Abb. 4.54A). Nur bei den Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen ergab sich eine um etwa 20.000 Partikel/ml geringere Konzentration. Nach dem Eintauchen war bei allen Gefäßen mit Ausnahme der Glasgefäße eine Erhöhung der Partikelkonzentrationen erkennbar (Abb. 4.24; Abb. 4.54A) Bei Polyolefine BR 735G-3187 (schwarz) und beim Eppendorf-Cup war die Konzentrationserhöhung sehr gering. Bei Polyolefine EP 548S, dem Biozym-Gefäß und dem Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen war der Konzentrationsunterschied deutlicher (Abb. 4.24, Abb. 4.54A), wobei der Konzentrationsanstieg beim Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen prozentual am größten war (Abb. 4.24). Beim Glasgefäß kam es nach dem Eintauchen zu einer geringfügigen Abnahme der Partikelkonzentration (Abb. 4.24; Abb. 4.54A).



**Abb. 4.24: Änderung der Partikelkonzentration in Prozent nach Eintauchen verschiedener Testkörper infolge von Partikeladhärenz an den Testkörpern bzw. deren Verschmutzung.**

#### - Leermessungen

Bei den Leermessungen (Abb. 4.55A) wurde bei allen Gefäßen eine geringe Partikel-Ausgangskonzentration beobachtet. Nach dem Eintauchen der Gefäße blieben die Partikelkonzentrationen bei Polyolefine BR 735G-3187, beim Biozym-Gefäß und dem Eppendorf-Cup annähernd gleich, während sie bei Polyolefine EP 548S, dem Falcon®-Röhrchen und dem Glasgefäß geringfügig abnahmen (Abb. 4.55A).

Unter Berücksichtigung der Leermessung (Abb. 4.56A), wurden analoge Partikelkonzentrationen erzielt.

### 4.3.3 Pipettentestung

In einem weiteren Versuch sollten unterschiedliche handelsübliche Pipetten auf ihre Anhaftungsfähigkeit analysiert werden.

#### a) Partikelverlust ohne Ausspülen der Pipetten vor dem Pipettieren

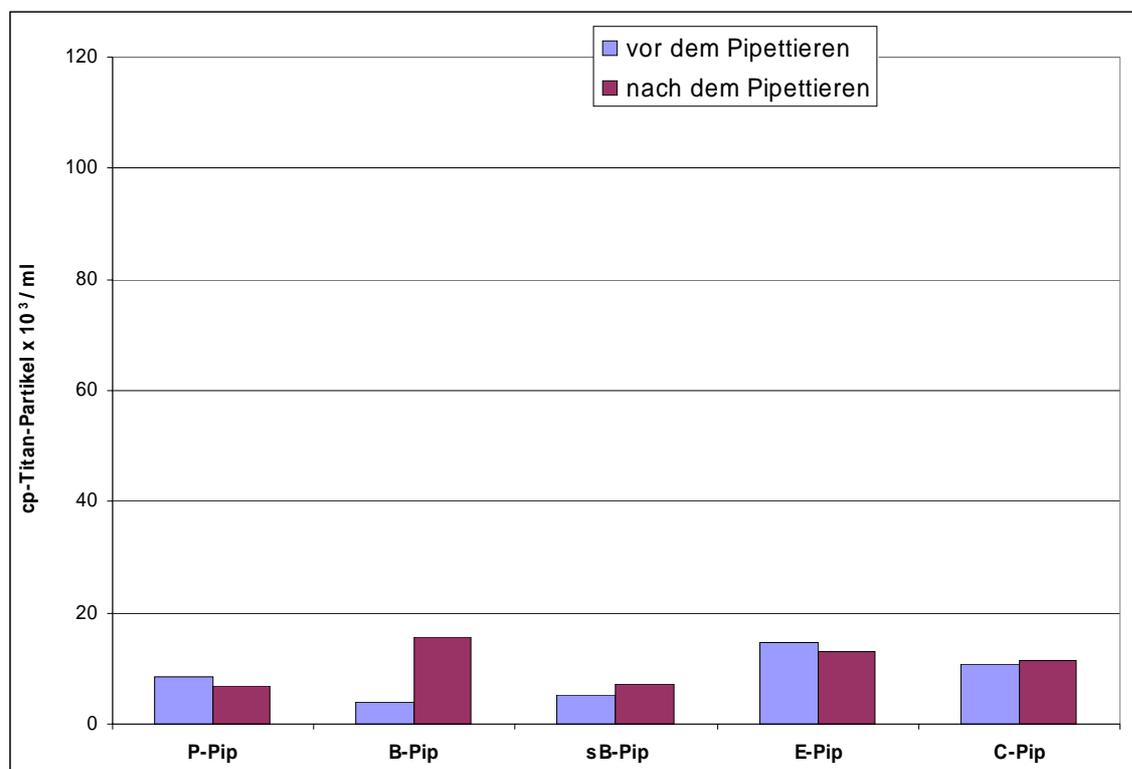
Bei der ersten Testung ohne vorheriges Ausspülen der Pipette wurde eine deutliche Streuung der Ausgangskonzentration der cp-Titan-Partikel im Glasgefäß bei gleicher Stammlösung beobachtet (Abb. 4.57A).

Nach zehnmalem Pipettieren ergab sich sowohl bei der Pasteurpipette als auch der silikonisierten Biozym-Pipette eine Erhöhung der Partikelkonzentrationen (Abb. 4.57A; Abb.

4.58A). Das Arbeiten mit der unbeschichteten Biozym-, der Eppendorf- und der Combitips plus-Pipette führte zu einer Abnahme der Partikelkonzentration. Diese war am größten bei der Eppendorf-Pipette, gefolgt von der Combitips plus- und der Biozym-Pipette (Abb. 4.57A; Abb. 4.58A).

#### - Leermessungen

Bei den Leermessungen (Abb. 4.25) wurden ebenfalls deutliche Schwankungen der Partikel-Ausgangskonzentration verzeichnet. Am geringsten waren diese bei der Biozym-Pipette, am höchsten bei der Eppendorf-Pipette. Nach dem Pipettieren ergab sich beim Arbeiten mit der Combitips plus-Pipette eine nahezu identische Konzentration. Eine geringe Abnahme trat sowohl bei der Pasteur- als auch der Eppendorf-Pipette auf. Eine geringfügige Konzentrationszunahme wurde für die silikonisierte Biozym-Pipette ermittelt, bei der unbeschichteten Biozym-Pipette war die Zunahme deutlicher.



**Abb. 4.25: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier ohne vorheriges Ausspülen der Pipetten. LEERMESSUNG ohne Titanpartikel.**

#### - Versuche mit Titanpartikeln unter Berücksichtigung der Leermessungen

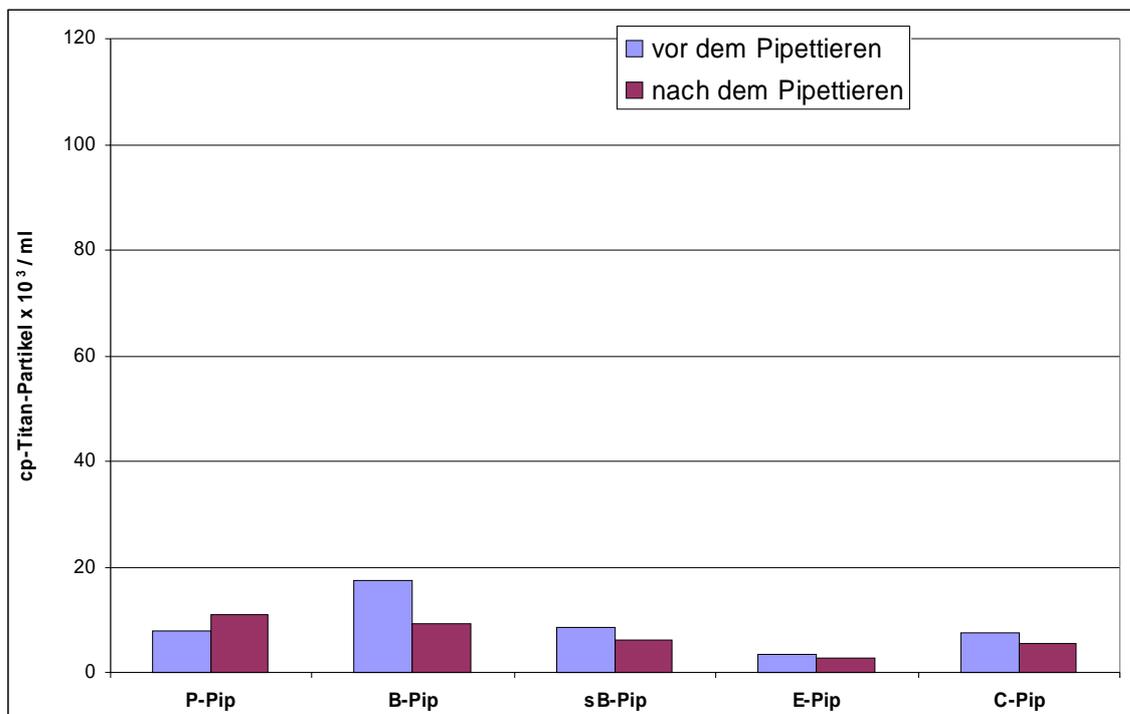
Unter Berücksichtigung der Leermessungen ergaben sich partiell Abweichungen zu o.g. Ergebnissen (Abb. 4.59A). Die Partikelkonzentrations-Zunahme war bei der Pasteurpipette nun deutlich höher als bei der silikonisierten Biozym-Pipette. Die Partikelkonzentrations-Abnahme bei der unbeschichteten Biozym-Pipette war (im Gegensatz zur Messung mit Titanpartikeln) nun am größten, gefolgt von der Eppendorf- und der Combitips plus-Pipette.

### b) Partikelverlust mit Ausspülen der Pipetten vor dem Pipettieren

Bei der Pipettentestung mit vorherigem Ausspülen der Pipette waren die Unterschiede in der Ausgangskonzentration noch deutlicher (Abb. 4.60A). Die Schwankungsbreite lag zwischen ca. 38.000 und ca. 85.000 Titanpartikeln/ml bei gleicher Stammlösung. Nach dem Pipettieren waren geringe Konzentrationszunahmen bei der unbeschichteten Biozym-, der Eppendorf- und der Combitips plus-Pipette zu verzeichnen. Aufgrund der geringeren Ausgangskonzentration bei der unbeschichteten Biozym- und v.a. der Eppendorf-Pipette fielen die Konzentrationszunahmen prozentual größer aus (Abb. 4.61A). Die Partikelkonzentration nahm sowohl bei der Pasteur- als auch der silikonisierten Biozym-Pipette ab, wobei diese Abnahme bei letzterer wegen der geringeren Partikel-Ausgangskonzentration deutlicher wurde (Abb. 4.61A).

### - Leermessungen

Bei den Leermessungen (Abb. 4.26) ergaben sich ebenfalls Schwankungen der Ausgangskonzentrationen. Dabei hatte die Ausgangslösung der unbeschichteten Biozympipette mit ca. 18.000 Titanpartikeln/ml den größten Wert, während der kleinste Wert ca. 2.000 Titanpartikel/ml betrug (Ausgangskonzentration bei der Eppendorf-Pipette). Durch das Pipettieren blieb die Konzentration bei der Eppendorf-Pipette annähernd gleich, während diese bei der Pasteurpipette leicht zunahm. Eine geringfügige Konzentrationsabnahme entstand sowohl bei der silikonisierten Biozym- als auch der Combitips plus-Pipette, die Abnahme der Konzentration bei der unbeschichteten Biozym-Pipette war etwas größer.



**Abb. 4.26: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier mit vorherigem Ausspülen der Pipetten mit Aqua dest. LEERMESSUNG ohne Titanpartikel.**

*- Versuche mit Titanpartikeln unter Berücksichtigung der Leermessungen*

Unter Berücksichtigung der Leermessung (Abb. 4.62A) war eine deutliche Konzentrationszunahme bei der unbeschichteten Biozym-Pipette zu verzeichnen, gefolgt von der Eppendorf- und Combitips plus-Pipette. Nach Differenzbildung ergab sich für die Pasteurpipette eine höhere Abnahme der Partikelkonzentration, während diese bei der silikonisierten Biozym-Pipette etwas geringer war.

*c) Combitips plus-Pipettentestung*

Bei der Testung der Combitips plus-Pipette konnten sowohl bei der Lösung ohne als auch bei der Lösung mit Titanpartikeln kaum Konzentrationsunterschiede zwischen vor und nach dem Pipettieren festgestellt werden (Tab. 4.4). Eine geringfügige Konzentrationszunahme war beim Pipettieren, nach Subtraktion der Leermessung zu verzeichnen (Tab. 4.4).

**Tab. 4.4: Combitips plus-Pipettentestung: Vergleich der Partikelkonzentration in der Messlösung ohne und mit Pipettieren.**

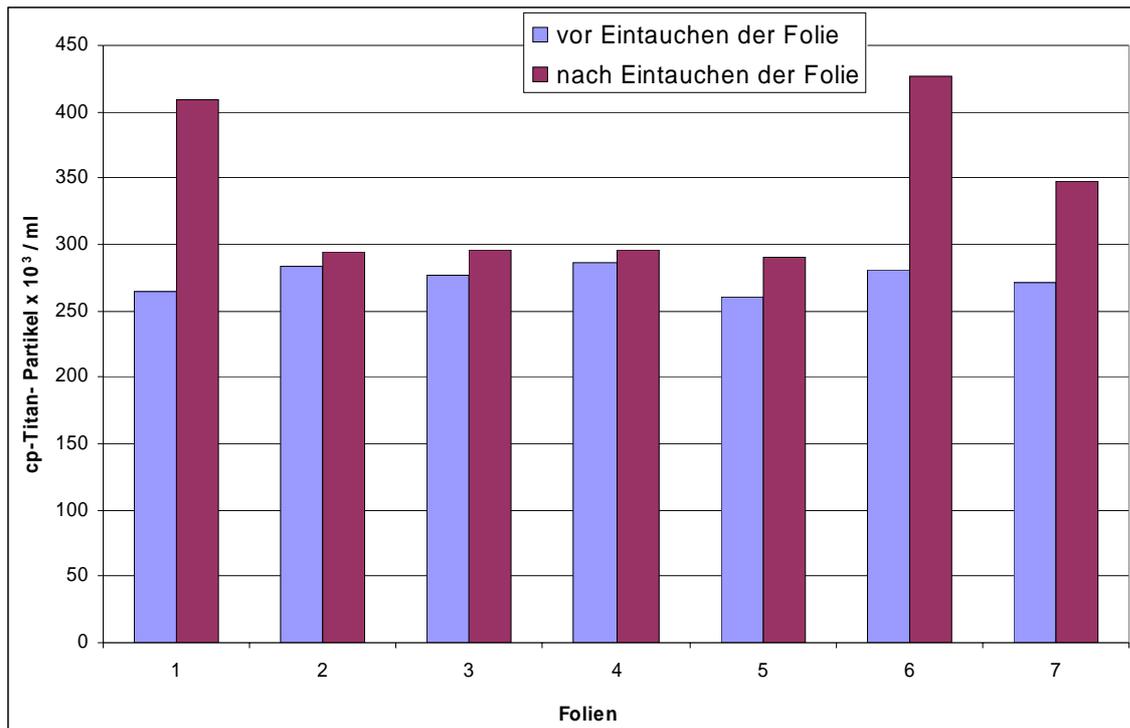
	Messung I ohne cp-Titan-Partikel (Leermessung)	Lösung II mit cp-Titan-Partikeln	Lösung III: Differenz aus Lösung II - I
ohne Pipettieren	$1,07 * 10^4$	$18,85 * 10^4$	$17,78 * 10^4$
mit Pipettieren	$1,18 * 10^4$	$20,51 * 10^4$	$19,33 * 10^4$

#### 4.4 Partikeladhärenz an Folien

Es wurden verschiedene Folien, die zur Abdichtung der Probenkammer im Partikelprüfstand herangezogen werden sollten, auf ihre Anhaftungsfähigkeit getestet.

*a) ungewaschene Folien*

Im Vorversuch mit ungewaschenen Folien war bei allen Folien eine Zunahme der Partikelkonzentrationen nach Eintauchen der Folie feststellbar. Besonders deutlich war die Zunahme bei der Siliconplatte 0,5 mm (Folie 1), bei Propafilm MTX (Folie 6) und bei Propafilm RHX (Folie 7) (Abb. 4.27).



**Abb. 4.27: Änderung der Partikelkonzentration nach Eintauchen verschiedener Folien infolge von Partikeladhärenz an den Folien bzw. deren Verschmutzung - hier ohne vorheriges Waschen der Folien. Folie 1: Siliconplatte 0,5 mm. Folie 2: Norflex Polyesterfolie 0,05 mm. Folie 3: Norflex Polyesterfolie 0,2 mm. Folie 4: Anti-Haftglasfolie beidseitig. Folie 5: PTFE Glasfaserfolie. Folie 6: Propafilm MTX. Folie 7: Propafilm RHX.**

#### *b) gewaschene Folien*

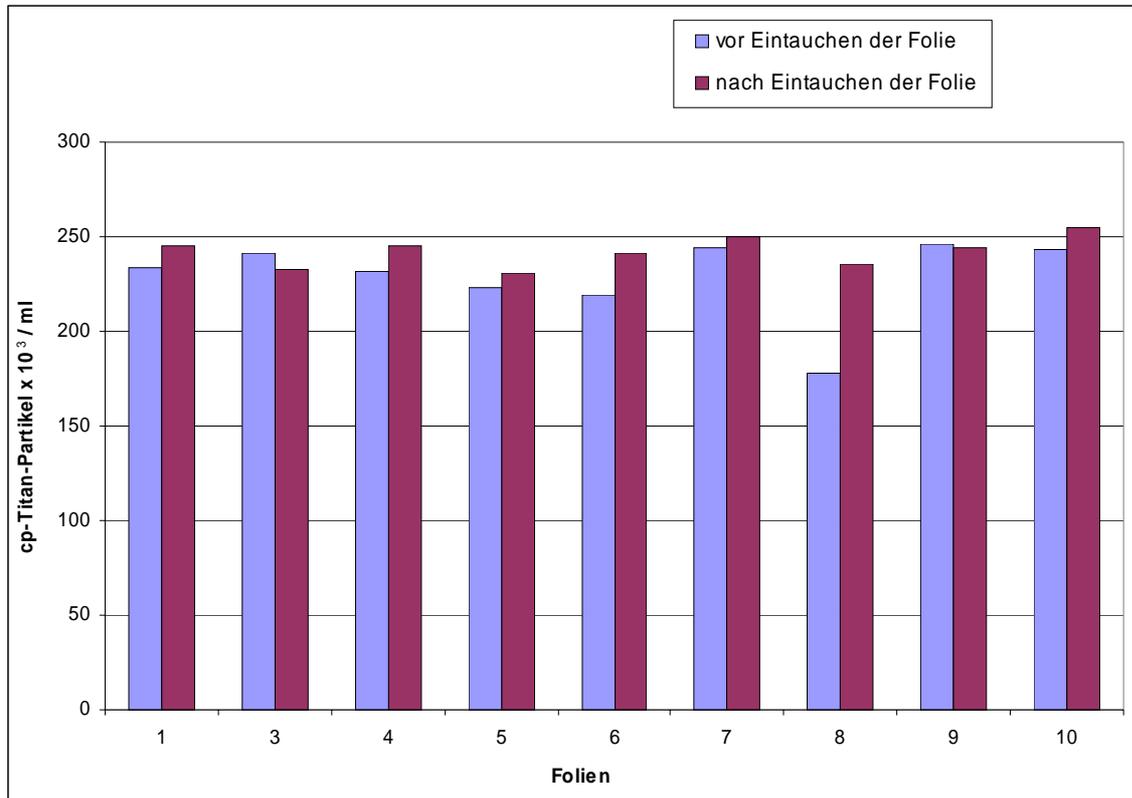
In einer zweiten Versuchsreihe wurde nach vorherigem Waschen der Folien bei nahezu allen Folien (Ausnahme Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Folie 3)) zwar eine Zunahme der Partikelkonzentration beobachtet (Abb. 4.63A), jedoch deutlich geringfügiger im Vergleich zum ungewaschenen Zustand (Abb. 4.27). Die Zunahme war am geringsten beim metallisierten Geschenkpapier (Folie 9), gefolgt von Propafilm RHX (Folie 7) und der PTFE Glasfaserfolie (Folie 5). Am größten war die Konzentrationszunahme bei der Anti-Haftglasfolie (Folie 8). Bei dieser war allerdings die Partikel-Ausgangskonzentration trotz gleicher Stammlösung im Gegensatz zu allen anderen Folien sehr gering. Dadurch war der prozentuale Konzentrations-Zuwachs bei dieser Folie sehr hoch (Abb. 4.64A). Nur bei der Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Folie 3) entstand nach dem Eintauchen eine sehr geringe Konzentrationsabnahme.

#### *- Leermessungen*

Bei den Leermessungen waren bei allen Folien geringe Konzentrationszunahmen zu verzeichnen. Bei annähernd gleichen Partikel-Ausgangskonzentrationen war diese Zunahme am größten bei der Anti-Haftglasfolie (Folie 8), am geringsten fiel sie bei Propafilm MTX (Folie 6) und der Anti-Haftglasfolie (Folie 4) aus (Abb. 4.65A).

- Versuche mit Titanpartikeln unter Berücksichtigung der Leermessungen

Unter Berücksichtigung der Leermessung (Abb. 4.28) nahm die Konzentration bei der Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Folie 3) und beim metallisierten Geschenkpapier (Folie 9) ab. Die geringste Konzentrationszunahme zeigte sich immer noch bei Propafilm RHX (Folie 7) und der PTFE Glasfaserfolie (Folie 5), die größte bei der Anti-Haftglasfolie (Folie 8).



**Abb. 4.28:** Änderung der Partikelkonzentration nach Eintauchen verschiedener Folien durch Partikeladhärenz an den Folien bzw. deren Verschmutzung - hier mit vorherigem Waschen der Folien und unter Berücksichtigung der Leermessungen. Folie 1: Siliconplatte 0,5 mm. Folie 3: Norflex Polyesterfolie 0,2 mm. Folie 4: Anti-Haftglasfolie beidseitig. Folie 5: PTFE Glasfaserfolie. Folie 6: Propafilm MTX. Folie 7: Propafilm RHX. Folie 8: Anti-Haftglasfolie beidseitig. Folie 9: Metallisierte Folie (Geschenkpapier). Folie 10: Folie zur Nahrungsmittelaufbewahrung (Chipstüte).

## 5. Diskussion

Titanwerkstoffe zeichnen sich durch exzellente Biokompatibilität, hohe Resistenz gegen Korrosion in einer physiologischen Umgebung und durch einen niedrigeren Elastizitätsmodul als Kobalt-Chrom-Legierungen oder Edelstahl aus ([86] S. 570).

Seit ca. 30 Jahren werden zementierte Endoprothesen aus Titan-Legierungen für den künstlichen Hüftgelenkersatz verwendet ([86] S. 570). Jedoch traten nach Einsatz zementierter Hüftendoprothesen häufiger Implantatlockerungen und ein Verlust des Knochengrundgerüsts vor allem bei jungen, aktiven Patienten auf ([39] S. 599; [55] S. 1823; [93] S. 148).

Bei der Explantation insbesondere zementierter Hüftendoprothesen aus Titan wurde in zahlreichen Fällen ein meist schwärzlich verfärbtes Granulationsgewebe beobachtet ([2] S. 350; [13] S. 321; [33] S. 93; [39] S. 604; [44] S. 825; [52] S. 159;).

Bis heute herrschen deshalb kontroverse Meinungen darüber, ob Endoprothesen-Stiele aus Titan überhaupt noch als zementierbare Hüftendoprothesen verwendet werden sollen. Grund dafür sind sehr unterschiedliche Lockerungsraten für zementierte Stiele auf Titan-Basis, die zwischen 0% und 46% liegen ([35] S. 83).

Zudem fordert das National Institute of Health (Ministerium für Gesundheit, London, GB) eine Überlebensrate von 95% nach 10 Jahren, um den klinischen Einsatz eines Endoprothesensystems weiterhin rechtfertigen zu können ([20] S. 919).

Laut Bowditch et al. sind die unterschiedlichen Berichte über die klinischen Ergebnisse von zementierten Titan-Stielen schwierig zu bewerten, da sehr viele verschiedene Endoprothesen-Designs zum Einsatz kamen ([18] S. 680). Der von Bowditch et al. nachuntersuchte zementierte Geradschaft (Ultima) aus Titan zeigte sehr gute Resultate mit einer Überlebensrate von 97% nach 7,5 Jahren ([18] S. 680). Auch Hinrichs et al. erreichten eine 10-Jahres-Überlebensrate von 95,4% bei dem von ihnen untersuchten feingestrahlteten Endoprothesen-Stiel aus einer TiAlV-Legierung ([45] S. 54). Bei anderen Stiel-Designs aus Titan hingegen wurden Ausfallwahrscheinlichkeiten (= Wahrscheinlichkeit, dass sich der Endoprothesen-Stiel nicht mehr im Körper des Patienten befindet) von 28% nach 3 Jahren ([59] S. 958) und Lockerungsraten von 26% nach 2 Jahren ([64] S. 604) bzw. 29,5% nach 6,6 Jahren ([86] S. 571) festgestellt.

Neben dem Stiel-Design sollen Oberflächenbeschaffenheit, Werkstoff, verwendeter Knochenzement ([12] S. 227), Zementmanteldicke, Zementiertechnik, Operationstechnik und Erfahrung des Operateurs entscheidenden Einfluss auf die Lebensdauer von zementierten Titan-Stielen haben ([1] S. 391; [18] S. 685; [21] S. 648; [49] S. 157; [51] S. 595; [74] S. 41; [95] S. 623; [99] S. 558;).

Laut Lichtinger et al. können z.B. gute Langzeitergebnisse durch Erzeugung einer abriebfesten und glatten Oberfläche erreicht werden ([59] S. 959), da der Metallabrieb an der Implantatoberfläche einen bedeutenden ätiologischen Faktor für das Versagen von zemen-

tierten Hüftendoprothesen-Stielen darstellt ([49] S. 158). Breusch et al. weisen auf bessere Resultate mit dickem Zementmantel hin. Bei dünnem Zementmantel kann es zu Zementbrüchen kommen, die mit Osteolysen und Granulombildungen assoziiert sein können ([21] S. 648). Zudem erhöht ein dünner Zementmantel die Belastungen an der Stielspitze und führt zu größeren Mikrobewegungen an der gesamten Grenzfläche Knochen-Zement ([76] S. 302). Eine Zementmanteldicke von 2 bis 3 mm sollte nicht unterschritten werden ([20] S. 919).

Aber auch Patienten-bezogene Faktoren, wie Geschlecht, Körpergewicht, Aktivität ([95] S. 623) und Qualität des femoralen Knochens ([99] S. 558) scheinen die Erfolgsrate entscheidend zu beeinflussen.

Da jedoch keine exakten Erkenntnisse über die o.g. Einflussfaktoren auf das Frühversagen einzelner zementierter Titan-Stiele vorliegen, werden heute fast ausschließlich Kobalt-Chrom-Basislegierungen und rostfreie Stähle in der Klinik eingesetzt. Für diese Stiele liegen bislang keine Hinweise für ein derartiges Frühversagen vor.

Von wissenschaftlichem und klinischem Interesse ist es, bestimmte Faktoren anhand entsprechender in vitro Untersuchungen evaluieren zu können. Dabei sollten u.a. Prinzipien für die Oberflächenbeschaffenheit von zementierten Hüftendoprothesen-Stielen auf Titan- sowie Kobalt-Chrom-Basis und für die Knochenzement-Zusammensetzung aufgestellt werden. Zudem sollte analysiert werden, ob Stiele aus Titan-Legierungen tatsächlich zu schlechteren Ergebnissen führen als Stiele aus Kobalt-Chrom-Legierungen.

Zu diesem Zweck wurde ein Prüfmodell entwickelt, mit dem zementierte Hüftendoprothesen-Stiele hinsichtlich des Abrasionsverhaltens in der Grenzfläche Implantat-Knochenzement vergleichend analysiert werden können.

Um den Zustand eines im Zementköcher reibenden Hüftendoprothesen-Stiels zu simulieren, wurde nach dessen Zementierung die Grenzfläche zwischen Implantat und Zement gezielt „gelockert“ ([7] S. 95, [12] S. 224), im Sinne eines ungünstigen Lastfalls bei bereits eingetretenem "Debonding" bzw. Spaltbildung im Zementköcher. Zur Auslösung von reproduzierbaren Abrasionsvorgängen in der Grenzfläche wurden definierte Relativbewegungen und Flächenpressungen eingebracht ([7] S. 95).

In der vorliegenden Arbeit wurde an zementierten, geometrisch identischen, anatomisch geformten Hüftendoprothesen-Stielen aus einer TiAl6Nb7- bzw. CoCr28Mo6-Legierung der Einfluss des Werkstoffs und der Oberflächentopographie auf das Abrasionsverhalten aufgezeigt. Die Stiele wurden zunächst nur unter trockenen Umgebungsbedingungen getestet. Zudem wurden verschiedene Knochenzemente hinsichtlich des Abrasionsver-

haltens im Interface bzw. in der Grenzfläche analysiert. Überwiegend wurden Testungen mit Polymethylmetacrylat-(PMMA)-Knochenzement mit  $ZrO_2$  (Palacos<sup>®</sup> R), welcher in Deutschland in der Klinik am häufigsten verwendet wird ([19] S. 103; [68] S. 5;), und Palacos R ohne  $ZrO_2$  durchgeführt.

Zusätzlich wurden PMMA-Knochenzemente mit  $BaSO_4$  (CMW 2000), sowie ein standardvisköser Knochenzement (Sulcem<sup>®</sup> 1) und ein niedrigvisköser Knochenzement (Sulcem<sup>®</sup> 3), beide mit  $ZrO_2$ , exemplarisch getestet.

Die wesentlichen Beschränkungen der Testung im Partikelprüfstand im Vergleich zu den in vivo eingesetzten Endoprothesen-Stielen waren die nur uni-axiale Beweglichkeit des Hüftendoprothesen-Stiels, und dass die Stiele bislang nur im trockenen Umgebungsmilieu getestet wurden.

## 5.1 Charakterisierung der Implantatoberfläche

### 5.1.1 Makroskopische Beurteilung von Endoprothese und Knochenzement

Nach identischer Reibbeanspruchung (zyklische Belastung über 3 Mio. Bewegungszyklen) wiesen die getesteten rauen TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stiele, die gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  gelaufen waren, makroskopisch geglättete, abrasiv veränderte Oberflächenareale auf. Wie in der Literatur beschrieben ([66] S. 1198), zeigten sich „schimmernde“ oder polierte Stellen an der Stieloberfläche. Diese waren vor allem in der Stielmitte ventro-lateral und dorso-medial zu sehen, wo der Abrieb auch in der Literatur am häufigsten beschrieben wird ([25] S. 319; [84] S. 161). Diese Abriebmuster werden auf Reibung des Endoprothesenstiels gegen Zement infolge eines Drehmoments ([25] S. 319) zurückgeführt. Am unteren Stieldrittel traten abrasive Veränderungen nur dorsalseitig auf. Bei den rauen Kobalt-Chrom-Stielen, die exemplarisch gegen Knochenzemente Sulcem<sup>®</sup> 1 und Sulcem<sup>®</sup> 3 (beide beinhalten  $ZrO_2$ ) gelaufen waren, konnten abrasive Veränderungen ähnlich zu oben genannten festgestellt werden. Diese Beobachtungen stimmen mit den Aussagen von Li et al. überein, nach denen in vivo matte Prothesenoberflächen glatt poliert werden ([58]).

An den beanspruchten glatten Stielen wurden jeweils nur minimale (makroskopisch) sichtbare Oberflächenschädigungen beobachtet. Ein „Poliereffekt“ durch Reibung konnte nicht nachgewiesen werden.

Oben aufgeführte Beobachtungen könnten auf die Richtigkeit der Aussagen in der Literatur hinweisen, dass zementierte raue Stiele nach Lockerung (sog. „Debonding“ ([18] S. 685; [31] S. 45; [73] S. 221, [105]) zu schlechteren klinischen Ergebnissen (höhere Versagensraten) führen als geometrisch identische glatte Stiele, und zwar auf der Mehrproduktion von Abriebpartikeln und Belastungserhöhung im Zementköcher mit nachfolgender Entstehung von Zementbrüchen ([28] S. 66; [98] S. 1778;).

Die Stiele (sowohl aus TiAl6Nb7 als auch aus CoCr28Mo6), die sowohl gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> als auch gegen Knochenzement CMW 2000 (mit BaSO<sub>4</sub>) getestet wurden, zeigten keine makroskopische Schädigung bzw. Veränderung der Oberfläche.

Diese Beobachtungen bestätigen die Aussage von Morscher et al., dass Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> (Palacos<sup>®</sup> R) einen vergleichsweise hohen polierenden Effekt auf raue Stiele besitzt ([68] S. 8).

Bei makroskopischer Betrachtung der Zementköcher konnte man im Fall von ZrO<sub>2</sub>-haltigem Knochenzement sowohl bei rauen als auch glatten TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen dunkel verfärbte Bereiche an der beanspruchten Zementköcher-Oberfläche feststellen. Diese sind vermutlich auf Metallabrieb zurückzuführen. Diese Bereiche fanden sich analog zu Arealen mit makroskopischen Veränderungen an der Stieloberfläche, d.h. von der Stieloberfläche abradierete Metallpartikel sind partiell am Knochenzement angehaftet. Da bei den glatten Stielen makroskopisch keine merklichen abrasiven Veränderungen der Stieloberfläche zu sehen waren, stellen die dunklen Verfärbungen des Zementköchers einen Beleg dafür dar, dass mikroskopische Schädigungsmechanismen stattgefunden haben. Dies trifft auch für raue Stiele beider Legierungen zu, die gegen die alternativen Knochenzemente getestet wurden. Hierbei waren trotz makroskopisch unauffälliger Implantatoberfläche dunkel bis schwärzlich verfärbte Areale am Köcher eines CMW 2000-Zements sichtbar, wie auch an den Zementköchern aus Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 und Sulcem<sup>®</sup> 3.

### 5.1.2 Oberflächenrauheit

Wie in der Literatur beschrieben ([66] S. 1198), wurden nach Ablauf der Testung an den beanspruchten Stiel-Arealen Rauheitsmessungen durchgeführt. Dabei ergab sich für alle Stiele (glatt/rau bzw. TiAl6Nb7/CoCr28Mo6), die gegen Knochenzement Palacos<sup>®</sup> R mit ZrO<sub>2</sub> gelaufen waren, eine leichte Abnahme der Oberflächenrauheit im Vergleich zum Ausgangszustand. Die höchsten Rauheitsunterschiede wurden an makroskopisch sichtbaren polierten Stellen registriert. In der Literatur ist analog eine Rauheitsabnahme der Stieloberfläche in vivo beschrieben, die bei Palacos<sup>®</sup> R mit ZrO<sub>2</sub> am größten ausfiel ([68] S. 9).

Die Rauheitsdifferenz bei den glatten Stielen, an denen makroskopisch keine Veränderungen an der Stieloberfläche zu sehen waren, wies auf das Vorliegen eines mikroskopischen Verschleißmechanismus hin. Die unveränderten Rauheitswerte (vor und nach der Testung) bei Stielen, die gegen ZrO<sub>2</sub>-freien und BaSO<sub>4</sub>-haltigen Knochenzement gelaufen waren, stimmen mit der makroskopischen Analyse überein.

Nach Testung eines rauen CoCr28Mo6-Stiels, der gegen den niedrigviskösen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 3 gelaufen war, trat eine Abnahme der Rauheitswerte auf. Beim identischen Stiel, der gegen den standardviskösen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 getestet wurde, konnten keine Rauheitsveränderungen festgestellt werden. Es wurde jedoch nur jeweils ein Stiel getestet, so dass die gefundenen Rauheitsunterschiede (Sulcem<sup>®</sup> 1 vs. Sulcem<sup>®</sup> 3) statistisch nicht belegt sind. Andererseits kann dies darauf hindeuten, dass niedrigvisköse Zemente zu erhöhtem abrasiven Verschleiß führen, und sich somit schlechtere klinische Resultate ergeben ([20] S. 920; [68] S. 6).

### 5.1.3 Rasterelektronenmikroskopie (REM)

In rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen fanden sich werkstoff- und rauheitsunabhängig bei allen Endoprothesen-Stielen eingeebnete Bereiche und abrasive Verschleißspuren. Die ausgeprägten abrasiven Veränderungen, v.a. an den rauen Stielen, mit Riefen in einer Breite zwischen einigen 100 nm und 3 µm deuten auf einen Dreikörperverschleiß („third-body-wear“ ([58]) hin. Dieser entsteht, wenn Zementpartikel zwischen Stiel und Knochenzement gelangen ([46] S. 391). Insbesondere aus dem Zementköcher heraus gebrochene, teilweise agglomerierte ZrO<sub>2</sub>-Partikel, die als Röntgenkontrastmittel fungieren, können für den abrasiven Verschleiß an der Stieloberfläche durch Relativbewegungen von Implantat und Knochenzement verantwortlich sein ([9] S. 26; [107]). Die ZrO<sub>2</sub>-Partikel werden wegen deren Härte und geringen Abmessungen (ca. 0,5 µm) auch als Schleifpaste angesehen ([58]). Gleichzeitig können abradierte Metallpartikel zum Dreikörperverschleiß beitragen ([89] S. 66), d.h. die Anwesenheit von ZrO<sub>2</sub>-Partikeln ist nicht alleinige Voraussetzung für die Entstehung eines Dreikörperverschleißes. Diese Aussage konnte in dieser Arbeit bestätigt werden, da bei Versuchen mit ZrO<sub>2</sub>-freiem Knochenzement abrasive Veränderungen mikroskopisch an der Implantatoberfläche nachgewiesen werden konnten.

Caravia et al. haben im Rahmen von In-vitro-Untersuchungen gezeigt, dass mit PMMA-Knochenzement, dem ZrO<sub>2</sub>-Partikel beigefügt wurden, signifikant größere Oberflächenschäden generiert wurden als mit den anderen getesteten Zementen ([26] S. 70). Die REM-Analyse der im Partikelprüfstand getesteten Stiele zeigt an der Oberfläche Riefenbreiten im nm-Bereich bei Verwendung von Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>, während die Riefen im Fall von ZrO<sub>2</sub>-haltigem Knochenzement Breiten von 1 µm bis 3 µm aufweisen. Dies ist dadurch begründet, dass der Dreikörperverschleiß im Fall von ZrO<sub>2</sub>-freiem Knochenzement vermutlich durch Metallpartikel verursacht wurde, die sehr klein sind und im sub-µm-Bereich liegen ([84] S. 170). Zusätzlich kann der Dreikörperverschleiß auch durch von der Stieloberfläche nicht entfernte Strahlpartikel (z.B. Korund) entstanden sein ([29] S. 308; [87]; [89] S.

66), wofür der Nachweis von solchen Partikeln an der Oberfläche des glatten CoCr28Mo6-Stiels spricht, der gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> getestet wurde.

Bei den rauen Endoprothesen-Stielen waren großflächige Areale mit abrasiven Veränderungen (Abtragung der Rauheitsspitzen, Einebnung der Oberfläche, Riefen) zu verzeichnen. Dagegen war der abrasive Verschleiß an den glatten Endoprothesen-Stielen weniger ausgeprägt, was auf die Erhöhung der Abriebbeständigkeit einer feiner strukturierten Stieloberfläche zurückzuführen ist.

Das Auftreten von mikroskopischen Veränderungen an der Implantatoberfläche von glatten Stielen ist jedoch ein Beleg für das Auftreten von Schädigungs- bzw. Verschleißmechanismen trotz makroskopisch intakter Oberfläche.

Da kein Unterschied im abrasiven Verschleißmuster zwischen TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen zu verzeichnen war, konnten Aussagen in der Literatur, wonach Titan-Legierungen anfälliger für Abrasion sind als Kobalt-Chrom-Legierungen ([2] S. 347; [13] S. 320), nicht bestätigt werden. Vielmehr muss die Beobachtung von Wimmer et al. bekräftigt werden, dass Legierungen aus Titan nicht generell mehr Abrieb erzeugen als solche aus Kobalt-Chrom ([104]), wenn sie gegen Knochenzement gerieben werden.

Die Lokalisation der mikroskopischen Veränderungen an der Oberfläche der Zementköcher korrespondierten mit denen an der Stieloberfläche, d.h. die porenartigen Vertiefungen und Schleifspuren verliefen in Richtung der Relativbewegungen im Interface zwischen Endoprothesen-Stiel und Knochenzement. Diese Bewegungen wurden im Partikelprüfstand unidirektional eingeleitet. Aufgrund der konischen Form der Stiele resultiert an der Grenzfläche zum Zementköcher eine vornehmlich vertikale Relativbewegung, überlagert von Bewegungen in horizontaler Richtung. Li et al. konnten feststellen, dass die Prothese im Zementköcher in vivo multidirektional bewegt wird ([58]). Die porenartigen Vertiefungen im Zement wiesen darauf hin, dass neben der Endoprothese auch der Knochenzement abgerieben wurde. Bestätigt wurde dies durch den Nachweis von Zementpartikeln auf der Oberfläche eines beanspruchten, glatt gestrahlten TiAl6Nb7-Stiels (vgl. 4.1.3).

## **5.2 Charakterisierung der Grenzflächenprodukte**

### **5.2.1 Quantitative und qualitative Analyse der nativen Grenzflächenprodukte**

#### **5.2.1.1 Gravimetrische Bestimmung der Abriebmenge sowie Quantifizierung der Metallkonzentration und des Gesamtmetallabriebs mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)**

##### *a) Gravimetrische Bestimmung der Abriebmenge der nativen Grenzflächenprodukte*

Hinsichtlich des Materialabtrags war unter trockenen Umgebungsbedingungen bei den rauen TiAl6Nb7- bzw. CoCr28Mo6-Stielen, die gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> gelaufen waren,

eine bis zu dreifach gesteigerte Abriebmenge (Knochenzement und Metallpartikel) zu verzeichnen im Vergleich zu analog beanspruchten, geometrisch identischen, glatt gestrahlten Stielen.

Dies verdeutlicht, dass das Abrasionsverhalten in der Grenzfläche Implantat-Knochenzement maßgeblich von der Oberflächentopographie des Stiels beeinflusst wird ([8] S. 206; [9] S. 26; [10] S. 18, [11] S. 86). Dies stimmt mit Beobachtungen von Wirz et al. überein, wonach eine Zunahme der Rauheit der Stieloberfläche die abrasiven Prozesse am Knochenzement beschleunigt ([107]).

In zahlreichen Studien konnten ebenfalls die Vorteile von glatt polierten gegenüber rau gestrahlten zementierten Hüftendoprothesen-Stielen belegt werden ([18] S. 685; [30] S. 589; [66] S. 1200). Beispielsweise betrug bei Collis et al. die Überlebenswahrscheinlichkeit nach sieben Jahren bei rauen Stielen 91,6%, dagegen bei polierten Stielen 100% ([30] S. 589). Im Gegensatz dazu wurde an anderer Stelle nach 5 Jahren Implantationsdauer keine statistische Differenz in den klinischen Ergebnissen zwischen rauen und glatt gestrahlten Stielen genannt ([68] S. 4). Als mögliche Erklärung der identischen kurzfristigen Ergebnisse können Aussagen von Acklin et al. ([1] S. 397) herangezogen werden, nach denen die initiale mechanische Stabilität zwischen Endoprothesen-Stiel und Knochenzement bei rauer Oberfläche größer ist. Sobald der enge Verbund zwischen Stiel und Knochenzement jedoch verloren geht ("Debonding"), produzieren Endoprothesen mit rauer Oberfläche mehr Partikel als solche mit glatt polierter Oberfläche ([1] S. 397; [28] S. 66). Dieser Verbund besteht bis zu einer mittleren (bis zu 7 Jahren) ([50] S. 1447) Implantationsdauer, kann jedoch nach längerer Standzeit verloren gehen ([18] S.685), was zu schlechteren Langzeitresultaten führt ([50] S. 1447). Ein mögliches Langzeitversagen von zementierten Hüftendoprothesen mit der Folge einer Revision muss beobachtet werden ([69] S. 30).

Bei den rauen CoCr28Mo6-Stielen, die gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> getestet wurden, zeigte sich wiederum eine höhere mittlere Abriebmenge als bei geometrisch identischen, analog beanspruchten, glatt gestrahlten Stielen. Es ergaben sich jedoch für die beiden getesteten rauen CoCr28Mo6-Stiele, ebenso wie für die rauen TiAl6Nb7-Stiele, erhebliche Schwankungen in den Abriebmengen. Dabei beeinflussen die wiederholten Strahlprozesse zur Herstellung der gewünschten Rauheit v.a. die Mikrotopographie und unter Umständen die Eigenspannungen an der Implantatoberfläche. Dadurch stellt sich bei erneutem Strahlen des Stiels aus dem Ausgangszustand eine erhöhte Verschleißbeständigkeit im Interface ein, d.h. es resultiert ein reduzierter Metall- und Zementabrieb.

Durch mehrfach wiederholte Strahlprozesse werden an der Oberfläche des Endoprothesen-Stiels jedoch erhebliche Mengen an hartem und scharfkantigem Strahlgut (Glas, Korund und andere Verunreinigungen) abgelagert ([29] S. 308). Aus diesem Grund wurde bei unverändertem R<sub>z</sub>-Wert eine erniedrigte Verschleißbeständigkeit des Knochenzementes im Interface

Stiel-Knochenzement beobachtet. Die Kontamination der Stieloberfläche mit Strahlgut bei wiederholtem Kugelstrahlen führte zu einer zusätzlichen Erhöhung der Abriebmenge. Insbesondere bei Verwendung des  $ZrO_2$ -freien Knochenzements hatte dies Auswirkungen auf die Menge des generierten Abriebpulvers. Bei Abwesenheit von  $ZrO_2$ -Partikeln, die dem Knochenzement über eine Partikelverstärkung der PMMA-Matrix eine erhöhte mechanische Abriebfestigkeit verleihen ([9] S. 27), waren generell höhere Abriebmengen zu verzeichnen.

Beim Vergleich der Knochenzemente (Palacos<sup>®</sup> R mit  $ZrO_2$  vs. Palacos R ohne  $ZrO_2$ ) waren beim Knochenzement ohne  $ZrO_2$  generell höhere Abriebmengen zu verzeichnen als bei Stielen mit identischer Rauheit und gleichem Werkstoff, die gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  getestet wurden. Diese Beobachtungen implizieren, dass der auf Grund der vorhandenen harten Röntgenkontrastmittel-Kristalle ( $ZrO_2$ ) ([107]) mechanisch stabilere Knochenzement abriebbeständiger ist, dieser aber durch die hohe abrasive Eigenschaft der  $ZrO_2$ -Partikel ([22] S. 42) mehr Metall von der Endoprothesen-Oberfläche freisetzen kann. Im Gegensatz dazu wird laut Ergebnissen der Atomabsorptionsspektrometrie (vgl. 4.2.1.1 und 4.2.1.3) bei Verwendung von  $ZrO_2$ -freiem Knochenzement hauptsächlich der Zement abgerieben. Es wurden hohe Mengen an Abriebpulver freigesetzt, welche jedoch nur einen geringen Anteil metallischer Partikel aufwiesen.

Bei Verwendung der "alternativen" Knochenzemente (CMW 2000, Sulcem<sup>®</sup> 1 und 3) verursachten die rauen Stiele beider Legierungen sowohl gegen Knochenzement CMW 2000 (mit  $BaSO_4$ ) als auch gegen Sulcem<sup>®</sup> 1 und Sulcem<sup>®</sup> 3 sehr hohe Abriebmengen. Der Abrieb bei glatten CoCr28Mo6-Stielen gegen CMW 2000 fiel dagegen sehr gering aus.

Analog zu Palacos<sup>®</sup> R-Knochenzement war mit den rauen Stielen mehr Abrieb sowohl von der Implantatoberfläche als auch des Knochenzements zu verzeichnen. Mit dem rauen CoCr28Mo6-Stiel wurde deutlich mehr Abrieb generiert als mit dem geometrisch identischen, gleich beanspruchten rauen TiAl6Nb7-Stiel. Jedoch wurde jeweils nur ein Stiel getestet, so dass die gefundenen Unterschiede in der Abriebmenge statistisch nicht belegt sind.

Die äußerst hohe ermittelte Abriebmenge bei Verwendung des niedrigviskösen Knochenzements Sulcem<sup>®</sup> 3 im Vergleich zum standardviskösen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 und auch zu den übrigen Zementen könnte ein Hinweis auf das Erzielen schlechterer klinischer Ergebnisse mit niedrigviskösen Zementen sein ([20] S. 920; [22] S. 45; [68] S. 6). Dies muss durch Testung weiterer Stiele gegen diese Knochenzemente noch überprüft werden.

In Abweichung zu Angaben in der Literatur ([16] S. 713) hatte der Endoprothesen-Werkstoff im vorgestellten Prüfmodell eine geringere Bedeutung in Bezug auf die Abriebgenerierung ([9] S. 26). Es konnten keine deutlichen Unterschiede zwischen TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-

Stielen festgestellt werden, tendenziell wurde mit den CoCr28Mo6-Stielen mehr Abrieb erzeugt. Im klinischen Einsatz muss jedoch die geringere Steifigkeit von Titan-Stielen im Vergleich zu Kobalt-Chrom-Stielen identischen Designs ([38] S. 584; [76] S. 301; [102] S. 69) beachtet werden. Diese kann zu höheren Mikrobewegungen im Interface Stiel-Knochenzement und zu erhöhten Belastungen im Zementmantel führen ([51] S. 596; [66] S. 1200; [86] S. 574), wodurch das Abrasionsverhalten insbesondere rauher zementierter Titan-Stiele beeinflusst wird ([1] S. 397; [98] S. 1778).

Entstehende Abriebpartikel aus der Grenzfläche können durch Makrophagenaktivierung zur Freisetzung von Cytokinen führen ([4] S. 309; [44] S. 826; [83] S. 814), die osteolytische Reaktionen im periprothetischen Gewebe auslösen können ([4] S. 309; [44] S. 825; [89] S. 66).

Beim Knochenzement CMW 2000 (mit BaSO<sub>4</sub>) hängt die Abriebmenge, basierend auf bisherigen, vorläufigen Ergebnissen, entscheidend von der Oberflächenrauheit der Endoprothese ab. Der raue CoCr28Mo6-Stiel produzierte sehr viel mehr Abrieb als der baugleiche, glatt gestrahlte Stiel. Diese Beobachtung muss durch weitere Testungen verifiziert werden. Durch das Fehlen harter ZrO<sub>2</sub>-Partikel besteht beim Knochenzement CMW 2000 (analog zum Knochenzement Palacos R ohne ZrO<sub>2</sub>) der überwiegende Anteil der Abriebpulvermenge aus Zementpartikeln.

Bei den Knochenzementen Sulcem<sup>®</sup> 1 und Sulcem<sup>®</sup> 3 wäre aufgrund der Anwesenheit von ZrO<sub>2</sub>-Partikeln im Zement eine geringere Abriebmenge, dafür aber einen höheren Anteil an Metall im Abrieb plausibel. Es findet sich jedoch ein hoher Gesamtabrieb (max. 1000 mg vs. max. 932 mg bei Knochenzement Palacos R ohne ZrO<sub>2</sub>) und infolge dessen ein hoher Gehalt an Metallpartikeln.

Aufgrund der Ergebnisse mit zementierten Hüftendoprothesen-Stielen aus Titan-Legierungen stellt sich die Frage nach Möglichkeiten zur Verbesserung deren Standzeiten.

Lichtinger et al. beschreiben, dass durch Erzeugung einer abriebfesten und glatten Oberfläche gute Langzeitergebnisse bei Titan-Prothesen in Kombination mit Knochenzement erzielt werden ([59] S. 959). Die Autoren raten von der Verwendung eines Titan-Stiels ohne vorbehandelte Oberfläche in Kombination mit Knochenzement ab ([59] S. 960).

Zudem postulieren Eingartner et al. bei rauen Titan-Stielen die Zerstörung der weichen TiO<sub>2</sub>-Schicht ([36] S. 809) durch Mikrobewegungen.

Aus diesem Grund wurden in dieser Arbeit exemplarisch verschiedene beschichtete Stiele getestet, d.h. ein TiO<sub>2</sub>-beschichteter glatter CoCr28Mo6-Stiel und ein mit Kohlenstoff beschichteter glatter TiAl6Nb7-Stiel waren jeweils gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> gelaufen. Mit beiden Stielen entstanden sehr geringe Mengen an Abriebpulver, welche geringer als bei

jedem anderen getesteten Endoprothesen-Stiel, der gegen ZrO<sub>2</sub>-haltigen Knochenzement gerieben wurde, waren.

b) *Quantifizierung der Metallkonzentration und des Gesamtmetallabriebs mittels Atomabsorptionsspektrometrie (AAS)*

Hinsichtlich der Metallkonzentration im nativen Abriebpulver fand sich bei rauen TiAl6Nb7-Stielen, die sowohl gegen Knochenzement mit als auch gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> gelaufen waren, deutlich höhere Metallkonzentrationen als bei identisch beanspruchten glatt gestrahlten Stielen. Die Berücksichtigung der erhöhten Abriebmengen bei rauen im Gegensatz zu glatten TiAl6Nb7-Stielen ergab einen deutlich höheren Titan-Gesamtabrieb. Der erhöhte Metallgehalt bei rauen Stielen bestätigt Aussagen in der Literatur, wonach bei rauer Oberfläche mehr Abrieb entsteht ([105]) und selbst bei minimalen Mikrobewegungen eine kontinuierliche Zerstörung der TiO<sub>2</sub>-Schicht des Endoprothesen-Stiels stattfindet, und es so zu einem beschleunigten Abrieb der Titan-Oberfläche kommt ([35] S. 83; [36] S. 809).

Bei CoCr28Mo6-Stielen konnten keine Unterschiede in der Metallkonzentration im Abriebpulver zwischen rauen und glatten Stielen, die gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> gelaufen waren, festgestellt werden. Bei Verwendung von ZrO<sub>2</sub>-freiem Zement war die Metallkonzentration bei glatten CoCr28Mo6-Stielen höher als bei identischen rauen Stielen. Unter Berücksichtigung der erhöhten Abriebmenge der rauen im Vergleich zu den glatten Stielen, ergab sich für raue CoCr28Mo6-Stiele jedoch jeweils ein deutlich höherer Kobalt-Gesamtabrieb.

Aussagen, wonach raue Oberflächen den Knochenzement (PMMA) stärker abradieren ([67] S. 1321), und damit insgesamt mehr Abrieb erzeugen, was zu höheren Versagensraten von rauen im Vergleich zu glatten Stielen führt ([64] S. 606/607; [66] S. 1200), können für CoCr28Mo6-Stiele durch die vorgestellte Arbeit belegt werden.

Beim Vergleich sowohl der Metallkonzentrationen als auch des Gesamtmetallabriebs beider Legierungen bei Verwendung von Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> mit denen bei Verwendung von ZrO<sub>2</sub>-freiem Knochenzement, ergaben sich jeweils deutlich höhere Werte bei ZrO<sub>2</sub>-haltigem Zement, unabhängig von der Oberflächenrauheit. Die Aussage in der Literatur, dass der Zement keinen Einfluss auf das Risiko für das Versagen eines Endoprothesen-Stiels habe ([65] S. 79), ist deshalb in Frage zu stellen. Zudem konnten Aussagen, wonach ZrO<sub>2</sub> keine maßgebliche Rolle beim Prozess der Abriebgenerierung spiele ([68] S. 9) und Palacos® R zur geringsten Abnahme des Metallgewichtes der Endoprothese führe ([68] S. 9), nicht bestätigt werden.

Dagegen konnte die hohe abrasive Eigenschaft von  $ZrO_2$  ([22] S. 42) und die Beteiligung der harten Röntgenkontrastmittel-Kristalle an der Erzeugung von Abriebpartikeln (in diesem Fall Metallpartikeln) ([102] S. 70; [107]) bestätigt werden.

Bei rauen TiAl6Nb7-Stielen, die gegen Knochenzement ohne  $ZrO_2$  gelaufen waren, zeigte sich ein hoher Titan-Gesamtabrieb, im Gegensatz zu den übrigen Versuchen mit Titan-Stielen. Dieser außergewöhnlich hohe Abrieb ist, wie in Abschnitt 5.2.1.1a) dargestellt, vermutlich auf Veränderungen der Implantatoberfläche durch wiederholte Strahlprozesse zurückzuführen.

Bezüglich der unterschiedlichen Implantatwerkstoffe konnten bei CoCr28Mo6-Stielen, die gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  gelaufen waren, in der Regel sowohl eine höhere Metallkonzentration als auch ein höherer Gesamtmetall-Gehalt im Abriebpulver im Vergleich zu TiAl6Nb7-Stielen nachgewiesen werden. Aussagen, wonach Titan-Legierungen im Gegensatz zu Kobalt-Chrom-Legierungen empfindlicher gegenüber Abriebprozessen sind ([2] S. 347; [13] S. 320; [76] S. 298) und deswegen bei Titan-Stielen mehr Metallabrieb entsteht als bei Stielen aus Kobalt-Chrom-Legierungen ([16] S. 713; [32] S. 210), konnten bei Verwendung von  $ZrO_2$ -haltigem Knochenzement nicht bestätigt werden. In der Literatur werden hundertmal größere Metall-Gewebespiegel bei versagten Stielen aus Titan im Vergleich zu solchen aus Kobalt-Chrom ([39] S. 606) genannt. Brien et al. fanden ebenfalls bei gelockerten zementierten Stielen aus einer Titanlegierung höhere Metallspiegel in der Synovialflüssigkeit und im angrenzenden Gewebe als bei Implantaten aus Kobalt-Chrom oder Edelstahl ([23] S. 67). Auf Grund der in dieser Arbeit gefundenen Ergebnisse, konnte dies nicht bestätigt werden. Es muss jedoch beachtet werden, dass bislang nur Testungen im trockenen Umgebungsmilieu durchgeführt wurden.

Laut Literatur ist die Generierung von Metallabrieb bei Titan-Legierungen stärker als bei CoCr-Legierungen ([84] S. 160), und lockere Titan-Stiele werden mehr abradert als CoCr-Stiele ([84] S. 170).

Die in der Literatur beschriebene geringe Resistenz von Titan-Legierungen gegen Abrasion ([85] S. 118; [92] S. 513) konnte nicht bestätigt werden. Hingegen scheinen die harten  $ZrO_2$ -Partikel abrasive Schädigungen an der Implantatoberfläche unabhängig der Legierung zu verursachen.

Bei der Frage, welche Legierung schädigender für das Gewebe ist, muss berücksichtigt werden, dass Titan und seine Legierungen wesentlich weniger toxisch als Kobalt-Chrom auf die Zellen wirken ([44] S. 826; [70] S. 161). Bei Exposition von Zellen mit Partikeln aus Kobalt-Chrom können diese wegen der hohen Toxizität der Partikel absterben und deshalb keine Knochenresorption-auslösenden Faktoren exprimieren. Partikel aus Titan-Legierungen hingegen führen zu einer großen Abgabe von inflammatorischen Mediatoren ([44] S. 830;

[70] S. 161). Titan-Partikel reduzieren die Zellproliferation ([32] S. 207), was auch knochenbildende Zellen betrifft und so zur Inhibierung der Knochenbildung beiträgt ([41] S. 342).

Neben Metallpartikeln werden jedoch auch PMMA-Partikel in der Grenzfläche Endoprothesenstielen-Knochenzement freigesetzt. Diese wurden sowohl im fibrösen Gewebe um versagte Hüftendoprothesen als auch in Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen gefunden ([39] S. 603). Sie können zur Pathogenese und Progression von Osteolyse und Lockerung der Endoprothese beitragen ([23] S. 66; [49] S. 157).

Bei den alternativen Knochenzementen ergaben sich bei allen Stielen, die gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub> gelaufen waren, Metallkonzentrationen und Gesamtmetall-Gehalte, die denen bei Verwendung von Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> vergleichbar waren. Diese Ergebnisse würden implizieren, dass Knochenzement mit BaSO<sub>4</sub> zu geringeren Osteolyse- und Lockerungsraten führt als Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Allerdings muss der höhere Gesamtabrieb (PMMA, BaSO<sub>4</sub> und Metall) berücksichtigt werden. In der Literatur wurden höhere Lockerungsraten mit CMW-Zement im Vergleich zu Palacos beschrieben ([64] S. 608). Durch Untersuchungen an Zellkulturen und durch Tierexperimente wurde herausgefunden, dass beim Einsatz von BaSO<sub>4</sub> deutlich höhere osteolytische Veränderungen im Vergleich zum röntgenopakeren ZrO<sub>2</sub> entstanden ([22] S. 42). Ebenfalls wurde eine Erhöhung der Osteoklastenbildung und Knochenresorption nach Exposition mit Barium-enthaltendem PMMA-Abrieb beobachtet ([72] S. 660). Es ist deshalb davon auszugehen, dass toxische Barium-Ionen freigesetzt werden können ([22] S. 42). Diese können zu Veränderungen und bestimmten Vorgängen im Gewebe führen, die im Verlust von Knochenmasse resultieren. Der klinische Einsatz von BaSO<sub>4</sub>-haltigem Knochenzement muss also trotz des geringen Metallabriebs als kritisch betrachtet werden.

Der ausgeprägte Metallabrieb bei der Testung der rauen CoCr28Mo6-Stiele sowohl gegen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1 als auch Sulcem<sup>®</sup> 3 bestätigt die hohe abrasive Eigenschaft von ZrO<sub>2</sub> ([22] S. 42). Der um ein Drittel höhere Metallgehalt im Abriebpulver bei Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 3 im Vergleich zu Sulcem<sup>®</sup> 1 impliziert, dass niedrigvisköse Knochenzemente schlechtere klinische Resultate ergeben ([20] S. 926; [68] S. 6). Um die Sulcem<sup>®</sup> Knochenzemente abschließend bewerten zu können, müssen jedoch noch weitere Tests durchgeführt werden.

Beim exemplarisch getesteten glatten, mit TiO<sub>2</sub>-beschichteten CoCr28Mo6-Stiel, der gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub> gelaufen war, ergaben sich sehr geringe Kobalt- bzw. Titan-Gesamtmetall-Gehalte (2,9 bzw. 6,5 µg), die nur etwa ein Fünftel des niedrigsten Gesamt-

metallgehaltenes im Abriebpulver aller getesteten unbeschichteten Endoprothesen-Stiele ausmachten.

Auch beim glatten, mit Kohlenstoff beschichteten TiAl6Nb7-Stiel, der ebenfalls gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  gelaufen war, ergab sich ein geringer Gesamt-Titan-Gehalt im ng-Bereich.

Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass durch Beschichtung der Endoprothesen-Stiele vor der Testung eine abriebfeste Oberfläche erzeugt werden kann, und somit gute Langzeitergebnisse zu erwarten sind ([59] S. 959). Um dies zu bestätigen, müssen noch weitere Tests mit derart beschichteten Stielen in Kombination sowohl mit in der Klinik üblicherweise verwendeten als auch mit alternativen Knochenzementen und unter feuchten Umgebungsbedingungen durchgeführt werden.

### **5.2.1.2 Makroskopische Analyse und Morphologie der nativen Grenzflächenprodukte**

#### *a) Makroskopische Analyse der nativen Grenzflächenprodukte*

Bei der makroskopischen Betrachtung der in der Grenzfläche Endoprothesenstiel-Knochenzement generierten Abriebprodukte fiel die dunklere Farbe bei Verwendung von  $ZrO_2$ -haltigem Knochenzement im Vergleich zu Knochenzement ohne  $ZrO_2$  unabhängig vom Endoprothesen-Werkstoff der Stiele auf. Ursache dürfte der höhere Metallgehalt im Abriebpulver bei Testung gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$  sein, welcher infolge der hohen abrasiven Eigenschaft der Röntgenkontrastmittel-Kristalle entstand ([22] S. 42).

Für die dunklere Farbe der Destruktionsprodukte bei rauen TiAl6Nb7-Stielen im Vergleich zu identischen glatt gestrahlten Stielen stellt die in der Literatur beschriebene Mehrproduktion an Partikeln bei rauher Stieloberfläche ([1] S. 397) eine Erklärungsmöglichkeit dar. Zudem erzeugten rau gestrahlte TiAl6Nb7-Stiele generell ein dunkler gefärbtes Abriebpulver als vergleichbare Stiele aus CoCr28Mo6. Diese Beobachtungen könnten auf eine größere Abrasion der vor allem rauen TiAl6Nb7-Oberfläche hindeuten, worauf in der Literatur mehrmals hingewiesen wird ([1] S. 397; [16] S. 713; [32] S. 210). Andererseits entsteht bei Stielen aus CoCr28Mo6 mehr Zementabrieb, der das Destruktionsprodukt trotz hohem Metallgehalt heller färbt.

Zwischen glatten und rauen CoCr28Mo6-Stielen (sowohl gegen Knochenzement mit als auch ohne  $ZrO_2$ ) waren keine Unterschiede in Bezug auf die Farbe des Destruktionsproduktes feststellbar. Ursache hierfür dürfte der hohe Knochenzement-Abrieb bei rauen CoCr28Mo6-Stielen sein, der einen "Verdünnungseffekt" der Metallpartikel bedingte. Dies wird durch die geringere Metallkonzentration in der AAS bei rauen im Vergleich zu glatten CoCr28Mo6-Stielen belegt.

Bei der Testung gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub> erzeugte der raue CoCr28Mo6-Stiel ein gelblich-weißes Abriebpulver, während das Destruktionsprodukt des baugleichen TiAl6Nb7-Stiels durch dessen höhere Metallkonzentration (vgl. 4.2.1.3) hellgrau war. Laut Literatur sind Endoprothesen-Stiele mit geringerer Steifigkeit (Stiele aus Titan-Legierungen) anfällig für Verschleiß und damit für die Generierung von metallischen Abriebpartikeln ([76] S. 298). Um diese Aussage für die rauen Stiele bestätigen zu können, müssen oben genannte Ergebnisse mittels weiterer Tests verifiziert werden.

Breusch et al. weisen auf den Nachteil der hohen abrasiven Eigenschaft des Röntgenkontrastmittels ZrO<sub>2</sub> hin ([22] S. 42). Dieser scheint auch bei Verwendung der Knochenzemente Sulcem<sup>®</sup> 1 und Sulcem<sup>®</sup> 3 aufzutreten, da bei den gegen diese Zemente getesteten rauen CoCr28Mo6-Stielen trotz hoher Mengen generierter Abriebpulver dunkelgraue Destruktionsprodukte entstanden. Wie oben erwähnt, ist dies auf eine stärkere Produktion von Metallpartikeln zurückzuführen. Diese Aussage muss jedoch durch Testung weiterer Stiele gegen derartige Knochenzemente noch verifiziert werden.

#### *b) Morphologie der nativen Grenzflächenprodukte*

Hinsichtlich der Größenverteilung der in der Grenzfläche Endoprothesenstiel-Knochenzement generierten nativen Abriebpartikel (Knochenzement- und Metallpartikel) ergab sich im Mastersizer bei allen Endoprothesen-Stielen Werkstoff-, Rauheits- und Zement-unabhängig eine mittlere Partikelgröße zwischen 3 µm und 4 µm.

Die Messungen mit dem Lasergranulometer ergaben ähnliche Partikel-Größenverteilungen wie beim Mastersizer. Die mittlere Größe lag bei knapp 3 µm.

Beim Flow Particle Image Analyser (FPIA) wurde der überwiegende Teil der Partikel mit einer Größe zwischen 1 µm und 10 µm bestimmt, wobei sich bei rauer Oberfläche des TiAl6Nb7-Stiels eine etwas größere Anzahl von Partikeln kleiner als 5 µm im Vergleich zum CoCr28Mo6-Stiel zeigte.

Kleine Partikel (kleiner 3 µm) haben insgesamt einen höheren stimulierenden Effekt auf Makrophagen ([41] S. 337), führen in vitro zur stärksten zellulären Antwort ([108] S. 221) und scheinen deshalb für den Osteolyseprozess hauptverantwortlich zu sein ([82] S. 179). Werden diese Erkenntnisse auf die dieser Arbeit zugrunde liegenden In-vitro-Untersuchungen übertragen, so scheinen v.a. die Metallpartikel und auch zerriebene ZrO<sub>2</sub>-Partikel die negativen zellulären Reaktionen verursachen zu können. Eine abschließende Bewertung kann jedoch erst nach mit den Partikeln durchgeführten zellbiologischen Untersuchungen vorgenommen werden.

Angaben über die Partikelgröße aus periprothetischem Gewebe divergieren in der Literatur sehr stark. Nakashima et al. fanden z.B. Metallpartikel mit einer mittleren Größe von  $0,7 \mu\text{m}$  ([71] S. 605). Auch Akisue et al. konnten in periprothetischem Gewebe von gelockerten Hüftendoprothesen Metallpartikel mit einer überwiegenden Größe von kleiner als  $1 \mu\text{m}$  nachweisen ([3] S. 509). In anderen Studien wurden mittlere Metallpartikel-Größen von  $1 \mu\text{m}$  bis  $3 \mu\text{m}$  ([49] S. 160; [66] S. 1199) bzw. zwischen  $0,5 \mu\text{m}$  und  $5 \mu\text{m}$  ([17] S. 885; [103] S. 7) detektiert. Salvati et al. ([84] S. 167) und Lee et al. ([56] S. 381) konnten analog zu den Ergebnissen dieser Arbeit keine Unterschiede zwischen den beiden Legierungen (TiAl6Nb7 und CoCr28Mo6) feststellen. La Budde et al. dagegen fanden bei Kobalt-Chrom-Legierungen kleinere Partikel als bei Titan-Legierungen ([54] S. 303).

Andere Arbeitsgruppen generierten metallische Partikel in vitro (durch Gegeneinanderreiben von Metallblöcken in einer Kammer) mit Größen von bis zu  $1 \mu\text{m}$  ([61] S. 1306; [79] S. 311) bzw. zwischen  $0,5 \mu\text{m}$  und  $2 \mu\text{m}$  ([44] S. 832). Diese Partikelgrößen sind laut Literatur repräsentativ für in vivo freigesetzte Metallpartikel bei künstlichem Hüftgelenksersatz ([44] S. 832; [79] S. 311).

Zement-(PMMA)-Partikel hingegen können Größen von  $1 \mu\text{m}$  bis  $30 \mu\text{m}$  ([17] S. 885) annehmen, z.T. wurden sogar Zementpartikel-Größen von  $100 \mu\text{m}$  Durchmesser und mehr postuliert ([54] S. 297). Aus dem Gewebe extrahierte  $\text{BaSO}_4$ -Partikel besitzen laut Literatur eine Größe von  $0,5 \mu\text{m}$  bis  $2 \mu\text{m}$  ([17] S. 885; [54] S. 297), während  $\text{ZrO}_2$ -Partikel kleinere Durchmesser von etwa  $0,5 \mu\text{m}$  besitzen ([17] S. 885). Diese neigen zur Agglomeratbildung ([17] S. 885), wodurch Kristalle von einigen  $\mu\text{m}$  entstehen können. Sowohl die  $\text{ZrO}_2$ -Partikel als auch das  $\text{BaSO}_4$  dienen zur Kontrastierung des Zementköchers in röntgenologischen Untersuchungen ([17] S. 885).

In dieser Arbeit wurden nun erstmalig Abriebpartikel an der Grenzfläche Implantat-Knochenzement in vitro erzeugt. Hierbei repräsentieren Zement- und agglomerierte  $\text{ZrO}_2$ -Partikel die überwiegende Anzahl der generierten Partikel im Abriebpulver. Die etwa 10% sehr kleine Partikel (kleiner als  $1 \mu\text{m}$ ) sind v.a. Metall- und zermahlene  $\text{ZrO}_2$ -Partikel.

Laut Literatur stellt der Knochenzement-Abrieb das überwiegende freigesetzte Fremdmaterial bei zementierten Hüftendoprothesen dar ([17] S. 885).

Als Reaktion auf die in der Grenzfläche Implantat-Knochenzement freigesetzten Partikel entsteht die „Partikelkrankheit“ ([37] S. 259). Die Partikel werden dabei in den periprothetischen Weichteilen akkumuliert und induzieren dort eine biologische Reaktion (Aktivierung von Makrophagen mit resultierender Abgabe von Entzündungsmediatoren ([83] S. 814) mit Osteolysen ([4] S. 309) und konsekutiver Implantatlockerung ([91] S. 214).

Die Größe, Art und Morphologie der Partikel ist für die Entstehung der Partikelkrankheit von großer Bedeutung, da die Gewebereaktionen je nach Partikelgröße differieren ([32] S. 207; [41] S. 337, [62] S. 375; [82] S. 179).

In der Literatur gibt es unterschiedliche Aussagen über die Phagozytierbarkeit von Partikeln mittels Makrophagen. Laut Goodman et al. werden Partikel kleiner als 10 µm von Makrophagen bzw. größere Partikel von Fremdkörperriesenzellen phagozytiert ([42] S. 28). Da laut Shanbhag et al. keine Phagozytose von Partikeln größer 7 µm stattfindet, besitzen derartige Partikel nur einen geringen Effekt auf die biologische Antwort ([89] S. 66). An anderer Stelle werden nur Partikel, die kleiner als 5 µm sind, von Makrophagen „gefressen“, größere Partikel werden jedoch von Fremdkörperriesenzellen eingeschlossen ([82] S. 175).

In der Literatur werden schlechtere klinische Resultate und höhere Versagensraten von rauhen im Vergleich zu glatten Stielen beschrieben ([30] S. 586, [66] S. 1200). Unter Berücksichtigung o.g. Ergebnisse, scheint dafür jedoch nicht die Morphologie der Partikel, sondern deren erhöhte Menge (vgl. 4.2.1.1) bei rauhen im Vergleich zu glatten Endoprothesen-Stielen verantwortlich zu sein.

In der morphologischen Analyse konnten keine Unterschiede in der Partikelgröße in Abhängigkeit von Legierung (TiAl6Nb7/CoCr28Mo6) und Rauheit (rau/glatt) festgestellt werden.

### c) Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Bei den rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen des nativen Abriebpulvers konnten mittels EDX-Analyse vor allem Sauerstoff und Kohlenstoff nachgewiesen werden. Diese Elemente sind nur im Knochenzement, nicht jedoch in den eingesetzten Endoprothesen-Stielen enthalten.

Beim rauhen TiAl6Nb7-Stiel, der gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub> gelaufen war, konnten im Gegensatz zu den Testungen mit ZrO<sub>2</sub>-haltigem Knochenzement in der REM-Analyse keine Titanpartikel nachgewiesen werden. Unter Berücksichtigung der AAS-Ergebnisse werden bei Verwendung eines ZrO<sub>2</sub>-freien Knochenzements deutlich weniger metallische Partikel von der Stieloberfläche freigesetzt. Dies widerspricht der Aussage von Morscher et al., wonach ZrO<sub>2</sub> keine signifikante Rolle beim Prozess der Abriebproduktion bei zementierten Hüftendoprothesen spielt ([68] S. 9). Vielmehr bestätigt dies die beschriebene hohe abrasive Eigenschaft von ZrO<sub>2</sub> ([22] S. 42), d.h. die Röntgenkontrastmittel-Kristalle sind maßgeblich für die Generierung von Abriebpartikeln an der Stieloberfläche verantwortlich ([107]).

In Bezug auf die Größenverteilung der Partikel lagen die z.T. agglomerierten Abrasionsprodukte des Knochenzements (PMMA- und ZrO<sub>2</sub>-Partikel) in Größenbereichen von 1 µm - 10 µm, während die gefundenen Metallpartikel überwiegend im sub-µm-Bereich lagen. Dies stimmt mit Literaturangaben überein, wonach die Zementpartikel sehr groß (z.T. 100 µm

oder größer) sind ([54] S. 297) und die Metallpartikel mittlere Größen im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich aufweisen ([71] S. 605; [84] S. 170).

## **5.2.2 Quantitative und qualitative Analyse der aufbereiteten Grenzflächenprodukte**

### **5.2.2.1 Aufbereitung des Abriebpulvers zur Eliminierung des Knochenzements**

Bei der Aufbereitung des Abriebpulvers zur Eliminierung des Knochenzements konnten deutliche Unterschiede zwischen den Abriebpulvern aus der Testung mit Knochenzementen mit und ohne  $\text{ZrO}_2$ -Bestandteil festgestellt werden. Basierend auf den in Abschnitt 4.2.1.3 dargestellten Ergebnissen, bei denen der Metallgehalt im Fall von  $\text{ZrO}_2$ -haltigem Knochenzement im Vergleich zu Knochenzement ohne  $\text{ZrO}_2$  etwa um das 10-fache erhöht war, befanden sich vermutlich in den dunkelgrau gefärbten ersten Überständen sehr viele kleine (sub- $\mu\text{m}$ -Bereich) Metallpartikel, die nicht sedimentierten und damit in Lösung blieben. Übereinstimmend beschreiben Yang et al. in ihrem Versuchsdesign zur Gewinnung und Charakterisierung von Metallpartikeln den Zweck der Sedimentation, dass sich große Partikel absetzen und kleine in Suspension bleiben ([108] S. 221). Bei Einsatz von Palacos Knochenzement ohne  $\text{ZrO}_2$  und CMW 2000 mit  $\text{BaSO}_4$  waren im Abriebpulver nur sehr wenige Metallpartikel enthalten (vgl. 4.2.1.3) und dadurch die ersten Überstände nicht dunkel gefärbt. Bei den Knochenzementen Sulcem<sup>®</sup> 1 und Sulcem<sup>®</sup> 3 war der erste Überstand deutlich dunkler gefärbt. Auch hier schienen wegen der höheren Metallkonzentrationen viele kleine Partikel in Suspension geblieben zu sein.

### **5.2.2.2 Partikelverlust bei Eliminierung des Knochenzements**

Die Bestimmung des Metallgehaltes mittels AAS in Überständen zur Eliminierung des Knochenzements, in Überständen beim Auswaschen des Lösungsmittels (Waschgang) und in der gereinigten Probe (reingewaschene Probe) ergab sehr hohe Werte im ersten Überstand, sehr geringe Werte ab dem dritten Überstand und in der gereinigten Probe. Die Schwarzfärbung des ersten Überstandes ist folglich durch die gelösten Metallpartikel (vgl. 5.2.2.1) bedingt. Ein möglicher Grund für die fehlende Sedimentation der kleinen Partikel war die hohe Dichte der verwendeten organischen Lösungsmittel, die kleinen und leichten Partikeln die Sedimentation nicht ermöglicht.

Obwohl bei allen getesteten Lösungsmitteln dieselben Beobachtungen gemacht wurden, hatte das Verfahren mit DMSO dennoch Vorteile. Es erwies sich hinsichtlich der Zementauflösung als sehr effektiv. Ein Vorteil gegenüber DMF besteht außerdem darin, dass die hohe Zelltoxizität von DMF spätere Zellversuche, für die gereinigte Metallpartikel verwendet werden sollen, nachteilig beeinflussen kann. Ein Nachteil bei der Verwendung von Aceton ist dessen hohe Flüchtigkeit, die mit einem Ausfällen des Knochenzements zwischen den ein-

zelenen Aufbereitungsschritten verbunden sein kann. Aus diesem Grund wird zur Eliminierung des Knochenzements DMSO präveriert.

Bei der oben genannten Methode zur Eliminierung des Knochenzements und Gewinnung reiner Metallpartikel befand sich in der aufbereiteten Probe mitunter lediglich ein Hundertstel der Metallkonzentration des nativen Abriebpulvers. Diese Konzentration wäre für die Analyse der Partikelmorphologie und weitere Zellversuche zu gering. Deshalb wurde exemplarisch ein Versuch inklusive Zentrifugieren (Ultrazentrifuge Laborfuge 200, 4000 Umdrehungen/Minute) der Probe durchgeführt. Auch bei diesem Verfahren wurden große Mengen Metall in den Überständen gefunden, so dass die Zentrifugation zu keiner Erhöhung der Partikelausbeute führte.

Da die Partikel in den Gefäßen nicht, wie erwartet, eine ausreichende Sedimentation zeigten, wurden bzw. werden für weitere Analysen und Zellversuche die Überstände und nicht nur die reingewaschene Probe herangezogen. Jedoch muss ein Verfahren entwickelt werden, um die Partikel von den Überständen der zelltoxischen Lösungsmitteln zu separieren.

### **5.2.2.3 Morphologie der aufbereiteten Grenzflächenprodukte**

#### *a) Rasterelektronenmikroskopie (REM)*

In rasterelektronenmikroskopischen Analysen der aufbereiteten Grenzflächenprodukte wurden nach Filtration des Überstandes im Fall von TiAl6Nb7-Stielen kleine, scherben- bzw. schuppenförmige Titanpartikel mit Größen im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich (meist auf  $\text{ZrO}_2$ -Partikel aufgelagert), im Fall der reingewaschenen Probe mit einer Größe von mehreren  $\mu\text{m}$  auf den PC-Filtern nachgewiesen. Bei den CoCr28Mo6-Stielen konnten kleine, unregelmäßig geformte Partikel im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich sowie größere (1 bis 1,5  $\mu\text{m}$ ), plättchenförmige Partikel gefunden werden.

Bei der Analyse (ohne vorherige Filtration) einer reingewaschenen Probe eines rauen TiAl6Nb7-Stiels (gegen Knochenzement ohne  $\text{ZrO}_2$ ) zeigten sich nicht agglomerierte Titanpartikel mit Größen zwischen 1  $\mu\text{m}$  und 10  $\mu\text{m}$ . Diese großen Partikel sedimentierten während der Aufbereitungsschritte (vgl. 3.3.2.1) ([108] S. 221) und wurden folglich mit den Überständen nicht abpipettiert (vgl. 5.2.2.1 und 5.2.2.2).

Aus Gewebe extrahierte Titanpartikel sind in Form von Flocken, Schuppen oder Scherben ([32] S. 211; [54] S. 297; [56] S. 381) beschrieben. Dies konnte durch eigene rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen bestätigt werden. Bei Partikeln aus Kobalt-Chrom-Legierungen wird von irregulären ([77] S. 863), scharfkantigen und spitzen Fragmenten ([32] S. 211) berichtet. Die generierten Partikel waren ebenfalls unregelmäßig geformt und stellen von der Stieloberfläche abgescherte Fragmente dar (vgl. 4.2.2.3).

In der Literatur werden unterschiedliche Aussagen zur Größenverteilung der Partikel in Abhängigkeit der Implantatwerkstoffe gemacht. Laut Rogers et al. sind Kobalt-Chrom-Partikel geringfügig größer als Titan-Partikel ([77] S. 861). Laut LaBudde et al. entstehen bei Kobalt-Chrom-Legierungen jedoch kleinere Partikel als bei Titan-Legierungen ([54] S. 303). In anderen Literaturstellen wird kein Unterschied in der Größe von Partikeln zwischen den einzelnen Legierungen genannt ([32] S. 213; [56] S. 381). In dieser Arbeit konnten keine gravierenden Unterschiede in der Partikelgröße zwischen den beiden Legierungen und verschiedenen Oberflächenrauheiten (rau vs. glatt) festgestellt werden. Mit einzelnen Ausnahmen wurden annähernd identische Partikelgrößen gefunden.

Am glatten CoCr28Mo6-Stiel, der gegen ZrO<sub>2</sub>-haltigen Knochenzement gelaufen war, zeigten sich zudem Silizium- und Kalzium-Signale. Da diese Elemente keine Bestandteile von Endoprothesen-Werkstoffen sind, wurden diese vermutlich beim Strahlprozess auf der Stiel-Oberfläche abgelagert [87]; ([89] S. 66) und können somit zum Dreikörperverschleiß beitragen (vgl. 5.1.3).

#### *b) Durchflusszytometrie*

In der Durchflusszytometrie zeigte sich in den gewaschenen Proben bei allen Stielen Rauheits- und Werkstoff-unabhängig eine große Streuung der Partikel bezüglich Granularität und Größe. Die Tatsache, dass neben kleinen auch etliche sehr große Partikel gefunden wurden, bestätigt die oben gemachte Vermutung, dass v.a. die großen Partikel sedimentieren ([108] S. 221), deswegen nicht abpipettiert werden und dann in der reingewaschenen Probe erscheinen. Dies wird durch die Beobachtung bekräftigt, dass in den Überständen sowohl bei rauen als auch bei glatten TiAl6Nb7-Stielen homogene Partikel mit sehr kleinen Durchmessern gefunden wurden.

In den Überständen von sowohl rauen als auch glatt gestrahlten CoCr28Mo6-Stielen waren im Gegensatz zu TiAl6Nb7-Stielen größere Heterogenitäten feststellbar. Die Mehrzahl der Partikel lag jedoch im Bereich kleiner Größen.

Die kommerziellen Referenzpartikel aus cp-Titan zeigten eine deutlich größere Granularität und breitere Streuung der Partikelgrößen als die generierten Metallpartikel in den aufbereiteten Überständen. Die Inhomogenität dieser Partikel war zwar mit den generierten Partikeln aus den gewaschenen Proben vergleichbar, jedoch scheinen bei cp-Titan-Partikeln generell größere Partikel vorhanden zu sein. Die mittlere Körnung dieser Partikel wird vom Hersteller mit 3 µm angegeben (Range  $3 \pm 1$  µm).

Durch die Vergleichbarkeit der Größe von cp-Titan-Partikeln mit den Partikeln aus den gewaschenen Proben erscheint es plausibel, dass cp-Titan-Partikel Zellreaktionen ähnlich denen von in vivo extrahierten Metallpartikeln auslösen können ([15] S. 2085). Andererseits

wird betont, dass kommerziell hergestellte Partikel Charakteristika aufweisen können, die sich von denen der in vivo freigesetzten Partikel unterscheiden, was wiederum zu unterschiedlichen Zellreaktionen führen kann ([32] S. 207).

Da laut Literatur Partikel v.a. im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich ([108] S. 221) bzw. mit einer Größe kleiner als 3  $\mu\text{m}$  ([41] S. 337) die stärksten zellulären Antworten hervorrufen ([108] S. 221) bzw. einen höheren stimulierenden Effekt auf Makrophagen haben ([41] S. 337), scheinen cp-Titan-Partikel mit einer mittleren Größe von 3  $\mu\text{m}$  keine vergleichbaren Zellreaktionen auslösen zu können wie in vivo generierte Partikel.

Die  $\text{TiO}_2$ -Partikel (Korngröße 1,8  $\mu\text{m}$  bzw. 0,5  $\mu\text{m}$ ) wiesen ebenfalls eine deutlich größere Granularität als Partikel in den Aufbereitungs-Überständen auf. Die  $\text{TiO}_2$ -Partikel mit einer Körnung von 0,5  $\mu\text{m}$  entsprachen am ehesten der Größenverteilung der Partikel in den Aufbereitungs-Überständen; es findet analog keine Sedimentation kleinerer (v.a. im sub- $\mu\text{m}$ -Bereich) Partikel statt (vgl. 5.2.2.1 und 5.2.2.2). Die Größenverteilung der  $\text{TiO}_2$ -Partikel mit einer Körnung von 1,8  $\mu\text{m}$  entspricht aber der von Partikeln aus gewaschenen Proben, d.h. größere Partikel werden aufgrund der Sedimentation detektiert (vgl. 5.2.2.2).

## 5.3 Versuche zum Partikelverlust

### 5.3.1 Partikelverlust in Abhängigkeit von Gefäß, Reagenz und Behandlung der Probe

Bei den „Partikelverlust-Versuchen“, mit welchen der Einfluss von Probengefäß, Reagenz (PBS vs. Zellmedium) und Ultraschall-Behandlung auf Verluste von Partikeln durch Agglomeration ([32] S. 213; [53] S. 164) bzw. Anhaftung an bestimmte Oberflächen ([96] S. 41) evaluiert wurden, waren in den Proben 1 bis 4 unterschiedliche cp-Titan-Partikel-Konzentrationen zu finden. Da in der Endlösung (Probe 4) weniger Partikel detektiert wurden als in der Ausgangslösung (Probe 1), ist von einem Partikelverlust durch Anhaftung an die Gefäßoberfläche oder Pipettieren auszugehen. Ersteres belegt der nicht unerhebliche Partikelgehalt in den Proben 2 und 3, in denen unter idealen Bedingungen keine Partikel enthalten sein sollten.

Dagegen ergab die Addition der Gefäße 2, 3 und 4 generell eine höhere Partikelanzahl im Vergleich zu Gefäß 1. Unter der Annahme, dass Partikel durch Anhaftung an Pipettenspitzen verloren gehen, sollen jedoch in der Ausgangskonzentration (Gefäß 1) höhere Werte als die der Summe der Gefäße 2 - 4 detektiert werden. Diese Beobachtungen deuten auf eine Ausgangsvermutzung der Gefäße hin. Für diese können Polypropylenpartikel bzw. bei den Glasgefäßen meist Glaspartikel im Rahmen der Herstellungsprozesse oder Schmutzpartikel, die von außen in die Gefäße gelangen, verantwortlich sein. Bei Betrachtung der Leermessungen konnte diese Vermutung bestätigt werden, da bereits ohne Zugabe von Titan-Partikeln in jedem Probengefäß Partikel nachgewiesen werden konnten.

Bei den Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen ergaben sich grundsätzlich in allen 4 Proben höhere Partikelkonzentrationen als bei allen übrigen getesteten Gefäßen. Dabei ist zu berücksichtigen, dass deren innere Gefäßoberfläche deutlich größer ist (über viermal) als die der Eppendorf- und Biozym-Gefäße, wodurch die erhöhten Partikel-Konzentrationen aufgrund einer größeren Anzahl an Schmutzpartikeln erklärbar sind. Diese Schmutzpartikel lösen sich vor Beginn der Messungen (durch das Auffüllen der Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen mit Casy<sup>®</sup>ton auf 10 ml) von der Wand des Röhrchens und gelangen so in die zu messende Lösung (vgl. 3.4.1). Ein Nicht-auffüllen der Röhrchen war aus pipettier-technischen Gründen nicht möglich. Sofern die größere Oberfläche der Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen jedoch berücksichtigt wird, ergeben sich mit den übrigen Gefäßen vergleichbare Partikelkonzentrationen.

Bei den Biozym-Gefäßen wurden generell höhere Partikel-Konzentrationen im Vergleich zu den Eppendorf-Gefäßen bei identischer Oberfläche ermittelt. Durch Betrachtung der Leermessungen wird deutlich, dass diese erhöhten Partikel-Konzentrationen durch starke Verschmutzung der Biozym-Gefäße entstanden. Hier waren analog den Messungen mit Titan-Partikeln sehr hohe Konzentrationen in den Proben 1 und 4, und niedrige Konzentrationen in den Proben 2 und 3 messbar. Die Partikelkonzentrationen in den Proben 2 und 3 waren jedoch deutlich höher als die der Leermessungen von Glas- und Eppendorf-Gefäßen. Diese Ergebnisse implizieren, dass die Biozym-Gefäße viel stärker verschmutzt waren und gleichzeitig auch Partikel-anhaftender wirken als alle übrigen Gefäße.

Als Erklärung könnte angeführt werden, dass die metallischen Partikel durch elektrostatische Aufladung verklumpen und an der Innenwand der Biozym-Gefäße gut anhaften können. Im Gegensatz dazu lösen sich die nicht-metallischen Schmutzpartikel leichter von der Gefäßwand. Daraus resultiert die große Zahl messbarer Partikel bei den Leermessungen und die vergleichsweise geringe Partikelkonzentration bei den Versuchen mit den Titan-Partikeln im Fall der Biozym-Gefäße.

Zudem scheinen die Biozym-Cups von Gefäß zu Gefäß einen sehr unterschiedlichen Verschmutzungsgrad aufzuweisen, da sich bei den Leermessungen in den beiden mittleren Gefäßen (Probe 2 und 3) nur relativ wenig Partikel befanden und die Endkonzentration meist geringer war als die Ausgangskonzentration. Letzteres weist auf eine sehr geringe Verschmutzung des Röhrchens der Probe 4 hin, in dem die Partikelkonzentration durch zusätzliches Verschleppen von Partikeln aus den Proben 1 - 3 deutlich höher erwartet wurde.

Auch bei den Leermessungen sowohl der Eppendorf- und Glasgefäße als auch der Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen waren Verunreinigungen entweder durch herstellungsbedingte Partikel oder Schmutzpartikel feststellbar. Die sehr hohen Konzentrationen bei den Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen ließen sich wiederum durch deren größere Oberfläche und das Auffüllen des Röhrchens

(siehe oben) vor den Messungen erklären. Die annähernd gleichen Partikel-Konzentrationen in den Proben 1 – 4 deuten auf eine gleichmäßige, geringe Verschmutzung aller Gefäße hin.

Bei der Betrachtung der Messwerte unter Berücksichtigung bzw. Subtraktion der Leermessungen waren die Partikelkonzentrationen sowohl bei Glas- als auch Eppendorf-Gefäßen meist positiv. Bei den Biozym-Gefäßen ergaben sich relativ große Negativwerte, d.h. die Partikelkonzentrationen der Leermessungen waren größer als die der Messungen mit Titan-Partikeln. Dies belegt die oben erwähnte größere, unstete Gefäßverunreinigung mit Fremdpartikeln. Bei den Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen deuten die Negativwerte der Gefäße 2 und 3 ebenfalls auf eine unstete Verschmutzung deren, im Vergleich zu den übrigen Gefäßen, größeren Oberflächen hin.

Rogers et al. ([77] S. 857) und Kwon et al. ([53] S. 164) empfehlen die Behandlung von Partikelsuspensionen mit Ultraschall zur Vermeidung einer Partikel-Agglomeration. Aus diesem Grund wurde im Partikelverlust-Versuch ein Teil der Proben mit Ultraschall behandelt, um dessen Einfluss auf die Anhaftung der Partikel an Gefäßwände zu analysieren. Hierbei waren jedoch keine Unterschiede zwischen behandelten und unbehandelten Proben und somit kein positiver Effekt durch Ultraschallbehandlung feststellbar.

Zudem bestand kein Unterschied zwischen der Suspension der Partikel in Labor-üblichen Reagenzien (PBS und Zellmedium).

### **5.3.2 Gefäßtestung**

Die Ausgangskonzentrationen an kommerziellen cp-Titanpartikeln bei der Gefäßtestung nach Standardisierung der Oberfläche und Waschen der Gefäße waren bei allen Gefäßen in etwa gleich.

Nach dem Eintauchen der Testkörper war mitunter eine Erhöhung der Partikel-Konzentrationen erkennbar. Trotz Waschen konnten die Schmutzpartikel scheinbar aufgrund deren Anhaftungsfähigkeit an die Gefäßinnenwände nicht gänzlich eliminiert werden und gelangten deshalb beim Eintauchen der Testkörper in Lösung.

Einzige Ausnahme war das Glasgefäß, bei dem sich eine geringe Abnahme der Partikelkonzentration ergab. Diese war vermutlich durch Anhaftung von Partikeln in den Rillen des Schraubverschlusses beim Eintauchen des Testkörpers bedingt.

Die sehr geringe Konzentrations-Zunahme beim Eppendorf-Cup bzw. bei Polyolefine BR 735G – 3187 deutet sowohl auf eine geringe Anhaftungsfähigkeit als auch auf eine geringe Verschmutzung dieses Gefäßes bzw. Werkstoffs hin. Dagegen zeigte sich beim Biozym-Cup, dem Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen und bei Polyolefine EP 548S eine stärkere Zunahme der Partikel-Konzentration.

Die Ergebnisse beim Biozym-Cup und dem Falcon®-Röhrchen sind analog zum Partikelverlust-Versuch (siehe 5.3.1). Auch dort war eine größere Verschmutzung dieser Gefäße aufgefallen. Da alle Gefäße in der Gefäßtestung jedoch identische Oberflächen aufwiesen, waren bei den Falcon®-Röhrchen nicht mehr so hohe Konzentrationsunterschiede im Vergleich zu den übrigen Gefäßen feststellbar.

Die Leermessungen zeigten nur eine sehr geringe Kontamination mit Fremdpartikeln nach Waschen der Testkörper. Es bestanden keine deutlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Gefäßen.

Mit diesem Versuch konnte gezeigt werden, dass keine deutlichen Unterschiede in der Anhaftung von cp-Titan-Partikeln zwischen den Gefäßen bei identisch zugeschnittenen Oberflächen bestehen, unter der Voraussetzung des vorherigen Waschens in Aqua dest. Die neuen Werkstoffe Polyolefine BR 735G – 3187 und Polyolefine EP 548S zeigten hinsichtlich der Partikelanhaftung keine Überlegenheit zu den Eppendorf-Gefäßen. Die Eppendorf-Gefäße scheinen aufgrund der geringsten Kontamination mit Schmutzpartikeln für Arbeiten mit Partikeln derzeit überlegen zu sein.

Generell ist beim Arbeiten mit Partikeln eine Standardisierung der Testverfahren nur bedingt möglich. Bei unterschiedlichen Zeitspannen zwischen Schütteln der Stammlösung und dem Pipettieren können durch erneute Agglomeration ([32] S. 213; [53] S. 164; [77] S. 857; [96] S. 41) und Sedimentation von Partikeln mitunter weniger Partikel herauspipettiert werden. Zudem werden verklumpte Partikel in den Zählgeräten oftmals nur als ein Partikel erkannt bzw. detektiert.

Weitere Störfaktoren in der Standardisierung beim Arbeiten mit Partikeln sind die unterschiedliche Ausgangverschmutzung oder die unterschiedliche Anhaftungsfähigkeit der verwendeten Probengefäße.

### **5.3.3 Pipettentestung**

#### *a) Partikelverlust ohne Ausspülen der Pipettenspitzen vor dem Pipettieren*

Bei der Pipettentestung ohne vorheriges Ausspülen der Pipettenspitze zeigte sich trotz identischer Stammlösung eine deutliche Streuung der Partikel-Ausgangskonzentrationen. Diese ist, wie unter 5.3.2 bereits aufgeführt, durch Schwierigkeiten in der Standardisierung des Verfahrens auf Grund von Agglomeration ([32] S. 213; [53] S. 164; [77] S. 857), Anhaftung ([96] S. 41) und Sedimentation der Partikel begründet.

Nach dem Pipettieren ergab sich sowohl bei der Pasteurpipette aus Glas als auch bei der silikonisierten Biozym-Pipette eine Erhöhung der Partikel-Konzentration. Dies deutet auf eine Verschmutzung der Pipettenspitzen hin, d.h. durch das Pipettieren werden die Pipettenspitzen ausgewaschen und die Schmutzpartikel gelangen in die Lösung. Mit der Pasteurpipette ist es zudem nicht möglich, bei jedem Pipettierschritt exakt dieselben Volumina zu pipettieren. Dadurch wird z.T. eine größere Innenoberfläche der Pasteurpipette „abgewaschen“, und somit vermehrt Schmutzpartikel in die Lösung abgegeben.

Dagegen weist die Abnahme der Partikelkonzentration bei der unbeschichteten Biozym-Pipette, der Eppendorf- und der Combitips plus-Pipette auf einen Partikelverlust durch die Anhaftung der Partikel an der Pipettenspitze hin. Bei der Combitips plus-Pipette war dieser sehr deutlich, da in deren Spitze ein Lösungsrest zurückblieb, der nicht herauspipettiert werden konnte.

Bei den Leermessungen zeigten sich wiederum deutliche Schwankungen der Partikel-Ausgangskonzentrationen, bedingt durch die für den Anwender nicht kontrollierbare, unterschiedliche Verschmutzung der Gefäße.

Unter Berücksichtigung der Leermessung ergab sich mit der Pasteurpipette in den Lösungen mit Titan-Partikeln eine deutliche Konzentrations-Zunahme, die durch mögliche unterschiedliche Pipettier-Volumina (siehe oben) erklärbar ist. Die geringe Konzentrationszunahme bei der silikonisierten Biozym-Pipette weist auf eine geringe Verschmutzung dieser Pipettenspitze hin. Zudem scheinen aufgrund deren geringer Anhaftungsfähigkeit keine Titan-Partikel verloren zu gehen.

Einschränkend muss betont werden, dass der Cell Counter nicht zwischen Partikeln unterschiedlicher Genese (Titan vs. Fremdpartikel) differenziert. So ist es möglich, dass ein großer Partikelverlust aufgrund von Adhärenz an die Pipettenspitze durch eine hohe Kontamination mit Fremdpartikeln sowohl der Ausgangslösung als auch der Pipettenspitze ausgeglichen wird.

Bei der unbeschichteten Biozym-Pipette kam es zur höchsten Partikelkonzentrations-Abnahme. Dies deutet auf eine große Anhaftungsfähigkeit dieser Pipettenspitze hin. Analog zu den Gefäßtestungen (vgl. 5.3.1) haften die cp-Titan-Partikel aufgrund der elektrostatischen Aufladung stärker an deren Oberfläche.

Die geringe Partikelkonzentrations-Abnahme bei der Combitips plus-Pipette muss kritisch hinterfragt werden. Da ein Partikelverlust deutlich sichtbar war, ist davon auszugehen, dass diese Pipettenspitzen stark mit Fremdpartikeln verschmutzt waren. Bei der Messung wurde der Verlust von anhaftenden cp-Titan-Partikeln durch die Fremdpartikel in der Pipettenspitze ausgeglichen. Bei der Eppendorf-Pipette kam es dagegen bei der Leermessung nur zu einer minimalen Abnahme der Partikelkonzentration. Dies deutet sowohl auf eine geringe

Ausgangsverschmutzung als auch auf eine geringe Anhaftungsfähigkeit dieser Pipettenspitze hin. Deshalb scheint die Eppendorf-Pipette zum besten Ergebnis zu führen.

Aufgrund der großen Schwankungen der Partikelkonzentrationen wurden Testungen mit vorherigem Ausspülen der Pipettenspitzen durchgeführt.

*b) Partikelverlust mit Ausspülen der Pipettenspitzen vor dem Pipettieren*

Nach dem Pipettieren mit der unbeschichteten Biozym-Pipette, der Eppendorf- und der Combitips plus-Pipette waren geringe Konzentrations-Zunahmen in den Lösungen zu verzeichnen. Diese Zunahme der Partikel-Konzentration weist auf ein Einbringen von Fremdpartikeln in die Lösung über die verschmutzten Pipettenspitzen hin, welche auch durch vorheriges Ausspülen nicht komplett gereinigt werden konnten.

Zu einer Konzentrations-Abnahme kam es sowohl bei der Pasteur- als auch der silikonisierten Biozym-Pipette. Beide Pipettenspitzen scheinen eine gute Anhaftungsfähigkeit zu besitzen, wodurch Partikel aus der Lösung verloren gingen.

Bei den Leermessungen ergaben sich erneut Schwankungen in den Ausgangskonzentrationen, die auf unterschiedliche Partikel-Kontamination der Glasgefäße beruhen können, in welche die Stammlösung (cp-Titan-Partikel + Aqua dest.) für die Testung pipettiert wurde.

Unter Berücksichtigung der Leermessungen ergab sich für die Messungen mit Partikeln eine Konzentrations-Zunahme bei der unbeschichteten Biozym-, der Eppendorf- und Combitips plus-Pipette. Dagegen nahm bei der Pasteurpipette und der silikonisierten Biozym-Pipette die Konzentration nach dem Pipettieren ab, was vermutlich durch die gute Anhaftungsfähigkeit der beiden Pipettenspitzen bedingt war. Die Eppendorf-Pipetten führten zu den geringsten Konzentrations-Veränderungen analog zu den Leermessungen.

Abschließend scheint ein Vergleich der verschiedenen Pipetten mit definitiven Aussagen zur Partikelanhaftung und -Kontamination v.a. mittels der Leermessungen möglich. Dabei stellen sowohl die Agglomeration als auch die Sedimentation der metallischen cp-Titan-Partikel und damit die Standardisierung des Verfahrens beim Arbeiten mit diesen Partikeln (vgl. 5.3.2) kein Problem dar. Folglich treten bei den Leermessungen weniger Verfälschungen der Ergebnisse durch unvermeidbare systematische Fehler auf. Da es mit der Eppendorf-Pipette zu der geringsten Konzentrations-Änderung bei beiden Testungen (mit und ohne Ausspülen) kam, scheint diese besonders geeignet für das Arbeiten mit Partikeln zu sein. Die größten Konzentrations-Änderungen entstanden dagegen mit der unbeschichteten Biozym-Pipette.

### *c) Combitips plus-Pipettentestung*

Bei der Testung der Combitips plus-Pipette ergaben sich kaum Änderungen in der Partikelkonzentration. Es wurde lediglich eine geringe Konzentrations-Zunahme unter Berücksichtigung der Leermessung festgestellt. Wie oben schon erwähnt, konnte ein Partikelverlust durch Rückstände der Lösung in der Pipettenspitze makroskopisch beobachtet werden. Die annähernd gleich bleibende Konzentration deutet trotz vorherigen Ausspülens auf eine starke Verschmutzung dieser Pipettespitze hin. Die Verwendung einer derartigen Pipette stellt demnach keinen Vorteil gegenüber den anderen Pipetten dar.

## **5.4 Partikeladhärenz an Folien**

Im Vorversuch zeigte sich eine Konzentrations-Zunahme mit allen ungewaschenen Folien. Dies lässt eine Ausgangsvermischung der Folien durch anhaftende Partikel vermuten. Diese gehen beim Eintauchen der Folie in Lösung, woraus die Konzentrations-Erhöhung resultiert. Die deutliche Zunahme bei der Siliconplatte 0,5 mm (Folie 1), bei Propafilm MTX (Folie 6) und bei Propafilm RHX (Folie 7) ist vermutlich durch deren starke Anhaftung von Fremdpartikeln bedingt.

Beim Versuch mit Waschen der Folien vor der Testung kam es wiederum bei allen Folien mit Ausnahme der Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Folie 3) zu einer Zunahme der Partikelkonzentrationen. Diese war bei der metallisierten Folie (Geschenkpapier, Folie 9) am geringsten. Die Konzentrations-Zunahme war vermutlich wiederum auf die Anhaftung von nicht abgewaschenen Partikeln zurückzuführen. Durch das Waschen konnten nicht alle Schmutzpartikel von den Folien entfernt werden.

Bei der Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Folie 3) zeigte sich eine sehr geringe Konzentrations-Abnahme. Diese weist auf deren geringe Partikel-Anhaftungsfähigkeit hin. Durch das Waschen wurden vermutlich sämtliche Schmutzpartikel von dieser Folie entfernt, und nur wenige Titan-Partikel hafteten während des Eintauchens an die Folie.

Unter Berücksichtigung der Leermessung ergab sich auch bei der metallisierten Folie (Geschenkpapier, Folie 9) eine geringe Konzentrationsabnahme. Diese war geringer als die der Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Folie 3).

Die Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Folie 3) bietet sich trotz deren Konsistenzveränderung (siehe 3.5) und gleichzeitig besserem Ergebnis der metallisierten Folie (Geschenkpapier, Folie 9) für die Abdichtung im Prüfstand an. Die Konsistenzveränderung im Sinn von Aufquellen und Starrwerden der Folie trat nur unter Toluol und Benzin, nicht jedoch unter Ethanol auf. Im Rahmen der Stieltestung ist nur eine Vorreinigung der Folie mit Ethanol

geplant. Bei der metallisierten Folie (Geschenkpapier, Folie 9) ergeben sich Probleme mit der Verfügbarkeit einer standardisiert hergestellten Folie.

Da die Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Folie 3) jedoch sehr dünn ist, und deshalb eine geringe Reißfestigkeit erwartet wird, ist diese für die Abdichtung des Prüfstandes mit der mechanisch stabilen PTFE-Glasfaserfolie (Folie 5) zu kombinieren. Dadurch resultiert eine Kombination aus anti-haftender Folie an der Innenseite und reißfester Folie an der Außenseite.

## 6. Zusammenfassung

Hauptursache für das Versagen von Hüftendoprothesen ist die aseptische Lockerung, die meist Folge einer Gewebereaktion auf Abriebpartikel ist. Einzelne zementierte Hüftendoprothesenstiel-Modelle aus Titanbasis-Legierungen zeigten überdurchschnittlich hohe Frühlockerungsraten. Neben dem Werkstoff scheinen auch noch Oberflächenmodifikation, Design der Stiele und der Knochenzement Einfluss auf die Standzeit einer zementierten Hüftendoprothese zu haben.

Ziel dieser Arbeit war es, bestimmte Einflussfaktoren auf das Abrieb- bzw. Destruktionsverhalten an der Grenzfläche zwischen Stiel und Knochenzement zu evaluieren, eine Methode zur Gewinnung reiner metallischer Partikel zu entwickeln und die generierten Destruktionsprodukte zu analysieren. Um zukünftig das Abriebverhalten von Endoprothesenstielen unter feuchten Umgebungsbedingungen untersuchen zu können, wurden zudem verschiedene handelsübliche antihaftende und reißfeste Folien getestet. Da bei In-vitro-Zelluntersuchungen mit Partikeln zum Teil enorme Verluste dieser beschrieben sind, sollten Methoden zur Quantifizierung des auftretenden Partikelverlustes entwickelt werden.

Dazu wurde zum einen auf Basis einer speziell entwickelten Versuchsvorrichtung, dem sog. "Partikelprüfstand", das Destruktionsverhalten an der Grenzfläche zwischen Knochenzement und Hüftendoprothesen-Stiel nach deren Lockerung unter trockenen Umgebungsbedingungen analysiert, sowie Abriebpartikel reproduzierbar erzeugt. Diese wurden anschließend mittels verschiedener Methoden hinsichtlich Abriebmenge, chemischer Zusammensetzung, Größe und Größenverteilung analysiert. Als Prüfobjekte dienten geometrisch identische Hüftendoprothesen-Stiele aus einer TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Legierung mit definierten rauen ( $R_z = 20 \mu\text{m}$ ) und glatten ( $R_z = 7 \mu\text{m}$ ) Oberflächen. Zur Herstellung der Zementköcher wurden ein handelsüblicher PMMA-Knochenzement (Palacos<sup>®</sup> R mit  $\text{ZrO}_2$ ) sowie ein spezieller Palacos ohne  $\text{ZrO}_2$  verwendet. Unter identischen Reibbeanspruchungen wurden mit rauen TiAl6Nb7- und CoCr28Mo6-Stielen in der Grenzfläche deutlich mehr Abriebprodukte (Knochenzement- und Metallabriebpartikel) generiert als mit glatt gestrahlten Stielen. Bei Verwendung von Knochenzement ohne  $\text{ZrO}_2$  war die Abriebpulvermenge bei allen untersuchten rauen und glatten Stielen größer als bei Testung gegen  $\text{ZrO}_2$ -haltigen Knochenzement. An den rauen Stielen zeigten sich makroskopisch Areale mit deutlichem abrasiven Verschleiß, dagegen an den glatten Stielen kaum derartige Veränderungen. In den REM-Untersuchungen ließen sich bei allen Stielen eingebnete Bereiche und abrasive Veränderungen mit Hinweisen auf Dreikörperverschleiß nachweisen, die bei glatten Stielen jedoch geringfügiger waren. In der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) war der Gesamtgehalt von Titan bzw. Kobalt im freigesetzten Abrieb bei Testung gegen Knochenzement mit

ZrO<sub>2</sub> höher als bei ZrO<sub>2</sub>-freiem Knochenzement. Insgesamt wurden bei rauen Stielen deutlich mehr metallische Destruktionsprodukte an der Grenzfläche zwischen Stiel und Knochenzement freigesetzt als bei glatten Stielen. Im Mastersizer und Lasergranulometer ergaben sich mittlere Partikelgrößen von 3 bis 4 µm. Die Methode zur Eliminierung des Knochenzementes und zur Gewinnung reiner Metallpartikel für weitere Untersuchungen erwies sich als schwierig, da die zahlreichen kleinen Partikel (im sub-µm-Bereich) nicht sedimentierten. Dies konnte was mittels Durchflusszytometrie und REM-Analyse belegt werden.

Zudem wurden verschiedene handelsübliche Folien hinsichtlich deren Reißfestigkeit und Anhaftungsfähigkeit getestet. Diese ermöglichen die Abkapselung der Prüfvorrichtung und Gewinnung der Partikel bei Testung unter feuchten Umgebungsbedingungen. Dabei erscheint die Kombination aus antihaltender Norflex Polyesterfolie 0,2 mm (Fa. NSK, Nordenham) und reißfester PTFE-Glasfaserfolie (Fa. Sahlberg, München) am besten geeignet, die Prüfkammer bei den Tests im feuchten Umgebungsmilieu abzudichten.

Bei Arbeiten mit sowohl kommerziellen als auch generierten Metallpartikeln tritt das Problem eines Partikelverlustes durch deren Agglomeration oder Anhaftung an bestimmte Oberflächen auf. Anhand einer speziell entwickelten Methode wurden der Partikelverlust durch verschiedene handelsübliche Laborgefäße (Eppendorf- und Biozym-Cups, Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen, Glasgefäße), neue Werkstoffe (Polyolefine) und Pipettenspitzen (Eppendorf-, Biozym-, silikonisierte Biozym-, Pasteur-, Combitips plus-Pipetten) und der Einfluss von Reagenz (Zellmedium vs. PBS) und Ultraschallbehandlung quantifiziert. Ein Einfluss von Reagenz (Zellmedium vs. PBS) und Ultraschallbehandlung auf den Partikelverlust konnte nicht nachgewiesen werden, auch ließen sich keine deutlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Gefäßen nachweisen. Es zeigten sich keine Vorteile der Polyolefine gegenüber den Eppendorf-Cups aus Polypropylen, die eine sehr geringe Anhaftung von Fremdpartikeln aufwiesen. Bei den Pipettenspitzen hatten die Eppendorf-Pipetten die niedrigsten Partikelanhaftungsraten, während bei den Biozym-Pipetten sehr große Konzentrationsänderungen aufgrund von Kontamination mit Fremdpartikeln auftraten.

Ziel nachfolgender Arbeiten wird es sein, Abriebpartikel aus der Grenzfläche Implantat-Knochenzement unter feuchten Umgebungsbedingungen zu generieren und für zellbiologische Untersuchungen entsprechend aufzubereiten. Zudem sollen Partikel aus periprotetischem Gewebe gewonnen und diese mit den experimentell generierten verglichen werden.

## 7. Verzeichnisse

### 7.1 Literaturverzeichnis

- [1] Acklin Y.P., Berli B.J., Frick W., Elke R., Morscher E.W.: Nine-year results of Müller cemented titanium Straight Stems in total hip replacement. Arch Orthop Trauma Surg 2001 (121) 391-398
- [2] Agins H.J., Alcock N.W., Bansal M., Salvati E.A., Wilson P.D. Jr, Pellicci P.M., Bullough P.G.: Metallic Wear in Failed Titanium-Alloy Total Hip Replacements. A Histological and Quantitative Analysis. J Bone Joint Surg 1988 (70-A) 347-356
- [3] Akisue T., Bauer T.W., Farver C.F., Mochida Y.: The effect of particle wear debris on NF $\kappa$ B activation and pro-inflammatory cytokine release in differentiated THP-1 cells. J Biomed Mater Res 2002 (59) 507-515
- [4] Al Saffar N., Revell P.A.: Interleukin-1 production by activated macrophages surrounding loosened orthopaedic implants: A potential role in osteolysis. Br J Rheumatol 1994 (33) 309-316
- [5] Andersson M.K., Anissian L., Stark A., Bucht E., Fellander-Tsai L., Tsa J.A.: Synovial fluid from loose hip arthroplasties inhibits human osteoblasts. Clin Orthop 2000 (378) 148-154
- [6] Bader R., Steinhauser E., Guder S., Gregory J.K., Gradinger R., Mittelmeier W.: Modell zur In-vitro-Prüfung von Hüftendoprothesen-Stielen am Interface Implantat-oberfläche-Knochenzement.: In: Eigenschaften und Prüftechniken mechanisch beanspruchter Implantate. DVM-Arbeitskreis "Biowerkstoffe", DVM Berlin, 2002 165-174
- [7] Bader R., Steinhauser E., Guder S., Werner E., Schmitt M., Gradinger R., Mittelmeier W.: In-vitro-Simulation eines gelockerten, zementierten Hüftendoprothesen-Stieles. BIOMaterialien 2002 (3) 95
- [8] Bader R., Brem R., Holzwarth U., Choungthong P., Winklmeier D., Tübel J., Schmitt M., Mittelmeier W., Steinhauser E.: Destruktionsverhalten von Hüftendoprothesen-Stielen in der Grenzfläche Implantat-Knochenzement. BIOMaterialien 2003 4 (3) 206

- [9] Bader R., Steinhauser E., Brem R., Holzwarth U., Choungthong P., Winklmaier D., Tübel J., Schmitt M., Mittelmeier W.: Verschleißverhalten von zementierten Hüftendoprothesen-Stielen: Einfluss der Knochenzement-Zusammensetzung. DVM-Arbeitskreis "Biowerkstoffe", DVM Berlin, 2004 19-28
- [10] Bader R., Steinhauser E., Gattung G., Pießlinger-Schweiger S., Holzwarth U., Mittelmeier W.: Differences in the abrasive wear behaviour of cemented total hip stems with rough and electro-polished surface. Abstractbook 2. Vienna Future Symposium 2004 17-18
- [11] Bader R., Steinhauser E., Gollwitzer H., Brem R., Schmitt M., Mittelmeier W.: Analysis of the abrasive wear behaviour of cemented total hip stems with rough, smooth and polished surfaces. Transactions 7<sup>th</sup> World Biomaterials Congress 2004, 86
- [12] Bader R., Steinhauser E., Holzwarth U., Schmitt M., Mittelmeier W.: A novel test method for evaluation of the abrasive wear behaviour of total hip stems at the interface between implant surface and bone cement. Proc Inst Mech Eng [H] 2004 218 (4) 223-230
- [13] Bankston A.B., Faris P.M., Keating M., Ritter M.A.: Polyethylene Wear in Total Hip Arthroplasty in Patient-matched Groups. A comparison of Stainless Steel, Cobalt Chrome, and Titanium-bearing Surfaces. J Arthroplasty 1993 (8) 315-322
- [14] Bankston A.B., Cates H., Ritter M.A., Keating E.M., Faris P.M.: Polyethylene wear in total hip arthroplasty. Clin Orthop 1995 (317) 7-13
- [15] Bi Y., Seabold J.M., Kaar S.G., Ragab A.A., Goldberg V.M., Anderson J.M., Greenfield E.M.: Adherent Endotoxin on Orthopedic Wear Particles Stimulates Cytokine Production and Osteoclast Differentiation. J Bone Mineral Res 2001 (16) 2082-2091
- [16] Bischoff U.W., Freeman M.A., Smith D., Tuke M.A., Gregson P.J.: Wear induced by motion between bone and titanium or cobalt-chrome alloys. J Bone Joint Surg 1994 (76-Br) 713-716

- [17] Bos I.: Gewebereaktionen um gelockerte Hüftgelenkendoprothesen. Eine histologische Studie an Sekundärkapseln und Interfacemembranen. *Orthopäde* 2001 (30) 881-889
- [18] Bowditch M., Villar R.: Is titanium so bad? Medium-term outcome of cemented titanium stems. *J Bone Joint Surg* 2001 (83-Br) 680-685
- [19] Breusch S.J., Berghof R., Schneider U., Weiß G., Simank H.G., Lukoschek M., Ewerbeck V.: Der Stand der Zementiertechnik bei Hüfttotalendoprothesen in Deutschland. *Z Orthop* 1999 (137) 101-107
- [20] Breusch S.J., Aldinger P.R., Thomsen M., Ewerbeck V., Lukoschek M.: Verankerungsprinzipien in der Hüftendoprothetik. *Unfallchirurg* 2000 (103) 918-931
- [21] Breusch S.J., Lukoschek M., Kreutzer J., Brocai D., Gruen T.A.: Dependency of cement mantle thickness on femoral stem design and centralizer. *J Arthroplasty* 2001 (16) 648-657
- [22] Breusch S.J., Kühn K.D.: Knochenzemente auf Basis von Polymethylmethacrylat. *Orthopäde* 2003 (32) 41-50
- [23] Brien W.W., Salvati E.A., Betts F., Bullough P., Wright T., Rimnac C., Buly R., Garvin K.: Metal levels in cemented total hip arthroplasty. A comparison of well fixed and loose implants. *Clin Orthop* 1992 (276) 66-74
- [24] Buchhorn G.H., Willert H.G., Semlitsch M., Schoen R., Steinemann S., Schmidt M.: Preparation, Characterization, and Animal Testing for Biocompatibility of Metal Particles of Iron-, Cobalt-, and Titanium-Based Implant Alloys. In: John K.R.St. (Ed.): *Particulate Debris from Medical Implants: Mechanisms of Formation and Biological Consequences*, ASTM STP 1144, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1992, 177-188
- [25] Buly R.L., Huo M.H., Salvati E., Brien W., Bansal M.: Titanium Wear Debris in Failed Cemented Total Hip Arthroplasty. *J Arthroplasty* 1992 (7) 315-323

- [26] Caravia L., Dowson D., Fisher J., Jobbins B.: The influence of bone and bone cement debris on counterface roughness in sliding wear tests of ultra-high molecular weight polyethylene on stainless steel. Proc Inst Mech Eng [H] 1990 (204) 65-70
- [27] Case C.P., Langkamer V.G., James C., Palmer M.R., Kemp A.J., Heap P.F., Solomon L.: Widespread dissemination of metal debris from implants. J Bone Joint Surg 1994 (76-Br) 701-712
- [28] Chang P.B., Mann K.A., Bartel D.L.: Cemented Femoral Stem Performance. Clin Orthop 1998 (355) 57-69
- [29] Choungthong P., Guder S., Bader R., Warmuth S., Wintermantel E., Werner E.: Mikroschädigungen von Implantatoberflächen. BIOMaterialien 2003 4(4) 308-313
- [30] Collis D.K., Mohler C.G.: Comparison of clinical outcomes in total hip arthroplasty using rough and polished cemented stems with essentially the same geometry. J Bone Joint Surg 2002 (84-A) 586-592
- [31] Davies J.P., Singer G., Harris W.H.: The Effect of a Thin Coating of Polymethylmethacrylate on the Torsional Fatigue Strength of the Cement-Metal Interface. J Appl Biomater 1992 (3) 45-49
- [32] Doorn P.F., Campbell P.A., Amstutz H.C.: Metal versus polyethylene wear particles in total hip replacements. A review. Clin Orthop 1996 (329 Suppl.) 206-216
- [33] Dorr L.D., Bloebaum R., Emmanuel J., Meldrum R.: Histologic, biochemical, and ion analysis of tissue and fluids retrieved during total hip arthroplasty. Clin Orthop 1990 (261) 82-95
- [34] Ebramzadeh E., Sarmiento A., McKellop H.A., Llinas A., Gogan W.: The cement mantle in total hip arthroplasty. Analysis of long-term radiographic results. J Bone Joint Surg 1994 (76-Am) 77-87
- [35] Eingartner C., Volkmann R., Winter E., Maurer F., Ihm A., Weller S., Weise K.: Results of a cemented titanium alloy straight femoral shaft prosthesis after 10 years of follow-up Int Orthop 2001 (25) 81-84

- [36] Eingartner C., Ihm H., Maurer F., Volkmann R., Weise K., Weller S.: Gute langfristige Nachuntersuchungsergebnisse einer zementierten Titan-Geradschaftprothese. Unfallchirurg 2002 (105) 804-810
- [37] Elke R.: Partikelkrankheit. Ist die Tribologie ein Thema in der Revisionschirurgie? Orthopäde 2001 (30) 258-265
- [38] Emerson R.H., Head W.C., Emerson C.B., Rosenfeldt W., Higgins L.L.: A Comparison of Cemented and Cementless Titanium Femoral Components Used for Primary Total Hip Arthroplasty. A Radiographic and Survivorship Study. J Arthroplasty 2002 (17) 584-591
- [39] Evans B.G., Salvati E.A., Huo M.H., Huk O.L.: The rationale for cemented total hip arthroplasty. Orthop Clin North Am 1993 (24) 599-610
- [40] Fink U., Ungethüm M.: Metallische Prothesenwerkstoffe. In: Hipp E., Gradinger R., Ascherl R. (Hrsg.): Die zementlose Hüftprothese. Demeter Verlag GmbH, 1992, Gräfelfing, 14-17
- [41] Glant T.T., Yao J., Jacobs J.J.: Induction of bone resorbing agents by titanium particulates: Responses of macrophages, fibroblasts and osteoblasts *in vitro*. In: Brown S.A. and Lemons J.E. (Eds.): Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Material and Biological Issues, ASTM STP 1272, American Society for Testing and Materials, 1996, 333-344
- [42] Goodman S.B., Lind M., Song Y., Smith R.L.: In Vitro, In Vivo, and Tissue Retrieval Studies on Particulate Debris. Clin Orthop 1998 (352) 25-34
- [43] Granchi D., Verri E., Ciapetti G., Stea S., Savarino L., Sudanese A., Mieti M., Rotini R., Dallari D., Zinghi G., Montanaro L.: Bone-resorbing cytokines in serum of patients with aseptic loosening of hip prostheses. J Bone Joint Surg 1998 (80-Br) 912-917
- [44] Haynes D.R., Rogers S.D., Hay S., Percy M.J., Howie D.W.: The differences in toxicity and release of bone-resorbing mediators induced by titanium and cobalt-chromium-alloy wear particles. J Bone Joint Surg 1993 (75-Am) 825-834

- [45] Hinrichs F., Boudriot U., Griss P.: 10-Jahres-Ergebnisse mit einem zementierten feingestrahnten Titan-Aluminium-Vanadium-Hüftendoprothesenschaft. *Z Orthop* 2000 (138) 52-56
- [46] Howie D.W., McGee M.A.: Wear and Osteolysis in Relation to Prosthesis Design and Materials. In: Brown S.A. and Lemons J.E. (Eds.): *Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Material and Biological Issues*, ASTM STP 1272, American Society for Testing and Materials, 1996, 388-398
- [47] Huiskes R.: Stress shielding and bone resorption in THA: Clinical versus computer-simulation studies. *Acta Orthop Belg* 1993 (59 Suppl.) 118-129
- [48] Hunt N.P., Cunningham S.J., Golden C.G., Sheriff M.: An investigation into the effects of polishing on surface hardness and corrosion of orthodontic archwires. *Angle Orthod* 1999 (69) 433-439
- [49] Huo M.H., Salvati E.A., Lieberman J.R., Betts F., Bansal M.: Metallic Debris in Femoral Endosteolysis in Failed Cemented Total Hip Arthroplasties. *Clin Orthop* 1992 (276) 157-168
- [50] Jacobs J.J., Skipor A.K., Patterson L.M., Hallab N.J., Paprosky W.G., Black J., Galante J.O.: Metal Release in Patients who have had a Primary Total Hip Arthroplasty. *J Bone Joint Surg* 1998 (80-Am) 1447-1458
- [51] Jergesen H.E., Karlen J.W.: Clinical Outcome in Total Hip Arthroplasty Using a Cemented Titanium Femoral Prosthesis. *J Arthroplasty* 2002 (17) 592-599
- [52] Korovessis P., Repanti M.: Evolution of aggressive granulomatous periprosthetic lesions in cemented hip arthroplasties. *Clin Orthop* 1994 (300) 155-161
- [53] Kwon S.Y., Lin T., Takei H., Ma Q., Wood D.J., O'Connor D., Sung K.L.: Alterations in the adhesion behavior of osteoblasts by titanium particle loading: inhibition of cell function and gene expression. *Biorheology* 2001 (38) 161-183
- [54] LaBudde J.K., Orosz J.F., Bonfiglio T.A., Pellegrini V.D.: Particulate Titanium and Cobalt-chrome Metallic Debris in Failed Total Knee Arthroplasty. A Quantitative Histologic Analysis. *J Arthroplasty* 1994 (9) 291-304

- [55] Laupacis A., Bourne R., Rorabeck C., Feeny D., Tugwell P., Wong C.: Comparison of total hip arthroplasty performed with and without cement: a randomized trial. *J Bone Joint Surg* 2002 (84-Am) 1823-1828
- [56] Lee J.M., Salvati E.A., Betts F., DiCarlo E.F., Doty S.B., Bullough P.G.: Size of metallic and polyethylene debris particles in failed cemented total hip replacements. *J Bone Joint Surg* 1992 (74-Br) 380-384
- [57] Lee S.H., Brennan F.R., Jacobs J.J., Urban R.M., Ragasa D.R., Glant T.T.: Human Monocyte/Macrophage Response to Cobalt-Chromium Corrosion Products and Titanium Particles in Patients with Total Joint Replacements. *J Orthop Res* 1997 (15) 40-49
- [58] Li F., Wirz D., Zurfluh B., Morscher E. (Labor für Orthopädische Biomechanik, Universität Basel): Spuren mechanischen Verschleisses bei der Lockerung zementierter Hüftendoprothesenschäfte. Persönliche Mitteilung, 2000, Basel
- [59] Lichtinger T.K., Schürmann N., Müller R.T.: Frühlockerungen eines zementierten Hüftendoprothesenstiels ausTitan. *Unfallchirurg* 2000 (103) 956-960
- [60] Long M., Rack H.J.: Titanium alloys in total joint replacement – a materials science perspective. *Biomaterials* 1998 (19) 1621-1639
- [61] Maloney W.J., Smith R.L., Schmalzried T.P., Chiba J., Huene D., Rubash H.: Isolation and Characterization of Wear Particles Generated in Patients Who Have Had Failure of a Hip Arthroplasty without Cement. *J Bone Joint Surg* 1995 (77-A) 1301-1310
- [62] Maloney W.J., Sun D.H., Nakashima Y., James R., Smith R.L.: Effects of serum protein opsonization on cytokine release by alloy particles. *J Biomed Mater Res* 1998 (41) 371-376
- [63] Mann K.A., Bartel D.L., Wright T.M., Inghraffa A.R.: Mechanical Characteristics of the Stem-Cement Interface. *J Orthop Res* 1991 (9) 798-808

- [64] Massoud S.N., Hunter J.B., Holdsworth B.J., Wallace W.A., Juliusson R.: Early femoral loosening in one design of cemented hip replacement. *J Bone Joint Surg* 1997 (79-Br) 603-608
- [65] Maurer T.B., Ochsner P.E., Schwarzer G., Schumacher M.: Increased loosening of cemented straight stem prostheses made from titanium alloys. An analysis and comparison with prostheses made of cobalt-chromium-nickel alloy. *Int Orthop* 2001 (25) 77-80
- [66] McGrath L.R., Shardlow D.L., Ingham E., Andrews M., Ivory J., Stone M.H., Fisher J.: A retrieval study of capital hip prostheses with titanium alloy femoral stems. *J Bone Joint Surg* 2001 (83-Br) 1195-1201
- [67] Mohler C.G., Callaghan J.J., Collis D.K., Johnston R.C.: Early Loosening of the Femoral Component at the Cement-Prosthesis Interface after Total Hip Replacement. *J Bone Joint Surg* 1995 (77-Am) 1315-1322
- [68] Morscher E.W., Wirz D.: Current state of cement fixation in THR. *Acta Orthop Belg* 2002 (68) 1-12
- [69] Mulliken B.D., Nayak N., Bourne R.B., Rorabeck C.H., Bullas R.: Early radiographic results comparing cemented and cementless total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 1996 (11) 24-33
- [70] Nakashima Y., Sun D.H., Trindade M.C., Chun L.E., Song Y., Goodman S.B., Schurman D.J., Maloney W.J., Smith R.L.: Induction of macrophage C-C chemokine expression by titanium alloy and bone cement particles. *J Bone Joint Surg* 1999 (81-Br) 155-162
- [71] Nakashima Y., Sun D.H., Trindada M.C., Maloney W.J., Goodman S.B., Schurman D.J., Smith R.L.: Signaling Pathways for Tumor Necrosis Factor- $\alpha$  and Interleukin-6 Expression in Human Macrophages Exposed to Titanium-Alloy Particulate Debris in Vitro. *J Bone Joint Surg* 1999 (81-Am) 603-615
- [72] Neale S.D., Haynes D.R., Howie D.W., Murray D.W., Athanasou N.A.: The Effect of Particle Phagocytosis and Metallic Wear Particles on Osteoclast Formation and Bone Resorption *In Vitro*. *J Arthroplasty* 2000 (15) 654-662

- [73] Peters C.L., Bachus K.N., Craig M.A., Higginbotham T.O.: The Effect of Femoral Prosthesis Design on Cement Strain in Cemented Total Hip Arthroplasty. *J Arthroplasty* 2001 (16) 216-224
- [74] Räber D.A., Czaja S., Morscher E.W.: Fifteen-year results of the Müller CoCrNiMo Straight Stem. *Arch Orthop Trauma Surg* 2001 (121) 38-42
- [75] Rader C.P., Sterner T., Jakob F., Schütze N., Eulert J.: Cytokine Response of Human Makrophage-like Cells After Contact With Polyethylene and Pure Titanium Particles. *J Arthroplasty* 1999 (14) 840-848
- [76] Ramaniraka N.A., Rakotomanana L.R., Leyvraz P.F.: The fixation of the cemented femoral component. Effects of stem stiffness, cement thickness and roughness of the cement-bone surface. *J Bone Joint Surg* 2000 (82-Br) 297-303
- [77] Rogers S.D., Pearcy M.J., Hay S.J., Haynes D.R., Bramley A., Howie D.W.: A Method for Production and Characterization of Metal Prosthesis Wear Particles. *J Orthop Res* 1993 (11) 856-864
- [78] Rogers S.D., Howie D.W., Haynes D.R., Pearcy M.J.: The in vitro response to particulate titanium alloy. In: Brown S.A. and Lemons J.E. (Eds.): *Medical Applications of Titanium and Its Alloys: The Material and Biological Issues*, ASTM STP 1272, American Society for Testing and Materials, 1996, 297-305
- [79] Rogers S.D., Howie D.W., Graves S.E., Pearcy M.J., Haynes D.R.: In vitro human monocyte response to wear particles of titanium alloy containing vanadium or niobium. *J Bone Joint Surg* 1997 (79-Br) 311-315
- [80] Rorabeck, C.H., Bourne R.B., Mulliken B.D., Nayak N., Laupacis A., Tugwell P., Feeney D.: The Nicholas Andry Award: Comparative results of cemented and cementless total hip arthroplasty. *Clin Orthop* 1996 (325) 330-344
- [81] Rostoker G., Robin J., Binet O., Blamoutier J., Paupe J., Lessana-Leibowitch M., Bedouelle J., Sonneck J.M., Garrel J.B., Millet P.: Dermatitis Due to Orthopaedic Implants. *J Bone Joint Surg* 1987 (69-Am) 1408-1412

- [82] Rubash H.E., Sinha R.K., Shanbhag A.S., Kim S.Y.: Pathogenesis of bone loss after total hip arthroplasty. *Orthop Clin North Am* 1998 (29) 173-186
- [83] Sabokbar A., Rushton N.: Role of Inflammatory Mediators and Adhesion Molecules in the Pathogenesis of Aseptic Loosening in Total Hip Arthroplasties. *J Arthroplasty* 1995 (10) 810-816
- [84] Salvati E.A., Betts F., Doty S.B.: Particulate Metallic Debris in Cemented Total Hip Arthroplasty. *Clin Orthop* 1993 (293) 160-173
- [85] Schmalzried T.P., Callaghan J.J.: Current Concepts Review. Wear in Total Hip and Knee Replacements. *J Bone Joint Surg* 1999 (81-Am) 115-136
- [86] Schöll E., Eggli S., Ganz R.: Osteolysis in Cemented Titanium Alloy Hip Prosthesis. *J Arthroplasty* 2000 (15) 570-575
- [87] Schuh A., Holzwarth U., Kachler W., Göske J.: Oberflächenkontamination nach Kugelstrahlen in der Herstellung von Hüftgelenkimplantaten. Vortrag 6. Internationale Biomechanik- und Biomaterial-Tage, 2003, München.
- [88] Scott M., Widding K., Ries M., Shanbhag A.: Wear particle analyses of conventional and crosslinked UHMWPE tested in an anatomic hip simulator. Scientific Exhibit at 47<sup>th</sup> Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, 2001, San Francisco, CA.
- [89] Shanbhag A.S., Jacobs J.J., Glant T.T., Gilbert J.L., Black J., Galante J.O.: Composition and morphology of wear debris in failed uncemented total hip replacement. *J Bone Joint Surg* 1994 (76-Br) 60-67
- [90] Shanbhag A.S., Jacobs J.J., Black J., Galante J.O., Glant T.T.: Human Monocyte Response to Particulate Biomaterials Generated *In Vivo* and *In Vitro*. *J Orthop Res* 1995 (13) 792-801
- [91] Shanbhag A.S., Jacobs J.J., Black J., Galante J.O., Glant T.T.: Effects of Particles on Fibroblast Proliferation and Bone Resorption in Vitro. *Clin Orthop* 1997 (342) 205-217

- [92] Sun J.S., Lin F.H., Tsuang Y.H., Chen L.T., Hong R.C., Chang W.H., Liu H.C.: Effect of anti-inflammatory medication on monocyte response to titanium particles. *J Biomed Mater Res* 2000 (52) 509-516
- [93] Thomas B.J., Saa J., Lane J.M.: Total hip arthroplasty. *Curr Opin Rheumatol* 1996 (8) 148-153
- [94] Thomas P., Barnstorf S., Summer B., Fischer-Brandies E., Przybilla B.: Gibt es Titanunverträglichkeit? *BIOMaterialien* 2002 (3) 90
- [95] Tompkins G.S., Lachiewicz P.F., DeMasi R.: A prospective study of a titanium femoral component for cemented total hip arthroplasty. *J Arthroplasty* 1994 (9) 623-630
- [96] Traue A.: Biochemischer Einfluss von Titanpartikeln auf Osteoblasten-Zellkulturen. Medizinische Dissertation, Fakultät für Medizin, Technische Universität München, 2003.
- [97] Ungethüm M., Winkler-Gniewek W.: Metallische Werkstoffe in der Orthopädie und Unfallchirurgie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 1984.
- [98] Verdonschot N., Huiskes R.: Surface roughness of debonded straight-tapered stems in cemented THA reduces subsidence but not cement damage. *Biomaterials* 1998 (19) 1773-1779
- [99] Verdonschot N., Tanck E., Huiskes R.: Effects of prosthesis surface roughness on the failure process of cemented hip implants after stem-cement debonding. *J Biomed Mater Res* 1998 (42) 554-559
- [100] Viceconti M., Ruggeri O., Toni A., Giunti A.: Design-related fretting wear in modular neck hip prosthesis. *J Biomed Mater Res* 1996 (30) 181-186
- [101] Wan Z., Dorr L.D., Woodsome T., Ranawat A., Song M.: Effect of stem stiffness and bone stiffness on bone remodeling in cemented total hip replacement. *J Arthroplasty* 1999 (14) 149-158

- [102] Willert H.G., Brobäck L.G., Buchhorn G.H., Jensen P.H., Köster G., Lang I., Ochsner P., Schenk R.: Crevice Corrosion of Cemented Titanium Alloy Stems in Total Hip Replacement. Clin Orthop 1996 (333) 51-75
- [103] Willert H.G., Semlitsch M.: Tissue Reactions to Plastic and Metallic Wear Products of Joint Endoprostheses. Clin Orthop 1996 (333) 4-14
- [104] Wimmer M.A., Bluhm A., Kunze J., Heckel L., Morlock M. M., Schneider E.: Fretting wear of titanium and cobalt-chromium alloys against bone-cement. Scientific Exhibit at 44<sup>th</sup> Annual Meeting, Orthopaedic Research Society, 1998, New Orleans, Louisiana.
- [105] Wimmer M.A., Bluhm A., Kunze J., Morlock M. M., Schneider E.: Friction and Wear of Titanium against Bone Cement is Affected by Surface Finish. Scientific Exhibit at 25<sup>th</sup> Annual Meeting, Society for Biomaterials, 1999.
- [106] Wirtz D.Ch., Niethard F.U.: Ursachen, Diagnostik und Therapie der aseptischen Hüftendoprothesenlockerung – eine Standortbestimmung. Z Orthop 1997 (135) 270-280
- [107] Wirz D., Zurfluh B., Li F., Morscher E.: Röntgenkontrastmittel: Ein "Schleifpulver" im Zement/Implantat Interface? Vortrag 3. Internationale Biomechanik- und Biomaterial-Tage, 2000, München.
- [108] Yang I.H., Kim S.Y., Rubash H.E., Shanbhag A.S.: Fabrication of Submicron Titanium-Alloy Particles for Biological Response Studies. J Biomed Mater Res 1999 (48) 220-223
- [109] Zeiler G., Distler A.: Probleme zementierter Titanendoprothesenschäfte. BIOMaterialien 2000 (1) 19-24

## 7.2 Abbildungsverzeichnis

Wenn der Buchstabe **A** erscheint, bedeutet dies, dass sich die Abbildung im Anhang befindet.

- Abb. 1.1** Revision eines Hüftendoprothesen-Stiels aus Titan. Ansammlung von schwärzlich-gefärbtem periprothetischen Granulationsgewebe
- Abb. 3.1** Prüfstand zur Partikelerzeugung.
- Abb. 3.2** Detailausschnitt aus der Abb. 3.1: Einspannvorrichtung des Endoprothesen-Stiels (ESV-Stiel), sowie des Zementköchers (ESV-ZK), Fp: Anpresskraft, eingeleitet über Hydraulikzylinder.
- Abb. 3.3** Einleitung der Anpresskraft Fp in den 3-teiligen Zementköcher über zwei drehbar gelagerte Backen, die zudem horizontal uni-axial verschiebbar sind.
- Abb. 3.4** Schemazeichnung des Prüfstands zur Partikelgenerierung.
- Abb. 3.5** Vorrichtung zur Herstellung der Zementköcher.
- Abb. 3.6** Prüfobjekte im Ausgangszustand: anatomische Hüftendoprothesen-Stiele aus TiAl6Nb7 (links) und CoCr28Mo6 (rechts).
- Abb. 3.7** Detailansicht der Einspannvorrichtung des Hüftendoprothesen-Stiels mit Darstellung der Grenzfläche Endoprothesenstiel-Zementköcher sowie Auffangbehälter aus Polytetrafluorethylen.
- Abb. 3.8** Mastersizer 2000, Fa. Malvern, Worcestershire, UK.
- Abb. 3.9** CILAS-Gerät 920, Fa. Quantachrome, Odelzhausen.
- Abb. 3.10** Atomabsorptionsspektrometer Spectr AA 30/40 Zeeman, Fa. Varian, Darmstadt.
- Abb. 3.11** Schemabild des Funktionsprinzips des Atomabsorptionsspektrometers.
- Abb. 3.12** Durchflusszytometer (FACSCalibur™, Fa. Becton-Dickinson, Heidelberg).

- Abb. 3.13** Schemabild des Funktionsprinzips des Durchflusszytometers.
- Abb. 3.14** Verwendete Gefäße im Partikelverlustversuch: Eppendorf-Reaktionsgefäß (links außen), Biozym-Reaktionsgefäß (links Mitte), Glasgefäß (rechts Mitte) und Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen (rechts außen).
- Abb. 3.15** Schemabild zur Vorgehensweise beim Partikelverlust-Versuch.
- Abb. 3.16** Cell Counter, Casy<sup>®</sup> 1, Fa. Schärfe, Reutlingen
- Abb. 3.17** Untersuchte Testkörper hinsichtlich Partikeladhärenz bzw. Verschmutzung a: Eppendorf-Reaktionsgefäß. b: Biozym-Reaktionsgefäß. c: Glasgefäß. d: Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen. e: Polyolefine BR 735 G - 3187. f: Polyolefine EP 548S.
- Abb. 3.18** Untersuchte Pipetten hinsichtlich Partikeladhärenz bzw. Verschmutzung: a: Eppendorf-Pipette (links), Biozym-Pipette (Mitte), silikonisierte Biozym-Pipette (rechts). b: Combitips plus-Pipette. c: Pasteurpipette.
- Abb. 3.19** Untersuchte Folien hinsichtlich Partikeladhärenz bzw. Verschmutzung: (1) Siliconplatte 0,5 mm; (2) Norflex Polysterolfolie 0,05 mm; (3) Norflex Polysterolfolie 0,2 mm; (4) Anti-Haftglasfolie beidseitig; (5) PTFE Glasfaserfolie; (6) Propafilm MTX; (7) Propafilm RHX; (8) Anti-Haftgasfolie beidseitig; (9) Metallisierte Folie (Geschenkpapier); (10) Folie zur Nahrungsmittelaufbewahrung (Chipstüte).
- Abb. 4.1** Hüftendoprothesen-Stiele nach Prüfende, Reinigung bzw. Entfernung des Abriebpulvers. Pfeile kennzeichnen geglättete Oberflächenareale. Rauer Stiel aus TiAl6Nb7 (links) bzw. rauher Stiel aus CoCr28Mo6 (rechts).
- Abb. 4.2** Zementköcher nach Prüfung. Palacos<sup>®</sup> R mit ZrO<sub>2</sub> nach Testung gegen rauhen TiAl6Nb7-Stiel (links) bzw. Palacos R ohne ZrO<sub>2</sub> nach Testung gegen glatten CoCr28Mo6-Stiel rechts).
- Abb. 4.3** REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines unbeanspruchten rauhen CoCr28Mo6- (links) bzw. TiAl6Nb7-Stiels (rechts) bei 500-facher Vergrößerung. Die Pfeile kennzeichnen die sichtbaren Täler der gebirgsähnlichen Oberflächenstruktur.

- Abb. 4.4** REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines unbeanspruchten glatt gestrahlten CoCr28Mo6-Stiels in 500-facher (links) bzw. 2000-facher (rechts) Vergrößerung mit einzelnen Vertiefungen (→) im Oberflächenrelief.
- Abb. 4.5** REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten rauhen Stiels aus CoCr28Mo6, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Links: 500-fache Vergrößerung mit eingeebneten Oberflächenpeaks (→), rechts: 1.000-fache Vergrößerung mit abrasivem Verschleiß in Richtung der Relativbewegungen von Stiel und Zementköcher (↔).
- Abb. 4.6** REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten rauhen Stiels aus CoCr28Mo6, gelaufen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. Links: 500-fache Vergrößerung kaum abrasive Veränderungen, rechts: 5.000-fache Vergrößerung deutliche abrasive Veränderungen in Belastungsrichtung (↔).
- Abb. 4.7** REM-Aufnahmen eines im Prüfstand getesteten glatt gestrahlten Stiel aus CoCr28Mo6, gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub>. Links: geringfügige Zeichen abrasiven Verschleißes (2.000-fache Vergrößerung). Rechts: Zeichen abrasiven Verschleißes in Richtung der Relativbewegungen von Stiel und Zementköcher (↔) und einem an der Endoprothesen-Oberfläche anhaftenden Strahlpartikel (→) (5.000-fache Vergrößerung).
- Abb. 4.8** Links: Beanspruchungsspuren auf der Oberfläche eines Zementköchers (Palacos<sup>®</sup> R mit ZrO<sub>2</sub>) nach Test gegen einen rauhen TiAl6Nb7-Endoprothesenstiel. Rechts: Schuppenförmige Knochenzementpartikel mit Größen im sub-µm-Bereich bis ca. 5 µm.
- Abb. 4.9** Native, in der Grenzfläche Endoprothesen-Stiel-Knochenzement generierte Abriebpulver. Links: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Rechts: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>.
- Abb. 4.10** Teilchengrößenverteilung von generiertem, unbehandeltem Abriebpulver mittels Mastersizer. a) Abriebpulver von Testung eines glatten CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. b) Abriebpulver von Testung eines

rauen CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. c) Testung eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>.

- Abb. 4.11** Natives Abriebpulver eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. REM-Bild (5.000-fache Vergrößerung) (links) und zugehöriges EDX-Spektrum (rechts).
- Abb. 4.12** Oben: REM-Aufnahmen (10.000-fache Vergrößerung) eines Knochenzementpartikels im nativen Abriebpulver eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Unten: zugehörige EDX-Spektren.
- Abb. 4.13** Natives Abriebpulver eines glatt gestrahlten Endoprothesen-Stiels aus TiAl6Nb7, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. REM-Bild (10.000-fache Vergrößerung) und zugehöriges EDX-Spektrum.
- Abb. 4.14** Aufbereitungsschritte des Abriebpulvers eines glatten CoCr28Mo6-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>, zur Eliminierung des Knochenzements. Links: Erster Überstand. Mitte: Erster Waschgang. Rechts: reingewaschene Probe.
- Abb. 4.15** Kobalt-Konzentrationen im nativen Abriebpulver, in verschiedenen Überständen nach Aufbereitung des Abriebpulvers bzw. Eliminierung von PMMA mittels organischem Lösungsmittel (DMSO, DMF, Aceton), während (Waschgang) und nach dessen Auswaschen mittels Aqua dest. (reingewaschene Probe). Partikel wurden im Interface zwischen einem glatten CoCr28Mo6-Stiel und Knochenzement Palacos® R mit ZrO<sub>2</sub> generiert.
- Abb. 4.16** Titan-Konzentrationen im nativen Abriebpulver, in verschiedenen Überständen nach Aufbereitung des Abriebpulvers bzw. Eliminierung von PMMA mittels organischem Lösungsmittel (DMSO) und nach dessen Auswaschen mittels Aqua dest. (reingewaschene Probe). Partikel wurden im Interface zwischen einem rauhen TiAl6Nb7-Stiel und Knochenzement Palacos® R mit ZrO<sub>2</sub> generiert.
- Abb. 4.17** Partikelrückstände nach Filtration des aufbereiteten Abriebpulvers eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. REM-Bild (5.000-fache Vergrößerung) und dazugehörige EDX-Spektren.

- Abb. 4.18** Aufbereiteter Überstand eines glatt gestrahlten Hüftendoprothesen-Stiels aus CoCr28Mo6, gelaufen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. Oben: REM-Bild in 2000-facher Vergrößerung, rechts mit Detailausschnitt. Unten: Röntgenverteilungsbilder des Detailausschnitts. Unten links mit Chrom-Darstellung, unten rechts mit Kobalt-Darstellung.
- Abb. 4.19** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten: Ausgangslösung: Titanpulver + PBS mit Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.20** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren in Prozent bei verschiedenen Gefäßen, in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). Oben links: Biozym-Cups pipettiert mit Biozym-Pipetten. Oben rechts: Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen pipettiert mit Serumpipetten. Unten links: Eppendorf-Cups pipettiert mit Eppendorf-Pipetten.
- Abb. 4.21** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei verschiedenen Gefäßen: LEERMESSUNG ohne Titanpartikel: Ausgangslösung: Aqua dest. + PBS mit Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.22** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei verschiedenen Gefäßen, in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). LEERMESSUNGEN ohne Titanpartikel. Oben links: Biozym-Cups pipettiert mit Biozym-Pipetten. Oben rechts: Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen pipettiert mit Serumpipetten. Unten links: Eppendorf-Cups pipettiert mit Eppendorf-Pipetten.
- Abb. 4.23** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei verschiedenen Gefäßen - hier unter Berücksichtigung der Leermessung. Ausgangslösung: Titanpulver + PBS mit Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.24** Änderung der Partikelkonzentration in Prozent nach Eintauchen verschiedener Testkörper infolge von Partikeladhärenz an den Testkörpern bzw. deren Verschmutzung.

- Abb. 4.25** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier ohne vorheriges Ausspülen der Pipetten. LEERMESSUNG ohne Titanpartikel.
- Abb. 4.26** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier mit vorherigem Ausspülen der Pipetten mit Aqua dest. LEERMESSUNG ohne Titanpartikel.
- Abb. 4.27** Änderung der Partikelkonzentration nach Eintauchen verschiedener Folien infolge von Partikeladhärenz an den Folien bzw. deren Verschmutzung - hier ohne vorheriges Waschen der Folien. Folie 1: Siliconplatte 0,5 mm. Folie 2: Norflex Polyesterfolie 0,05 mm. Folie 3: Norflex Polyesterfolie 0,2 mm. Folie 4: Anti-Haftglasfolie beidseitig. Folie 5: PTFE Glasfaserfolie. Folie 6: Propafilm MTX. Folie 7: Propafilm RHX.
- Abb. 4.28** Änderung der Partikelkonzentration nach Eintauchen verschiedener Folien durch Partikeladhärenz an den Folien bzw. deren Verschmutzung - hier mit vorherigem Waschen der Folien und unter Berücksichtigung der Leermessungen. Folie 1: Siliconplatte 0,5 mm. Folie 3: Norflex Polyesterfolie 0,2 mm. Folie 4: Anti-Haftglasfolie beidseitig. Folie 5: PTFE Glasfaserfolie. Folie 6: Propafilm MTX. Folie 7: Propafilm RHX. Folie 8: Anti-Haftglasfolie beidseitig. Folie 9: Metallisierte Folie (Geschenkpapier). Folie 10: Folie zur Nahrungsmittelaufbewahrung (Chipstüte).
- Abb. 3.1A** Prinzip der Laserbeugung als Funktionsprinzip des Mastersizer 2000, Fa. Malvern, Worcestershire, UK (aus Informationsbroschüre Mastersizer, Fa. Malvern, Herrenberg)
- Abb. 3.2A** Beim Versuch zum Partikelverlust im Zusammenhang mit Falcon<sup>®</sup>-Röhrchen verwendete serologische Pipette.
- Abb. 4.1A** Zementköcher nach Prüfung. Oben links: CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub> nach Testung gegen rauhen CoCr28Mo6-Stiel. Oben rechts: Sulcem<sup>®</sup> 1 hochviskös mit ZrO<sub>2</sub> nach Testung gegen rauhen CoCr28Mo6-Stiel. Unten links: Sulcem<sup>®</sup> 3 niedrigviskös mit ZrO<sub>2</sub> nach Testung gegen rauhen CoCr28Mo6-Stiel.

- Abb. 4.2A** REM-Aufnahme von der Oberfläche eines unbeanspruchten rauhen CoCr28Mo6-Stiels bei 500-facher Vergrößerung. Die Pfeile kennzeichnen die sichtbaren Täler der gebirgsähnlichen Oberflächenstruktur.
- Abb. 4.3A** REM-Aufnahme von der Oberfläche eines unbeanspruchten glatt gestrahlten TiAl6Nb7-Stiels mit einzelnen Vertiefungen (→) im Oberflächenrelief.
- Abb. 4.4A** REM-Aufnahme (5.000-fache Vergrößerung) von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten rauhen CoCr28Mo6-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>, mit Nachweis zahlreicher Zr-Partikel an der Stieloberfläche.
- Abb. 4.5A** REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten rauhen Stiels aus TiAl6Nb7, gelaufen gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub>. Links: sichtbare Einebnungen der Oberflächenstruktur (500-fache Vergrößerung). Rechts: deutliche abrasive Veränderungen in Belastungsrichtung (↔) (5.000-fache Vergrößerung).
- Abb. 4.6A** REM-Aufnahme von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten glatt gestrahlten Stiels aus TiAl6Nb7, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>, mit geringfügigen Zeichen abrasiven Verschleißes der Stieloberfläche, die in Belastungsrichtung verlaufen und abgelagerten Knochenzement-Partikeln.
- Abb. 4.7A** Native, in der Grenzfläche Endoprothesen-Stiel-Knochenzement generierte Abriebpulver. Oben links: Von rauem TiAl6Nb7-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Oben rechts: Von glattem TiAl6Nb7-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. Unten links: Von glattem TiAl6Nb7-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>.
- Abb. 4.8A** Native, in der Grenzfläche Endoprothesen-Stiel-Knochenzement generierte Abriebpulver. Links: Von rauem TiAl6Nb7-Stiel, rechts: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, beide gelaufen gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub>.
- Abb. 4.9A** Native, in der Grenzfläche Endoprothesen-Stiel-Knochenzement generierte Abriebpulver. Links: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, gelaufen gegen nied-

rigviskösen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 3. Rechts: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, gelaufen gegen hochviskösen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1.

- Abb. 4.10A** Teilchengrößenverteilung von generiertem, unbehandeltem Abriebpulver mittels Mastersizer. a) Abriebpulver von Testung eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. b) Abriebpulver von Testung eines glatten CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. c) Testung eines rauhen CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. d) Abriebpulver von Testung eines glatten TiAl6Nb7-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. e) Abriebpulver von Testung eines glatten CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub>.
- Abb. 4.11A** Teilchengrößenverteilung - ermittelt am Lasergranulometer - von unbehandeltem Abriebpulver aus der Testung eines glatten CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>.
- Abb. 4.12A** Natives Abriebpulver eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Oben: REM-Aufnahmen (6.000-fache Vergrößerung). Unten: zugehörige EDX-Spektren.
- Abb. 4.13A** REM-Aufnahme (2.000-fache Vergrößerung) vom nativen Abriebpulver eines glatt gestrahlten TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>.
- Abb. 4.14A** Kobalt-Konzentration im nativen Abriebpulver, in verschiedenen Überständen nach Aufbereitung des Abriebpulvers bzw. Eliminierung von PMMA mittels organischem Lösungsmittel (DMSO, DMF) und während (Waschgang) und nach dessen Auswaschen mittels Aqua dest. (reingewaschene Probe). Partikel wurden im Interface zwischen einem glatten CoCr28Mo6-Stiel und Knochenzement Palacos R ohne ZrO<sub>2</sub> generiert.
- Abb. 4.15A** Titan-Konzentration im nativen Abriebpulver, in verschiedenen Überständen nach Aufbereitung des Abriebpulvers bzw. Eliminierung von PMMA mittels organischem Lösungsmittel (DMSO, DMF, Aceton) und nach dessen Auswaschen mittels Aqua dest. (reingewaschene Probe). Partikel wurden im Interface zwischen einem rauhen TiAl6Nb7-Stiel und Knochenzement Palacos R ohne ZrO<sub>2</sub> generiert.

- Abb. 4.16A** Partikelrückstände nach Filtration des aufbereiteten Abriebpulvers eines rauen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Oben links: REM-Aufnahme (5.000-fache Vergrößerung). Röntgenverteilungsbilder: Oben rechts: Aluminium, unten links: Titan, unten rechts: Zirkon.
- Abb. 4.17A** Partikelrückstände nach Filtration der Überstände des aufbereiteten Abriebpulvers eines glatt gestrahlten TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Links: REM-Bild (10.000-fache Vergrößerung). Rechts: Zugehöriges EDX-Spektrum.
- Abb. 4.18A** Partikelrückstände nach Filtration des aufbereiteten Abriebpulvers eines glatt gestrahlten Stiels aus CoCr28Mo6, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. REM-Bild (7.000-fache Vergrößerung) und zugehörige EDX-Spektren.
- Abb. 4.19A** REM-Aufnahmen des aufbereiteten Abriebpulvers eines rauen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. Links: In 2.000-facher Vergrößerung. Rechts: Detailausschnitt in 5.000-facher Vergrößerung.
- Abb. 4.20A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von unfraktionierten, gewaschenen Partikeln aus der Testung eines rauen Titan-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>.
- Abb. 4.21A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines rauen Titan-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>.
- Abb. 4.22A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines glatten Titan-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>.
- Abb. 4.23A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines glatten Kobalt-Chrom-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>.
- Abb. 4.24A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines glatten Kobalt-Chrom-Stiels gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>.

- Abb. 4.25A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines rauen Kobalt-Chrom-Stiels gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ .
- Abb. 4.26A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von kommerziellen cp-Titan-Partikeln (mittlere Körnung  $3\ \mu m$ ).
- Abb. 4.27A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von kommerziellen  $TiO_2$ -Partikeln (mittlere Körnung  $0,5\ \mu m$ ).
- Abb. 4.28A** Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von kommerziellen  $TiO_2$ -Partikeln (mittlere Körnung  $1,8\ \mu m$ ).
- Abb. 4.29A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten: Ausgangslösung: Titanpulver + PBS ohne Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.30A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten: Ausgangslösung: Titanpulver + Medium mit Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.31A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten: Ausgangslösung: Titanpulver + Medium ohne Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.32A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten in Prozent: Ausgangslösung: Titanpulver + PBS mit Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.33A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten in Prozent: Ausgangslösung: Titanpulver + PBS ohne Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.34A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten in Prozent: Ausgangslösung: Titanpulver + Medium mit Ultraschall behandelt.

- Abb. 4.35A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten in Prozent: Ausgangslösung: Titanpulver + Medium ohne Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.36A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren in Prozent bei GLASGEFÄßEN (pipettiert mit Pasteurpipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).
- Abb. 4.37A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren in Prozent bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Biozym-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).
- Abb. 4.38A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren in Prozent bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Combitips plus-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).
- Abb. 4.39A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei GLASGEFÄßEN (pipettiert mit Pasteur-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).
- Abb. 4.40A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Eppendorf-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).
- Abb. 4.41A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Biozym-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).
- Abb. 4.42A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Combitips plus-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).
- Abb. 4.43A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei FALCON®-RÖHRCHEN (pipettiert mit Serum-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

- Abb. 4.44A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei BIOZYM-CUPS (pipettiert mit Biozym-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).
- Abb. 4.45A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen: LEERMESSUNG ohne Titanpartikel: Ausgangslösung: Aqua dest. + PBS ohne Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.46A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen: LEERMESSUNG ohne Titanpartikel: Ausgangslösung: Aqua dest. + Medium mit Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.47A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen: LEERMESSUNG ohne Titanpartikel: Ausgangslösung: Aqua dest. + Medium ohne Ultraschall behandelt.
- Abb. 4.48A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei GLASGEFÄßEN (pipettiert mit Pasteurpipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). LEERMESSUNGEN ohne Titanpartikel.
- Abb. 4.49A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Biozym-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). LEERMESSUNGEN ohne Titanpartikel.
- Abb. 4.50A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Combitps plus-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). LEERMESSUNGEN ohne Titanpartikel.
- Abb. 4.51A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen - hier unter Berücksichtigung der Leermessung. Ausgangslösung: Titanpulver + PBS ohne Ultraschallbehandlung.

- Abb. 4.52A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen - hier unter Berücksichtigung der Leermessung. Ausgangslösung: Titanpulver + Medium mit Ultraschallbehandlung.
- Abb. 4.53A** Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen - hier unter Berücksichtigung der Leermessung. Ausgangslösung: Titanpulver + Medium ohne Ultraschallbehandlung.
- Abb. 4.54A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration nach Eintauchen verschiedener Testkörper durch Partikeladhärenz an die Testkörper bzw. Verschmutzung der Testkörper.
- Abb. 4.55A** Änderung der Partikelkonzentration nach Eintauchen verschiedener Testkörper durch Partikeladhärenz an die Testkörper bzw. Verschmutzung der Testkörper. LEERMESSUNG ohne Titanpartikel.
- Abb. 4.56A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration nach Eintauchen verschiedener Testkörper durch Partikeladhärenz an die Testkörper bzw. Verschmutzung der Testkörper - hier unter Berücksichtigung der Leermessung.
- Abb. 4.57A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier ohne vorheriges Ausspülen der Pipetten.
- Abb. 4.58A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration in Prozent durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier ohne vorheriges Ausspülen der Pipetten.
- Abb. 4.59A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier ohne vorheriges Ausspülen der Pipetten und unter Berücksichtigung der Leermessungen.
- Abb. 4.60A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier mit vorherigem Ausspülen der Pipetten.
- Abb. 4.61A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration in Prozent durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier mit vorherigem Ausspülen der Pipetten.

- Abb. 4.62A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier mit vorherigem Ausspülen der Pipetten und unter Berücksichtigung der Leermessungen.
- Abb. 4.63A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration nach Eintauchen verschiedener Folien durch Partikeladhärenz an die Folien bzw. Verschmutzung der Folien - hier mit vorherigem Waschen der Folien.
- Abb. 4.64A** Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration in Prozent nach Eintauchen verschiedener Folien durch Partikeladhärenz an die Folien bzw. Verschmutzung der Folien - hier mit vorherigem Waschen der Folien.
- Abb. 4.65** Änderung der Partikelkonzentration nach Eintauchen verschiedener Folien durch Partikeladhärenz an die Folien bzw. Verschmutzung der Folien- hier mit vorherigem Waschen der Folien. LEERMESSUNG ohne Titanpartikel.

## 7.3 Tabellenverzeichnis

- Tab. 3.1** Auflistung der im Prüfstand getesteten Hüftendoprothesen-Stiele.
- Tab. 3.2** Native Grenzflächenprodukte von getesteten Hüftendoprothesen-Stielen, analysiert mittels Mastersizer.
- Tab. 3.3** Native Grenzflächenprodukte von getesteten Hüftendoprothesen-Stielen, analysiert mittels Atomabsorptionsspektrometer.
- Tab. 3.4** Schritte zur Aufbereitung der nativen Grenzflächenprodukte.
- Tab. 3.5** Auflistung der Lösungen aufbereiteter Grenzflächenprodukte von getesteten Hüftendoprothesen-Stielen, analysiert mittels Durchflusszytometer.
- Tab. 4.1** Generierte, mittlere Abriebpulvermenge in mg (Knochenzement- und Metallpartikel), Laufzeit 1 Woche, 3 Mio. Lastwechsel.
- Tab. 4.2** Gehalt an Titan bzw. Kobalt in  $\mu\text{g}$  pro g Abriebpulver, mittels Atomabsorptionsspektrometrie, Laufzeit 1 Woche, 3 Mio. Lastwechsel.
- Tab. 4.3** Gesamtgehalt an Titan bzw. Kobalt in  $\mu\text{g}$  im gesamten Abriebpulver, Laufzeit 1 Woche, 3 Mio. Lastwechsel.
- Tab. 4.4** Combitips plus-Pipettentestung: Vergleich der Partikelkonzentration in der Messlösung ohne und mit Pipettieren.

## 7.4 Chemikalienverzeichnis

Aceton C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>O

M = 58,08 g / mol

Fa. Merck, Darmstadt

Benzin

Apotheke Klinikum Rechts der Isar, München

Brij<sup>®</sup> 35 Solution 30 %

Sigma Diagnostics, St. Louis MO, USA

Cobalt-Standardlösung 1000 mg / l

Cobalt-(II)-nitrat in Salpetersäure 0,5 mol / l

Fa. Merck, Darmstadt

Dimethylsulfoxid (DMSO) C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>OS

M = 78,13 g / mol

Fa. Merck-Schuchardt, Hohenbrunn

Ethanol (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH) 70 % vergällt mit Ethylmethylketon

Apotheke Klinikum Rechts der Isar, München

Glycerin (Glycerol) C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>

M = 92,10 g / mol

Fa. Merck, Darmstadt

Hydroxylammoniumchlorid 100 g / l H<sub>3</sub>NO.HCl

M = 69,49 g / mol

Fa. Sigma-Aldrich-Chemie, Steinheim

N,N-Dimethylformamid (DMF) HCON(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

M = 73,10 g / mol

Fa. Merck, Darmstadt

Palladium-(II)-chlorid 2 g / l

Modifier für die GFAAS in HNO<sub>3</sub> 6,5 %

Fa. Johnson, Matthey, Karlsruhe

Phosphate buffered saline (PBS) pH 7,4

NaCl 0,138 M

KCl 0,0027 M

Fa. Sigma-Aldrich-Chemie, Steinheim

Salzsäure rauchend 37 % HCl

M = 36,46 g / mol

Fa. Merck, Darmstadt

Titan-Standardlösung 1000 mg / l

TiCl<sub>4</sub> in HCl 5 mol / l

Fa. Merck, Darmstadt

Toluol C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>3</sub>

M = 92,14 g / mol

Fa. Merck, Darmstadt

Zellmedium (Dulbecco´s Mem) + Trypsin-EDTA

3,7 g / l NaHCO<sub>3</sub>

25 mM HEPES

4,5 g / l D-Glucose

4,4 g / l NaCl

Na-Pyruvate

L-Glutamine

Fa. Biochrom, Berlin

## 7.5 Abkürzungsverzeichnis

A	Anhang
AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
BaSO <sub>4</sub>	Bariumsulfat
B-Cups	Biozym-Reaktionsgefäße
B-Pip	Biozym-Pipette
C-Pip	Combitips plus-Pipette
DMF	Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
E-Cups	Eppendorf-Reaktionsgefäße
E-Pip	Eppendorf-Pipette
Falcon	Falcon®-Röhrchen
IL-1	Interleukin-1
IL-6	Interleukin-6
Medium	Zellmedium
PBS	Phosphate buffered saline
PG E <sub>2</sub>	Prostaglandin E <sub>2</sub>
PMMA	Polymethylmetacrylat
POFs	Polyolefine BR 735G – 3187 (schwarze Platte)

POFw	Polyolefine EP 548S (weiße Platte)
P-Pip	Pasteurpipette
PTFE	Polytetrafluorethylen
REM	Rasterelektronenmikroskop
sB-Pip	silikonisierte Biozym-Pipette
S-Pip	Falcon <sup>®</sup> -Serumpipette
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor $\alpha$
US	Ultraschall
ZrO <sub>2</sub>	Zirkondioxid

## 8. Anhang

### 8.1 Abbildungen und Graphiken

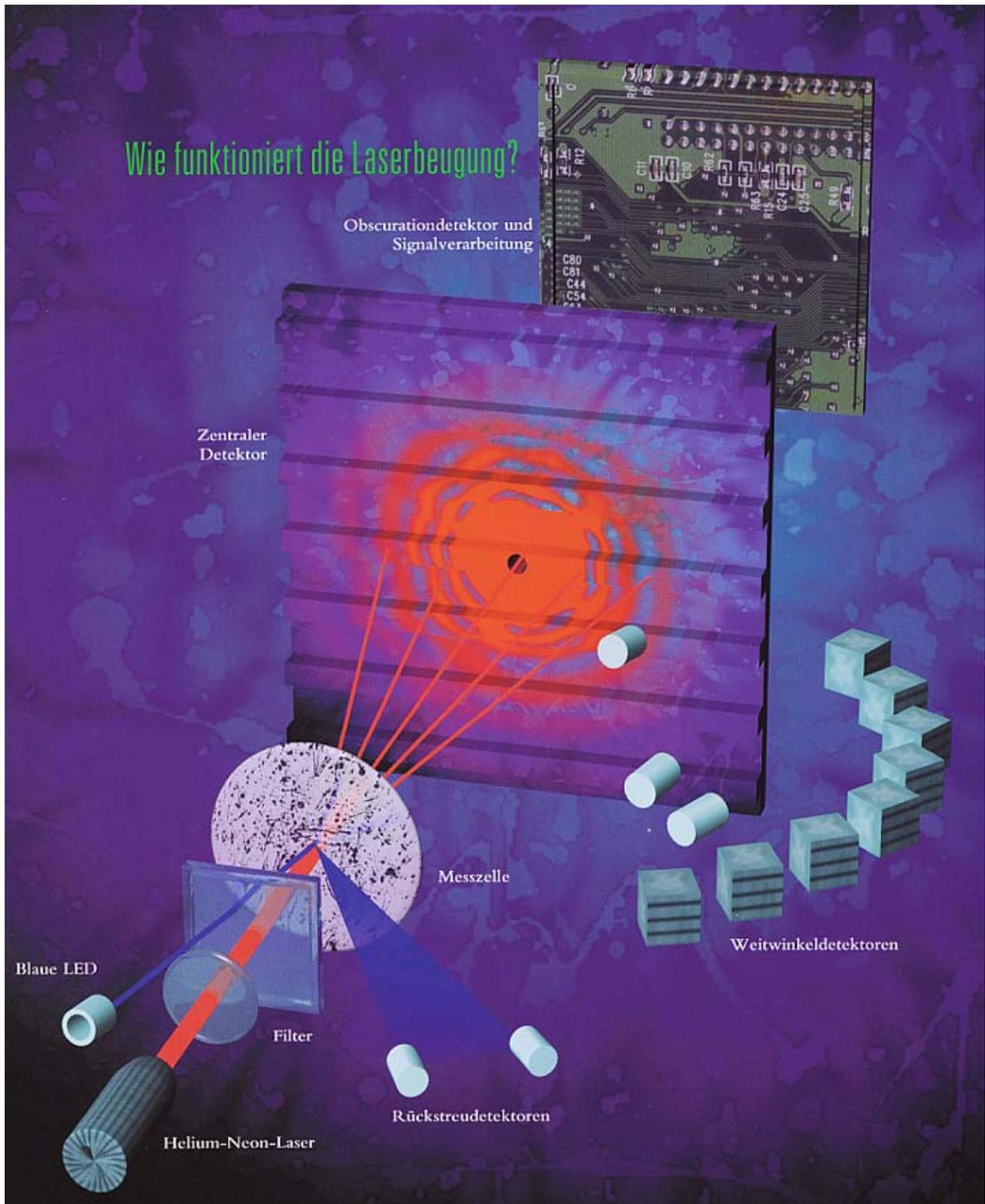


Abb. 3.1A: Prinzip der Laserbeugung als Funktionsprinzip des Mastersizer 2000, Fa. Malvern, Worcestershire, UK (aus Informationsbroschüre Mastersizer, Fa. Malvern, Herrenberg)



**Abb 3.2A: Beim Versuch zum Partikelverlust im Zusammenhang mit Falcon®-Röhrchen verwendete serologische Pipette.**



Abb. 4.1A: Zementköcher nach Prüfung. Oben links: CMW 2000 mit  $\text{BaSO}_4$  nach Testung gegen rauhen CoCr28Mo6-Stiel. Oben rechts: Sulcem<sup>®</sup> 1 hochviskös mit  $\text{ZrO}_2$  nach Testung gegen rauhen CoCr28Mo6-Stiel. Unten links: Sulcem<sup>®</sup> 3 niedrigviskös mit  $\text{ZrO}_2$  nach Testung gegen rauhen CoCr28Mo6-Stiel.

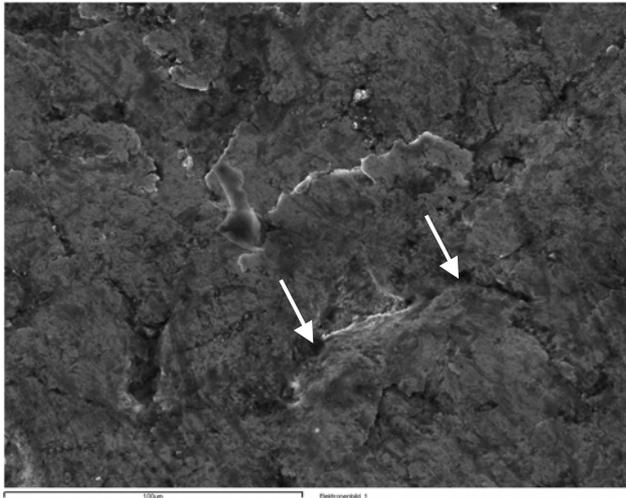


Abb. 4.2A: REM-Aufnahme von der Oberfläche eines unbeanspruchten rauhen CoCr28Mo6-Stiels bei 500-facher Vergrößerung. Die Pfeile kennzeichnen die sichtbaren Täler der gebirgsähnlichen Oberflächenstruktur.

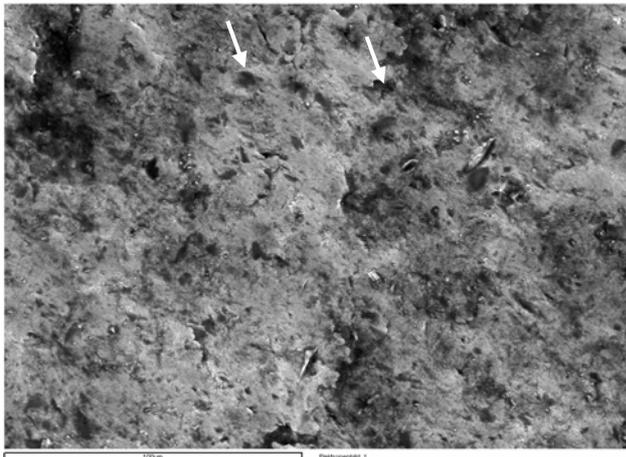


Abb. 4.3A: REM-Aufnahme von der Oberfläche eines unbeanspruchten glatt gestrahlten TiAl6Nb7-Stiels mit einzelnen Vertiefungen (→) im Oberflächenrelief.

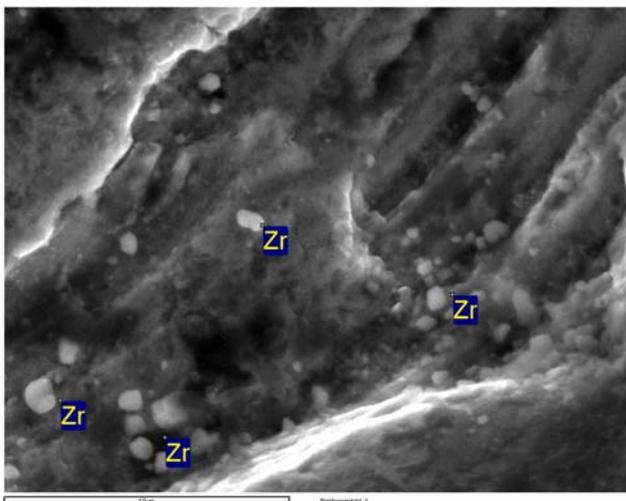
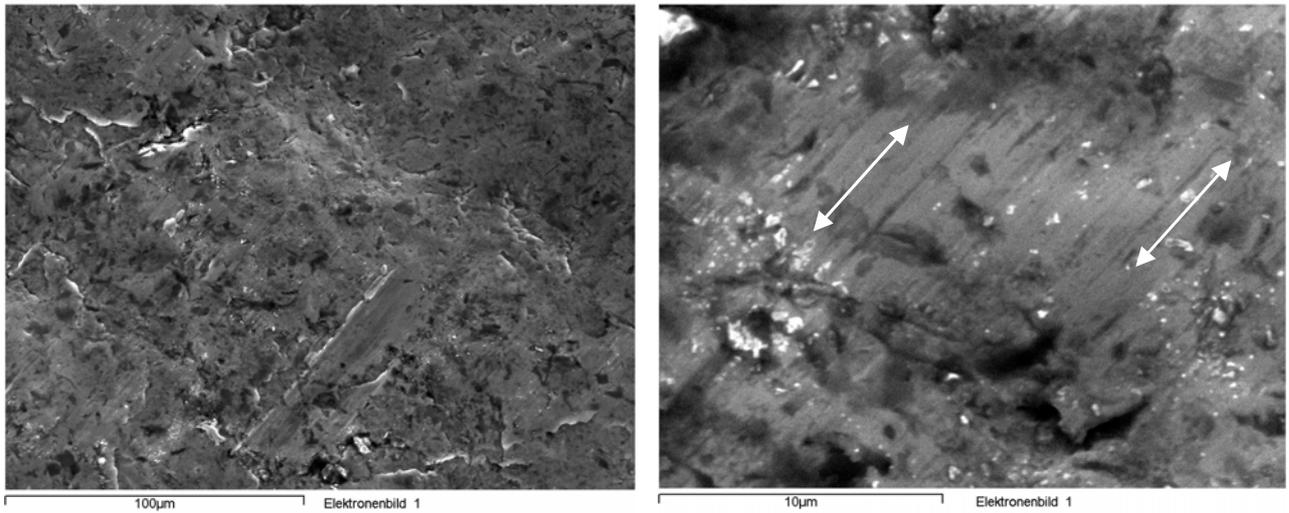
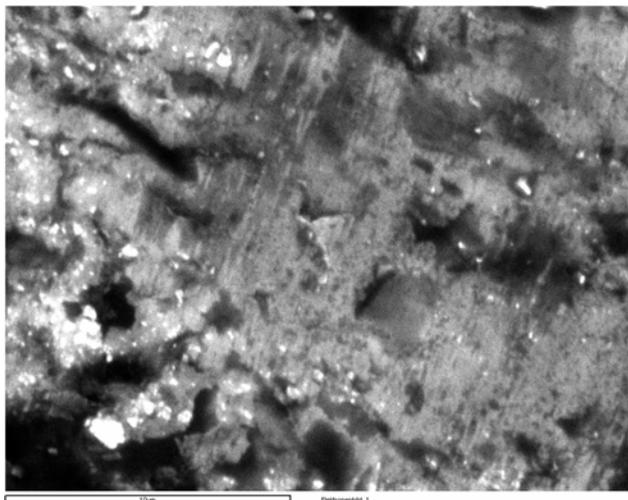


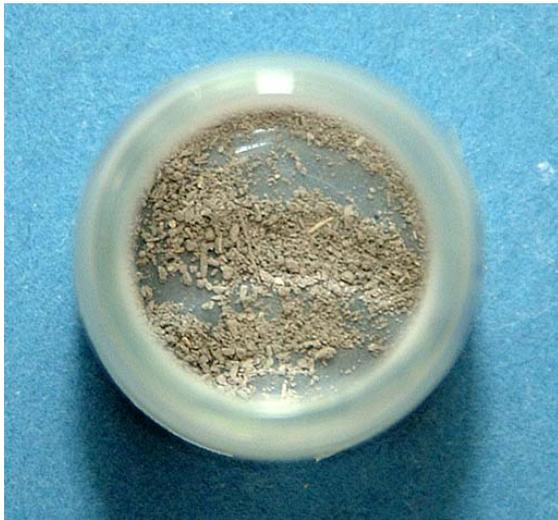
Abb. 4.4A: REM-Aufnahme (5.000-fache Vergrößerung) von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten rauhen CoCr28Mo6-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ , mit Nachweis zahlreicher Zr-Partikel an der Stieloberfläche.



**Abb. 4.5A: REM-Aufnahmen von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten rauhen Stiels aus TiAl6Nb7, gelaufen gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub>. Links: sichtbare Einebnungen der Oberflächenstruktur (500-fache Vergrößerung). Rechts: deutliche abrasive Veränderungen in Belastungsrichtung (↔) (5.000-fache Vergrößerung).**



**Abb. 4.6A: REM-Aufnahme von der Oberfläche eines im Prüfstand getesteten glatt gestrahlten Stiels aus TiAl6Nb7, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>, mit geringfügigen Zeichen abrasiven Verschleißes der Stieloberfläche, die in Belastungsrichtung verlaufen und abgelagerten Knochenzement-Partikeln.**



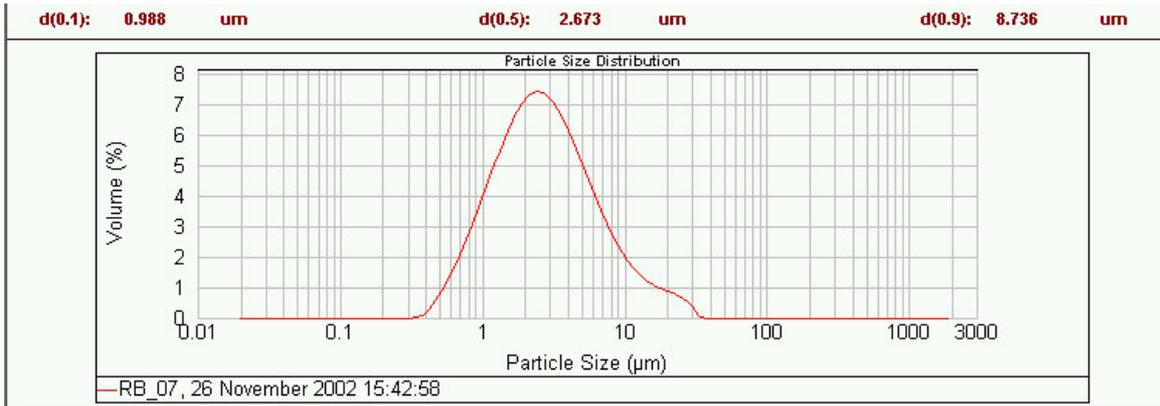
**Abb. 4.7A:** Native, in der Grenzfläche Endoprothesen-Stiel-Knochenzement generierte Abriebpulver. Oben links: Von rauem TiAl6Nb7-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ . Oben rechts: Von glattem TiAl6Nb7-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement ohne  $ZrO_2$ . Unten links: Von glattem TiAl6Nb7-Stiel, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ .



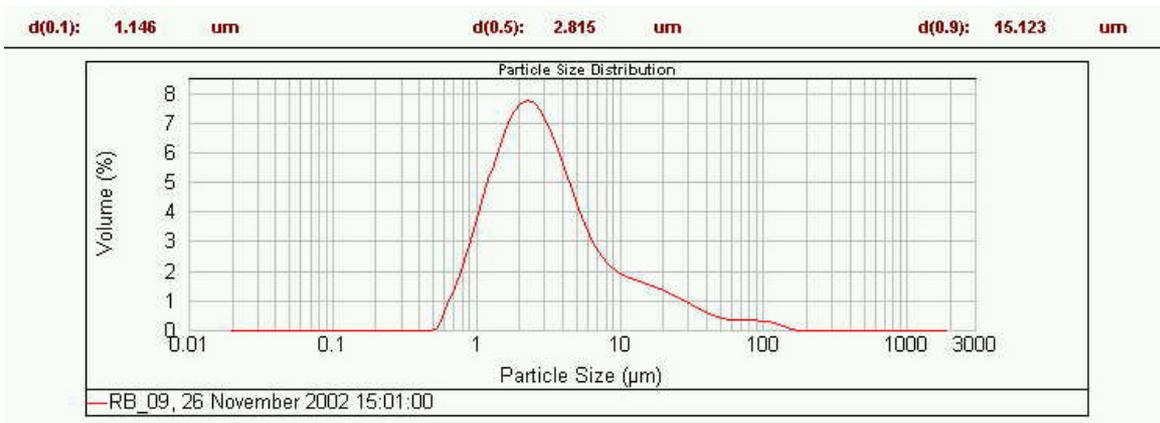
**Abb. 4.8A:** Native, in der Grenzfläche Endoprothesen-Stiel-Knochenzement generierte Abriebpulver. Links: Von rauem TiAl6Nb7-Stiel, rechts: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, beide gelaufen gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub>.



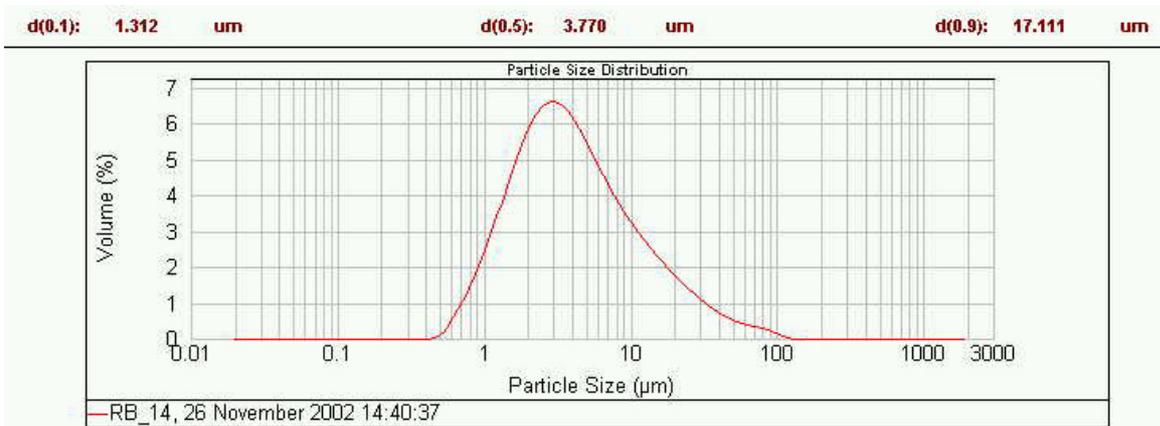
**Abb. 4.9A:** Native, in der Grenzfläche Endoprothesen-Stiel-Knochenzement generierte Abriebpulver. Links: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, gelaufen gegen niedrigviskösen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 3. Rechts: Von rauem CoCr28Mo6-Stiel, gelaufen gegen hochviskösen Knochenzement Sulcem<sup>®</sup> 1.



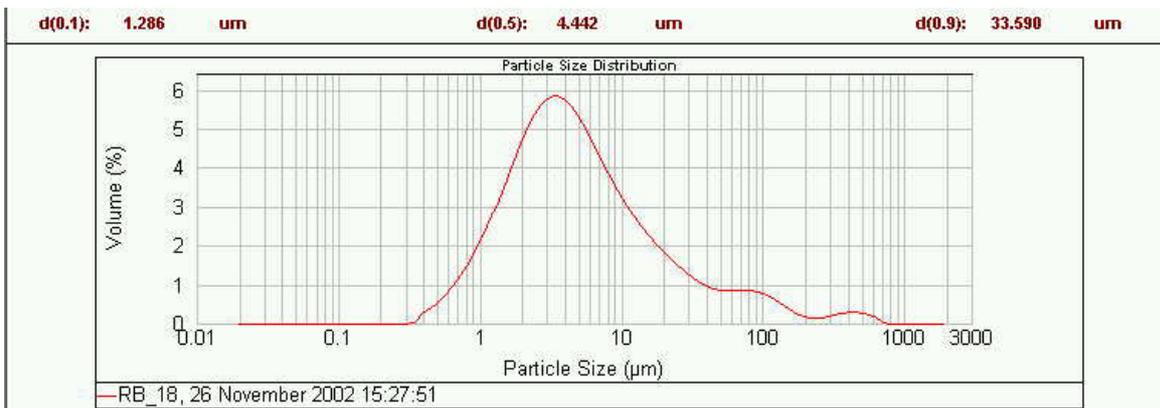
a)



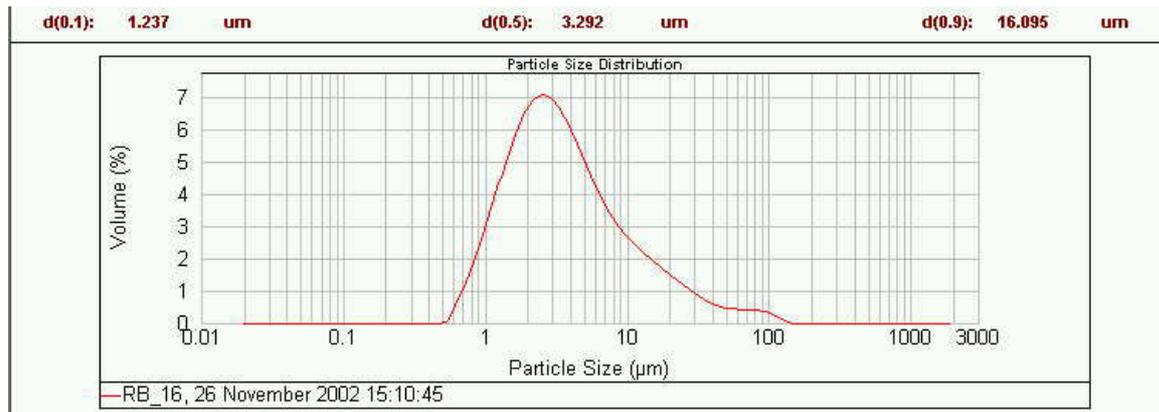
b)



c)



d)



e)

**Abb. 4.10A: Teilchengrößenverteilung von generiertem, unbehandeltem Abriebpulver mittels Mastersizer. a) Abriebpulver von Testung eines rauen TiAl6Nb7-Stiels gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. b) Abriebpulver von Testung eines glatten CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. c) Testung eines rauen CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. d) Abriebpulver von Testung eines glatten TiAl6Nb7-Stiels gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. e) Abriebpulver von Testung eines glatten CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement CMW 2000 mit BaSO<sub>4</sub>.**

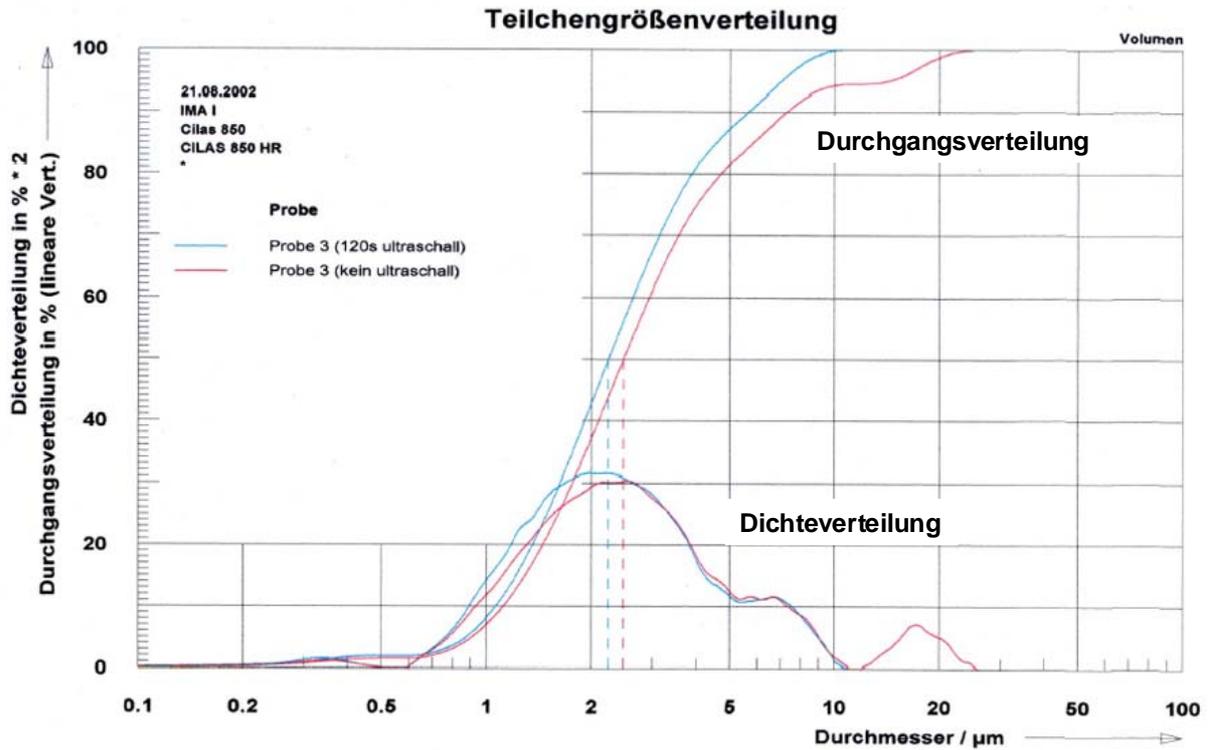
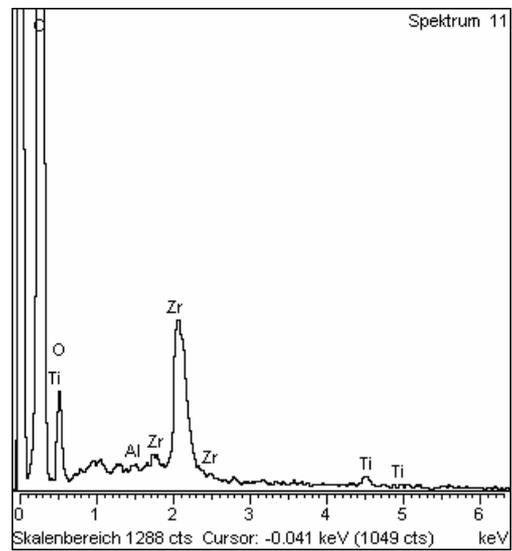
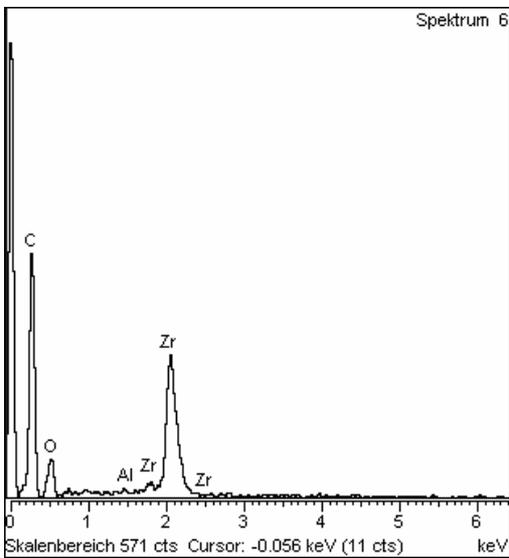
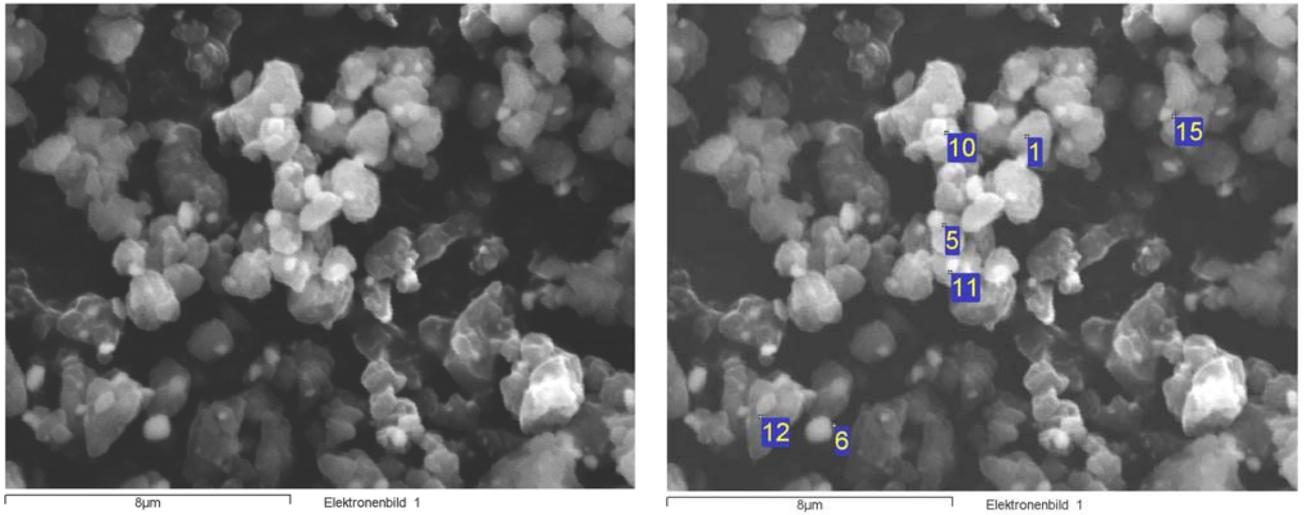


Abb. 4.11A: Teilchengrößenverteilung - ermittelt am Lasergranulometer - von unbehandeltem Abriebpulver aus der Testung eines glatten CoCr28Mo6-Stiels gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>.



**Abb. 4.12A: Natives Abriebpulver eines rauen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ . Oben: REM-Aufnahmen (6.000-fache Vergrößerung). Unten: zugehörige EDX-Spektren.**

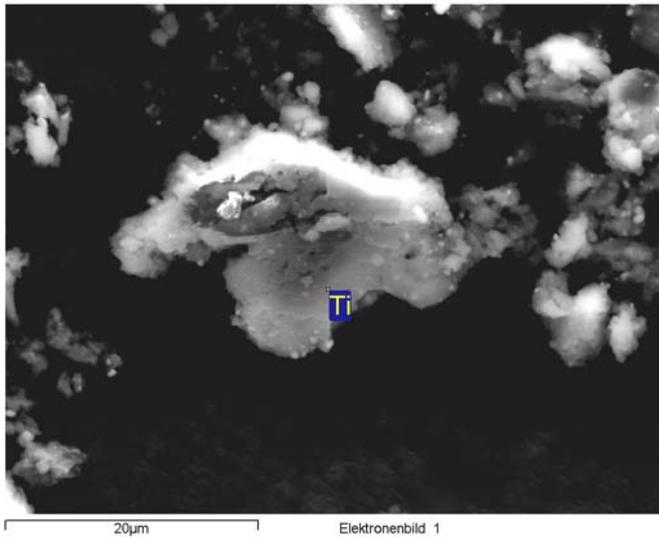


Abb. 4.13A: REM-Aufnahme (2.000-fache Vergrößerung) vom nativen Abriebpulver eines glatt gestrahlten TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>.

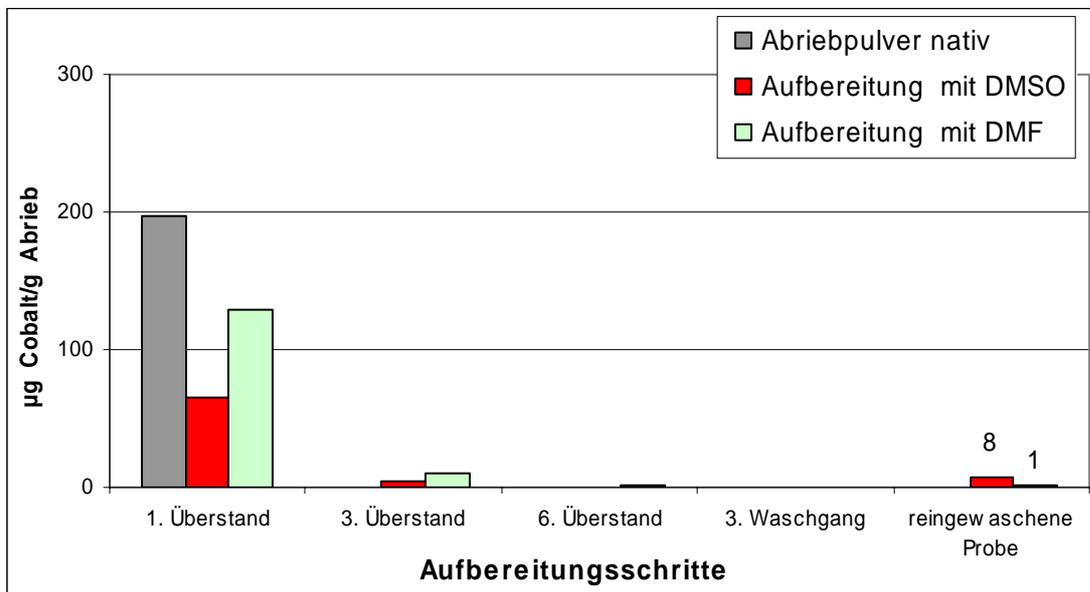
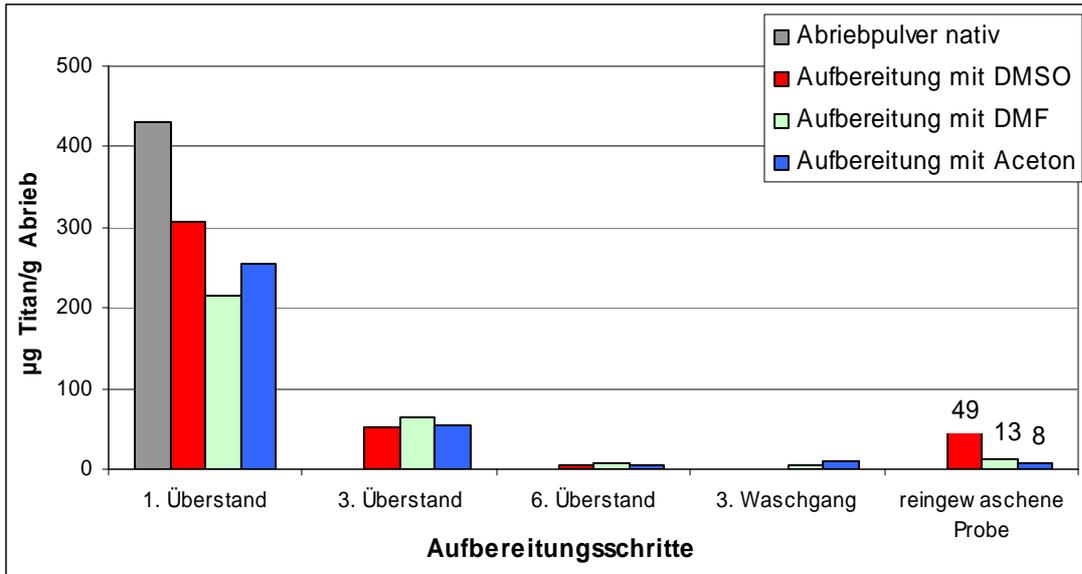
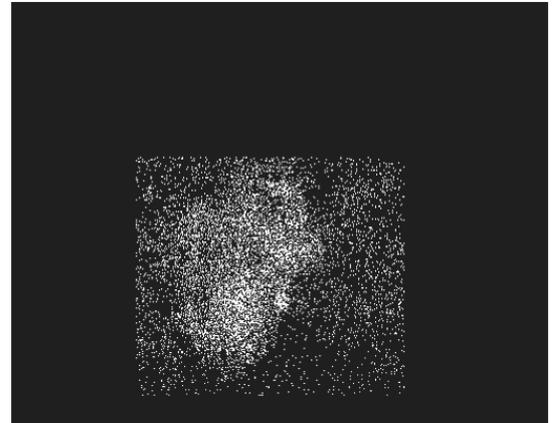
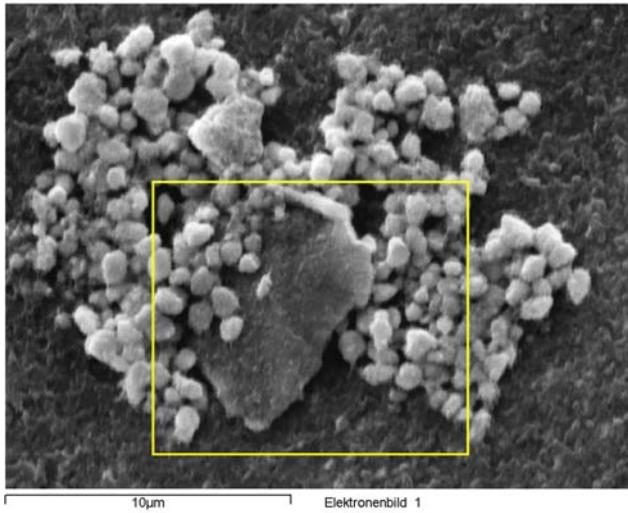


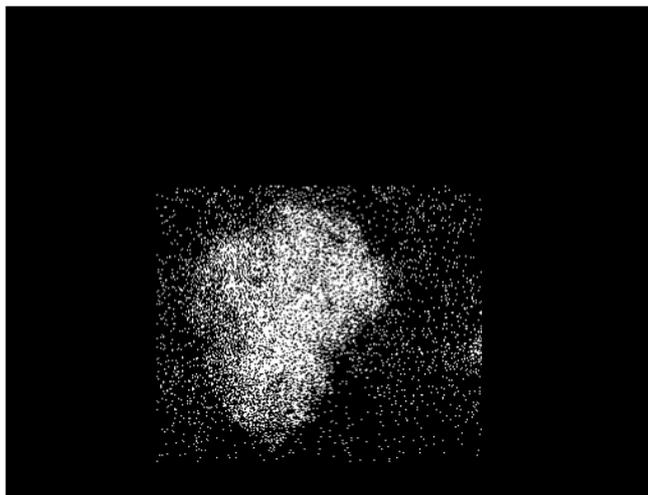
Abb. 4.14A: Kobalt-Konzentration im nativen Abriebpulver, in verschiedenen Überständen nach Aufbereitung des Abriebpulvers bzw. Eliminierung von PMMA mittels organischem Lösungsmittel (DMSO, DMF), während (Waschgang) und nach dessen Auswaschen mittels Aqua dest. (reingewaschene Probe). Partikel wurden im Interface zwischen einem glatten CoCr28Mo6-Stiel und Knochenzement Palacos R ohne ZrO<sub>2</sub> generiert.



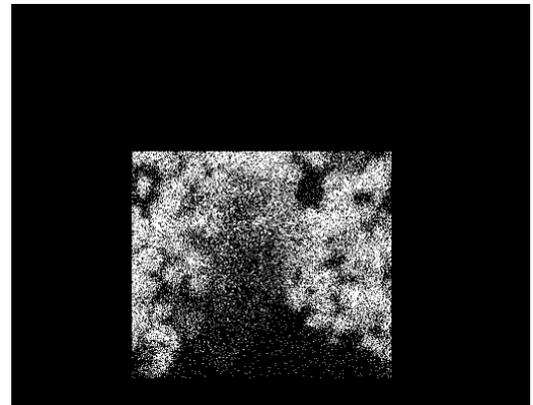
**Abb. 4.15A:** Titan-Konzentration im nativen Abriebpulver, in verschiedenen Überständen nach Aufbereitung des Abriebpulvers bzw. Eliminierung von PMMA mittels organischem Lösungsmittel (DMSO, DMF, Aceton) und nach dessen Auswaschen mittels Aqua dest. (reingewaschene Probe). Partikel wurden im Interface zwischen einem rauem TiAl6Nb7-Stiel und Knochenzement Palacos R ohne ZrO<sub>2</sub> generiert.



Aluminium Kα1



Titan Kα1



Zirkonium Kα1

**Abb. 4.16A: Partikelrückstände nach Filtration des aufbereiteten Abriebpulvers eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Oben links: REM-Aufnahme (5.000-fache Vergrößerung). Röntgenverteilungsbilder: Oben rechts: Aluminium, unten links: Titan, unten rechts: Zirkon.**

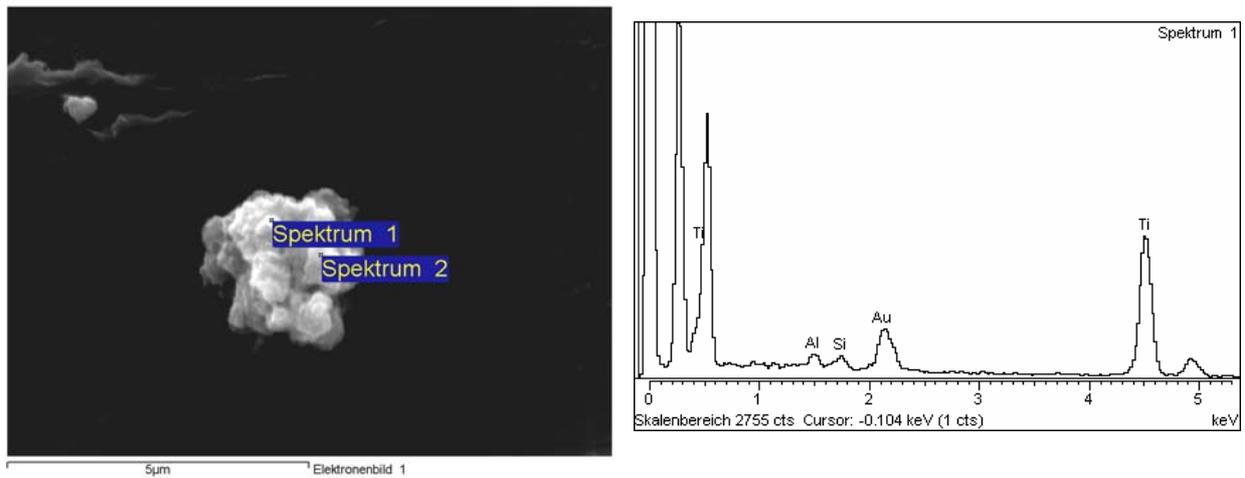
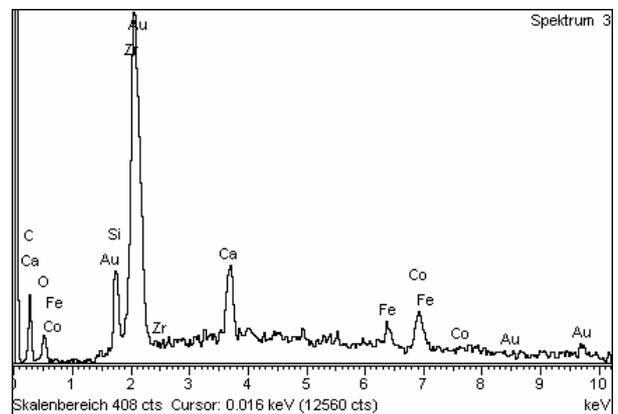
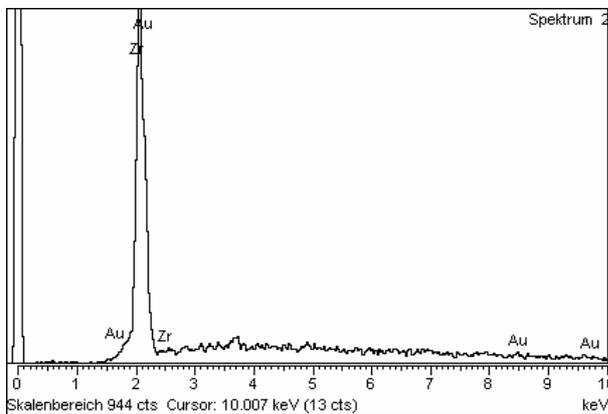
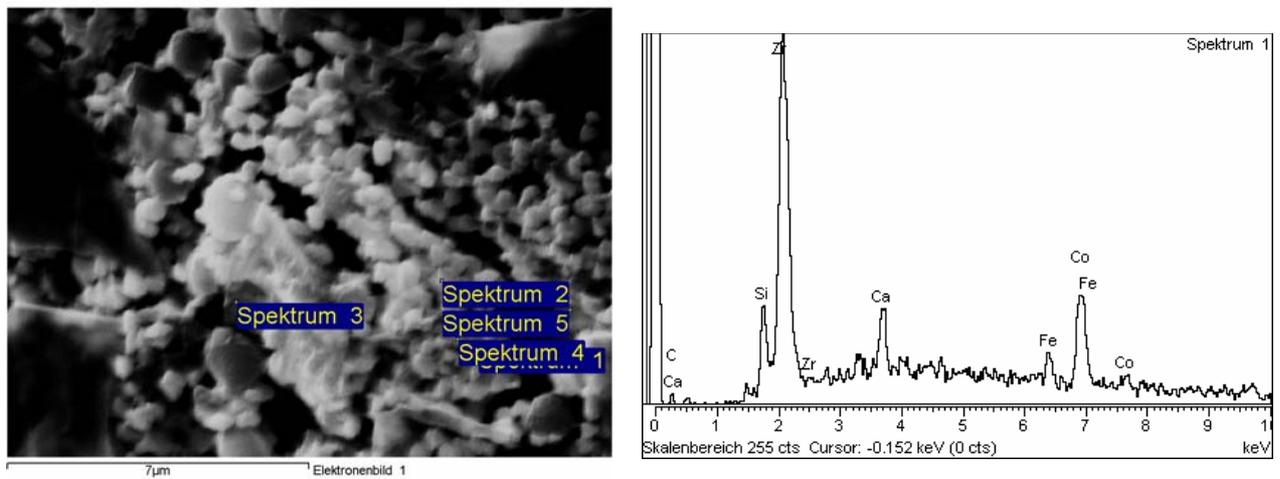
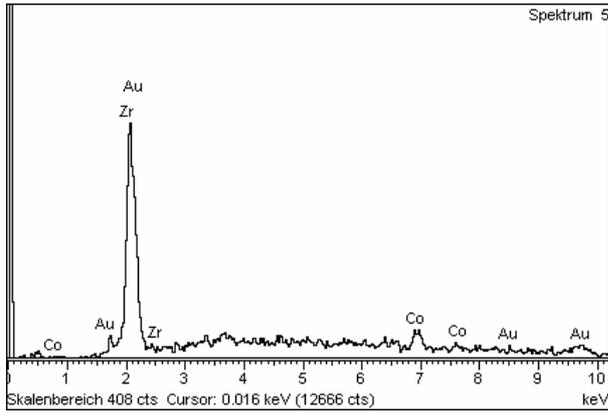
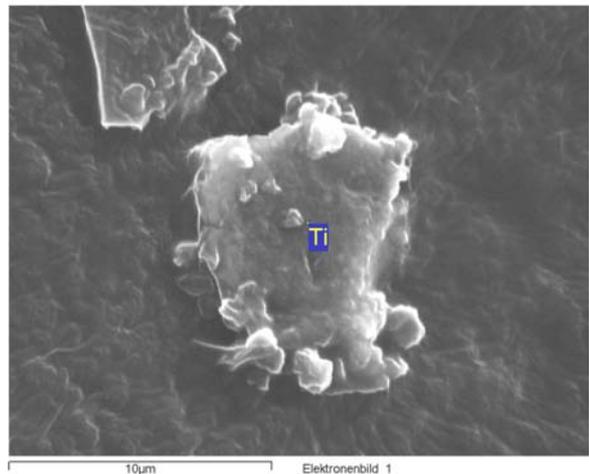
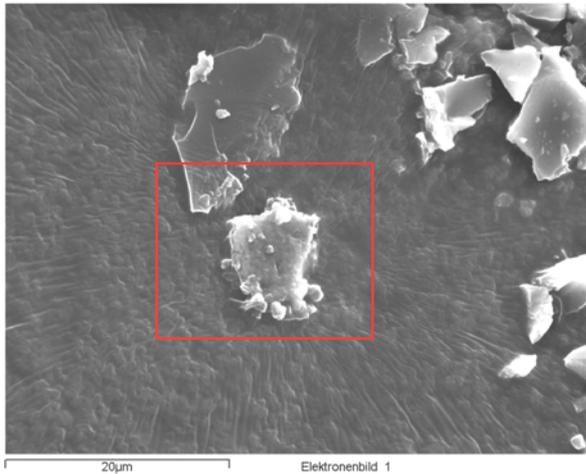


Abb. 4.17A: Partikelrückstände nach Filtration der Überstände des aufbereiteten Abriebpulvers eines glatt gestrahlten TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. Links: REM-Bild (10.000-fache Vergrößerung). Rechts: Zugehöriges EDX-Spektrum.

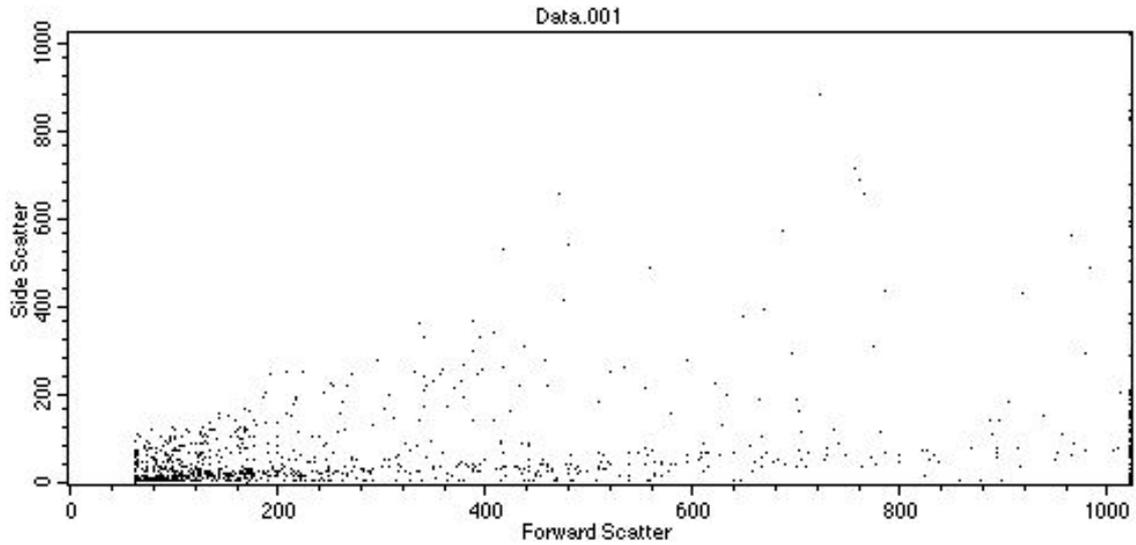




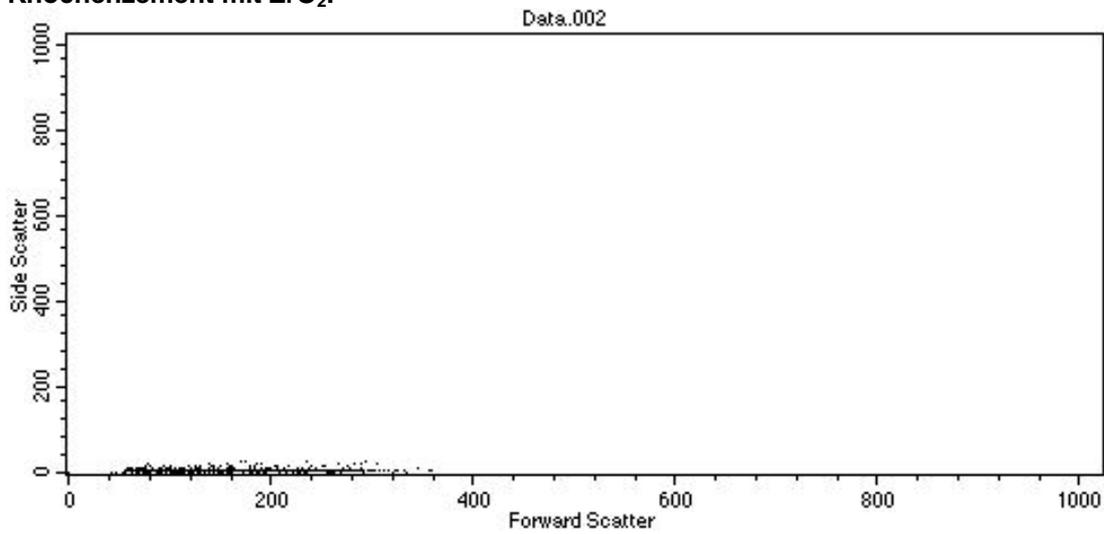
**Abb. 4.18A:** Partikelrückstände nach Filtration des aufbereiteten Abriebpulvers eines glatt gestrahlten Stiels aus CoCr28Mo6, gelaufen gegen Knochenzement mit ZrO<sub>2</sub>. REM-Bild (7.000-fache Vergrößerung) und zugehörige EDX-Spektren.



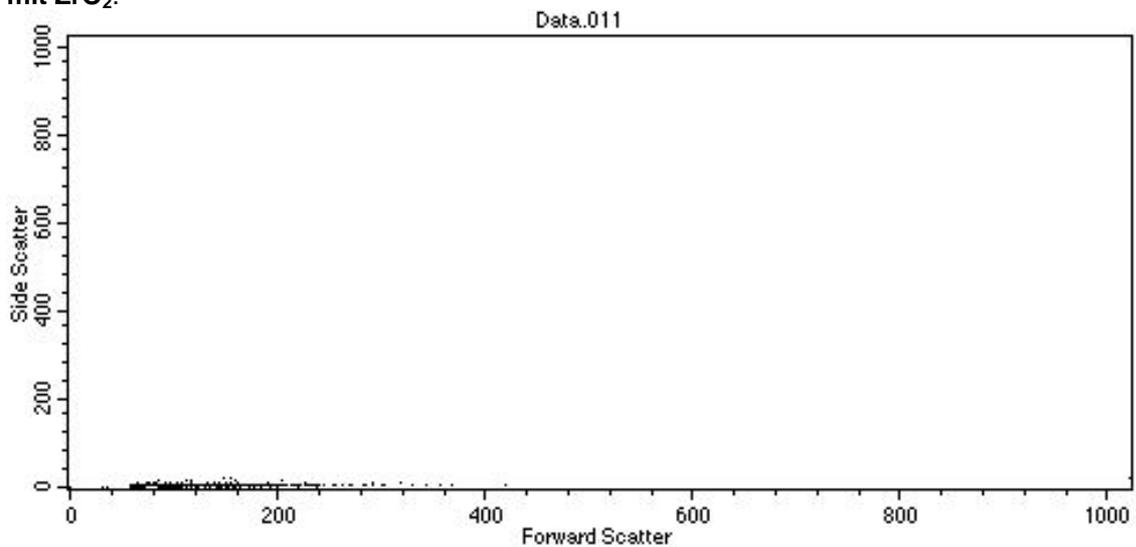
**Abb. 4.19A:** REM-Aufnahmen des aufbereiteten Abriebpulvers eines rauhen TiAl6Nb7-Stiels, gelaufen gegen Knochenzement ohne ZrO<sub>2</sub>. Links: In 2.000-facher Vergrößerung. Rechts: Detailausschnitt in 5.000-facher Vergrößerung.



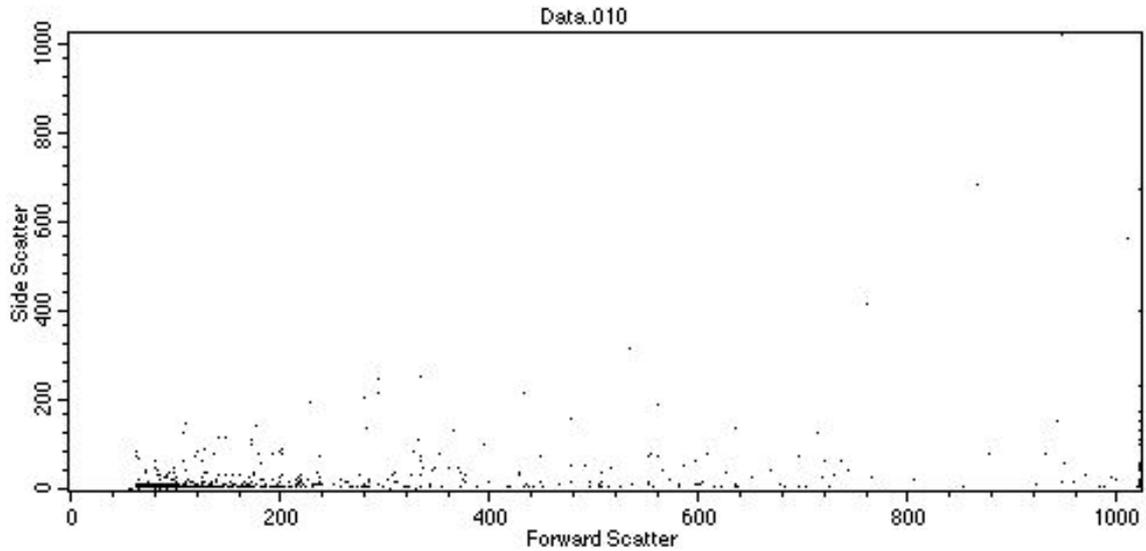
**Abb. 4.20A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von unfraktionierten, gewaschenen Partikeln aus der Testung eines rauen Titan-Stiels gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ .**



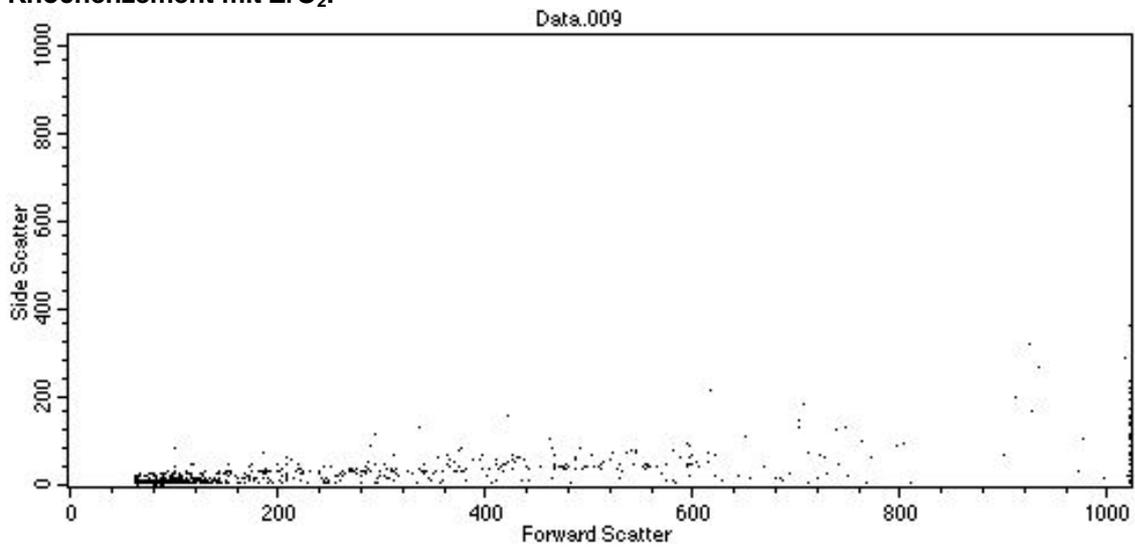
**Abb. 4.21A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines rauen Titan-Stiels gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ .**



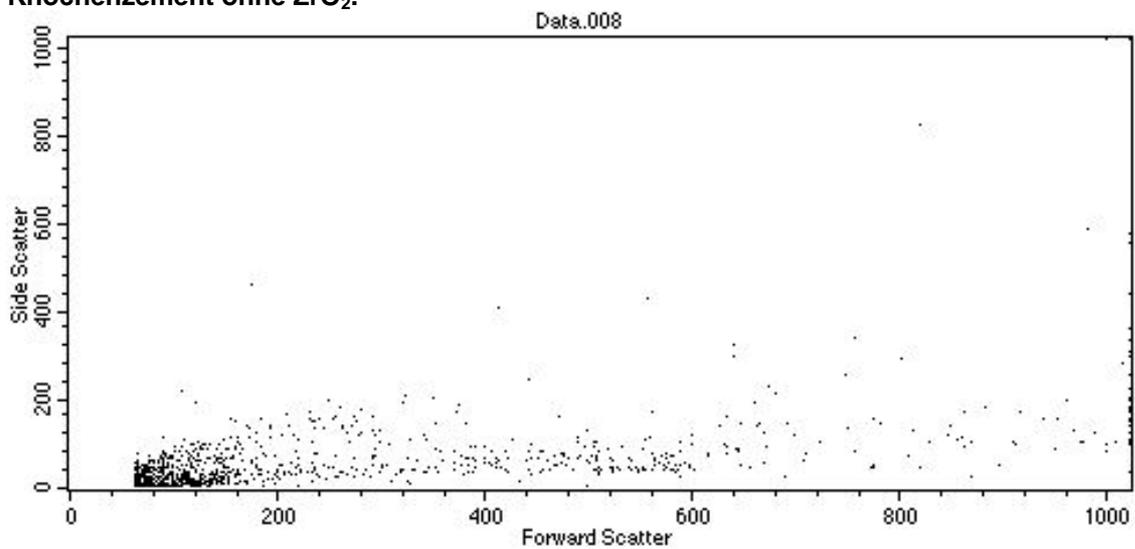
**Abb. 4.22A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines glatten Titan-Stiels gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ .**



**Abb. 4.23A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines glatten Kobalt-Chrom-Stiels gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ .**



**Abb. 4.24A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines glatten Kobalt-Chrom-Stiels gegen Knochenzement ohne  $ZrO_2$ .**



**Abb. 4.25A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von aufbereiteten Partikeln in den Überständen aus der Testung eines rauen Kobalt-Chrom-Stiels gegen Knochenzement mit  $ZrO_2$ .**

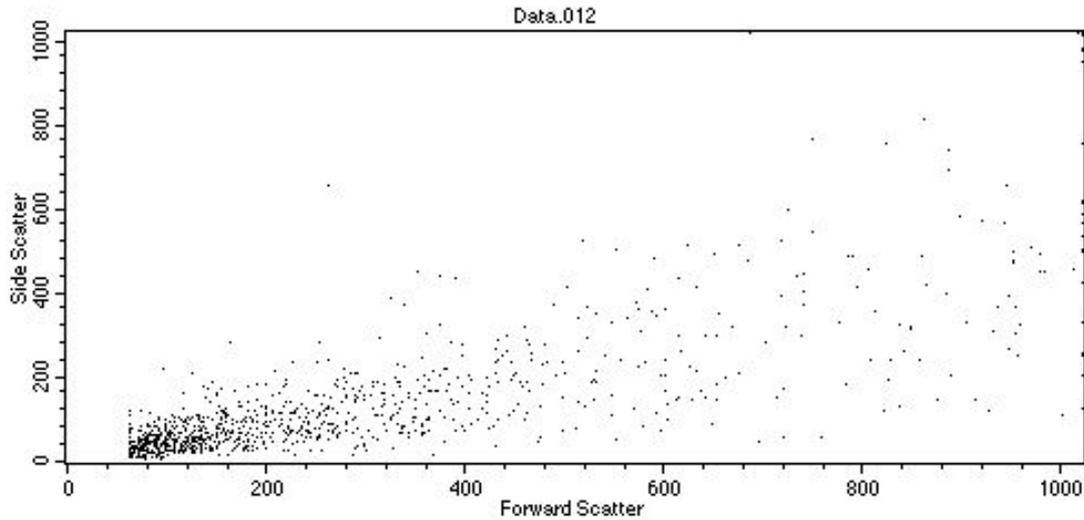


Abb. 4.26A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von kommerziellen cp-Titan-Partikeln (mittlere Körnung 3  $\mu\text{m}$ ).

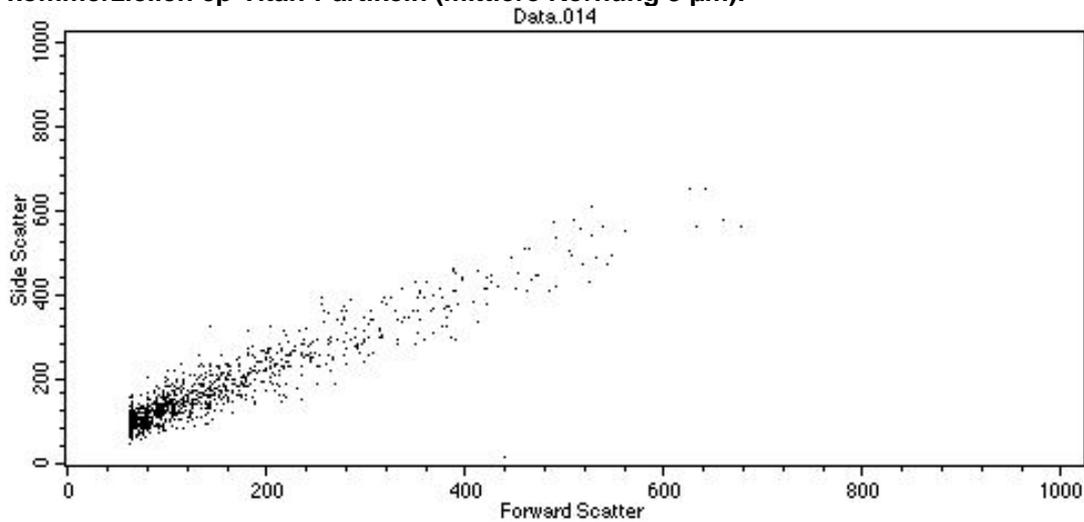


Abb. 4.27A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von kommerziellen  $\text{TiO}_2$ -Partikeln (mittlere Körnung 0,5  $\mu\text{m}$ ).

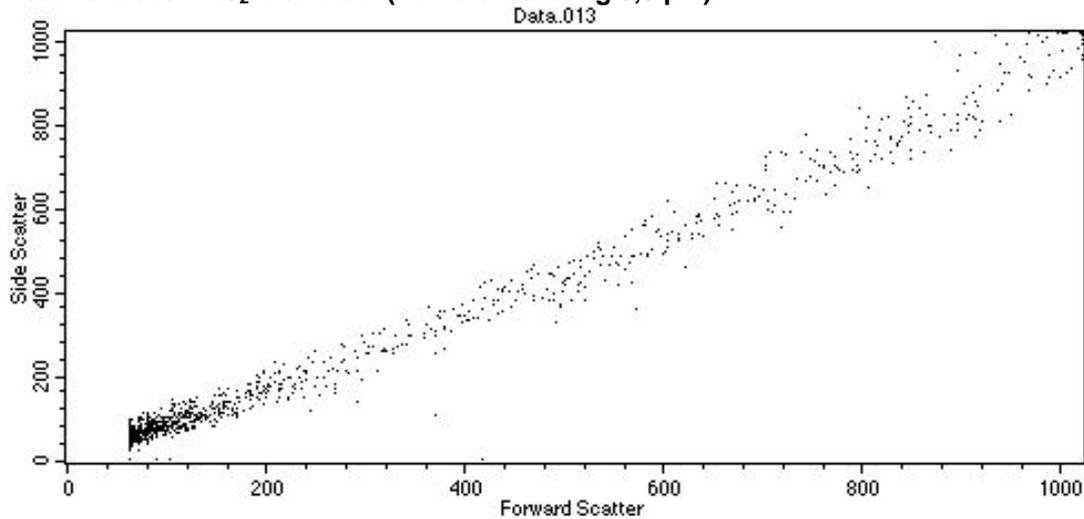


Abb. 4.28A: Morphologische Charakterisierung mittels Durchflusszytometrie von kommerziellen  $\text{TiO}_2$ -Partikeln (mittlere Körnung 1,8  $\mu\text{m}$ ).

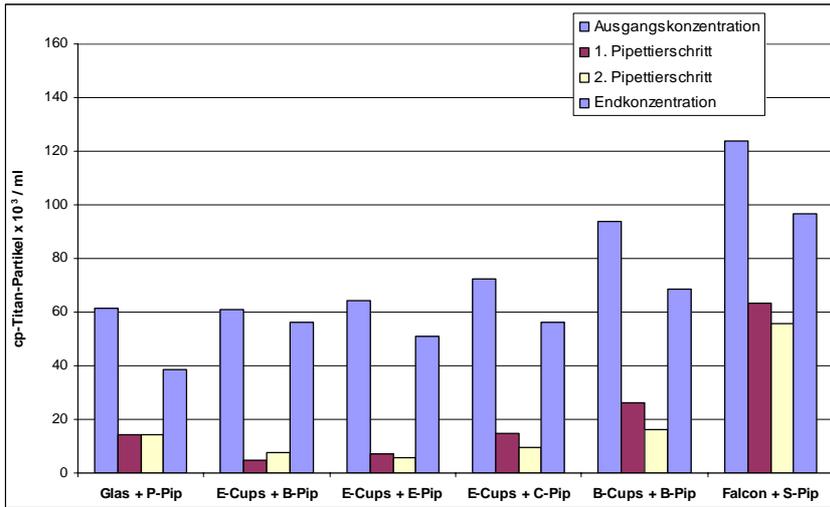


Abb. 4.29A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten: Ausgangslösung: Titanpulver + PBS ohne Ultraschall behandelt.

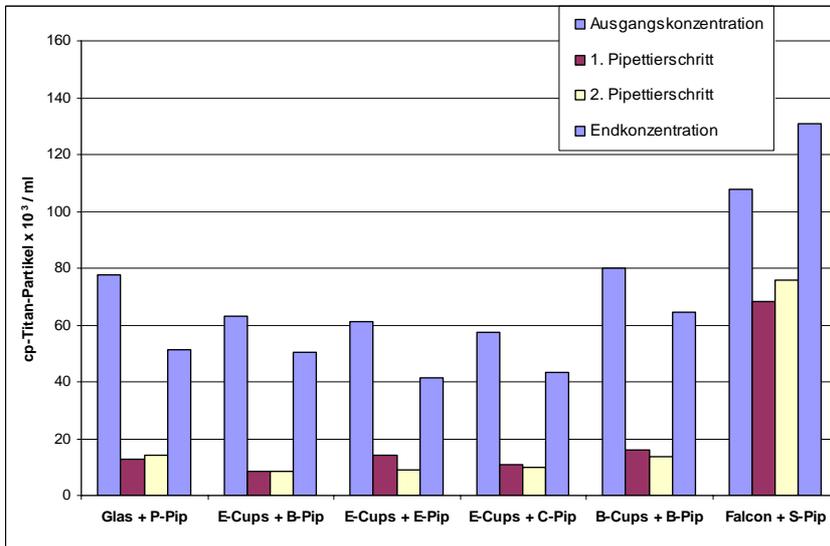


Abb. 4.30A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten: Ausgangslösung: Titanpulver + Medium mit Ultraschall behandelt.

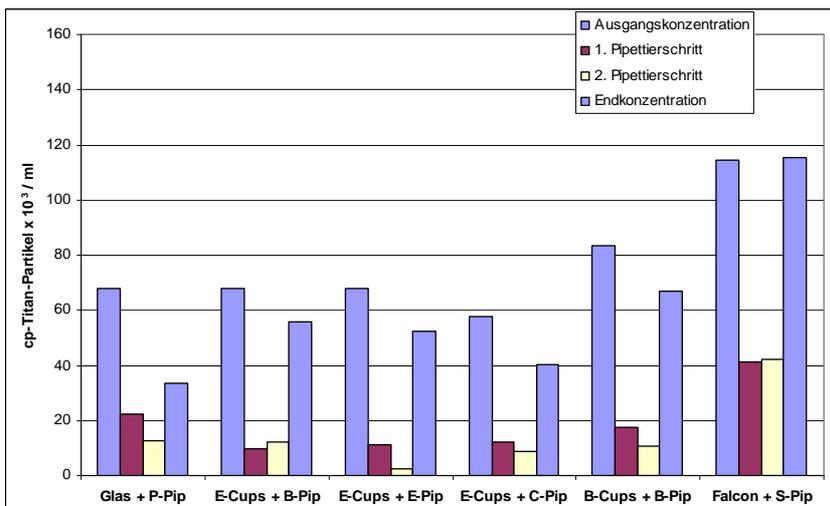


Abb. 4.31A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten: Ausgangslösung: Titanpulver + Medium ohne Ultraschall behandelt.

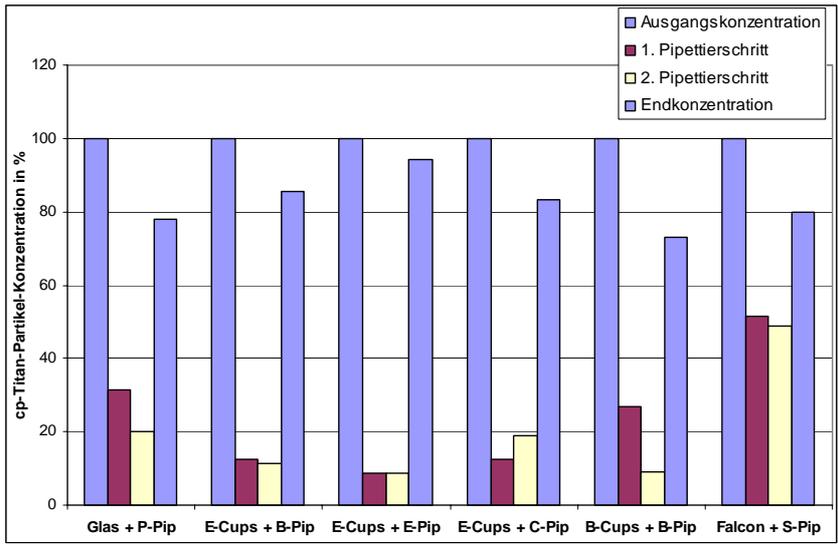


Abb. 4.32A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten in Prozent: Ausgangslösung: Titanpulver + PBS mit Ultraschall behandelt.

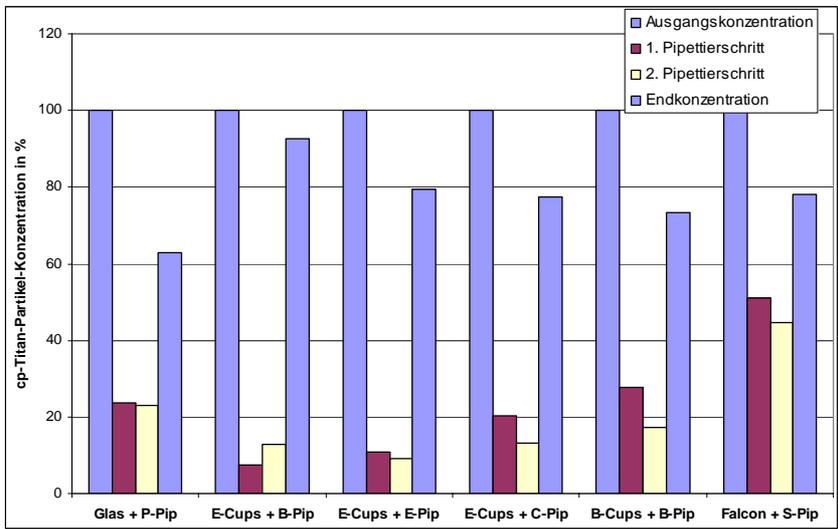


Abb. 4.33A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten in Prozent: Ausgangslösung: Titanpulver + PBS ohne Ultraschall behandelt.

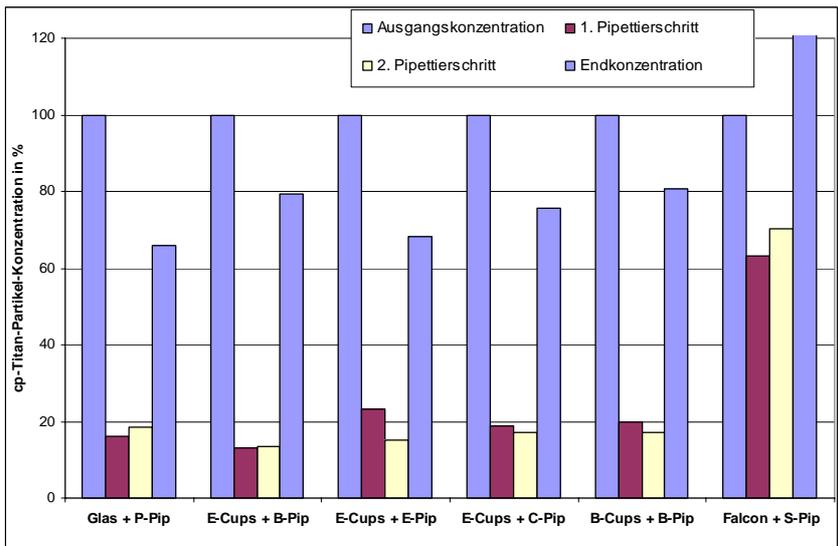


Abb. 4.34A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten in Prozent: Ausgangslösung: Titanpulver + Medium mit Ultraschall behandelt.

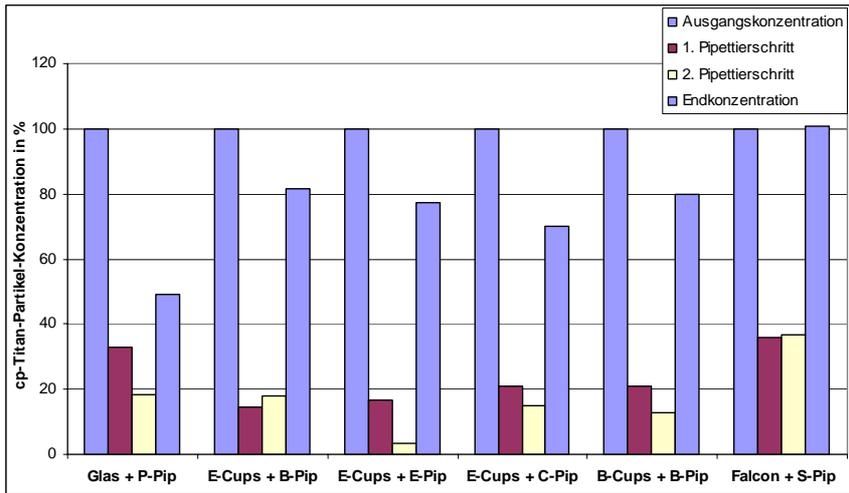


Abb. 4.35A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen und Pipetten in Prozent: Ausgangslösung: Titanpulver + Medium ohne Ultraschall behandelt.

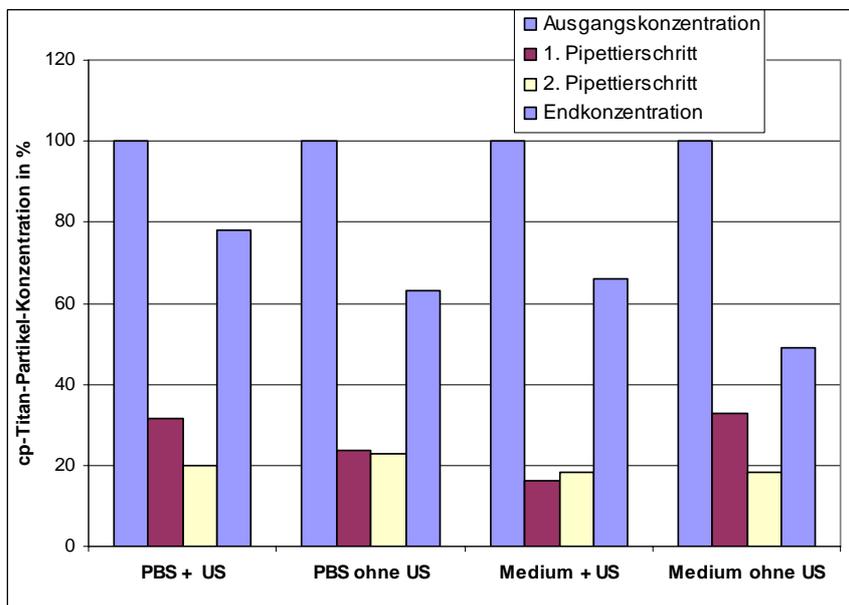


Abb. 4.36A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren in Prozent bei GLASGEFÄßEN (pipettiert mit Pasteurpipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

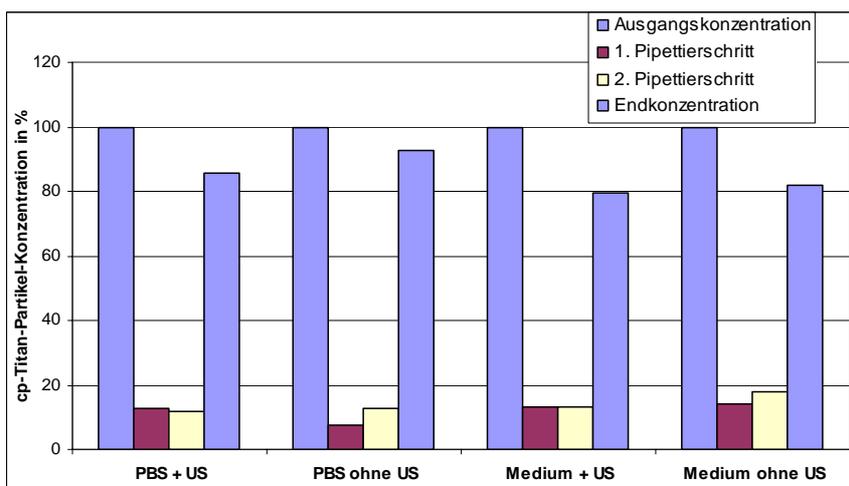


Abb. 4.37A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren in Prozent bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Biozym-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

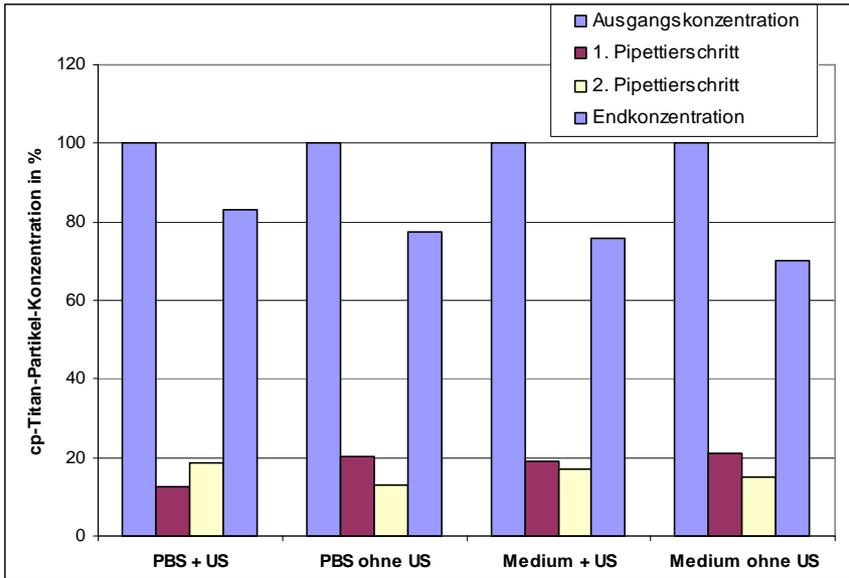


Abb. 4.38A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren in Prozent bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Combitips plus-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

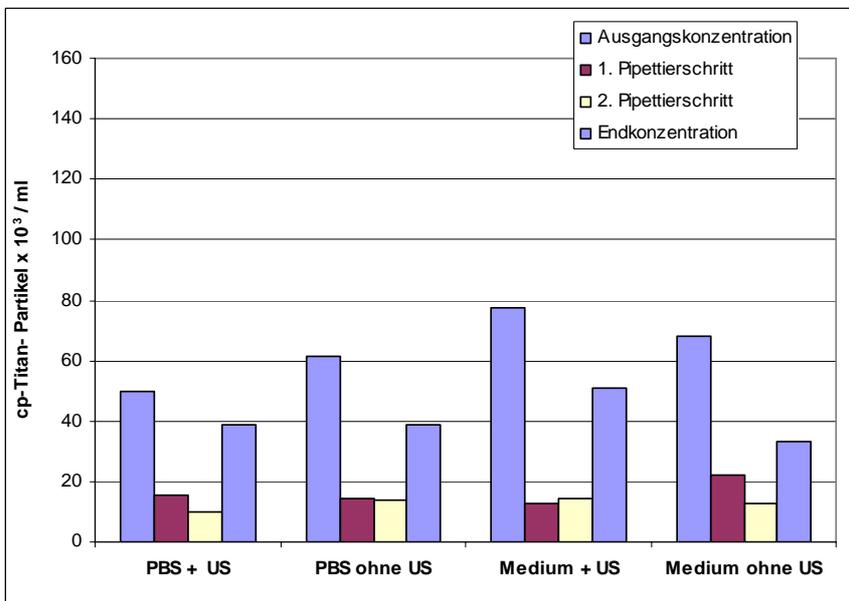


Abb. 4.39A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei GLASGEFÄßEN (pipettiert mit Pasteur-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

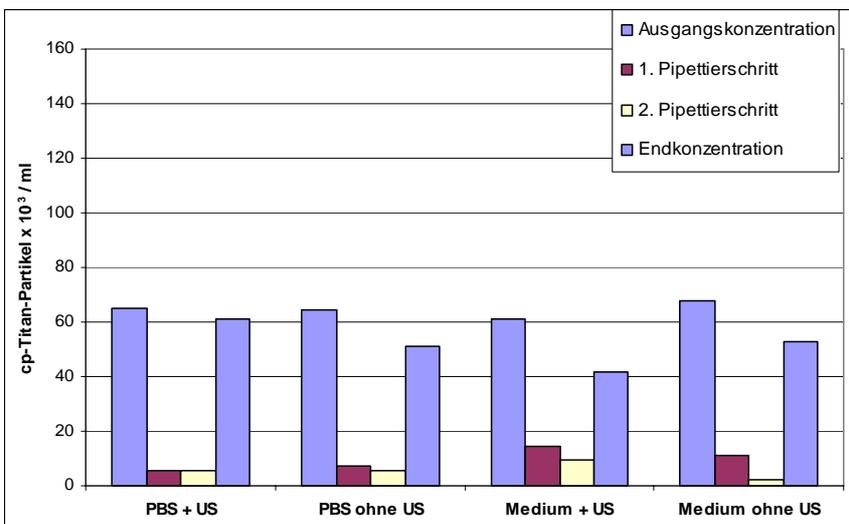


Abb. 4.40A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Eppendorf-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

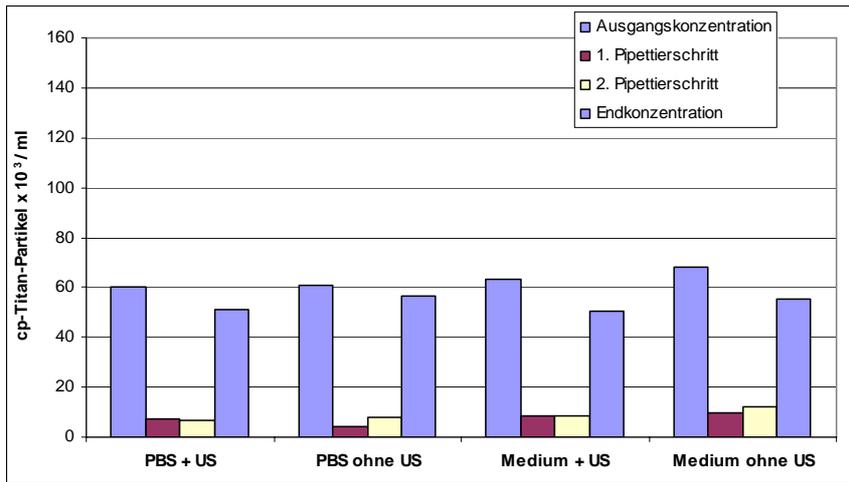


Abb. 4.41A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Biozym-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

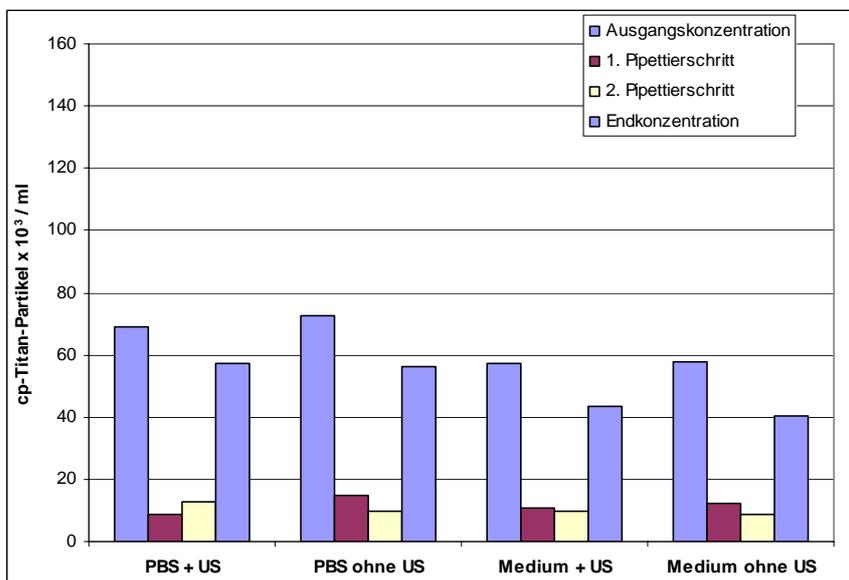


Abb. 4.42A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Combitips plus-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

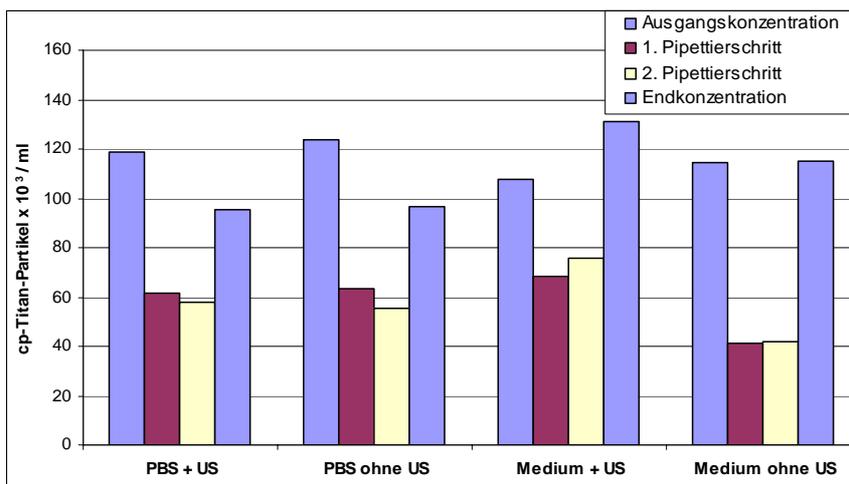


Abb. 4.43A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei FALCON®-RÖHRCHEN (pipettiert mit Serum-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

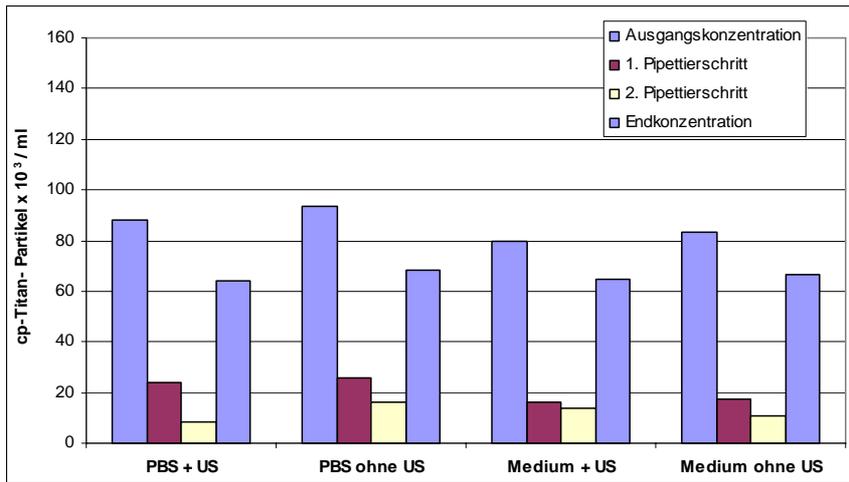


Abb. 4.44A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren bei BIOZYM-CUPS (pipettiert mit Biozym-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US).

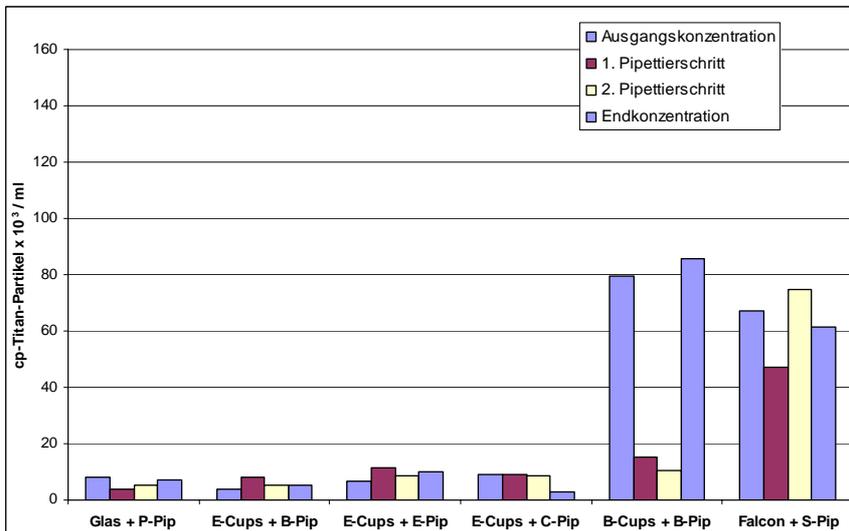


Abb. 4.45A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen: LEERMESSUNG ohne Titanpartikel: Ausgangslösung: Aqua dest. + PBS ohne Ultraschall behandelt.

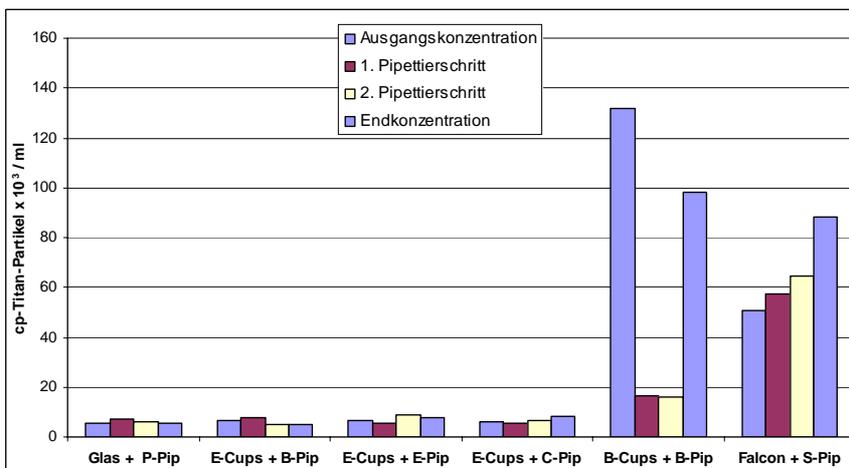


Abb. 4.46A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen: LEERMESSUNG ohne Titanpartikel: Ausgangslösung: Aqua dest. + Medium mit Ultraschall behandelt.

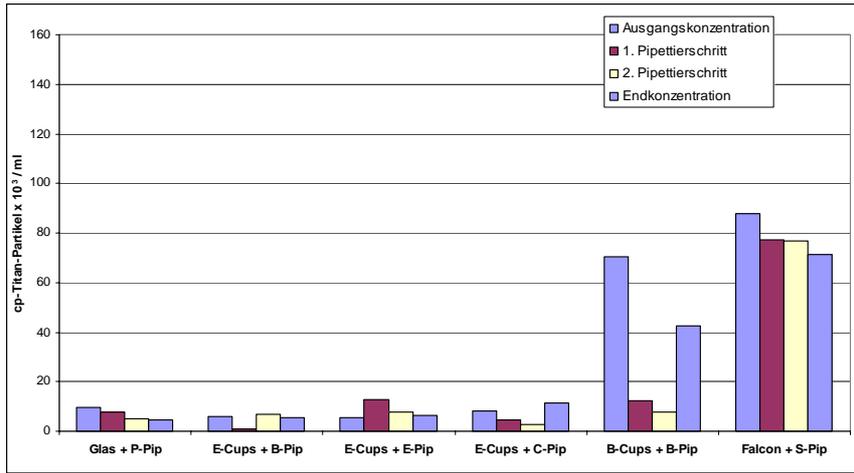


Abb. 4.47A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen: LEERMESSUNG ohne Titanpartikel: Ausgangslösung: Aqua dest. + Medium ohne Ultraschall behandelt.

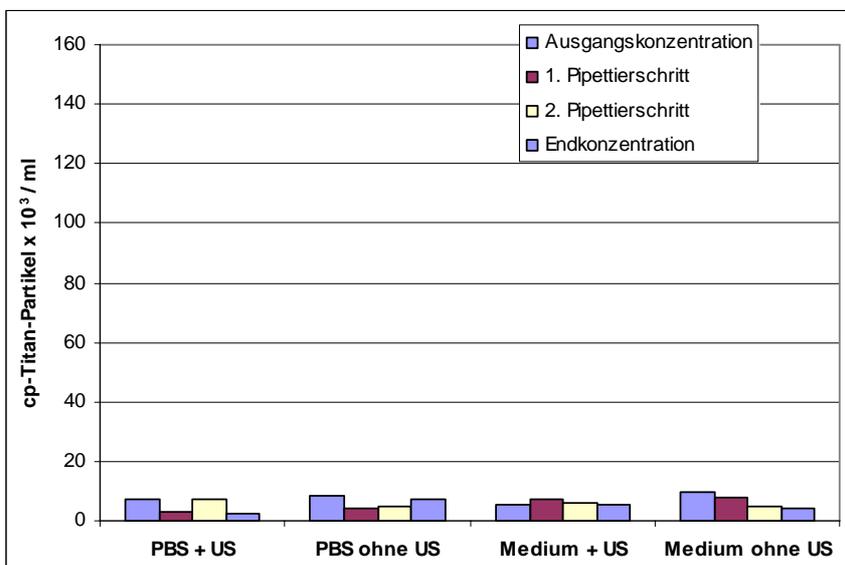


Abb. 4.48A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei GLASGEFÄßEN (pipettiert mit Pasteurpipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). LEERMESSUNGEN ohne Titanpartikel.

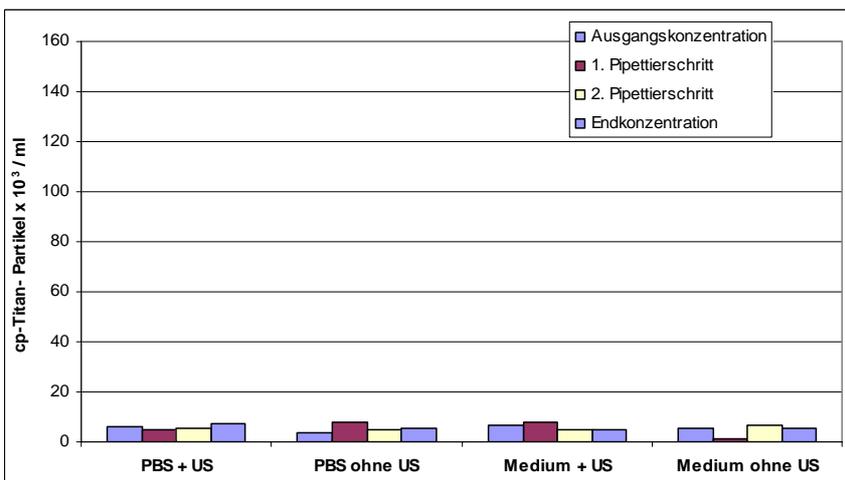


Abb. 4.49A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei EPPENDORFCUPS (pipettiert mit Biozym-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). LEERMESSUNGEN ohne Titanpartikel.

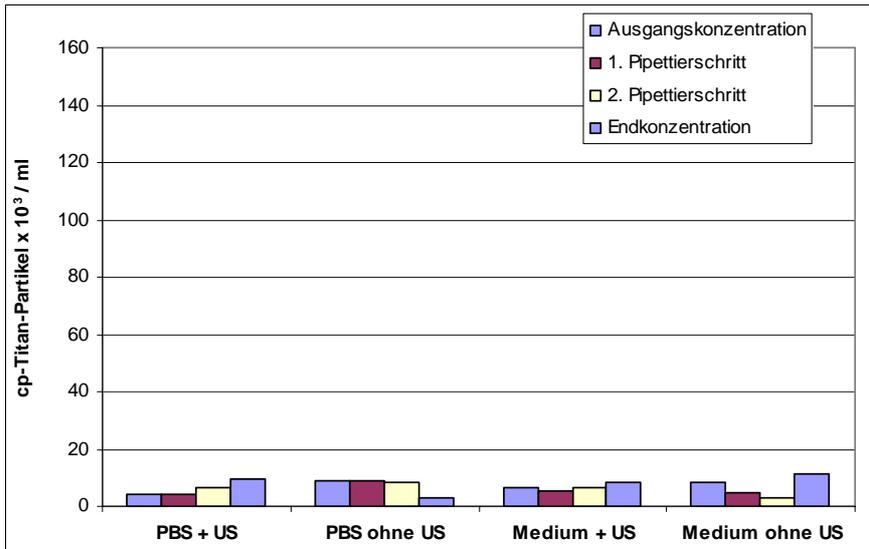


Abb. 4.50A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei EPPENDORF-CUPS (pipettiert mit Combitps plus-Pipetten), in Abhängigkeit von Reagenz (Medium vs. PBS) und Behandlungsmethode (mit/ohne US). LEERMESSUNGEN ohne Titanpartikel.

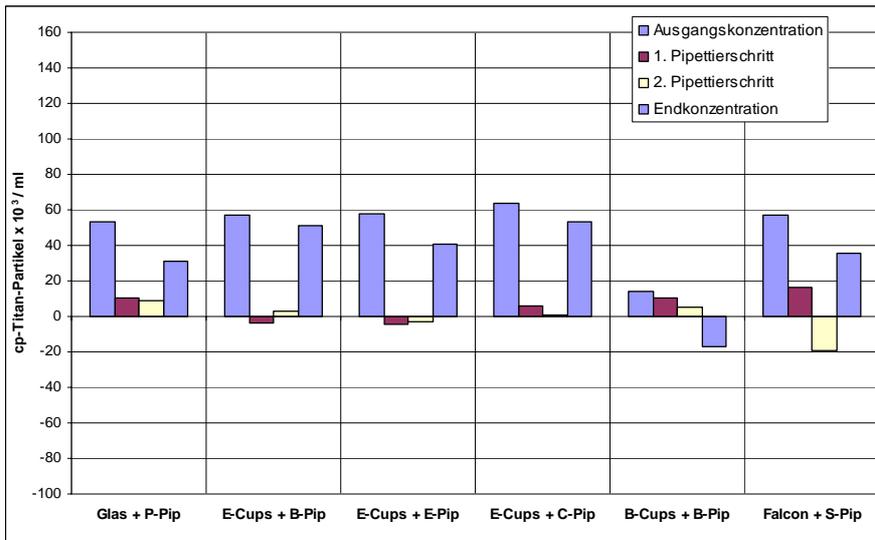


Abb. 4.51A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen - hier unter Berücksichtigung der Leermessung. Ausgangslösung: Titanpulver + PBS ohne Ultraschallbehandlung.

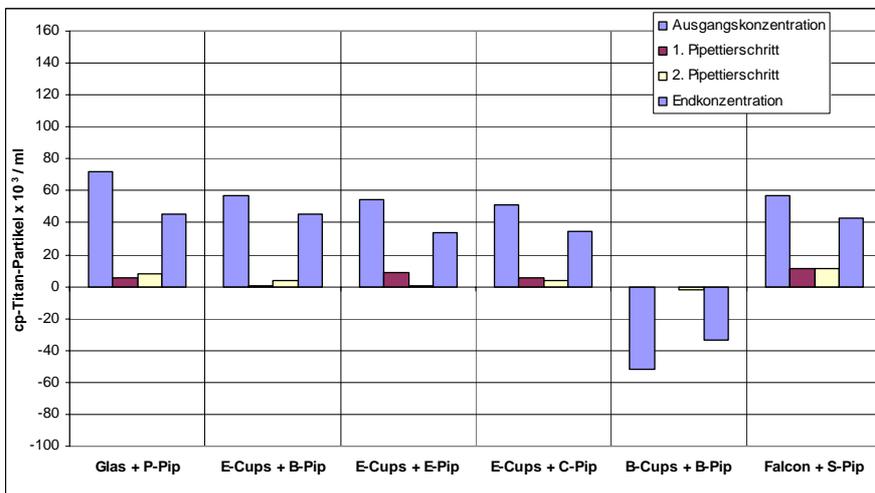


Abb. 4.52A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen - hier unter Berücksichtigung der Leermessung. Ausgangslösung: Titanpulver + Medium mit Ultraschallbehandlung.

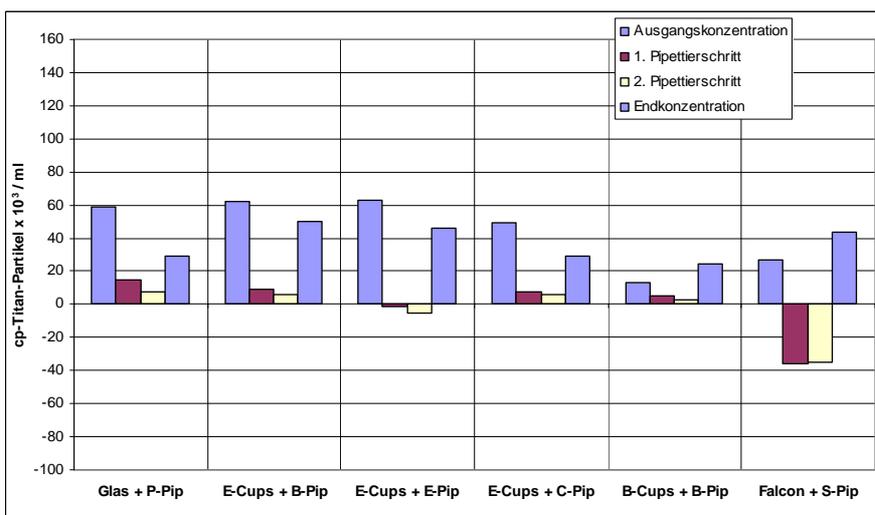


Abb. 4.53A: Änderung der Partikelkonzentration durch Pipettieren bei den verschiedenen Gefäßen - hier unter Berücksichtigung der Leermessung. Ausgangslösung: Titanpulver + Medium ohne Ultraschallbehandlung.

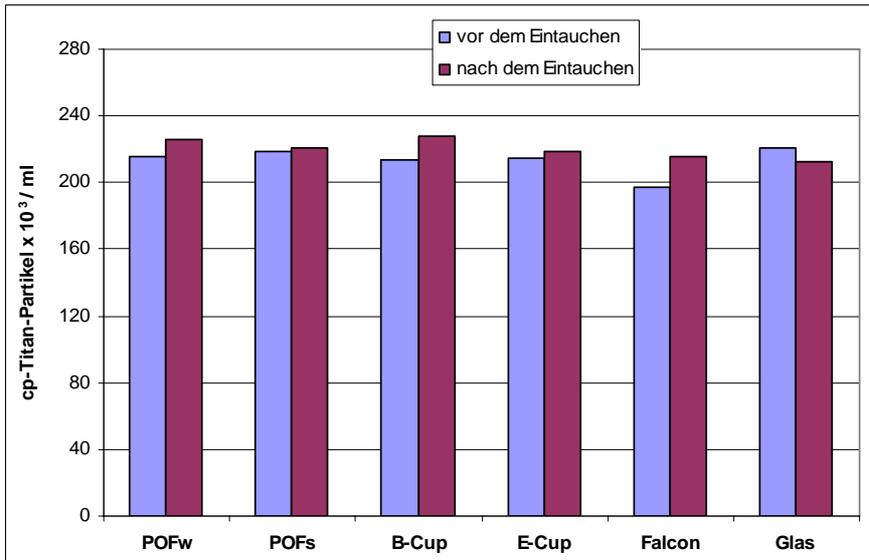


Abb. 4.54A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration nach Eintauchen verschiedener Testkörper durch Partikeladhärenz an die Testkörper bzw. Verschmutzung der Testkörper.

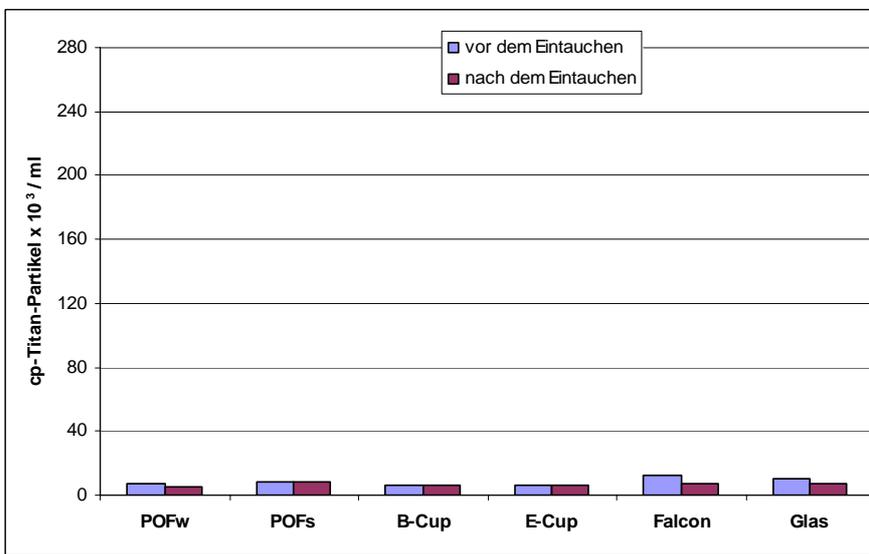


Abb. 4.55A: Änderung der Partikelkonzentration nach Eintauchen verschiedener Testkörper durch Partikeladhärenz an die Testkörper bzw. Verschmutzung der Testkörper. LEERMESSUNG ohne Titanpartikel.

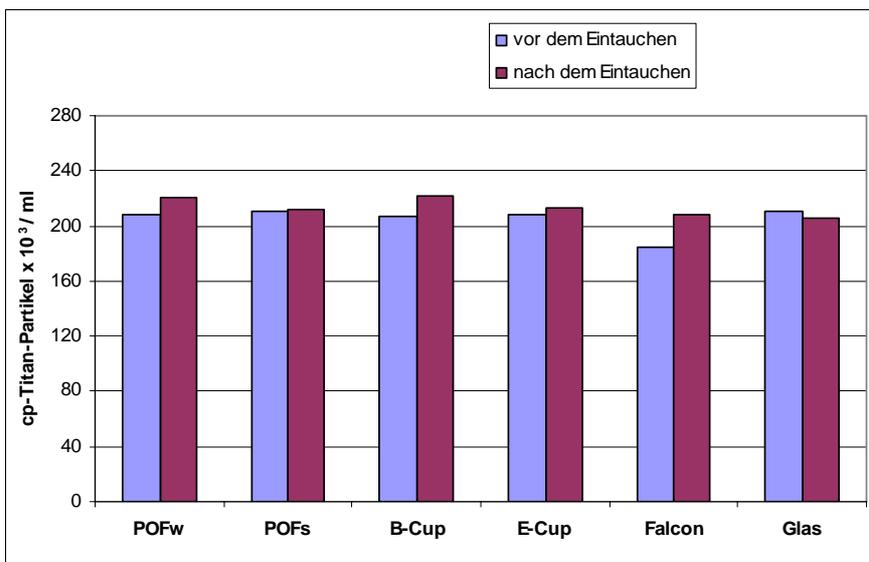


Abb. 4.56A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration nach Eintauchen verschiedener Testkörper durch Partikeladhärenz an die Testkörper bzw. Verschmutzung der Testkörper - hier unter Berücksichtigung der Leermessung.

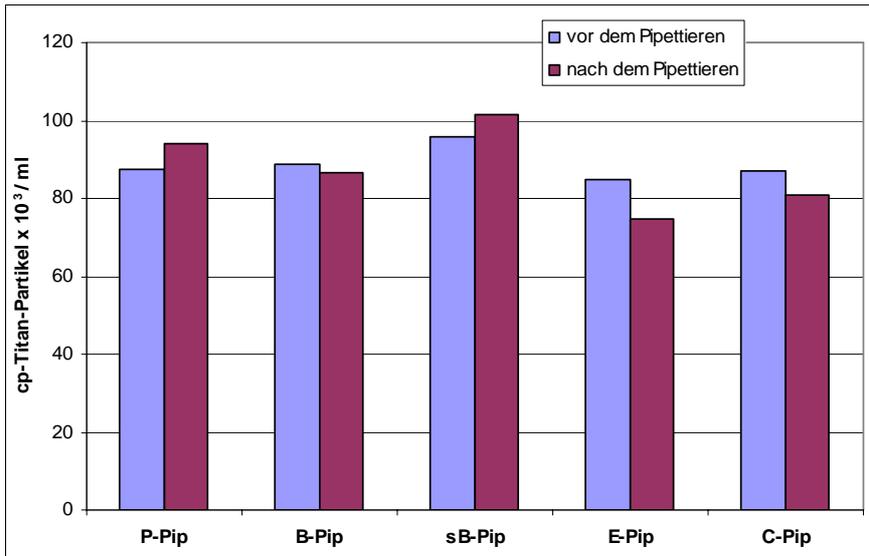


Abb. 4.57A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier ohne vorheriges Ausspülen der Pipetten.

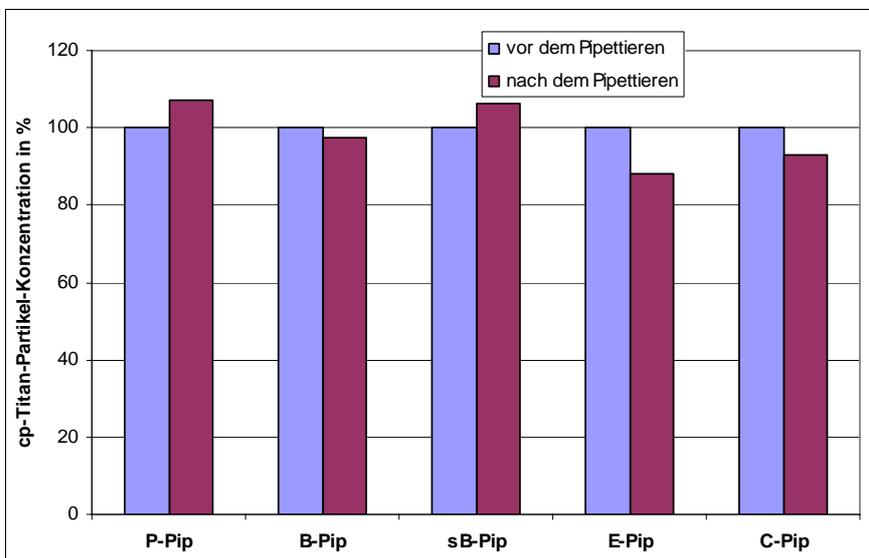


Abb. 4.58A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration in Prozent durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier ohne vorheriges Ausspülen der Pipetten.

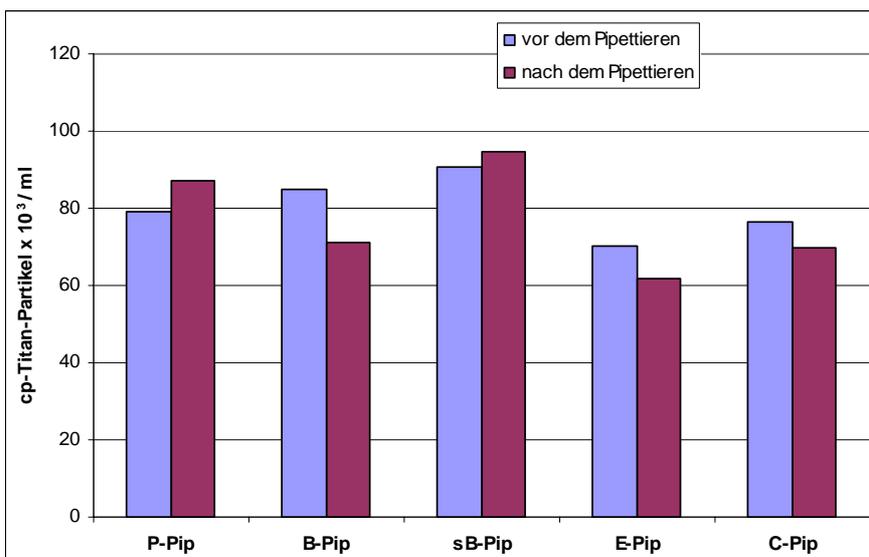


Abb. 4.59A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier ohne vorheriges Ausspülen der Pipetten und unter Berücksichtigung der Leermessungen.

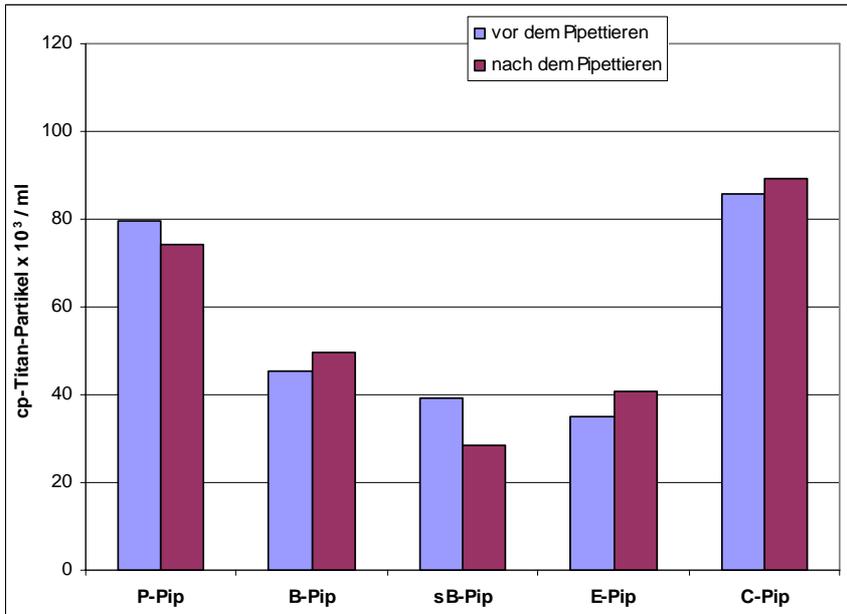


Abb. 4.60A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier mit vorherigem Ausspülen der Pipetten.

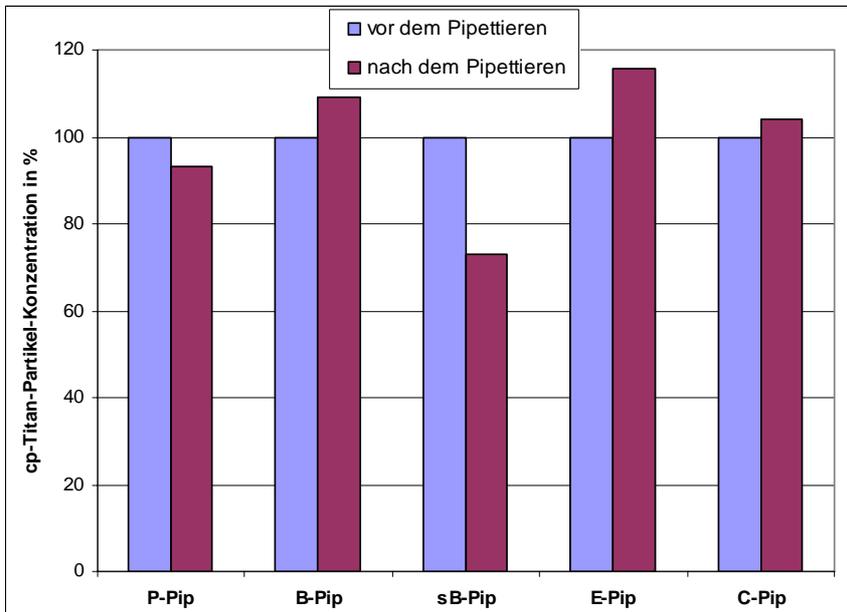


Abb. 4.61A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration in Prozent durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier mit vorherigem Ausspülen der Pipetten.

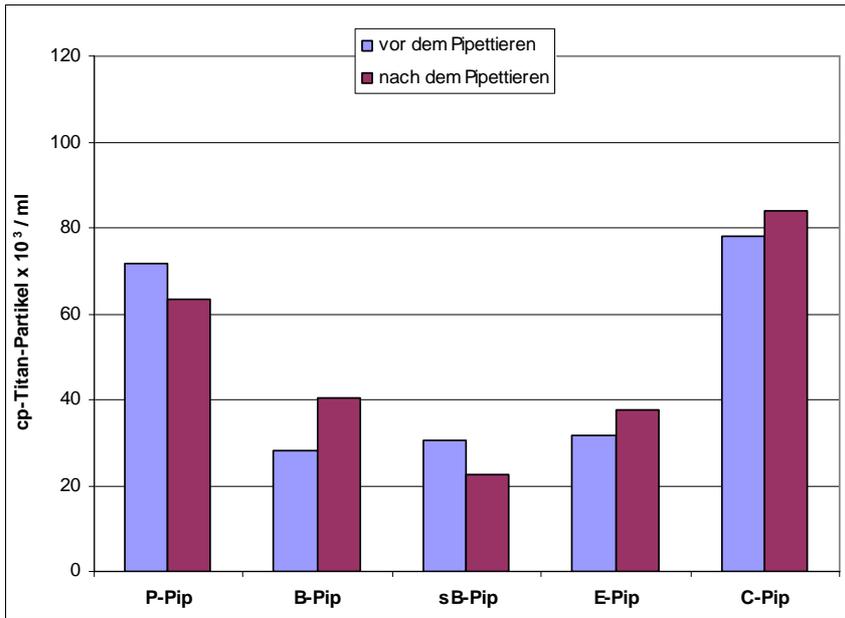


Abb. 4.62A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration durch Pipettieren mit verschiedenen Pipetten - hier mit vorherigem Ausspülen der Pipetten und unter Berücksichtigung der Leermessungen.

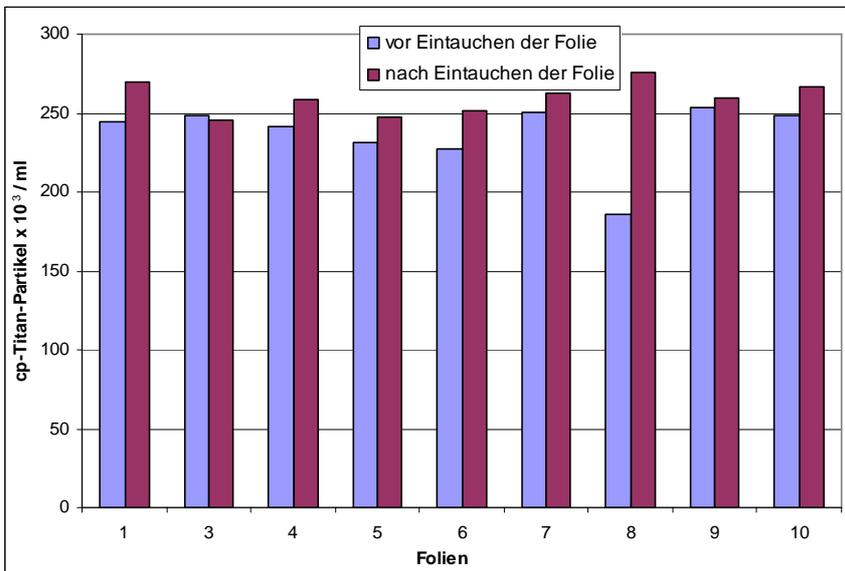


Abb. 4.63A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration nach Eintauchen verschiedener Folien durch Partikeladhärenz an die Folien bzw. Verschmutzung der Folien - hier mit vorherigem Waschen der Folien.

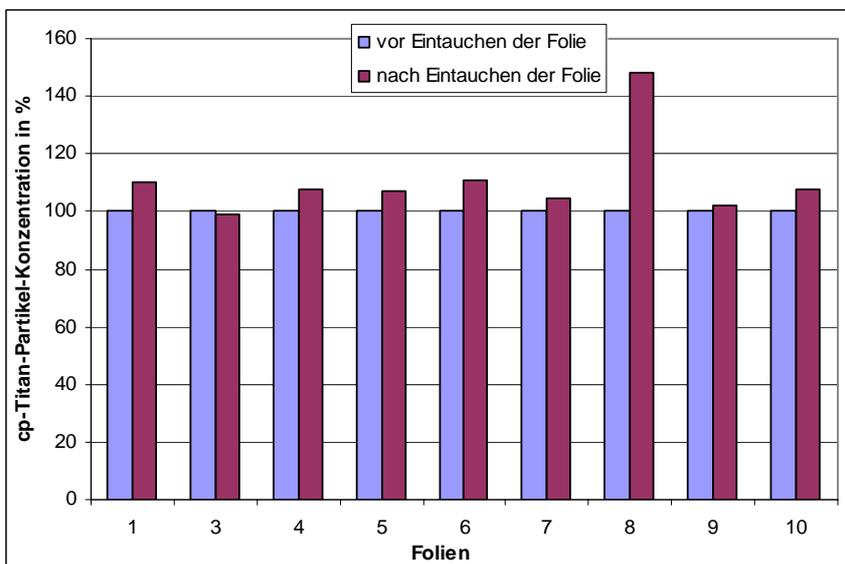


Abb. 4.64A: Änderung der cp-Titanpartikel-Konzentration in Prozent nach Eintauchen verschiedener Folien durch Partikeladhärenz an die Folien bzw. Verschmutzung der Folien - hier mit vorherigem Waschen der Folien.

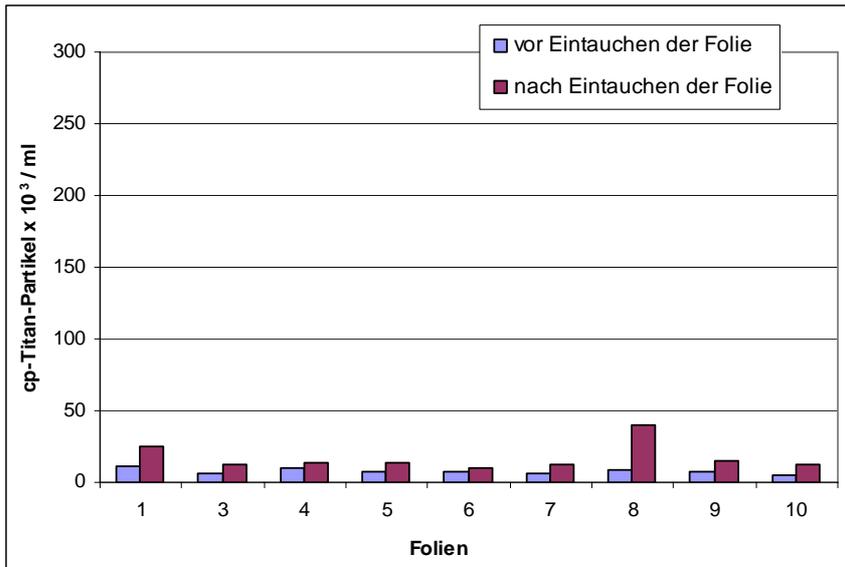


Abb. 4.65A: Änderung der Partikelkonzentration nach Eintauchen verschiedener Folien durch Partikeladhärenz an die Folien bzw. Verschmutzung der Folien- hier mit vorherigem Waschen der Folien. LEERMESSUNG ohne Titanpartikel.

## 8.2 Danksagung

Besonders danken möchte ich Herrn Prof. Dr. med. W. Mittelmeier für die Themen, sein ständiges Interesse, seine vielseitige Unterstützung und für die wertvollen Anregungen.

Mein Dank gilt auch Herrn Prof. Dr. med R. Gradinger, Direktor der Klinik für Orthopädie und Sportorthopädie, Klinikum rechts der Isar, München, für die Möglichkeit, an seinem Institut wissenschaftliche Untersuchungen durchführen zu können, in deren Ergebnis die vorliegende Arbeit entstand.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich bei Herrn Dr. med. Dipl.-Ing. Rainer Bader für die großartige Unterstützung und hervorragende Betreuung bei dieser Arbeit, für die wertvollen Anregungen und sein ständiges Interesse.

Des Weiteren danke ich Frau J. Tübel, die mir bei den Arbeiten im Labor tatkräftig zur Seite stand.

Bei Frau Hartl vom Lehrstuhl für Metallurgie und Metallkunde der TU München, Garching, bedanke ich mich für die Anfertigung der REM-Bilder und EDX-Analysen.

Für die Bereitstellung des Atomabsorptionsspektrometers möchte ich mich ganz herzlich bei Prof. Dr. Winklmaier von der FH München (Fachbereich Feinwerk- und Mikrotechnik/-Physikalische Technik) bedanken. Besonderer Dank gilt dabei Herrn Dipl. Ing. Düttmann, der mich bei den Messungen unterstützte.

Ein weiterer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Wintermantel vom Zentralinstitut für Medizintechnik der TU München, Garching für die Möglichkeit der Durchführung von Messungen am Cell Counter, sowie am Mastersizer.

Des weiteren bedanke ich mich bei Prof. Dr. M. Schmitt von der Forschergruppe der Frauenklinik des Klinikum rechts der Isar München für die Möglichkeit der Durchführung von Messungen am Durchflusszytometer. Für die Unterstützung bei diesen Messungen bedanke ich mich bei K. Mengele.

Bei meinen Eltern und Franz Wittmann bedanke ich mich herzlichst für die freundliche Unterstützung in allen Phasen dieser Arbeit.

### 8.3 Lebenslauf

Regina Wittmann, geb. Brem

- ◆ geboren am 07.12.1977 in Augsburg
- ◆ 1984 bis 1997 Schulausbildung mit Abschluss der allgemeinen Hochschulreife am Maria-Ward-Gymnasium Augsburg
- ◆ 1997 bis 1998 Freiwilliges Soziales Jahr am KKH Pasing
- ◆ 1998 bis 2000 Studium der Humanmedizin, Universität Regensburg
- ◆ 2000 Ärztliche Vorprüfung
- ◆ 2000 bis 2004 Studium der Humanmedizin, TU München
- ◆ 2001 Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
- ◆ 2004 Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung
- ◆ Praktisches Jahr an der LMU München
  - Chirurgie: Zentralklinikum Augsburg
  - Innere Medizin: Zentralklinikum Augsburg
  - Pädiatrie: Kinderklinik des Zentralklinikum Augsburg
- ◆ April 2005 Dritter Abschnitt der ärztlichen Prüfung, Abschluss des Medizinstudiums
- ◆ seit Juni 2005 Assistenzärztin in der Inneren Medizin in der Donau-Ries-Klinik Donauwörth